

İÇİNDEKİLER

Derleme

[Duygu Dağlar, Gözde Öngüt](#)

Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL) ve Tanı Yöntemleri

[Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 1-9.](#)

Derleme

[Hakan Parlakpınar, Mehmet Hamdi Örum, Ahmet Acet](#)

Kafeik Asit Fenetil Ester (KAFE) ve Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon (Mİ/R) Hasarı

[Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 10-5](#)

Orijinal Araştırma Makalesi

[Engin Ortaank, İmran Tekgöz, Muharrem Ak, Erdal Kaya](#)

İkinci Trimestir Gebelerde Depresyon ve Anksiyete Bozukluğu ile İlişkili Faktörlerin Değerlendirilmesi

[Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 16-20.](#)

Orijinal Araştırma Makalesi

[Uğur Aşkın, Fikret Karataş, Yusuf Trkz, Süleyman Aydın](#)

Paraoksonaz-1 Enziminin Bazı Kinetik zelliklerinin İncelenmesi ve Ghrelin Hormonu ile İlişkisi

[Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 21-8.](#)

Orijinal Araştırma Makalesi

[Ali Beytur, İlhan Geçit, Haluk Söylemez, Fatih Oğuz, Süleyman Karaca, Ali Güneş, Ramazan Altıntaş](#)

Basit Böbrek Kistlerinin Ultrasonografi Eşliğinde Perkütan Aspirasyonu ve Alkol Uygulaması

[Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 29-31.](#)

Orijinal Araştırma Makalesi

[Gökçer Eskikurt, İlker Yücesir, Ümmühan İşoğlu-Alkaç](#)

El Tercihinin Görsel P300 Yanıtları ve Görsel Tarama Yolları Üzerine Etkisi

Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 32-40

Orijinal Araştırma Makalesi

Yücel Duman, Çiğdem Kuzucu, Halim Kaysadu, Mehmet Sait Tekerekoğlu

Bir Yıllık Sürede İzole Edilen Pseudomonas aeruginosa Suşlarının Antibiyotik Duyarlılığının Araştırılması: Kesitsel Bir Çalışma

Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 41-5.

Olgu Sunumu ve Literatür Derlemesi

Murat Kara, Hatice Banu Kumbak Aygün, İbrahim Tekedereli

47,XYX Karyotipli İnfertil Bir Çiftte ICSI ile Gebelik Eldesi ve Genetik Danışmanlık Süreci

Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 46-8.

Olgu Sunumu ve Literatür Derlemesi

Sibel Yenidünya, Hacer Haltaş, Reyhan Bayrak, Davut Aktaş

Myoepithelioma of the Parotid Gland: A Rare Case

Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 49-51.

Olgu Sunumu

Yüksel Çiçek, Elif Ergül, Murtaza Emre Durakoğlugil, Ayşe Ertürk

Groin Infection Due to Inguinal Hematoma Necessitating Surgical Debridement: A Rare Complication of Percutaneous Coronary Intervention

Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 52-4.

Olgu Sunumu ve Literatür Derlemesi

Zehra Bozdağ, Emine Türkmen, Metin Doğan, Zeki Güzel, Hale Kırımlıoğlu

İzole Renal Kist Hidatik: Olgu Sunumu

Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 55-7.

Olgu Sunumu ve Literatür Derlemesi

[Cemal Fırat, Serkan Erbatur, Ömer Elmas, Yılmaz Geyik, Ahmet Hamdi Aytakin](#)

Başarılı Bir Replantasyonda Beklenmedik Bir Yenilgi: Sigara?

[Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 58-60](#)

Kısa Olgu

[Hakan Oğuztürk, Muhammet Gökhan Turtay, Seval Demir Aydın, Ökkeş Hakan Miniksar](#)

Travmatik Patella Çıkığı: Acil Serviste Tedavi

[Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 61-2.](#)

Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL) ve Tanı Yöntemleri

Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) and Identification Methods

Duygu Dağlar¹, Gözde Öngüt²

¹Serik Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ANTALYA

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANTALYA

Özet

Klasik TEM ve SHV türü enzimlerden nokta mutasyonu ile gelişmiş olan Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL), son 30 yılda önemli bir direnç mekanizması olarak ortaya çıkmış olup tanımlanan enzim sayısı 200'e ulaşmıştır. Bu enzimleri kodlayan genlerin çoğu plazmidler ile yayılım göstermekte ve genellikle beraberinde beta-laktam yapısında olmayan diğer antibiyotiklere karşı da direnç genleri taşımaktadır. En uygun tedavi seçeneklerinin belirlenmesi için Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ve diğer standart rehberlerde özellikle *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatları için rutin olarak GSBL varlığının tarama ve doğrulama testleri ile araştırılması önerilmektedir. Bu amaçla geliştirilen testlerin çoğu üretilen enzimin klavulanik asit varlığında inhibisyonunun gözlenmesi esasına dayanır. Rutin laboratuvar uygulamalarında yaygın olarak kullanılan Çift Disk Sinerji yöntemi, ucuz ve uygulaması kolay bir yöntem olarak tatmin edici sonuçlar vermektedir. Ancak bu testte sonuç alınması için en az 18-24 saat gerekmekte ve bazı enzim türleri saptanamayabilmektedir. Son yıllarda geliştirilen kromojenik testler ve moleküler yöntemlerle kısa sürede sonuç alınabilse de uygulama zorlukları nedeniyle yaygın kullanımları sınırlı kalmaktadır. Bu derlemede GSBL enzimlerinin klinik önemi, türleri ve in vitro tanıma kullanılan yöntemler üzerinde durulacaktır.

Anahtar Kelimeler: Direnç, GSBL, *E. coli*, *K. pneumoniae*.

Abstract

Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) which develop from classic TEM and SHV beta-lactamases by point mutations have been emerged as significant resistance mechanisms for last 30 years, and their number has reached about 200. The most of the genes encoding these enzymes are transferred on the plasmids and they frequently co-transfer some genes that are responsible for the resistance to other antimicrobials which are not in beta-lactam structure. To select the most appropriate therapy choices, some guidelines including Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) have recommended to routinely determine the production of ESBLs with applying screening and confirmative tests for *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates. Majority of the tests for ESBLs detection are based on the visualization of the enzyme inhibition in the presence of clavulonic acid. Double Disc Synergy test, one of the most widely used in the routine laboratory interventions, is a cheap and easy-to-apply method, and gives satisfactory results. However, in this test, 18-24 hours are required to obtain the result, and some types of enzymes can not be identified. The chromogenic tests and molecular methods which are developed in the recent years may give result in a shorter time, but their usages are limited due to difficulties for application. In this review, clinical importance of ESBL enzymes, their types and in vitro diagnostic methods will be discussed.

Key Words: Resistance, ESBL, *E. coli*, *K. pneumoniae*.

Giriş

Beta-laktamlar, gösterdikleri üstün etki spektrumları, mikroorganizmalar için yüksek ve seçici toksisiteleri, neredeyse tüm yaş gruplarında uygulanabilir olmaları, diğer gruplara göre relatif olarak düşük yan etki insidansları ve tüm vücut sıvılarına olan üstün dağılım özellikleri nedeniyle günümüzde en çok reçete edilen antibiyotikler olmuştur. Lisanslı tüm antibiyotikler içinde bu ilaçların sayısal ağırlığı %70'e yakındır. Ancak, gereksiz-uygunsuz-yoğun kullanım ve hastanelerde infeksiyon kontrol yöntemlerinin yeteri kadar uygulanmaması nedeniyle bakterilerin bu antibiyotiklere olan direnci yıllar içinde hızla artmıştır. Beta-laktamaz sentezi enterik Gram negatif bakteriler için en önemli antibiyotik direnç mekanizmasıdır. Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasındaki siklik amid bağımlı parçalayarak etki gösterirler. Beta-laktamaz genleri, bakteride kromozom kontrolünde veya plazmid

ya da transpozonlarda yerleşmiş genler üzerinde kodlanmaktadır. TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi plazmid kaynaklı beta-laktamazlar *Enterobacteriaceae* üyeleri arasında yaygın bulunan enzimler olup, bunlar plazmidler aracılığıyla diğer bakterilere aktarılırlar (1). Plazmid kaynaklı beta-laktamazlar, başlangıçta penisilin ve birinci kuşak sefalosporinleri hidrolize edebilen enzimler iken sonraları bu enzimleri kodlayan genlerde ortaya çıkan mutasyonlar sonucu genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) adı verilen, üçüncü kuşak sefalosporinleri ve aztreonamı hidrolize edebilen yeni beta-laktamazlar olarak tanımlanmıştır (2). Bu enzimlerin en önemli özelliği genellikle klavulanik asit, daha az olarak da sulbaktam veya tazobaktam gibi inhibitörlere duyarlı olmalarıdır. GSBL enzimleri esas olarak TEM ve SHV enzimlerinden köken alsalar da TEM ve SHV kökenli olmayan CTX-M, OXA-1, PER-1, PER-2 gibi yeni

plazmid kaynaklı GSBL'ler de tanımlanmıştır. Bu yeni enzimler sefamisinler de dahil olmak üzere tüm sefalosporinlere karşı etkilidir (3). GSBL'ler ülkemizde ve tüm dünyada yaygın olarak bulunur. Günümüzde 200'den fazla GSBL tanımlanmıştır (4).

GSBL üreten suşlarla oluşan infeksiyonlar sıklıkla, hastanede uzun süre yatan, büyük cerrahi operasyon geçiren, arteriyel ve üriner kateteri olan ve özellikle yoğun bakım servislerindeki hastalarda görülmektedir. ancak son yıllarda toplum kökenli infeksiyonlarda da sıklığının arttığı görülmüştür. GSBL'ler en sık hastane kökenli *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarında görülmekle birlikte diğer *Enterobacteriaceae* üyelerinde de saptanmaktadır (5).

GSBL enzimleri plazmid aracılığıyla kolay yayılmaları, salgınlara yol açabilmeleri, bu suşların etken olduğu infeksiyonlarda tedavi başarısızlığı ve mortalite artışı gibi ciddi klinik problemlerin ortaya çıkışı nedeniyle günümüz hastanelerinde önemli bir direnç mekanizması haline gelmiştir. Bu nedenle bu enzimlerin laboratuvarında iyi tanımlanması tedavinin doğru yönlendirilmesi bakımından önem taşır.

Beta-laktamazların kısa tarihi

Beta-laktamazlar; beta-laktam halkasında bulunan amid bağı parçalayarak bu tür antibiyotikleri etkisiz hale getiren enzimlerdir. Penisilin, 1928 yılında Alexander Fleming tarafından keşfedildikten sonra 1940 yılında Abraham ve Chain *E. coli*'den elde ettikleri özütün penisilinin etkisini ortadan kaldırdığını göstermişlerdir. Bu araştırmacılar elde ettikleri enzime "penisilinaz" adını vermişlerdir (6).

1960'lardan sonra semisentetik penisilinler, metisilin ve ampisilin, 1. kuşak sefalosporinlerden sefaloridin ve sefalotinin geliştirilmesiyle Gram negatif çomaklarda bulunan beta-laktamazlar önemli bir direnç mekanizması haline gelmiştir. Gram negatif bakterilerde çok daha fazla çeşitte beta-laktamaz bulunduğu ve plazmid kontrolünde sentezlenebildiğinden çok kısa sürede dirençte artış gözlenmiştir.

Beta-laktamazlarla hidrolize olmayan yeni beta-laktamaların geliştirilmesi 1980'li yıllarda 3. kuşak sefalosporinlerin yaygın olarak kullanılmasına yol açmıştır. Almanya'da 1983 yılında bir *K. pneumoniae* suşunda, 3. kuşak sefalosporinleri de parçalayan plazmid kaynaklı bir beta-laktamaz bulunmuştur (7). Bu yeni beta-laktamaz *Klebsiella spp.* türlerinde sık olarak bulunan SHV-1 beta-laktamazından mutasyonla oluşan SHV-2 enzimidir. Ardından, Fransa'da seftazidime dirençli *K.pneumoniae* suşlarında, seftazidimi hidrolize eden TEM-2 enziminden yalnız iki aminoasit farkı bulunan plazmid kaynaklı beta-laktamaz belirlenmiştir (3).

Beta-laktamazların sınıflandırılmasında en sık Ambler moleküler sınıflandırması ile Bush-Jacoby-Medeiros fonksiyonel sınıflandırması kullanılmaktadır (8, 9). Ambler sınıflandırmasında beta-laktamazlar, enzimleri kodlayan nükleotid dizilerine göre dört sınıfa ayrılır. A, C ve D sınıfı beta-laktamazlar serin beta-laktamazlar; B sınıfı beta-laktamazlar ise metallo-beta laktamazlar olarak isimlendirilirler. Beta-laktamazların en yeni sınıflandırma şeması olan Bush, Jacoby ve Medeiros tarafından yapılan sınıflandırmada ise beta-laktamazlar biyokimyasal özelliklerine ve substrat profillerine göre dört gruba ayrılır.

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, Ambler moleküler sınıf A'da yer alan grup 2be, grup 2e ve sınıf D (grup 2d) beta-laktamazlardan oluşur. Bu enzimlerin etki spektrumlarının oksimino-beta-laktamları da kapsamı nedeniyle genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar olarak adlandırılmışlardır. GSBL'ler; geniş spektrumlu penisilinlere, 1., 2., ve 3. jenerasyon sefalosporinlere ve kısmen sefepime etkili, karbapenemlere, sefamisinlere ve beta-laktamaz inhibitörlerine etkisizdirler.

Klasik olarak tanımlanan GSBL'lerin büyük çoğunluğu TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimlerinden köken almıştır. Köken alınan ana enzimin moleküler yapısındaki aminoasitlerden bir ile dördünün yerine farklı aminoasitlerin gelmesi sonucu GSBL'lar oluşur. Günümüzde TEM türü beta-laktamazların sayısı 130'u, SHV türü beta-laktamazlarınki 50'yi geçmiştir. Bu üç enzimin türevleri dışında son yıllarda bunlardan köken almayan CTX-M, PER, VEB gibi genişlemiş spektrumlu enzimlerin sayısında artış olmuştur (10). SHV ve TEM türevi enzimler grup A'da yer almaktadır. OXA türevi olan GSBL'ler ise grup D'de yer alan oksasilinazlardır. GSBL türü enzimler Gram negatif bakterilerde sıklıkla bulunmaktadır. Özellikle *Enterobacteriaceae* ailesinden *K. pneumoniae*'da en sık gözlenmekle birlikte *E. coli* ve *Salmonella spp.*'de de sıklığı artmaktadır (11). *Enterobacteriaceae* ailesi dışında GSBL üreten mikroorganizmaların sıklığı daha az olup bunların içinde en sık *P. aeruginosa*'da gözlenmektedir (12).

GSBL Türleri

TEM grubu GSBL'ler

Plazmid kökenli bilinen en eski enzim olan TEM-1, ampisilin, penisilin ve birinci kuşak sefalosporin direncine neden olur. TEM-1, Gram negatif bakterilerde en sık kodlanan enzimidir ve ampisiline dirençli *E. coli*'lerin %90'ında dirençten bu enzim sorumludur. TEM-1'in yapısında bir aminoasit değişikliğine (39. pozisyondaki glutamin yerine lizinin geçmesi) neden olan mutasyon sonucu TEM-2, bu enzimin yapısında 2 aminoasit değişikliği ile de TEM-3 ortaya çıkar. TEM-1 ve TEM-2 etki spektrumu açısından benzer penisilinazlardır. Sıklıkla

transpozonlar tarafından kodlanan dar spektrumlu enzimler olup; penisilin ve birinci kuşak sefalosporinleri hidroliz edebilirler. Ancak oksiiimino-sefalosporinlere karşı aktiviteleri yoktur (13).

İlk TEM varyantının bildirimden günümüze kadar, mutasyonlar sonucu gelişen aminoasit değişikliklerinin kombinasyonları sonucu 150'den fazla bu enzimin yeni türü tanımlanmıştır. Birçoğu GSBL aktivitesine sahip iken, bazı varyantlar inhibitör dirençli beta-laktamaz özelliğindedir (14). İnhibitör dirençli TEM (IRT) türündeki enzimler, geniş spektrumlu sefalosporinleri inhibe etmediklerinden gerçek anlamda GSBL olarak kabul edilmezler. Günümüzde sayısı 20'den fazla bulunan IRT türü enzimler klasik GSBL'lerin aksine beta-laktamaz inhibitörlerinin etkilerine (özellikle sulbaktam ve klavulanik asit) karşı dirençlidir. Ancak tazobaktam bu enzimleri inhibe edebilmektedir.

TEM kökenli GSBL'ler en sık *E. coli* ve *K. pneumoniae*'da tanımlanmış olmakla birlikte, *Salmonella spp.*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii* ve *Pseudomonas aeruginosa* türlerinde de bulunabilmektedir (15).

SHV grubu GSBL'ler

SHV-1 enzimi en sık *K. pneumoniae*'da bulunur ve bu bakterideki plazmid aracılı ampisilin direncinin yaklaşık %20'sinden sorumludur. Bu enzimin üretimi ile ampisilin, tikarsilin ve piperasiline karşı direnç oluşturmaktadır. Oksiiimino-sefalosporinlere karşı aktivitesi yoktur (15). SHV türü enzimlerin ilk türü 1983 yılında bulunmuş ve SHV-2 olarak tanımlanmıştır. TEM grubu GSBL'lere kıyasla SHV-1'den köken alan enzim sayısı ve aminoasit değişikliği olan pozisyonlar daha azdır. Bunlarda karakteristik değişiklik 238. pozisyonda glisin yerine serin, 240. pozisyonda glutamin yerine lizin girmesidir. Sonuçta 238. pozisyondaki serin rezidüsü seftazidime, 240. pozisyondaki lizin rezidüsü ise seftoksime karşı hidroliz etkinliği açısından önemlidir. SHV grubu enzimler *K. pneumoniae*'dan başka *Citrobacter diversus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'da bildirilmiştir.

CTX-M grubu GSBL'ler

Bu grup enzimler substrat olarak seftoksime tercih etmektedir. CTX-M tipi beta-laktamaz ilk olarak 1989 yılında Almanya'da *E. coli* suşunda saptanmıştır. Daha sonra, *Salmonella typhimurium* ve *E. coli* başta olmak üzere birçok *Enterobacteriaceae* türünde üretimi gösterilmiştir. Günümüzde yaklaşık 80'den fazla CTX-M enzimi bildirilmiştir (4). CTX-M enziminin kaynağı TEM ve SHV enzimlerine göre farklıdır. SHV ve TEM tip GSBL'ler öncül enzimlerden aminoasit değişiklikleriyle oluşurken, CTX-M tip GSBL'ler konjugatif plazmid ya da transpozon aracılığı ile başka bakteriden horizontal gen transferiyle oluşurlar. CTX-M enzimlerini üreten mikroorganizmaların çoğunlukla hastane infeksiyonlarından izole edilmelerine karşın SHV ve TEM enzimlerinden farklı olarak *Vibrio cholerae*, tifo dışı *Salmonella spp.* ve *Shigella spp.* gibi

toplum kaynaklı infeksiyon etkenlerinde de bildirilmektedir. Sefotaksim ve seftriaksonun toplumda yaygın kullanımının CTX-M enzimlerinin ortaya çıkışında rol oynadığı düşünülmektedir. CTX-M grubu enzimlerin sayısı hızla artmaktadır. *Enterobacteriaceae* izolatlarında saptanan bu enzimler, dünyanın birçok yerinden rapor edilmiştir (16).

OXA grubu GSBL'ler

OXA tip beta-laktamazlar oksasilini hidrolize etme yeteneklerinden dolayı bu ismi almışlardır. Bu grup enzimler fonksiyonel grup 2d ve moleküler sınıf D'de yer almalarıyla TEM ve SHV enzimlerinden ayrılırlar. En sık *P. aeruginosa*'da bulunmakla birlikte diğer Gram negatif bakterilerde de saptanmaktadır. En yaygın olanı OXA-1 beta-laktamazıdır ve *E. coli* suşlarının %1-10'unda bulunmaktadır (17). Bu enzimlerin OXA-1 den OXA-10'a kadar olanları dar spektrumlu olup substrat olarak oksasilin ve kloksasilini tercih ederler (15, 17, 18).

TEM ve SHV'de olduğu gibi aminoasit dizilerindeki nokta mutasyonları sonucu oksiiimino-sefalosporinleri hidrolize edebilen geniş spektrumlu enzimler olarak gelişmişlerdir (19). OXA-11, 14, 15 ve 16 seftazidim direncine yol açarken, OXA-17 seftoksime direnç oluşturmaktadır. OXA-31 ise seftoksime direnç oluştururken seftazidime duyarlıdır (20). OXA-24 ayrıca karbapenemaz aktivitesi göstermektedir. Ancak bu enzim bir GSBL türü olarak sınıflandırılmamaktadır. Bu enzimlerin önemi, klavulanik asit ve sulbaktama dirençli olmaları ve hemen daima hastane infeksiyonlarından soyutlanan kökenlerden saptanmalarıdır (6).

PER grubu GSBL'ler

PER enzimleri ile TEM ve SHV tipi GSBL'ler DNA baz dizileri bakımından %25-27 oranında homoloji gösterirler (21, 22). İlk olarak Fransa'da bir Türk hastadan izole edilen bir *P. aeruginosa* suşunda saptanmıştır. PER-1 enzimi penisilin ve sefalosporinleri hidrolize eder ve klavulanik asit ile inhibe olur (23). *P. aeruginosa* dışında *Salmonella typhimurium*, *Acinetobacter baumannii*, *A. faecalis* ve *P. mirabilis* suşlarında da gösterilmiştir (24, 25). PER-1 ile %86 homoloji gösteren PER-2 enzimi sadece Güney Afrika'dan bildirilmiştir (22).

VEB grubu GSBL'ler

VEB-1 enzimi; PER-1 ve PER-2 enzimleriyle %38 oranında homoloji gösterir. Seftazidim, seftoksime ve aztreonama yüksek düzeyde direnç gösterirler ve klavulanik asit ile inhibe olurlar. VEB-1 ilk olarak Vietnam'da bir *E. coli* suşunda saptanmıştır (26).

GES grubu GSBL'ler

GES-1 ilk olarak Fransa'da *K. pneumoniae* suşunda saptanmıştır (27).

Diğer GSBL'ler

Geniş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize etme yeteneğine sahip BES-1, TLA-1, TOHO-1-2, BES, SFO, TLA ve IBC gibi GSBL'ler bildirilmiştir (28).

GSBL epidemiyolojisi

GSBL üreten organizmaların sayısı tüm dünyada hızla artmaktadır. GSBL prevalansının ülkeler, şehirler, hastaneler arasında değiştiği; hatta aynı hastanedeki servisler arasında dahi farklılıklar gösterdiği bildirilmektedir (29). Yapılan çalışmalarda *Klebsiella* izolatlarında GSBL oranı Latin Amerika'da %42.7, Avrupa'da %21.7, Kuzey Amerika'da %5.8 olarak bildirilmiştir (30). Tonkic ve ark. (31) yaptıkları çalışmada GSBL oranını *E. coli*'de %4.7, *K. pneumoniae*'de ise %36.8 olarak bulmuşlardır. Son yıllarda ülkemizde *E.coli* izolatlarında %7.2-32, *Klebsiella spp.* izolatlarında ise %42-56.5 arasında değişen oranlarda GSBL pozitifliği tespit edilmiştir (32-34).

TEM ve SHV tipi enzimler doksanlı yıllarda en sık gözlenen GSBL enzimleri olup özellikle *K. pneumoniae*'de sık görülmekteydi (24). Günümüzde yapılan çalışmalarda ise CTX-M enzimlerinin daha yaygın hale geldiği ve özellikle toplum kökenli *E. coli* türlerinde bu enzimlerin sık görüldüğü bildirilmiştir (16, 24). CTX-M-3, SHV-2 ve SHV-5 Doğu Avrupa ülkelerinde hızla yayılmaktadır (35). Ülkemizde ise en sık CTX-M-15 görülürken (27), OXA-48 karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* izolatlarının ve SHV-12 enziminin de sıklığının arttığı da bildirilmektedir (36).

Günümüzde GSBL üreten mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar, özellikle yoğun bakım ünitelerinde yüksek mortalite ve morbiditeye neden olmaktadır. Çelebi ve ark. (37) yaptıkları çalışmada *E.coli* suşlarında GSBL prevalansını %54.4 olarak saptarken, mortalite oranını GSBL üretmeyen *E.coli* enfeksiyonlarında %8, GSBL üreten *E.coli* enfeksiyonlarında ise %24.3 olarak bildirmişlerdir.

GSBL'ların klinikte neden olduğu sorunlar

a-Direnç: GSBL sentezleyen bakterilerin klinikte neden olduğu sorunların başında bu enzimleri sentezleyen bakterilerin yol açtığı direnç problemi gelmektedir. Bu enzimlerden birini sentezleyen Gram negatif bakteri saptandığında tüm geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama karşı dirençli olarak kabul edilmelidir. Ayrıca bu enzimleri kodlayan plazmidler aynı zamanda birçok beta-laktam dışı antibiyotige karşı genetik materyal taşıyabilmektedir. Dolayısıyla GSBL pozitif bir bakteride başta aminoglikozidler olmak üzere kinolon, tetrasiklin, kloramfenikol ve trimetoprim-sülfametoksazol direnci de eş zamanlı olarak bulunabilir (38).

b-Hastaların kolonizasyonu: Hastanede yatan hastalarda GSBL sentezleyen bakterilerle

kolonizasyonu arttıran çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır. Bunlar arasında uzun süreli antibiyotik kullanımı, uzun süre yoğun bakımda yatma, altta yatan ciddi ve ağır hastalık varlığı, invaziv işleme maruz kalma sayılabilir.

c-Laboratuvarında GSBL saptanmasında karşılaşılan sorunlar: GSBL sentezleyen bir bakteri, sentezlediği enzimin farklı sefalosporinlere afinitesinin değişik olması ve inokulum etkisi gibi nedenlerle üçüncü kuşak sefalosporinlere duyarlı gibi görünebilir.

GSBL tanı yöntemleri

Enterobacteriaceae türlerinin GSBL üretim prevalansında artış, klinik izolatlarda yaygın olmaları, plazmid aracılığı ile kolay yayılmaları, salgın, sağaltım başarısızlığı, mortalite artması gibi ciddi klinik problemlere neden olmaları, rutin duyarlılık testleri ile tanımlanmalarının güç olması ve nedeniyle özel yöntemler ile doğru saptanmaları gerekmektedir (39). GSBL üreten bakteriler geniş spektrumlu sefalosporinlere ve aztreonama dirençli oldukları halde rutin antibiyotik duyarlılık testlerinde duyarlı olarak bulunabilirler ve tedavi sırasında sorunlara yol açabilirler.

Klebsiella pneumoniae, *E. coli*, *P. mirabilis* ve *Klebsiella oxytoca*'da, GSBL enzimlerinin saptanması için CLSI tarafından fenotipik tarama ve doğrulama testlerinin kullanılmasını önerilmiştir.

Tablo 1. GSBL'lar için tarama testi olarak önerilen inhibisyon zonu ve MİK değerleri

Antibiyotik	İnhibisyon zonu (mm)	MİK (µg/mL)
Sefotaksim	≤ 27	≥ 2
Seftriakson	≤ 25	≥ 2
Seftazidim	≤ 22	≥ 2
Sefpodoksim	≤ 17	≥ 8
Aztreonam	≤ 27	≥ 2

GSBL tarama testleri

CLSI, sıvı mikrodilüsyon testi ile sefotaksim, seftazidim, seftriakson, aztreonam MİK değerleri ≥2 µg/mL, sefpodoksim MİK değeri ise ≥8 µg/mL olarak saptandığında; ya da disk difüzyon testinde seftazidim inhibisyon zon çapının ≤22 mm, sefpodoksim zon çapının ≤17 mm, aztreonam ve sefotaksim zon çaplarının ≤27 mm; seftriakson zon çapının ≤25 mm olduğu durumlarda GSBL varlığı için doğrulama testi yapılmasını önermektedir (40). Fenotipik doğrulama yöntemlerden hiç birisi Gram negatif bakterilerde GSBL yönünden %100 duyarlı ve özgül değildir. Günümüzde klinik izolatlarda GSBL'nin doğru tanımlanması gerekliliği tüm klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında benimsenmiştir.

GSBL doğrulama testleri

Doğrulama testlerinde GSBL'lerin beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olma özelliğinden faydalanılmaktadır. Sık olarak kullanılan yöntemler şunlardır.

1. Kombine disk yöntemi
2. Çift disk sinerji yöntemi
3. E test yöntemi
4. Mikrodilüsyon yöntemi
5. Üç boyutlu test
6. Boronik asit yöntemi
7. Otomatize sistemler

1-Kombine disk yöntemi

McFarland 0.5 standart yoğunluğundaki bakteri süspansiyonunun yayıldığı Mueller-Hinton besiyerine klavulanik asit (10 µg) içeren ve içermeyen seftazidim (30 µg) ile sefotaksim (30 µg) diskleri yerleştirilir. Bir gece 35°C'de inkübasyondan sonra, klavulanik asit içeren ve içermeyen disklerin etrafındaki inhibisyon zonları ölçülerek karşılaştırılır. Kombinasyon diskleri etrafındaki inhibisyon zonu, klavulanik asit içermeyen disk etrafındaki inhibisyon zonundan ≥ 5 mm daha geniş olan suşlar, GSBL üretimi açısından pozitif olarak kabul edilir (39) (Şekil 1).

2-Çift disk sinerji yöntemi

Jarlier ve arkadaşları (41) tarafından geliştirilen ve GSBL'nin belirlenmesinde en yaygın kullanılan testlerden biridir. McFarland 0,5 bulanıklık standardına eşdeğer olacak şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton besiyerine yayılır. Plağın ortasına bir amoksisilin-klavulanik asit diski (AMC 20/10µg) ile disk merkezleri arasındaki uzaklık 30 mm olacak şekilde seftazidim (CAZ), seftriakson (CRO) veya sefotaksim (CTX), aztreonam (ATM) veya sefopodoksim (POD) diskleri yerleştirilir. On sekiz saat 35°C'de inkübasyondan sonra test edilen sefalosporin veya aztreonam etrafındaki inhibisyon zonunun AMC diskine doğru genişlemesi veya arada bakterinin üremediği bir sinerji alanının bulunması GSBL varlığını gösterir (39) (Şekil 2).

3-E-test yöntemi

"E-test ESBL" stripleri (AB Biodisk, İsveç), bir ucunda seftazidim (TZ), diğer ucunda seftazidim ve klavulanik asit (TZL) içerecek şekilde hazırlanmıştır. Disk difüzyon için bildirilen standartlarda hazırlanan plaklarda inkübasyondan sonra, eliptik inhibisyon zonunun stripi kestiği değer MİK değerini vermektedir. TZ ve TZL MİK değerleri birbirine oranlandığında MİK değerinde ≥ 8 kat fazla azalma olması GSBL varlığını gösterir. Benzer şekilde sefotaksim ve sefotaksim-klavulanik asit (CT-CTL) içeren E-test stripleri de bulunmaktadır (Şekil 3).



Şekil 1. Kombine disk yöntemi. a: seftazidim (30 µg), b: seftazidim/klavulanik asit (30/10 µg) (39).

4-Mikrodilüsyon yöntemi

Sefotaksim ve seftazidim MİK değerleri, hem tek başına hem de klavulanik asit varlığında saptanır. Klavulanik asit varlığında MİK değerlerinde ≥ 8 kat azalma GSBL göstergesi olarak kabul edilir (39).

5-Üç boyutlu test (M3D)

Bakterilerin kanlı agar besiyerlerindeki bir gecelik taze pasajlarından hazırlanan 0,5 McFarland bulanıklığındaki süspansiyonları Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck, Almanya) besiyerine ekilerek 35°C'de dört saat inkübe edilir. Bu süre sonunda hücreler santrifüj edilerek ve ardından beş kez dondurulup çözülürük enzim ekstraksiyonu yapılır. Standart disk difüzyon testi için Mueller Hinton agara ATCC 25922 *E. coli* suşu inoküle edilerek plağın ortasına sefoksitin (30 µg) diski konulur. Diskten 5 mm uzaklıkta olacak şekilde steril bistüriyle yarıklar açılır ve yarıklara pipet yardımıyla 25-30 µL elde edilen enzimlerden konulur. Petriler 35 °C'lik etüvde bir gece inkübasyona bırakılır. Ertesi gün inhibisyon zonuyla kesişen yarıklardaki suşlardan 3 mm'ye eşit ve 3 mm'den fazla distorsiyona neden olanlar "üç boyutlu test pozitif" olarak kabul edilir (42).

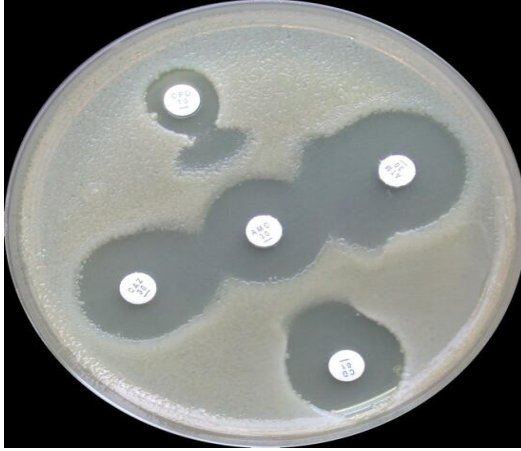
6-Boronik asit yöntemi

Bu yöntemde Boronik asidin AmpC beta-laktamaz aktivitesini inhibe etme özelliğinden yararlanılır. Boronik asit yönteminin *K. pneumoniae* karbapenemaz pozitif suşlarının belirlenmesinde oldukça başarılı olduğu bildirilmiştir. Fakat ticari hazır elde edilebilir olmaması ve sonuçların açıklanması için bir güne daha ihtiyaç duyulması nedeniyle rutin olarak kullanılmamaktadır (43).

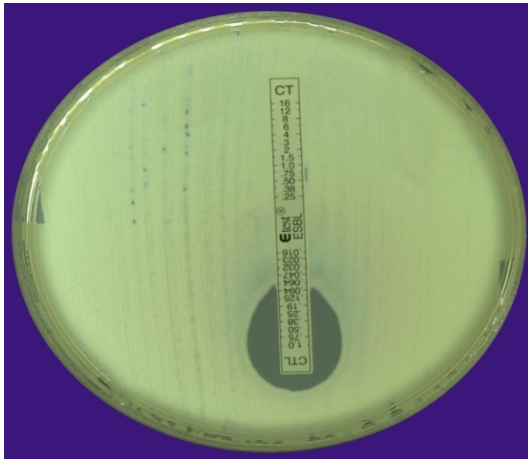
7-Otomatize sistemler

Bakteriyolojide kullanılan VITEK 2 (bioMerieux, Marcy l'Etoile/Fransa) ve Phoenix (Becton Dickinson, Sparks, MD/ABD), Mikro-scan panel test gibi otomatize sistemler de GSBL üreten suşları saptayabilmektedirler. Bu sistemler; GSBL varlığını çeşitli kuralları işleterek tüm penisilinleri,

sefalosporinleri ve aztreonamı dirençli olarak rapor ederler. Bu sistemlerin özellikle karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarındaki direnci saptamakta yetersiz olduğu bildirilmektedir (44).



Şekil 2. Çift disk sinerji yöntemi. GSBL üreten suşlarda amoksisilin/klavulanik asit diskinin etrafına (20-30 mm) yerleştirilen seftazidim, sefepim, sefoksitin, aztreonam inhibisyon zon çaplarının genişlemesi (35).



Şekil 3. E test ile GSBL tayini. Okunan MİK değerlerine göre, CT/CTL ≥ 8 olması durumunda izolatin GSBL ürettiği kabul edilmektedir.

Hızlı tanı yöntemleri

GSBL üreten bakteriler için HMRZ-86 kromojenik substratının kullanıldığı bazı yöntemler bildirilmiştir. Bu kromojenik substratın kan kültürlerine eklenmesi ile GSBL üreten bakterilerin 15 dakika-2 saat (sıvı besiyerine pasaj yapıldığında) içinde saptanması mümkün olmaktadır (45). Bu substratın kullanıldığı Cica Beta Test (Kanto Chem, Japonya; Mast İngiltere) ile 2-15 dakikada GSBL, AmpC ve metallobetalaktamaz üretimi saptanabilmektedir.

Yine sefpodoksim içerdiği için GSBL üreten bakterileri seçmenin yanı sıra *E.coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* ve *Proteae* grubu bakterilerin ayırımını yapabilen ChromID

ESBL (bioMerieux, Marcy l'Etoile/Fransa) hızlı tanı sağlayan ticari kromojenik bir besiyeridir (46). Bir başka kromojenik besiyeri olan CHROMagar CTX'in ise, AmpC üreten izolatlarda bile CTX-M pozitif *Enterobacteriaceae* üyelerini saptayabildiği bildirilmiştir (47).

Moleküler tanı yöntemleri

Spesifik GSBL tipini belirlemek için moleküler yöntemlere gerek vardır. GSBL'nin ilk belirlendiği dönemlerde izoelektrik noktanın belirlenmesi var olan GSBL'leri göstermek için yeterli olmaktadır. İzoelektrik odaklama yöntemi ile enzim tiplerinin özgül izoelektrik noktaları belirlenerek hangi gruba dahil oldukları tahmin edilebilmektedir (48). Ancak sayıları 150'nin üzerinde olan TEM tipi enzimlerin çoğu özdeş izoelektrik noktasına sahip olduğundan enzim tiplerinin sadece izoelektrik noktalara dayanarak belirlenmesi artık mümkün görünmemektedir.

Günümüzde özgül enzim tipini belirlemek için moleküler yöntemlerin kullanılması gereklidir. En sık ve en yaygın kullanılan moleküler yöntem beta-laktamaz genlerine spesifik oligonükleotid öncüllerin kullanıldığı PCR'dir. Bu yöntemle ancak enzimin bağlı olduğu aile saptanabilir, enzim varyantları arasında ayırım yapılamaz (9). Bu amaçla geliştirilen oligotyping yöntemi ile TEM-1, TEM-2 ayırımı yapılabilir (49). Oligotyping metodunda nokta mutasyonları saptayabilen proplar kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda sekans spesifik peptid nükleik asit (PNA)-bazlı multipleks PCR yönteminin *bla*-GES-2 identifikasyonunda standart PCR ve sekans yöntemlerine oranla daha doğru sonuç verdiği bildirilmektedir (50).

Enzim genlerindeki nükleotid değişikliklerini tam olarak saptayabilen DNA dizi analizi yöntemi ise halen altın standart olma özelliğini korumakla birlikte, maliyeti yüksek ve emek gerektiren bir yöntemdir. Klinik izolatlarda GSBL varlığını saptama amacıyla kullanılan yöntemlerin avantaj ve dezavantajları Tablo 2. de gösterilmiştir.

Sonuç

GSBL enzimleri tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın olarak bulunmakta ve GSBL üreten Gram negatif bakteri infeksiyonları önemli sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Bu infeksiyonların tedavisinde beta-laktam ajanların yaygın kullanımı GSBL üreten bakteri sıklığının artışına ve yeni türlerin ortaya çıkışına neden olmuştur.

GSBL sıklığı ve enzim tipleri tüm dünyada farklılıklar gösterse de GSBL varlığını ve enzim tipini belirlemek epidemiyolojik açıdan önemlidir. Bu amaçla geliştirilen izoelektrik odaklama yöntemi, beta-laktamazların bir çoğunda izoelektrik noktaların benzer olması nedeniyle tiplendirmede yetersiz kalmaktadır.

Tablo 2. Yöntemlerin üstünlüklerinin karşılaştırılması.

Yöntem	Avantajları	Dezavantajları
CLSI GSBL tarama testleri	Uygulama ve yorum kolaylığı	GSBL'ler her zaman dirençli olmayabilir
Çift disk sinerji	Uygulama ve yorum kolaylığı	Diskler arası mesafeler halen standart değil
Üç boyutlu test	Uygulama ve yorum kolaylığı	GSBL'ye özgül değildir.
E test	Uygulama kolaylığı	Duyarlılığı çift disk sinerji yönteminden daha düşük
Otomatize sistemler	Uygulama kolaylığı	Karbapenem dirençli <i>K. pneumoniae</i> suşlarındaki direnci saptamada düşük duyarlılık
İzoelektrik odaklama	Olası enzim gruplarını sınıflandırarak PCR testine öncül olma özelliğindedir.	Uygulama zor, benzer izoelektrik noktalı enzimleri ayırt etmekte yetersiz
PCR	Kolay uygulama, gen ailesine spesifik	TEM ve SHV varyantları arasında ayırım yapmada yetersiz
Oligotiplendirme	Özgül TEM varyantları saptanabilir	Yeni varyantlar tespit edilememekte
PCR-RFLP	Uygulama kolay, spesifik nükleotid değişiklikleri saptanabilir	Spesifik nükleotid değişiminin saptanmalıdır
Nükleotid dizi analizi	Altın standart. Yeni enzimler saptanabilir	Uygulanma zor, maliyet yüksek

Ancak olası enzimlerin gruplandırılmasını sağlayarak PCR gibi enzim sınıfını belirleyebilen moleküler testlere öncü olma özelliği taşımaktadır. Ülkemizin Avrupa ülkeleri içinde GSBL sıklığı en yüksek olan ülkeler arasında yer alması, hastanelerde GSBL üreten bakterilerin sıklığının izlenmesini zorunlu kılmaktadır. GSBL'lerin hızlı artışı ve salgınlar, sağaltım başarısızlığı, artan mortalite gibi ciddi sorunlara neden olmaları, doğru saptanmalarını ve tiplendirilmelerini gerektirmektedir.

Her geçen gün artan beta-laktam direncine karşı her hastanenin kendi infeksiyon ve antibiyotik kontrol programlarının güncellenmesi ve titizlikle uygulaması gerekmektedir. Bakteriyel flora özellikleri ve direnç profiline bağlı olarak her kuruluş kendisi için en uygun GSBL izleme ve doğrulama yöntemini saptayarak uygulaması bu direncin yayılımının azaltılmasında yararlı olacaktır.

Kaynaklar

- Roy C, Foz A, Segura C, Tirado M, Fuster C, Reig R. Plasmid-determined identified in a group of 204 ampicillin-resistant *Enterobacteriaceae*. J Antimicrob Chemother 1983; 12: 507-10.
- Sirot D. Extended-spectrum plasmid mediated beta-lactamases. J Antimicrob Chemother 1995; 36: 19-34.
- Jacoby GA. Genetics of extended-spectrum beta-lactamases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13(1): 2-11.
- Jacoby G, Bush K. Lahey clinic page on amino acid sequence for TEM, SHV and OXA extended-spectrum and inhibitor resistant beta-lactamases. <http://www.lahey.org/Studies>
- Mac Kenzie FM, Gould IM. Extended spectrum β -lactamases. J Infect 1998; 36: 255-58.
- Gür D. Beta-laktamazlar. Flora Dergisi 1997; 2:3-18.
- Jacoby GA, Medeiros AA. More extended-spectrum β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 1697-704.
- Ambler RP. The structure of beta lactamases. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 1980; 289: 321-31.
- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 1211-33.
- Knothe H, Shah P, Kremery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infection 1983; 11: 315-7.
- Winokur PL, Brueggemann, DeSalvo DL, et al. Animal and human multidrug resistant, cephalosporin-resistant *Salmonella* isolates expressing a plasmid-mediated CMY-2 AmpC beta-lactamase. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 2777-83.
- Nordmann P, Guibert M. Extended spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother 1998; 42: 128-31.
- Gür D. ESBL'ların Genel Özellikleri ve ESBL Tipleri. Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2004.
- Canton R, Morosini MI, de la Maza OM, de la Pedrosa EG. IRT and CMT beta lactamases and inhibitor resistance. Clin Microbiol Infect 2008; 14: 53-62.
- Stürenburg E, Mack D. Extended spektrum beta lactamases: Implications for the clinical microbiology laboratory, therapy and infection control. J Infect 2003; 47: 279-95.
- Livermore D. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. J Antimicrob Chemother 2007; 59(2): 165-74.

17. Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 557-84.
18. Walter RJ, Hoiby N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 373-83.
19. Nordman P, Guibert M. Extended spektrum beta lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology* 1998; 42: 128-31.
20. Aubert D, Poirel L, Chevalier J, Leotard S, Pages JM. Oxacillinase-mediated resistance to cefepime and susceptibility to ceftazidime in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents Chemother* 2001; 45: 2615-20.
21. Nordmann P, Naas T. Sequence analysis of PER-1 extended spectrum beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* and comparison with class A beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 104-14.
22. Bauernfeind A, Stemmlinger I. Characterization of beta-lactamase gene blaPER-2, which encodes an extended-spectrum class A beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 616-20.
23. Nordman P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 962-9.
24. Paterson DL, Bonomo RA. Extended spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 657-86.
25. Vahaboğlu H, Öztürk R, Aygün G, et al. Widespread detection of PER-1 type extended spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicentre study. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 2265-9.
26. Poir L, Naas T, Guibert M, Chaibi B, Labia R, Nordmann P. Molecular and biochemical characterization of VEB-1, a novel class A extended-spectrum beta-lactamase encoded by an *E. coli* integron gene. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 573-81.
27. Poir L, Le Thomas I, Naas T, Karim A, Nordmann P. Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum beta-lactamases, and the class 1 integron In52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 622-32.
28. Naas T, Poirel L, Nordmann P. Minor extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14(S1): 42-52.
29. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum β -lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe the Americans, and the Western Pasific Region. *Clin Infect Dis* 2001; 32(Suppl2): 94-103.
30. Beindenbach DJ, Moet G J, Jones R. Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial surveillance program (1997-2002). *Diag Microb Infect Dis* 2004; 50: 59-69.
31. Tonkic M, Barisic I. Prevalence and antimicrobial resistance of extended spectrum beta lactamases producing *E. coli* and *K. pneumoniae* strains isolated in a university hospital in Split. *Int Microbiol* 2005; 8: 119-24.
32. Işık F, Arslan U, Tuncer İ. Klinik örneklerden soyutlanan *Klebsiella* türlerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığı ve antibiyotik duyarlılığı. *İnfeksiyon Dergisi* 2007; 21: 33-8.
33. Gülay Z. Gram negatif çomaklarda antibiyotik direnci: 2003-2004 Türkiye Haritası. *ANKEM* 2005; 19: 66-77.
34. Gür D, Gülay Z, Akan Arıkan Ö ve ark. Türkiye’de hastane izolatu gram-negatif bakterilerde yeni beta-laktam antibiyotiklere direnç ve GSBL tipleri: çok merkezli HİTİT surveyansının sonuçları. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42: 537-44.
35. T M Coque, F Baquero, R Canton. Increasing prevalence of ESBL producing Enterobacteriaceae in Europe. *Eurosurveillance* 2008; 13: 47: 1-11.
36. Tzouvelekis LS, Tzelepi E, Tassios PT, Legakis NJ. CTX-M type beta lactamases: an emerging group of extended spectrum enzymes. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 14: 137-142.
37. Çelebi S, Yüce N, Çakır D, Hacımustafaoglu M, Özkaya G. Çocuklarda Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamaz Üreten *E. coli* Enfeksiyonlarında Risk Faktörleri ve Klinik Sonuçları; Beş Yıllık Çalışma *Çocuk Enf Derg* 2009; 3: 5-10.
38. Bradford PA, Cherubin CE, Idemyor V, Rasmussen BA, Bush K. Multiply resistant *Klebsiella pneumoniae* from two Chicago hospitals: identification of the extended spectrum TEM-12 and TEM-10 ceftazidime-hydrolyzing beta-lactamases in a single isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 761-6.
39. Gülay Z. ESBL’lerin tanı yöntemleri. Ünal S, Vahaboğlu H, Leblebicioğlu H, Öztürk R, Köksal İ (eds). *Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar*. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2004.
40. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty first informational supplement. M100-S21. Wayne, Philedelphia, 2009.
41. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988; 10(4): 867-78.
42. Barroso H, Freitas VA, Lito LM. Survey of *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamases at a Portuguese hospital: TEM-10 as the endemic enzyme. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 611-6.

43. Patel JB, Rasheed JK, Kitchel B. Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: activity, epidemiology, and laboratory detection. Clin Microbiol Newsletter 2009; 31(8): 55-62.
44. Endimiani A, Perez F, Bajaksouzian S, Windau AR, Good CE, Choudhary Y, Hujer AM, Bethel CR, Bonomo RA, Jacobs MR. Evaluation of updated interpretative criteria for categorizing *Klebsiella pneumoniae* with reduced carbapenem susceptibility. J Clin Microbiol 2010; 48(12): 4417-25.
45. Tenover FC, Rajinder K, Williams PP. Carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* not detected by automated susceptibility testing. Emerg Infect Dis 2006; 12(8): 1209–13.
46. Jain S, Andrews J, Fraise A, Brenwald N. Rapid detection of extended spectrum beta-lactamase producing Gram-negative bacilli in blood cultures. J Antimicrob Chemother 2007; 60(3): 652-4.
47. Réglie-Poupet H, Naas T, Carrer A, et al: Performance of chromID ESBL, a chromogenic medium for detection of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases, J Med Microbiol 2008; 57(3): 310-5.
48. Randall LP, Kirchner M, Teale CJ, Coldham NG, Liebana E, Clifton-Hadley F: Evaluation of CHROMagar CTX, a novel medium for isolating CTX-M-ESBL positive Enterobacteriaceae while inhibiting AmpC- producing strains, J Antimicrob Chemother 2009;63(2):302-8.
49. Matthew M, Harris AM, Marshall MM, Ross GW. The use of analytical isoelectric focusing for detection and identification of beta-lactamases. J Gen Microbiol 1975; 88: 169-78.
50. Tham TN, Mabilat C, Courvalin P, Guesdon JL. Biotinylated oligonucleotide probes for the detection and the characterization of TEM-type extended broad spectrum β -lactamases in *Enterobacteriaceae*. FEMS Microbiol Lett 1990; 69: 109-16.

İletişim Yazarı

Dr. Duygu Dağlar

Serik Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı,

ANTALYA

e-posta:ddaglar77@hotmail.com

Kafeik Asit Fenetil Ester (KAFE) ve Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon (Mİ/R) Hasarı

Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) and Myocardial Ischemia Reperfusion (MI/R) Injury

Hakan Parlakpınar¹, Mehmet Hamdi Örüm², Ahmet Acet¹

¹Inönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Malatya

²Inönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem IV Öğrencisi, Malatya

Özet

İskemi, doku hasarı ile sonuçlanan, dokuya yetersiz oksijen ve besin desteğine yol açan kan akımı durması veya azalmasını ifade eder. Miyokard dokusunun yaşamının devam edebilmesi için iskemik alanın erken reperfüzyonu önemlidir. Ancak reperfüzyonun kendisi de, reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan miyokard hücrelerinin ölümü ile sonuçlanır. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon (Mİ/R) hasarının özellikle reperfüzyon dönemindeki artmış serbest radikal üretimi ve hücre içi aşırı kalsiyum yüklenmesi ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır. Araştırmacılar, Mİ/R hasarını önlemek için kullanılacak ajanlar üzerinde pek çok çalışmalar yapmaktadır. Bal arısı kovanlarından elde edilen propolisin aktif bir bileşeni olan kafeik asit fenetil ester (KAFE)' nin antikarsinojenik, immünomodülatör, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklerinin olduğu bilinmektedir. KAFE, serbest radikalleri süpüren ve antioksidan enzimleri aktive eden bir ajandır. Bu bulgular KAFE' nin iskemik kalp hastalıklarının önlenmesi ve tedavisinde, özellikle hayatı tehdit eden reperfüzyon aritmilerinde ve ileriki yaşam kalitesini etkileyebilen infarkt alanının önlenmesinde klinik olarak test edilebileceğini düşündürmektedir. Bu derlemede Mİ/R hasarının mekanizmaları ve KAFE' nin Mİ/R ile ilgili hasar üzerindeki etkilerinin gözden geçirilmesi amaçlandı.

Anahtar Kelimeler: Kafeik asit fenetil ester, Miyokardiyal iskemi/reperfüzyon, Propolis.

Abstract

Ischemia refers to lack of or decreased blood flow, which leads insufficient oxygen and nutrient supply to the tissue, which in turn results in tissue damage. Early reperfusion of the ischemic area is important in viability of the myocardial tissue. However, reperfusion also often results in injury to the myocardial cells, which has been termed reperfusion injury. It is believed that MI/R injury is related to increased free radical formation and calcium overloading especially during the reperfusion period. Researchers are working on the agents that can be used to prevent MI/R injury. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE), an active component of propolis from honeybee hives, is known to have anticarcinogenic, immunomodulatory, antiinflammatory, and antioxidant properties. It has been demonstrated that CAPE is an agent which is a free radical scavenger and activates antioxidant enzymes. These findings thought that CAPE would be valuable to test in clinical trials for prevention and of possible MI/R-induced injury, especially life threatening reperfusion-induced arrhythmias and infarct size effecting life quality. In this review we have summarized the mechanisms of MI/R injury and the effects of CAPE on myocardial damage that related to MI/R injury.

Key Words: Caffeic acid phenethyl ester, Myocardial ischemia/reperfusion, Propolis.

Giriş

Kalp hastalıkları, dünyadaki ölüm ve hastaneye yatışların en önemli sebeplerinden biridir (1). Miyokard dokusunun kan ihtiyacının aterosklerotik plak, trombus veya inflamasyon gibi sebepler neticesinde yeterli düzeyde karşılanamaması halinde iskemik kalp hastalıkları oluşur (2). İskemi sonrasında dokunun oksijen ve besin ihtiyacı karşılanmadığı gibi; artık maddeler de uzaklaştırılmaz. Kurtarılan miyokard doku miktarını artırmak için, doku kan akımı en kısa sürede yeniden sağlanmalıdır. Doku reperfüzyonu'nun bu önemli etkisinin yanında, morfolojik değişikliklere, ventriküler aritmilere sebep olan istenmeyen etkileri de vardır (3). Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon (Mİ/R) hasarı trombolitik olaylarda, perkütan translüminal koroner anjiyoplasti ve koroner by-pass ameliyatı gibi işlemler sırasında gelişebilmektedir (4). Reperfüzyon döneminde hücre içine giren moleküler oksijenin, hızla serbest oksijen

radikali üretimine sebep olması doku hasarının en önemli bileşenidir. Bunun yanı sıra gerçekleşen inflamatuvar olaylar hasarı daha da komplike bir hale getirmektedir.

Araştırmacılar, insanlar için hayati bir öneme sahip olan Mİ/R hasarı sırasında oluşan oksidatif stres ve inflamasyon ilişkili olaylarda tedavide kullanılacak ajanlar bulmaya yönelik çalışmalara ağırlık vermişlerdir.

Doğal antioksidanlar arasında enzimler (süperoksit dismutaz-SOD, katalaz-KAT, glutatyon peroksidaz-GPx, glutatyon redüktaz, sitokrom-C-oksidad, hidroksiperoksidaz), makromoleküller (seruloplazmin, transferrin, ferritin, myogloblin, haptoglobilin) ve mikromoleküller (β-karoten, A-vitami, C-vitami, E-vitami, tokoferoller, tiol içerenler, glutatyon (GSH), N-asetil sistein, metionin, kaptopril, ubiquinon,

melatonin) sayılabilir (5). Kafeik Asit Fenetil Ester (KAFE), eksojen olarak kullanılan antioksidan ajanlardan birisidir.

KAFE, bal arıları tarafından toplanan güçlü antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antioksidan ve antineoplastik aktiviteleri olan propolislerin aktif bir bileşenidir. KAFE' nin serbest radikalleri süpüren ve antioksidan enzimleri aktive eden bir ajan olduğu gösterilmiştir. Son yıllarda yapılmış olan birçok çalışmada antioksidan özelliğe sahip olan KAFE' nin MI/R hasarından etkilenen organ ve dokularda reaktif oksijen ve nitrojen radikallerine bağlı olarak gelişen zararları önlediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (6, 7). Biz bu derlemede KAFE' nin MI/R hasarı üzerindeki etkilerini açıklamayı amaçladık.

Bal

Hipokrat (M.Ö. 466–377) balın, hava ve suya eşdeğer olduğunu söylemiş ve yüksek ateş, yaralanma, ödem ve iltihaplanmalara karşı yazılan reçetelerde en başta bala yer vermiştir. Yunanlı ve Arap hekimler de balı çeşitli göz, ruh ve sinirsel hastalıklarda yalnız veya bitkilerle karıştırarak şurup veya merhem şeklinde kullanmışlardır (8). Bal, şeker ve diğer bazı bileşiklerin birer karışımıdır. Bu karışımın içinde maltoz, sükroz ve diğer kompleks karbonhidratlarla beraber (9) daha az miktardaki vitaminler, mineraller (10) ve antioksidanlar (11) bulunmaktadır. Balın antioksidan özelliği içerdiği glukoz oksidaz, KAT gibi enzimlerden ve askorbik asit, flavonoid, fenolik asit, amino asit, protein, organik asit gibi bileşiklerden kaynaklanmaktadır (12). Propolis, antioksidan özellikleri olan diğer bir bal arısı ürünüdür.

Propolis

Propolis bal arıları tarafından çeşitli kaynaklardan toplanmış, reçinemi materyalin genel adıdır (13). Arılar propolisi kovanların hasarlanan yerlerinin tamirinde, giriş deliklerinin kapatılmasında, dezenfeksiyonda ve kovanın içine giren zararlı maddeler, mikroorganizmalar ve böceklerin mumyalanarak etkisiz hale getirilmesi işlemlerinde kullanırlar (14). Propolisin içerisinde fenolik (flavonoidler: flavonlar, flavononlar ve flavonoller) ve ilgili bileşikler (fenolik asitler ve esterleri) ile kafeik asit esterleri (kafeik asit benzil ester, salisilik asit benzil ester, sinamik asit benzil ester ve kafeik asit fenetil ester -KAFE-) vardır (15).

Propolis uzun yıllardan beri halk hekimleri tarafından en çok antiseptik, antibakteriyel, antiinflamatuvar ve rejeneratif amaçlarla çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Propolisin antimikrobik (16), antiinflamatuvar (17) ve rejeneratif (18) etkileri yanında immünomodülatör (19), antimutajenik (20), karsinostatik (21) ve antioksidan (22) etkileri bilimsel çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu etkilerin çoğunun propolisin etkin maddelerinden biri olan KAFE' ye bağlı olduğu gösterilmiştir (23, 24).

Kafeik asit fenetil ester (KAFE)

KAFE, arıların bitkilerden topladığı özütün içerisinde bulunan keskin ve güzel kokulu propolis maddesinin aktif bileşenlerinden birisidir (25). NF-KB aktivasyonu, lipit peroksidasyonu (26), lipooksijenaz (27), siklooksijenaz (28) aktiviteleri, protein tirozin kinaz (29) ve ornitin dekarboksilaz (30) üzerindeki potent ve spesifik inhibitör etkilerinden kaynaklanan KAFE' nin antiviral, antiinflamatuvar, immünomodülatör ve antioksidan özellikleri vardır.

Organizmada normal fizyolojik şartlarda veya herhangi bir patolojik olay sonucunda oluşan serbest radikaller ile bunların koruyucusu olan antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin, serbest radikaller lehine kayması oksidatif stresi gösterir. Yapılan araştırmalar KAFE' nin insan nötrofillerinde ve ksantin/ksantin oksidaz sisteminde 10 µmol konsantrasyonda reaktif oksijen radikali (ROS) üretimini tam olarak bloke ederek antioksidan etki oluşturduğunu göstermiştir (25). İskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarı ayrıca polimorfonükleer nötrofil aktivasyonu ile ilgilidir ve böylece olay daha karmaşık bir hale gelmektedir (31). Yukarıda sayılan özelliklerinden dolayı KAFE, bu hasar mekanizmalarını önlemek için kullanılabilir güçlü bir antiinflamatuvar üründür.

İnflamasyon, proliferasyonu uyaran kemotaktik ve mitojenik faktörlerin salınımını artırır. Redükte glutatyon (GSH) aktivitesinin azalması ve malondialdehid (MDA) içeriğinin artması ile sonuçlanan inflamasyon, bu sürecin patofizyolojisinde oksidatif stresin rolünü göstermektedir. Nitrik oksit (NO) başta olmak üzere reaktif nitrojen türleri inflamasyonda önemli bir rol oynar. Örneğin, inflamatuvar süreçte göz dokularındaki nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesi anlamlı bir şekilde artar. Makrofajlar ve nötrofiller gibi hücrelerde NOS aktivitesi indüklenebilir. Bu yüzden NOS aktivitesinin arttığı durumlar bize bu hücrelerle ilgili patolojik bir durumun olduğunu gösterebilir. NOS' un inhibisyonu, inflamasyon ve doku hasarını azaltabilir. KAFE, indüklenebilir NOS' u (iNOS) baskılayan ve bu şekilde NO aktivitesini azaltan özelliği nedeniyle, Türköz ve ark. (32) tarafından yapılan bir çalışmada tavşanlara intraperitoneal (i.p.) olarak 3 gün enjekte edilmiş (15 µmol /kg) ve proliferatif vitreoretinopati (PVR) üzerine etkinliği araştırılmıştır. Araştırma sonucunda KAFE' nin PVR' de inhibitör etkisinin olduğu görülmüş ve daha önceden yükselmiş bulunan MDA ile NO' nun azaldığı, ve düşük bulunan GSH düzeylerinin ise KAFE tarafından yükseltildiği gösterilmiştir. Serbest oksijen ara ürünlerini azaltarak proliferasyonu ve kollajen sentezini baskılayan, lipooksijenaz ve siklooksijenaz yollarının ikisini birden inhibe ederek antiinflamatuvar etkinlik gösteren KAFE, PVR' de kullanılabilirliği yönünde olumlu bir sonuç göstermiştir. Bazı ilaçların böbrekte meydana getirdikleri hasar ROS oluşumu ile ilişkilidir. KAFE' nin bilinen antioksidan, serbest radikal süpürücü

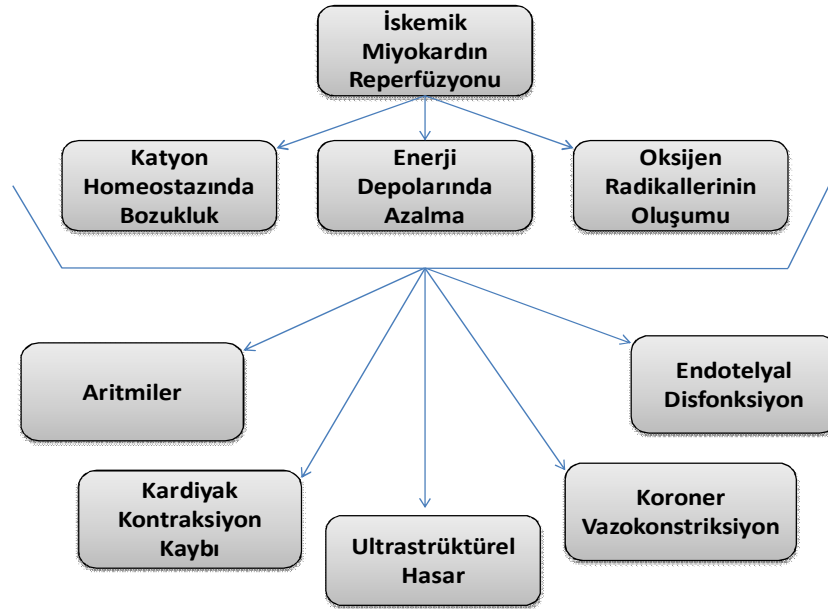
etkileri ile hücrel savunma mekanizmalarını restore edebileceği ve böylelikle lipid peroksidasyonunu engelleyebileceği hatta redukte GSH konsantrasyonunu dengeleyebileceği ve bu şekilde geniş bir yelpazeye sahip olan nefrotoksik ajanların toksik etkilerine karşı böbreği koruyabileceği öngörülmüştür.

KAFE' nin oksidatif stres ve inflamatuvar olaylar üzerindeki bu etkisi araştırmacıları insan vücudunda meydana gelen oksidatif stres ve inflamasyon kaynaklı hasarlarda KAFE' nin etkinliğini araştırmaya yöneltmiştir. Biz de daha önceki bir çalışmamızda (33) gentamisine (GEN) bağlı akut böbrek toksisitesinde, KAFE tedavisinin, sadece GEN uygulanan gruba göre SOD, KAT, GSH, NO ve MDA sonuçlarını anlamlı bir şekilde düzelttiğini göstermiştik. Nefrotoksiteden dolayı anlamlı bir şekilde artmış olan serum kan üre ve kreatinin düzeylerini de KAFE uygulaması anlamlı

olarak azaltmış bulundu. Ayrıca, histopatolojik incelemelerde GEN uygulanan grupta böbrekte tübüler nekrozun oluştuğu, KAFE uygulanması ile böbrek hasarının azaldığı görülmüştü.

Miyokardiyal iskemi reperfüzyon (MI/R) hasarı

Ateroskleroz, koroner vazospazm veya inflamasyon gibi nedenlerle kan ihtiyacının kısmen ya da tamamen karşılanamaması halinde miyokard dokusunda iskemi gelişir. Miyokardiyal iskeminin en önemli sebebi koroner aterosklerozdur. İskemide hücrel enerji depoları boşalır ve oluşan metabolitlerin temizlenmesinin aksaması nekrotik ve apoptotik mekanizmalarla hücre ölümüne neden olur. Fakat bunlardan daha önemlisi dokuda oksijen yetmezliği vardır. Bu durum ölümcül aritmiler ve miyokard infarktüsü gibi ciddi durumlarla sonuçlanır (2).



Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Algoritması

İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımının sağlanması gereklidir. Ancak iskemik dokunun reperfüzyonu, dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar (34). Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan ROS türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır.

İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücrel oksidatif fosforilasyon azalır ve ATP (adenozin 5'-trifosfat) ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır. Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na^+ , K^+ -ATP az pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde Na^+ ve Ca^{+2} iyon konsantrasyonları artar. Hücre içinde Ca^{+2} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için

sitotoksiktir. Yine bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin, lökosit adezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin aktivitesi ve ekspresyonunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar (35).

İskemik miyokardın reperfüzyonu, ROS oluşumuna yol açmaktadır (36). Bu metabolitler, (süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH^\cdot) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), reperfüzyon hasarının önemli nedenlerinden biri olarak görülmektedir. Eşleşmemiş bir elektrona sahip olan ROS, yüksek reaktivitesi nedeniyle hücre içindeki tüm biyomoleküllere karşı atak yapar. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücrel yapılar zar lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir (37). ROS etkisiyle oluşan organik peroksitler, kendileri de

radikal özelliği kazandıkları için başka moleküllere atak yaparlar. Zincirleme bir şekilde devam eden bu olay, radikallerin tutulması, peroksitlerin ortamdan temizlenmesine kadar sürebilir. SOD, KAT, GPx, glutatyon ve vitamin E gibi antioksidanlar, oksidatif strese karşı organizmanın savunma hattını oluşturmaktadır.

İskemi, kalp hücrelerinin fonksiyonlarını kaybetmelerine neden olur. Miyokard infarktüsünün en önemli nedeni, koroner aterosklerozdur. Araştırmalar proteaz inhibitörlerinin, pıhtılaşma faktörlerinin ve kompleman aktivasyonunun koroner risk faktörü olabileceğini göstermektedir (38). Miyokard dokusunun reperfüzyonu özellikle akut miyokard infarktüsünde (AMİ) kurtarılan sağlam doku miktarını artırmak için önemlidir. Kan akımının yeniden sağlanması ile infarkt gelişen dokuda inflamatuvar reaksiyon oluşur. İnflamasyon, hasar sonrası dokunun iyileşmesinde önemli bir yer tutmaktadır (39). Bununla birlikte iskemi sonrası inflamasyon, nötrofillerin infiltrasyonu, damar endotel aktivasyonu, endotelial hücre adezyon molekülleri ve inflamatuvar sitokinlerin artışı gibi bir dizi olayları içerir (40).

KAFE' nin Mİ/R hasarı üzerindeki etkileri

Kalp hastalıkları, ölüm nedenleri içerisinde ilk sırada yer almakta ve ani ölümlerin çoğundan Mİ/R aritmileri sorumlu tutulmaktadır (41). Bu aritmilerin nedeni hala spekülasyon olmakla beraber, iskemideki elektrofizyolojik anormallikler (özellikle, Ca^{+2} ve K^{+} için iyonik dengesizlik) ve reperfüzyonda aşırı serbest radikal üretimi, geçerli hipotezler olarak kabul edilmektedir. Bu radikaller membran hasarı, DNA yıkımı, proteaz aktivasyonu, lipid ve protein peroksidasyonu, apoptoz ve nekrozla sonuçlanan hücre ölümü meydana getirmektedir. KAFE' nin serbest radikal süpürücü özelliği yanında antioksidan etkisi, Mİ/R hasarında etkili bir koruyucu olabileceğini düşündürmektedir (42).

Ksantin/ksantin oksidaz İ/R süresinde oluşan OH^{\cdot} ve H_2O_2 radikallerinin potansiyel bir kaynağıdır. KAFE ise bu radikalleri çok güçlü bir şekilde süpürür. KAFE, H_2O_2 ' lerini metabolize eden GPx enzimini ayrıca aktive eder, $O_2^{\cdot-}$ radikalini H_2O_2 ' e katalize eden SOD aktivitesini artırarak, oksidatif stres esnasında KAT aktivitesindeki azalmayı önleyerek ve NO oluşumundan sorumlu NOS enzimini inhibe ederek etki göstermektedir (43, 44).

Daha önceden çok iyi tanımlanan antioksidan (45) ve antiinflamatuvar (46) etkilerinden dolayı, temelde oksidatif stres kaynaklı olan ve inflamatuvar olayların eşlik ettiği Mİ/R hasarında, KAFE' nin etkinliğini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Araştırma grubumuzun 2004 yılında yaptığı bir çalışmada (43) KAFE' nin Mİ/R sonrası gelişen oksidatif stres hasarı üzerindeki etkileri araştırılmıştı. Bizim çalışmamızda Mİ/R protokolü uygulanan sıçan kalplerinde KAFE'

nin kalp dokusundaki MDA ve GSH içerikleri üzerindeki etkilerine bakıldı. Erkek sıçanların kullanıldığı çalışmada hayvanlar üç gruba ayrıldı: (I) Kontrol; (II) Mİ/R; (III) KAFE (50 μ mol /kg)+Mİ/R. Mİ/R protokolüne göre sıçanların sol koroner arterleri 30 dk iskemiye maruz bırakıldı ve takiben 120 dk reperfüze edildi. KAFE, iskemiden 10 dk önce başlanarak ve damarın bağlı olduğu süre içerisinde devam edecek şekilde infüzyon yoluyla jugüler venden verildi. Araştırma sonuçlarımıza göre Mİ/R grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MDA üretiminde anlamlı bir artış görülürken; KAFE verilen grup Mİ/R grubuyla karşılaştırıldığında MDA üretiminde anlamlı bir azalmaya yol açtı. Ayrıca Mİ/R grubunda azalan GSH içeriği KAFE verilmesi ile düzeltildi. Histopatolojik incelemede, Mİ/R grubundaki sıçanların kalplerinde ileri derecede morfolojik hasar saptanırken, Mİ/R+KAFE grubunda hasarın belirgin bir şekilde azaldığı gözlemlendi. Bu sonuçlar bize Mİ/R'in oksijen radikallerin artmış üretimi ya da antioksidanların yetersizliğinden kaynaklanan kalp hasarına neden olduğunu ve KAFE' nin radikal tutucu/süpürücü ve antioksidan etkisiyle kalbi koruduğunu göstermektedir.

Organizmanın bütün hücrelerinde bulunan ve hücrelerin protein yapısı dışındaki sülfidril grubu içeriğinin % 90 kadarını oluşturan GSH, zararlı bileşiklerin etkisiz hale getirilmesinde önemli rollere sahiptir. GSH radikal kaynaklı hasara karşı koyarken GPx gibi bir antioksidan enzim için de substrat olarak görev yapar ve bir radikal tutucusu gibi davranır. Özellikle peroksidaz ve redüktaz enzimlerinin aktiviteleri için son derece önemlidir. İ/R sonrası artan serbest radikaller lipid peroksidasyonuna neden olur. MDA gibi lipid peroksidasyonunun son ürünleri, Mİ/R sonrası gelişen ROS aracılı miyokard hasarının ölçülmesinde kullanılırlar.

Kalp dokusunu kurtarmak için gerekli olan reperfüzyon, içinde myokardiyal apoptoz ve nekrozun olduğu bir seri olayın başlamasına neden olur. KAFE, antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri ile kalbi apoptoza karşı koruyabilir. Çalışma ekibimizin yaptığı bir diğer çalışmada (44) KAFE' nin Mİ/R kaynaklı apoptoz üzerindeki etkilerini araştırıldı. Çalışmada, 10-12 haftalık erkek sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar dört gruba ayrıldı: (I) Kontrol, (II) KAFE grubu (50 μ mol/kg): Mİ/R uygulanmadan sadece KAFE verilen grup, (III) Mİ/R grubu, (IV) Mİ/R+KAFE (50 μ mol/kg) ile tedavi edilen grup. Kalpte İ/R oluşturmak için, sol inen koroner arter bağlandı ve diğer çalışmalarımızda olduğu gibi kalp, 30 dk iskemi-120 dk reperfüzyona maruz bırakıldı. KAFE, aynı şekilde iskemiden 10 dk önce verilmeye başlandı ve iskemi boyunca uygulanmaya devam edildi. Histopatolojik incelemede apoptozu göstermek için TUNEL (DNA parçalarının serbest 3'OH kısmı biotin, digoxigenin ya da florescein gibi nükleotidler vasıtasıyla modifiye edilmiş enzimetik etiketler ile belirlenmesi) metodu (47) kullanıldı. Ayrıca biyokimyasal analizler ile

sonuçlarımız desteklenmeye çalışıldı. Kontrol grubu ve sadece KAFE verilen grupta kalp hücre nükleusları normal bulundu. Mİ/R grubunda, özellikle sol ventrikülün serbest duvarında, interventriküler septumda ve apekte TUNEL-pozitif kardiyomyositler yaygın olarak görüldü. KAFE ile tedavi edilen grupta ise apoptotik kardiyomyositlerin nadir olduğu gözlemlendi. TUNEL sonuçları kaspaz-3 ve kaspaz-9 immün boylarıyla da doğrulandı. Biyokimya analiz sonuçlarımız kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Mİ/R grubunda, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA seviyesinin ve NO üretiminin anlamlı bir şekilde arttığı görülürken; SOD ve KAT' aktivitelerinin azaldığı görüldü. Oysa KAFE ile tedavi edilen grupta enzim düzey değişiklikleri düzelmiş olarak bulundu. Sonuç olarak bu çalışmada da KAFE'nin, kalbi hem biyokimyasal hem de histopatolojik düzeyde Mİ/R' in apoptotik etkilerinden korumak için güçlü bir serbest radikal tutucusu olduğunu gösterildi.

KAFE'nin Mİ/R' den kaynaklanan infarkt alanı üzerindeki tedavi edici etkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmamızda ise (48), 14 erkek sıçan iki gruba ayrılarak ve yukarıdaki çalışmalarda uygulanan Mİ/R protokolleri aynen uygulanmıştır. Bir gruba iskemiden 10 dk önce KAFE verilmeye başlanarak ve iskemi boyunca da verilmeye devam edilmiştir. İnfarkt büyüklüğü ve risk zonu planimetrik yöntemlerle belirlenip kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, KAFE (50 µmol/kg) uygulanan grupta miyokardiyal infarkt alanı/risk zonu alanı oranının, istatistiksel anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada da, Mİ/R tarafından indüklenen miyokardiyal hasarın azaltılmasında KAFE'nin etkinliğini gösterilmiştir.

Sonuç olarak KAFE, Mİ/R aracılı oksidatif stresin tetiklediği hasar basamaklarını, nötrofiller, ksantin oksidaz ve lipooksijenaz ile etkileşime girerek koruyabilir/düzeltebilir. KAFE'nin Mİ/R hasarında klinik uygulanabilirliğini test etmek için mikro ve makro düzeyde daha detaylı ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Kaynaklar

- 1.McGovern PG, Pankow JS, Shahar E et al. Recent trials in acute coronary disease: mortality, morbidity, medical care and risk factors: the Minnesota Heart Survey Investigators. N Engl J Med 1996; 334: 884-90.
- 2.Lefler DJ, Granger DN. Oxidative stress and cardiac disease. Am J Med 2000; 109: 315-23.
- 3.Aksulu HE, Ercan ZS, Türker RK. Further studies on the antiarrhythmic effects of iloprost. Arch Int Pharmacodyn Ther 1985; 277: 223-34.
- 4.Izumi T, Saito Y, Kishimoto I. Blockade of the natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase-A inhibits NF-κB activation and alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury. J Clin Invest 2001; 108: 203-13.
- 5.Hilmi Ş. Oksidanlar ve antioksidanlar. Türk Hastane Tıp Dergisi 1994; 48 (1-2): 44-9.

- 6.Ozyurt H, Irmak MK, Akyol O, Sogut S. Caffeic acid phenethyl ester changes the indices of oxidative stress in serum of rats with renal ischaemia-reperfusion injury. Cell Biochem Funct 2001; 19(4): 259-63.
- 7.Ozer MK, Parlakpınar H, Acet A. Reduction of ischemia-reperfusion induced myocardial infarct size in rats by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). Clin Biochem 2004; 37(8): 702-5.
- 8.Brown R. Honey roydén brown's bee hive product bible. 2000; 123: 33.
- 9.National Honey Board. Carbohydrates and the Sweetness of Honey. 2010.
- 10.USDA Nutrient Data Laboratory "Honey". 2007. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>
- 11.Gheldof N, Wang X, Engeseth N. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. J Agric Food Chem 2002; 50 (21): 5870-7.
- 12.Beretta G, Orioli M, Facino RM. Antioxidant and radical scavenging activity of honey in endothelial cell cultures. Planta Med 2007; 73(11): 1182-89.
- 13.Ivanov DF, Tikonov AI, Krivenchuk PE, Liurskaia FV. Propolis and its clinical usage. Oftolmol Zh 1973; 28(2): 104-7.
- 14.Krol W, Scheller S, Shani J, Pietsz G, Czubaz. Synergistic effect of ethanolic extract of propolis and antibiotics on the growth of *Staphylococcus aureus*. Arzneimittelforschung 1993; 43(5): 607-9.
- 15.Bankova V, Dylgerov A, Popov S, et al. Propolis produced in Bulgaria and Mongolia: phenolic compounds and plant origin. Apidologie 1992; 23: 79-85.
- 16.Persano Oddo L, Piro R. Main European unifloral honeys: Descriptive sheets. Apidologie 2004; 35: 38-81.
- 17.Conti ME. Lazio region (Central Italy) honeys: a survey of mineral content and typical quality parameters. Food Control 2000; 11: 459-63.
- 18.Iskander FY. Trace and minor elements in four commercial honey brands. J Radioanalyt Nuclear Chem 1995; 201: 401-8.
- 19.Rodriguez-Otero JL, Paseiro P, Simal J, Cepeda A. Mineral content of the honeys produced in Galicia (North-west Spain). Food Chem 1994; 49: 169-71.
- 20.Deutsche Gesellschaft für Ernährung. "Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr". Umschau/Braun. Frankfurt am Main. 2000.
- 21.Al-Mamary M, Al-Meerri A, Al-Habori M. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. Nutr Res 2002; 22: 1041-47.
- 22.Yılmaz H, Yavuz O. Content of some trace metals in honey from South-Eastern Anatolia. Food Chem 1999; 65: 475-6.
- 23.Koltuksuz U, Irmak MK, Karaman A, et al. Testicular nitric oxide levels after unilateral testicular torsion/detorsion in rats pretreated with caffeic acid phenethyl ester. Urol Res 2000; 28: 360-3.
- 24.Irmak MK, Koltuksuz U, Kutlu NO, et al. The effects of caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury in comparison with α-tocopherol in rat kidneys. Urol Res 2001; 29: 190-3.
- 25.Hepşen IF, Tilgen F, Er H. Propolis: Tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımı. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 1996; 3: 386-91.

- 26.Grunberger D, Banerjee R, Eisinger K, Oltz EM, Efras L, Coldwell M. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. *Experientia* 1988; 44: 230-2.
- 27.Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Pushkareva MA, Korshunova GA, Sumbatyan NV, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxigenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett* 1993; 329: 21-4.
- 28.Michaluart P, Masferrer JL, Carothers AM, et al. *Cancer Res* 1999; 59, 2347-52.
- 29.Kimura Y, Okuda H, Okuda T, Hatano T, Agata I, Arichi S. Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. VII. Effects of extracts of leaves of *Artemisia* species, and caffeic acid and chlorogenic acid on lipid metabolic injury in rats fed peroxidized oil. *Chem Pharm Bull* 1985; 33: 2028-34.
- 30.Lee SK, Song L, Mata-Greenwood E, Kelloff GJ, Steele VE, Pezzuto JM. Modulation of in vitro biomarkers of the carcinogenic process by chemopreventive agents. *Anticancer Res* 1999; 19: 35-44.
- 31.Lang JD Jr, Figueroa M, Chumley P et al. Albumin and hydroxyethyl starch modulate oxidative inflammatory injury to vascular endothelium. *Anesthesiology* 2004; 100: 51-8.
- 32.Turkoz Y, Er H, Borazan M et al. Use of caffeic acid phenethyl ester and cortisone may prevent proliferative vitreoretinopathy. *Mediators of Inflammation*, 2004; 13(2): 127-30.
- 33.Parlakpınar H, Tasdemir S, Polat A, et al. Protective role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. *Toxicology* 2005; 207 169-77.
- 34.Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 65-83.
- 35.Xu KY, Zweier JL, Becker LC. Hydroxyl radical inhibits sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase function by direct attack on the ATP binding site. *Circ Res* 1997; 80: 76-81.
- 36.Bolli R. Oxygen-derived free radicals and myocardial reperfusion injury: an overview. *Cardiovasc Drugs Ther* 1991; 5: 249-68.
- 37.Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr* 1990; 137: 1-53.
- 38.Hopkins PN, Williams RR. A survey of 246 suggested coronary risk factors. *Atherosclerosis* 1981; 40: 1-52.
- 39.Entman ML, Smith CW. Postreperfusion inflammation: a model for reaction to injury in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1301-11.
- 40.Kukielka GL, Hawkins HK, Michael L, et al. Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in ischemic and reperfused canine myocardium. *J Clin Invest* 1993; 92: 1504-16.
- 41.Reiter RJ, Tan DX. Melatonin: A novel protective agent against oxidative injury of the ischemic-reperfused heart. *Cardiovascular Research* 2003; 58: 10-9.
- 42.Gross GJ, Kersten JR, Warltier DC. Mechanisms of postischemic contractile dysfunction. *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 1898-904.
- 43.Ozer MK, Parlakpınar H, Cigremis Y, Ucar M, Vardi N, Acet A. Ischemia reperfusion leads to depletion of glutathione content and augmentation of malondialdehyde production in the rat heart from overproduction of oxidants: can caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protect the heart? *Mol Cel Biochem* 2005; 273: 169-75.
- 44.Parlakpınar H, Sahna E, Acet A, Mizrak B, Polat A. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on myocardial ischemia-reperfusion-induced apoptotic cell death. *Toxicology* 2005; 209: 1-14.
- 45.Ozen S, Akyol O, Iraz M, et al. Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Appl Toxicol* 2004; 24: 27-35.
- 46.Krol W, Scheller S, Czuba Z et al. Inhibition of neutrophils' chemiluminescence by ethanol extract of propolis (EEP) and its phenolic components. *Ethnopharmacol* 1996; 55: 19-25.
- 47.Jin WP, Quan XQ, Meng FP, Cui XD, Piao HJ. Relationship among hepatocyte apoptosis, P450 2E1 and oxidative stress in alcoholic liver disease of rats. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2007; 19(7): 419- 21.
- 48.Ozer MK, Parlakpınar H, Acet A. Reduction of ischemia-reperfusion induced myocardial infarct size in rats by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Clin Biochem* 2004; 37(8): 702-5.

Yazar Katkıları

1. *Dr.Hakan PARLAKPINAR*: Çalışma koordinatörü, tasarımı, veri toplama/okuma-ayrıştırma, çalışmanın yazım ve kontrolü.
2. *Mehmet Hamdi ÖRÜM*: Veri toplama/okuma, çalışmanın yazımı ve redaksiyonu.
3. *Dr.Ahmet ACET*: Çalışma tasarımı, veri toplama/okuma, çalışmanın kontrolü ve düzenlenmesi.

İletişim Yazarı

Doç. Dr. Hakan PARLAKPINAR
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji
AD, MALATYA
e-posta:hakan.parlakpınar@inonu.edu.tr

İkinci Trimestir Gebelerde Depresyon ve Anksiyete Bozukluğu ile İlişkili Faktörlerin Değerlendirilmesi

Evaluation of the Factors Associated with Depression and Anxiety Disorder in the Pregnants at Second Trimester

Engin Ortaarık¹, İmran Tekgöz², Muharrem Ak³, Erdal Kaya⁴

¹ Eryaman 7 Nolu Aile Sağlığı Merkezi, Ankara

² Mesude Terek Aile Sağlığı Merkezi, Aksaray

³ İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği AD, Malatya

⁴ Ulaş İlçe Hastanesi Aile Hekimliği, Sivas

Özet

Bu çalışmada gebeliğin ikinci trimestirinde olan hamile kadınlarda anksiyete ve depresif bozukluk düzeyleri ve bunları etkileyen faktörlerin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya Temmuz-Ağustos 2008 tarihleri arasında Ankara Eğitim Araştırma Hastanesi kadın hastalıkları ve doğum kliniği birinci gebe polikliniğine başvuran 2. trimestir 126 gebe dahil edildi. Hastaların sosyodemografik özellikleri, obstetrik öykülerinin tespitinde anket formu, psikiyatrik bozuklukların tanımlanmasında Mental Hastalıkların Birinci Basamak Değerlendirilmesi (Primary Care Evaluation of Mental Disorders PRIME-MD) kullanıldı. Toplam 126 gebenin PRIME-MD ile değerlendirme sonucunda %46'sı bir ya da daha fazla psikiyatrik tanı aldı. Bunların %40,5'i anksiyete bozukluğu, %26,2'si depresif bozukluktu, %20,6'sında ise anksiyete bozukluğu ve depresif bozukluk birlikteliği görüldü. Depresif bozukluğu olan gebelerde majör depresyon oranı %16,7, distimi oranı %9,5 idi. Geçirilmiş psikiyatrik hastalık öyküsü olan gebelerde anksiyete ve depresyon oran daha yüksekti (sırasıyla, p=0,012, p=0,032). Prime MD ölçeği gebeliğin ikinci trimestirinde anksiyete ve depresyon gibi psikiyatrik bozuklukları tanımlamada faydalı bir araçtır. Bu ölçeği kullanmanın ve gerekli önlemleri almanın depresyon ve anksiyete ilişkili komplikasyonları azaltacağını düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Gebelik, Anksiyete, Depresyon, PRIME-MD.

Abstract

In this study, investigation of the level and effecting factors of anxiety and depression in the women at second trimester of pregnancy were aimed. Total 126 pregnant women in the second trimester of pregnancy attending to the gynecology and obstetric clinic of Ankara Training and Research Hospital included in to the study. Sociodemographic and obstetric history were recorded. Prime MD scale was used in the determination of psychiatric disorders. Evaluation with PRIME-MD scale rendered 46% of the pregnant women afflicted with psychiatric morbidity. Of the pregnant women 40,5% only anxiety disorder, 26,2% only depression, and 20,6% had both anxiety disorder, and depression. The rate of major depression rate was 16,7% and rate of dystimia was 9%. Those pregnant women who had history of depressive disorder had higher rates of depression and anxiety (p=0,012, p=0,032, respectively). Prime MD is a useful tool to identify the psychiatric disorders like anxiety and depression in the second trimester of pregnancy. We think that using this scale and taking necessary precaution may reduce the complications associated with depression and anxiety.

Key Words: Pregnancy, Anxiety, Depression, PRIME-MD.

Giriş

Gebelik kadın hayatında önemli biyolojik ve psikososyal değişimlerin yaşandığı, kaygı ve stres oluşturabilecek birçok etkenle karşılaşma riskinin yüksek olduğu bir dönemdir (1). Gebelik süreci aile içi iletişimi neşe, doyum, mutluluk kaynağı olarak etkilemektedir. Gebelik anne karnındaki çocuğun sağlığı, cinsiyeti doğum sonrası gereksinimleri açısından belirsizlikleri de içerdiği için endişeye de neden olabilmektedir. Birçok kadın gebelik ve doğum ile ortaya çıkan fizyolojik, psikolojik ve sosyal değişimlere kolaylıkla uyum sağlarken, bazı kadınlarda hafif, orta ve şiddetli düzeylerde ruhsal hastalıklar ortaya çıkmaktadır (2). Gebelik süresince annenin ruh halini ve bu durumun çocuğa yansımaları ile yapılan çalışmalar mevcuttur (3,4).

Antenatal stresin; plasental, maternal pitüiter, adrenal aksın aktivasyonu ile preterm doğuma neden olduğu bildirilmiştir (5). Bu durum, preterm doğumla plasental ve maternal plazma kortikotropin hormonunun salınım düzeyinin yükselmesiyle ilişkili bulunmuştur (5,6).

Bu bilgiler ışığında stres etmenlerinin ve ağırlığının erken dönemde saptanarak ölçülebilmesi, uygun şekilde müdahaleye olanak verip gebeliğin sonuçlarına olumlu katkıda bulunulabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada 2. trimestir gebelerde birinci basamakta kullanılan mental hastalıkların birinci basamak değerlendirilmesi (Primary Care Evaluation of Mental Disorders, PRIME-MD) ölçeğini uygulayarak, gebelikteki depresyon ve anksiyete bozukluğu ile

sosyo-demografik özellikler arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Gözlemsel ve kesitsel nitelikteki çalışmaya 15.08.2008 ve 15.09.2008 tarihleri arasında Ankara Eğitim Araştırma Hastanesi 1. Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği gebe polikliniğine başvuran ve gebeliğinin 2. trimesterinde (14-27 hafta) olan 126 kadın dahil edildi. Gebelik haftası obstetrik ultrasonografi ile tespit edildi. Ultrasonografide malformasyon belirlenenler, kronik hastalık öyküsü, çoğul ya da invitro fertilizasyon ile gebelik öyküsü olan, 18 yaşın altında olan gebeler ve sözlü onam vermeyenler çalışmaya dahil edilmedi.

Gebelere çalışma ile ilgili bilgi verilip sözlü onamları alındıktan sonra yüzyüze yapılan görüşmelerle sosyodemografik özellikleri ve obstetrik öyküleri kaydedildi. Anksiyete ve depresyon durumunun değerlendirilmesinde mental hastalıkların birinci basamakta değerlendirilmesi ölçeği (Prime-MD) kullanıldı. Ölçeğin Türkçe'ye çevirisi ile geçerlilik ve güvenilirlik çalışmaları Çorapçıoğlu ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (7).

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler sayısal şekilde kodlanıp SPSS.15 (Statistical Programme for Social Science/US) ile değerlendirildi ve analizlerde $p<0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Grup içindeki farklılıkların tespitinde ki-kare testi kullanıldı. Çalışma; Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik kurulunun kararı ile yürütüldü.

Sonuçlar

Çalışmaya alınan 126 gebenin yaşları 18 ile 40 arasında değişmekle birlikte yaş ortalaması $26,03\pm 5,03$ idi. Evlilik yaşları 14 ile 27 yaş aralığında olup ortalama evlilik yaşı $19,71\pm 2,9$ idi. Evlilik süreleri 0,3 ile 24 yıl aralığında olup ortalama evlilik süresi $6,4\pm 5,5$ yıldır. Ortalama eğitim süreleri $7,2\pm 3,1$ yıldır.

Çalışma grubunun %26,1'inde eşler arasında 1. dereceden akrabalık mevcuttu. Ailelerin ekonomik durumuna bakıldığında %51,6'sında aylık gelir 500-1000 TL arasındaydı. Gebelerin büyük çoğunluğu (%93,7) çalışmazken eşlerinin büyük çoğunluğu (%98,4) çalışıyordu.

Çalışma grubu obstetrik öykülerine göre değerlendirildiğinde; gebelik sayısı 1 ile 10 aralığında değişmekte olup ortalama gebelik sayısı $2,4\pm 1,3$ idi. İlk gebeliğini yaşayanların oranı %25,4'ken, 5 ve üzeri gebeliği olanların oranı %5,6 idi.

Hiç doğum yapmamış gebelerin oranı %33,3 iken, 1 kez doğum yapan gebe oranı %40,5'ti. Gebelerin %16,7'sinde abortus, %11,1'inde küretaj öyküsü mevcuttu. Daha önceki doğum şekillerine bakıldığında gebelerin %54'ünün normal doğum yaptığı saptandı. Gebelerin %34,9'unun yaşayan çocuğu yoktu. Mevcut

gebelik, gebelerin %96,8'inde istenen, %72,2'sinde planlanan gebelikti.

Tablo 1. Gebelerin PRİME-MD ile aldığı tanıların alt küme dağılımı.

	Psikiyatrik Tanı	Sayı (n/%)
Anksiyete bozukluğu dağılımı	Tanı yok	75 59,4
	Yaygın anksiyete bozukluğu	7 5,6
	BTA anksiyete bozukluğu	38 30,2
	Panik bozukluk	6 4,8
Toplam		126 100,0
Depresif bozukluk dağılımı	Tanı yok	93 73,8
	Majör depresif bozukluk	21 16,7
	Distimi	12 9,5
Toplam		126 100,0

Gebelerin %46'sının bir ya da daha fazla psikiyatrik tanı aldığı görüldü. Buna göre gebelerin %19,8'inde anksiyete bozukluğu, %7'sinde depresif bozukluk, 20,6'sında hem anksiyete ve hem depresif bozukluk saptandı (Tablo 1).

Anksiyete bozukluğu olan ve olmayan gebeler arasında yaş, evlenme yaşı ve evlilik süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla $p=0,434$, $p=0,654$, $p=0,567$).

Anksiyete bozukluğu olan gebelerin %33,3'ünde akraba evliliği mevcuttu ancak akraba evliliği ile anksiyete bozukluğu arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,338$).

Aylık gelir düzeyi 500 TL'nin altında olan grupta anksiyete oranının daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,729$).

Anksiyete bozukluğu olan ve olmayan gebeler arasında gebeliğin planlanmış olması açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,946$).

Anksiyete bozukluğu saptanan gebelerin %71,4'ünde psikiyatrik hastalık öyküsü mevcuttu. Önceden psikiyatrik hastalık olma durumu ile anksiyete bozukluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,012$).

Anksiyete bozukluğu olan ve olmayan gebeler obstetrik özellikleri açısından değerlendirildiğinde hiç doğum yapmamış veya 1 doğum yapmış gebelerde anksiyete görülme sıklığı daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,072$).

Anksiyete bozukluğu olan gebelerde abortus öyküsü oranı daha yüksek olmasına rağmen anksiyete bozukluğu ile abortus öyküsü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,465$). Yine küretaj öyküsü olanlarda anksiyete bozukluğu riskinin

arttığı görülmekle beraber istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p=0,054$).

Anksiyete bozukluğu ile doğum şekli arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; normal spontan vajinal doğum (NSVD) ($p=0,358$) ve sezaryen ile doğum yapma durumunda anksiyete bozukluğu üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edildi ($p=0,653$).

Depresyon saptanan gebelerde yaş ortalaması $25,33\pm 5,25$, ortalama evlilik süresi $6,62\pm 5,31$ ve

ortalama evlenme yaşı $18,66\pm 2,34$ idi. Gruplar arasında yaş ve evlilik süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu (sırasıyla $p=0,272$, $p=0,558$).

Aylık gelir düzeyi ile depresif bozukluk açısından anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,401$). Önceden geçirilmiş psikiyatrik hastalık öyküsü açısından değerlendirildiğinde psikiyatrik hastalık öyküsü olan gebelerde depresyon oranının daha yüksek olduğu görüldü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,032$).

Tablo 2. Hastaların sosyo-demografik özellikleri ile depresyon-anksiyete ilişkisi

Hasta Özellikleri	Anksiyete				P	Depresyon				P	
	Var (n/%)	Yok (n/%)	Var (n/%)	Yok (n/%)		Var (n/%)	Yok (n/%)				
PHÖ*	Var	10	71,4	4	28,6	.012**	7	50,0	7	50,0	.032*
	Yok	41	36,6	71	63,4		26	23,2	86	76,8	
Abortus	Var	10	47,6	11	52,4	.46	10	47,6	11	52,4	.46
	Yok	41	39,0	64	61,0		41	39,0	64	61,0	
Küretaj	Var	9	64,3	5	35,7	.05	4	28,6	10	71,4	.83
	Yok	42	37,5	70	62,5		29	25,9	83	74,1	
NSVD	Var	25	36,8	43	63,2	.35	20	29,4	48	70,6	.37
	Yok	26	44,8	32	55,2		13	22,4	45	77,6	
Sezeryan	Var	9	45,0	11	55,0	.65	4	20,0	16	80,0	.28
	Yok	42	39,6	64	60,4		29	27,4	77	72,6	
Toplam		51		75			33		93		

*Psikiyatrik Hastalık Öyküsü; ** İstatistiksel olarak anlamlı.

Önceden geçirilmiş abortus ve küretaj öyküsü ile depresif bozukluk arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (sırasıyla $p=0,415$, $p=0,830$).

Gruplar doğum şekli açısından değerlendirildiğinde normal spontan vajinal doğum ve sezeryan doğum ile depresif bozukluk arasında anlamlı bir ilişki gözlenmedi (sırasıyla, $p=0,373$, $p=0,492$).

Tartışma

Gebelik ve doğum, normal bir yaşam olayı gibi görünse de kadın için büyük bir stres nedeni olabilmektedir. Bu dönemde her kadın hafif ya da yoğun kaygı yaşayabilir. Bir düzeye kadar normal olan bu duygu durum değişikliği, bir noktadan sonra kişinin yaşam aktivitelerini, sosyal yaşamını ve kişiler arası ilişkilerini olumsuz yönde etkiler. Annelerin birçoğu gebelik ve doğumla ortaya çıkan fizyolojik, psikolojik ve sosyal değişimlere uyum sağlayabilirken, bir bölümünde ise hastaneye yatırılmayı gerektirecek kadar ağır psikiyatrik tablolar geliştirebilmektedir (8,9).

Bir sistematik derlemede gebelikte depresyon yaygınlığı birinci, ikinci ve üçüncü trimestirlerde sırasıyla, % 7,4, %12,8 ve % 12 olarak bildirilmiştir (10). Bazı araştırmalarda ikinci trimestire göre ilk ve üçüncü trimestirlerde depresyon ve kaygı belirti sıklığının daha fazla olduğu bulunmuştur (11,12).

Andersson ve ark. (13) tarafından İsveç'te 2. trimestir gebelerde PRİME-MD'yi kullanarak yaptıkları çalışmada gebelerin %14,1'i bir ya da daha fazla psikiyatrik tanı almıştır. Depresif bozukluğun %11,6 ile en büyük prevelans oranına sahip olduğu saptanmıştır. Bunların %3,2'si majör depresyon, %7,1'i minör depresyon olarak bulunmuştur. Gebelerin %6,2'sinde anksiyete bozukluğu mevcutken, %4,2'sinde tanımlanmamış anksiyete bozukluğu tespit edilmiştir. (13). Bizim çalışmamızda ise 2. trimestir gebelerin %46'sında bir ya da daha fazlasında psikiyatrik tanı tespit edildi. Bunların %40,5'inde anksiyete bozukluğu, %26,2'sinde depresif bozukluk, %20,6'sında anksiyete bozukluğu ve depresif bozukluk birlikteliği görüldü. Anksiyete bozukluğu olan gebelerin %5,6'sı yaygın anksiyete bozukluğu, %30,2'si tanımlanmayan anksiyete bozukluğu ve %4,8'i panik bozukluk tanısı aldı. Depresif bozukluğu olan gebelerin %16,7'si majör depresyon, %9,5'i distimi tanısı alırken majör depresyonun kısmi remisyonu tanısını alan hastamız olmadı.

Bazı çalışmalarda genç yaşın gebelikte depresyon için bir risk etkeni olduğu bildirilmiştir (13,14). Genç yaşın yanı sıra, ilk gebelik olması, sigara ve alkol kullanmayı gebelikte kaygı ile ilişkilendirmişlerdir. Çalışmamızda gebelerin yaşı ile depresyon ve anksiyete arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ancak literatürde bizim sonuçlarımızı destekleyen çalışmalar da mevcuttur (15).

Gebenin iş durumunun anksiyete ve depresyon arasında ilişkisinin olmadığını bildiren çalışmalar olduğu gibi çalışmayanlarda depresyonu yüksek bulan araştırmalar da mevcuttur (16-18). Gebelikte, özellikle düşük sosyoekonomik koşullara sahip kadınlarda depresif belirtilerin daha yaygın olduğunu gösteren birçok çalışma vardır (19,20). Ailenin ekonomik durumunun gebelik ve doğum komplikasyonları üzerine etkili olduğu ile ilgili yayınlar vardır (21). Çalışmamıza aldığımız ailelerin ailenin gelir düzeyi ile depresyon ve anksiyete düzeyleri arasında belirgin bir ilişki olmadığını görüldü. Bu konuyu netleştirecek detaylı çalışmalar gerekmektedir.

İstenmeyen gebelik depresyon için önemli bir risk etkeni olarak birçok çalışmada ortaya konulmuştur. Çalışmamızda gebeliğin istenmeyen veya planlanmayan gebelik olması ile anksiyete ve depresif bozukluk arasında anlamlı bir ilişki yoktu. Bu durum sosyal desteğin olması ile açıklanabilir.

Daha önce geçirilmiş, psikiyatrik hastalıkların gebelikte depresyon ve kaygı için önemli bir risk etkeni olduğunu bildiren çalışmalar bildirilmektedir (13,14). Çalışmamızda da daha önce geçirilmiş psikiyatrik hastalık öyküsü anksiyete ve depresyon için bir risk faktörü olarak tespit edildi.

Biz bu çalışmamızda Prime-MD ölçeğini kullandık. Prime-MD ölçeği ile psikiyatrik hastalık belirti düzeyi belirleme oranı yüksektir. Prime-MD ölçeği kolay uygulanabilirliği ile obstetrik hastalarda psikiyatrik hastalıkların prevalansının değerlendirilmesinde uygun bir ölçek olduğu düşünülmektedir. Prime-MD temel olarak birinci basamakta en çok rastlanan dört ruhsal bozukluk (duygu durum bozukluğu, anksiyete bozukluğu, alkol kötüye kullanımı ve somatoform bozukluk) grubunun incelenmesinde uygun ve güvenli bir ölçektir. Prime-MD "hasta soru formu" ve "klinisyen değerlendirme kılavuzu" olmak üzere iki bölüme ayrılır. Hasta soru formu, hastanın kendisi tarafından yanıtlanan evet-hayır tarzındaki 26 sorudan oluşmaktadır. Hasta soru formundaki sorulara verilen yanıtlara göre "klinisyen değerlendirme kılavuzu"na geçiş yapılır ve bu kılavuzdaki daha ayrıntılı değerlendirme ile tanıya gidilir.

Önceki gebeliklerinde ve doğum sırasında olumsuz deneyimleri olan kadınlar bu gebeliğinde de aynı olumsuzlukların tekrarlanabileceği endişesini duyabilirler. Gebelik döneminde ve doğum sırasında herhangi bir problemle karşılaşmayan kadınlar ise daha az kaygı duyacaklardır. Çalışmamızda vajinal doğum ya da sezaryen ile doğum yapmanın annelerdeki anksiyete ve depresyon prevalansını etkilemediği görüldü.

Gebelikte anksiyete ve/veya depresif bozukluğu olan kadınlarda şiddetli postnatal depresif semptomlar oluşma riskinde artışın getirdiği patofizyolojik

sorunların ötesinde, bu bulguların potansiyel klinik anlamları olabilir. Anksiyete ve depresif semptomlar gebeler tarafından sıklıkla belirtilmektedir. Bir gebenin tıbbi değerlendirmesi yapılırken fiziksel değerlendirmenin yanı sıra psikiyatrik ve sosyodemografik özelliklerin de göz önüne alınması yolu ile bütüncül bir yaklaşım gereklidir. Özellikle psikiyatrik hastalık öyküsü anksiyete ve depresif bozukluk açısından risklidirler. Erken tanı ve etkin psikoterapotik tedaviler ile gebelikteki depresyon ve anksiyete bozukluğuna bağlı erken doğum, düşük doğum ağırlığı gibi komplikasyonların önüne geçilebilir.

Kaynaklar

1. Da Costa D, Larouche J, Dritsa M. Variations in Stress Levels Over The Course of Pregnancy: Factors Associated With Elevated Hassles, State Anxiety and Pregnancy-Specific Stress. *J Psychosom Res* 1999; 47: 609-21.
2. Karaçam Z, Kitiş Y. Doğum sonrası depresyon tarama ölçeği: Türkçe'de geçerlilik ve güvenilirliği. *Türk Psikiyatri Dergisi* 2007; 18: 3.
3. Orr ST, James SA, Blackmore PC. Maternal prenatal depressive symptoms and spontaneous preterm births among African-American women in Baltimore, Maryland. *Am J Epidemiol* 2002; 156: 797-802.
4. Hoffman S, Hatch MC. Depressive symptomatology during pregnancy: evidence for an association with decreased fetal growth in pregnancies of lower social class women. *Health Psychol* 2000; 19: 535-43.
5. Hobel, C. J. Maternal plasma corticotropin-releasing hormone associated with stress at 20 weeks gestation in pregnancies ending in preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 257-63.
6. McGrath S, McLean M, Smith D. Plasma corticotrophin-releasing hormone trajectories vary depending on the cause of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 257-60.
7. Çorapçioğlu A, Köroğlu E, Ceyhan B, Doğan O. Birinci basamak sağlık hizmetlerinde psikiyatrik tanı koydurucu bir ölçeğin (Prime-MD) Türkiye için uyarlanması. *Nöropsikiyatri Gündemi* 1996; 1(1): 3-10.
8. Büyükkoca M. Algılanan Sosyal Destek ile Postpartum Depresyon Arasındaki İlişkinin İncelenmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. İzmir. 2001.
9. Kayahan B, Altıntoprak E, Karabilgin S, ve ark. On-beş kırkdokuz yaşları arasındaki kadınlarda depresyon prevalansı ve depresyon şiddeti ile risk faktörleri arasındaki ilişki. *Anadolu Psikiyatri Dergisi* 2003; 4: 561-71.

10. Dietz PM, Williams SB, Callaghan WM, et al. Clinically identified maternal depression before, during, and after pregnancies ending in live births. *Am J Psychiatry* 2007; 164: 1515-20.
11. Kuğu N, Bolayır E. Anksiyete Bozukluklarında PET ve SPEKT Bulguları. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni* 2001; 11: 132-42.
12. Rizzardo R, Magni G, Cremonese C, et al. Variations in anxiety levels during pregnancy and psychosocial factors in relation to obstetric complications. *Psychother Psychosom* 1988; 49: 10-6.
13. Andersson L, Sundstrom-Poromaa I, Wulff M, Astrom M, Bixo M. Implications of antenatal depression and anxiety for obstetric outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 104: 467-76.
14. Akbaş E, Vırt O, Kalenderoğlu A, Savaş AH, Sertbaş G. Association between sociodemographic variables with the levels of depression and anxiety in pregnancy. *Nöropsikiyatri Arşivi* 2008; 45: 9-13.
15. Seguin L, St-Denis M, Loiselle J. Chronic stressors, social support and depression during pregnancy. *Obstet-Gynecol* 1995; 85: 583-8.
16. Ağır D. Postpartum depresyon ile ilişkili sosyodemografik risk faktörlerinin incelenmesi. Uzmanlık Tezi. Ankara. 2008.
17. Karaçam Z, Ançel G. Depression, anxiety and influencing factors in pregnancy: a study in a Turkish population. *Midwifery* 2009; 25(4): 344-56.
18. O'Hara MW. Social support, life events and depression during pregnancy and the puerperium. *Arch Gen Psychiatry* 1986; 43: 569-73.
19. Zuckerman B, Amaro H, Bauchner H, et al. Depressive symptoms during pregnancy; relationship to poor health behaviors. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160: 1107.
20. Eren T. Postpartum Depresyon Prevalansı ve Sosyodemografik Risk Faktörleri. Uzmanlık Tezi. İstanbul. 2007.
21. Sertbaş G. Gebelerde doğum öncesi ve sonrası dönemlerde durumluk-sürekli kaygı düzeylerinin incelenmesi. Doktora Tezi. İzmir. 1998.

İletişim Yazarı

Yrd. Doç. Dr. Muharrem AK
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği AD,
MALATYA
e-posta: muharrem.ak@inonu.edu.tr

Orijinal Araştırma Makalesi**Paraoksonaz-1 Enziminin Bazı Kinetik Özelliklerinin İncelenmesi ve Ghrelin Hormonu ile İlişkisi***Investigation of the Some Kinetic Features of Paraoxonase-1 Enzyme and Its Relationship with Ghreline Hormone***Uğur Aşkın¹, Fikret Karataş¹, Yusuf Türköz², Süleyman Aydın³**¹Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Elazığ²Inönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Malatya³Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Elazığ**Özet**

Bu çalışmada, sığır karaciğerinden saflaştırılan ve metabolizma için büyük öneme sahip olan Paraoksonaz-1 (E.C. 3.1.1.2. ve E.C. 3.1.8.1.) enziminin bazı kinetik özellikleri ile ghrelin hormonu arasındaki ilişki araştırıldı. Paraoksonaz-1 enziminin pH:7.1 ve 37 °C'de optimum aktivite gösterdiği saptandı. Substrat olarak fenil asetat kullanıldığında K_m değeri 0.074 ± 0.002 mM ve V_{max} değeri 36.42 U/mg olarak hesaplandı. Paraoksonaz-1 enziminin aktif ghrelin hormonuna etki ettiği ve aktif ghrelin hormonunu 20 dakika sonunda % 9.5 oranında inaktif ghreline dönüştürdüğü tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Paraoksonaz-1, Kinetik özellikler, Ghrelin, HPLC.

Abstract

In this study, some of the kinetic features of paraoxonase-1 (E.C. 3.1.1.2. and E.C. 3.1.8.1.) that is purified from bovine liver and has major importance for metabolism and, the relationship between paraoxonase-1 and ghrelin hormone has been investigated. It is seen that paraoxonase-1 displays optimum activity at pH: 7. 1 and 37 °C. When phenyl acetate is used as a substrate, it is calculated that K_m value was 0.074 ± 0.002 mM and V_{max} value was 36.42 U/mg. It is determined that paraoxonase-1 interacts with the active ghrelin and converts it into the inactive ghreline at the end of 20 minutes. The converting rate was found as 9.5 %.

Key Words: Paraoxonase-I, Kinetic features, Ghrelin, HPLC.

Giriş

Biyokimyasal olayları katalizleyerek, organizmalardaki canlılığı sağlayan enzimlerin kinetik özelliklerinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Metabolizmada önemli işlevleri olan bu enzimlerden biri de Paraoksonaz-1 (PON1) enzimidir. PON1 enzimi, serumda HDL'ye bağlı olup antioksidan özelliği ile okside LDL yapısındaki lipid peroksitleri hidrolizleyip lipoprotein oksidasyonunu önlemektedir. HDL'ye aynı zamanda ghrelin hormonunda bağlanmaktadır. PON1 enziminin ghrelini inaktif forma getirdiği düşünülmektedir. Bu bilgilerin ışığında, bu çalışmada sığır karaciğerinden kısmen saflaştırılmış PON1 enziminin, ghrelin hormonu ile ilişkisi incelenmiş ve bazı kinetik özellikleri (K_m , V_{max} , optimum pH ve sıcaklık gibi) araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem**Paraoksonaz-1 (PON1) Enzimi**

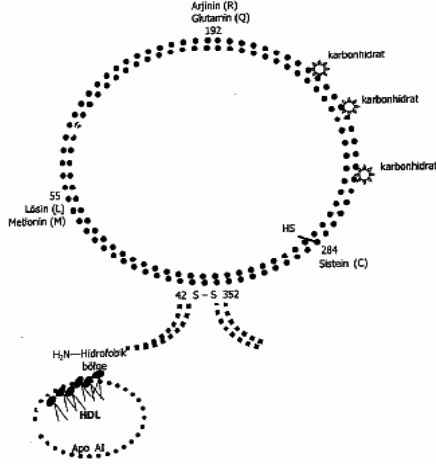
PON1 karaciğerde sentezlenen, 43-45 kilo-dalton moleküler ağırlıklı, 354 aminoasit içeren glikoprotein yapıda, Ca^{+2} bağımlı bir esteraz enzimidir (1,2). Paraoksonaz enzim aktivitesinin Ca^{+2} 'a bağımlı olma özelliği ile Co^{+2} , Mn^{+2} , Mg^{+2} kullanan diğer A esteraz tipi enzimlerden farklı olduğunu gösterir (3). PON1'in genetik yapısı, insanlar ve diğer populasyonlar arasında çok çeşitlilik gösterir.

Serumda HDL'ye bağlı olarak bulunur. İzoelektrik noktası 5,1'dir. Molekül ağırlığının % 15,8'ini oluşturan üç karbonhidrat zinciri içerir. PON1'in yapısındaki amino asitler içinde substrat tanınması ve bağlanması için gerekli olan serbest sisteinlerden 284'teki serbest iken, 42. ve 352. pozisyonundaki sisteinler arasında 1 tane disülfid bağı bulunur.

Serbest sistein substrat tanınması ve bağlanması için gereklidir. PON1'in, hidrofobik N-terminal bölgesi HDL lipidleriyle etkileşim için gereklidir. N-terminal hidrofobik bölge ile fosfolipidlere ve lipoproteinlere kolayca bağlanabilmektedir. PON1'i bağlayan HDL alt birimleri, Apolipoprotein AI (Apo AI) ve Apo J (klusterin) proteinlerini de içerdiğinden, Apo AI ve Apo J'nin bağlanmada rol oynayabileceği düşünülmektedir (4).

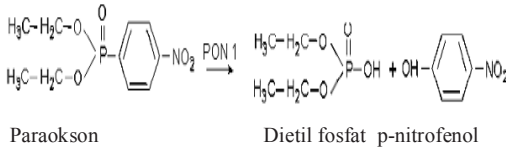
İnsan serum paraoksonaz enziminin iki genetik polimorfizmi bulunmaktadır. Bu iki polimorfizm 55. ve 192. pozisyonlardaki aminoasitlerin değişimi ile ortaya çıkar. Yüz doksan ikinci pozisyonundaki glutamin (Q aleli) arginin (R aleli) ile değişince birinci polimorfizm; 55. pozisyonundaki metionin (M aleli) lösin (L aleli) ile değişince ikinci polimorfizm oluşur. Yüz doksan ikinci pozisyonunda glutamin varlığında PON1 A Tipi; 192. pozisyonunda arginin varlığında ise, B Tipi

şeklinde ifade edilir. Ancak son zamanlarda A Tipi Q izoenzimi, B Tipi ise R izoenzimi, olarak ifade edilmektedir ve PON1'in hem Q hem de R izoenzimlerinin LDL'yi oksidasyona karşı koruma özelliğine sahip oldukları gösterilmiştir. Ancak Q izoenzimi paraoksone karşı düşük afiniteye sahip iken, R izoenzimi yüksek afiniteye sahiptir (5-8).



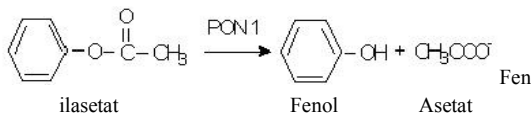
Şekil 1. PON1 enziminin yapısı (5).

Organofosfat bileşiklerinden parationun (parathion) aktif katabolik metaboliti olan paraokson (o,o-dietil-o-p-nitrofenil fosfat), enzime adına verdiği gibi, aktivite tayininde de en çok kullanılan substratlardan birisidir. Ayrıca aromatik karboksilli asit esterlerinden fenil asetat, enzimin arilesteraz aktivitesinin tayininde sıklıkla kullanılmaktadır. PON1'in hidrolitik aktivitesiyle açığa çıkan p-nitrofenol veya fenol konsantrasyonu spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile PON1 aktivitesi tayin edilebilmektedir (9, 10).



Şekil 2. PON1 enziminin paraoksonu hidrolizi (11).

PON1 aktivite stabilizasyonu için Ca^{+2} iyonuna gereksinim duymaktadır. Kalsiyum, doğrudan katalitik reaksiyonlarda yer alarak ya da aktif bölgenin uygun konformasyonda tutulmasını sağlayarak etkisini göstermektedir. Ayrıca paraoksonun P=O bağımlı da polarize ederek fosforun nükleofilik saldırıya yatkınlığını sağlar, böylece dietil fosfatın aktif alandan ayrılmasını kolaylaştırır (3).



Şekil 3. PON1 enziminin fenilasetatı hidrolizi (11)

PON1'in en iyi bilinen koruyucu fonksiyonu, organofosfat nörotoksinleri, aromatik karboksilik asit

esterlerini ve insektisitleri hidroliz etme yeteneğidir. Toksik organik molekülleri hidroliz etmesi, PON1'in tanımlanan ilk fizyolojik fonksiyonudur. Organofosfat bileşiklerini hidroliz etme özelliğinin ortaya çıkartılması sonrası PON1, toksikolojik çalışmalarda dikkate alınan önemli bir enzim haline gelmiştir (2).

PON1'in belirlenen ikinci biyolojik fonksiyonu antiaterojenik aktiviteye sahip olmasıdır. Serum PON1 enzimi plazma lipoproteinlerinin oksidasyonunu önlemede rolü olduğu düşünülmektedir. Lipidlerin peroksidasyonu sonrası farklı özellik ve yapıda lipid peroksidler meydana gelir. PON1, bu lipid peroksidleri yıkıma uğratabilmektedir. PON1'in HDL'nin yapısında bulunması nedeniyle HDL ve LDL'de lipid peroksid oluşumunu ve aynı zamanda birikimini de önler. PON1 içermesi nedeniyle HDL'nin LDL'yi oksidasyona karşı koruyucu etkisi, yani antioksidan etkisi, A ve E vitaminlerinden daha güçlüdür (12, 13).

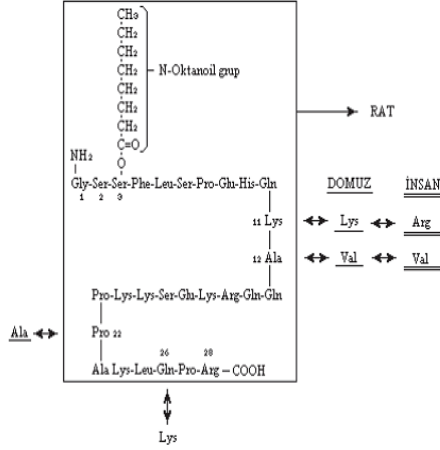
Mackness ve arkadaşlarının (12) çalışmasında, serum PON1'in ateroskleroz sürecinin başlangıç evresinde LDL fosfolipidlerini oksidasyona karşı korumada önemli olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, HDL'nin bakırla inkübe edilen LDL'nin oksidasyonunu azaltarak lipid peroksid oluşumunu % 90 oranında inhibe ettiğini; HDL'den saflaştırılan PON1'in tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddelerin düzeylerini ve lipoperoksid oluşumunu önlediği ortaya konulmuştur. PON1, lipid peroksidlerin yanı sıra hidrojen peroksid üzerine de etkilidir. Aterojenez sırasında arter duvarı hücrelerince üretilen majör toksik oksijen metaboliti olan hidrojen peroksid, oksidatif koşullarda daha potent ürünlere dönüşerek LDL oksidasyonuna neden olur. PON1'in okside LDL'deki kolesterol linoleat hidroperoksidleri indirgemesi nedeni ile peroksidaz benzeri aktivitesi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, lipopolisakkarid inaktivasyonu yolu ile bakteriyel endotoksinlere karşı koruma da sağlamaktadır (14).

Ghrelin Hormonu

Ghrelin, gastrointestinal sistem tarafından üretilen, merkezi sinir sistemini etkileyerek iştahın ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde görev alan, 28 amino asitlik lipopeptid yapısal özelliğe sahip bir hormondur (15, 16).

İnsandaki ghrelin hormonunun N-terminal ucundaki 3. aminoasit olan serine bağlı oktanil grubu 8 karbonlu bir yağ asidi içermektedir. Oktanil grubu, ghrelinin aktif olması için gereklidir. Ghrelin, 8 karbonlu bir yağ asitinin varlığına göre aktivitesi değişen tek hormondur (15, 16). İnsan, rat ve domuz ghrelinin yapısı Şekil 4.'de verilmiştir (17). Bütynesinde yağ asidi içermeyen ghrelin ise desaçile ghrelin'dir ve inaktiftir. Desaçile ghrelin, toplam ghrelinin % 80-90'ını oluşturmaktadır. Aktif ghrelin; aGAH, desaçile ghrelin ise dGAH şeklinde gösterilir. Ghrelinin yarı ömrü 15-20 dakikadır. Yarı ömrünün kısa olması, muhtemelen plazmada esteraz aktivitesinden kaynaklanmaktadır

(18). Çünkü ghrelin, kanda HDL'ye bağlanmaktadır. HDL'ye aynı zamanda bir kan esterazı olan paraoksonaz da bağlıdır. Paraoksonazın, ghrelinin 3. aminoasitine bağlı oktanil grubundaki açıl bağlarını desaçilasyonla kırarak ghrelini inaktif forma getirdiği düşünülmektedir (19, 20).



Şekil 4. İnsan, rat ve domuz ghrelinin yapısı (17).

Ghrelin ilk kez 1999 yılında Kojima tarafından farelerin mide fundusunda tanımlanmıştır. Ghrelinin mRNA'sı hemen hemen bütün dokularda tespit edilmiştir. Vücutta ghrelin üretimindeki iki hücresel alandan ilki oksintik bez; diğeri ise nöronal hücre gruplarının sinaptik ileti ile ghrelin salınımı artırdığı merkezi sinir sistemidir. Ghrelin, midenin oksintik mukozasında yer alan endokrin fonksiyonlara sahip X/A hücreleri tarafından üretilmesinin yanı sıra az miktarda bağırsak, böbrek, hipofiz bezi, plasenta, prostat, testis, beyin ve hipotalamus tarafından da üretilip dolaşıma verilmektedir. Ghrelinin vücut dokularında çok geniş bir dağılım göstermesi, ghrelinin biyolojik aktiviteyi düzenlemede önemli bir rolü olduğunu gösterir (21, 22).

Ghrelin, *in vivo* ve *in vitro* olarak büyüme hormonu salgılatıcı GHS-R (büyüme hormonu salgılatıcı reseptör) için spesifik endojen bir ligand özelliğindedir (15). Büyüme hormonu salgılatıcıları (GHS), büyüme hormonunu salgılamasını artırma özelliğine sahip reseptörler bulunan bileşikler (23).

Ghrelin öncülü preproghrelin 117 amino asitten oluşur. Salınmadan önce sitoplazmada enzimatik bir işlemde geçer, 3. pozisyonundaki serine n-oktanoil eklenmesi büyüme hormonu salgılatıcı etkinliği için gereklidir (24). Ghrelin özellikle midede üretildikten sonra ön hipofiz ve hipotalamik bölgedeki reseptörlerine ulaşır GH (büyüme hormonu) salınımını uyarmakta, enerji dengesini ve besin alımını düzenlemektedir (25). İnsanlarda enerji alımı ve vücut ağırlığı hipotalamustaki merkezler tarafından kontrol edilmektedir (26). Hipotalamik merkezler periferden gelen uyarıları doğrultusunda kontrol mekanizmalarını düzenlerler. Yağ dokusu kökenli leptin, beyine yağ dokuları konusunda bilgi götürerek besin alımını azaltır ve fazla yağ birikimini engeller (27). Ghrelin ise açlık halinde

kanda yüksek miktarda bulunup yemek sonrası miktarı azalmaktadır. Bu durum ghrelinin beyine besin alımını ve yağ dokusunu arttırıcı nitelikte bilgiler ilettiğini göstermektedir. Ghrelinin bu fonksiyonlarının büyüme hormonu üzerine olan etkisinden bağımsız olduğu düşünülmektedir (28).

Ghrelin, yemek öncesi kanda ve tükürkte hızla yükselirken kolesistokinin hormonu yeme esnasında salgılanarak doyunluk hissi verir. Bu iki hormonun dengesi iştah için büyük bir önem taşımaktadır (17).

Ghrelinin büyüme hormonu ve insülin ile ilişkisi incelendiğinde sadece insülin benzer büyüme faktörü-1 (IGF-1) ile ghrelin arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. Buna karşın ghrelin ve insülin düzeyleri arasında bir ilişki bulunmamaktadır (29).

PON1 Enziminin Bazı Kinetik Özelliklerinin İncelenmesi

Kinetik çalışmalarda PON1 enziminin aktivitesi Eckerson tarafından önerilen tayin metodu ile belirlendi. PON1 enziminin arilesteraz (ARE) aktivitesi, fenilasetatı hidrolize ederek fenol ve asetik asit oluşturur. Oluşan fenolün dakikadaki absorbans değişimi ölçülerek ARE aktivitesi tayin edilir (30). Fenolün, 30 saniye aralıklarla 2 dakikalık bir süre boyunca absorbans değişimi, 270 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçüldü. Ölçümler için kör olarak, 50 mM Tris/HCl pH:7,1 olan tampon içerisinde, 1 mM fenilasetat substratı ve 1 mM CaCl₂ bulunan çözelti kullanıldı.

Bir ünite PON1 enziminin ARE aktivitesi, bir dakikada 1 µmol fenol oluşturur. Aktivite değeri U/ml cinsinden hesaplandı. Fenolün molar ekstinksiyon katsayısı 1310 M⁻¹.cm⁻¹ olarak alındı.

Değişen fenilasetat konsantrasyonlarının enzim aktivitesine etkisinin incelenmesi için (0,1-1) mM aralığında fenilasetat içeren 100 ml'lik 7 çözelti hazırlandı. Çözeltilerin hazırlanmasında 1 mM CaCl₂ içeren (pH:7,1) 50 mM Tris/HCl tamponu kullanıldı. 37 °C' de PON1 enziminin ARE aktivitesinin ölçülmesiyle elde edilen değerlere göre Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizildi. PON1 enziminin 50 mM Tris/HCl ve pH:7,1 olan tamponda 37 °C' de fenilasetat substratı için K_m ve V_{max} değerleri hesaplandı.

Deney inkübasyon sıcaklığının enzim aktivitesine etkisi incelendi. Bu amaç doğrultusunda 25°C, 30°C, 35°C, 37°C, 40°C sıcaklıklarda 30 dakikalık inkübasyon sağlandıktan sonra reaksiyon durdurulup aktivite ölçümleri yapıldı.

Isının (56 °C ve 65 °C) enzim aktivitesi üzerine olan etkisi incelendi. 0,3 ml enzim örneklerinin konulduğu eppendorf tüpler ilk olarak 56 °C ve daha sonra 65 °C'lik su banyosunda 75 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası PON1 enzim örneği buz

banyosunda soğutulduktan sonra kalan enzim aktivite ölçüldü.

pH'nın enzim aktivitesi üzerine etkisinin incelenmesi için değişik pH'larda tampon çözeltileri hazırlandı. Bunlar pH: 6,5-8,5 aralığında Tris/HCl tamponları ve pH: 9-11 aralığında glisin/NaOH tamponları kullanılarak enzim aktivitesi ölçüldü.

PON1 Enziminin Ghrelin Hormonu ile İlişkisi

Ghrelin hormonunun hem aktif hem de inaktif şekli, SGE Walkosil 11 5C18 RS 21 peptid kolonunda, 215 nm dalga boyu, hareketli fazı 50 mM NaClO₄ pH: 4 olan çözelti ve akış hızı 1,0 ml/dak. koşullarında tayin edilebilir. Aktif ghrelin hormonunun bu kolondaki alıkonma süresi 16 dakika iken, inaktif ghrelin hormonunun alıkonma süresi 5,9 dakikadır (31).

Bu çalışmada PON1 enziminin ghrelin hormonuna etkisi incelendi. İlk olarak ghrelin hormonu standardı (1600 pg/ml), 50 mM Tris/HCl 1 mM CaCl₂, pH:7,1 tamponu ile 20 kat seyreltildi. HPLC'ye SGE Walkosil 11 5C18 RS 21 peptid kolonu bağlandı. HPLC'deki UV dedektöründeki dalga boyu 215 nm olarak ayarlandı. 1,0 ml/dak. akış hızı ile hareketli faz olan 50 mM NaClO₄ pH: 4 olan çözelti kolondan 1 saat boyunca geçirildi. Stabil hale gelen kolona 80 pg/ml derişimli aktif ghrelin hormonundan 20 µl enjekte edildi. Kolondaki alıkonma süresi ve pik alanları incelendi. Sonraki aşamada 100 µL hacimdeki PON1 enzimi ve ghrelin hormonu karışımı (v/v 1:1) 37 °C sıcaklıktaki su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Ghrelin hormonunun yarı ömrünün 15-20 dakika olması nedeniyle inkübasyon süresi 20 dakika ile sınırlandırıldı. Inkübasyon sonrası karışımdan 20 µL alınarak kolona enjekte edildi, inaktif ghrelinin oluşup oluşmadığı ve aktif ghrelin hormonu ait pik alanında ne tür değişimler olduğu incelendi. Ayrıca ghrelin hormonu substrat olarak kullanılarak 2 dakika süreyle 215 nm dalga boyunda spektrofotometre ile PON1 enzim aktivitesi ölçüldü. Konsantrasyonları farklı aktif ghrelin hormonunun 1 mM CaCl₂ içeren 50 mM Tris/HCl (pH:7,1) tamponunda çözeltileri hazırlandı. Enzim aktivitelerine bağlı reaksiyon hızları ölçüldü.

Ghrelin hormonunun PON1 enzim aktivitesi üzerine inhibitör etkisi araştırıldı. Yedi farklı fenilasetat konsantrasyonunda reaksiyon ortamına 200 pg/ml aktif ghrelin hormonu eklenerek PON1'in ARE aktivitesine ait reaksiyon hızı ölçüldü. Elde edilen değerlere göre Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek ghrelin varlığında PON1 enziminin 50 mM Tris/HCl ve pH: 7,1 olan tamponda 37 °C' de K_m ve V_{max} değerleri hesaplandı.

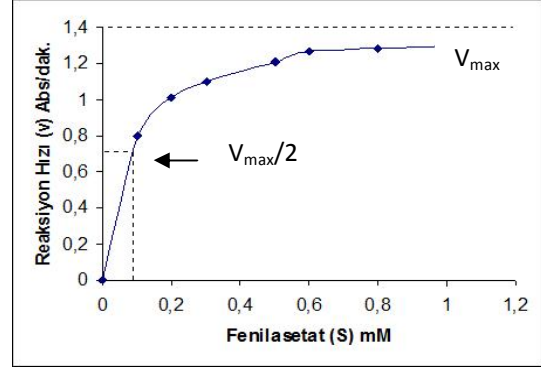
Sonuçlar

PON1 Enziminin Kinetik Özelliklerinin Saptanması

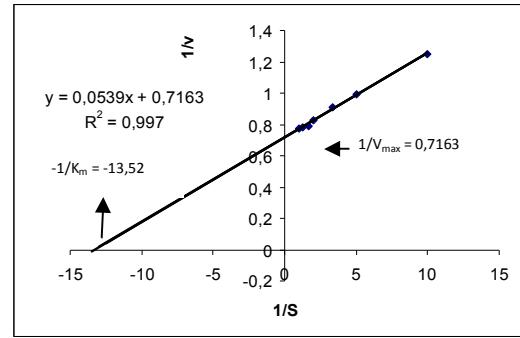
Bu bulgular ile çizilen Michaelis-Menten grafiği Şekil 5.'de, Lineweaver-Burk grafiği Şekil 6.'da gösterilmiştir.

Tablo 1. Farklı fenilasetat konsantrasyonlarının PON1 enzim aktivitesine etkisi.

No	Fenilasetat (S) mM	1/S (mM ⁻¹)	Hız (V) (Abs/dk)	1/V (dk/Abs)
1	0,10	10,00	0,80	1,25
2	0,20	5,00	1,01	0,99
3	0,30	3,33	1,10	0,91
4	0,50	2,00	1,21	0,83
5	0,60	1,66	1,27	0,79
6	0,80	1,25	1,28	0,78
7	1,00	1,00	1,30	0,77



Şekil 5. Farklı fenilasetat konsantrasyonlarının PON1 enzim aktivitesine etkisi: Michaelis-Menten grafiği.



Şekil 6. Farklı fenilasetat konsantrasyonlarının PON1 enzim aktivitesine etkisi: Lineweaver -Burk grafiği.

50 mM Tris/HCl tamponu pH:7,1, 37 °C'de fenilasetat substratı için PON1 enziminin Lineweaver-Burk grafiğinden elde edilen -1/K_m'i -13,52 ve 1/V_{max}'i 0,7163 iken, Michaelis-Menten grafiğinde ise K_m değeri 0,074 ± 0,002 mM ve V_{max} değeri 1,40 Abs./dak. (65,20 U/ml ve 36,42 U/mg) olarak hesaplandı.

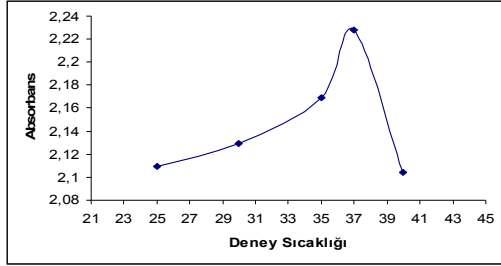
Tablo 2. Deneysel sıcaklığının PON1 enzim aktivitesine etkisi ve optimum sıcaklığın belirlenmesi.

Deneysel Sıcaklığı (°C)	Absoransların Ortalaması
25	2,109
30	2,129
35	2,169
37	2,228
40	2,104

PON1 enzimi aktivitesi 35-37 °C sıcaklık aralığında artmakta ve 37 °C'de en yüksek değere ulaşmaktadır. Inkübasyon süresine bağlı olarak PON1 enzimi 56 °C ve 65 °C'lerde 0, 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 dakika

bekletilerek aktivite tayini yapıldı. 56 °C’de yapılan deneyin sonuçları Tablo 3’de ve bu sonuçlara göre çizilen grafik Şekil 8.’de gösterilmiştir.

PON1 enziminin 56 °C’de inkübasyona bırakılarak belirli sürelerde aktivitesi ölçüldüğünde 75. dakikaya kadar % 42,65 ile aktifliğini koruduğu ve 56 °C sıcaklığa oldukça dayanıklı bir enzim olduğu görülmüştür. 65 °C’de yapılan deneyde ise enzimin 5. dakikadan itibaren aktivitesini tamamen kaybederek inaktif hale geçtiği tespit edilmiştir.



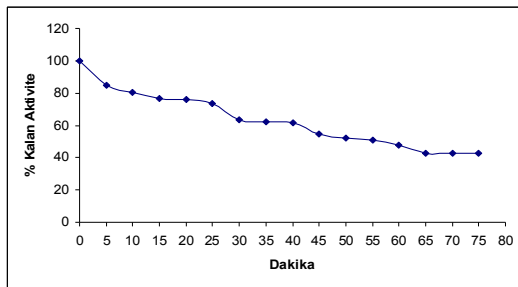
Şekil 7. PON1 enzim için optimum sıcaklığın belirlenmesi.

pH'nın PON1 enzim aktivitesine etkisinin incelenmesinde farklı pH'larda tampon çözeltiler hazırlandı ve bu pH'larda PON1 enziminin aktivitesi tayin edildi.

Tablo 3. 56 °C sıcaklığın PON1 aktivitesine etkisi.

İnkübasyon Süresi (56°C/dk)	Ortalama Absorbans (Abs/1dk)	Kalan Aktivite (%)	İnhibisyon (%)
0	0,415	100	-
5	0,353	85,06	14,94
10	0,334	80,48	19,52
15	0,318	76,63	23,37
20	0,316	76,14	23,86
25	0,304	73,25	26,75
30	0,263	63,37	36,63
35	0,259	62,41	37,59
40	0,256	61,69	38,31
45	0,228	54,94	45,06
50	0,216	52,05	47,95
55	0,212	51,08	48,92
60	0,197	47,47	52,53
65	0,177	42,65	57,35
70	0,177	42,65	57,35
75	0,177	42,65	57,35

Enzim aktivite ölçüsü olarak, 1 dakikalık absorbans değişim değerleri verilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4 ve Şekil 9.’da gösterilmiştir.



Şekil 8. PON1 enziminin 56 °C’deki inkübasyon süresine bağlı aktivite kaybı.

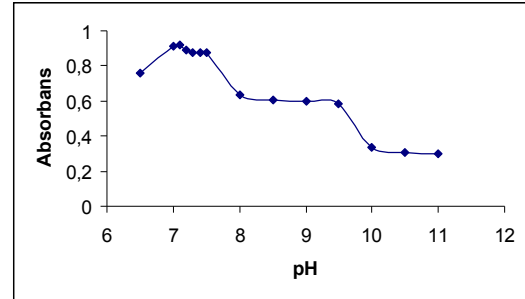
PON1 enziminin Şekil 9.’daki grafikte görüldüğü gibi, 7-7,5 pH aralığında aktivitesinin yüksek olduğu ve bu aralıkta en yüksek aktiviteyi (optimal pH) pH:7,1’de gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 4. pH'nın enzim aktivitesine etkisi.

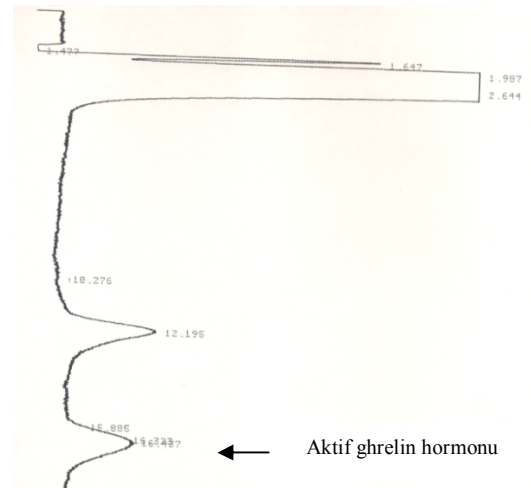
pH	Ortalama Absorbans (Abs/1dk)
6,5	0,758
7,0	0,910
7,1	0,918
7,2	0,894
7,3	0,878
7,4	0,876
7,5	0,875
8,0	0,632
8,5	0,604
9,0	0,598
9,5	0,587
10,0	0,339
10,5	0,308
11,0	0,301

PON1 Enziminin Ghrelin Hormonu ile İlişkinine Ait Bulgular

Akış hızı 1 ml/dak ve pH:4 olan hareketli faz 50 mM NaClO₄ çözeltisinde 215 nm dalga boyu koşullarında 80 pg/ml aktif standart ghrelin hormonuna ait çalışma kromatogramı Şekil 10.’da verilmiştir.



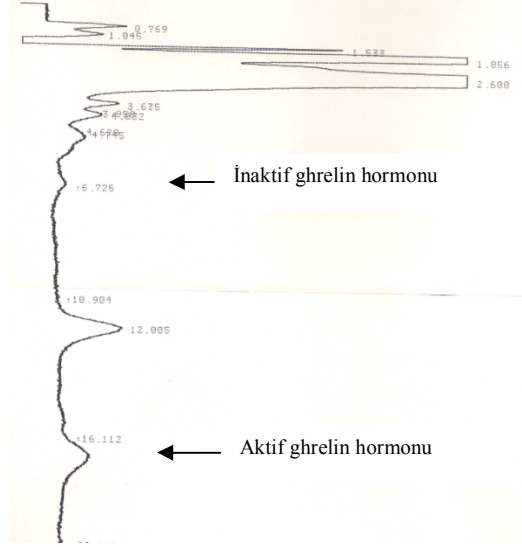
Şekil 9. pH'nın enzim aktivitesine etkisi.



Şekil 10. 80 pg/ml standart aktif ghrelin hormonunun kromatogramı.

80 pg/ml standart aktif ghrelin hormonuna ait çalışma kromatogramında 16,3 dakikada pik veren aktif ghrelin hormonunun pik alanı değeri 122288 olarak tespit edildi.

Akış hızı 1 ml/dk ve pH:4 olan hareketli faz 50 mM NaClO₄ çözeltisinde 215 nm dalga boyu koşullarında 80 pg/ml aktif standart ghrelin hormonu ile PON1 enzim (1:1 v/v) karışımının 37 °C'de 20 dakika süreyle inkübasyonu sonrası elde edilen çalışma kromatogramı Şekil 11.'de verilmiştir.



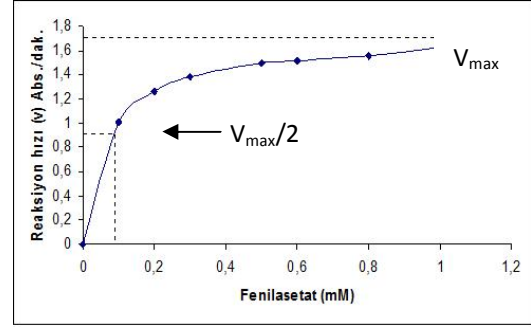
Şekil 11. 80 pg / ml aktif ghrelin hormonu ile PON1 enzimi (v/v 1:1) karışımının 37 °C'de 20 dakika inkübasyonu sonrası elde edilen kromatogram.

Şekil 11.'deki kromatogramda 16,3 dakikada pik veren aktif ghrelin hormonun pik alanı 55412 ve 6,5 dakikada pik veren inaktif ghrelin hormonunun pik alanı 3508 olarak tespit edildi. Aktif ghrelin hormonunun PON1 enzimi ile (v/v 1:1) oranında karışımı sonrası ghrelin % 50 oranında seyreltilmiş oldu, seyreltilmemiş aktif ghrelinin Şekil 10.'daki pik alanı 122288 olarak bulunmuştu, seyreltme sonrası pik alanının 61144 olması beklendi, ancak ghrelin için Şekil 11.'deki pik alanı 55412 olarak hesaplandı. Bu durum, aktif ghrelinin bir kısmının PON1 enzimi tarafından inaktif ghreline dönüştüğünü göstermektedir. Aktif ghrelin hormonunun inaktif forma dönüşüm yüzdesi pik alan değerlerine göre hesaplandığında, % 9,5 oranında dönüşüm olduğunu göstermektedir.

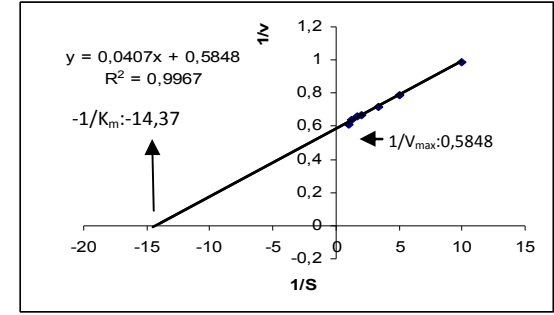
Tablo 5. Farklı fenilasetat konsantrasyonlarında 200 pg/ml Ghrelinin PON1 enzim aktivitesine etkisi.

No	Fenilasetat (S) mM	1/S (mM ⁻¹)	Hız (V) (Abs/dk)	1/V (dk/Abs)
1	0,10	10,00	1,01	0,99
2	0,20	5,00	1,26	0,79
3	0,30	3,33	1,38	0,72
4	0,50	2,00	1,49	0,67
5	0,60	1,66	1,52	0,66
6	0,80	1,25	1,56	0,64
7	1,00	1,00	1,63	0,61

Ghrelin hormonu varlığında PON1 enziminin ARE aktivitesine etkisine ait bulgular Tablo 5.'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre çizilen Michaelis-Menten grafiği Şekil 12.'de ve Lineweaver-Burk grafiği ise Şekil 13.'de verilmiştir.



Şekil 12. Farklı fenilasetat konsantrasyonlarında 200 pg/ml Ghrelinin PON1 enzim aktivitesine etkisi: Michaelis-Menten grafiği.



Şekil 13. Farklı fenilasetat konsantrasyonlarında 200 pg/ml Ghrelinin PON1 enzim aktivitesine etkisi: Lineweaver-Burk grafiği.

37 °C'de, pH: 7.1, 50 mM Tris/HCl tamponu ile farklı fenilasetat konsantrasyonuna karşılık, ortama 200 pg/ml ghrelin hormonu ilave edilmesi sonrası ölçülen reaksiyon hızları Lineweaver-Burk grafiğine yerleştirildiğinde; PON1 enzimi için hesaplanan $-1/K_m$: -14,37 ve $1/V_{max}$: 0,5848 olarak hesaplandı. Değişen substrat konsantrasyonuna karşılık gelen reaksiyon hızlarının Michaelis-Menten grafiğine dönüştürülmesi sonrası hesaplanan K_m değeri $0,070 \pm 0,002$ mM ve V_{max} değeri 1,71 Abs./dak. (79,63 U/ml ve 44,48 U/mg) olarak bulunmuştur.

Tartışma

PON1 enziminin bazı kinetik özellikleri incelenirken ilk olarak konsantrasyonları farklı fenilasetat substratının enzim aktivitesine etkisi araştırıldı. PON1 enzimin Michaelis-Menten kinetiğine uygunluğu Şekil 5.'de verilen grafik verilerinden tespit edildi. Şekil 6.'daki Lineweaver-Burk grafiğine göre $-1/K_m$: -13,52 $1/V_{max}$: 0,7163 değerleri bulundu. Fenilasetat substratı için PON1 enziminin 37 °C'de ve 50 mM Tris/HCl tamponu pH:7,1'de yapılan aktivite ölçümlerine göre çizilen Michaelis-Menten grafiğinde ise K_m değeri $0,074 \pm 0,002$ mM ve V_{max} değeri 1,40 Abs./dak. (65,20 U/ml ve 36,42 U/mg) olarak hesaplandı. Bu bulgular

literatürle uyumludur, çünkü literatürde genellikle paraoksan ve fenilasetat substratlarına karşı PON1 enziminin K_m değerinin 0,78-4,16 mM aralığında, V_{max} değerinin 15,175 U/ml civarında olduğu rapor edilmiştir [32, 33]. Bu değerlere göre sığır karaciğerinden saflaştırılan PON1 enziminin K_m değerinin daha düşük ve V_{max} değerinin yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum, sığır karaciğer PON1 enziminin, insan ve rat kaynaklı PON1 enzime göre çok daha düşük substrat konsantrasyonlarında bile antioksidan aktivite gösterebildiğini, toksik bileşikleri detoksifiye edebildiğini ortaya koymaktadır.

Kinetik çalışmalarda PON1'in optimum sıcaklık ve pH dereceleri, enzimin ısıya karşı dayanıklılığı ve ghrelin hormonu ile PON1 enzimi arasındaki ilişki araştırılmıştır. PON1 enziminin aktivite artışı 35-37 °C aralığında gözlenmiş, ancak PON1 için optimal sıcaklık derecesinin 37 °C olduğu tespit edilmiştir. PON1 enziminin aktivite artışı pH 7,0-7,5 aralığında gözlenirken, optimal aktivitenin pH: 7,1'de meydana geldiği ortaya konulmuştur. Bu bulgular ve değişik kaynaklardan elde edilen PON1 üzerinde yapılan araştırma sonuçları ile karşılaştırıldığında, genel olarak enzimler için optimum pH ve sıcaklık değerlerinin birbirine çok yakın olduğu görülmüştür (32-34). PON1 enziminin 56 °C ve 65 °C sıcaklıklarda inkübasyonu sonrası aktivite ve denatürasyon düzeyleri ölçüldüğünde, 56 °C'de 65-75 dakikalık inkübasyon sonrası enzim aktivitesinin % 42,65'i korurken, 65 °C'de inkübasyonun 5. dakikasından sonra aktivitenin tamamen kaybedildiği görüldü. Literatürde, rat karaciğerinden saflaştırılan PON1 enziminin 52,5 ve 55 °C'de 15 ve 60 dakikalık inkübasyon süresince hızlı bir denatürasyonun meydana geldiği rapor edilmiştir (34). Bizim sonuçlarımız, sığır karaciğerinden saflaştırılan PON1 enziminin ısıya karşı, rat karaciğerinden saflaştırılan PON1'e göre çok daha dayanıklı olduğunu göstermektedir.

Bizim yaptığımız kinetik çalışmalar, PON1 enziminin ghrelin hormonunu substrat olarak kullanabildiğini ve aktif ghrelinin bir kısmını inaktif ghreline dönüştürebildiği ortaya koymuştur. Ghrelinin yarı ömrü 15-20 dakikadır. Bu hormonun yarı ömrünün kısa olmasının nedeni, muhtemelen plazma PON1'nin esteraz aktivitesinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Bunu destekleyen en önemli veri, kanda ghrelinin ve PON1 enziminin HDL'ye bağlı olmasıdır. PON1'in, ghrelinin 3. aminoasitine bağlı olan oktanil grubundaki açıl bağlarını desaçilasyonla kırarak ghrelini inaktif forma getirdiği rapor edilmiştir (19, 20).

Bu çalışmada, PON1 enziminin ghrelin hormonuna etkisini araştırmak için HPLC kullanılmıştır. Şekil 10.'da 215 nm dalga boyunda aktif ghrelin hormonu için elde edilen kromatogram ve Şekil 11.'de ise ghrelin hormonunun PON1 enzimi ile inkübasyonu sonrası elde edilen kromatogram sonuçları karşılaştırıldı. Şekil 10.'da 80 pg/ml standart aktif ghrelin hormonuna ait kromatogramda aktif ghrelin

hormonunun 16,3. dakikada pik verdiği ve pik alanının 122288 olduğu, Şekil 11.'deki kromatogramda ise aktif ghrelin hormonunun yine 16,3 dakikada pik verdiği ve pik alanının 55412 olduğu; inaktif ghrelin hormonunun 6,5 dakikada pik verdiği ve pik alanının 3508 olduğu tespit edildi. Aktif ghrelin hormonunun PON1 enzimi ile v/v1:1 oranında karıştırılması sonrası ghrelin % 50 oranında seyreltilmiş oldu, bu durumda 16,3. dakikadaki pik alanının, 122288'in yarısı, yani 61144 olması beklenirdi. Ancak aktif ghrelin için hesaplanan pik alan değerinin 55412 olduğu tespit edildi. Bu bulgular, aktif ghrelin için 5732'lik bir pik alan azalmasının meydana geldiğini göstermektedir. Aktif ghrelin için pik alanındaki bu azalma, PON1 etkisiyle aktif ghrelinin bir kısmının inaktif ghreline dönüşmesinden kaynaklanmaktadır. Çünkü, kromatogramın 6,5'inci dakikasında, normalde bulunmayan ancak ghrelinin PON1'le muamelesinden sonra ortaya çıkan bir pik bulunmaktadır. Aktif ghrelin hormonunun inaktif forma dönüşüm yüzdesinin, pik alan değerlerine göre hesaplandığında, % 9,5 olduğu bulunmuştur.

Ghrelin hormonunun PON1 enziminin ARE aktivitesine etkisi araştırıldı. Farklı konsantrasyonlardaki fenilasetata karşılık ortama 200 pg/ml sabit konsantrasyonda ghrelin ilavesinin PON1'in arilesteraz aktivitesi üzerine etkisi incelendi. Elde edilen veriler Tablo 5'de özetlenmiş ve bu verilere göre çizilen Michaelis-Menten grafiği Şekil 12.'de verilmiştir. Bu grafikten PON1'in K_m 'i 0,070 ± 0,002 mM ve V_{max} 'ı 1,71 Abs./dak. (79,63 U/ml ve 44,48 U/mg) olarak hesaplandı. Bu sonuçlar, ortama ghrelin ilavesinin PON1'in fenilasetata olan afinitesini (K_m) ve hızını (V_{max}) önemli derecede artırdığını, yani enzim aktivitesi üzerine aktivatör olarak etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak; sığır karaciğerinden kısmen saflaştırılarak kinetik özellikleri incelenen PON1 enziminin fenilasetata karşı K_m , V_{max} , optimal sıcaklık ve pH değerlerinin sırasıyla 0.074 mM, 1.40 Abs./dak. (65.20 U/ml ve 36.42 U/mg), 37 °C, 7.1 olduğu tespit edilmiştir. Bu araştırmanın en önemli bilimsel sonucu olan, PON1'in; açıl-ghrelini (aktif form) substrat olarak kullanabildiğini ve aktif ghrelinin %9,5'lük kısmını deaçile-ghreline (inaktif form) dönüştürebildiği ilk defa ortaya konularak literatüre kazandırılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) birimi tarafından desteklenmiştir (no: 1447). Bu destekten dolayı teşekkürlerimizi bildiririz.

Kaynaklar

1. Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/aterosklerozun arysterase gene (PON1) is one member of a multigene family. Genomics 1996; 33: 498-509.

2. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996; 7: 69-76.
3. Erden İ. ST Elestasyonlu Miyokard İnfarktüsü (stemi) Hastalarda İnsan Paraoksonase Geni *met-leu/55* polimorfizmi. Uzmanlık Tezi, 2004.
4. Deakin SP, James RW. Genetic and environmental modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clin Sci* 2004; 107: 435-47.
5. La Du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M. On the physical role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Inter* 1999; 120: 379-88.
6. Heijmans BT, Westendorp RGJ, Lagaay AM, Knook DL, Klufft C, Slagboom PE. Common paraoxonase gene variants, mortality risk and fatal cardiovascular events in elderly subjects. *Atherosclerosis* 2000; 149: 91-7.
7. Hasselwander O, McMaster D, Fogarty AD, Maxwell AP, Nicholls DP, Young JS. Serum paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase in chronic renal failure. *Clin Chem* 1998; 44: 179-182.
8. Kelso GJ, Stuart WD, Richter RJ, Furlong CE, Jordon TJ, Harmony JAK. Apolipoprotein J is associated with paraoxonase in human plasma. *Biochemistry* 1994; 33: 832-9.
9. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase-1 polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 214-27.
10. Gan N, Smolen A, Eckerson W, La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos* 1991; 19: 100-6.
11. Öztürk H. Diabetes mellitus'da paraoksonaz aktivitesi ve AOPP düzeyleri. Tıbbi Biyokimya Uzmanlık Tezi. 2008.
12. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low density lipoprotein. *FEBS Lett* 1991; 286: 152-4.
13. Rousselot DB, Therond P, Beaudeau JL, Peynet J, Legrand A, Delatre J. High density lipoproteins and the oxidative hypothesis of atherosclerosis. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 939-49.
14. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high density lipoprotein oxidation and preserves its functions. *J Clin Invest* 1998; 101: 1581-90.
15. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-9.
16. Aydın S, Özkan Y, Caylak E. Ghrelin and its biochemical functions. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2006; 26: 272-83.
17. Aydın S. Ghrelin Hormonunun Keşfi: Araştırmaları ve Klinik Uygulamaları. *Türk Biyokimya Dergisi* 2007; 32: 76-89.
18. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, et al. Stomach is a major source of circulating ghrelin and feeding state determines plasma ghrelin-like immuno reactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4753-8.
19. Kaiya H, Darras VM, Kangawa K. Ghrelin in birds: Its structure, distribution and function. *J Poul Sci* 2007; 44: 1-18.
20. Beaumont NJ, Skinner VO, Tan TM, et al. Ghrelin can bind to a species of high density lipoprotein associated with paraoxonase. *J Biol Chem* 2003; 278: 8877-80.
21. Korbonits M, Kojima M, Kangawa K, Grossman AB. Presence of ghrelin in normal and adenomatous human pituitary. *Endocrine* 2001; 14: 101-4.
22. Gualillo O, Caminos J, Blanco M, et al. Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology* 2001; 142: 788-94.
23. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M. The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 881-7.
24. Casanueva FF, Dieguez C. Ghrelin; the link connecting growth with metabolism and energy homeostasis. *Rev Endocrine Dis* 2002; 3: 325-38.
25. De Ambrogi M, Volpe S, Tamanini C. Ghrelin: central and peripheral effects of a novel peptidyl hormone. *Med Sci Monit* 2003; 9: 217-24.
26. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, et al. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000; 404: 661-71.
27. Janeckova R. The role of leptin in human physiology and pathophysiology. *Physiol Res* 2001; 50: 443-59.
28. Tschöp M, Smiley D, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2001; 407: 908-13.
29. Soriano-Guillen L, Barrios V, Chowen J, et al. Ghrelin levels from fetal life through early adulthood: relationship with endocrine and metabolic and anthropometric measures. *J Pediatr* 2004; 144: 30-5.
30. Eckerson H, Wyte C, La Du B. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 1126-38.
31. Karataş F, Aydın S, Geçkil H. Ghrelin hormonunun HPLC ile belirlenmesi. 21. Ulusal Kimya Kongresi, 2006, Malatya.
32. Sinan S, Koçkar F, Arslan O. Novel purification strategy for human PON1 and inhibition of the activity by cephalosporin and aminoglikozide derived antibiotics. *Biochimie* 2006; 88: 565-74.
33. Golmanesh L, Mehrani H, Tabie M. Simple procedures for purification and stabilization of human serum paraoxonase-1. *J Biochem Biophys Methods* 2008; 70: 1037-42.
34. Rodrigo L, Gil F, Hernandez AF, Marina A, Vazquez J, Pla A. Purification and characterization of paraoxon hydrolase from rat liver. *Great Britain Biochem J* 1997; 321: 595-601.

İletişim Yazarı

Dr. Uğur Aşkın

Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi

Kimya Bölümü, Elazığ.

e-posta: askinugur@hotmail.com

Orijinal Araştırma Makalesi**Basit Böbrek Kistlerinin Ultrasonografi Eşliğinde Perkütan Aspirasyonu ve Alkol Uygulaması***Ultrasound-Guided Percutaneous Aspiration and Alcohol Injection for Simple Renal Cysts***Ali Beytur¹, İlhan Geçit², Haluk Söylemez³, Fatih Oğuz¹, Süleyman Karaca⁴,
Ali Güneş¹, Ramazan Altıntaş¹**¹*Inönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Malatya.*²*Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Van.*³*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Diyarbakır.*⁴*Özel Hayat Hastanesi Üroloji Kliniği, Malatya.***Özet**

Böbreğin basit kistleri sık rastlanılan bir patolojidir. Bu çalışmada, semptomatik basit böbrek kistlerinin perkütan aspirasyon tedavisinin sonuçları incelendi. Tüm hastalara ilk teşhis ultrasonografi ile yapıldı. Ardından bilgisayarlı tomografi ile kistlerin yerleşimi, boyutu ve natürü kesinleştirildi. Flank pozisyonda lokal anestezi altında, 18 G metal iğne ile ultrasonografi eşliğinde kistler boşaltıldı. Kist sıvısı boşaltıldıktan sonra boşaltılan sıvının %15'i kadar saf alkol enjekte edildi. Yapılan işlemler esnasında herhangi bir komplikasyon oluşmadı. Kist sıvısında biyokimyasal ve sitolojik inceleme yapıldı. Çalışma kapsamındaki hastalar 1 yıl sonra ultrasonografi ile kontrol edildi. Toplam 128 hasta değerlendirildi. (77 erkek, 51 kadın). Ortalama yaş 52.3 yıl (37 - 71) olarak hesaplandı. Kistlerin ortalama çapı 8.3 cm (4.8 - 11.3). Kist sıvısından yapılan analizlerde herhangi bir patoloji tespit edilmedi. 1 yıl sonraki kontrollerde, 27 hastada (% 21.1) tekrar ağrı yapan kist oluştuğu görüldü. Basit böbrek kistlerinin perkütan aspirasyonu ve alkol ile tedavisi güvenli, başarılı ve minimal invaziv bir yöntemdir.

Anahtar Kelimeler: Alkol enjeksiyonu, Böbrek kisti, Perkütan aspirasyon.

Abstract

Renal simple cysts are frequent pathologies. In this study, therapeutic results of the renal simple cysts with percutaneous aspiration were evaluated. The initial diagnosis was performed with ultrasonography (US) for all patients. Then, localization, size and nature of the cysts were determined with computerized tomography. Under the local anesthesia and in flank position, the cysts content was aspirated with 18 G metal needle with US guide. After the aspiration, absolute alcohol about 15% of the cyst content was injected. No complication was emerged following the procedure. Biochemical and cytological investigations were performed in the aspirated fluid. The patients were re-evaluated with US one year after the operation. Total 128 patients were studied (77 male; 51 female). Mean age of the patients was 52.3 years (range: 37-71). The mean sizes of the cysts were 8.3 cm in diameter (4.8-11.3 cm). No pathologic finding was determined in the cyst fluid. A total 27 patients (21.1%) developed symptomatic cystic relapses. We concluded that percutaneous aspiration of simple renal cysts and alcohol injection were safe, successful and minimal invasive methods.

Key Words: Alcohol injection, Renal cyst, Percutaneous aspiration.

Giriş

Çoğunlukla düzgün yüzeyle olan basit böbrek kistleri, tek katlı yassı kübik epitel ile döşelidir. Yüzeyleri düzgündür ve berrak bir sıvı içerirler. Kistler tek ya da çok sayıda olabilir (1).

Böbrek kistleri, bir radyolog olan Morton Bosniak tarafından 1986 yılında dört sınıfa ayrılmıştır; Keskin ve düzgün sınırlı, kist içerisinde ekojenite yok (tip 1); Sınırları düzgün, ince septasyonlar ve minimal kalsifikasyonlar içeren lezyonlar (tip 2); Sınırları düzgün veya düzensiz olabilen, kontrastlanan, kist duvarı ve septaları daha kalın olan kistler (tip 3); sınırları düzgün veya düzensiz olan, kontrastlanan, kist duvarında septaların yanı sıra yumuşak dokular da içerebilen lezyonlar (tip 4) (2). Çoğunlukla 2 cm'den küçük ve asemptomatik olan renal kistler bazen ağrı, hematüri ve hipertansiyona yol açabilir (3,4).

Gereç ve Yöntem

Perkütan yol ile böbrek kisti boşaltılması yapılan 128 hastanın tamamında ilk teşhis ultrasonografi ile yapıldı ve bilgisayarlı tomografi ile değerlendirildi. Tüm hastaların idrar analizleri yapılarak üriner sistem enfeksiyonu olmadığı netleştirildi. Hiçbir hastada kist tedavisi için daha önce cerrahi veya cerrahi olmayan herhangi bir işlem yapılmamıştı.

Hastalar sağ veya sol yan pozisyona alındıktan sonra uygun alan arınım ve örtümü yapılarak prilokain hidroklorür (% 2, 10 ml) ile lokal anestezi uygulandı. Ultrasonografi kılavuzluğunda 18 G metal iğne ile kistler boşaltıldı. Kist sıvısı boşaltıldıktan sonra boşaltılan sıvının %15'i kadar saf alkol kist içerisine yavaşça enjekte edildi. Bu işlemler esnasında herhangi bir komplikasyon olmadı. Alınan kist sıvısında glukoz, BUN, kreatinin, sodyum ölçümleri ve sitolojik inceleme yapıldı. Hastaların hepsine ayakta işlem yapıldı ve hastalar 2 saatlik bir gözlemin ardından

taburcu edildi. Tüm hastalara işlem sonrası antibiyotik verildi.

Çalışma kapsamındaki hastalara 1 yıl sonra semptom sorgulaması yapıldı ve ultrasonografi ile kontrol edildi.

Bulgular

Bu çalışma için toplam 128 hasta değerlendirildi (77 erkek, 51 kadın). Hastaların ortalama yaşı 52.3 yıl (37 - 71) idi. Çalışmaya alınan hastalara ait bilgiler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hastalara ait özellikler.

Hasta Özellikleri	Saptanan Değerler
Cinsiyet (E/K)	77 (%60.16) / 51 (%59.84)
Ortalama yaş (yıl)	52.3 (37 – 71)
Yerleşim (sağ/sol)	65 (% 50.78) / 63 (% 49.22)
Ortalama kist çapı (cm)	8.3 (4.8 – 11.3)
Kist yerleşimi	
Üst pol	24 (% 18.75)
Orta pol	50 (% 39.06)
Alt pol	54 (% 42.19)

Kistler 65 hastada sağ böbrekte, 63 hastada sol böbrekteydi. Kistlerin ortalama çapı bilgisayarlı tomografi ile 8.3 cm (4.8 - 11.3) olarak ölçüldü.

Kistler yerleşimlerine göre değerlendirildiğinde; 24 hastada üst polde, 50 hastada orta polde, 54 hastada alt polde kist tespit edildi. Hastaların tümünde kistler kortikal yerleşimliydi. Kist sıvısından yapılan analizlerde herhangi bir patoloji bulunmadı.

Bir yıl sonraki kontrollerde, 27 hastada (%21.1) ağrıya neden olan ve ortalama çapı 3.4 cm (2.5–5.1) olan kist oluştuğu görüldü. Tekrarlayan kist oluşan bu hastaların hiçbirinde nüks böbrek kistinin çapı önceki boyutuna ulaşmamıştı.

Tartışma

Yapılan otopsi çalışmalarında, cinsiyetler arasında fark olmamak üzere, 50 yaş üzeri hastalarda % 50 insidansla basit böbrek kistleri tespit edilmiştir. Böbreğin basit kistleri, yani Bosniak sınıflamasına göre tip 1 olan renal kistler, erişkinlik dönemine kadar %1'den daha az görülmekteyken, yaşlandıkça daha fazla görülür (1).

Tip 1 Bosniak kistler çoğunlukla semptom vermezler ve rastlantısal olarak tespit edilirler. Ancak büyümeleriyle birlikte kitleye bağlı olarak künt bir ağrı, toplayıcı sisteme rüptüre olurlarsa hematüri ve oluşturabildikleri lokal iskemik alanlar ve arteryal

sisteme baskıya bağlı olarak hipertansiyon görülebilir (3,5-7).

Basit böbrek kistleri, transisyonel epitel ile döşeli olan toplayıcı sistemin aksine tek katlı yassı veya küboidal epitel ile döşelidir. Nefronun tübül epitelinden gelişirlerse de, nefronun hiçbir bölümüyle bağlantılı değildir (1,3).

Tedavi gereksiniminde, eğer herhangi bir komplikasyon gelişmemişse, öncelikli olarak nonsteroidal ilaçlar ile ağrı dindirilir. Çoğu hastada başka bir işleme gerek kalmaz. Müdahale gerekcekse, öncelikli olarak minimal invaziv işlemler tercih edilmelidir. Minimal invaziv işlemlerin başında kistin perkütan bir iğne ile boşaltılması gelir. Ancak sadece kistin boşaltılması işlemi tekrar kist oluşumuna neden olabileceğinden dolayı, kist boşaltıldıktan sonra tekrarlamasını önlemek için sklerozan enjekte edilebilir. Diğer tedavi yöntemleri arasında laparoskopik olarak eksizyon (transperitoneal veya retroperitoneal) ve açık cerrahi ile eksizyon yer alır. Önceleri tek tedavi olan açık cerrahi günümüzde çok nadiren kullanılmaktadır (8-13).

Çalışmamızda perkütan iğne aspirasyonunun ardından kist içerisine saf alkol enjekte edilmiştir. Perkütan kist aspirasyonunu takiben kist içerisine alkol uygulamasını ilk kez Bean 1981 yılında yayınlamıştır (14). Değişik çalışmalarda sklerozan olarak alkol, tetrasiklin, glukoz fenol, lipiodol, asetik asit, bizmut fosfat, üre kolohidrat, povidon iyot, pantopaque, minosiklin, polidokanol gibi maddeler kullanılmıştır. Sklerozan maddeler arasında kistlerin tekrarlaması arasında belirgin bir fark bulunamamıştır (15-25).

Perkütan müdahale ile kist boşaltılması, tek seans yerine multipl seanslar halinde de yapılmış ve tek seansa göre daha iyi sonuçlar alınmıştır (26). Ancak bu tedavilerde hastanede kalış süresi daha uzundur ve yerleştirilen kateterin verdiği rahatsızlık da bir diğer olumsuz yönüdür. Alkol kist içerisine uygulandıktan sonra kistin iç cidarındaki hücreleri inaktive ederek kist kapsülüne doğru penetre olmaya başlar (14). Ancak alkole bağlı sklerozis için yeterli alkol miktarı ve konsantrasyonu halen net değildir.

Alkol uygulaması esnasında bir diğer dikkat edilecek nokta da kistin boşaltılması esnasında iğnenin sabit tutulmasıdır. Özellikle kistin lateraline doğru olan girişlerde kist dışına çıkılmaması için daha dikkatli olunmalıdır. Nüks oranı açık cerrahi ve laparoskopiye göre daha fazla olsa da, minimal invaziv bir işlem olması, lokal anestezi ile yapılabilmesi ve yöntemle ilgili komplikasyon açısından en avantajlı metod olması, iş gücü ve zaman kaybına yol açmaması ile basit böbrek kistlerinin tedavisinde güvenli bir yöntem olarak yerini korumaktadır.

Kaynaklar

1. Soygür T. Böbrek, kalıs, pelvis renalis ve üreter anomalileri. Basit Kistler. In: Anafarta K, Arıkan N, Bedük Y (Eds). Temel Üroloji. 4. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri 2011: 332-4.
2. Bosniak MA. The current radiologic approach to renal cysts. Radiology 1981; 158: 1-10.
3. Glassberg KI. Renal dysgenesis and cystic disease of the kidney. In: Wein AJ (Ed). Campbell's Urology 9th ed. Philadelphia: WB Saunders 2007; 3305-58.
4. Koşar A, Öztürk A, Serel A, Çetin M. Semptomatik basit renal kistlerin klinik ve laboratuvar araştırması. SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi 1999; 6: 15-8.
5. Siegel CL, McFarland EG, Bring JA, Fisher AJ, Humprey P, Heiken JP. CT of cystic renal masses: analysis of diagnostic performance and interobserver variation. Am J Roentgenol 1997; 169: 813-8.
6. Terada N, Ichioka K, Matsuta Y. The natural history of simple renal cysts. J Urol 2002; 167: 21-3.
7. Wolf JS. Evaluation and management of solid and cystic renal masses. J Urol 1998; 159: 1120-33.
8. Bayazıt Y, Soyupak B, Ozdemir S, Arıdoğan IA, Doran Ş. Semptomatik basit böbrek kistlerinin tedavisinde laparoskopi ve açık cerrahinin karşılaştırılması. Türk Üroloji Dergisi 2003; 29: 324-9.
9. Gemalmaz H, Öge Ö, Gürel M. Retroperitonoskopik renal kist eksizyonu. Ege Tıp Dergisi 2000; 39: 131-3.
10. İstanbulluoğlu MO, Koşan M, Çiçek T, Öztürk B, Özkardeş H. Böbrek kistlerinin laparoskopik dekortikasyonunda ultrasonik enerji kullanımı: etkin ve güvenilir bir yöntem. Selçuk Üniv Tıp Derg 2010; 26: 124-7.
11. Hulbert JC. Laparoskopik management of renal cystic disease. Semin Urol 1992; 10: 239-41.
12. Huri E, Akgül T, Karakan T, Yücel Ö, Germiyanoglu C. Bosniak tip 1 böbrek kistlerinin laparoskopik tedavisinde retroperitoneal ve transperitoneal yaklaşımların karşılaştırılması. Türk Üroloji Dergisi 2009; 35: 7-10.
13. Geçit İ, Kaba M, Pirinççi N, Güneş M, Canbey Ö, Ceylan K. Semptomatik basit böbrek kistlerinin tedavisi: kısa dönem ilk laparoskopik sonuçlarımız. Yeni Üroloji Dergisi 2011; 6(3): 29-32.
14. Bean WJ. Renal cysts: treatment with alcohol. Radiology 1986; 138: 329-31.
15. Okeke AA, Mitchelmore AE, Keeley FX, Timoney AG. A comparison of aspiration and sclerotherapy with laparoscopic deroofing in the management of symptomatic simple renal cysts. BJU Int 2003; 92: 610-3.
16. Demir A, Alan C, Kilciler M, Bedir S. Comparison of etanol and sodium tetradecyl sulfate in the sclerotherapy of renal cyst. J Endourol 2007; 21: 903-5.
17. Mindell HJ. On the use of pantopaque in renal cysts. Radiology 1976; 119: 747-8.
18. Phelan M, Zajko A, Hrebinko RL. Preliminary results of percutaneous treatment of renal cysts with povidone-iodine sclerosis. Urology 1999; 53: 816-7.
19. Madeb R, Feldman PA, Knopf J, Rub R, Ertürk E, Yachia D. Povidone-iodine sclerotherapy is ineffective in the treatment of symptomatic renal cysts. J Endourol 2006; 20: 402-4.
20. Kılınç M, Tufan O, Güven S, Odev K, Gürbüz R. Percutaneous injection sclerotherapy with tetracycline hydrochloride in simple renal cysts. Int Urol Nephrol 2008; 40: 609-13.
21. Özgür S, Çetin S, İlker Y. Percutaneous renal cyst aspiration and treatment with alcohol. Int Urol Nephrol 1988;20:481-4.
22. Seo TS, Oh YH, Yoon Y. Acetic acid as a sclerosing agent for renal cysts: comparison with ethanol in follow-up results. Cardiovasc Intervent Radiol 2000; 23: 177-81.
23. Uemasu J, Fujiwara M, Munemura C, Tokumoto A, Kawasaki H. Effects of topical instillation of minocycline hydrochloride on cyst size and renal function in polycystic kidney disease. Clin Nephrol 1993; 39: 140-4.
24. Zachrisson L. Simple renal cysts threated with bismuth phosphate at the diagnostic puncture. Acta Radiol Diagn 1982; 23: 209-18.
25. Baysal T, Soylu A. Basit böbrek kistlerinin n-butyl siyanoakrilat ve iyotlu yağ ile perkütan tedavisi. Diagn Interv Radiol 2009; 15: 148-52.
26. Chung BH, Kim JH, Hong CH, Yang SC, Lee MS. Comparison of single and multiple sessions of percutaneous sclerotherapy for simple renal cyst. BJU Int 2000; 85: 626-7.

İletişim Yazarı

Yrd. Doç. Dr. Ali BEYTUR
 İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji AD,
 MALATYA
 E-posta: ali.beytur@inonu.edu.tr
 Tel: 0532 6207996

El Tercihinin Görsel P300 Yanıtları ve Görsel Tarama Yolları Üzerine Etkisi

The Effect of Handedness on Visual P300 Responses and Visual Scanning Pathways

Gökçer Eskikurt¹, İlker Yücesir², Ümmühan Işoğlu-Alkaç³

¹İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Sinirbilim AD, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, İstanbul

Özet

Beyin yarıküre asimetrisinin davranışa da benzer şekilde yansıdığı düşünülmektedir. Bu konuda en belirgin davranışsal asimetri, el tercihidir. Görsel Oddball paradigması ile 19 farklı bölgeden, sol ve sağ elini kullanan 14'er gönüllünün (toplam 28 kişi) Olaya İlişkin Potansiyel (ÖİP) verileri kaydedilmiştir. Ayrıca değişikliği tespit paradigmasında tarama yolu değerlendirilmiştir. Sağ ve sol elini kullananların P300 yanıtlarının genlik ve latans değerlerinin karşılaştırılmasında gruplar arası fark bulunmazken; kanal bazında orta hat (Fz, Cz, Pz) genlik ($p<0.05$) ve latans ($p<0.04$) verilerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Sağ elini kullananların P300 genlik değerleri sol elini kullananların P300 genlik değerlerinden daha yüksek ve latans değerleri de daha uzundur. Sağ elini kullananların sağ ve sol yarıküre yanıtları karşılaştırıldığında sağ yarıküre P300 yanıtlarının daha yüksek genliklere sahip olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Aynı bulgu sol elini kullananlarda da elde edilmiştir ($p<0.05$). Tarama yolları arasında gruplar arası fark bulunmamıştır. Çalışmamızda görsel bilginin işlenmesinin bilişsel boyutu hem sağ hem de sol elini kullananlarda sağ yarıkürede baskın olarak bulunmuştur. Ayrıca orta hat kanallarında sağ elini kullananların yanıtlarında, sol elini kullananlarla karşılaştırıldığında, hem daha büyük hem de daha geç olarak oluşmaktadır. Bulgularımızın hem sağ hem de sol elini kullananların sonuçlarını içermesi, önceki çalışmalara göre özelliği olmasını sağlamaktadır. Elde edilen bulgular yarıkürelerin özelleştiği işlevler, korpus kallozal bölgenin büyüklüğü ve kafatası kalınlığının yarıkürelerarası farkı ile ilişkilendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: El tercihi, Olay ilişkili potansiyelleri, P300, EEG.

Abstract

It is thought that hemispheric asymmetry is reflected to behavioral asymmetries. The most prominent behavioral asymmetry is hand preference. This study consisted of two groups (14 each) with different handedness. Event-Related Potentials (ERPs) to a visual oddball task were recorded from 19 sites, and another session with a "change detection paradigm" was applied, where the visual scanning pathways were recorded. The comparison of P300 grand averages of 19 sites showed no significant difference between the groups. The comparison of the central sites (Fz, Cz, Pz) showed significant differences of both, amplitude and latency, ($p<0.05$; $p<0.04$) respectively, where larger amplitudes and longer latencies were found in the right handed group. Both groups have showed larger P300 amplitudes of right hemispheric responses ($p<0.05$) in inter-hemispheric comparison. The results of "change detection paradigm" have shown no significant difference between the groups. The cognitive processing of visual information was found to be more dominant at the right hemisphere in both groups, and stronger at central sites in right handed subjects than their left handed counter partners. The study included both, right- and left handed subjects, which makes it more specific than the previous studies in the field. The present findings were related with the results of studies which examine the thickness of the skull, the size of corpus callosal area and the functional specialization of hemispheres.

Key Words: Hand preference, Event-related potentials, P300, EEG.

Giriş

Baskın beyin yarıküre kavramı 1860 yılında Broca'nın gözlemine kadar literatüre girmemiştir (1). Baskın yarıküre kavramının ilk ortaya çıktığı zamanlardaki tanımı bir yarıkürenin belirli bir işlevden ağırlıklı olarak sorumlu olması anlamına gelmektedir (2). Broca'nın inceleme yaptığı bütün vakalarda hasarın solda olması, Broca'nın sağlaklık ile konuşma arasında bir bağlantı olduğunu düşünmesine neden olmuştur. Sağlaklar için sol yarıküre ve solaklar için sağ yarıküre konuşmada baskın hemisfer olarak düşünülmüştür. Aynı dönemde karmaşık işlevlerde sol yarıkürenin büyük bir rol oynadığı ve sağ yarıkürenin daha az rolü olduğu kabul edilmiştir (3).

Beyin işlevlerinin lateralizasyonu konusunda en çok bilgi sağlanan çalışmalar ayırık beyin hastalarıyla yapılan çalışmalardır. İlk olarak 1960'lı yıllarda Borgen ve Vogel'in epilepsi hastalarında uyguladığı bu yöntemde, bilgileri yarıküreler arasında aktaran korpus kallozum kesildiğinde bilginin işlendiği yarıkürede kaldığı bulgusu elde edilmiştir (4). Yapılan araştırmalar sonucunda epilepsi nöbetlerini azaltmak için korpus kallozumu kesilmiş hastalara sağda bir nesne gösterildiğinde nesnenin adını söyleyebilmekte fakat bir başka nesne solda gösterildiğinde nesne gördüğünü inkar etmektedir. Ancak sol eliyle cisimlere dokunarak, daha önce gösterilen nesneyi seçmesi istendiğinde doğru nesneyi seçmekte fakat nesnenin

gerçek adı yerine nesneye benzeyen başka bir nesnenin adını söylemektedir (5). İki yarıküre kendilerine özgü algı, bellek ve yetenekleri ile iki farklı bilinç düzeyini temsil etmektedir. İnsan davranışı iki yarıküre işlevlerinin korpus kallozum tarafından birleştirilmesi ile oluşur (6). Beyin yarıkürelerinin işlevlerinin incelendiği araştırmalar sonucunda sol yarıkürenin konuşma, fonetik analizi ve motor işlevlerde ile özelleştiği, sağ yarıkürenin ise görsel-mekansal işlevler, prozodi ve dikkat bileşenleri ile özelleştiği bulunmuştur (7). Her ne kadar iki yarıküre farklı işlevlerde uzmanlaşmış gibi gözükse de birbirlerinden izole değildir ve bu sebeple yapılan çalışmalarda birlikte nasıl çalıştıkları konusuna odaklanılmıştır.

Zihinsel süreçleri değerlendirmek üzere günümüzde kabul görmüş çeşitli yöntemlerden biri de beyin elektriksel aktivitesinde (EEG) ortaya çıkan değişimlerin ölçümüdür. EEG, beyin yapıları tarafından üretilen elektriksel aktiviteyi saçlı deri yüzeyine yerleştirilen elektrotlarla ölçmeyi sağlayan tıbbi bir tekniktir (8). EEG serebral korteksteki piramidal hücrelerde toplanmış sinaptik potansiyellerle ilgili olan ekstraselüler akım ile oluşur. EEG'nin sağladığı en büyük avantajlardan biri zamansal çözümümesidir. Uzaysal çözümümesi MRI ve PET kadar iyi olmamasına karşın, elektriksel aktivitenin görelî gücünü ve beynin farklı bölgelerindeki pozisyonunu belirleyebilir (9). Bireye, dışardan farklı duysal özelliklerde uygulanan uyarılara karşı EEG'de oluşan değişimlere Uyarılma Potansiyeli (UP) denir (10). Uyarılma Potansiyelleri ile yapılan bilişsel araştırmalarda en sık kullanılan yöntem "Olaya İlişkin Potansiyeller"dir (OİP) (11). OİP organizmanın içinden gelen veya dışarıdan uygulanan uyarı etkisiyle beyinde sürekli varolan spontan elektriksel aktivitede, bu uyarının işlenmesi sonucunda oluşan elektrofizyolojik yanıtıdır. OİP'nin hem araştırmalarda hem klinik değerlendirmelerde bireylerin bilişsel fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan en önemli bileşeni P300 yanıtıdır. P300 yanıtı ile zihinsel süreçler arasındaki ilişki araştırılırken temelde dört parametre ele alınmaktadır. Bunlar; polarite, genlik, latans ve topografik dağılımdır.

OİP asimetrisi verilen görevin ağırlıklı olarak hangi yarıkürede işlendiğine göre değişim göstermektedir (12). Yarıküre asimetrisinin sonucu olarak ortaya çıkan birçok davranışsal asimetri tanımlanmıştır. Bunların en belirginini ise el tercihidir (13). El tercihi her ne kadar toplumda yazı yazma için kullanılan el olarak düşünülse de bilimsel araştırmalarda bu terim belirsizdir. Araştırmacılar el tercihinin çeşitli teorilerin varsayımları ile tanımlamışlardır. Bir kısmı, yapılan testlerde hızlı ve tam olarak kullanılan elin performansını saptarken, diğerleri ise el tercihinin performanstan bağımsız olduğunu savunmaktadır. El tercihinin sol ve sağ el şeklinde kategorize etmenin yanı sıra sürekli bir değişken olarak görülmesini ve eşik değerlerle sınıflandırılmasını öneren Annett (13); çalışmasında tutarlı olarak sol elini kullananların %3-4,

tutarlı olarak sağ elini kullananların %60-70 ve farklı durumlar için farklı ellerini kullanan kişilerin %25-33 oranında bulunduğunu belirtmiştir (14). El tercihinin kategorik halde incelenmesindeki asıl sorun, farklı görevler için farklı ellerini kullanan kişilerin gözardı edilmiş olmasıdır. Annett'in (14) bahsettiği farklı görevlerde farklı elini kullanabilme durumu çoğunlukla iki elini kullanabilen ve yaklaşık olarak toplumda 0,003 görülen kişilerle karıştırılmamalıdır. El tercihi sınıflandırmasınının kültüre, kritere, kendilik değerlendirmesine ve testlere göre değişebileceğini belirtilmiştir. Bu yüzden el tercihinin belirlemede kullanılan sıklıkların gönüllü yanlılığı, örnekleme metodu, ölçüm ve analizler eşitlenemediği için eşik değerler kadar hassas ölçümler sağlayamayacağını savunulmaktadır. Bu sürekliliği en iyi gösteren yöntem ise çeşitli eylemlerin hangi el ile yapıldığı sorularak puanlayan anketlerdir (15).

Planum temporale'nin anatomik asimetrisi ile sağ ve sol el tercihi arasındaki paralellik Annett (15) tarafından ortaya konmuştur. Ancak el tercihi asimetrisi diğer işlevlerin lateralizasyonunu tam olarak yansıtmamaktadır. Örneğin WADA testi ile, sağ elini kullanan bireylerin %96'sında dil işlevleri sol beyinde baskınken, sol elini tercih eden bireylerin %70'inde de dil işlevlerinin sol beyinde baskın olduğu bildirilmiştir (16). Ayrıca Knecht ve arkadaşları (17) yaptıkları çalışmada dil işlevlerinin sağ yarıkürede de özelleşebileceğini ifade etmiştir. Araştırmacılar, el tercihinin her ne kadar dil baskınlığı ile ilişkilendirse de el tercihinin derecesinin daha bilgilendirici bir yaklaşım olduğunu savunmaktadır. Bundan dolayı günümüzdeki araştırmalarda ilgili konuda baskın hemisferin belirlenmesinde davranışsal asimetrielerin yanısıra görüntüleme teknikleri ve elektrofizyolojik yöntemler de kullanılmaktadır.

El tercihi ile OİP bileşenlerinin genlik ve latans ilişkisini inceleyen araştırmalarda özellikle işitsel uyarıyı ayırt etme görevlerinde sol elini kullananların sağ elini kullananlara göre P300 genliğinin anteriör bölgelerde daha yüksek ve latansının daha kısa olduğu bulunmuştur (18). Görsel ve işitsel oddball paradigmalarda ise P300 genliğinin sol elini kullananlarda sağ elini kullananlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (19). Sol elini ve sağ elini kullanmanın P300 genlik ve latansı üzerindeki etkisini yarıküreler arası iletişim sağlayan korpus kallozum alanlarının büyüklük farkı açıklamaktadır (18). MR incelemeleri sonucunda sol elini kullanan erkeklerin kallozal bölgelerinin sağ elini kullanan erkeklerden daha büyük olduğu ortaya konmuştur (20). Yapılan meta analizler sonucunda ortaya çıkan bulgular iki şekilde sıralanmıştır: 1) Sol elini kullanan kişilerin korpus kallozal bölgeleri sağ elini kullanan kişilere göre anlamlı derecede daha büyüktür ve 2) Beynin büyüklüğü göz önüne alındığında kadınların kallozal alanı erkeklerin kallozal alanlarından daha büyüktür (21).

Değişikliğin tespiti tanım olarak görsel süreçte bir değişikliğin ilk farkedildiği andır. Sadece değişikliğin varlığını ifade etmek değil aynı zamanda neyin değiştiğini ve nerede değiştiğini ifade edebilmektir. Yapılan araştırmalarda çeşitli koşullarda gerçekleşen değişiklikler büyük, tekrarlı ve beklenen bir şekilde olmasına rağmen gönüllülerin değişiklikleri tespit edemediği bulunmuştur (22). Bu durum “değişim körlüğü” olarak adlandırılmaktadır (23). Yapılan çeşitli araştırmalarda farklı paradigmalarda yapılan büyük değişikliklerin fark edilmediğini bulunmuştur (23). Değişikliği tespit çalışmalarında en sık kullanılan yöntemlerden biri yanıp-sönme (flicker) paradigmasıdır. Rensink ve arkadaşlarının (23) geliştirdiği bu yöntemde, orijinal resim ile değiştirilmiş resim arasında boş bir ekran konularak arka arkaya hızlı bir şekilde ekranda sunulmaktadır. Bu döngü kişi değişikliği fark edinceye kadar devam ettirilir. Yapılan çalışmaların sonucunda resimlerin sunum süresinin 240 ms, boş ekran süresinin ise 80 ms olması gerektiği belirtilmiştir. Görsel-mekansal bilişin yarıküreler arasındaki asimetrisini inceleyen bir çalışmada ise sağ yarıküredeki inferiyor parietal lobülün bilateral dikkatle ilişkili olduğu, mekansal dikkatle ilişkili diğer alanların her iki yarıkürede simetrik biçimde bulunduğu belirtilmiştir (24). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda kişilerin sol görme alanına sunulan hedef uyarılara sağ görme alanına sunulan hedef uyarılardan daha çabuk tepki verdikleri gösterilmiştir (25).

Araştırmamızda el tercihinin baskın yarıküreler üzerindeki etkisini incelemek için Görsel Oddball paradigmasında EEG kaydı alınarak gruplar arasındaki fark incelenmiştir. Sol elini kullanan kişiler ile sağ elini kullanan kişilerin beyin dalgalarının genliği, latansı ve topografik dağılımı arasında fark olup olmadığı değerlendirilmiştir. Ayrıca değişikliği saptama paradigması kullanılarak, sol elini ve sağ elini kullanan kişilerin sunulan resmi ağırlıklı olarak taradıkları alanda fark olup olmadığı da araştırılmıştır. İki farklı paradigma kullanılarak el tercihi ile beyin yarıküre yanıtları arasında fark olup olmadığı belirlenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Örneklem

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Etik Kurulu'nun 2009/2648-43 No'lu onayı ve Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak gerçekleştirildi. Çalışmamız 16'sı erkek 12'si kadın 28 sağlıklı gönüllü ile gerçekleştirildi. Gönüllü olarak çalışmaya katılmayı kabul eden kişilerden 14 tanesi sağ (8 erkek, 6 kadın), 14 tanesi sol (8 erkek, 6 kadın) elini kullanmaktadır. Gönüllülerin el tercihlerini belirlemek için Nalçacı ve arkadaşlarının (26) geçerlilik ve güvenilirliğini yaptığı El Tercihi Anketi kullanıldı. Yaş ortalaması $22,35 \pm 2,62$ (min. 19, maks. 30) olan gönüllülerin bilinen ciddi görme-işitme sistem bozukluğu, nörolojik hastalık hikayeleri, kafa travması ve madde bağımlılığı bulunmamaktadır.

Gönüllülerden İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kognitif Elektrofizyoloji Laboratuvarı'nda MITSAR uyaran sistemi kullanılarak WINEEG programı ile 19 kanaldan OİP kaydı alındı.

Veri Toplama Araçları ve İşlem

El Tercih Anketi

El Tercihi Anketi Chapman ve Chapman'dan değiştirilerek Türkçe'ye çevrilen 13 sorudan oluşmaktadır. Anketin geçerlilik ve güvenilirliği Nalçacı ve arkadaşları (26) tarafından gerçekleştirilmiştir. Sağ el 1, sol el 3, “her ikisini de” yanıtı 2 olarak puanlandırılmaktadır. Böylece el tercihi 13 ile 39 puan arasında sürekli bir değer olarak hesaplanmaktadır. Kişinin puanı yükseldikçe sol elini kullanmayı tercih ettiği düşünülmektedir. Anket 449 kişiye uygulanmış, 43 kişi 3 hafta sonra yeniden test çalışmasına katılmıştır. Test-tekrar test güvenilirliği ($r=0.993$) ve iç tutarlılığı yüksek bulunmuştur (Cronbach Alfa=0.97). Araştırmamızda kullandığımız Nalçacı ve arkadaşlarının (26) Türkçe'ye uyarladığı ve geçerlilik ve güvenilirliğini yaptığı El Tercihi Anketi'de Annett'in (14) bahsettiği gibi el tercihinin süreklilik üzerinden hesaplanmıştır. Nalçacı ve arkadaşlarının (26) çalışmasında elde edilen puanlara göre, çalışmamıza katılan gönüllüler iki gruba ayrıldı.

Görsel Oddball Paradigması

Çalışmaya alınan tüm gönüllülerden, EEG kaydına gelmeden önce, uykusunu almış, iyi dinlenmiş, tok ve saçları temiz gelmeleri istendi. Kayıttan önce tüm gönüllülere yapılacak çalışmayla ilgili olarak, OİP kayıt süreci anlatıldı, kaydın yaklaşık olarak ne kadar süreceği ve kayıt sırasında hangi dönemlerde göz kırpmasının daha uygun olacağı ve nelere dikkat etmesi gerektiği konusunda bilgi verildi.

OİP kayıtları uluslararası 10/20 elektrot sistemine göre Fp1, Fp2, F7, F3, Fz, F4, F8, T3, C3, Cz, C4 T4, T5, P3, Pz, P4, T6, O1 ve O2 bölgelerinden ve elektro-kep aracılığıyla gerçekleştirildi. EEG iki kulak memesine yerleştirilen elektrotların aktivitesinin ortalaması referans alınarak unipolar olarak ve WinEEG programı kullanılarak kaydedildi. Göz hareketi olan EEG dilimlerini belirleyebilmek için sağ gözün dış kantus ve orta-üst bölgelerine yerleştirilen elektrotlardan bipolar EOG kaydı alındı.

Deri direncini düşürerek ölçülen sinyalin kalitesini arttırmak amacıyla elektrotların yerleştirileceği saçlı deri üzerindeki alanlar ve kulak memeleri alkollü pamukla temizlendi. İletkenliği arttırmak için Quick Gel kullanıldı. Kayıda başlamadan tüm elektrotların direncinin 10 k Ω 'un altında olması için gerekli özen gösterildi.

Gönüllüler ekran ile aralarında 1 metre mesafe olacak şekilde oturtuldu. Kayıt sırasında oda loş bir şekilde aydınlatıldı. Kaydedilen sinyale 0.1 Hz yüksek geçiren

ve 70 Hz alçak filtre uygulandı ve 500 nokta/sn örnekleme hızı ile bilgisayara kaydedildi.

Gönüllüler görsel oddball paradigmasında uygulanan hedef görsel uyararı görür görmez 2 düğmeli bir farenin sol tuşuna basarak hedef uyarıların belirlenmesi için çalışmaya katılan gönüllüler fareyi sağ elleriyle kullandılar.

Uyaran düzeneğinin sunumunda Psytask programı kullanıldı. Gönüllüye rastlantısal bir sıra içinde iki farklı görüntü bilgisayar ekranında sunuldu (Şekil 1A). Altta mavi renkli karenin gözüktüğü hedef uyarının olasılığı %20 iken; üstte mavi renkli karenin gözüktüğü standart uyarının sıklığı %80'di. Ortalama 330 adet görsel uyarı uygulandı. Gönüllüden dikkatini altta mavi karenin görüldüğü görüntülere yoğunlaştırması istendi ve bu görüntüyü gördüğünde olabildiğince hızlı farenin sol tuşuna basması istendi. Bu koşullar altında hedef uyarılara karşı elde edilen OİP yanıtlarında, uyarandan yaklaşık 300 msn sonra P300 adı verilen pozitif dalga gözlemlendi.

Değişikliği Saptama Paradigması

Resimlerdeki değişiklikleri fark etmek, değişikliklerin fark edildiği süreyi belirlemek ve değişikliklerin aranması sırasında gözlerin baktığı yönü incelemek (tarama yönü) için Indiana Üniversitesi'nden Tom Busey, Rupali Parab, ve Dean Wyatte'nin geliştirdiği Change Blindness programı, belirtilen adresten ulaşılabilir. Bu programın kullanılması için Tom Busey'den izin alınarak kullanıldı. (<http://cognitron.psych.indiana.edu/CogsciSoftware/ChangeBlindness/index.html>).

Gönüllüler 19 inç'lik ekrandan bir metre uzağa oturuldu. Değişikliği saptama paradigmasında gönüllülerden 9 bulanık resimdeki değişiklikleri saptamaları istendi. Resimlerin hepsi sokak ve cadde resimlerinden oluşmaktadır. Resimler 1280 x 720 pikseldir. Gönüllülerin her birinde orijinal resim 240 msn, araya giren gri ekran 80 msn ve değiştirilmiş resim 240 msn olmak üzere farklı sırayla bilgisayar ekranından sunuldu. Gönüllü resimdeki değişiklikleri fark edene kadar resimler sunulmaya devam edildi. Resimlerin her birinde birer değişiklik, 9 farklı yerde; resmin sol üst, sol orta, sol alt, orta üst, orta orta, orta alt, sağ üst, sağ orta ve sağ altında olmaktadır. Gönüllünün kontrolündeki fareyle (mouse) resmin üzerinde gezindiği yer aydınlanmaktadır (Şekil 1B). Gönüllü resim üzerinde gezinirken değişiklikleri fark ettiği yerde farenin tuşuna basarak uyarının sunumunu durdurdu.

Veri Analizi

OİP Veri Analizi

Ham veriler değerlendirilmeden önce EEG datası, 200 msn uyarı öncesi ve 1000 msn uyarı sonrası olacak şekilde EEG dilimlerine ayrıldı. Artefaklı EEG dilimleri otomatik ve manuel iki aşamalı bir şekilde belirlenerek değerlendirme dışı bırakıldı.

İlk aşamada 0.1-30 Hz arasında bant geçiren filtre uygulanarak 100 μ V'u aşan genliklerin bulunduğu dilimler işaretlendi ve otomatik olarak dışlandı. İkinci aşamada ise geride kalan dilimler, daha detaylı olarak gözden geçirilerek manuel olarak değerlendirme dışı bırakıldı.

Ortalama yanıtlarda uyarı takiben oluşan yanıtın P300 bileşeninin genlik ve latans değerleri ölçüldü. Her gruptaki gönüllülere ait yanıtların büyük ortalamaları alınarak gruplararası özellikler karşılaştırıldı.

Değişim Körlüğü Veri Analizi

Gönüllülerin resimdeki değişimi ne kadar sürede saptadıkları ve kişinin taramaya hangi bölgeden başladığı ve sağ ve sol tarafı tarama yüzdeleri not edilerek değerlendirildi. Sağ ve sol tarama yüzdelerini bulmak için Bora Cebeci'nin MATLAB'da yazdığı bir fonksiyon kullanıldı. Bu fonksiyon orijinal resim görüntüsü ile gönüllünün taradığı resim görüntüsünü karşılaştırarak gönüllünün fareyle izlediği yolu göstermektedir (Şekil 1C). Ardından program sol ve sağ taraf için tarama yüzdelerini vermektedir.

İstatistik

Sağ ve sol elini kullanan gönüllülerin Görsel Oddball paradigması ile elde edilen hedef uyarı yanıtlarındaki P300 dalga bileşenine ait latans ve genlik değerleri, Tekrarlı Ölçümler (Repeated Measures) ANOVA testi kullanılarak karşılaştırıldı. Sağ elini kullanan gönüllülerin sağ ve sol yarıküre yanıtlarının genlik ve latans değerleri Tekrarlı Ölçümler (Repeated Measures) ANOVA ile değerlendirildi. Aynı işlem sol elini kullanan gönüllülere de uygulandı.

Değişim körlüğü verilerinin değerlendirmesinde iki grubun sol tarama ve sağ tarama yüzdelerinin ortalamaları alınarak Bağımsız Örneklemler T-testi ile karşılaştırıldı. Ayrıca hem sol elini hem de sağ elini kullanan gönüllülerin her koşul için sağ taraftaki değişiklikleri saptama ve sol taraftaki değişiklikleri saptama sürelerinin ortalamaları İlişkili Ölçümler (Paired Samples) T-test ile değerlendirildi.

Bulgular

Çalışmamıza katılan gönüllülerin yaş, cinsiyet, eğitim durumu ve El Tercihi Anketi'nden aldıkları puanların ortalaması Tablo 1'de görülmektedir.

El Tercihi Anketi Bulguları

Yapılan anket sonucunda gönüllülerin anket puanları 13 ile 39 puan arasında değişmektedir. 13 puan sadece sağ el kullanımı iken puan arttıkça her iki eli kullanma durumunda artış gözlenmektedir. Sol elde ise 39 puan sadece sol eli kullanmak anlamına gelmekte ve kişinin puanı azaldıkça her iki elini kullanma durumu da artmaktadır. Burada bahsedilen her iki elini kullanma durumu farklı görevler için kişinin farklı elini tercih etmesi anlamına gelmektedir. Araştırmada 27'nin üzerinde puan alanlar sol elini baskın kullanan kişiler olarak değerlendirilirken 25'in altında olanlar sağ elini

baskın kullanan kişiler olarak değerlendirilmiştir. Sol elini baskın kullanan grubun ortalaması $34,78 \pm 4,22$ (min. 28, maks. 39) iken, sağ elini baskın olarak kullanan grubun ortalaması ise $14,57 \pm 2,02$ 'dir (min. 13, maks. 19). Sonuç olarak kişiler 14'er kişilik iki gruba ayrılmıştır.

Tablo 1. Çalışmaya katılan gönüllülerin demografik özellikleri ve el tercihi anketi puanları.

Özellikler	Gruplar	
	Sol El	Sağ El
Yaş (yıl)	22,40±3,37	22,60±1,95
Cinsiyet (K/E)	6/8	6/8
Eğitim (yıl)	13,50±1,08	14,70±1,25
El Tercihi Anketi Puanı	34,64±4,49	14,57±2,02

Görsel Oddball hedef uyarın yanıtının değerlendirilmesi "Sağ ve sol elini kullanan gönüllülerin P300 yanıtlarının karşılaştırması"

Görsel Oddball paradigması kullanılarak elde edilen hedef uyarın büyük ortalama yanıtları sağ ve sol elini kullanan gönüllüler açısından değerlendirildiğinde ön bölgelerde (frontal ve santral) daha belirgin olmakla birlikte, kayıt alınan tüm kanallarda sağ elini kullanan gönüllülerin yanıtları sol elini kullananlara göre daha büyük olarak elde edilmiştir (Şekil 2, Şekil 3A). Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır [$F(1,13)=0.158$, $p<0.69$]. Aynı grupların latans değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilememiştir [$F(1,13)=1.313$, $p<0.27$] (Şekil 2).

P300 yanıtının orta hat değerleri (Fz, Cz, Pz) sağ ve sol elini kullanan gönüllüler arasında karşılaştırıldığında, sağ elini kullanan gönüllülerin P300 yanıtının genlik değerleri sol elini kullananlara göre yüksek [$F(1,13)=4.670$, $p<0.05$], latans değerleri daha uzun olarak bulunmuştur [$F(1,13)=4.859$, $p<0.04$] (Şekil 3B).

Sağ elini kullanan gönüllülerin sağ yarıküre yanıtları sol elini kullanan gönüllülerin sağ yarıküre yanıtları ile karşılaştırıldığında hem genlik [$F(1,13)=0.091$, $p<0.76$] hem de latans değerleri açısından [$F(1,13)=1.459$, $p<0.24$] anlamlı bir fark bulunmamıştır. Aynı işlem sol yarıküre yanıtları için yapıldığında da genlik [$F(1,13)=0.036$, $p<0.85$] ve latans [$F(1,13)=0.420$, $p<0.52$] değerleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Sağ elini kullanan gönüllülerin sağ ve sol yarıküre P300 yanıtlarının karşılaştırması

Sağ elini kullanan gönüllülerin sağ ve sol yarıküre yanıtları karşılaştırıldığında sağ yarıküre genlik değerleri ortalamasının ($8,355 \mu V$, $SS=0,896$) sol yarıküre genlik değerleri ortalamasından ($7,203 \mu V$, SS

$=0,794$) daha yüksek olduğu bulunmuştur [$F(1,13)=7.130$, $p<0.01$] (Şekil 3C).

Sol elini kullanan gönüllülerin sağ ve sol yarıküre P300 yanıtlarının karşılaştırması

Sol elini kullanan gönüllülerin de sağ ve sol yarıküre yanıtları karşılaştırıldığında ise sağ yarıküre genlik değerlerinin ortalamasının ($7,973 \mu V$, $SS=0,753$) sol yarıküre genlik değerleri ortalamasından ($7,013 \mu V$, $SS=0,793$) daha yüksek olduğu bulunmuştur [$F(1,13)=8.285$, $p<0.01$] (Şekil 3C).

Tarama yolu bulguları

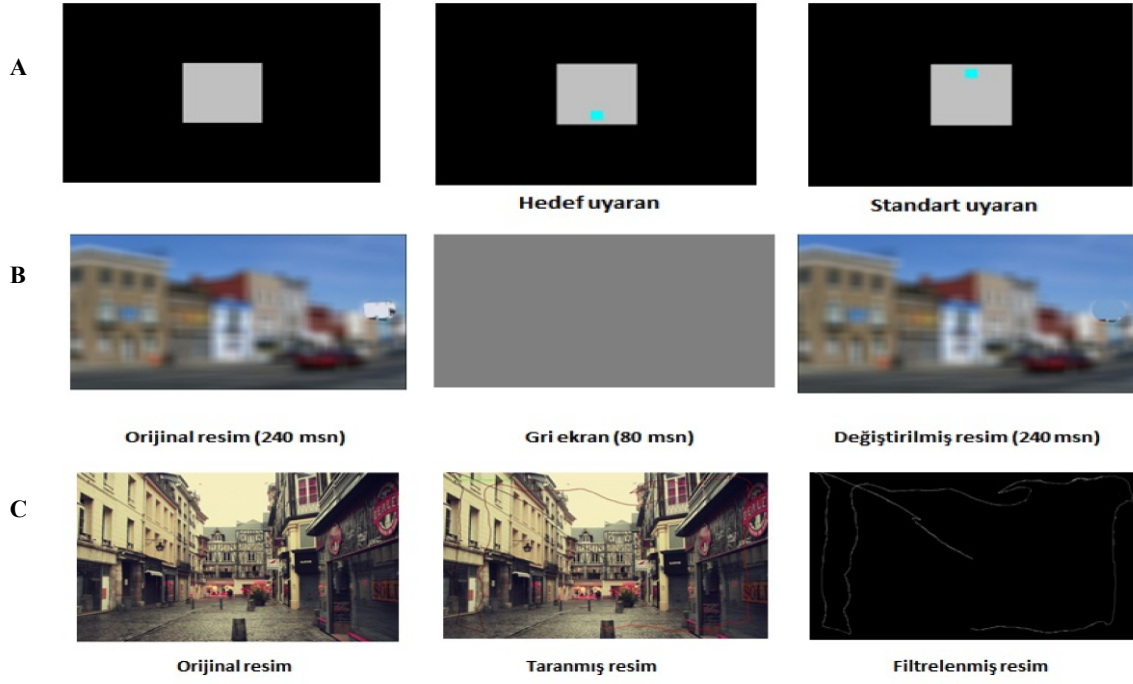
Gönüllülerin resmin sağ tarafını tarama yüzdeleri ve sol tarafını tarama yüzdeleri ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Resmin sol tarafını tarama yüzdesi [$t(26)=0.164$, $p>0.05$] ve sağ tarafını tarama yüzdelerinde [$t(26)=-0.165$, $p>0.05$] sol ve sağ elini kullanan kişiler arasında anlamlı bir farklılık elde edilmemiştir. Aynı zamanda resmi taramaya başladıkları yön açısından da resmi soldan [$t(26)=1.009$, $p>0.05$] veya sağdan taramaya [$t(26)=-1.136$, $p>0.05$] başlamakta sol ve sağ elini kullanan gönüllüler arasında fark bulunmamıştır.

Sol elini kullanan gönüllülerin sol ve sağ tarafı tarama yüzdeleri açısından anlamlı bir fark elde edilmemiştir [$t(13)=1.359$, $p>0.05$]. Resimleri taramaya başladıkları yön karşılaştırıldığında ise soldan taranmaya başlanan resimlerin ortalaması ($5,5$) sağdan taranmaya başlanan resimlerin ortalamasından ($3,4$) daha yüksek olarak bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır [$t(13)=2.33$, $p<0.05$].

Sağ elini kullanan gönüllülerin sol ve sağ tarafı tarama yüzdeleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır [$t(13)=0.956$, $p>0.05$]. Resimleri taramaya başladıkları yön karşılaştırıldığında ise soldan taranmaya başlanan resimlerin sayısı ile sağdan taranmaya başlanan resimlerin sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık elde edilmemiştir [$t(13)=0.307$, $p>0.05$].

Tartışma

El Tercihi Anketinden alınan puanlar incelendiğinde örneklem grubunda tutarlı olarak sağ elini kullanan kişiler %21,4 iken (13 puan), tutarlı olarak sol elini kullanan kişiler %14,3'tür (39 puan). Grubun %64,3 (14-38 puan) ise farklı durumlar için farklı ellerini kullanan kişilerdir ve grup sayılarının eşit olabilmesi için ağırlıklı olarak sol ve ağırlıklı olarak sağ elini kullananlar olarak iki gruba ayrılmıştır. Annett'in (14) el tercihi ile ilgili yaptığı çalışmalar bu konuda referans özelliği taşıyan çalışmalardır. El tercihinin kategorik halde incelenmesindeki asıl sorunun farklı görevler için farklı ellerini kullanan kişilerin gözardı edilmesinden kaynaklandığını öne sürmüş ve bu yüzden el tercihinin kategorik bir değişken olarak değil, sürekli bir değişken olarak ele alınması gerektiğini belirtmiştir. Çalışmamızda, Annett'in (14) önerdiği şekilde, farklı görevler için farklı ellerini kullanan kişiler de değerlendirme kapsamına alınmıştır.

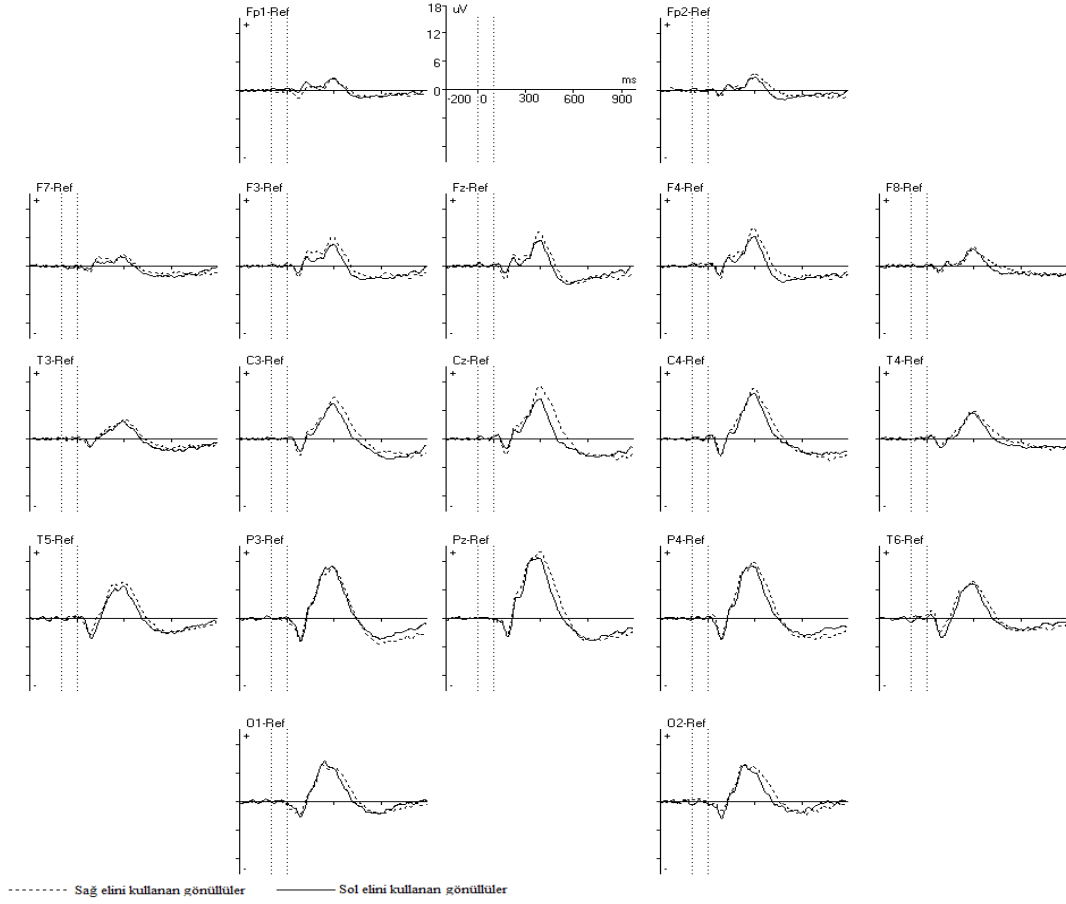


Şekil 1. A. Görsel Oddball paradigmasında gönüllülere sunulan uyarın örneği. Gönüllüden ekranın ortasına odaklanması ve gri karenin orta alt kenarında mavi renkli kareyi (hedef uyarın) gördüğü zaman farenin sol tuşuna basması, mavi kareyi üst orta kenarda (standart uyarın) gördüğü zaman gözardı etmesi istenmiştir. B. Değişikliği saptama paradigmasında gönüllüye sunulan uyarın örneği. İki yüz kırk milisaniye ile orjinal resim ve değiştirilmiş resim gösterilirken aralarında 80 msn gri ekran görünmektedir. Gönüllü resim üzerinde daireyi gezdirerek değişimi bulmaya çalışmaktadır, sadece farenin hareketine paralel olarak hareket eden “daire”nin bulunduğu yeri net olarak görmektedir. Kişi değişimi bulana kadar bu döngü devam ettirilir. C. Hazırlanan Matlab fonksiyonunun analiz yönteminin şematik gösterimi. Bu analiz yöntemi; orijinal resim ile gönüllünün üzerinde arama yaptığı taranmış resmin birbirinden çıkarılarak geriye sadece kişinin tarama yaptığı yolu bulmakta ve ardından taramanın sağ ve sol alan için yüzdesini vermektedir.

Daha önce yapılan çalışmalarda işitsel ve görsel P300 genlik ve latanslarında sol elini kullanan kişilerin özellikle frontal ve santral alanlarda sağ elini kullanan kişilere göre daha yüksek genlik değerleri ve daha kısa latans değerleri olduğu gösterilmiştir (19). Çalışmamızda görsel oddball paradigmasında sağ elini kullanan gönüllüler ile sol elini kullanan gönüllülerin yanıtlarında P300 bileşeni açısından bir fark bulunmamıştır. Polich ve Hoffman (19) elde ettikleri bu bulguları nöral temeller ile ilişkilendirerek, P300 genliklerinde görülen bu farkların sağ ve sol elini kullanan kişilerin nöroanatomik farklılıklarından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Özellikle korpus kallozal bölgenin büyüklüğünün P300 genliğini etkilediğini öne sürmüşlerdir. Çalışmamızda sağ elini kullanan gönüllülerin orta hat (Fz, Cz, Pz) P300 genlik değerleri (11,821 μ V, SS=1,262) sol elini kullanan gönüllülerden (10,410 μ V, SS=1,150) anlamlı derecede daha büyük olarak elde edilmiştir. Yine sağ elini kullanan gönüllülerin orta hat (Fz, Cz, Pz) P300 latans değerleri (398,476 msn, SS=6,057) sol elini kullanan gönüllülerden (384,476 msn, SS=5,993) anlamlı

derecede daha geç olarak bulunmuştur. Elde edilen bulgular arasındaki fark, Polich ve Hoffman’ın (19) el tercihini belirlerken Annett’in (14) işaret ettiği farklı görevler için farklı ellerini kullanan kişilerin gözardı edilmesinden kaynaklanıyor olabilir.

Çalışmamızda, sağ elini kullanan gönüllülerin sağ ve sol yarıküre P300 dalga bileşeninin genlik değerleri karşılaştırıldığında sağ yarıküre değerlerinin sol yarıküreye göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Aynı değerlendirme sol elini kullanan gönüllülerde yapıldığında, yine sağ yarıküre yanıtlarının sol yarıküreye göre daha yüksek genliklere sahip olduğu görülmüştür. Yani, görsel uyarana karşı oluşan bilişsel yanıt her iki grupta da sağ yarıkürede daha baskındır. Sağ elini kullanan kişilerde sağ yarıkürenin bütün alanlarında (frontal, santral ve pariyetal), sol elini kullanan kişilerde ise frontal ve santral bölgelerde sağ yarıkürenin daha baskın olduğu görülürken, pariyetal bölgede ise iki yarıküre arasında bir fark görülmemektedir (Şekil 3).

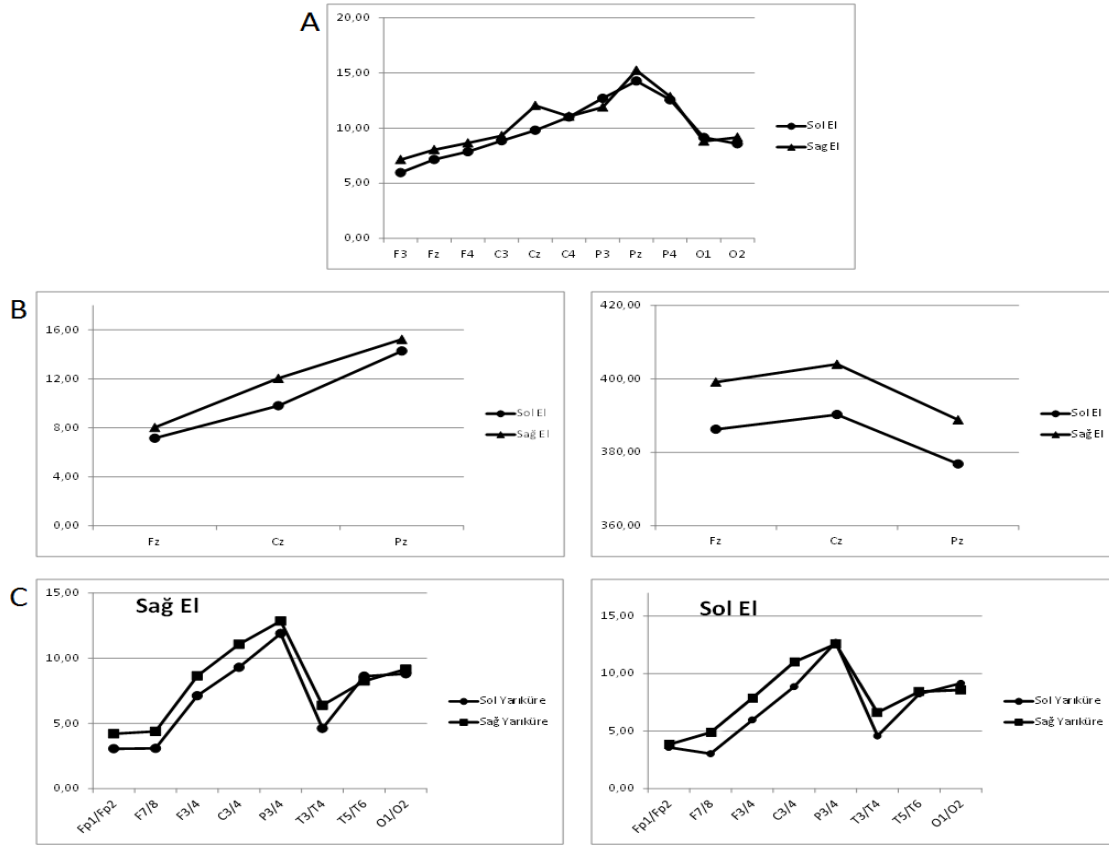


Şekil 2. Sağ ve sol elini kullanan gönüllülerin Görsel Oddball paradigması ile oluşan büyük ortalama hedef uyarın yanıtları (P300). Yanıtın P300 bileşeninin sağ elini kullanan gönüllülerde kayıt alınan tüm kanallarda sol elini kullanan gönüllülere göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu fark özellikle orta hatta ön (Fz) ve santral (Cz) bölgelerde daha belirgindir, arka bölgelere gidildikçe (Pz) bu fark küçülmektedir (x eksenini: "0" anı uyarının başladığı zaman dilimini belirtmektedir).

Alexander ve arkadaşları (27), yaptıkları araştırmada da hedef uyarılara karşı oluşan yanıtın sağ yarıkürede sol yarıküreye göre daha yüksek genliklere sahip olduğu bulunmuştur. Alexander ve arkadaşları (27) sağ elini kullanan gönüllülerden elde ettikleri bu bulguları beyin morfolojisi, kafatası kalınlığı ve kranial düzensizlikler gibi yapısal farklılık ile ilişkilendirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen bulguların hem sağ hem de sol elini kullanan gönüllülerden elde edilmiş olması araştırmamıza artı değer eklemektedir. Kafatası kalınlığı ile ilgili yapılan çalışmalarda sol oksipital bölgenin sağ oksipital bölgeden daha kalın olduğu ve elde edilen sonuçların bu farklılıktan kaynaklanabileceği, fakat diğer bölgelerde (santral, pariyetal ve temporal) ise kafatası kalınlığı simetrik olduğu için yarıkürelerden elde edilen sinyallerin kafatası kalınlığından eşit oranda etkilenebileceği öne sürülmüştür (28). Kafatası kalınlığının P300 üzerine etkisini inceleyen araştırmalar göz önüne alındığında çalışmamızda her iki grupta da elde edilen sonuçların yarıküreler arasındaki kafatası kalınlığı farklılığından kaynaklanmadığı düşünülmektedir. Daha önce yapılan

araştırmalarda sol elini kullanan kişilerin korpus kallozal bölgelerinin daha büyük (20), kafatası kalınlığının ise oksipital bölge dışında aynı olduğu bulgusu göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızda sol elini kullanan gönüllülerin pariyetal bölgede P300 genlik değerlerinin eşitlenmesinin kafatası kalınlığından bağımsız olduğu aşıkardır. Çalışmamızda sol elini kullanan gönüllülerin yanıtlarında ön bölgelerde sağ yarıküre daha baskın iken pariyetal bölgede sağ ve sol yarıküre arasında fark olmaması kallozal bölgenin kalın olmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Sağ ve sol elini kullanan gönüllülerin sağ ve sol tarafı tarama yüzdeleri arasında fark elde edilmemiştir. Göz hareketlerini bağımsız olarak ölçebilecek bir göz hareketi takip cihazı (eye-tracker) ile yapılacak bir çalışmadan daha ayrıntılı sonuçlar elde edilebilir. Eye-tracker cihazı ile sadece tarama yolları değil ayrıca, sabitlenme süresinin uzunluğu, sabitlenme süresinin sıklığı, sabitlenmeler arası mesafe konularında da bilgi elde edilerek daha yorumlanabilir sonuçlar elde edileceği düşünülmektedir.



Şekil 3. A. Sağ ve sol elini kullanan gönüllülerin P300 yanıtının frontal (F3, Fz, F4), santral (C3, Cz, C4), pariyetal (P3, Pz, P4) ve oksipital (O1, O2) bölgelerindeki genlik değerleri. B. Sağ ve sol elini kullanan gönüllülerin orta hat frontal (Fz), santral (Cz) ve pariyetal (Pz) bölgelerdeki P300 yanıtının genlik (sol grafik) ve latans (sağ grafik) değerleri. C. Sağ ve sol elini kullanan gönüllülerin sağ ve sol yarıküre P300 yanıtlarının ortalama genlik değerleri.

Yarıküreler arası baskınlık dil ile ilgili işlemlerde sol yarıküre için özelleşirken, görsel bilginin işlenmesinde elde edilen sonuçlar açısından farklılıklar mevcuttur. Bazı araştırmacılar mekansal görsel işlemlerde sağ yarıküreyi daha baskın bulurken, sol yarıkürenin renk ayırımında ön plana çıktığını öne sürmüştür (29). Bir diğer araştırmada ise, harekette mekansal dikkatin işlenmesinde sol görme alanının sağa göre daha fazla aktiflendiği bulunmuştur (30). Göz hareketi ile tetiklenen dikkat kaymasının yarıküre özellikleri incelendiğinde ise sağ yarıkürenin daha baskın olduğu gözlemlenmiştir (31). Literatürde farklı gibi gözükten sonuçlar, el tercihinin belirlenmesinde kullanılan farklı yöntemlerden ve gönüllülerin birçoğunun her iki elini de kullanabilme özelliklerinden kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızda, sağ ve sol elini kullanan gönüllülerin sağ ve sol yarıküre yanıtları arasında fark bulunamamıştır. Orta hat yanıtlarında (frontal; Fz, santral; Cz ve pariyetal; Pz) sağ elini kullanan gönüllülerin P300 yanıtları hem daha büyük hem de daha geç olarak elde edilmiştir. Özetle ifade etmek gerekirse, görsel bilginin işlenmesinin bilişsel boyutu hem sağ hem de sol elini kullanan gönüllülerde sağ yarıkürede daha baskın olarak bulunmuştur. Yine önceki çalışmalarda, sol elini kullanan gönüllüler ile yapılan çok fazla çalışma bulunmadığı görülmektedir. Çalışmamızın hem sağ

hem de sol elini kullanan gönüllülerden elde edilen sonuçları içermesi bu konuda yapılacak çalışmalara katkı sağlayacak düzeydedir.

Teşekkür

Bu çalışma "İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na" desteklenmiştir. Proje no: 4965.

Kaynaklar

- 1.Nalçacı E. Beyin İşlevlerinin Yanallaşması. In: Karakaş S, Ed. Kognitif Nörobilimler. MN Medikal & Nobel Tıp Kitap Sarayı. Ankara. 2008: 149-168.
- 2.Geshwind N. Historical Introduction. In: Geshwind N, Galaburda AM, Ed(s). Cerebral Dominance. Harvard University Press. Cambridge. 1985.
- 3.Kolb B, Whishaw IQ. Fundamentals of Human Neuropsychology. 4th Ed. WH Freeman and Company. New York. 1996.
- 4.Bear MF, Connors BW, Paradiso MA. Language and Attention. In: Neuroscience, Exploring the Brain. William&Wilkins. Baltimor: 2001: 576-614.
- 5.Springer SP, Deutsch G. Left Brain, Right Brain. 4th Ed. WH Freeman and Company. New York. 1993.
- 6.Hoptman MJ, Davidson RJ. How and why do the two cerebral hemispheres interact? Psychol Bul 1994; 116(2): 195-216.

7. Davidson RJ. Affect, Cognition, and Hemispheric Specialization. In: Izard CE, Kagan J, Zajonc R. Ed(s). Emotions, Cognition and Behavior. Cambridge University Press. Cambridge. 1984; 320-65.
8. Berger H. Über das elektrenkephalogramm des Menschen. Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten 1929; 87: 527-70.
9. İšođlu-Alkaç Ü. Beyin arařtırmaları tarihinde bir gezinti: Elektronörofizyoloji. Klinik Geliřim 2009; 22(3): 14-9.
10. Clark V, Hillyard SA. Spatial selective attention affects early extrastriate but not striate components of the visual evoked potential. J Cog Neuroscience 1996; 8: 387-402.
11. Polich J. P300 clinical utility and control of variability. J Clin Neurophysiol 1998; 15: 14-33.
12. Reinvang I, Magnussen S, Greenlee MW. Hemispheric asymmetry in visual discrimination and memory: ERP evidence for the spatial frequency hypothesis. Experimental Brain Research 2002; 144: 483-95.
13. Annett M. The binominal distribution of right, mixed and left handedness. Quart J Experim Psychol 1967; 19: 327-33.
14. Annett M. Handedness and cerebral dominance: The Right Shift Theory. J Neuropsychiatry Clin Neurosciences 1998; 10: 459-69.
15. Annett M. Parallels between asymmetries of planum temporale and of hand skill. Neuropsychologia 1992; 30: 951-62.
16. Rasmussen T, Milner B. The role of early left-brain injury in determining lateralization of cerebral speech functions. Annuals New York Academy of Sciences 1977; 299: 355-69.
17. Knecht S, Dräger B, Deppe M, et. al. Handedness and hemispheric language dominance in healthy humans. Brain 2000; 123: 2512-8.
18. Alexander JE, Polich J. Handedness and P300 from auditory stimuli. Brain and Cognition 1997; 35: 259-70.
19. Polich J, Hoffman LD. P300 and handedness: On the possible contribution of corpus callosal size to ERPs. Psychophysiology 1998; 35: 497-507.
20. Witelson SF. The brain connection: the corpus callosum is larger in left-handers. Science 1985; 229: 665-8.
21. Driesen NR, Raz N. The influence of sex, age, and handedness of corpus callosum morphology: a meta-analysis. Psychobiology 1995; 23: 240-7.
22. Simons DJ, Levin DT. Change blindness. Trends in Cognitive Sciences 1997; 1: 261-7.
23. Rensink RA, O'Regan JK, Clark JJ. To see or not to see: the need for attention to perceive changes in scenes. Psychological Science 1997; 8(5): 368-73.
24. Çiçek M, Gitelman D, Hurlley RS, Nobre A, Mesulam M. Anatomical physiology of spatial extinction. Cerebral Cortex 2007; 17: 2892-8.
25. Suzuki M, Hoshiyama M. Difference in P300 response between hemi-field visual stimulation. Neural Sciences 2011; 23: 603-8.
26. Nałçacı E, Kalaycıođlu C, Güneř E, Çiçek M. El tercihi anketinin geçerlik ve güvenilirliđi. Türk Psikiyatri Dergisi 2002; 13(2): 99-106.
27. Alexander JE, Porjesz B, Bauer LO, et al. P300 Hemispheric amplitude asymmetries from a visual oddball task. Psychophysiology 1995; 32: 467-75.
28. Chui HC, Damasio AR. Human cerebral asymmetries evaluated by computed tomography. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1980; 43: 873-8.
29. Wuergler S, Xiao K, Mylonas D, Huang Q, Karatzas D, Hird E, Paramei G. Blue-green color categorization in Mandarin-English speakers. J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis 2012; 29(2): 102-7.
30. Bosworth RG, Petrich JA, Dobkins KR. Effects of spatial attention on motion discrimination are greater in the left than right visual field. Vision Res 2012; 52(1): 11-9.
31. Okada T, Sato W, Kubota Y, Toichi M, Murai T. Right hemispheric dominance and interhemispheric cooperation in gaze-triggered reflexive shift of attention. Psychiatry Clin Neuroscience 2012; 66(2): 97-104.

İletişim Yazarı

Prof. Dr. Ümmühan İšođlu-Alkaç
 İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
 Fizyoloji AD, İstanbul.
 alkac@istanbul.edu.tr
 Tel:0532 357 37 22



Orijinal Araştırma Makalesi

Bir Yıllık Sürede İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılığının Araştırılması: Kesitsel Bir Çalışma

Investigation of the Antimicrobial Susceptibility of Pseudomonas aeruginosa Strains Isolated in One Year Period: A Cross-Sectional Study

Yücel Duman¹, Çiğdem Kuzucu¹, Halim Kaysadu¹, Mehmet Sait Tekerekoğlu¹
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Malatya.

Özet

Önemli bir hastane patojeni olan *Pseudomonas aeruginosa*; sepsis, peritonit ve ventilatör ilişkili pnömoni gibi yüksek mortalite ile seyreden enfeksiyonlar oluşturmaktadır. Bu kesitsel çalışmada 2011 yılı içinde çeşitli klinik materyallerden soyutlanan *P. aeruginosa* suşlarının klinik örnek ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma süresince toplam 307 izolat elde edildi. Suşların 1/3'ünden fazlası (%34.5) yoğun bakım birimlerinden soyutlandı. İzolatların %26.4'ü idrar ve %21.8'i trakeal aspirat örneklerine aitti. Elde edilen pseudomonaslarda amikasin direnci %1.3, imipenem direnci %11.4 ve piperasilin direnci %21.8 olarak saptandı. Çalışmamızın sonuçlarına göre pseudomonasların hastanelerin yoğun bakım ünitelerinde ve cerrahi servislerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Tek başına kullanılmamakla beraber amikasin en etkin antibiyotik durumundadır.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas aeruginosa*, Hastane enfeksiyonu, Antimikrobiyal direnç.

Abstract

As a significant nosocomial pathogen, *Pseudomonas aeruginosa* causes high-mortality infections such as sepsis, peritonitis and ventilator associated pneumoniae. In this cross-sectional study, we aimed to investigate the *P. aeruginosa* strains which were isolated in 2011, according to their clinical sample distribution and antimicrobial susceptibility features. A total 307 *P. aeruginosa* strains were isolated. More than 1/3 of the strains (34.5%) were isolated from the clinical samples from the intensive care units. Of the strains, 26.4% were isolated from urine and 21.8% of the strains were isolated from tracheal aspirate. Regarding their antimicrobial susceptibility pattern, frequency of amikacin resistance was 1.3%, imipenem resistance was 11.4%, and piperacillin resistance was 21.8%. According to results of this study, pseudomonas strains were accumulated in intensive care units and surgery clinics. Though monotherapy is not applied, amikacin seemed to be most effective drug for pseudomonas strains.

Key Words: *Pseudomonas aeruginosa*, Hospital acquired infections, Antimicrobial resistance.

Giriş

Pseudomonas aeruginosa hastane kaynaklı enfeksiyonlardan izole edilen önemli bir patojendir. Özellikle cilt ve doku hasarı gibi doğal savunma sistemlerinin zarar gördüğü durumlarda; intravenöz ve/veya üriner kateter varlığında, nütropeni olanlarda ve kistik fibrozisli ve kanser kemoterapisi alan hastalarda daha sık enfeksiyona neden olmaktadır (1-3). *P. aeruginosa* yoğun bakım ünitelerinde; sepsis, peritonit, ventilatör ilişkili pnömoni ve postoperatif enfeksiyonlar gibi yüksek mortalite ile seyreden klinik tablolar oluşturmaktadır (1-4). Nozokomiyal enfeksiyonların %10-15'inden pseudomonaslar sorumlu olup, hastane kaynaklı pnömonilerin en sık nedeni olduğu bildirilmektedir (1, 4-6).

P. aeruginosa doğada özellikle toprak ve sulara bulunur ve neden olduğu enfeksiyonların ilk kökeni genelde fiziksel ortamdır. Kimyasallara ve aşırı çevresel koşullara olan direnci nedeniyle, antiseptik-dezenfektan, intravenöz sıvılar, kateter, invaziv solunum yolu cihazları gibi hemen tüm hastane ekipmanları *P. aeruginosa* için kaynak olabilmektedir.

Kontamine olan bu aletlerin ve sıvıların çoklu hastalara kullanımını ile salgınlar oluşabilmektedir (1, 3, 4).

P. aeruginosa genellikle çoğu antimikrobiyale dirençlidir (7-9). Yaygın olarak tedavide kullanılabilen mevcut antimikrobiyallere direnç profili hastanelere göre farklılık göstermektedir. Hastane ortamında tedavi amacı ile yoğun antibiyotik kullanımı *P. aeruginosa* suşlarında çoklu antibiyotik direncinin ortaya çıkmasını kolaylaştırmakta; bu ise tedavi güçlüğüne neden olmaktadır (10,11). Bu nedenle klinik mikrobiyoloji laboratuvarları *P. aeruginosa*'nın neden olduğu enfeksiyonlarda rutin antibiyotik duyarlılık testleri ile direnç profilini izlemeli ve kliniklere bildirmelidir.

Bu kesitsel çalışmada, hastanemizin değişik kliniklerinden gönderilen örneklerde; 2011 yılı içinde soyutlanan *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılık ve epidemiyolojik özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem**Hastalar**

Kesitsel bir araştırma olan çalışmamızda; 2011 yılı içerisinde Turgut Özal Tıp Merkezi'nin değişik kliniklerinden laboratuvarımıza gönderilmiş olan örneklerden *P. aeruginosa* soyutlanan hasta sonuçları, defter kayıtlarından ve hastane bilgi sisteminden retrospektif olarak incelendi.

Laboratuvara farklı zamanlarda gönderilen ve *P. aeruginosa* soyutlanan örnekler aynı isimli hastadan ise tek örnek olarak kabul edildi.

Kültür ve antibiyotik duyarlılık testleri

Laboratuvara gönderilen klinik örnekler steril öze yardımıyla seyreltme yöntemi veya yaygın ekim yöntemi kullanılarak %5 koyun kanlı agar ve EMB (Eozin Metilen Mavis) agar besiyerlerine inoküle edildi. Etüvde 37 °C'de 18-24 saatlik inkübasyon sonrası, saf olarak üreyen bakterilerden *P. aeruginosa* tanımlanması, konvansiyonel yöntemlerle; gram boyama, hareket, oksidaz aktivitesi, glikoz ve laktoza oksidatif ve fermentatif etki, karakteristik koku, mavimsi yeşil pigment oluşturma, hemoliz yapma ve biyokimyasal testler ile yapıldı. Gerekli olduğunda ticari identifikasyon kitleri kullanıldı.

Tablo 1. *P. aeruginosa* suşlarının izole edildiği örneklerle ve bölümlere göre dağılımı.

Klinik Örnek	Çocuk Hastalıkları	İç Hastalıkları	Cerrahi Bölümler	Göğüs Hastalıkları	Yoğun Bakım	Toplam (n/%)
İdrar	26	29	-	-	26	81 (%26.4)
Trakeal aspirat	7	2	-	27	31	67 (%21.8)
Balgam	9	1	-	21	20	51 (%16.6)
Yara	5	9	17	-	11	42 (%13.7)
Kan	3	8	4	3	8	26 (%8.5)
Dren	1	6	2	-	4	13 (%4.2)
SVS*	3	4	3	-	3	13 (%4.2)
BOS**	2	2	-	-	3	7 (%2.3)
Kateter	1	-	3	-	-	4 (%1.3)
Parasentez	1	2	-	-	-	3 (%1)
Toplam (n/%)	58 (%18.9)	63 (%20.5)	29 (%9.4)	51 (%17.9)	106 (%34.5)	307(%100)

** SVS: steri vücut sıvıları; **BOS: Beyin omurilik sıvısı.

İzole edilen suşların in-vitro antimikrobiyal duyarlılıkları; amikasin (AK 30 μ g), gentamisin (CN 10 μ g), seftazidim (CAZ 30 μ g), sefepim (FEP 30 μ g), imipenem (IPM 10 μ g), aztreonam (ATM 30 μ g), piperasilin (PIP 100 μ g) piperasilin/tazobaktam (TPZ 100/10 μ g), siprofloksasin (CIP 5 μ g), sefaperazon-sulbaktam (SCF 75/30) diskleri (Oxoid, İngiltere) kullanılarak, Klinik ve Laboratuar Standartlar Enstitüsü (CLSI) kriterleri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi (Oxoid, USA) ile belirlendi (12). Duyarlılık çalışmalarımızda *P. aeruginosa* ATCC 27853 periyodik olarak kalite kontrol suşu olarak kullanılmaktadır.

Sonuçlar

Bir yıllık sürede çeşitli klinik örneklerden 307 *P. aeruginosa* suşu izole edildi. Soyutlanan *P. aeruginosa* suşları sıklıkla; yoğun bakım ünitelerinden, dahiliye ve pediatri servislerinde, göğüs hastalıkları servisinde ve cerrahi bölümlerde yatan hastalara ait klinik örneklerde saptandı. İzole edilen suşlarının 1/3'ünden fazlası (%34.5) ile yoğun bakım ünitelerinden gönderilen örneklerde saptandı.

Çalışmamızda *P. aeruginosa* suşları %26.4 ile ensik idrar ve %1 ile ise en az parasentez klinik örneklerinden izole edildi. *P. aeruginosa* suşlarının izole edildikleri diğer örnekler ise sırasıyla; trakeal aspirat, balgam, yara, kan, dren, BOS ve kateterdir.

İzole edilen *P. aeruginosa* suşlarının klinik örneklerle ve bölümlere göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

P. aeruginosa suşlarının antimikrobiyal direnç profili değerlendirildiğinde en düşük direnç oranı %1.3 ile amikasin'e karşı saptanırken; en yüksek direnç %21.8 ile piperasiline karşı saptandı. Piperasilin-tazobaktama %5.2, siprofloksasine %7.2, sefaperazon-sulbaktama %7.5, aztreonama %7.8, seftazidime %8.5, sefepime %10.4, imipeneme %11.4 ve gentamisine %12.4 oranında direnç gözlemlendi. İzolatların antibiyotik direnç oranları daha önce bildirilen çalışma sonuçları ile birlikte Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tartışma

Enfeksiyonlarının morbidite ve mortalitesi oldukça yüksek olan *P. aeruginosa* tüm dünyada hastane enfeksiyonlarında en sık görülen fırsatçı patojenlerden biridir (13,14). Avrupa'da 17 ülkeden 1417 yoğun bakım ünitesinde yapılan European Prevalence Infection in Intensive Care (EPIC) çalışmasında *P. aeruginosa*, *Enterobacteriaceae* grubu ve *S. aureus* ile birlikte en sık izole edilen nozokomiyal enfeksiyon etkenlerinden biri olarak bildirilmiştir (2). NosoLINE projesinde; ülkemizde nozokomiyal enfeksiyon insidansının %1-8.6 arasında değiştiğini ve enfeksiyonların çoğunluğunun yoğun bakım ünitelerinde geliştiği bildirilmiştir (15).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda; Akçay ve ark. (16) yoğun bakımlarda %52, dahiliye servislerinde %7, Eskitürk ve ark. (17) yoğun bakımlarda %27, dahiliye servislerinde %23, cerrahi servislerde %18 ve pediatri servislerinde %32 oranında *P. aeruginosa* suşu izole edildiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda, *P. aeruginosa* suşu en sık yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan (%34.5), dahiliye %18.9 ve pediatri servislerinden %20.5, göğüs hastalıkları servisinden %17.6 ve cerrahi bölümlerden %9.4 oranında izole edildi.

Tablo 2. Türkiye'de yapılmış çalışmalarda saptanan *P. aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnç oranı.

Kaynak	Antibiyotik Direnç Oranları (%)									
	AK	GN	IMP	CAZ	FEP	SCF	PRL	TPZ	ATM	CIP
Fidan ve ark.(25)	18		15	23		23		25		15
Ekşi ve ark.(27)		31	18	27	26		22	8	55	20
Kireççi ve ark.(11)	3	16	14	15					12	9
Gayyurhan ve ark.(26)	21	51	20	53	43	38		43	54	42
Dündar ve ark. (10)	20	28	22	34	31	34	33	29	55	34
Özdemir ve ark. (28)	24	52	54	36	43	32	23		48	44
Eyigör ve ark. (21)	8	18	10	20	29		11		28	21
Tunçoğlu ve ark. (18)	6	16	8	23	39		18		45	23
Bu çalışma	1.3	12.4	11.4	8.5	10.4	7.5	21.8	5.2	7.8	7.2

AK: Amikasin; GN: Gentamisin; IMP: İmipenem; CAZ: Seftazidim; PEF: Sefepim; SCF: Sefoperazon-sulbaktam; PRL: Piperasilin; TPZ: Piperasilin-tazobaktam; ATM: Aztreonam; CIP: Siprofloksasin.

Türkiye'de yapılan birçok çalışmada *P. aeruginosa* suşlarının en sık izole edildikleri klinik örnekler; idrar, solunum yolu, yara ve kan örnekleri olarak ifade edilmiştir (18-21). Çalışmamızdaki *P. aeruginosa* suşlarının klinik örnekler göre dağılımına bakıldığında ilk sırayı solunum yolu örnekleri (trakeal aspirat %21.8 ve balgam %16.6) almaktadır. İzolatların soyutlandığı diğer klinik örnekler, idrar (%26.4); yara (%13.7); kan (%8.5); BOS (%2.3) ve kateterdir (%1.3). *P. aeruginosa*'nın doğal direnç özelliklerine bağlı olarak enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antibiyotik seçenekleri kısıtlıdır. Ayrıca uygulanan tedavi sırasında antibiyotiklere karşı *P. aeruginosa*'nın çeşitli mekanizmalarla hızla direnç geliştirmesinde önemli bir sorundur.

Antipsödomonal penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler, kinolonlar *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında sık kullanılan antimikrobiyal ajanlardır (13,18-20). Bu ajanlar tedavide sıklıkla aminoglikozidler ile kombine edilerek kullanılmaktadır. *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde kombine tedavinin bir parçası olan aminoglikozidlerin tek başlarına kullanılmalrı önerilmemektedir. Amikasinin az sayıda aminoglikozid modifiye edici enzimden etkilenmesi nedeniyle *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında diğer aminoglikozidlere oranla daha etkindir (13). Birleşik Devletler'de 29 laboratuvarın katıldığı 52.637 *P. aeruginosa* izolatu incelendiğinde; en yüksek direnç oranı %31 ile siprofloksasine, en düşük direnç ise %7 ile amikasine karşı bildirilmiştir (22). Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) 2006 çalışmasında *P. aeruginosa*'nın meropenem direnci %22; amikasin %23, siprofloksasin %33 olarak bildirilmiştir (23). Ülkemizde yapılan çalışmalar incelendiğinde;

amikasine %2-43, gentamisine %16—75 oranında direnç bildirilmektedir (5,10,11,18-21,25). Çalışmamızda; amikasine %1.3, gentamisine %12.4 oranında direnç gözlemlendi. Ülkemizden bildirilen diğer çalışmalarda *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında ilk tercih edilen sefalosporinlerden biri olan seftazidime %15- 55, sefepime %26-45, sefoperazon/sulbaktama %23- 38 arasında direnç bildirilmektedir (24 - 28). Çalışmamızda seftazidime %8.5, sefepime %10.4, sefoperazon/sulbaktama %7.5 oranında direnç gözlemlendi. Bu hastanemizdeki seftazidim, sefepim ve sefoperazon/sulbaktam direnç oranlarının düşük olduğunu göstermektedir.

P. aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisinde kinolonlar da tek başlarına ya da diğer antibiyotiklerle (örneğin beta-laktamlarla) kombine edilerek kullanılabilir. Türkiye genelinde yapılmış çalışmalarda siprofloksasin direnci %9-44 arasında değişmektedir (Tablo 2). Çalışmamızda siprofloksasin direnç oranı %7.2 olarak saptanmıştır. Bu düşük direnç oranının hastanemizdeki *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde dikkate alınabileceğini düşündürmektedir. Beta-laktam antibiyotiklerden aztreonam piperasilin ve piperasilin/tazobaktama sırasıyla; %12-55, %11-33 ve %8-43 arasında direnç bildirilmiştir (Tablo 2). Çalışmamızda aztreonama %7.8, piperasilin/tazobaktama %5.2 direnç saptanırken, hastanemizden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında %21.8 ile en yüksek direnç oranı piperasiline karşı saptandı.

Karbapenemler, en geniş spektrumlu etkin beta-laktam antibiyotikler olarak bilinmekle birlikte, *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde yoğun olarak kullanılması son yıllarda bu gruba karşı direncin artmasına yol açmıştır. Tunçoğlu ve ark. (18)

imipeneme karşı %8 direnç bildirirken, Özdemir ve ark. (1) %54 oranında yüksek direnç bildirmiştir (Tablo 2). Çalışmamızda imipeneme karşı %11.4 oranında direnç gözlemlendi.

Sonuç olarak hastanemizde izole ettiğimiz *P. aeruginosa* suşlarda ülkemiz oranlara göre daha düşük bir direnç profili izlenmiştir. Bunun en olası nedeni hastanemizde yerleşik bir salgın türünün bulunmayışı olarak düşünülmüştür. Antibiyotik duyarlılığının hastaneler hatta servisler arasında farklı olabileceği unutulmamalı ve direnç gelişimi sürekli izlenmelidir. Antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesine yönelik epidemiyolojik çalışmalardan, ampirik tedavi seçimi sırasında yararlanılması akılcı bir antibiyotik kullanım politikasıdır.

Kaynaklar

- Moore NM, Flaws ML. Epidemiology and pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* infections. Clin Lab Sci 2011; 24(1): 43-6.
- Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, et al. The prevalence of nosocomial infections in intensive care units in Europe: Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. JAMA 1995; 274(8): 639-44.
- Kiska DL, Gilligan PH. *Pseudomonas*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller A, Tenover FC, Tenover FC, Ed(s). Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. Washington, D.C. American Society for Microbiology. 1999. 517-25.
- Morrison AJ, Jr., Wenzel RP. Epidemiology of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. Rev Infect Dis 1984; 6(3): 627-42.
- Gültekin B, Eyiğör M, Aydın N: Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas* kökenlerinin antibiyotik direnci. ANKEM Dergisi 2004; 18(1): 1-4.
- Günseren F, Mamıkoğlu L, Öztürk S, et al. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. J Antimicrob Chemother 1999; 43(3): 373-8.
- Pitt TL, Simpson AJH. *Pseudomonas* and *Burkholderia* spp. In: Gillespie SH, Hawkey PM, Ed(s). Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2th ed. UK. John Wiley and Sons Ltd. 2006. 427-35
- Pier GB, Ramphal R. *Pseudomonas aeruginosa*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, Ed(s). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone 2005: 2587-615.
- Moore NM, Flaws ML. Antimicrobial resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Lab Sci 2011; 24(1): 47-51.
- Dündar D, Tamer GS. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnci: Üç yıllık değerlendirme. ANKEM Dergisi 2009; 23(1): 17-21.
- Kireççi E, Sevinç İ. Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları. ANKEM Dergisi 2008; 22(4): 209-12.
- Clinical Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 19th edition. Supplement M100-S19: Clinical Laboratory Standards Institute. 2009.
- Şener AG, Atay T, Gülay Z, Türker M: Çoklu dirençli *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinde siprofloksasin-amikasin, siprofloksasin-sefepim, seftazidim-amikasin, sefepim-amikasin kombinasyonlarının in vitro sinerjistik etkinliklerinin araştırılması. ANKEM Dergisi 2003; 17(4): 388-92.
- National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control 2004; 32(8): 470-85.
- Leblebicioğlu H, Unal S. The organization of hospital infection control in Turkey. J Hosp Infect 2002; 51(1) :1-6.
- Akçay S Ş, Topkaya, Oğuzoğlu N ve ark. Hastane infeksiyonu etkeni *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında imipenem ve meropenem duyarlılığı. İnfeksiyon Dergisi 2003; 17(4): 465-9.
- Eskitürk A, Çırağil P, Topkaya A, Söyletir G. Marmara üniversitesi hastanesi'nde yatırılarak izlenen hastalardan izole edilen mikroorganizmaların 1996 yılı analizi. VIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 06-10 Ekim 1997 Kongre Program ve Özet Kitabı. İstanbul. KLİMİK. 1997. 529.
- Tunçoğlu E, Yenişehirli G, Bulut Y. Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci. ANKEM Dergisi 2009; 23(2): 54-8.
- Özdemir M, Erayman İ, Türk Dağı H, Baykan M, Baysal B. Hastane infeksiyonu etkeni *Pseudomonas* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. ANKEM Dergisi 2009; 23(3): 122-6.
- Kurtoğlu GK, Bozkurt H, Yaman G, Aygül K, Bayram Y, Berktaş M. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobik direnci. Selçuk Tıp Derg 2008; 21: 1-6.
- Eyiğör M, Telli M, Tiryaki Y, Okulu Y, Aydın N. Yatan hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Dergisi 2009; 23(3): 101-5.
- Flamm RK, Weaver MK, Thornsberry C, Jones ME, Karlowsky JA, Sahm DF. Factors associated with relative rates of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates tested in clinical laboratories in the United States from 1999 to 2002. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48(7): 2431-6.
- Turner PJ. Meropenem activity against European isolates: report on the MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) 2006 results. Diagn Microbiol Infect Dis 2008; 60(2): 185-92.

- 24.Yücel M, Yavuz T, Kaya D, Behçet M, Öztürk CE, Şahin İ. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotiklere direnç oranlarının yıllar içinde değişimlerinin izlenmesi. ANKEM Dergisi 2006; 20(3): 152-5.
- 25.Fidan I, Çetin Gürelık F, Yüksel S, Sultan N. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarındaki antibiyotik direnci ve metallo-beta laktamaz sıklığı. ANKEM Derg 2005; 19(2): 68-70.
- 26.Gayyurhan E, Zer Y, Mehli M, Akgün S. Yoğun bakım ünitesi hastalarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve metallo-beta laktamaz oranlarının belirlenmesi. İnfeksiyon Dergisi 2008; 22(1): 49-52.
- 27.Ekşi F, Bayram A, Balcı İ, Özer G. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında indüklenabilir beta-laktamaz aktivitesinin ve antibiyotiklere direncin araştırılması. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 2007; 37(3): 142-6.
- 28.Özdemir M, Erayman İ, Türk Dağı H, Baykan M, Baysal B. Hastane infeksiyonu etkeni *Pseudomonas* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. ANKEM Dergisi 2009; 23(3): 122-6.

Dr. Yücel DUMAN

Inönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Malatya
e-mail: yucel.duman.inonu.edu.tr

Olgu Sunumu ve Literatür Derlemesi

47,XYY Karyotipli İnfertil Bir Çiftte ICSI ile Gebelik Eldesi ve Genetik Danışmanlık Süreci

Pregnancy by ICSI and Genetic Counseling in A 47,XYY Karyotype-Couple

Murat Kara¹, Hatice Banu Kumbak Aygün², İbrahim Tekedereli³

¹ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Elazığ

² Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Elazığ

³ İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Malatya

Özet

47,XYY sendromu erkeklerde ekstra Y kromozomunun olduğu bir cinsiyet kromozomu anöploidisidir ve bu erkeklerin büyük bir kısmı fenotipik olarak normal özellik gösterirler. Ancak infertilite, kanser, nörolojik hastalıklar riskinde artma bildirilmiştir. Bu olguda intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) ile normal genotipte bir çocuğa sahip olan 47,XYY genotipli bir vaka sunularak bu tür genotipe sahip bireyler için genetik danışmanlık sürecinin önemi tartışıldı.

Anahtar Kelimeler: 47,XYY, İnfertilite, Genetik danışmanlık.

Abstract

47,XYY syndrome is a sex chromosome aneuploidy with an extra Y chromosome, and these males are phenotypically normal. The syndrome is associated with an increased risk of infertility, cancer and neurological diseases. Here, we report a 47,XYY karyotyped male who has a normal karyotyped baby by intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and discuss the importance of genetic counseling process in 47,XYY cases.

Key Words: 47,XYY, Infertility, Genetic counseling.

Giriş

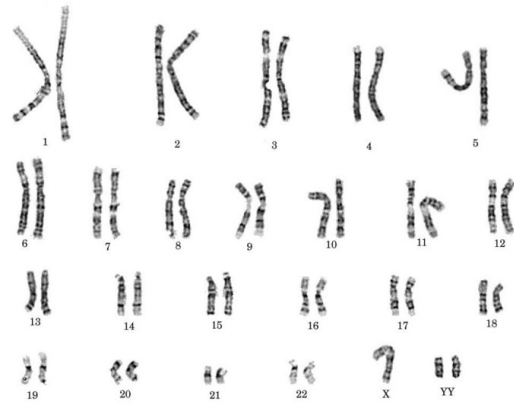
47,XYY sendromu erkeklerde ekstra Y kromozomunun olduğu bir cinsiyet kromozomu anöploidisidir. Bu karyotip 1/1000 canlı doğumda görülen nadir bir kromozom anomalisi olmasına rağmen en sık görülen cinsiyet kromozomu anormalliklerinden birisidir (1,2). Hastalığın, ekstra Y kromozomlu bir spermin yumurtayı döllemesi, babada mayoz II sırasında ayrılmama (non-disjunction) veya erken hücre bölünmesiyle oluştuğu bildirilmiştir (3, 4). 47,XYY karyotipindeki erkeklerde infertilite riski olsa da Klinefelter Sendromlu (46,XXY) kişilerin aksine birçoğu fertildir (3).

47,XYY genotipine sahip erkeklerin büyük bir kısmı fenotipik olarak normal özellik gösterirken, bazı erkekler davranış problemleri, orta derecede öğrenme kaybı, uzun boy, dili kullanmada ve konuşmada gecikme gibi bir takım klinik özellikler taşıyabilir. 47,XYY sendromunun çocukluk döneminde tanısı zordur. Çünkü puberte öncesi 47,XYY karyotipe sahip erkeklerin fenotipik olarak tanı koyduracak belirli bir karakteristik özellikleri yoktur (5). Bu erkeklerin vücut kitle indeksleri oldukça düşüktür, ürogenital sistemde değişik malformasyonlar görülebilir, IQ değerleri genel olarak ortalamanın 10-15 puan altında olabilir. Bu kişilerin geçmişte saldırgan özelliklerinin olabileceği düşünülmüş olsa da genel topluma göre bir farklılık gözlenmemiştir (2).

Bu olgu sunumu ile 47,XYY karyotipi tespit edilen primer infertil bir çiftte ICSI tekniği kullanılarak canlı doğum ile sonlanan bir gebelik elde edilmesi bildirilmiş ve 47,XYY karyotipli bireyler için genetik danışmanlık sürecinin önemi tartışılmıştır.

Olgu Sunumu

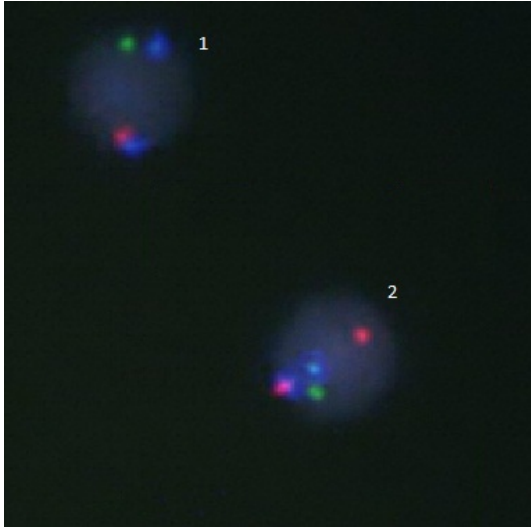
Kadın hastalıkları ve doğum kliniğimize çocuk isteği ile başvuran infertil çift için yapılan değerlendirmede bu şikayetlerinin 11 yıldır var olduğu, infertilite nedeninin erkek faktörü olduğu ve çiftin 4 yıl önce yapılan iki ICSI denemesinin olumsuz sonuçlandığı öğrenildi.



Şekil 1. Karyotip analizinde gösterilen fazla Y kromozomu.

Otuz altı yaşındaki bayan için yapılan jinekolojik muayene ve ultrasonografide over rezervi düşük olarak tespit edildi. Daha önce başarısız iki tüp bebek denemesi olduğu için endometrial kaviteyi değerlendirmek amacıyla diagnostik histeroskopi yapıldı, kavite normal olarak tespit edildi. Yapılan testlerde protein-S eksikliği dışında implantasyon başarısızlığını açıklayacak bir anormallik saptanmadı.

Otuz sekiz yaşındaki erkek için kliniğimizde yapılan semen analizinde sperm konsantrasyonu 100.000/ml (normal değer: $\geq 20.000.000$ /ml), motilite % 62 (birinci saatteki normal değer: ≥ 50 ileri hareketli) olarak erkek faktörü tespit edildi. Şiddetli erkek faktörü ve daha önce iki başarısız tüp bebek denemesi olduğu için periferik karyotip analizi yapıldı ve sonuç 47,XYX olarak saptandı (Şekil 1). Sonucu doğrulamak ve varsa mozaizim miktarını belirlemek için FISH tekniği ile AneuVysion18/X/Y prob seti (ABBOTT/Vysis; DownersGrove, IL) kullanarak yapılan değerlendirme sonucu 47,XYX (% 82)/46,XY (% 18) mozaik olarak bulundu (Şekil 2).



Şekil 2. Olgunun 47,XYX olan karyotipi 18, X ve Y probu kullanılarak FISH analizi ile doğrulandı. 47,XYX (%82), 46,XY (% 18) mozaizmi saptandı. Mavi sinyal: 18. kromozom; yeşil sinyal: X kromozomu; kırmızı sinyal: Y kromozomu. Hücre no:1 46,XY karyotipi; hücre no:2 47,XYX karyotipi.

İnfertil çiftte elde edilen sonuçlar açıklanıp, hamilelik gerçekleşirse çocukta olabilecek olası sağlık sorunları ve preimplantasyon genetik tanı hakkında bilgi verildi. Çiftin tedaviyi onaylaması üzerine tüp bebek tedavi siklusuna başlandı. Uzun protokol ile yapılan ovulasyon indüksiyonu sonrası dört oosit elde edildi, üç matür oosite ICSI uygulandı, bir oosit fertilize oldu, ikinci günde grade 2 olan bir embriyo transfer edildi. Tedavi sonucu gebelik elde edildi. Gebelik takiplerinde problem tespit edilmeyen hastanın miadında, sezeryan ile 3000 gr, sağlıklı kız bebeği oldu. Kız bebeğin yapılan karyotip tayininde kromozom donanımı 46,XX olarak tespit edildi.

Tartışma

İnfertil erkeklerde en sık cinsiyet kromozomu anöploidileri 47,XXY ve 47,XYX'dir (1). Ancak 47,XYX sendromuna doğumda tanı koymak zordur. Çünkü bunlarda tanıyı koyduracak belirli bir fiziksel özellik yoktur. Hem çocukluk hem de ergenlik döneminde ekstra Y kromozomunun dozaj etkisine bağlı olarak büyüme hızı yüksektir, dolayısıyla kontrol gruplara göre 10-12 cm uzun olabilirler (5, 6). 47,XYX'li çocuklar okuma ve yazma güçlüklerine sahiptir. Sosyal ve duygusal sorunlarla karşılaşır. Bu hastalarda hiperaktivite ve dikkat eksikliği yönünden artmış risk olduğu bildirilmiştir (7).

47,XYX'li hastalar tanıdan sonra genetik danışmanlık sürecine alınmalıdır. Anöploid spermilerin apoptosis yoluyla elimine edildikleri ancak spermatogenez bozuklukları nedeniyle ekstra Y kromozomunun spermelerde bulunabileceği bildirildiğinden (8) hastalara genel olarak 47,XYX kalıtsal olmadığı anlatılmalıdır. Ayrıca infertil olduğu kanıtlanan hastalara testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) sonrasında ICSI ile gebelik sağlanabileceği anlatılmalıdır. Vicdan ve ark. (9) TESE sonrasında ICSI uygulaması ile elde edilen gebeliklerde başarı oranının % 40- 56,4 arasında olduğunu bildirmiştir.

Bu hastalarda lösemi insidansında artış olduğu bunun da Y kromozomunda yerleşik büyüme faktör genlerindeki dozaj artışının sebep olduğu ileri sürülmüştür (10). Bu nedenle bu hastalar lösemi yönünden periyodik aralıklarla takip edilmelidir. Prolaktinoma (11), nöroblastoma (4) ve lenfoma (12) yine bu hastalarda bildirilen görülme olasılığı yüksek riskli hastalıklardır. Danimarka'da 47,XYX genotipli hastalarla yapılan geniş bir çalışmada tanı konma yaşının rölaf olarak geç olduğu (ortalama yaş, 17,1), yaş/cinsiyet eşleştirmeli kontrol grubuna göre total mortalitenin yüksek olduğu ve yaşam sürelerinin 10,4 yıl düşük olduğu tespit edilmiştir (13). Total mortalite artışının sebepleri olarak kanser, nörolojik ve pulmoner hastalıklar, travma ve belirlenemeyen nedenler bildirilmiştir (13).

Sonuç olarak, 47,XYX'li kişiler normal bireylerden çok farklı olmadıklarından tanı konmaları gecikmektedir. İnfertilite, hafif mental retardasyon veya agresif davranış paterni ve uzun boyluluk gibi özellikleri bulunan bireylerde karyotipleme yapılması önerilebilir. Tanı konduktan sonra ise hastalar genetik danışma sürecine dahil edilmeli ve ileriki hayatlarında da özellikle lösemi yönünden takipsel kontroller önerilmelidir.

Kaynaklar

1. Martini E, Geraedts JP, Liebaers I, et al. Constitution of semen samples from XYY and XXY males as analysed by in-situ hybridization. Hum Reprod 1996; 11(8): 1638-43.

2. Athanatos D, Tsakalidis C, Tampakoudis GP, et al. Embryo with XYY syndrome presenting with clubfoot: a case report. *Cases J* 2009; 2: 8404.
3. Hall H, Hunt P, Hassold T. Meiosis and sex chromosome aneuploidy: how meiotic errors cause aneuploidy; how aneuploidy causes meiotic errors. *Curr Opin Genet Dev* 2006; 16(3): 323-9.
4. Honma T, Kanegane H, Shima T, Otsubo K, Nomura K, Miyawaki T. Neuroblastoma in an XYY male. *Cancer Genet Cytogenet* 2006; 168(1): 83-4.
5. El-Dahtory F, Elsheikha HM. Male infertility related to an aberrant karyotype, 47,XYY: four case reports. *Cases J* 2009; 2(1): 28.
6. Ruud A, Arnesen P, Stray LL, Vildalen S, Vesterhus P. Stimulant medication in 47,XYY syndrome: a report of two cases. *Dev Med Child Neurol* 2005; 47(8): 559-62.
7. Ross JL, Zeger MP, Kushner H, Zinn AR, Roeltgen DP. An extra X or Y chromosome: contrasting the cognitive and motor phenotypes in childhood in boys with 47,XYY syndrome or 47,XXY Klinefelter syndrome. *Dev Disabil Res Rev* 2009; 15(4): 309-17.
8. Abdel-Razic MM, Abdel-Hamid IA, Elsobky ES. Nonmosaic 47,XYY syndrome presenting with male infertility: case series. *Andrologia* 2011; DOI: 10.1111/j.1439-0272.2010.01129.x
9. Vicdan K, Akarsu C, Vicdan A, ve ark. Birth of a healthy boy using fresh testicular spermin a patient with Klinefelter syndrome combined with Kartagener syndrome. *Fertil Steril* 2011; 96(3): 577-9.
10. Palanduz S, Aktan M, Ozturk S, Tutkan G, Cefle K, Pekcelen Y. 47,XYY karyotype in acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1998; 106(1): 76-7.
11. Zouli C, Tsamietis C, Papadimas I, Goulis DG. A man with 47,XYY karyotype, prolactinoma and a history of first trimester recurrent miscarriages in his wife. *Hormones* 2011; 10(1): 72-5.
12. Sandlund JT, Raimondi SC. Small noncleaved cell lymphoma in an adolescent with the XYY syndrome. *Cancer Genet Cytogenet* 1997; 94(2): 88-90.
13. Stockholm K, Juul S, Gravholt CH. Diagnosis and mortality in 47,XYY persons: a registry study. *Orphanet J Rare Dis* 2010; 5: 15.

İletişim Yazarı

Yrd. Doç. Dr. İbrahim TEKEDERELİ
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, MALATYA
E-posta: itekedereli@yahoo.com
Tel:42203410660

Olgu Sunumu ve Literatür Derlemesi

Myoepithelioma of the Parotid Gland: A Rare Case

Parotis Bezi Myoepitelyomu: Nadir Bir Olgu

Sibel Yenidünya¹, Hacer Haltaş¹, Reyhan Bayrak¹, Davut Aktaş²

¹Department of Pathology, Fatih University Hospital, Ankara, Turkey

²Department of Otolaryngology, TDV 29 Mayıs Ankara Hospital, Ankara, Turkey

Abstract

The present case describes the clinical and histopathologic features of a benign myoepithelioma of the parotid gland. A 70-year-old woman presented with clinical symptoms of a unilateral, gradually developing, preauricular swelling. Examination revealed a 7x5 cm tumor in the area of the left parotid gland. The tumor was removed and sent to the pathology department. A diagnosis of myoepithelioma was established. Myoepitheliomas of salivary glands are extremely rare, comprising approximately only 1% of all salivary gland tumours. Their histopathologic features, immunohistochemical findings, and clinical behavior are not well characterized. Together with the literature, consideration are presented on the histopathologic evaluation, differential diagnosis of these lesions.

Key Words: Parotid gland, Myoepithelioma, Benign.

Özet

Bu olgu sunumunda parotis bezinin benign myoepitelyomunun klinik ve histopatolojik özellikleri tanımlanmaktadır. Yetmiş yaşındaki bayan hasta tek taraflı, tedricen büyüyen preauriküler şişlik semptomları ile başvurmuştur. Muayenede sol parotis bezinde 7x5 cm boyutlarında tumor tespit edilmiştir. Eksize edilerek patoloji bölümüne gönderilen tümör myoepitelioma tanısı almıştır. Myoepitelyomalar tükürük bezi tümörlerinin yaklaşık %1 'ini oluşturan nadir tümörlerdir. Histopatolojik özellikleri, immunohistokimyasal bulguları ve klinik davranışları iyi karakterize edilmemiştir. Literatür eşliğinde bu lezyonların histopatolojik özellikleri ve ayırıcı tanısı sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Parotis bezi, Myoepitelyoma, Benign.

Introduction

Myoepitheliomas are uncommon neoplasms, accounting for less than 1% of all salivary gland tumors (1,2). Most are benign, but some can be malignant (1-3). They are monomorphic tumors composed of sheets and islands of myoepithelial cells (2). Diagnosis of myoepithelioma through light microscopy is possible and immunohistochemistry is done to facilitate the diagnosis. It is present one case of myoepithelioma of parotid gland.

Myoepithelial cells are ectodermally derived contractile cells that act as smooth muscle cells. They can be routinely identified in many normal tissues that have secretory functions, such as the major and minor salivary glands, lacrimal glands, sweat glands, breast, and the prostate (4). In a normal gland, myoepithelial cells are located between the epithelial cells and the basal lamina of acini and intercalated ducts. Some authors believe that myoepithelial cells play a definite role in several salivary gland tumors, such as mixed tumors, adenoid cystic carcinomas, and salivary duct carcinomas (1,4). Others contend that these cells play only a minor part in these tumors, and they are still undecided whether this role is active or passive (5).

Myoepitheliomas consist exclusively of myoepithelial cells, and they are likely to represent one of the two

cellular components of mixed tumors. The tumor occurs over a wide age range and has no sex predilection. It usually presents as a painless, slow growing mass of benign nature, but sometimes it may be locally aggressive. The parotid gland is referentially involved as compared to the other salivary glands (1,2).

Case Report

A 70-year-old woman complained of a swelling and pain on the left side of his face that had been present for approximately 10 months. Examination revealed a 7x5 cm swelling in the area of the left parotid gland. The growth was well demarcated, and it had a smooth external appearance. It had a moderately firm consistency, was fixed to neighboring tissues, and was slightly painful on palpation. Despite the large size of the lesion, the facial nerve remained intact, and there was no cervical lymphadenopathy.

Ultrasonography revealed a well-demarcated 6,7x6, x4,3 cm mass. A solid component and internal echoes were found in the posterior portion of the growth. There was a limited normal parenchyma echo in the anterior portion of the lesion. The patient underwent a total parotidectomy with preservation of the facial nerve.

Tumor was located in the parotid gland measured 6.5x4x1.5 cm, soft in consistency and grayish-white in color. Microscopically, a well-delineated tumor mass was separated from the surrounding salivary gland by a thick hyalinized connective tissue capsule. The encapsulated tumor was composed entirely of spindle-shaped cells with small, fusiform extensions of eosinophilic cytoplasm.

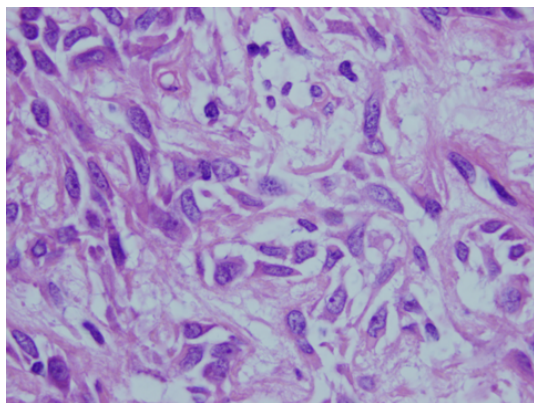


Figure 1. Spindle cell myoepithelioma of parotid gland. Tumor showing uniform spindle and ovoid cells with eosinophilic cytoplasm arranged in fascicles and no mitotic activity (H&E X400).

The tumor cells were spindle-shaped, with centrally placed nuclei containing delicately dispersed chromatin and a thin nuclear envelope. The cells were bipolar, with slightly eosinophilic cytoplasm which varied from granular to fibrillar (Figure 1).

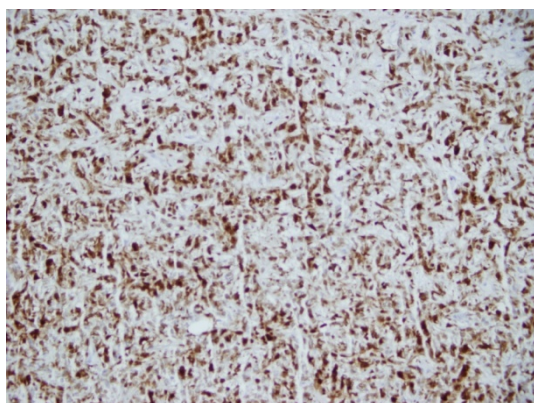


Figure 2. S100 p IHC staining of the spindle cells of tumor (S-100 protein X200)

There was no necrosis, cellular atypia, or mitosis in tumor. The stroma was characterized by the presence of an amount of amorphous and acellular material in which a few fibroblasts and small collagen fibers were scattered. Chondroid differentiation was not identified in neoplasm. Tumor cells were strongly immunoreactive for cytokeratin, vimentin, human alpha-smooth muscle actin, CD10, P63, GFAP and S-100 protein (Figure 2) and negative against antibodies to muscle specific actin and desmin. With all these findings, the pathological diagnosis was confirmed as spindle-cell myoepithelioma. At date of the present

report (5years) our patient has not show any signs of recurrence.

Discussion

Myoepitheliomas account for fewer than 1% of all salivary gland tumors (2). In both sexes are affected with equally frequency (2,6,7). Most tumors occurs in adults, but rare examples have been recorded in children (8). The most common locations of myoepithelioma of the head and neck are the parotid gland and the palate. Parotid lesions never cause facial nerve dysfunction or cervical lymphadenopathy, and those of the palate rarely ulcerate (6).

In our patient, tumor originated in the parotid. She had not any cervical metastasis or facial nerve dysfunction, despite the large size of the mass. Myoepitheliomas usually range from 1 to 5 cm in diameter, and they are well demarcated, smooth, and uniformly white, tan, or gray. Malignancy in a myoepithelial tumor depends on demonstration of infiltrative growth, cellular atypia, frequent mitoses, and coagulative necrosis, while size of the tumors aren't determinant (1,2). Myoepithelioma can develop with or without a capsule. Parotid myoepitheliomas are surrounded by a thin fibrous capsule; palatal lesions are not (6).

On a histological point of view the myoepithelioma is classified in the follow cells types: spindle, plasmacytoid, reticular, epithelioid, and clear, additionally mixed histological form were described (2,9). The spindle cell type is the most common overall and is typical for parotid myoepitheliomas (9). The plasmacytoid type is less common but the most frequently encountered pattern in palate tumors (10). Collagen is sparse and chondroid areas are never found (6). Due to their infrequency and multiplicity of histopathology, myoepitheliomas present difficulties in diagnosis and classification. Cellular varieties can be misdiagnosed as malignancies. Even though the entity is rare and the histopathology might be quite varied, diagnosis of myoepithelioma by light microscopy is possible and to facilitate the diagnosis immunohistochemistry is also performed. In our case, the tumor was consisted entirely of spindle-shaped cells. Tumors had poor intercellular stroma, but necrosis, cellular atypia, and mitosis were not present.

In developing salivary glands, a common stem cell is responsible for the development of luminal epithelial cells and myoepithelium. Therefore, it should be expected that proliferating neoplastic cells in a myoepithelioma would occasionally differentiate these luminal cells (7). With immunocytochemical techniques, myoepithelial cells stain positive for cytokeratin, S-100 protein, and actin, and they stain negative for desmin (1,2,11,12). Normal salivary gland myoepithelial cells stain negative for vimentin, while neoplastic myoepithelial cells stain positive for it (7,12). The tumor in our patient was strongly immunoreactive for cytokeratin, vimentin, and S-100

protein and smooth muscle actin; negative against antibodies to desmin. To identify myoepithelial tumors as either benign or malignant on histologic grounds is difficult. The criteria for a diagnosis of malignancy are the presence of cytologic abnormalities, an increased mitotic rate, and particularly an invasive growth pattern (2,3). These criteria were not met in our case.

Cell type is not related to differences in biologic behavior, recurrence rate, or the patient's age (12). Spindle-cell myoepithelioma must be distinguished from an extracranial meningioma, a pleomorphic adenoma, a nerve sheath tumor, and a leiomyoma. A plasmacytoid myoepithelioma must be distinguished from a plasmacytoma (6,10).

Although it has been proposed specific diagnostic criteria to differentiate the myoepithelioma from pleomorphic adenoma, controversy is arising in this issue. Sciubba and Brannon consider to myoepithelioma as a subtype or final spectrum of pleomorphic adenoma, because their biological behavior and distribution (7). On the other hand, World Health Organization classifies to myoepithelioma as an independent entity (2).

In such a way, it has been proposed that if the neoplasm contains less of 5% of ductal and acinar components must be named myoepithelioma (2). It is our opinion, as well as that of Barnes et al (6) and Dardick et al (9) that salivary adenomas are part of a spectrum, with monomorphic adenoma and myoepithelioma at the extremes and a wide range of pleomorphic adenomas in between, depending on the type and degree of gene expression that is coupled with neoplastic transformation. Myoepitheliomas tend to exhibit benign behavior and complete surgical excision is appropriate therapy (1,2). While myoepithelioma has no specific clinical features, it is accepted pathologically as a distinct entity. To avoid unnecessary extensive surgical resections, a correct diagnosis is of the utmost importance. The treatment of a myoepithelioma is generally considered as complete surgical excision with margin of healthy borders.

Myoepithelioma of the parotid gland is rare in daily medical practice. The tumor should be kept on mind in the differential diagnosis of salivary gland tumors.

References

1. Cheuk W, Chan JKC. Salivary gland tumors. In: Fletcher CDM, ed. Diagnostic Histopathology of Tumors. 3rd ed. Philadelphia, PA, USA: Churchill Livingstone 2007: 258-62.
2. Ellis G, Auclair P. Tumors of the Salivary Gland. Atlas of Tumor Pathology 3rd series. Fascicle 17. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology; 1996: 57-9.
3. Ülkü ÇH, Kelekçi H, Esen H. Malignant myoepithelioma arising from the submandibular salivary gland: a case report. KBB ve BBC Dergisi 2010; 18(3): 119-23.
4. Batsakis JG. Myoepithelioma. Ann Otol Rhinol Laryngol 1985; 94: 523-4.
5. Deppisch LM, Toker C. Mixed tumors of the parotid gland. An ultrastructural study. Cancer 1969; 24: 174-84.
6. Barnes L, Appel BN, Perez H, El-Attar AM. Myoepitheliomas of the head and neck: case report and review. J Surg Oncol 1985; 28: 21-8.
7. Sciubba JJ, Brannon RB. Myoepithelioma of salivary glands: report of 23 cases. Cancer 1982; 49: 562-72.
8. Yaman H, Gerek M, Tosun F, Deveci S, Kiliç E, Arslan HH. Myoepithelioma of the parotid gland in a child: a case report. J Pediatr Surg 2010; 45(7): 5-7.
9. Dardick I, Cavell S, Boivin M, Hoppe D, Parks WR, Stinson J, Yamada S, Burns BF. Salivary gland myoepithelioma variants. Histological, ultrastructural, and immunocytological features. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol 1989; 416(1): 25-42.
10. Zelaya FC, Rivera DQ, Vazquez JLT, et. al. Plasmacytoid myoepithelioma of the palate. Report of one case and review of the literature, Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2007; 12(8): 552-5.
11. Furuse C, Sousa SO, Nunes FD, Magalhães MH, Araújo VC. Myoepithelial cell markers in salivary gland neoplasms. Int J Surg Pathol 2005; 13(1): 57-65.
12. Morinaga S, Nakajima T, Shimosato Y. Normal and neoplastic myoepithelial cells in salivary glands: An immunohistochemical study. Hum Pathol 1987; 18: 1218-26.

Corresponding Author

Dr. Hacer Haltas
Department of Pathology
Fatih University Hospital
06510, Emek/Ankara, TURKEY
Tel: +90 312 2035587
e-mail: hhaltas@hotmail.com

Groin Infection Due to Inguinal Hematoma Necessitating Surgical Debridement: A Rare Complication of Percutaneous Coronary Intervention

Inguinal Hematoma Bağlı Cerrahi Debridman Gerektiren Yara Yeri İnfeksiyonu: Perkütan Koroner Girişimin Nadir Bir Komplikasyonu

Yüksel Çiçek¹, Elif Ergül^{1,2}, Murtaza Emre Durakoğulugil¹, Ayşe Ertürk²

¹Rize University, Faculty of Medicine, Department of Cardiology

²Rize University, Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases

Abstract

A 63 year old obese female with chronic renal failure and type 2 diabetes mellitus underwent angioplasty and stent implantation. A large femoral hematoma 10x7 cm in diameter appeared after 10 minutes, and the sheath was withdrawn immediately without waiting heparin effect to subside. Skin erosion and subsequent open wound developed due to the disruption of vessel supply at the fifth day. Despite the early initiation of antibiotics, the wound progressed deeper; hence, surgical debridement was performed at the 15th day. During the follow-up, the wound tissue became healthy with better perfusion and was sutured with no other complication. We think that drainage may provide tissue perfusion by maintaining better blood supply, in case of large hematoma at the puncture site. Radial artery puncture may be preferable in older and obese patients.

Key Words: Groin infection, Percutaneous coronary intervention, Inguinal hematoma.

Özet

Altmış üç yaşında tip 2 diabetes mellitus ve kronik böbrek yetmezliği olan bayan hastaya anjiyoplasti ve stent uygulandı. İşlemden yaklaşık 10 dakika sonra femoral bölgede 10x7 cm'lik büyük bir hematoma gelişti. Vasküler kılıf, heparin etkisinin geçmesi beklenmeden çekildi. Cilt ve cilt altı dokusunun beslenmesinin bozulmasına bağlı olarak 5. günde ciltte erozyon ve ardından açık yara oluştu. Erken dönemde antibiyotik başlanmış olmasına rağmen yara giderek derinleşti ve bu nedenle 15. günde cerrahi debridman yapıldı. Takipte yara bölgesinin perfüzyonu düzeldi ve açıklık suture edildi. Hastada başka bir komplikasyon gelişmedi. Girişim yerinde büyük hematoma oluşmuşsa kendiliğinden resorbe olmasını beklemek yerine drenaj yapmanın kanlanmayı düzelterek yara enfeksiyonu riskini azaltacağı kanaatindeyiz. Yaşlı ve obez hastalarda radial girişimler tercih edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Yara enfeksiyonu, Perkütan koroner girişim, İnguinal hematoma.

Introduction

The number of diagnostic and interventional cardiac invasive procedures is increasing steadily (1). The incidence of complications associated with these procedures varies between 1.5-9%, according to type of the procedure (2). Local hematoma formation is a minor complication which causes a decrease in the hemoglobin levels more than 2 g/dl 24-48 hours after the intervention; need for blood transfusion, aneurysm, pseudoaneurysm and arteriovenous fistula formation are major complications (1). Small hematomas at the femoral puncture site are relatively common, readily diagnosed and generally not significant. However, sometimes retroperitoneal bleeding can be serious and life threatening clinical condition (3-6). Superficial femoral hematomas tend to resorb spontaneously but occasionally unexpected results may happen.

In this case report, secondary infection and abscess formation, a rare and life threatening complication of large femoral hematomas and potential measures to prevent this complication will be presented.

Case Report

A 63 year old female patient was admitted to our clinic by the complaints of dyspnea and chest pain. She had a history of hypertension, type-2 diabetes mellitus (DM-II) and chronic renal failure with hemodialysis treatment 3 times in a week. Calculated body mass index was 34 kg/m². ECG revealed negative T waves on anterior leads. Her white blood cell count was mildly elevated at admission (10,500/mm³), peaked to 29,600/mm³ during follow-up and decreased to normal levels (8,600 /mm³) at discharge. Maximum CRP was 11.7 mg/dl. Coronary angiography, performed for suspected coronary artery disease, revealed severe multivessel disease. Coronary artery bypass graft surgery was recommended but the patient refused surgery. Coronary angiography was reviewed by interventional cardiologists and percutaneous coronary intervention (PCI) to LAD was planned. Clopidogrel 75 mg/day was added to 300 mg/day acetylsalicylic acid. One week later, the patient was admitted to angiography unit for PCI. Due to mild ecchymosis and small hematoma in the right groin, left femoral artery was punctured. During PCI a 2.75x30 mm paclitaxel

eluting stent was implanted successfully without complication. A large femoral hematoma was observed 10 minutes after the procedure and the sheath was withdrawn immediately without waiting heparin effect to subside. Hematoma expanded and hemoglobin values descended from 12.9 g/dl to 8.1 g/dl, necessitating four units of erythrocyte suspension. Superficial ultrasonography revealed a large hematoma 7x10 mm in diameter, without evidence of pseudoaneurysm. The patient was consulted to infectious diseases due to mild superficial erosion of the region and ceftriaxone 2 g/after every hemodialysis was initiated. By the fifth day, the erosion enlarged, forming a deep open wound including subcutaneous and muscle tissue (Figure 1).



Figure 1. Groin infection due to inguinal hematoma. By the fifth day, the erosion enlarged, forming a deep open wound including subcutaneous and muscle tissue.

Upon reconsultation to infectious diseases, vancomycin 500 mg bid was added to treatment. The patient was also seen by plastic surgeon, and the surgeon recommended follow up initially but had to perform debridement due to malodorous drainage at the 15th day. Imipenem 250 mg qid was started. Wound swab culture revealed extended spectrum beta-lactamase-producing *E. coli*.

The patient was reevaluated by plastic surgery at the 22th day of hospitalization; the wound seemed healthy with better perfusion (Figure 2) and was sutured with no complication afterwards.

Discussion

Femoral hematoma is a common complication of invasive cardiac procedures (7). Wound infection is reported to be less than 1% after femoral artery catheterization (8). Deep wound infection at the hematoma site, with aggressive pattern requiring surgical drainage is very rare. Most of the infections reported in the current literature are associated with percutaneous closure devices. Sari et al. (9) reported a similar case with deep wound infection in the femoral region after PCI without using closure device. However, this patient improved by antibiotic therapy alone not necessitating surgical debridement.



Figure 2. A view of healing wound after surgical debridement. On the 15th day, plastic surgeon performed debridement due to malodorous drainage and no sign of improvement.

Hematoma of the femoral region is the most important risk factor for wound infection after cardiac catheterization (4). Hematoma provides a suitable nutritional environment for the bacterium (10). Hyperglycemia, hyperlipidemia, acidosis and cellular disorders or long term complications of diabetes impair the defense mechanisms of the patient. Diabetes by this aspect can be described as an immune deficiency disorder (11).

We think that the leading cause of infection in our case was impaired perfusion of the cutaneous and subcutaneous tissues, as a result of compression of the large femoral hematoma. DM and chronic renal failure also predisposes to infection. Even though we anticipated an infective complication and commenced antibiotics at the initial, we could not prevent wound infection invading deep subcutaneous and muscle tissue. When invasive interventions are planned for obese patients with concomitant diabetes and chronic renal failure, radial artery puncture may be preferable. If femoral artery is used, using percutaneous closure devices is reasonable for these patients. In the event of a large femoral hematoma, drainage rather than waiting for the hematoma resorption will maintain better blood supply and decrease the risk of infection.

References

1. Steffenino G, Dutto S, Conte L, et al. Vascular access complications after cardiac catheterisation: a nurse-led quality assurance program. *Eur J Cardiovasc Nurs* 2006; 5(1): 31-6.
2. Koreny M, Riedmyeller E, Nikfardjam M, Siostrzonek P, Muellner M. Arteriel puncture closing devices compared with standed manuel compression after cardiac catheterization. *JAMA* 2004; 291: 350-7.
3. Kaufman JL. Pelvic hemorrhage after percutaneous femoral angiography, *AM J Roentgenol* 1984; 143: 335-6.
4. Sagel SS, Siogel MJ, Stanley RJ, Jost RG. Detection of retroperitoneal hemorrhage by computed tomography. *Am J Roentgenol* 1988; 129: 403-7.

5. Willey JM, White CJ, Urestsky BF. Non-coronary complications of coronary intervention. *Catheter Cardiovascular Interv* 2002; 2: 257-67.
6. Holmes SJ, Yales H, Mazz JJ. Rectus sheath hematoma as a cause of acute abdominal pain. *Am Fam Physician* 2001; 64(10): 1681-2.
7. Wyman RM, Safian RD, Portway V, Skillman JJ, McKay RG, Baim DS. Current complications of diagnostic and therapeutic cardiac catheterization. *J Am Coll Cardiol* 1988; 12(6): 1400-6.
8. Frazee BW, Flaherty JP. Septic endarteritis of the femoral artery following angioplasty. *Rev Infect Dis* 1991; 13(4): 620-3.
9. Sari I, Davutoglu V, Soydinc S, Aksoy M. Deep inguinal infection after percutaneous coronary intervention. *N Z Med J* 2008; 121(1269): 68-70.
10. Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27(1): 34-7.
11. Edwards JE, Tillman DB, Miller ME, Pitchon HE. Infection and diabetes mellitus. *West J Med* 1979; 130: 515-21.

Corresponding Author

Dr. Yüksel Çiçek
Rize University Medical School Cardiology Department,
RIZE/TURKEY
E-mail: dryukselcicek@hotmail.com
Tel: +90 464 2130491

Olgu Sunumu ve Literatür Derlemesi

İzole Renal Kist Hidatik: Olgu Sunumu

Isolated Renal Hydatid Cyst: Case Report

Zehra Bozdağ¹, Emine Türkmen², Metin Doğan³, Zeki Güzel⁴, Hale Kırımlioğlu⁵

¹Malatya Devlet Hastanesi Patoloji Bölümü, Malatya

²Inönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD, Malatya

³Inönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı, Malatya

⁴Bingöl Devlet Hastanesi Patoloji Bölümü, Bingöl

⁵Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Özet

Hidatik kist, *Echinococcus granulosus*' un larval formlarının sebep olduğu dünyanın birçok yerinde ciddi sağlık problemlerine neden olan paraziter bir hastalıktır. Karaciğer ve akciğerler en sık yerleşim yerleridir. Böbrek tutulumu tüm olguların %2-4' ünü oluşturmaktadır. Hastalık yerleştiği organlarda oluşturduğu hasar ve komplikasyonlar sonucu ölüme sebep olabileceğinden, çeşitli radyolojik ve serolojik yöntemler ile erken tanınması önemlidir. Sadece böbrekte görülen hidatik kist çocukluk çağında nadir görüldüğünden dolayı, bu vakayı sunduk.

Anahtar Kelimeler: Kist hidatik, Böbrek, Çocuk hasta.

Abstract

Hydatid cyst is a parasitic disease, which is caused by the larval form of *Echinococcus granulosus*, induces a serious health problem in many parts of the world. Liver and lungs are the most common sites of its involvement. Renal involvement represents 2-4 % of all cases. Since the disease can cause death by the damage and complications of the organs it places, early diagnosis is important by the radiologic and serologic methods. As hydatid cyst, located only in kidney, in pediatric age group is rare, we presented this case.

Key Words: Hydatid cyst, Kidney, Pediatric patient.

Bu çalışma, 2004 yılında Gaziantep'te düzenlenen XVII. Ulusal Patoloji Sempozyumu'nda poster olarak sunulmuştur.

Giriş

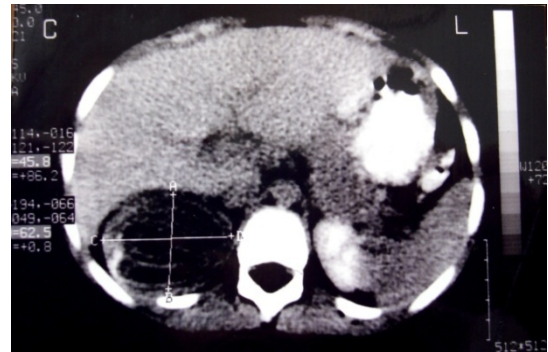
Kist hidatik, uzun yıllardır bilinen ve helmint hastalıkları içinde insan ve hayvan sağlığının yanı sıra, sebep olduğu ekonomik kayıplar nedeniyle güncelliğini ve önemini korumaya devam eden bir paraziter hastalıktır (1,2).

Echinococcus granulosus'un larval formunun koyun, sığır gibi otçul hayvanlarda ve insanda yerleşmesi ile ortaya çıkan hastalıkta bulaşta en önemli rolü kesin konak olan köpekler üstlenmiştir. Köpeklerle koyun, sığır gibi otçul hayvanlar arasında oluşan döngünün rastlantısal ara konağı olan insan, köpek dışkı ile enfekte olmuş gıdalar ve köpekle yakın temasta etkeni alır.

Ağız yolu ile alınan yumurtadan çıkan embriyo kan yolu ile dağılır ve uygun yerleşme noktası bulduğunda kist oluşturur. Larvaların neden olduğu kistler başta karaciğer olmak üzere akciğer ve vücudun diğer organlarına veya dokularına yerleşir. Kist içi renksiz, kokusuz, berrak bir sıvı ile doludur ve bu sıvıda protoskoleks olarak adlandırılan milyonlarca küçük larvalar yüzer (3).

Olgu Sunumu

On bir yaşında erkek hasta sağ yan ağrısı ve hematüri şikayeti ile İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji Kliniğine başvurmuştu. Fizik muayenesinde karın sağ taraf ile sağ yanda hassasiyet ve ağrı tespit edilen hastanın yapılan ultrasonografisinde (USG) ve batın bilgisayarlı tomografisinde (BT), sağ böbrek üst polde 6.5 cm çapında kist hidatik ile uyumlu kitle saptandı (Şekil 1).

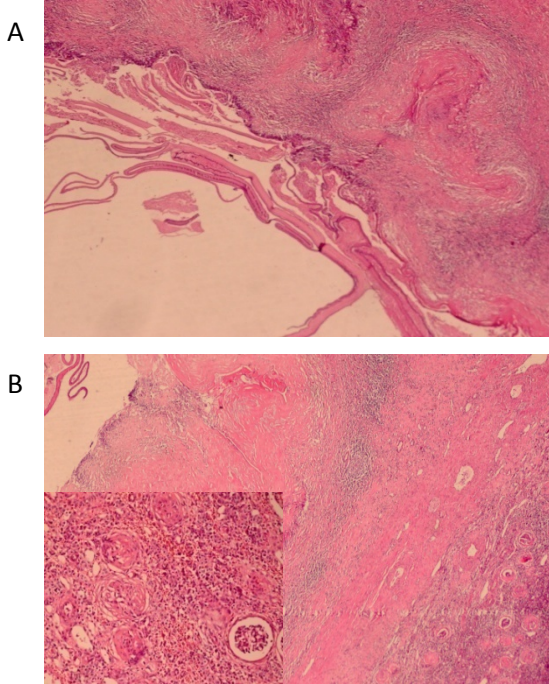


Şekil 1. Sağ böbrek üst polde, içinde lineer hiperdens germinatif membrana ait yapılar içeren kistik kitle (BT imajı).



Şekil 2. İçerisinde germinatif membranlar içeren kistik kitle.

Hastanın serolojik değerlendirilmesinde kanında kist hidatik antikor titresi 1/1011 ($>1/64$) idi. Hastanın diğer sistem muayenelerinde ve radyolojik incelemelerinde kist hidatik lehine bulgu yoktu. Tedavi olarak hastaya sağ nefrektomi yapıldı. Makroskopik olarak böbrek, 185 gr ağırlığında ve 11x7x4 cm boyutlarındaydı. Üst polü genişlemiş böbreğin kesitinde 6.5 cm çapında içinden berrak mayi boşalan kistik yapı görüldü. Kistin iç yüzünde beyaz renkte germinatif membran mevcuttu (Şekil 2).



Şekil 3. A. Asellüler lameller membran komşuluğunda granülatöz inflamasyon içeren kronik inflame, fibrotik psödokapsül. B. Fibrotik psödokapsül komşuluğunda bazı sklerozlaşmış glomerüller (H&E x40).

Histopatolojik incelemede, kist cidarına uyan bölgede, yabancı cisim reaksiyonunun mevcut olduğu kronik inflame fibrotik psödokapsül ile komşuluğunda asellüler eozinofilik lameller membran saptandı (Şekil 3. A ve B). Komşu böbrek dokusunda fibrozis, kronik inflamasyon, glomerüler skleroz ve tubuler atrofi gibi

basıya bağlı sekonder değişiklikler ile konjesyon mevcuttu. Başta akciğer ve karaciğer olmak üzere tüm vücut taramasında diğer organlarında kist hidatik ile uyumlu lezyonu bulunmayan olgu, izole böbrek kist hidatiki olarak tanı aldı.

Tartışma

Kist hidatiklerin en sık yerleşim yeri karaciğerdir (%60-70), bunu akciğerler (%20-25) takip eder. Daha az sıklıkta dalak, böbrekler, kalp, kemik ve santral sinir sisteminde (%10) de görülebilir (4). İzole böbrek tutulumu nadir olup %2-4 oranında bildirilmektedir (5). Genitoüriner sistemdeki diğer tutulum yerleri prostat, mesane, testis ve seminal veziküllerdir (6-8). Renal kist hidatikler genellikle hayatın 3 ve 5. dekadlarında görülür, çocuklarda oldukça nadirdir (7,8). Kistin olgumuzdaki yerleşim yeri sadece böbrek olup diğer organ tutulumu saptanmamıştır.

Larvanın böbreklere ulaşması kan, lenfatikler veya direkt invazyonla olabilir (6,8). Sunduğumuz olguda, larvanın nasıl böbreğe ulaştığı konusunda herhangi bir yorum yapılamamakla birlikte hayvancılıkla da uğraşılan bir köyde yaşadığı için enfekte gıda veya oynadığı köpekler aracılığı ile bulaştığı düşünülmüştür. Böbrekteki bu kistler genellikle tektir ve kortikal yerleşim gösterirler (6,7). Bizim olgumuzda da kist kortikal yerleşimli ve tektir. Renal kist hidatiklerin spesifik belirtileri veya semptomları olmadığından hastalık yıllarca asemptomatik kalabilir ve kist 10cm'ye kadar ulaşabilir (6). En sık semptomlar ele gelen kitle, hematüri, künt ağrı ve hidatüridir. Fakat hidatüri hariç bu semptomların hiçbirisi renal kist hidatikler için spesifik değildir (6,9). Hidatüri kistlerin toplayıcı sisteme rüptürü sonucu idrarda üzüm benzeri materyalin görülmesi şeklindedir ki patognomonik bir işarettir. Olgumuzda da hidatüri haricindeki üriner sistem semptomları mevcuttu. Bazı durumlarda hastalığın komplikasyonları olan infeksiyon, abse, nekroz, pelvikalisyel sistem obstrüksiyonları görülebilir (6,7). Olgumuzda herhangi bir komplikasyon gelişmedi.

Kist hidatik için patognomonik olan serolojik veya immünolojik bir test yoktur. Eozinofili, Casoni, Weinberg, indirekt hemagglütinasyon testleri tanıda yardımcı olabilir ancak serolojideki negatiflik kist hidatiki ekarte ettiremediği gibi pozitiflik de kesin tanı koydurucu değildir (6). Olgumuzda serolojik olarak kist hidatiki titresi anlamlı olup kan sayımında eozinofilisi yoktu.

Renal kist hidatiklerin preoperatif tanısında radyolojik çalışmalar önemli yer tutar. X ışınları ile halka veya yumurta kabuğu şeklinde kalsifikasyonlar görülebilir. USG' de uniloküler veya multiloküler kistler ile kist hidatik için karakteristik olan kız veziküller saptanabilir (6,7,9). Bilgisayarlı tomografi, kalsifikasyonları, kız vezikülleri daha kolay gösterir. Ayrıca üriner kanal ile ilişkisi ve ekstrarenal tutulumlar

hakkında da daha detaylı bilgi verir (6). Olgumuzdaki kist hidatik tanısı da USG ve BT ile konmuştur.

Renal kist hidatiklerin temel tedavisi cerrahidir (6,7,9). Tercihe göre nefrektomi veya parsiyel nefrektomi yapılabilir (6). Bizim olgumuzda nefrektomi uygulanmıştır.

Antihelmintik ajanların (mebendazol veya albendazol) kistin boyutunu küçülttüğü bildirilmesine rağmen bu ajanlar tatmin edici olmayan yanıtları ve yan etkileri nedeniyle tercih edilmez (7-9).

İzole organ tutulumu nadir görülen ve histopatolojik olarak tanı konması belki de en kolay lezyonlardan olan kist hidatik, böbrekte yer kaplayıcı lezyonlar arasında klinik olarak ayırıcı tanıda akılda tutulmalıdır. Burada, çocukluk yaş grubunda, böbrek gibi nadir bir lokalizasyonda izole tutulum gösteren kist hidatik olgusu sunulmuştur.

Kaynaklar

1. Merdivenci A, Aydınoglu K. Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı). İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları. İstanbul. 1982.

2. Unat EK, Üner A, Özcel MA. Kist Hidatik. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını. İzmir. 1991.
3. Garcia L.S. Diagnostic Medical Parasitology. ASM Press. Washington. 2001.
4. Köktürk O. Paraziter akciğer hastalıkları tanı ve tedavi rehberi. Türk Toraks Dergisi 2002; 3: 1-10.
5. Adayener C, Akyol I, Berber U, Senkul T, Baykal K, Iseri C. Böbreğin hidatik kistini taklit eden multiloküler kistik kanser. Türk Üroloji Dergisi 2008; 34: 266-8.
6. Göğüş Ç, Şafak M, Baltacı S, Türkölmez K, Isolated Renal Hydatidosis: experience with 20 cases. J Urol 2003; 169: 186-9.
7. Afşar H, Yağcı F, Aybastı N, Meto Ş. Hydatid disease of the kidney. Br J Urol 1994; 73: 17-22.
8. Göğüş O, Bedük Y, Topukçu Z. Renal hydatid disease. Br J Urol 1991; 68: 466-9.
9. Angulo JC, Sanchez-Chapodo M, Diego A, et al. Renal echinococcosis: clinical study of 34 cases. J Urol 1997; 157: 787-94.

Uzm. Dr. Zehra BOZDAĞ

Malatya Devlet Hastanesi Patoloji Bölümü, Malatya

Tel: 04223261569

Fax: 04223253438

e-mail: zbozdagmd@gmail.com

Olgu Sunumu ve Literatür Derlemesi

Başarılı Bir Replantasyonda Beklenmedik Bir Yenilgi: Sigara?

An Unusual Fail in A Successful Replantation: Smoking?

Cemal Fırat¹, Serkan Erbatur¹, Ömer Elmas¹, Yılmaz Geyik¹, Ahmet Hamdi Aytakin¹

¹Inönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi AD, Malatya

Özet

Bu çalışmada, başarılı bir başparmak replantasyonunun 9. gününde sigaraya bağlı başarısızlık görülen bir olgumuzu sunmayı amaçladık. Kırk altı yaşında erkek hasta sağ el başparmağının proksimal falanks seviyesinden 3 saat önce spiralle kesilmesi nedeniyle kliniğimize başvurdu. Başarılı bir replantasyon gerçekleştirildi. Sekiz gün boyunca heparin ve antikoagülan tedavi uygulandı. Dokuzuncu günde parmak dolaşımının belirgin olarak bozulduğu ve giderek morarmaya başladığı görüldü. Hastanın o gün bir saatte 6 adet sigara içtiği öğrenildi. Arteriyel yetmezliğin venöz yetmezlikle ilişkili olma ihtimali düşünülerek tırnak yatağı açılıp bir süre süllük uygulandı. Ancak yaklaşık 10 saat sonra dolaşım tamamen kayboldu. İki gün sonra nekroz tamamen oturdu ve parmak alınarak güdük onarımı yapıldı. Sigara hem trombosit agregasyonunu hem de katekolamin salınımını artırarak vazospazma yol açmaktadır. Heparinin hasarlanmış damarlarda iyileşmeyi dramatik olarak artırdığı ve endotelial rejenerasyonun 14 günde gerçekleştiği gösterilmiştir. Bu vakamızda sigaranın tetiklediği vazospazmın yanı sıra antikoagülan ajanları erken kestiğimizi düşünmekteyiz. Bu tür olgularda sigara tüketiminin kısıtlanmasının ve iki hafta boyunca heparin uygulanmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Ampütasyon, Replantasyon, Sigara, Papaverin.

Summary

In this study, we aimed to present a case that had been made a successful thumb replantation surgery but failed due to smoking only nine days after the surgery. A 46-year-old male patient admitted to our clinic because of his right-hand was cut down with spiral machine cutter from the level of the proximal phalanx of the hallux 3 hours before the admission. A successful replantation surgery was performed. Heparin and anticoagulant therapy was continued for 8 days. On the 9th day, it was seen that the circulation began to fail and the finger had get bruising. It was revealed that the patient smoked 6 cigarettes within an hour on that day. Arterial insufficiency may be associated with venous insufficiency so the leech applied for a while to the nail bed. However, circulation disappeared 10 hours after completely. Two days later, necrosis sat down and finger was taken away and stump was sutured. Cigarette led vasospasm by increasing both platelet aggregation and catecholamine secretion. It was shown that heparin dramatically increases the recovery of damaged blood vessels. Also, endothelial regeneration occurred within 14 days. In this case, we believe that the cause of failure on 9th day was due to smoking-induced vasospasm, as well as early stopping the anticoagulant agents. In such patients, it will be better to reduce smoking and heparin may be useful for two weeks.

Key words: Amputation, Replantation, Smoking, Papaverine.

Bu çalışma 5. Rekonstrüktif Mikrocerrahi Kongresi'nde (15-17 Aralık 2011, Bodrum) sunulmuştur.

Giriş

Başarılı ilk replantasyon 1968'de Komatsu ve Tamai tarafından gerçekleştirilen başparmak replantasyonudur (1). Tecrübeli mikro cerrahlar replantasyon sonrası antikoagülan ajan yetersizliği veya vasküler tromboza bağlı beklenmedik başarısızlık periyodunu genellikle ilk üç gün olarak bildirmişlerdir (2).

Sigara, endotel hücre hasarı ve ateroskleroz için majör risk faktörlerinden biridir (3,4). Sigaranın mikrovasküler cerrahi üzerine olan olumsuz etkileri detaylı olarak açıklanmış olup, sigara içen hastalarda mikroarteryal anastomoz önemli sorunlardan biri olarak görülmektedir (3). Hasarlanan endotel hücreleri koagülasyon ve tromboz mekanizmaları üzerine kritik role sahiptir. Sigara platelet adezyonunu artırırken prostasiklin üretimini azaltarak hem tromboz riskini artırır hem de vasküler travma sonrası reendotelizasyonu geciktirir (4,5).

Bu çalışmamızda, başarılı bir başparmak replantasyonu sonrasında sigaraya bağlı olduğunu düşündüğümüz, 9.

günde aniden dolaşımı bozulup nekroza giden bir olgumuzu sunmayı amaçladık.

Olgu Sunumu

Kırk altı yaşında erkek hasta sağ el başparmağı 3 saat önce spiralle kesilmesi nedeniyle kliniğimize başvurdu. Sağ el birinci parmak proksimal falanksın 1/3 proksimalinden ampute olmuştu (Şekil 1). Amputatın ortalama iskemi süresi 3 saattir. Öncelikle amputat ve güdükte debritleme yapıp kemikte yaklaşık 0,5 cm kısaltma yapıldı. 2 adet Kirschner teli ile tespit yapıldıktan sonra sırasıyla ekstansör ve fleksör tendonlar modifiye Kessler yöntemine uygun olarak yapıldı, ardından arter, sinir ve ven onarımları gerçekleştirildi (Şekil 2).

Hastanın ameliyat öncesi günlük yaklaşık 2 paket sigara içtiği öğrenildiğinden, bu dönemde sigara içmemesi için hasta tüm ekip tarafından müteakiben uyarıldı. Ancak hastanın replante parmağında ameliyatın 9. gününde aniden dolaşım bozukluğu

başladı. Bunun üzerine hastaya heparin infüzyonu başladı. Arteriyel yetmezliğin venöz yetmezlikle ilişkili olma ihtimali düşünülerek tırnak yatağı açılıp bir süre sütlük uyguladı.



Şekil 1. Sağ el 1. parmak proksimal falanks orta seviyesinden amputasyon.



Şekil 2. Amputatın replantasyon sonrası 2. gün görünümü

Lokal papaverin uygulaması debridman öncesi aşamadan başlayarak, aralıklı olarak uygulandı. Replantasyon başlangıcından itibaren cerrahi süre 5 saattir. Postoperatif dönemde rheomakrodex (500cc/24 saat), asetil salisilik asit (100 mg/gün), pentoksifilin ve saatte 100 IU heparin sülfat infüzyonu başlandı. 3. günden sonra 0,6 IU düşük molekül ağırlıklı heparin (Fraxiparin® 3x1) uygulanmaya başlandı.



Şekil 3. Replantasyon sonrası 8. gün görünüm

İlk 4-6 saat sütlük emmesi uygulandığı esnada bir miktar dolaşım sağlandı ve tırnak yatağından minimal kanama odakları görüldü. Ancak, yaklaşık 10 saat sonra dolaşım tamamen kayboldu. İki gün sonra nekroz tamamen oturdu ve parmak alınarak güdük onarımı yapıldı.

Sekizinci gün heparin ve antikoagülan ajanlar dolaşım sorunu gözlenmediğinden kesildi. Dokuzuncu günde parmak dolaşımında aniden belirgin bir bozulma gelişerek morarma başladı (Şekil 3).

Hastada sonradan gelişen bu başarısızlığın olası nedenleri araştırıldığında hastanın 9. gün dolaşım sorunu ortaya çıkmadan kısa bir süre önce artık iyileştiğini düşünerek bir saat içinde 6 adet sigara içtiği öğrenildi. Ayrıca, heparin tedavisinin erken kesilmesinin sigaranın yaptığı vazospazmı ve oklüzyonu arttırdığı düşünüldü.

Tartışma

Replantasyon işleminin başarılı olması için iyi bir mikroskop, hassas mikrocerrahi aletleri, yeterli cerrahi eksplorasyon, iyi bir vasodilatasyon, postoperatif yakın takip, gerekli destek materyalleri (sütlük, sedatif, antikoagülan, antiagregan vs. ilaçlar) gerekmektedir. Replantasyonda başarıyı etkileyen diğer önemli parametreler ise iskemi süresi ve cerrahi sırasında vazospazmın önlenmesidir.

Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda antispazmotik etkisi nedeniyle kullanılan papaverinin damar anastomozu için uygun vazodilatasyon sağladığı bildirilmiştir (6). Bu vakamızda, papaverinin lokal olarak debridman aşamasından itibaren kademeli olarak uygulanmasının vazospazmın yenilmesinde oldukça etkili olduğunu gözlemledik. Hasarlanmış damarlarda endotelial rejenerasyonun 14 günde gerçekleştiği gösterilmiştir (7,8). Bu nedenle heparin kullanımının neoanjiogenez üzerine etkili olduğu ve heparin tedavisinin postoperatif 14. güne kadar devam edilmesi gerektiği kanatindeyiz.

Sigara içmenin yara iyileşmesini geciktirdiği bildirilmiştir (3). Sigaranın içerdiği nikotin intravenöz verildiğinde veya inhale edildiğinde periferik vazokonstriksiyona neden olmaktadır. Coffmann (9), bu vazokonstriksiyonu sempatik sinir stimülasyonu sonucu olduğunu belirtmiş; reserpin veya guanetidin ile önlenilebileceğini rapor etmiştir.

Sigaranın diğer bir etkisi ise hemoglobine oksijende daha güçlü bağlanan karbonmonoksit üretmesidir ki, bu etki kanda taşınan oksijen miktarını azaltır (10). Söz konusu bu hipoksik durum kandaki fibrinojen düzeyini artırarak ve eritrosit agregasyonuna yol açarak kan viskozitesinin artmasına neden olur. Böylece vasküler yapıyı olumsuz etkileyecek olan trombozu tetikler (11). Yapılan başka bir çalışmada intraarteriyel verilen nikotinin mikroanastomoz sahasında vasküler

patensi azalttığı ve kan akım hızının %70'lere kadar düştüğü gösterilmiştir (12).

Birçok mikrocerrah sigara içiminin digital replantasyon sonuçlarını olumsuz etkilediğini bildirmişlerdir (10,11). Bu raporlar anastomoz başarısızlığının vazospazma sekonder olduğunu göstermektedir.

Sigara içimi replantasyon için relatif kontrendikasyon teşkil etmektedir. Buncke ve Chang sigara içenlerin replante edilen parmağının %80-90 oranında başarısızlığa uğrayacağını bildirmiş, Buncke ise postoperatif dönemde sigara içimi engellendiği takdirde sigara içiminin digital replantasyon için kesin kontrendikasyon teşkil etmeyeceğini bildirmiştir (9,11). Sigaranın replantasyon cerrahisinden ne kadar önce bırakılması gerektiği açık değildir. Rudolf ve Hunt (13) 48 saat öncesi bırakılmasının büyük ölçüde yarar sağlayacağını bildirmiştir. Chang ve arkadaşları (11) ise en az 4 hafta önce bırakılması gerektiğini savunmuştur.

Elektif mikrocerrahi uygulanacak hastaların sigara içimi mümkün olduğunca engellenmeli, ameliyat sonrası sağlık personeli tarafından çok yakın takip edilmelidir. Ayrıca cerrahlar bu konuda çok sıkı tavsiyelerde bulunmalıdırlar. Sigara oldukça güçlü bir vazospastik olup hem trombosit agregasyonunu artırarak hem de katekolamin salınımına yol açarak özellikle vazospazma yol açmaktadır (11). Heparinin hasarlanmış damarlarda iyileşmeyi dramatik olarak artırdığı ve endotelial rejenerasyonun 14 günde gerçekleştiği gösterilmiştir (7,8). Bu olgumuzda sigaranın tetiklediği vazospazmın yanı sıra antikoagülan ajanları erken kestiğimizi düşünmekteyiz. Sigara içen hastalarda iki hafta boyunca heparin uygulanmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.

Kaynaklar

1. Kamatsu S, Tamai S: Successful replantation or a completely cut off thumb: case report. *Plast Reconstr Surg* 1968; 42: 374-7.
2. Betancourt FM, Mah ET, McCabe SJ. Timing of critical thrombosis after replantation surgery of the digits. *J Reconstr Microsurg* 1998; 14: 313-6.

3. Tosun Z, Karabekmez FE, Duymaz A, et al. Preventing negative effects of smoking on microarterial anastomosis. *Ann Plast Surg* 2010; 65: 91-5.
4. Snajdar RM, Busuttill SJ, Averbook A, et al. Inhibition of endothelial cell migration by cigarette smoke condensate. *J Surg Res* 2001; 96: 10-6.
5. Krupski WC. The peripheral vascular consequences of smoking. *Ann Vasc Surg* 1991; 5: 291-304.
6. Gherardini G, Gürlek A, Cromeens D, et al. Drug-induced vasodilation: in vitro and in vivo study on the effects of lidocaine and papaverine on rabbit carotid artery. *Microsurgery* 1998; 18: 90-6.
7. Pederson WC. Principles of Microvascular Surgery. In: Wolf SW, Hotchkiss RN, Pederson WC, Kozin SH Ed(s). *Green's Operative Hand Surgery*. Elsevier. Philadelphia. 2011.
8. Lawrence WT, Kashyap A. Healing of Nerves, Blood Vessels, Muscle, Tendon, Cartilage, and Bone. In: *Plastic Surgery Indications, Operations, and Outcomes*. Achauer BM, Eriksson E, Guyuron B, Coleman JJ, Russel RC, Vanderkolk CA Ed(s). Mosby. Philadelphia. 2000.
9. Aköz T, Akan M, Yildirim S. If you continue to smoke, we may have a problem: smoking's effects on plastic surgery. *Aesthetic Plast Surg* 2002; 26: 477-82.
10. Krueger JK, Rohrich RJ. Clearing the smoke: the scientific rationale for tobacco abstention with plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 2001; 108: 1063-73.
11. Chang LD, Buncke G, Slezak S, Buncke HJ. Cigarette smoking, plastic surgery, and microsurgery. *J Reconstr Microsurg* 1996; 12: 467-74.
12. Rao VK, Morrison WA, O'Brien BM. Effect of nicotine on blood flow and patency of experimental microvascular anastomosis. *Ann Plast Surg* 1983; 11: 206-9.
13. Rudolph R, Hunt TK. Healing in Comprised Tissues. In: Rudolph R (ed). *Problems In Anesthetic Surgery*. Mosby. St Lois. 1986.

İletişim Yazarı

Yrd. Doç. Dr. Cemal FIRAT
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Plastik Rekonstruktif ve Estetik Cerrahi AD,
MALATYA
e-posta: cemal.firat.inonu.edu.tr