

# Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi

## Medical Journal of Süleyman Demirel University Faculty of Medicine

### SDÜ Tıp Fak Derg / Med J SDU

Yılda dört sayı (Mart, Haziran, Eylül, Aralık) yayınlanan 'peer review' yöntemiyle çalışan hakemli dergidir.  
Bu dergi DOAJ, EBSCO, Index Copernicus, Tr-Dizin tarafından indekslenmektedir.  
This journal is indexed by DOAJ, EBSCO, Index Copernicus, Tr-Dizin.

#### Sahibi / Owner

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

#### Editör / Editor

Prof. Dr. Alim KOŞAR (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)

#### Yardımcı Editörler / Associate Editors

Prof. Dr. Rasih YAZKAN (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Doç. Dr. Kanat GÜLLE (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Doç. Dr. Sabriye ERCAN (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Doç. Dr. Emine Elif ÖZKAN (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Dr. Öğr. Üyesi Giray KOLCU (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Dr. Öğr. Üyesi Mukadder İnci BAŞER KOLCU (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Dr. Öğr. Üyesi Fuat İNCE (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Dr. Öğr. Üyesi Vehbi Atahan TOĞAY (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)

#### Bölüm Editörleri / Editorial Board

Prof. Dr. Evrim ERDEMOĞLU (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Prof. Dr. Pakize KIRDEMİR (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Prof. Dr. Mekin SEZİK (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Prof. Dr. Taylan OKSAY (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Prof. Dr. İbrahim Metin ÇİRİŞ (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Prof. Dr. Hasan YASAN (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Prof. Dr. Levent DUMAN (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Prof. Dr. Nilgün GÜRBÜZ (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Doç. Dr. Hakan KORKMAZ (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Doç. Dr. Selma KORKMAZ (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Doç. Dr. Mehtap SAVRAN (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Doç. Dr. Zafer SABUNCUOĞLU (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Doç. Dr. Yonca SÖNMEZ (Akdeniz Üniversitesi, Antalya, TÜRKİYE)  
Doç. Dr. A. Meriç ÜNAL (Özel Meddem Hastanesi, Isparta, TÜRKİYE)  
Dr. Öğr. Üyesi Tuba BAYKAL (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)

#### Yazım ve Dil Editörü / Language Editor

Dr. Öğr. Üyesi Giray KOLCU (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)

#### İstatistik Editörü / Statistics Editor

Dr Öğr. Üyesi Adnan KARABRAHİMOĞLU (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)

#### Grafik Tasarım / Graphic Design

Öğr. Gör. Serdağ DAĞLI (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)

#### Sekretarya / Editorial Office

Dr. Öğr. Üyesi Vehbi Atahan TOĞAY (Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, TÜRKİYE)

#### Başvuru Adresi / Application Address

SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi Sekreterliği

#### Baskı / Press

SDÜ Basımevi / ISPARTA

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





## **Uluslararası Danışma Kurulu / International Scientific Advisory Board** (Alfabetik sıra ile / In alphabetical order)

---

Prof. Dr. Arjan KORTHOLT (University of Groningen, Groningen, HOLLANDA)

Prof. Dr. Dariusz PATKOWSKI (Uniwersytecki Szpital Kliniczny, Wrocław, POLONYA)

Dr. Edin KABIL (University of Sarajevo, Sarajevo, BOSNA HERSEK)

Prof. Dr. Emin ERGEN (Haliç Üniversitesi, İstanbul, TÜRKİYE)

Prof. Dr. Figen SEVGİCAN PEDERSEN (Estetika Tannklinikk, Bergen, NORVEÇ)

Prof. Dr. Füsün OZER (University of Pennsylvania, Philadelphia, ABD)

Doç. Dr. Işıl ARAS (Jacksonville University, Jacksonville, ABD)

Dr. Lavorgna LUCA (Giorgio Leo Servidio, Rome, İTALYA)

Dr. Sherief ELZAHAR (Future University, Cairo, MISİR)

---



# Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi Yazım Kuralları

## Hakkında

SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi (SDÜ Tıp Fak Derg) Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin yayın organıdır. Dergi; yılda dört sayı olarak Mart, Haziran, Eylül ve Aralık aylarında yayınlanır. Bağımsız, tarafsız ve çift-kör değerlendirme ilkelerine sahip uluslararası, bilimsel, açık erişimli (Open Access), çevrimiçi/basılı bir dergidir.

SDÜ Tıp Fakültesi Dergisinde; sağlık bilimleri alanındaki özgün klinik ve deneysel araştırmalar, derlemeler, vaka takdimleri, editöre mektuplar, dergimizde yayınlanan yazılarla ilgili görüşler ve tecrübeleri içeren yazılar yayınlanabilir. Derginin dili Türkçe ve İngilizcedir.

**SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi uluslararası (DOAJ, EBSCO, Index Copernicus) ve ulusal (TR Dizin) hakemli dergi statüsündedir.**

SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi'ne gönderilen ve dergide yayınlanan makalelerden hiçbir ücret talep edilmemektedir. Dergide yayınlanan makaleler için yazarlara veya üçüncü kişilere telif ücreti ödenmemektedir. Yazarların kimlik bilgileri ve e-posta adresleri hiçbir şekilde başka amaçlar için kullanılmamaktadır.

Derginin yayın ve editöryal süreçleri Uluslararası Tıp Dergileri Editörler Kurulu (ICMJE) yönergesine göre yürütülmektedir. Dergi, bilimsel süreli yayınların şeffaflık ve mükemmellik ilkelerine uyar ([doaj.org/bestpractice](http://doaj.org/bestpractice)).

Bir yazının yayın için kabul edilmesinde en önemli kriterler özgünlük, yüksek bilimsel kalite ve alıntı potansiyelinin varlığıdır. Dergide yayınlanmak üzere gönderilen yazılar, daha önce başka bir yerde yayınlanmamış ve yayınlanmak üzere gönderilmemiş olmalıdır. Bir kongrede tebliğ edilmiş ve özeti yayınlanmış çalışmalar organizasyonun adı, yeri ve tarihi belirtilmek şartı ile kabul edilebilir.

## Etik İlkeler

Deneysel, klinik ve ilaç çalışmaları ile bazı vaka raporlarının araştırma protokollerinin Etik Kurullar tarafından uluslararası sözleşmelere uygun olarak onaylanması (Ekim 2013'te güncellenen Dünya Tıp Birliği Deklarasyonu "İnsan Denekleri ile İlgili Tıbbi Araştırmalar için Etik İlkeler"ine göre, [www.wma.net](http://www.wma.net)) gereklidir. İlgili etik kurul raporu veya bu rapora eşdeğer olan resmi bir yazı dergipark sistemine yüklenmelidir.

**• Üzerinde deneysel çalışma yapılan gönüllü kişilere ve hastalara uygulanan prosedürler ve sonuçları anlatıldıktan sonra onaylarının alındığını ifade eden bir açıklama (bilgilendirilmiş onam) yazının içinde bulunmalıdır.**

**• Bilgilendirilmiş onam ve etik kurul onayı (etik kurulun adı, etik kurul toplantı tarihi ve onay numarası ile ilgili bilgiler) makalenin Gereç ve Yöntem bölümünde ve makalenin en sonunda kaynaklardan önce ayrı alt başlıklar ile belirtilmelidir.**

**• Hastaların gizliliğini korumak, yazarların sorumluluğundadır. Hasta kimliğini ortaya çıkarabilecek fotoğraflar için, hasta ve/veya yasal temsilcileri tarafından imzalanan onayların alınması ve yazılı onay alındığının metin içerisinde belirtilmesi gereklidir.**

**• Hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalarda acı ve rahatsızlık verilmemesi için yapılan uygulamalar ve alınan tedbirler açık olarak belirtilmelidir. İlgili etik kurullardan alınan onaylar makalenin Gereç ve Yöntem bölümünde ve makalenin en sonunda kaynaklardan önce ayrı alt başlıklar ile belirtilmelidir.**

Dergimize gönderilen tüm yazılar intihal tespit etme programı (iThenticate) ile değerlendirilmektedir. **Benzerlik oranının %25 ve altı olması gerekmektedir.**

Derginin Yayın Kurulu, tüm itirazları Yayın Etik Komitesi (COPE) kuralları çerçevesinde ele alır. Bu gibi durumlarda, yazarlar temyiz

ve şikayetleri ile ilgili olarak yayın kuruluyla doğrudan iletişime geçmelidir. Gerekliğinde, dahili olarak çözülemeyen sorunları çözmek için bir ombudsman atanabilir. Baş Editör, tüm temyiz ve şikayetler için karar verme sürecindeki nihai otoritedir.

Yazarlar, SDÜ Tıp Fakültesi Dergisine bir makale gönderirken makalelerinin telif hakkını dergiye vermeyi kabul etmiş sayılır. Eğer yazarın çalışmasının basılması reddedilirse, yazının telif hakkı yazarlara geri verilmiş sayılır.

SDÜ Tıp Fakültesi Dergisine gönderilen her makale, adı geçen yazarların tümünün imzaladığı yayın hakları devir formu (erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/tr/download/journal-file/22117>) ile birlikte dergi şablonuna (erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/tr/download/journal-file/24521>) uygun olarak gönderilmelidir. Gönderilmesi gereken zorunlu belgelere <https://dergipark.org.tr/tr/pub/sduftd> adresinden ulaşılabilir.

Şekiller, tablolar veya hem basılı hem de elektronik formatlardaki diğer materyaller de dahil olmak üzere başka kaynaklardan alınan içeriği kullanan yazarların telif hakkı sahibinden izin almaları gerekir. Bu husustaki hukuki, mali ve cezai sorumluluk yazarlara aittir. SDÜ Tıp Fakültesi Dergisinde yayınlanan yazılarda belirtilen ifadeler veya görüşler yazarlara aittir. Editörler, editörler kurulu ve yayıncı, bu yazılar için herhangi bir sorumluluk kabul etmemektedir. Yayınlanan içerikle ilgili nihai sorumluluk yazarlara aittir. Ön kontrol aşamasında düzeltme istenen makaleler için 15 gün, değerlendirme sonrası düzeltme istenen makaleler için 30 gün süre verilir, bu sürelerin aşılması halinde makale reddedilir.

## Makalenin Yayına Hazırlığı

Makaleler yalnızca çevrimiçi olarak <https://dergipark.org.tr/tr/pub/sduftd> adresinden gönderilebilir. Başka bir yolla gönderilen yazılar değerlendirilmez. Dergiye gönderilen yazılar, öncelikle yazının dergi kurallarına uygun olarak hazırlanmasını ve sunulmasını sağlayacakları teknik değerlendirme sürecinden geçer. Derginin kurallarına uymayan yazılar, teknik düzeltme talepleri ile gönderen yazara iade edilir. Editör, ana metni değiştirmeden düzeltme yapılabilir. Editör, istenilen şartlara uymayan makaleleri reddetme hakkını saklı tutar.

## Yazarların aşağıdaki belgeleri göndermeleri gerekir:

- Yayın Hakkı Devir Formu
- Başlık Sayfası (Tüm kısımlar eksiksiz ve detaylı olarak doldurulmalıdır)
- Ana belge (Şablona göre hazırlanmalıdır, bölümlendirilmiş türkçe ve ingilizce öz ile türkçe ve ingilizce başlıkları da içermelidir)
- Şekiller (JPEG formatında, en az 300 DPI, en fazla 6 adet)
- Tablolar (Microsoft word dosyası formatında, en fazla 6 tablo)
- Etik Kurul Kararları (Gerekliyse)
- Yazar Katkı Formu (CRediT sistemine göre, Bknz: Şablon)

## Ana Belgenin Yayına Hazırlığı

Yazılar bilgisayar ile çift aralıklı olarak 12 punto büyüklüğünde ve Times New Roman karakteri ile yazılmalıdır. Her sayfanın bütün kenarlarında 2.5 cm boşluk bırakılmalıdır. **Özgün makaleler bölümlendirilmiş bir Öz (abstract) içermelidir (Amaç, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Sonuç, Anahtar Kelimeler).** Olgular sunumları ve derlemeler için bölümlendirilmiş öz gerekmez. Öz bölümü 300 kelime ile sınırlandırılmalıdır. Özde kaynaklar, tablolar ve atıflar kullanılmaz. Özün bittiği satırın altında sayısı 3-5 arasında olmak üzere anahtar kelimeler verilmelidir. Türkiye dışındaki ülkelerden yazı gönderen ve Türkçe bilmeyen yazarlar için Başlık, Öz, Anahtar Kelimeler ve yazıyla ilgili diğer bazı temel bölümlerin Türkçe olarak gönderilmesi zorunlu değildir. Makalede kullanılan tüm kısaltmalar, ilk kullanımda tanımlanmalıdır. Kısaltma, tanımı ardından parantez içinde verilmelidir. Ana metinde bir ilaç, ürün, donanım veya yazılım programından bahsedildiğinde, ürünün adı, ürünün üreticisi, üretim şehri ve üreten şirketin ülkesi de dahil olmak üzere ürün bilgileri parantez içinde verilmelidir.

Tüm kaynaklara, tablolara ve şekillere ana metinde atıfta bulunulmalı ve kaynaklar, ana metinde geçen sıraya göre numaralandırılmalıdır. Kullanılan semboller, sembollerin standart kullanımlarına uygun olmalıdır.

Özgün araştırma yazıları **en fazla 4000 kelime** olmalı ve aşağıdaki başlıkları içermelidir;

- Başlık (hem Türkçe hem İngilizce)
- Öz (hem Türkçe hem İngilizce)
- Anahtar Kelimeler (hem Türkçe hem İngilizce)
- Giriş
- Gereç ve yöntemler
- Bulgular
- Tartışma
- Sonuçlar
- Beyanlar (Çıkar çatışması vb. Bknz: Şablon)
- Kaynaklar
- Şekil ve tablo açıklamaları (gerekirse)

Olgu sunumları **en fazla 2000 kelime** olmalı ve aşağıdaki başlıkları içermelidir;

- Başlık (hem Türkçe hem İngilizce)
- Öz (hem Türkçe hem İngilizce)
- Anahtar Kelimeler (hem Türkçe hem İngilizce)
- Giriş
- Olgu sunumu
- Tartışma ve Sonuç
- Beyanlar (Çıkar çatışması vb. Bknz: Şablon)
- Kaynaklar
- Şekil ve tablo açıklamaları (gerekirse)

Derleme yazıları **en fazla 5000 kelime** olmalı ve aşağıdaki başlıkları içermelidir;

- Başlık (hem Türkçe hem İngilizce)
- Öz (hem Türkçe hem İngilizce)
- Anahtar Kelimeler (hem Türkçe hem İngilizce)
- Ana metin
- Sonuç
- Beyanlar (Çıkar çatışması vb. Bknz: Şablon)
- Kaynaklar
- Şekil ve tablo açıklamaları (gerekirse)

Editöre Mektuplar **en fazla 1000 kelime** olmalı ve aşağıdaki başlıkları içermelidir;

- Başlık (hem Türkçe hem İngilizce)
- Öz (hem Türkçe hem İngilizce)
- Anahtar kelimeler (hem Türkçe hem İngilizce)
- Editöre Mektup
- Beyanlar (Çıkar çatışması vb. Bknz: Şablon)
- Kaynaklar
- Şekil ve tablo açıklamaları (gerekirse)

### Şekillerin ve Tabloların Yayına Hazırlığı

- Şekiller, grafikler ve fotoğraflar, makale yükleme sistemi aracılığıyla ayrı dosyalar (JPEG formatında) halinde sunulmalıdır.
- Dosyalar bir Word belgesine veya ana belgeye gömülmemelidir.
- Şeklin alt birimleri olduğunda; alt birimler tek bir görüntü oluşturmak için birleştirilmemelidir. Her alt birim, başvuru sistemi aracılığıyla ayrı ayrı sunulmalıdır.
- Şekil alt birimlerini belirtmek için görüntüler Arabik rakamlarla (1,2,3...) numaralandırılmalıdır.
- Gönderilen her bir şeklin en düşük çözünürlüğü 300 DPI olmalıdır.
- Şekiller, basılı hali rahatça okunacak şekilde yüksek çözünürlükte olmalı ve en fazla 6 adet ile sınırlandırılmalıdır.

- Şekillerin açıklamaları ana belgenin sonunda listelenmelidir.
- Bilgi veya resimler hastaların tanımlanmasına izin vermemelidir. Kullanılan herhangi bir fotoğraf için hastadan ve/veya yasal temsilcisinden yazılı bilgilendirilmiş onam alınmalıdır.

- Tablolar Microsoft Word dosyası formatındaayrı dosyalar halinde sunulmalıdır. Tablo sayısı en fazla 6 adet olmalıdır. Tüm tablolar, ana metinde kullanıldığı sırayla art arda numaralandırılmalıdır. Tablo açıklamaları ana belgenin sonunda listelenmelidir.

### Kaynaklar

**Tüm referanslar Vancouver tarzında ana metinde atıfta bulunuldukları sırayla numaralandırılmalıdır.** Metin içinde ikiden fazla ardışık kaynak kullanılıyorsa yalnızca ilk ve son kaynak numaraları belirtilmelidir (örn; 2-6). Dergi isimleri Index Medicus'taki dergi kısaltmalarına uygun olarak kısaltılmalıdır. Altı veya daha az yazar olduğunda, tüm yazarların ismi yazılmalıdır. Yedi veya daha fazla yazar varsa, ilk 6 yazarın isminin arkasından 've ark. (et al.)' yazılmalıdır. Farklı yayın türleri için kaynak yazım stilleri aşağıdaki örneklerde sunulmuştur:

*Dergi için;*

Neville K, Bromberg A, Bromberg S, Hanna BA, Rom WN. The third epidemic multidrug resistant tuberculosis. Chest 1994;1(4):45-8.

*Kitap için;*

Sweetman SC. Martindale the Complete Drug Reference. 34th ed. London: Pharmaceutical Press; 2005.

*Kitap bölümü için;*

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

*Web sitesi için;*

Gaudin S. How moon landing changed technology history [Internet]. Computerworld UK. 2009 [cited 15 June 2014]. Available from: <http://www.computerworlduk.com/in-depth/it-business/2387/how-moon-landing-changed-technology-history/>

*Bildiriler için;*

Proceedings of the Symposium on Robotics, Mechatronics and Animatronics in the Creative and Entertainment Industries and Arts. SSAISB 2005 Convention. University of Hertfordshire, Hatfield, UK; 2005.

*Tez için;*

Ercan S. Venöz yetmezlikli hastalarda kalf kası egzersizlerinin venöz fonksiyona ve kas gücüne etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Spor Hekimliği Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi. 2016.

### Geri Çekme veya Reddetme

*Yazıyı Geri Çekme:* Gönderilen yazının değerlendirme sürecinde gecikme olması vb. gibi gerekçelerle yazıyı geri çekmek ve başka bir yerde yayınlamak isteyen yazarlar yazılı bir başvuru ile yazılarını dergiden geri çekebilirler.

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

### Kabul Sonrası

Makalenin kabul edilmesi durumunda, kabul mektubu dergipark sistemi üzerinden sorumlu yazara gönderilir. Makalenin baskıdan önceki son hali yazarın son kontrolüne sunulur. Dergi sahibi ve yayın kurulu, kabul edilen makalenin derginin hangi sayısında basılacağına karar vermeye yetkilidir. Yazarlar, yazılarının basılmasından önce makalelerini kişisel veya kurumsal web sitelerinde, uygun alıntı ve kütüphane kurallarına bağlı kalarak yayınlamamalıdır.

# Medical Journal of Süleyman Demirel University Authors Guidelines

## About Med J SDU

Medical Journal of Süleyman Demirel University (Med J SDU) is a journal published by Süleyman Demirel University and is published quarterly in March, June, September and December. Med J SDU is an international, scientific, open access, online/printed journal in accordance with independent, unbiased, and double-blinded peer-review principles.

Med J SDU publishes the researches in the fields of health sciences including original clinical and experimental studies, reviews on current topics, case reports, editorial comments and letters to the editor. The journal's publication language is Turkish and English.

**Med J SDU is indexing in both international (DOAJ, EBSCO, Index Copernicus) and national (TRDizin) indexes.**

There is no charges for publishing or publishing process. No copyright price are payable to the authors or other third parties for the articles published in the journal. Med J SDU has adopted the policy of providing open access with the publication. Authors' credentials and e-mail addresses are in no way used for other purposes.

The editorial and publication processes of the journal are shaped in accordance with the guidelines of the International Council of Medical Journal Editors (ICMJE). The journal conforms to the Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice).

Originality, high scientific quality and citation potential are the most important criteria for a manuscript to be accepted for publication. Manuscripts submitted for evaluation should not have been previously presented or already published in an electronic or printed medium. Manuscripts that have been presented in a meeting should be submitted with detailed information on the organization, including the name, date, and location of the organization.

## Ethical Principles

An approval of research protocols by the Ethics Committee in accordance with international agreements (World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects," amended in October 2013, [www.wma.net](http://www.wma.net)) is required for experimental, clinical, and drug studies and for some case reports. Ethics committee approvals or an equivalent official documents must be uploaded into the [dergipark](https://dergipark.org.tr) system.

• For manuscripts concerning experimental researches on humans, a "Written Informed Consent to Participate and Publish" statement should included in the text.

• **Written Informed Consent to Participate Publish statement and Ethics Committee approval details (name of the committee, date and number) should included in the Materials and Methods section and in the end of the article (before references) with separate sub-headings.**

• It is the authors responsibility to carefully protect the patients anonymity. For photographs that may reveal the identity of the patients, releases signed by the patient or their legal representative should be enclosed.

• For studies carried out on animals, the measures taken to prevent pain and suffering of the animals should be stated clearly. **Ethics Committee approval details (name of the committee, date and number) should included in the Materials and Methods section and in the end of the article (before references) with separate sub-headings.**

All submissions are screened by a **similarity detection software (iThenticate) and the similarity limitation is 25%**. The Editorial Board of the journal handles all appeal and complaint cases within

the scope of Committee on Publication Ethics (COPE) guidelines. In such cases, authors should get in direct contact with the editorial office regarding their appeals and complaints. When needed, an ombudsperson may be assigned to resolve cases that cannot be resolved internally. The Editor in Chief is the final authority in the decision-making process for all appeals and complaints.

When submitting a manuscript to Med J SDU, authors accept to assign the copyright of their manuscript to the journal. If rejected for publication, the copyright of the manuscript is considered to be assign back to the authors. Each submission must be submitted in accordance with the journal template (available for download at: <https://dergipark.org.tr/tr/download/journal-file/24521>), together with a Copyright Transfer Form (available for download at: <https://dergipark.org.tr/tr/download/journal-file/22117>). Mandatory documents to be sent can be found at <https://dergipark.org.tr/tr/pub/sdutfd>.

When using previously published content, including figures, tables, or any other material in both print and electronic formats, authors must obtain permission from the copyright holder. Legal, financial and criminal liabilities in this regard belong to the author(s). Statements or opinions expressed in the manuscripts published in Med J SDU reflect the views of the author(s) and not the opinions of the editors, the editorial board, or the publisher; the editors, the editorial board, and the publisher disclaim any responsibility or liability for such materials. The final responsibility in regard to the published content rests with the authors. Revisions should submit within 15 days in pre-review stage and in 30 days in review stage. Otherwise manuscripts will be rejected.

## Manuscript Preparation

Manuscripts can only be submitted through the journal's online manuscript submission and evaluation system, available at <https://dergipark.org.tr/tr/pub/sdutfd>. Manuscripts submitted via any other medium will not be evaluated. Manuscripts submitted to the journal will first go through a technical evaluation process where the editorial office staff will ensure that the manuscript has been prepared and submitted in accordance with the journal's guidelines. Submissions that do not conform to the journal's guidelines will be returned to the submitting author with technical correction requests. The editor reserves the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned requirements. Corrections may be done without changing the main text. The editor reserves the right to reject the articles that do not meet the required conditions.

## Authors are required to submit the following:

- Copyright Transfer Form,
- Title Page (including Title of Manuscript, Running title, authors' name, title and institution, corresponding author's contact information, ORCID addresses, name of the organization supporting the research and ethical approvals)
- Main document (It should be prepared according to the template and should include a sectioned abstract.)
- Figures (Jpeg format, at least 300 DPI, up to 6 figures)
- Tables (Microsoft Word format, up to 6 table)
- Ethical Approvals (If applicable)
- Author Contributions (according to CRediT, please see Template)

## Preparation of the Main Document

The articles should be written with double-spaced in 12 pt, Times New Roman character and at least 2.5 cm from all edges of each page. The main text should not contain any information about the authors' names and affiliations. **Original articles should have a structured abstract (Objective, Material and Methods, Results, Conclusion, Keywords).** For case reports and reviews, the structured abstract is not used. Limit the abstract to 300 words. References, tables and citations should not be used in an abstract. Authors must include relevant keywords (3-5) on the line following the end of the abstract. For the Non-Turkish authors, submission of Turkish

title, Turkish abstracts and Turkish keywords are not required. All acronyms and abbreviations used in the manuscript should be defined at first use, both in the abstract and in the main text. The abbreviation should be provided in parentheses following the definition. When a drug, product, hardware, or software program is mentioned within the main text, product information, including the name of the product, the producer of the product, and city and the country of the company, should be provided in parentheses.

All references, tables, and figures should be referred to within the main text, and they should be numbered consecutively. The symbols used must be in nomenclature standards.

Original Research Articles should be **maximum of 4000 words** and include subheadings below;

- Title
- Abstract
- Keywords
- Introduction
- Material and Methods
- Results
- Discussion
- Conclusions
- Statements (Please See: Template)
- References
- Figure and Table Legends (if necessary)

Case Reports should be **maximum of 2000 words** and include subheadings below;

- Title
- Abstract
- Keywords
- Introduction
- Case Presentation
- Discussion and Conclusion
- Statements (Please See: Template)
- References
- Figure and Table Legends (if necessary)

Reviews should be **maximum of 5000 words** and include subheadings below;

- Title
- Abstract
- Keywords
- Main text
- Conclusion
- Statements (Please See: Template)
- References
- Figure and Table Legends (if necessary)

Letters to Editor should be **maximum of 1000 words** and include subheadings below;

- Title
- Abstract
- Keywords
- Letter to Editor
- Statements (Please See: Template)
- References
- Figure and Table Legends (if necessary)

#### Preparation of the Figures and Tables

- Figures, graphics, and photographs should be submitted as separate files (in JPEG format) through the submission system.
- The files should not be embedded in a Word document or the main document.
- When there are figure subunits, the subunits should not be merged to form a single image. Each subunit should be submitted separately through the submission system.
- Images should be numbered by Arabic numbers to indicate figure subunits.

- The minimum resolution of each submitted figure should be 300 DPI.
- Figures should be in high resolution so that the printed version can be read easily and should be limited to a maximum of 6 figures.
- Figure legends should be listed at the end of the main document.
- Information or illustrations must not permit identification of patients, and written informed consent for publication must be sought for any photograph.
- Tables should be submitted as separate Microsoft Word files and are limited with six pieces. All tables should be numbered consecutively. Table legends should be listed at the end of the main document.

#### References

All references should be numbered consecutively in Vancouver style. If more than two consecutive resources are used, only the first and last source numbers should be specified (for example; 2-6). Journal titles should be abbreviated in accordance with the journal abbreviations in Index Medicus. When there are 6 or fewer authors, all authors should be listed. If there are 7 or more authors, the first 6 authors should be listed followed by "et al." The reference styles for different types of publications are presented in the following examples:

##### *For journals;*

Neville K, Bromberg A, Bromberg S, Hanna BA, Rom WN. The third epidemic multidrug resistant tuberculosis. *Chest* 1994;1(4):45-8. 555For books; Sweetman SC. Martindale the Complete Drug Reference. 34th ed. London: Pharmaceutical Press; 2005.

##### *For book section;*

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

##### *For website;*

Gaudin S. How moon landing changed technology history [Internet]. Computerworld UK. 2009 [cited 15 June 2014]. Available from: <http://www.computerworlduk.com/in-depth/it-business/2387/how-moon-landing-changed-technology-history/>

##### *For conference proceeding;*

Proceedings of the Symposium on Robotics, Mechatronics and Animatronics in the Creative and Entertainment Industries and Arts. SSAISB 2005 Convention. University of Hertfordshire, Hatfield, UK; 2005.

##### *For Thesis;*

Ercan S. Venöz yetmezlikli hastalarda kalf kası egzersizlerinin venöz fonksiyona ve kas gücüne etkisi. Suleyman Demirel University Faculty of Medicine Sports Medicine Department Thesis. Isparta: Suleyman Demirel University. 2016.

#### Retraction or Reject

*Manuscript Retraction:* For any reason authors may withdraw their manuscript from the journal with a written declaration.

*Manuscript Reject:* The manuscripts which are not accepted to be published are rejected with explanations.

#### After Acceptance

If the manuscript is accepted, the acceptance letter and the last version of manuscript are sent to corresponding author through submission system. The journal owner and the editorial board are authorized to decide in which volume of the accepted article will be printed. Authors may publish their articles on their personal or corporate websites with the appropriate cite and library rules after publication.



## İçindekiler

### Araştırma Makaleleri

|  |     |
|--|-----|
| Farmakofor Haritalama-Esaslı Sanal Tarama ve Moleküler Yerleştirme ile Belirlenen Potansiyel Asetilkolinesteraz İnhibitörleri Olarak Donepezil-Benzeri Bileşiklerin Keşfi<br>Ferah CÖMERT ÖNDER  | 143 |
| Metotreksat Aracılı Nefrotoksisitede Ramelteonun Koruyucu Etkisinin Değerlendirilmesi<br>Halil İbrahim BÜYÜKBAYRAM, Dilek BAYRAM, Hatice Kübra DOĞAN   | 155 |
| Üniversite Öğrencilerinde Koronafobinin İncelenmesi<br>Betül TAŞPINAR, Ferruh TAŞPINAR, Hakan GÜLMEZ, Ayşe Sezgi KIZILIRMAK KARATAŞ  | 163 |
| Lipopolisakkarit ile İndüklenmiş Hipokampal Toksisitede Ramelteon'un Etkisi<br>Mine KAYNAK, Mehtap SAVRAN, Halil AŞCI, Kanat GÜLLE, İlter İLHAN  | 171 |
| Künt Travmalı Hastalarda Kosta Kırıklarının Yaş Ve Cinsiyete Göre Farklılığı: Bilgisayarlı Tomografi Çalışması<br>Ebru TORUN, Yavuz YÜKSEL   | 179 |
| Gebelikte Akut Apandisit ile İlişkili Parametreler<br>Samet ŞAHİN, Eyüp Murat YILMAZ, Mahir KIRNAP, Ethem BİLGİÇ, Ahmet Ender DEMİRKIRAN   | 185 |
| İnvaziv Melanomlarda CD271 ve Braf Ekspresyonunun Klinikopatolojik Parametrelerle ve Prognoz ile İlişkisinin İmmünohistokimyasal Yöntemle Araştırılması<br>Afife UĞUZ, Nermin KARAHAN  | 193 |
| Hemşirelerin Göğüs Cerrahisi Uygulamaları Hakkındaki Bilgi Düzeyleri<br>Hasan Ekrem ÇAMAŞ, Süleyman Emre AKIN  | 203 |
| Plazma Apelin Düzeyi ve Pre-Eklampsi Vakaları Arasındaki Bağlantının Araştırılması<br>Rahim KOCABAŞ, Melike GEYİK BAYMAN, Fatih ZEYİN, Ercan KARABULUT, Mehmet AKÖZ  | 211 |
| MMP9 –1562 C/T Polimorfizmi, Türk Tip 2 Diabetes Mellitus Hastalarında Artmış Diyabetik Retinopati Riski ile İlişkilidir<br>Fadime MUTLU İÇDUYGU, Egemen AĞGÜN, Ebru ALP, Sibel DOĞUİZİ, Murat Atabey ÖZER   | 217 |
| Ankaferd Blood Stopper BAX/BCL-2 ve CYT-C/CAS-3 Yolakları Aracılığıyla Mitokondriyal Stresle İlişkili Apoptozu Azaltarak Kadmiyum Kaynaklı Akciğer Hasarını Hafifletir<br>Muhammet Yusuf TEPEBAŞI, Perihan SEZGİNER  | 225 |
| Bir Diş Hekimliği Fakültesinde Lisans Öğrencilerinin Empati Düzeylerinin Değerlendirilmesi<br>Özge KAM HEPDENİZ, Uğur Burak TEMEL, Muhittin UĞURLU   | 235 |
| Türkiye'de Akdeniz Bölgesinde Eğitim Gören Tıp Öğrencilerinde Metilfenidatın Tıbbi Olmayan Kullanımı: Nitel Bir Araştırma<br>Hilal YAKUT İPEKOĞLU, Giray KOLCU   | 245 |
| Doğum Sonrası Erken Ten Tene Temasin Başlatılması ve Emzirme Uygulamaları: Bebek Dostu Hastane Örneği<br>Hamide COŞKUN ERÇELİK, Vildan KAYA, Tuğçe ÇAMLICA, Zehra SEZGİNER, Betül ŞAVRAN, Fatma BÜLBÜL, Derya ÖZDEMİR, Elif BAYER, Sabriye ERCAN, Rasih YAZKAN | 253 |
| <b>Derleme</b>   |     |
| Spor Hekimliği Bakış Açısıyla Hareket Analizi Sistemleri ve Biyomekanik<br>Görkem KIYAK, Sabriye ERCAN   | 263 |



## Contents

---

### Clinical Investigations

|  |     |
|--|-----|
| <b>Discovery of Donepezil-Like Compounds as Potential Acetylcholinesterase Inhibitors Determined by Pharmacophore Mapping-Based Virtual Screening and Molecular Docking</b><br>Ferah CÖMERT ÖNDER  | 143 |
| <b>Evaluation of the Protective Effect of Ramelteon in Methotrexate Induced Nephrotoxicity</b><br>Halil İbrahim BÜYÜKBAYRAM, Dilek BAYRAM, Hatice Kübra DOĞAN  | 155 |
| <b>Investigation of Coronaphobia in University Students</b><br>Betül TAŞPINAR, Ferruh TAŞPINAR, Hakan GÜLMEZ, Ayşe Sezgi KIZILIRMAK KARATAŞ  | 163 |
| <b>Effect of Ramelteon on Lipopolysaccharide Induced Hippocampal Toxicity</b><br>Mine KAYNAK, Mehtap SAVRAN, Halil AŞCI, Kanat GÜLLE, İlter İLHAN  | 171 |
| <b>Differences of RIB Fractures in Blunt Trauma Patients According to Age and Gender: A Computed Tomography Study</b><br>Ebru TORUN, Yavuz YÜKSEL  | 179 |
| <b>Parameters Associated with Acute Appendicitis in Pregnancy</b><br>Samet ŞAHİN, Eyüp Murat YILMAZ, Mahir KIRNAP, Ethem BİLGİÇ, Ahmet Ender DEMİRKIRAN  | 185 |
| <b>Investigation of the Relationship Between CD271 and Braf Expression with Clinicopathological Parameters by Immunohistochemical Method in Invasive Melanoma</b><br>Afife UĞUZ, Nermin KARAHAN  | 193 |
| <b>Knowledge Level of Nurses About Thoracic Surgery Applications</b><br>Hasan Ekrem ÇAMAŞ, Süleyman Emre AKIN  | 203 |
| <b>Investigation of the Relationship Between Plasma Apelin Level and Pre-Eclampsia Cases</b><br>Rahim KOCABAŞ, Melike GEYİK BAYMAN, Fatih ZEYTİN, Ercan KARABULUT, Mehmet AKÖZ   | 211 |
| <b>THE MMP9 - 1562 C/T Polymorphism is Associated with Increased Risk of Diabetic Retinopathy in Turkish Type 2 Diabetes Mellitus Patients</b><br>Fadime MUTLU İÇDUYGU, Egemen AKGÜN, Ebru ALP, Sibel DOĞUİZİ, Murat Atabey ÖZER   | 217 |
| <b>Ankaferd Blood Stopper Alleviates Cadmium-Induced Lung Injury by Reducing Mitochondrial Stress-Related Apoptosis Via BAX/BCL-2 And CYT-C/CAS-3 Pathways</b><br>Muhammet Yusuf TEPEBAŞI, Perihan SEZGİNER  | 225 |
| <b>The Evaluation of Empathy Levels of Undergraduate Students of a Faculty of Dentistry</b><br>Özge KAM HEPDENİZ, Uğur Burak TEMEL, Muhittin UĞURLU  | 235 |
| <b>Non-Medical Use of Methylphenidate in Medical Students in the Mediterranean Region of Türkiye: A Qualitative Research</b><br>Hilal YAKUT İPEKOĞLU, Giray KOLCU  | 245 |
| <b>Starting Early Skin-to-Skin Contact and Breastfeeding Practices in the Postpartum Period: A Case Study of Baby-Friendly Hospital</b><br>Hamide COŞKUN ERÇELİK, Vildan KAYA, Tuğçe ÇAMLICA, Zehra SEZGİNER, Betül ŞAVRAN, Fatma BÜLBÜL, Derya ÖZDEMİR, Elif BAYER, Sabriye ERCAN, Rasih YAZKAN | 253 |
| <b>Review</b>  |     |
| <b>Motion Analysis Systems and Biomechanics from the Perspective of Sports Medicine</b><br>Görkem KIYAK, Sabriye ERCAN   | 263 |



## DISCOVERY OF DONEPEZIL-LIKE COMPOUNDS AS POTENTIAL ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORS DETERMINED BY PHARMACOPHORE MAPPING-BASED VIRTUAL SCREENING AND MOLECULAR DOCKING

FARMAKOFOR HARİTALAMA-ESASLI SANAL TARAMA VE MOLEKÜLER YERLEŞTİRME İLE BELİRLENEN POTANSİYEL ASETİLKOLİNESTERAZ İNHİBİTÖRLERİ OLARAK DONEPEZİL-BENZERİ BİLEŞİKLERİN KEŞFİ

Ferah CÖMERT ÖNDER<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Çanakkale Onsekiz Mart University, Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Çanakkale, TÜRKİYE

**Cite this article as:** Cömert Önder F. Discovery of Donepezil-Like Compounds as Potential Acetylcholinesterase Inhibitors Determined by Pharmacophore Mapping-Based Virtual Screening and Molecular Docking. Med J SDU 2023; 30(2): 143-153.

### Öz

#### Amaç

Alzheimer hastalığı yaşlı insanlarda kolinerjik sistemdeki anormalliklerden dolayı bunamanın en yaygın nedenidir. Asetilkolinesteraz kolinerjik sistemin düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. Bu nedenle, AChE'yi hedeflemek AH tedavisi için en umut verici stratejilerden biridir. AH tedavisi için onaylanmış birkaç ilaç olmasına rağmen potansiyel inhibitör adaylarının keşfedilmesine halen ihtiyaç vardır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı asetilkolinesteraz enzimini (AChE) hedef alan yeni donepezil benzeri doğal bileşiklerin ve bunların sentetik türevlerinin keşfedilmesidir.

#### Gereç ve Yöntem

Bilinen bir ilaç olan donepezilin farmakofor modeli oluşturulmuştur. Discovery Studio 2021 programının farmakofor haritalama modülü kullanılarak doğal ürün ve sentetik türevlerini içeren kimyasal kütüphanesi taranmıştır. Taranan bileşiklerin farmakokinetik ve ilaca benzer özellikleri ADMET ve Lipinski ve Veber kuralı ile tahmin edilmiştir. Filtre olarak bazı kriterler kullanılmıştır.

Ayrıca veri tabanının biyoaktif bileşikleri taranmıştır. Daha sonra, potansiyel molekülleri belirlemek için Maestro Glide/SP (Schrödinger, Inc.) kullanılarak moleküler yerleştirme çalışması yapılmıştır.

#### Bulgular

Moleküler modelleme çalışmalarının ardından öncü bileşikler için bağlanma enerjileri belirlendi. Ayrıca, protein-ligand kompleksi arasındaki H-bağ, pi-pi istifleme, pi-kasyon ve pi-alkil etkileşimleri, Tyr, Asp, His, Trp, Arg gibi çeşitli amino asit kalıntıları ile tanımlanmıştır. Sonuçlar, potansiyel bileşiklerin donepezil ile karşılaştırıldığında bağlanma enerjisi ile umut verici bir aday olduğunu göstermektedir. Moleküler modelleme sonuçları, yeni yapı iskelelerinin standart ilaca kıyasla yeni AChE inhibitörlerinin keşfedilmesine katkıda bulunabileceğini belirtmektedir.

#### Sonuç

Bu çalışma daha ileri çalışmalara yol açabilir ve in vitro analizlerle incelenmesine katkı sağlayabilir. Yapı iskeleleri, yeni ve etkili inhibitörlerin tasarlanması için kullanılabilir.

Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address: F.C.Ö. / ferahcomertonder@comu.edu.tr

Müracaat tarihi/Application Date: 15.11.2022• Kabul tarihi/Accepted Date: 14.03.2023

ORCID IDs of the authors: F.C.Ö: 0000-0002-4037-1979

**Anahtar Kelimeler:** Alzheimer Hastalığı, Farmakofor, Asetilkolinesteraz, Moleküler Yerleştirme, Donepezil

## Abstract

### Objective

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia in older people due to abnormalities in the cholinergic system. Acetylcholinesterase has an important role in the regulation of the cholinergic system. Therefore, targeting AChE is one of the most promising strategies for the treatment of AD. Although several approved drugs to treat AD, it is still needed to develop potential inhibitor candidates. Therefore, the aim of this study is to discover newly donepezil-like natural compounds and their synthetic derivatives targeting acetylcholinesterase enzyme (AChE).

### Material and Method

A pharmacophore model of a known drug, donepezil was generated. Using the pharmacophore mapping module of the Discovery Studio 2021 program, the chemical library containing natural products and synthetic derivatives was screened. The pharmacokinetics and drug-likeness properties of the screened compounds were predicted by ADMET and

Lipinski and Veber's rule. Some criteria were used as a filter. In addition, bioactive compounds of the database were screened. Then, molecular docking study was performed by using Glide/SP of Maestro (Schrödinger, Inc.) to determine the potential molecules.

### Results

The binding energies were determined for hit compounds after molecular modeling studies. Furthermore, H-bonding, pi-pi stacking, pi-cation, and pi-alkyl interactions between the protein-ligand complex have been identified by various amino acid residues such as Tyr, Asp, His, Trp, Arg. The results show that the potential compounds are a promising candidate with binding energy compared to donepezil. The molecular modeling results indicate that new scaffolds may contribute to the discovery of new AChE inhibitors compared to a reference drug.

### Conclusion

This study may lead to further studies and contribute to examination with in vitro analysis. The scaffolds can be used to design novel and effective inhibitors.

**Keywords:** Alzheimer's Disease, Pharmacophore, Acetylcholinesterase, Molecular Docking, Donepezil

## Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder, and it is known as a widespread form of dementia (1-4). AD is observed on more than 15 million people worldwide and it is estimated that this number may increase concerning life span (5-7). The cholinergic hypothesis that proposes the low levels of acetylcholine (ACh) in the brain are related to the functions of patients, are widely accepted by the researchers (5, 8). The efficacy of AD treatment may be increased by the inhibition of acetylcholinesterase (AChE) (5). Up to date, there have been many approved drugs as cholinesterase inhibitors (ChEIs) such as donepezil, galantamine, rivastigmine, and tacrine to be used in the treatment of AD (5, 9). These inhibitors improve ACh level in the brain by decreasing the hydrolysis of ACh (1). Although tacrine was the first synthetic drug due to its hepatotoxic effect, its usage was restricted (10). However, the discovery of novel ChEIs inhibitors is still needed because low bioavailability, high toxicity and narrow therapeutic effects are indicated for known drugs (5).

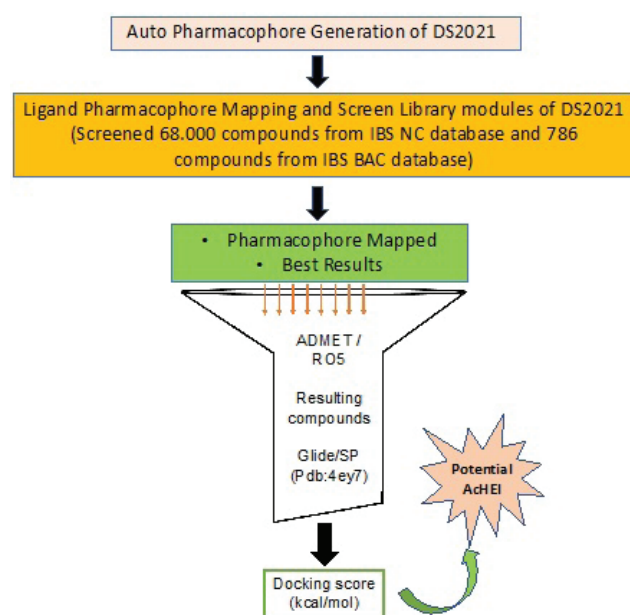
Several bioactive components from plants are known with their anticholinesterase activities to be used in

the treatment of traditional medicine. For instance, galantamine is an alkaloid compound and has a selectivity against AChE. Besides, many studies have indicated that coumarin compounds are identified as AChE inhibitors (11). This circumstance may lead to discovery of new and effectively natural, synthetic and/or hybrid compounds as anti-Alzheimer therapeutics.

In the last decades, the discovery of potential targeted drugs with computer-aided drug discovery methods has gained importance. Thus, it is possible to explain the activity of biomolecules to identify the interactions with drug targets and ligands, and to develop more efficient drug candidates by using computational approaches such as pharmacophore modeling, molecular docking, and virtual screening studies (12). Pharmacophore-based techniques are an important tool of computer-aided drug design. This technique is widely used for rational design of novel drug candidates (13). Virtual screening is an advantageous method and used to determine the new and potential candidates against related targets (12). The pharmacophore features of known and effective drug supply an advantage because of chemical and functional properties. According to usage of pharmacophore features of specific drugs, the

best compounds can obtain with a combined study including virtual screening and molecular docking (14, 15). Donepezil was approved because of its high selectivity against AChE. Until today, the studies have focused on the discovery of donepezil like compounds as cholinesterase inhibitors (16-23).

The present study is based on the pharmacophore-based study of a reference drug donepezil. The overview of workflow is given in Figure 1. Accordingly, a virtual screening study was performed to find new compounds against target enzyme. The obtained model was used to screen over 68.000 natural compound (NC) collection from InterBioScreen (IBS) database including natural compounds and their derivatives to determine potential compounds. In addition, IBS bioactive compounds (BAC) were analyzed to find potentials. Then, molecular docking studies were performed following in silico pharmacokinetic properties with mapped compounds. Therefore, the findings reveal that selected ligands show potential binding abilities against AChE and good pharmacokinetic, physicochemical, and drug-likeness properties. Throughout these computer-assisted studies, H-bond, pi-pi stacking, and pi-pi cation interactions with main amino acid residues such as Phe295, Tyr341, Phe338, and Arg296 were observed between the target enzyme and natural-synthetic hybrid compounds in the binding pocket of AChE. In conclusion, these results indicate that new structures may be used as potential candidates to develop novel therapeutics and can contribute to in vitro studies.



**Figure 1:**  
A schematic overview of workflow

## Material and Method

### *In Silico* Pharmacophore Modeling

In this study, clinically known drug donepezil was used to build a model. It was determined the chemical features of the drug by using the Auto Pharmacophore Generation module of Discovery Studio 2021 (DS 2021) (24). Maximum features and minimum feature distance were determined as 6 and 2.5 in this module, respectively. Among the obtained 10 pharmacophores, the best pharmacophore model was determined that was selected with the Genetic Function Approximation model prediction. In addition, many chemical features including hydrogen bond donor and acceptor (HBD and HBA), aromatic ring, and ionizable feature were determined to find potential compounds (25, 26).

### Virtual Screening from Chemical Database and Prediction of Pharmacokinetic Properties

Approximately 68.000 compounds were downloaded from InterBioScreen (IBS) natural compound (NC) collection database (<https://www.ibscreen.com/>). The compounds were screened by using the best selective pharmacophore model of donepezil with the Ligand Pharmacophore Mapping module of DS2021. The resulting compounds were filtered in accordance with ADMET and Lipinski and Veber rules by using ADMET descriptors, Filter by Lipinski and Veber Rule modules, respectively, to determine drug-likeness properties (25, 26). Then, these compounds were prepared for molecular docking study. In addition, approximately 786 IBS BAC library were screened by using a pharmacophore model through the Screen Library module of DS. Eight compounds were analyzed following ADMET and RO5 analysis. Then resulting compounds were docked against AChE.

### Ligand Preparation

To prepare filtered ligands, LipPrep module of Maestro was used (Schrödinger Release 2022-1 Schrödinger, LLC, New York, NY, 2022) (27). According to Epik, ionization state was calculated at neutral pH (28). The structural optimization of compounds was provided with the OPLS-2005 force field (29).

### Protein Preparation

The crystal structure of recombinant human acetylcholinesterase complexed with donepezil was downloaded from Protein Data Bank (PDB) (4EY7). Protein preparation module was used to prepare target protein (30). Missing loops and missing side chains were filled by using the Prime module. H-bond assignment was provided by PROPKA at neutral pH

(27). The target protein was optimized by using the same force field.

### Molecular Docking

Molecular docking study was performed by using the Glide module of Maestro with SP (Standard Precision) protocol (26, 31).

## Results

### Pharmacophore Model Generation

Pharmacophore model of donepezil was generated to determine its key features such as acceptor, hydrophobic, ionizable etc. These features were determined by obtaining 10 pharmacophore models and the first model was used for further studies. Hydrophobic, ring aromatic, hydrogen bond acceptor (HBA), and ionizable features of donepezil are indicated as colored in Figure 2.



**Figure 2:**  
Pharmacophore features of donepezil.

### Virtual Screening, ADMET Prediction, Drug-Likeness, and Pharmacokinetic Properties of Potential Compounds

It is known that initial prediction of *in silico* ADMET and drug-likeness properties of studied ligands is a useful tool for the design and discovery of new candidates (32). Therefore, the ligand pharmacophore mapping module was used to identify the potential candidates in this study. For this purpose, a NC library of IBS that contain natural compounds and their derivatives, was screened using a 3D pharmacophore model. *In silico* pharmacokinetic properties were determined by ADMET (Adsorption, Distribution, Metabolism,

Excretion, Toxicity) descriptors and Lipinski and Veber's rule, respectively. Hereby, totally, 216 compounds mapped and then filtered to 31 compounds to determine less than value of 500 for molecular weight. *In silico* ADMET descriptors, drug-likeness and pharmacokinetic properties including ADMET solubility, blood brain barrier (BBB) penetration, CYP2D6 binding, hepatotoxicity, intestinal absorption, plasma protein binding (PPB), number of H acceptors and donors, and molecular weights of the selected compounds were given in Table 1. These resulting compounds were evaluated for molecular docking study to understand the interaction diagram between the target enzyme and ligands.

Herein, as given in Table 1, all ligands displayed good ADMET solubility, BBB level, CYP2D6, PPB, and hepatotoxicity (33). The level of ADMET solubility indicates that thirteen compounds are soluble in water at room temperature. All ligands have a good human intestinal absorption level. Two ligands, STOCK1N-94304 and STOCK1N-90335 have acceptable values to bind with plasma protein. The enzyme, CYP2D6 takes a part in drug metabolism and no ligands was predicted to be an inhibitor of CYP2D6. All ligands were found to be non-toxic in terms of hepatotoxic properties. BBB level indicates that the results of six ligands range from very high penetration to moderate. H bond acceptors and donors must be below or equal 10 and 5, respectively. Thus, each ligand is proper for Lipinski's rule. According to values given in Table 1, the results showed that filtered compounds have an acceptable range with their *in silico* predictions for their pharmacokinetic and physicochemical properties, and drug-likeness. Consequently, all ligands were determined in accordance with for BBB permeation, absorption, Lipinski and Veber's rule, and molecular weight (<500 g/mol). Thus, these compounds may be potential candidates or can be improved according to *in vitro/in vivo* efficacy for the treatment of AD.

### Molecular Docking

To understand the binding pattern of the potential compounds, molecular docking study was performed by Glide/SP with flexible ligand sampling (Schrödinger, Inc.). The ligands and reference drug were prepared by the LigPrep module of Maestro and were docked against the AChE. According to these results, binding scores of co-ligand donepezil and first candidate (STOCK1N-94304) were calculated as -13.603 kcal/mol and -11.907 kcal/mol, respectively. The docking scores for the selected ligands were given in the range of binding energies as kcal/mol in Table 2. Furthermore, these ligands exhibited



Table 1

*In silico* predicted pharmacokinetic and drug-likeness properties of potential donepezil-like compounds

| No | Database Code | Molecular weight | <sup>a</sup> ADMET solubility level | <sup>b</sup> BBB levels | <sup>c</sup> Absorption level | <sup>d</sup> CYP2D6 | <sup>e</sup> Hepato-toxicity | <sup>f</sup> PPB level | Num H Acceptors | Num H Donors |
|----|---------------|------------------|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------------|---------------------|------------------------------|------------------------|-----------------|--------------|
| 1  | STOCK1N-94304 | 490.548          | 2                                   | 2                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0.6                    | 7               | 1            |
| 2  | STOCK1N-69824 | 427.497          | 3                                   | 3                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0                      | 6               | 3            |
| 3  | STOCK1N-90335 | 428.521          | 3                                   | 2                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0.6                    | 6               | 1            |
| 4  | STOCK1N-79076 | 462.538          | 2                                   | 2                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0                      | 7               | 1            |
| 5  | STOCK1N-90395 | 414.495          | 3                                   | 2                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0.3                    | 6               | 1            |
| 6  | STOCK1N-94680 | 493.505          | 3                                   | 3                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0                      | 9               | 1            |
| 7  | STOCK1N-69982 | 427.497          | 3                                   | 3                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0                      | 6               | 3            |
| 8  | STOCK1N-69983 | 487.615          | 3                                   | 3                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0                      | 7               | 3            |
| 9  | STOCK1N-70138 | 487.615          | 3                                   | 3                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0                      | 7               | 3            |
| 10 | STOCK1N-94909 | 483.514          | 3                                   | 4                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0                      | 9               | 1            |
| 11 | STOCK1N-96773 | 493.552          | 3                                   | 4                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0                      | 8               | 3            |
| 12 | STOCK1N-94100 | 485.477          | 2                                   | 2                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0                      | 7               | 1            |
| 13 | STOCK1N-69649 | 427.497          | 3                                   | 3                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0                      | 6               | 3            |
| 14 | STOCK1N-05902 | 403.520          | 2                                   | 1                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0                      | 4               | 1            |
| 15 | STOCK1N-93564 | 423.462          | 3                                   | 3                       | 0                             | 0                   | 0                            | 0                      | 7               | 1            |

<sup>a</sup>Aqueous-solubility level: 0 (extremely low); 1 (very low, but possible); 2 (low); 3 (good). <sup>b</sup>Blood Brain Barrier level: 0 (very high penetrant); 1 (high); 2 (medium); 3 (low); 4 (undefined). <sup>c</sup>Human-intestinal absorption level: 0 (good); 1 (moderate); 2 (poor); 3 (very poor). <sup>d</sup>Cytochrome P450 2D6 level: 0 (non-inhibitor); 1 (inhibitor). <sup>e</sup>Hepatotoxicity: 0 (nontoxic); 1 (toxic). <sup>f</sup>Plasma Protein Binding: 0 (absorbent weak); 1 (absorbent strong) (27).

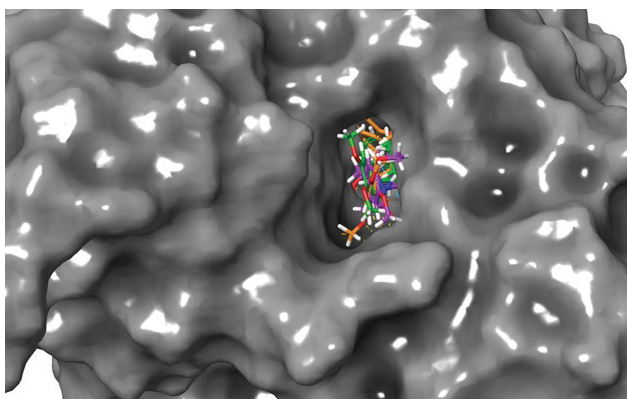


Figure 3:

Binding cavity of AChE. STOCK1N-94304, Bio-0939, and donepezil were shown in orange, magenta, and green colors, respectively.

expected protein-ligand interactions such as H-bond, pi-pi stacking, pi-cation, pi-alkyl, and salt-bridge with Phe295, Tyr341, Phe338, Trp86, Tyr337, Trp286, Arg296 amino acid residues of AChE active sites. The binding energy scores were found as -10.825 kcal/mol and -8.325 kcal/mol for galantamine and rivastigmine, respectively.

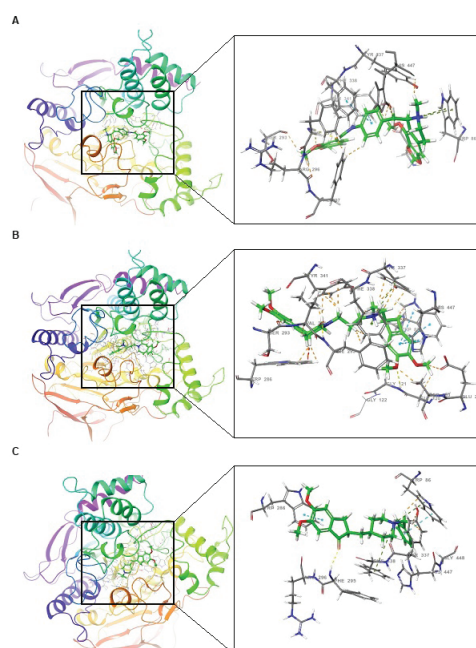


Figure 4:

Binding mode prediction of STOCK1N-94304 (A), Bio-0939 (B), and donepezil (C). Compounds were given in stick mode colored in green and key residues were labeled.

**Table 2** Glide/SP docking scores and protein ligand interactions of potential donepezil-like ligands

| No | Database code | Protein-ligand interactions   | Docking score (kcal/mol) |
|----|---------------|---|--------------------------|
|    | Donepezil     | Trp286, Phe295, Trp86, Phe338, Tyr337, H-bond, pi-pi stacking, pi-cation  | -13.603                  |
| 1  | STOCK1N-94304 | Phe295, Tyr341, Tyr337, Phe338, Trp86, Asp86, Arg296, His447, Ser293, H-bond, pi-pi stacking, pi-cation,                | -11.907                  |
| 2  | STOCK1N-69824 | Phe295, Trp286, Trp86, Glu202, Tyr133, Tyr124, Ser293, Tyr337, His447, H-bond, pi-pi stacking, pi-cation                | -11.798                  |
| 3  | STOCK1N-90335 | Phe338, Tyr337, Trp86, Tyr341, Trp286, Gly120, Gly126, pi-cation, pi-pi stacking  | -11.634                  |
| 4  | STOCK1N-79076 | Tyr341, Tyr337, Tyr124, Trp286, Trp86, pi-pi stacking, pi-cation,   | -11.564                  |
| 5  | STOCK1N-90395 | Arg296, Phe295, Phe297, Leu130, Phe338, Tyr337, Gly126, Glu202, Trp86, H-bond, pi-pi stacking, pi-cation                | -11.162                  |
| 6  | STOCK1N-94680 | Arg296, Phe295, Tyr341, Phe338, Tyr337, Trp286, Tyr124, His447, Gly121, H-bond, pi-pi stacking, pi-cation               | -11.161                  |
| 7  | STOCK1N-69982 | Phe295, Phe338, Trp286, Trp86, Tyr341, Tyr133, Glu202, Ser293, Gly121, H-bond, pi-pi stacking, pi-cation, salt bridge   | -11.118                  |
| 8  | STOCK1N-69983 | Phe295, Phe297, Phe338, Trp286, Trp86, Tyr72, Tyr124, Glu202, Ser203, Ser293, Gly448, H-bond, pi-pi stacking, pi-cation | -11.056                  |
| 9  | STOCK1N-70138 | Trp86, Trp286, Arg296, Phe295, Phe297, Tyr72, Tyr124, Tyr337, Glu202, His447, H-bond, pi-pi stacking, pi-cation         | -11.039                  |
| 10 | STOCK1N-94909 | Phe297, Arg296, Phe295, Phe338, Tyr124, Tyr341, Trp286, Tyr72, Tyr337, Gly122, His447 H-bond, pi-pi stacking, pi-cation | -11.022                  |
| 11 | STOCK1N-96773 | Phe295, Phe338, Tyr124, Tyr337, Tyr341, Trp286, Trp86, Glu202, His447 H-bond, pi-pi stacking, pi-cation                 | -10.818                  |
| 12 | STOCK1N-94100 | Phe295, Tyr341, Trp86, Trp286, Phe338, Tyr124, Tyr72, Tyr337, Asp74, His447 H-bond, pi-pi stacking, pi-cation           | -10.731                  |
| 13 | STOCK1N-69649 | Phe295, Phe338, Trp286, Trp86, Glu202, His447, Ser293, Val294, H-bond, pi-pi stacking, pi-cation, salt bridge           | -10.565                  |
| 14 | STOCK1N-05902 | Trp286, Tyr337, Tyr341, Tyr124, Trp86, Tyr72, Phe297, Ser293, Gly448, H-bond, pi-pi stacking, pi-cation                 | -10.516                  |
| 15 | STOCK1N-93564 | Trp86, Trp286, Tyr72, Tyr124, Tyr341, Phe338, His447, Gly448, Glu202, pi-pi stacking, pi-cation                         | -10.263                  |

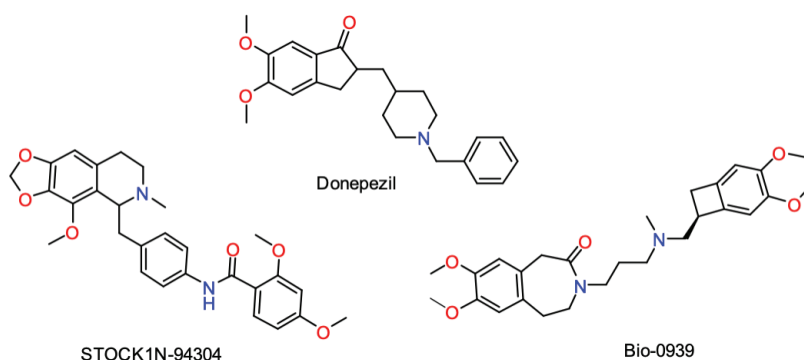
Additionally, a screening study was performed throughout the IBS BAC library including 789 compounds by a Screen Library module of DS2021. The results showed that one of known drugs, brand name Corlanor (database code Bio-0939) that was approved by Food and Drug Administration (FDA) to be used in the treatment of chronic heart failure

in patients, exhibited high binding score as -12.257 kcal/mol with its H-bond, pi-pi stacking, pi-cation interactions including Phe295, Phe338, Tyr337, Trp86, Gly121, His447 amino acid residues (Table 3). Furthermore, the top docking scores of selected bioactive compounds were given in Table 3. It is seen that these compounds were located in the active site

Table 3

Glide/SP docking scores and protein ligand interactions of potential donepezil-like bioactive compounds

| No | Database Code                                      | Protein-ligand interactions  | Docking score (kcal/mol) |
|----|--|--|--------------------------|
| 1  | Bio-0939<br>Ivabradine hydrochloride<br>(Corlanor) | Phe295, Phe338, Tyr337, Tyr341, Trp86, Trp286, Gly120, Ser203, Glu202, Ser293, His447, H-bond, pi-pi stacking, pi-cation | -12.257                  |
| 2  | Bio-0051<br>(Imatinib mesylate)                    | Phe295, Trp286, Tyr341, Trp86, Glu202, H-bond, pi-pi stacking, pi-cation   | -10.836                  |
| 3  | Bio-0717<br>(Sulpiride)                            | Trp286, Tyr341, Tyr337, Phe338, Trp86, Tyr72, Tyr124, Asp74<br>H-bond, pi-pi stacking, pi-cation                         | -10.354                  |
| 4  | Bio-0889<br>(Doxazosin Mesylate)                   | Trp286, Tyr341, Tyr337, Tyr124, Gly448, Phe297, Phe338<br>H-bond, pi-pi stacking, pi-cation                              | -10.119                  |



Scheme 1:

Structures of the best candidates of donepezil-like compounds.

and interacted with important residues of AChE (34-36). As a result, it is thought that this known drug Corlanor may evaluate as potential AChE inhibitor candidate for drug repurposing studies as a new donepezil-like compound with its 4,5-dihydro-1H-benzo[d]azepin-2(3H)-one scaffold in place of 1-indanone scaffold of donepezil. Superpositioned docking poses of STOCK1N-94304, Bio-0939 and donepezil are given in the active site cavity of AChE in Figure 3. Furthermore, the binding mode predictions can be seen in Figure 4. The structures of a few potential candidates are given in Scheme 1.

According to protein-ligand interactions of donepezil, carbonyl group and phenyl ring of 1-indanone show H-bond and pi-pi stacking interaction with Phe295

and Trp286, respectively. *N*-Benzyl moiety and piperidine ring of donepezil interact with Trp86 and Phe338 through pi-pi stacking and pi-cation. The compound STOCK1N-94304 displays similar interactions with amino acid residues like donepezil. Thus, the carbonyl group of 5,6,7,8-tetrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-g]isoquinoline interacts with Phe295 via H-bonding. Phenyl and piperidine ring exhibit pi-cation interaction with Trp86 amino acid residue. The substituted phenyl ring of ligand shows pi-cation interaction with Phe338 and Tyr341. Corlanor shows similar interactions like H-bonding, pi-pi stacking and pi-cation between carbonyl group of 4,5-dihydro-1H-benzo[d]azepin-2(3H) scaffold, substituted amine group, phenyl ring and related residues such as Gly121, Phe295, Tyr337, Phe338, His447, and Trp86.

## Discussion

Although there have been many studies including AChE inhibitors for AD treatment, the researchers have been still ongoing to studies to find new, potent, and effective candidates through computational approaches in recent years (37, 38). Among them, in one of the reported studies, *in silico* molecular properties and ADME predictions with various parameters such as number of hydrogen bond acceptors and donors (HBA and HBD), Lipinski rules, and plasma protein binding was performed to the synthesized compounds as AChEI compared to donepezil (34). According to a similar study, a comparison was performed between natural compound geraniol, and it showed the same ADME result like tacrine (39). In a pharmacophore and molecular docking-based study, similar pharmacophore features were reported as given in Figure 1. The pharmacokinetic properties of hit compounds were analyzed by ADMET descriptors and Lipinski and Veber rules (26). In addition, ADMET and pharmacokinetic properties including solubility, BBB level, hepatotoxicity, CYP2D6, absorption level, and PPB were resulted with good *in silico* predictions for a targeted inhibitor by using DS 4.5 in a previously reported study (33).

According to virtual screening studies, the researchers have used various algorithms such as HypoGen to obtain 3D-QSAR pharmacophore model of donepezil by DS (40, 41). Then, pharmacophore- and structure-based virtual screening and molecular docking studies have been performed through IBS and other databases and different software packages against AChE (pdb: 1B41, 4EY7) (40-43). There have been no identified similar potentials compared to this study results.

Throughout molecular docking studies, binding energies of donepezil were given in the changing values such as -12.2 kcal/mol (34), -11.9 kcal/mol (37), -10.46 kcal/mol (44) calculated by AutoDock Vina and Glide/SP. However, in this study, the screened ligands displayed near docking scores to donepezil against AChE drug target. According to a reported study, binding energies were determined as -12.2 kcal/mol, -9.6 kcal/mol, and -10.4 kcal/mol for reference drug donepezil, reported two ligands, respectively. Moreover, the highest IC<sub>50</sub> values against AChE were calculated with these reported ligands and donepezil. It was indicated that the active site of AChE contains subsites that have various amino acid residues such as Phe295, Trp86, Trp286, Tyr337 etc. (34, 39, 45). We indicated that many interactions including residues Tyr337, Trp86, Phe338, Tyr341, Asp74,

Gly120 in the binding pocket of AChE for coumarin-based compounds were obtained in MD simulations (11). Furthermore, significant interactions such as pi-pi, pi-alkyl and pi-sigma with various residues such as Tyr, His, Trp, Phe, Arg, and Ser residues in protein-ligand complex were detected. It was seen that docking analysis displayed similar interactions such as donepezil (34). Besides, a ligand interacted with PAS aromatic amino acid residues including Trp286 and Trp341 to form H-bonding and pi-pi stacking, was reported with its lowest binding energy (-10.8 kcal/mol) than donepezil (-11.9 kcal/mol) (37).

In a previously reported study, molecular docking scores of donepezil and rivastigmine were given as -10.46 kcal/mol and -7.64 kcal/mol, respectively, throughout ZINC15 ligands the scores were found between -8.02 kcal/mol and -15.10 kcal/mol by using Glide/SP (44). Thus, the resulted 11 new inhibitors were interacted with various amino acid residues including Phe335, His444, Asp71, Trp83, Phe295, Asp74, Tyr341, Tyr337, Tyr334 Gly119, Gly118, and Ala201 in the binding pocket of AChE with H-bond, pi-pi stacking, pi-cation, and salt bridge interactions compared to rivastigmine (44).

In general, AChE inhibitors bind to the catalytic active site (CAS) that contains a catalytic triad of Ser200, Glu327, and His440 (39, 46). It is reported that Trp84 and Phe330 has an important role in the catalytic reaction. Furthermore, secondary noncholinergic function of AChE that is related with peripheral anionic site (PAS) including Tyr70, Asp72, Tyr121, Trp279, and Tyr334 amino acid residues. As is indicated in previously reported studies, both PAS and CAS can be targeted for discovering innovations for AD (39, 45, 46, 47). In addition, the binding modes of some ligands were obtained in CAS and PAS sites of AChE and one of the ligands interacted with key residues (26, 48).

According to given results in this study, it can be seen that 5,6,7,8-tetrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-g]isoquinoline and 3,4-dihydroisoquinolin-2(1H) scaffolds and their functional groups such as dimethoxy, aliphatic -CH<sub>2</sub> chain, amide, phenyl ring, and 4H-pyran-4-one may increase potency in vitro AChE activity. Consequently, tetrahydroquinolines and quinoline compounds are known with their important biological properties. Also, substituted tetrahydroquinolines were successfully evaluated *in silico* drug-likeness properties and molecular docking studies against AChE (49). Thus, the proposed structures may represent the design of new classes of AChE inhibitors.

In conclusion, this study is based on the discovery of new scaffolds and functional groups, and potential candidates for the treatment of AD. All compounds were tested for the prediction of *in silico* pharmacokinetic activity. In molecular docking study, binding energies between the target enzyme and ligands were determined and several compounds displayed the similar binding affinity compared to a reference drug. These compounds may be potential AChE inhibitor candidates and used in *in vitro* studies. In addition, as far as is known, novel structures were identified for the first time by using this generated pharmacophore features of donepezil in this study. Overall, these lead compounds may guide the design and development of novel AD-based therapeutics.

### Acknowledgment

The author is grateful to Prof. Dr. Mehmet Ay for his support.

### Conflict of Interest Statement

The authors have no conflicts of interest to declare.

### Ethical Approval

This article does not contain any studies with human or animal subjects.

### Funding

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

### Availability of Data and Materials

Author can confirm that all relevant data are included in the article.

### Authors Contributions

FCO: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Validation; Visualization; Writing-original draft.

### References

- Huang W, Tang L, Shi Y, Huang S, Xu L, Sheng R, Wu P, Li J, Zhou N, Hu Y. Searching for the Multi-Target-Directed Ligands against Alzheimer's disease: discovery of quinoxaline-based hybrid compounds with AChE, H<sub>3</sub>R and BACE 1 inhibitory activities. *Bioorg Med Chem*. 2011;19(23):7158-67. doi: 10.1016/j.bmc.2011.09.061.
- Hirbod K, Jalili-Baleh L, Nadri H, Ebrahimi SES, Moradi A, Pakseresht B, Foroumadi A, Shafiee A, Khoobi M. Coumarin derivatives bearing benzoheterocycle moiety: synthesis, cholinesterase inhibitory, and docking simulation study. *Iran J Basic Med Sci*. 2017;20(6):631-638. doi: 10.22038/IJ-BMS.2017.8830.
- Khoobi M, Alipour M, Sakhteman A, Nadri H, Moradi A, Ghandi M, Emami S, Foroumadi A, Shafiee A. Design, synthesis, biological evaluation and docking study of 5-oxo-4,5-dihydropyran[3,2-c]chromene derivatives as acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. *Eur J Med Chem*. 2013;68:260-9. doi: 10.1016/j.ejmech.2013.07.038.
- Gupta S, Fallarero A, Järvinen P, Karlsson D, Johnson MS, Vuorela PM, Mohan CG. Discovery of dual binding site acetylcholinesterase inhibitors identified by pharmacophore modeling and sequential virtual screening techniques. *Bioorg Med Chem Lett*. 2011;21(4):1105-12. doi: 10.1016/j.bmcl.2010.12.131.
- Arumugam N, Almansour AI, Kumar RS, Kotresha D, Saiswaroop R, Venketesh S. Dispiropyrrolidinyl-piperidone embedded indeno[1,2-b]quinoxaline heterocyclic hybrids: Synthesis, cholinesterase inhibitory activity and their molecular docking simulation. *Bioorg Med Chem*. 2019;27(12):2621-2628. doi: 10.1016/j.bmc.2019.03.058.
- Montanari S, Scalvini L, Bartolini M, Belluti F, Gobbi S, Andrisano V, Ligresti A, Di Marzo V, Rivara S, Mor M, Bisi A, Rampa A. Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH), Acetylcholinesterase (AChE), and Butyrylcholinesterase (BuChE): Networked Targets for the Development of Carbamates as Potential Anti-Alzheimer's Disease Agents. *J Med Chem*. 2016;59(13):6387-406. doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b00609.
- Tehrani MB, Rezaei Z, Asadi M, Behnammanesh H, Nadri H, Afsharirad F, Moradi A, Larijani B, Mohammadi-Khanaposh-tani M, Mahdavi M. Design, Synthesis, and Cholinesterase Inhibition Assay of Coumarin-3-carboxamide-N-morpholine Hybrids as New Anti-Alzheimer Agents. *Chem Biodivers*. 2016;16(7):e1900144. doi: 10.1002/cbdv.201900144.
- Ferreira-Vieira TH, Guimaraes IM, Silva FR, Ribeiro FM. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. *Curr Neuropharmacol*. 2016;14(1):101-15. doi: 10.2174/1570159x13666150716165726.
- Sharma K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). *Mol Med Rep*. 2019;20(2):1479-1487. doi: 10.3892/mmr.2019.10374.
- Howes MJ, Perry NS, Houghton PJ. Plants with traditional uses and activities, relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders. *Phytother Res*. 2003;17(1):1-18. doi: 10.1002/ptr.1280.
- Comert Onder F, Sahin K, Senturk M, Durdagi S, Ay M. Identifying highly effective coumarin-based novel cholinesterase inhibitors by *in silico* and *in vitro* studies. *J Mol Graph Model*. 2022;115:108210. doi: 10.1016/j.jmgm.2022.108210.
- Li P, Niu Y, Li S, Zu X, Xiao M, Yin L, Feng J, He J, Shen Y. Identification of an AXL kinase inhibitor in triple-negative breast cancer by structure-based virtual screening and bioactivity test. *Chem Biol Drug Des*. 2022;99(2):222-232. doi: 10.1111/cbdd.13977.
- Lu SH, Wu JW, Liu HL, Zhao JH, Liu KT, Chuang CK, Lin HY, Tsai WB, Ho Y. The discovery of potential acetylcholinesterase inhibitors: a combination of pharmacophore modeling, virtual screening, and molecular docking studies. *J Biomed Sci*. 2011;18(1):8. doi: 10.1186/1423-0127-18-8.
- Qing X, Lee XY, De Raeymaecker J, Tame J, Zhang K, De Maeyer M, Voet A. Pharmacophore modeling: advances, limitations, and current utility in drug discovery. *J Receptor, Ligand and Channel Res*. 2014;7:81-92. doi:10.2147/JRLCR.S46843.
- Kaserer T, Beck KR, Akram M, Odermatt A, Schuster D. Pharmacophore Models and Pharmacophore-Based Virtual Screening: Concepts and Applications Exemplified on Hydroxysteroid Dehydrogenases. *Molecules*. 2015;20(12):22799-832. doi: 10.3390/molecules201219880.
- Lakra N, Matore BW, Banjare P, Singh R, Singh J, Roy PP. Pharmacophore based virtual screening of cholinesterase inhibitors: search of new potential drug candidates as anti-alzheimer agents. *In Silico Pharmacol*. 2022 Sep 29;10(1):18. doi: 10.1007/s40203-022-00133-1.
- Jang C, Yadav DK, Subedi L, Venkatesan R, Venkanna A, Afzal S, Lee E, Yoo J, Ji E, Kim SY, Kim MH. Identification of novel acetylcholinesterase inhibitors designed by pharmacop-

- hore-based virtual screening, molecular docking and bioassay. *Sci Rep.* 2018;8(1):14921. doi: 10.1038/s41598-018-33354-6.
18. Korabecny J, Dolezal R, Cabelova P, Horova A, Hruby E, Ricny J, Sedlacek L, Nepovimova E, Spilovska K, Andrs M, Musilek K, Opletalova V, Sepsova V, Ripova D, Kuca K. 7-MEOTA-donepezil like compounds as cholinesterase inhibitors: Synthesis, pharmacological evaluation, molecular modeling and QSAR studies. *Eur J Med Chem.* 2014;82:426-38. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.05.066.
  19. Brunetti L, Leuci R, Carrieri A, Catto M, Occhineri S, Vinci G, Gambacorta L, Baltrukevich H, Chaves S, Laghezza A, Altomare CD, Tortorella P, Santos MA, Loiodice F, Piemontese L. Structure-based design of novel donepezil-like hybrids for a multi-target approach to the therapy of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem.* 2022;237:114358. doi: 10.1016/j.ejmech.2022.114358.
  20. Ismaili L, Refouvelet B, Bencheekroun M, Brogi S, Brindisi M, Gemma S, Campiani G, Filipic S, Agbaba D, Esteban G, Unzeta M, Nikolic K, Butini S, Marco-Contelles J. Multitarget compounds bearing tacrine- and donepezil-like structural and functional motifs for the potential treatment of Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol.* 2017;151:4-34. doi: 10.1016/j.pneurobio.2015.12.003.
  21. Akhoun BA, Choudhary S, Tiwari H, Kumar A, Barik MR, Rathor L, Pandey R, Nargotra A. Discovery of a New Donepezil-like Acetylcholinesterase Inhibitor for Targeting Alzheimer's Disease: Computational Studies with Biological Validation. *J Chem Inf Model.* 2020;60(10):4717-4729. doi: 10.1021/acs.jcim.0c00496.
  22. Costanzo P, Cariati L, Desiderio D, Sgammato R, Lamberti A, Arcone R, Salerno R, Nardi M, Masullo M, Oliverio M. Design, Synthesis, and Evaluation of Donepezil-Like Compounds as AChE and BACE-1 Inhibitors. *ACS Med Chem Lett.* 2016;7(5):470-5. doi: 10.1021/acsmedchemlett.5b00483.
  23. Miles JA, Ross BP. Recent Advances in Virtual Screening for Cholinesterase Inhibitors. *ACS Chem Neurosci.* 2021 Jan 6;12(1):30-41. doi: 10.1021/acschemneuro.0c00627.
  24. Accelrys Discovery Studio, Accelrys, San Diego, CA
  25. Rampogu S, Baek A, Son M, Park C, Yoon S, Parate S, Lee KW. Discovery of Lonafarnib-Like Compounds: Pharmacophore Modeling and Molecular Dynamics Studies. *ACS Omega.* 2020;5(4):1773-1781. doi: 10.1021/acsomega.9b02263.
  26. Jiang CS, Ge YX, Cheng ZQ, Song JL, Wang YY, Zhu K, Zhang H. Discovery of new multifunctional selective acetylcholinesterase inhibitors: structure-based virtual screening and biological evaluation. *J Comput Aided Mol Des.* 2019;33(5):521-530. doi: 10.1007/s10822-019-00202-2.
  27. Schrodinger, LLC. Protein preparation. New York, NY, USA: Schrodinger LLC.
  28. Shelley JC, Cholleti A, Frye LL, Greenwood JR, Timlin MR, Uchimaya M. Epik: a software program for pK( a ) prediction and protonation state generation for drug-like molecules. *J Comput Aided Mol Des.* 2007;21(12):681-91. doi: 10.1007/s10822-007-9133-z.
  29. Jorgensen WL, Tirado-Rives J. The OPLS [optimized potentials for liquid simulations] potential functions for proteins, energy minimizations for crystals of cyclic peptides and crambin. *J Am Chem Soc.* 1988;110(6):1657-66. doi: 10.1021/ja00214a001.
  30. Sastry GM, Adzhigirey M, Day T, Annabhimoju R, Sherman W. Protein and ligand preparation: parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. *J Comput Aided Mol Des.* 2013;27(3):221-34. doi: 10.1007/s10822-013-9644-8.
  31. Tripathi SK, Muttineni R, Singh SK. Extra precision docking, free energy calculation and molecular dynamics simulation studies of CDK2 inhibitors. *J Theor Biol.* 2013;334:87-100. doi: 10.1016/j.jtbi.2013.05.014.
  32. Ibrar A, Khan A, Ali M, Sarwar R, Mehsud S, Farooq U, Halimi SMA, Khan I, Al-Harrasi A. Combined in Vitro and in Silico Studies for the Anticholinesterase Activity and Pharmacokinetics of Coumarinyl Thiazoles and Oxadiazoles. *Front Chem.* 2018;6:61. doi: 10.3389/fchem.2018.00061.
  33. Wu B, Zhang Z, Dou G, Lv X, Ge J, Wang H, Xie H, Zhu D. Novel natural inhibitors targeting B-RAF(V600E) by computational study. *Bioengineered.* 2021;12(1):2970-2983. doi: 10.1080/21655979.2021.1943113.
  34. Sari S., Yilmaz M. Acetylcholinesterase inhibition, molecular docking and ADME prediction studies of new dihydrofuran-piperazine hybrid compounds. *Med Chem Res.* 2021;30:2114-2126. doi: 10.1007/s00044-021-02788-5.
  35. Wiesner J, Kriz Z, Kuca K, Jun D, Koca J. Acetylcholinesterases--the structural similarities and differences. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2007;22(4):417-24. doi: 10.1080/14756360701421294.
  36. Bourne Y, Taylor P, Radić Z, Marchot P. Structural insights into ligand interactions at the acetylcholinesterase peripheral anionic site. *EMBO J.* 2003;22(1):1-12. doi: 10.1093/emboj/cdg005.
  37. Khalid S, Zahid MA, Ali H, Kim YS, Khan S. Biaryl scaffold-focused virtual screening for anti-aggregatory and neuroprotective effects in Alzheimer's disease. *BMC Neurosci.* 2018;19(1):74. doi: 10.1186/s12868-018-0472-6.
  38. Roy S, Kumar A, Baig MH, Masařík M, Provozák I. Virtual screening, ADMET profiling, molecular docking and dynamics approaches to search for potent selective natural molecules based inhibitors against metallothionein-III to study Alzheimer's disease. *Methods San Diego Calif.* 2015;83:105-10.
  39. Iqbal D, Khan MS, Waiz M, Rehman MT, Alaidarous M, Jamal A, Alothaim AS, AlAjmi MF, Alshehri BM, Banawas S, Alsaweed M, Madkhali Y, Algarni A, Alsagaby SA, Alturaiki W. Exploring the Binding Pattern of Geraniol with Acetylcholinesterase through In Silico Docking, Molecular Dynamics Simulation, and In Vitro Enzyme Inhibition Kinetics Studies. *Cells.* 2021 Dec 14;10(12):3533. doi: 10.3390/cells10123533.
  40. Ambure P, Kar S, Roy K. Pharmacophore mapping-based virtual screening followed by molecular docking studies in search of potential acetylcholinesterase inhibitors as anti-Alzheimer's agents. *Biosystems.* 2014;116:10-20. doi: 10.1016/j.biosystems.2013.12.002.
  41. Gupta S, Fallarero A, Järvinen P, Karlsson D, Johnson MS, Vuorela PM, Mohan CG. Discovery of dual binding site acetylcholinesterase inhibitors identified by pharmacophore modeling and sequential virtual screening techniques. *Bioorg Med Chem Lett.* 2011;21(4):1105-12. doi: 10.1016/j.bmcl.2010.12.131.
  42. Bezoari MD, Boothe G. Determination of potential multi-target inhibitors of alzheimer's disease in silico. *J Undergraduate Chem Res.* 2019;18(4):21.
  43. Ambure P, Bhat J, Puzyn T, Roy K. Identifying natural compounds as multi-target-directed ligands against Alzheimer's disease: an in silico approach. *J Biomol Struct Dyn.* 2019;37(5):1282-1306. doi: 10.1080/07391102.2018.1456975.
  44. David B, Schneider P, Schäfer P, Pietruszka J, Gohlke H. Discovery of new acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease: virtual screening and in vitro characterisation. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2021;36(1):491-496. doi: 10.1080/14756366.2021.1876685.
  45. Silva MA, Kiametis AS, Treptow W. Donepezil Inhibits Acetylcholinesterase via Multiple Binding Modes at Room Temperature. *J Chem Inf Model.* 2020;60(7):3463-3471. doi: 10.1021/acs.jcim.9b01073.
  46. Barak D, Kronman C, Ordentlich A, Ariel N, Bromberg A, Marcus D, Lazar A, Velan B, Shafferman A. Acetylcholinesterase peripheral anionic site degeneracy conferred by amino acid arrays sharing a common core. *J Biol Chem.* 1994;269(9):6296-305.
  47. Chen Y, Lin H, Zhu J, Gu K, Li Q, He S, Lu X, Tan R, Pei Y, Wu L, Bian Y, Sun H. Design, synthesis, in vitro and in vivo evaluation of tacrine-cinnamic acid hybrids as multi-target acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitors against Alzheimer's disease. *RSC Adv.* 2017;7,33851-33867.

48. Pourshojaei Y, Abiri A, Eskandari K, Haghhighijoo Z, Edraki N, Asadipour A. Phenoxyethyl Piperidine/Morpholine Derivatives as PAS and CAS Inhibitors of Cholinesterases: Insights for Future Drug Design. *Sci Rep.* 2019 Dec 27;9(1):19855. doi: 10.1038/s41598-019-56463-2.
49. Duarte Y, Gutierrez M, Álvarez R, Alzate-Morales JH, Soto-Delgado J. Experimental and Theoretical Approaches in the Study of Phenanthroline-Tetrahydroquinolines for Alzheimer's Disease. *ChemistryOpen.* 2019;8(5):627-636. doi: 10.1002/open.201900073.





## EVALUATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF RAMELTEON IN METHOTREXATE INDUCED NEPHROTOXICITY

### METOTREKSAT ARACILI NEFROTOKSİSİTEDE RAMELTEONUN KORUYUCU ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Halil Ibrahim BUYUKBAYRAM<sup>1</sup>, Dilek BAYRAM<sup>2</sup>, Hatice Kubra DOĞAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Suleyman Demirel University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Isparta, Türkiye.

<sup>2</sup> Suleyman Demirel University, Faculty of Medicine, Department of Histology-Embryology, Isparta, Türkiye.

<sup>3</sup> Suleyman Demirel University, Institute of Science, Department of Bioengineering, Isparta, Türkiye.

**Cite this article as:** Buyukbayram HI, Bayram D, Dogan HK. Evaluation of the Protective Effect of Ramelteon in Methotrexate Induced Nephrotoxicity. Med J SDU 2023; 30(2): 155-162.

#### Öz

#### Amaç

İmmünsüpresif ve antikanser olarak kullanılan Metotreksat (MTX), böbrek dahil birçok organda ciddi toksik yan etkilere neden olmaktadır. Mtx aracılı nefrotoksitenin mekanizmasında oksidatif stres üzerinden apoptotik yolların aktive olması yer almaktadır. Çalışmamızda antioksidan ve antiapoptotik özellikleri iyi bilinen melatonin'in analoglarından Ramelteon'un (RML) MTX nefrotoksitesindeki koruyucu etkilerini araştırdık.

#### Gereç ve Yöntem

32 adet sıçan Kontrol, MTX, MTX+RML ve RML olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Gruplara göre 7 gün boyunca oral gavajla salin (SF) ya da RML (10 mg/kg) uygulandı, 2. gün ise gruplara göre intraperitoneal 20 mg MTX ya da aynı hacimde salin uygulandı. Deney sonunda ratlar sakrifiye edilerek böbrek dokuları Hematoksilen-Eozin (HE) boyama ile histopatolojik olarak, caspase-3 ve TNF- $\alpha$  boyama ile immünohistokimyasal (İHC) olarak incelendi. Ayrıca serum BUN, kreatinin düzeyleri ölçüldü ve böbrek Total oksidan ve antioksidan durum (TAS, TOS) düzeyleri çalışılarak Oksidatif stres indeksi (OSi) hesaplandı.

#### Bulgular

MTX grubunda kreatinin, TOS ve OSi düzeyleri Kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı. HE boyamada MTX grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek doku hasarı, İHC boyamada cas-3 ve TNF- $\alpha$  boyama düzeylerinde artış saptandı. Bu bulguların MTX+RML grubunda geriye çevrildiği saptandı.

#### Sonuç

RML tedavisinin, MTX'in yol açtığı nefrotoksitete ilişkin bulguları iyileştirdiğini gösterdik. RML, MTX nefrotoksitesinde umut vadeden bir ilaç olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptoz, İlaça bağlı nefrotoksitete, Melatonin analogları, Oksidatif stres

#### Abstract

#### Objective

Methotrexate (MTX), which is used as an immunosuppressive and anticancer drug, causes serious toxic side effects in many organs, including the kidney. Activation of apoptotic pathways through oxidative stress is involved in the mechanism of MTX mediated nephrotoxicity. In our study, we investigated

**Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address:** H.I.B. / halilibrahimbuyukbayram@hotmail.com

**Müracaat tarihi/Application Date:** 11.05.2022 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 06.12.2022

**ORCID IDs of the authors:** H.I.B: 0000-0003-0560-042X; D.B: 0000-0003-3568-2673;

H.K.D: 0000-0002-6061-1300

the protective effects of ramelteon (RML), an analogue of melatonin, whose antioxidant and antiapoptotic properties are well known, on MTX nephrotoxicity.

### Material and Method

32 rats were divided into 4 groups as Control, MTX, MTX+RML and RML. According to the groups, saline or RML (10 mg/kg) was administered by oral gavage for 7 days, and on the 2nd day, 20 mg of MTX or the same volume of saline was administered intraperitoneally according to the groups. At the end of the experiment, the rats were sacrificed and kidney tissues were examined histopathologically with Hematoxylin-Eosin (HE) staining and immunohistochemically (IHC) with caspase-3 and TNF- $\alpha$  staining. In addition, serum BUN, creatinine levels were measured, kidney Total Oxidant and Antioxidant Status (TAS, TOS) levels were studied and Oxidative Stress Index (OSI) was calculated.

### Results

Creatinine, TOS and OSI levels in the MTX group were found to be significantly higher than in the control group. In HE staining, tissue damage was significantly higher in MTX group compared to the control group, and cas-3 and TNF- $\alpha$  staining levels were increased in IHC staining. These findings were found to be reversed in the MTX+RML group.

### Conclusion

We show that RML treatment improves the findings of MTX-induced nephrotoxicity. RML may be a promising drug in MTX nephrotoxicity.

**Keywords:** Melatonin analogs, drug induced nephrotoxicity, oxidative stress, apoptosis

## Introduction

Methotrexate (MTX) is a folic acid antimetabolite used as an antineoplastic in some types of cancer and immunosuppressive in autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis and psoriasis (1). MTX acts by inhibiting the enzyme dihydrofolate reductase, which catalyzes the conversion of dihydrofolate (DHF) to tetrahydrofolate (THF) in pyrimidine synthesis. In addition to its antineoplastic, immunosuppressive, antiproliferative, and anti-inflammatory effects, MTX has serious side effects such as hepatotoxicity, nephrotoxicity, hematotoxicity, and neurotoxicity (2).

Nephrotoxicity is a serious side effect in patients using MTX (3). This effect is particularly evident in the use of high doses of MTX, but may occur in low doses, especially in patients with impaired renal function due to the use of multiple drugs (such as non-steroidal

anti-inflammatory drugs) (4). Increased blood levels of MTX due to decreased renal excretion have been implicated in nephrotoxicity, which can also be observed at low doses (5). In addition, there are many studies in the literature showing that the use of MTX causes oxidative stress and causes cell damage in many tissues, including the kidney (6-8).

Melatonin (MLT) is a hormone secreted from the pineal gland that regulates the sleep/wake cycle (9). It is well known that MLT, which is synthesized in many organisms from plants to humans, has strong antioxidant properties (10). Ramelteon (RML) is a synthetic MLT analog of MLT that specifically stimulates the MT1 and MT2 receptors (11). In this study, we aimed to investigate the protective effect of RML in MTX nephrotoxicity through histopathological analysis, oxidative stress, and apoptotic pathways.

**Table 1** Experimental Procedures

| Groups  | Applied Procedures   |                            |
|---------|--|----------------------------|
| Control | 0.1 ml SF by oral gavage for 7 days                        | 2nd day i.p. SF            |
| MTX     | 0.1 ml SF by oral gavage for 7 days                        | 2nd day i.p. 20 mg/kg MTX* |
| MTX+RML | 0.1 ml 10 mg/kg RML <sup>#</sup> by oral gavage for 7 days | 2nd day i.p. 20 mg/kg MTX  |
| RML     | 0.1 ml 10 mg/kg RML by oral gavage for 7 days              | 2nd day i.p. SF            |

\*MTX: Methotrexate 50 mg/ml flacon, Koçak, Türkiye. #RML: (Ramelda 8 mg tablet, Abdi İbrahim, Türkiye)

## Material and Method

In our study, 32 Wistar Albino male rats weighing between 200-300 grams were used. Rats were randomly selected and divided into 4 groups, with 8 animals in each group. The drugs administered to the groups are given in Table 1.

All rats were anesthetized with 80-100 mg/kg Ketamine (Alfamine, Alfasan IBV, Holland) and 8-10 mg/kg Xylazine (Alfazin, Alfasan IBV, Holland) 24 hours after the last drug administration. Venous blood was taken from the vena cava inferior of the rats who underwent abdominal incision following anesthesia. Then, the kidney tissues of the rats were taken and half of them were homogenized for biochemical analysis. Total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) values were measured from homogenized tissues, oxidative stress index (OSI) value was calculated and data were evaluated. The measurement of TAS and TOS levels and the calculation of OSI levels were performed using the methods developed by Erel et al. (12-14). The other halves of the tissues were separated by placing them in 10% formaldehyde for histopathological and immunohistochemical analyses. Hematoxylin Eosin (HE) staining was performed on the tissues and histopathological examinations were performed, as well as tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and caspase-3 (cas-3) stainings were performed immunohistochemically. Structural changes in the kidney tissue sections of the control and experimental groups were made according to the scoring of Refaiy et al. (15). A semi-quantitative evaluation method was used to determine the cas-3 and TNF- $\alpha$  density in kidney tissue sections stained with the immunohistochemical method (16). The blood taken into biochemistry tubes was centrifuged (3000 rpm, 10 min) and the serum specimens were separated. Blood Urea Nitrogen (BUN) and creatinine values from obtained sera were assayed on Beckman

Coulter AU5800 biochemistry autoanalyzer (Beckman Coulter, Brea, CA, USA).

One-way analysis of variance (ANOVA) and post hoc Tukey tests were used to compare the results of kidney tissue TAS, TOS, OSI, and serum BUN and creatinine between groups. The significance level was accepted as  $p < 0.05$ . Kruskal Wallis test and Mann Whitney U tests with Bonferroni correction were used to compare histopathological scores. The significance level was accepted as  $p < 0.0083$ .

## Results

### Biochemical Analyzes

TOS and OSI values in kidney tissue were found to be significantly higher in the MTX group than in the other groups ( $p < 0.05$ ). On the other hand, TAS levels were found to be statistically significantly higher in the group given only RML compared to other groups ( $p < 0.05$ , Table 2).

Serum creatinine levels were found to be significantly higher in the MTX group than in the Control group ( $p < 0.05$ , Table 3).

**Histopathological Results in Kidney Tissue Samples**  
In the histochemical evaluations, the kidney tissues of the control group were observed in normal histological appearance (Figure 1). In the MTX group, significant histopathological changes were observed including marked hydropic degeneration in proximal and distal tubule epithelial cells, mononuclear cell infiltrations in the perivascular and intertubular areas, vascular and glomerular congestion, tubular dilatation and degeneration of some glomeruli compared to the Control group. It was observed that glomerular degeneration, medullary congestion, and mononuclear cell infiltrations were significantly reduced in the MTX+RML group compared to the

**Table 2** Oxidative stress parameters in kidney tissue

|   | Control (n=8)<br>Mean $\pm$ S.D. | MTX (n=8)<br>Mean $\pm$ S.D.             | MTX+RML (n=8)<br>Mean $\pm$ S.D. | RML (n=8)<br>Mean $\pm$ S.D.     |
|---|----------------------------------|--|----------------------------------|----------------------------------|
| TAS (mmol Trolox Eq./L)                           | 1.32 $\pm$ 0.21                  | 1.20 $\pm$ 0.15                          | 1.37 $\pm$ 0.53                  | 1.64 $\pm$ 0.13 <sup>**##¥</sup> |
| TOS ( $\mu$ mol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /L) | 12.09 $\pm$ 3.98                 | 24.87 $\pm$ 8.67 <sup>**¥&amp;</sup>     | 12.43 $\pm$ 5.55                 | 13.41 $\pm$ 4.23                 |
| OSI (Arbitrary Unit)                              | 0.92 $\pm$ 0.25                  | 2.09 $\pm$ 0.70 <sup>**¥&amp;&amp;</sup> | 0.92 $\pm$ 0.42                  | 0.82 $\pm$ 0.26                  |

\*\* represents statistical significance according to the control group, '#' according to the MTX group, '¥' according to the MTX+RML group, and '&' according to the RML group (single symbol for  $p < 0.05$ , a double symbol for  $p < 0.001$ ).

**Table 3** Serum BUN and creatinine results

|                           | Control (n=8)<br>Mean ± S.D. | MTX (n=8)<br>Mean ± S.D. | MTX+RML (n=8)<br>Mean ± S.D. | RML (n=8)<br>Mean ± S.D. |
|---------------------------|------------------------------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|
| <b>Creatinine (mg/dl)</b> | 0.28 ± 0.07                  | 0.44 ± 0.08*             | 0.34 ± 0.10                  | 0.40 ± 0.12              |
| <b>BUN (mg/dl)</b>        | 22.25 ± 1.49                 | 24.75 ± 4.77             | 23.63 ± 5.10                 | 22.88 ± 2.36             |

\*\* represents statistical significance compared to the control group (p<0.05).

**Table 4** Scoring results of structural changes observed in kidney tissue in control and experimental groups

|                                     | Control (n=8)<br>Median(25-75%) | MTX (n=8)<br>Median(25-75%) | MTX+RML (n=8)<br>Median(25-75%) | RML (n=8)<br>Median(25-75%) |
|-------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| <b>Glomerular degeneration</b>      | 1.0 (1.0-1.8)                   | 4.0 (3.3-4.0)*              | 3.0 (3.0-3.0)*, #               | 1.0 (1.0-1.8)#, ¥           |
| <b>Tubular dilatation</b>           | 1.0 (1.0-1.8)                   | 4.0 (4.0-4.0)*              | 3.0 (3.0-3.0)*                  | 2.0 (1.0-2.0)#, ¥           |
| <b>Mononuclear cell infiltrates</b> | 1.0 (1.0-1.0)                   | 4.0 (4.0-4.0)*              | 2.0 (2.0-2.0)*, #               | 1.0 (1.00-1.8)#             |
| <b>Cortical congestion</b>          | 1.0 (1.0-1.0)                   | 4.0 (3.0-4.0)*              | 3.0 (2.3-3.0)*                  | 1.0 (1.0-1.8)#, ¥           |
| <b>Medullary congestion</b>         | 1.0 (1.0-1.8)                   | 4.0 (4.0-4.0)*              | 3.0 (2.3-3.0)*, #               | 1.0 (1.0-1.0)#, ¥           |

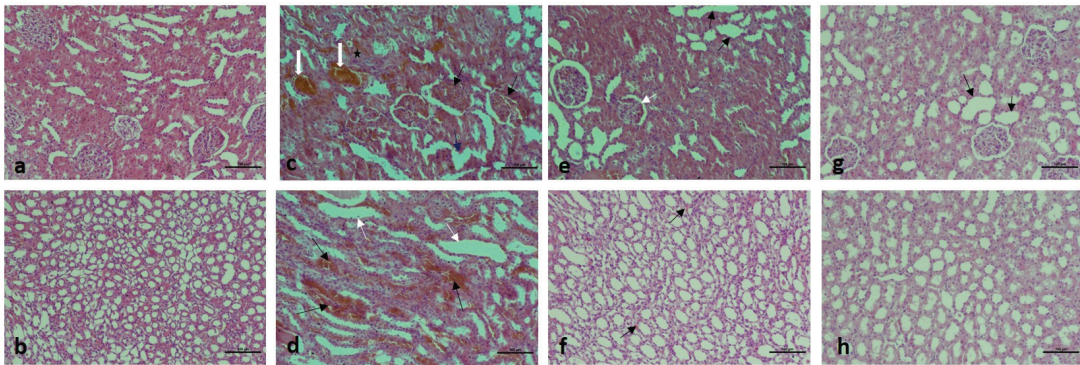
\*\* indicates statistical significance according to the control group, '#' according to the MTX group, and '¥' according to the MTX+RML group (p<0.0083).

**Table 5** Cas-3 immunostaining grades in kidney (Mean)

|                           | Control | MTX | MTX +RML | RML |
|---------------------------|---------|-----|----------|-----|
| <b>Degree of Staining</b> | -/+     | +++ | +        | -/+ |

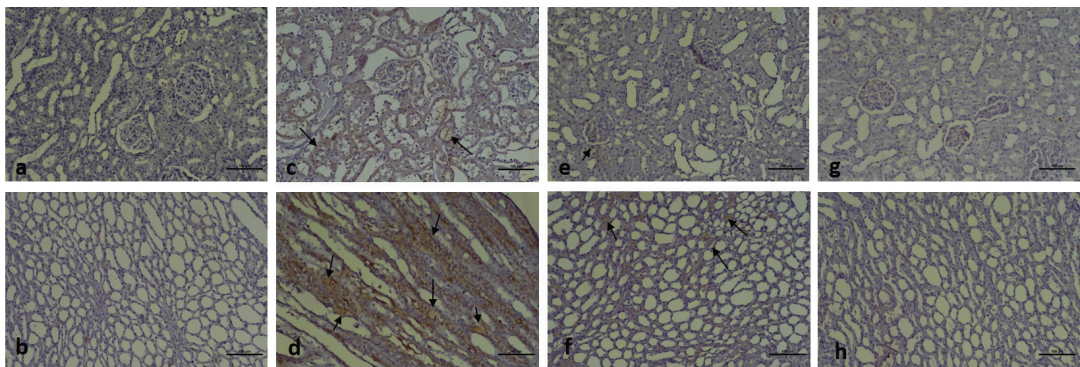
**Table 6** TNF-α immunostaining grades in kidney (Mean)

|                           | Control | MTX | MTX +RML | RML |
|---------------------------|---------|-----|----------|-----|
| <b>Degree of Staining</b> | -/+     | +++ | +        | -/+ |



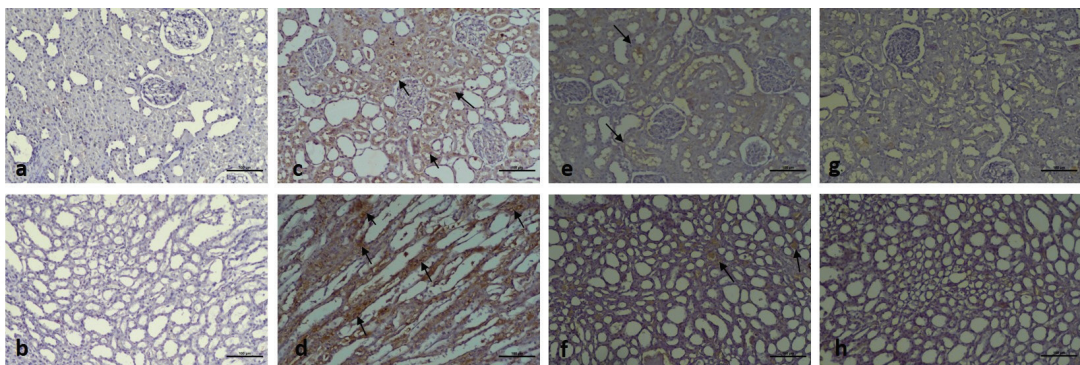
**Figure 1:**

Renal cortex (a), medulla (b) region of the control group are observed in normal histological structure (H-E, ax10, bx10). The rat kidney cortex region of the MTX group (c) Glomerular degeneration (black thin arrow), vascular congestion (white thick arrow), tubular dilatation (blue thin arrow), and inflammatory cell infiltrations (black star) are clearly observed (H-E, x10). In the rat kidney medulla region (d) of the MTX group, vascular congestion (black thin arrow), tubular dilatation (white thin arrow) are clearly observed (H-E, x10). Rat kidney cortex region of the MTX +RML group (e) Glomerular degeneration (white thin arrow), tubular dilatation (black thin arrow) are observed at low levels (H-E, x10). A low level of vascular congestion (black thin arrow) is observed in the rat kidney medulla region (f) of the MTX +RML group (H-E, x10). The rat kidney cortex (g), medulla (h) region of the RML group is observed similar to the control group (H-E, x10).



**Figure 2:**

No staining is observed in the kidney cortex (a), medulla (b) region of the rats of the control group (cas-3 immunostaining, x10). Intense staining is observed in the tubules of the rat kidney cortex (c), medulla (d) region of the MTX group (cas-3 immunostaining, x10). A low level of staining is observed in the kidney cortex (e), medulla (f) region of the rat in the MTX+RML group (cas-3 immunostaining, x10). A very low level of staining is observed in the kidney cortex (g), medulla (h) region of the rat in the RML group (cas-3 immunostaining, x10). Stained areas are seen in orange to brown.



**Figure 3:**

No staining is observed in the kidney cortex (a), medulla (b) region of the rats of the control group (TNF- $\alpha$  immunostaining, x10). Intense staining is observed in the tubules of the rat kidney cortex (c), medulla (d) region of the MTX group (TNF- $\alpha$  immunostaining, x10). A low level of staining is observed in the kidney cortex (e), medulla (f) region of the rat in the MTX+RML group (TNF- $\alpha$  immunostaining, x10). A very low level of staining is observed in the kidney cortex (g), medulla (h) region of the rat in the RML group (TNF- $\alpha$  immunostaining, x10). Stained areas are seen in orange to brown.

MTX group (Table 4). A normal histological structure was observed in the RML group, similar to the control group (Figure 1).

### Immunohistochemical Results in Kidney Tissue Samples

#### *Cas-3 Immune Staining in Kidney Tissue Samples*

It was observed that cas-3 was stained at a very low level or absent in the kidney tissues of the rats in the control group. In the MTX group, very intense staining was observed in the cortex and medulla regions of the tubules. In the MTX+RML group, cas-3 staining was observed at a low level. On the other hand, in the RML group, cas-3 staining was observed to be very low or absent, similar to the control group. (Figure 2, Table 5).

#### *TNF- $\alpha$ Immune Staining in Kidney Tissue Samples*

TNF- $\alpha$  staining in the kidney tissues of the rats in the control group was either very low or absent. Intense staining was observed in the cortex and medulla regions of the kidney tissues of the rats in the MTX group. In the kidney tissue samples of rats in the MTX+RML group, TNF- $\alpha$  staining was observed at a low level. On the other hand, in the RML group, cas-3 staining was observed to be very low or absent, similar to the control group, in the kidney tissues (Figure 3, Table 6).

## Discussion

In our study, we investigated the possible protective effects of RML, which is used in the treatment of sleep disorders and is known to have antioxidant properties, on kidney toxicity caused by MTX use. We showed that RML reduces the increased oxidative stress due to MTX, decreases the increase in serum creatinine levels, and also improves the pathological findings developing in the kidney tissue. In addition to these results, we found that RML also reduced cas-3 and TNF- $\alpha$  staining intensities, which are associated with renal damage. It is well known that oxidative stress causes the activation of transcription factors through various signaling pathways, changes gene expression, and leads the cell to apoptosis (17). Many studies have shown that oxidative stress is also involved in the mechanism of MTX-mediated nephrotoxicity. Heidari et al. showed that MTX administration at doses of 20-30 mg/kg for 6 days decreased TAS and glutathione levels while increasing lipid peroxidation and reactive oxygen species (6). Similarly, Devrim et al. (2005) showed that malondialdehyde levels, which is one of the markers of lipid peroxidation in kidney tissue, increased after i.v. MTX administration for 7 weeks (7).

In the development of MTX-mediated nephrotoxicity, mechanisms such as the decrease in NADPH level as a result of the effects of MTX on nucleotide metabolism and consequently the decrease in reduced glutathione level, the increase in NADPH oxidase enzyme activity, the activation of apoptotic pathways as a result of inflammation and oxidative stress-mediated mitochondrial damage have been held responsible (8). In addition, it has been reported that MTX and its main metabolite, 7-OH-MTX, cause tubular obstruction by causing crystal deposition in the renal tubules, which leads to impaired excretion of MTX (18).

Cas-3 is an enzyme that is a member of the serine-aspartate proteases (CASPASE) family that catalyzes the degradation of many key cellular proteins during apoptosis. Cas-3 can be induced via both the intrinsic pathway of the mitochondrial damage-mediated apoptotic pathway and the TNF-mediated extrinsic pathway (19). Therefore, cas-3 is used as an important marker of apoptosis. In parallel with our findings, Mahmoud et al. showed that cas-3 expression increased in rats receiving MTX, and this increase was reversed by ferulic acid (20). Similarly, Osman et al. examined the renal NF- $\kappa$ B/Keap1/HSP-70/cas-3 axis in MTX-induced nephrotoxicity and found that cas-3 expression increased in the group receiving MTX (8).

TNF- $\alpha$  is a critical cytokine involved in both inflammation and apoptosis (21). Campbell et al. showed that renal obstruction stimulates apoptosis by increasing the level of TNF- $\alpha$  in the kidney (22). Türk et al., on the other hand, showed that MTX increased TNF- $\alpha$  levels in the kidney, again in line with our findings (23).

It is well known that MLT has antioxidant and antiapoptotic properties as well as anti-inflammatory and immunomodulatory effects (24). In recent years, many experimental studies have been conducted to show that it can be used as a preventative against the toxic effects of different xenobiotics. (25-27). Although there are a limited number of studies in the literature evaluating the effects of MLT on MTX nephrotoxicity, we could not find a study that specifically evaluated the effects of RML on MTX nephrotoxicity, which has a stimulating power of MLT receptors that is approximately 10 times greater than MLT (28). Jahovic et al. found that reduced glutathione levels in the liver and kidneys were decreased, MDA levels and myeloperoxidase activities were increased in MTX toxicity, and showed that these effects were reversed by MLT (29). Similarly, Abraham et al.

showed that pre-treatment with MLT is protective in MTX nephrotoxicity by measuring the activities of various antioxidant enzymes and histopathological examination of the kidney. (30). Oğuz et al. demonstrated that MLT administered together with lycopene in MTX toxicity reversed renal damage by histopathological examinations, and also by analyzing inflammatory markers in kidney tissue (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , Nitric oxide, ceruloplasmin) (31).

## Conclusion

Through histopathological findings and biochemical measurements, we showed that RML reduces MTX nephrotoxicity, and we explained this improvement by RML's reducing effect on oxidative stress and suppressing of apoptotic pathways. In conclusion, RML may be a promising drug that can prevent the development of nephrotoxicity in patients using MTX.

## Conflict of Interest Statement

The authors have no conflicts of interest to declare.

## Ethical Approval

All experiments are conducted in accordance with the Turkish Ministry of Health, the Declaration of Helsinki, the Recommendations for Animal Care and Experiments of the Council of European Communities Directive (86/609/EEC), and the Care and Use of Laboratory Animals Guidelines accepted and published by the United States National Institutes of Health (NIH). Süleyman Demirel University Experimental Animal Center and Animal Experiments Ethics Committee approved all experimental procedures in this study. (Date: 11/09/2020, Issue: 06/11).

## Funding

This study was funded by Suleyman Demirel University Scientific Research Fund (Project ID: TSG-2020-8134).

## Availability of Data and Materials

Data available on request from the authors.

## Authors Contributions

HIB: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Validation; Visualization; Writing-original draft.

DB: Conceptualization; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Writing-review & editing.

HKD: Conceptualization; Investigation; Validation.

## References

1. Cronstein BN, Aune TM. Methotrexate and its mechanisms of action in inflammatory arthritis. *Nature reviews Rheumatology*. 2020;16(3):145-54.
2. Gaies E, Jebabli N, Trabelsi S, Salouage I, Charfi R, Lakhal M, et al. Methotrexate side effects: review article. *J Drug Metab Toxicol*. 2012;3(4):1-5.
3. Andankar P, Shah K, Patki V. A review of drug-induced renal injury. *Journal of Pediatric Critical Care*. 2018;5(2):36.
4. Iqbal S, Armaghani A, Aiyer R, Kazory A. Methotrexate nephrotoxicity: Novel treatment, new approach. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*. 2013;19(4):373-6.
5. Erdbrügger U, De Groot K. Is methotrexate nephrotoxic? Dose-dependency, comorbidities and comedication. *Zeitschrift für Rheumatologie*. 2011;70(7):549-52.
6. Heidari R, Ahmadi A, Mohammadi H, Ommati MM, Azarpira N, Niknahad H. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress are involved in the mechanism of methotrexate-induced renal injury and electrolytes imbalance. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018;107:834-40.
7. Devrim E, Çetin R, Kılıçoğlu B, Imge Ergüder B, Avcı A, Durak İ. Methotrexate causes oxidative stress in rat kidney tissues. *Renal failure*. 2005;27(6):771-3.
8. Osman AT, Sharkawi SM, Hassan MI, Abo-Youssef AM, Hemeida RA. Empagliflozin and neohesperidin protect against methotrexate-induced renal toxicity via suppression of oxidative stress and inflammation in male rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2021;155:112406.
9. Amaral FGd, Cipolla-Neto J. A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Archives of endocrinology and metabolism*. 2018;62:472-9.
10. Reiter RJ, Tan DX, Rosales-Corral S, Galano A, Zhou XJ, Xu B. Mitochondria: central organelles for melatonin's antioxidant and anti-aging actions. *Molecules*. 2018;23(2):509.
11. Pandi-Perumal SR, Srinivasan V, Poeggeler B, Hardeland R, Cardinali DP. Drug insight: the use of melatonergic agonists for the treatment of insomnia—focus on ramelteon. *Nature Clinical Practice Neurology*. 2007;3(4):221-8.
12. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry*. 2004;37(4):277-85.
13. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*. 2005;38(12):1103-11.
14. Yanik M, Erel O, Kati M. The relationship between potency of oxidative stress and severity of depression. *Acta Neuropsychiatrica*. 2004;16(4):200-3.
15. Refaiy A, Muhammad E, ElGanainy E. Semiquantitative smooth-helin expression in detection of muscle invasion in transurethral resection and cystectomy specimens in cases of urinary bladder carcinoma. *African Journal of Urology*. 2011;17(1).
16. McNaughton L, Puttagunta L, Martinez-Cuesta MA, Kneteman N, Mayers I, Moqbel R, et al. Distribution of nitric oxide synthase in normal and cirrhotic human liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(26):17161-6.
17. Sinha K, Das J, Pal PB, Sil PC. Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis. *Archives of toxicology*. 2013;87(7):1157-80.
18. Hempel L, Misselwitz J, Fleck C, Kentouche K, Leder C, Appenroth D, et al. Influence of high-dose methotrexate therapy (HD-MTX) on glomerular and tubular kidney function. *Medical and Pediatric Oncology: The Official Journal of SIOP—International Society of Pediatric Oncology (Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique)*. 2003;40(6):348-54.
19. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*. 2007;35(4):495-516.
20. Mahmoud AM, Hussein OE, Abd El-Twab SM, Hozayen WG. Ferulic acid protects against methotrexate nephrotoxicity via activation of Nrf2/ARE/HO-1 signaling and PPAR $\gamma$ , and sup-

- ression of NF- $\kappa$ B/NLRP3 inflammasome axis. *Food & Function*. 2019;10(8):4593-607.
21. Zelová H, Hošek J. TNF- $\alpha$  signalling and inflammation: interactions between old acquaintances. *Inflammation Research*. 2013;62(7):641-51.
  22. Campbell MT, Dagher P, Hile KL, Zhang H, Meldrum DR, Rink RC, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  induces intrinsic apoptotic signaling during renal obstruction through truncated bid activation. *The Journal of urology*. 2008;180(6):2694-700.
  23. Türk E, Güvenç M, Cellat M, Uyar A, Kuzu M, Ağgül AG, et al. Zingerone protects liver and kidney tissues by preventing oxidative stress, inflammation, and apoptosis in methotrexate-treated rats. *Drug and Chemical Toxicology*. 2020:1-12.
  24. Ferlazzo N, Andolina G, Cannata A, Costanzo MG, Rizzo V, Currò M, et al. Is melatonin the cornucopia of the 21st century? *Antioxidants*. 2020;9(11):1088.
  25. Oleshchuk O, Ivankiv Y, Falfushynska H, Mudra A, Lisnychuk N. Hepatoprotective effect of melatonin in toxic liver injury in rats. *Medicina*. 2019;55(6):304.
  26. Haghi-Aminjan H, Asghari MH, Farhood B, Rahimifard M, Hashemi Goradel N, Abdollahi M. The role of melatonin on chemotherapy-induced reproductive toxicity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2018;70(3):291-306.
  27. Moradi M, Goodarzi N, Faramarzi A, Cheraghi H, Hashemian AH, Jalili C. Melatonin protects rats testes against bleomycin, etoposide, and cisplatin-induced toxicity via mitigating nitro-oxidative stress and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021;138:111481.
  28. Fisher SP, Davidson K, Kulla A, Sugden D. Acute sleep-promoting action of the melatonin agonist, ramelteon, in the rat. *Journal of pineal research*. 2008;45(2):125-32.
  29. Jahovic N, Cevik H, Şehirli AÖ, Yeğen BÇ, Şener G. Melatonin prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats. *Journal of pineal research*. 2003;34(4):282-7.
  30. Abraham P, Kolli VK, Rabi S. Melatonin attenuates methotrexate-induced oxidative stress and renal damage in rats. *Cell biochemistry and function*. 2010;28(5):426-33.
  31. Oguz E, Kocarslan S, Tabur S, Sezen H, Yilmaz Z, Aksoy N. Effects of lycopene alone or combined with melatonin on methotrexate-induced nephrotoxicity in rats. *Asian Pacific journal of cancer prevention*. 2015;16(14):6061-6.



## INVESTIGATION OF CORONAPHOBIA IN UNIVERSITY STUDENTS

### ÜNİVERSİTE ÖĞRENCİLERİNDE KORONAFOBİNİN İNCELENMESİ

Betul TASPINAR<sup>1</sup>, Ferruh TASPINAR<sup>1</sup>, Hakan GULMEZ<sup>2</sup>, Ayse Sezgi KIZILIRMAK KARATAS<sup>1</sup>

<sup>1</sup> İzmir Demokrasi University, Faculty of Health Science, Department of Physiotherapy and Rehabilitation, İzmir, TÜRKİYE

<sup>2</sup> İzmir Demokrasi University, Faculty of Medicine, Department of Family Medicine, İzmir, TÜRKİYE

**Cite this article as:** Taspınar B, Taspınar F, Gulmez H, Kızılırmak Karatas AS. Investigation of Coronaphobia in University Students. Med J SDU 2023; 30(2): 163-170.

#### Öz

##### Amaç

COVID-19 farklı yaş gruplarındaki tüm bireyleri fiziksel ve psikososyal olarak etkilemiştir. Bu bireyler arasında üniversite öğrencileri önemli bir yere sahiptir ve COVID-19'un koronafobi gibi psikososyal etkilerinin değerlendirilmesi önemlidir. Bu nedenle bu çalışmanın amacı üniversite öğrencilerinde koronafobiyi araştırmaktır.

##### Gereç ve Yöntem

Bu çalışma kesitsel bir çalışma olarak tasarlanmıştır. Araştırmaya Kasım 2020 ile Mart 2021 tarihleri arasında üniversiteye devam eden öğrenciler dahil edilmiştir. Google Formlar kullanılarak bir form oluşturulmuş ve bu form ile katılımcıların yaş, cinsiyet, öğrenim gördükleri bölüm, yıl, katılımcıların COVID-19 geçirip geçirmediği, COVID-19 fobisi olup olmadığı gibi demografik ve tanımlayıcı özellikleri sorgulanmıştır. Koronavirüs-19 Fobisi Ölçeği (CP19-S) de Google Formlar kullanılarak katılımcılara gönderilmiştir.

##### Bulgular

Kadın öğrencilerin erkek öğrencilerden daha yüksek koronafobi puanlarına sahip olduğu görülmüştür ( $p = 0.012$ ). Üniversitede öğrenim gördüğü yıla göre psikolojik alt boyutta istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,004$ ). COVID-19 için yüksek riskli

bir grupla birlikte yaşayan öğrencilerin CP19-S toplam puanlarında ( $p=0,022$ ) ve somatik ( $p=0,027$ ) ve ekonomik ( $0,020$ ) alt boyutlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir.

##### Sonuç

Bu çalışma ile üniversite öğrencilerinin farklı düzeylerde ve farklı nedenlerle koronafobi yaşadıkları belirlenmiştir. Kadın cinsiyet, yüksek risk grubundaki bireylerle birlikte yaşama ve daha yüksek bir sınıfta öğrenim görme koronafobiyi artıran faktörler olarak bulunmuştur. Gelecekteki çalışmalar pandeminin etkilerini değerlendirmelidir. Ayrıca üniversite öğrencilerine psikososyal destek sağlanmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Korku, Koronafobi, COVID-19, Öğrenciler, Pandemi

##### Abstract

##### Objective

The COVID-19 has affected all individuals in different age groups physically and psychosocially. University students have an important place among these individuals, and it is important to evaluate their psychosocial influences, such as coronaphobia. The aim of this study was to investigate coronaphobia in university students.

**Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address:** A. S. K. K. / sezgikizilirmak@gmail.com

**Müracaat tarihi/Application Date:** 29.11.2022 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 20.03.2023

**ORCID IDs of the authors:** B.T: 0000-0002-3106-2285; F.T: 0000-0002-5084-2949;

H.G: 0000-0001-5467-3743; A.S.K.K: 0000-0002-4582-9109

## Material and Method

This study was designed as a cross-sectional study. Students attending university between November 2020 and March 2021 were included in the study. A form was created using Google Forms and then the demographic and descriptive characteristics of the participants, including age, gender, department of study, year, whether the participant has had COVID-19, and COVID-19 phobia, were obtained. The Coronavirus-19 Phobia Scale (CP19-S) was sent using Google Forms.

## Results

Female students had higher points than males ( $p = 0.012$ ). A statistically significant difference was determined in the psychological subdimension according to the year of study at the university ( $p = 0.004$ ). A statistically significant difference was

determined in the CP19-S total points ( $p = 0.022$ ) and the somatic ( $p = 0.027$ ) and economic (0.020) subdimensions for those students living together with a high-risk group for COVID-19.

## Conclusion

In this study, it was determined that university students experienced coronaphobia at varying levels and for different reasons. Female gender, living together with individuals in a high-risk group, and studying at a higher year level were found to be factors that increase coronaphobia. Future studies should evaluate the effects of the pandemic. Moreover, university students should be provided with psychosocial support.

**Keywords:** Coronaphobia, COVID-19, Fear, Pandemic, Students

## Introduction

The new coronavirus disease (COVID-19) caused by SARS-CoV-2 emerged in Wuhan, China, in December 2019. Following the rapid spread of the infection, COVID-19 was declared a global pandemic by the World Health Organization (1). The first case of COVID-19 in Turkey was recorded in March 2020, and due to the rapid spread of the virus with high morbidity and mortality rates, preventative measures were implemented, including the cessation of face-to-face education on March 16, 2020. This closure by the Ministry of Education of all educational institutions, including universities, was necessary to meet the confinement to home and social distancing measures implemented to prevent the spread of infection. For various reasons, this period had extremely negative effects on students, including personal and family economic problems, lack of academic life, lack of social life, and mental health problems (2, 3).

On the one hand, students wished to continue their education, and on the other, they started to develop a fear with respect to the course of the virus. These fears, which have been expressed in different terms in literature, such as "coronaphobia" or "fear of COVID-19," resulted in the emergence of a new phobia (4). The lack of treatment for the disease, the continuous increase in its incidence, the uncertainty of when it will ultimately end, and the high contagion potential have been effective in forming this fear. As a result of this fear, a feeling of burnout, anxiety, and depression can occur in students, and it is negative

effect to continue their daily life. Studies have reported that conditions related to public health have caused fear, concern, and anxiety in students (5). Cao et al. (2020) reported that approximately 24.9% of students suffered anxiety because of the COVID-19 pandemic (2).

Researchers stated that the increasing mortality rates and spread of the pandemic would increase coronaphobia. The reasons for coronaphobia seen in young people in particular include contracting COVID-19, infecting family and friends, and sharing a home with a person with COVID-19. Coronaphobia has become a subject of interest because of the negative effects of these situations on students. Previous studies have examined the psychosocial effects of the pandemic in various populations, such as patients, health workers, children, and geriatrics, yet no study in the literature has examined coronaphobia in university students (6-8). Therefore, the aim of this study was to examine coronaphobia in university students.

## Material and Method

This study was designed as a cross-sectional study and conducted according to the principles of the Helsinki Declaration. Students attending university between November 2020 and March 2021 were defined as the study population. Approval for the study was granted by the Non-Interventional Clinical Research Ethics Committee of İzmir Demokrasi University in 2020 (Decision no: 2020/22-7). Permission for the study

was also obtained from the Ministry of Health and İzmir Demokrasi University. Written information about the study was given to all the participants, and an online informed consent was obtained from all the voluntary study participants. Voluntary individuals aged > 18 years and studying at a university were included in the study. As the study universe was formed of all the students at a university, the sample size required was calculated to be 370 with an error level of 0.05 and a sample error of  $d = 0.05$ .

### Procedure

Google Forms was used to create a form, which provided information about the study in the first part, followed by the informed consent section and then the questionnaire. The link to this document was sent to the institutional e-mail address of all the students by the student affairs department of the university.

### Measures

#### Assessment of Demographic and Descriptive Data

The demographic data of the participants were recorded on this form, including age, gender, department of study, and year. Questions were also asked to ascertain whether the participant has had COVID-19, whether anyone with whom they were living has had COVID-19, if they had any chronic diseases, the number of people living in the house, whether anyone in the house was >65 years or <18 years of age, how many days a week they went outside, and their sources of information about COVID-19.

#### Assessment of COVID-19 Phobia

The Coronavirus-19 Phobia Scale (CP19-S), developed by Arpacı et al. (2020), was used to evaluate the coronaphobia of participants. The CP19-S is a self-reported evaluation scale with five-point Likert-type responses; it was designed to evaluate the phobia that can develop against COVID-19. The Cronbach alpha coefficient of the scale was found 0.92. The responses are scored from 1 to 5, where 1 = I completely disagree and 5 = I completely agree. There are 20 items in 4 subdimensions: items 1, 5, 9, 13, 17, and 20 constitute the psychological subdimension; items 2, 6, 10, 14, and 18 the somatic subdimension; items 3, 7, 11, 15, and 19 the social subdimension; and items 4, 8, 12, and 16 the economic subdimension (4).

The sum of the items in each subdimension was calculated as the total subdimension score, and the sum of the subdimensions was calculated as the total scale score, which ranged from 20 to 100. High scores indicate a high level of coronaphobia in both the subdimensions and in general (4).

### Statistical Analysis

The data obtained in this study were statistically analyzed using IBM SPSS version 24.0 software. The data were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD) value, number (n), and percentage (%). The population of the study is university students in Turkey. Sample size was determined by convenience sampling. The normality of distribution of the data of continuous variables was evaluated with the Kolmogorov-Smirnov test. The Mann-Whitney U test and the Kruskal-Wallis test were used to compare data that did not have a normal distribution. A p-value < 0.05 was considered statistically significant. The effect size was calculated for the significant results. Eta square value was interpreted as 0.01 small, 0.06 moderate and 0.14 large effects (9).

### Results

This study involved 376 university students from different faculties, with a mean age of  $19.99 \pm 1.69$  years (range: 18–31 years). Thirty-six students reported chronic diseases such as asthma, bronchitis, diabetes, rheumatic diseases, epilepsy, allergy, and psoriasis. Table 1 shows the demographic information about the participants and their responses to the questions asked.

The CP19-S had a mean total score of  $52.85 \pm 13.72$  points. The scale ranged from 20 to 100 points, implying that the mean points indicate a mild to moderate level of coronaphobia. When the subdimensions of the scale were examined, the psychological, social, and economic subdimensions were found to be the most affected (Table 2).

When the total CP19-S and scale subdimension points were evaluated, a statistically significant difference was observed in the psychological subdimension based on gender ( $p = 0.012$ ), with the female respondents scoring significantly higher points than the male respondents ( $20.48 \pm 4.98$  vs.  $18.84 \pm 5.66$ ) ( $p = 0.012$ ). There was a statistically significant difference in the psychological subdimension based on the year of university study ( $p = 0.004$ ) (Table 3).

There was a statistically significant difference in the CP19-S total points ( $p = 0.022$ ) as well as in the somatic ( $p = 0.027$ ) and economic (0.020) subdimensions when the respondents were evaluated based on living with a person in a high-risk group for COVID-19. Those who lived with a high-risk individual had a mean total point of  $54.42 \pm 14.18$  on the scale, whereas those who did not live with a high-risk individual had a

**Table 1** Demographic and Descriptive Characteristics of the Participants

| Variables  | n (%)      |
|--|------------|
| <b>Gender</b>  |            |
| Female   | 273 (72.6) |
| Male   | 103 (27.4) |
| <b>Class</b>   |            |
| 1  | 151 (40.2) |
| 2  | 116 (30.9) |
| 3  | 68 (18.1)  |
| 4  | 41 (10.9)  |
| <b>Having had COVID-19</b>                                       |            |
| Yes  | 45 (12)    |
| No   | 331 (88)   |
| <b>Having someone at home who has had COVID-19</b>               |            |
| Yes  | 88 (23.4)  |
| No   | 288 (76.6) |
| <b>Presence of chronic disease</b>                               |            |
| Yes  | 36 (9.6)   |
| No   | 340 (90.4) |
| <b>Presence of individuals over 65 and / or under 18 at home</b> |            |
| Yes  | 210 (55.9) |
| No   | 166 (44.1) |
| <b>Frequency of go out in week</b>                               |            |
| 1-2 Days   | 215 (57.2) |
| 3-5 Days   | 75 (19.9)  |
| More than 5 Days   | 18 (4.8)   |
| None   | 68 (18.1)  |
| <b>Source of COVID-19 information</b>                            |            |
| Television   | 59 (15.7)  |
| Internet   | 298 (79.3) |
| Article  | 6 (1.6)    |
| Neighborhood   | 9 (2.4)    |
| Other  | 4 (1.1)    |
| <b>Total</b>   | <b>376</b> |

mean total point of  $50.87 \pm 12.89$ . The mean somatic subdimension point for those who lived with a high-risk individual was  $10.21 \pm 3.86$ , whereas that for those who did not live with a high-risk individual was  $9.34 \pm 3.34$ . The mean economic subdimension point for those who lived with a high-risk individual was  $8.76 \pm 3.06$ , whereas that for those who did not live with a high-risk individual was  $8.08 \pm 2.78$ . The effect size of statistically significant results was examined in this study. Consequently, it was observed that the "gender" variable had a large effect on psychological

factors, and the "presence of individuals over 65 and / or under 18 at home" variable on psychosomatic, economic, and total values. Also, it was observed that the "class" variable had a small effect on psychological factors (Table 3).

### Discussion

The factors that affect coronaphobia in university students were examined in this study. The results revealed that variables such as gender, year of

**Table 2** Coronavirus-19 Phobia Scale Total and Subdimension Scores

| CP-19-S (n=376) | Minimum | Maximum | Mean±SD     |
|-----------------|---------|---------|-------------|
| Psychological   | 6       | 30      | 20.03±5.223 |
| Psycho-somatic  | 5       | 25      | 9.83±3.669  |
| Social          | 5       | 25      | 14.54±4.302 |
| Economic        | 4       | 20      | 8.46±2.956  |
| Total           | 20      | 100     | 52.85±13.72 |

Coronavirus-19 Phobia Scale: CP-19-S, SD: Standard Deviation

**Table 3** Comparing the Interrogated Parameters According to the Coronavirus-19 Phobia Scale Total and Subdimension Scores

| Coronavirus-19 Phobia Scale Total and Subdimension Scores        |               |                        |                |                        |            |                     |           |                        |             |                        |
|--|---------------|------------------------|----------------|------------------------|------------|---------------------|-----------|------------------------|-------------|------------------------|
| Variables  | Psychological |                        | Psycho-somatic |                        | Social     |                     | Economic  |                        | Total       |                        |
|  | Mean±SD       | p (η <sup>2</sup> )    | Mean±SD        | p (η <sup>2</sup> )    | Mean±SD    | p (η <sup>2</sup> ) | Mean±SD   | p (η <sup>2</sup> )    | Mean±SD     | p (η <sup>2</sup> )    |
| <b>Gender</b>  |               |                        |                |                        |            |                     |           |                        |             |                        |
| Male   | 18.84±5.66    | <b>0.012</b><br>(0.13) | 9.46±4.08      | 0.119                  | 14.19±4.83 | 0.236               | 8.74±3.43 | 0.575                  | 51.23±15.88 | 0.077                  |
| Female   | 20.48±4.98    |                        | 9.97±3.49      |                        | 14.67±4.08 |                     | 8.35±2.75 |                        | 53.47±12.79 |                        |
| <b>Class</b>   |               |                        |                |                        |            |                     |           |                        |             |                        |
| 1  | 19.01±5.10    | <b>0.004</b><br>(0.03) | 9.55±3.45      | 0.743                  | 13.96±4.40 | 0.080               | 8.56±2.84 | 0.766                  | 51.08±13.40 | 0.203                  |
| 2  | 20.51±5.13    |                        | 9.98±3.73      |                        | 15.19±4.11 |                     | 8.38±3.04 |                        | 54.06±13.56 |                        |
| 3  | 21.31±5.15    |                        | 10.15±4.25     |                        | 15.07±4.49 |                     | 8.26±3.05 |                        | 54.79±14.71 |                        |
| 4  | 20.29±5.47    |                        | 9.88±3.25      |                        | 13.95±3.88 |                     | 8.63±3.03 |                        | 52.76±13.36 |                        |
| <b>Having had COVID-19</b>                                       |               |                        |                |                        |            |                     |           |                        |             |                        |
| Yes  | 18.49±6.02    | 0.075                  | 9.84±5.58      | 0.545                  | 13.87±4.55 | 0.231               | 8.29±3.02 | 0.857                  | 50.49±16.26 | 0.232                  |
| No   | 20.24±5.07    |                        | 9.82±3.53      |                        | 14.63±4.26 |                     | 8.48±2.95 |                        | 53.18±13.34 |                        |
| <b>Having someone at home who has had COVID-19</b>               |               |                        |                |                        |            |                     |           |                        |             |                        |
| Yes  | 19.48±5.53    | 0.349                  | 10.05±4        | 0.640                  | 14.31±4.12 | 0.665               | 8.83±2.89 | 0.121                  | 52.66±14.39 | 0.989                  |
| No   | 20.20±5.12    |                        | 9.76±3.56      |                        | 14.61±4.36 |                     | 8.34±2.97 |                        | 52.91±13.54 |                        |
| <b>Presence of individuals over 65 and / or under 18 at home</b> |               |                        |                |                        |            |                     |           |                        |             |                        |
| Yes  | 20.48±5.37    | 0.080                  | 10.21±3.86     | <b>0.027</b><br>(0.12) | 14.97±4.41 | 0.060               | 8.76±3.06 | <b>0.020</b><br>(0.12) | 54.42±14.18 | <b>0.022</b><br>(0.12) |
| No   | 19.46±4.98    |                        | 9.34±3.34      |                        | 13.99±4.10 |                     | 8.08±2.78 |                        | 50.87±12.89 |                        |

university study, and living with high-risk individuals affected coronaphobia levels in university students. The psychological subdimension of coronaphobia was found to be more affected in females and individuals in higher year level. The somatic, economic, and total effects were found to be high in respondents who

lived with risk groups of over 65 years and under 18 years. When all the participants were considered, coronaphobia was found to be at a moderate level, and when the subdimensions were examined, the psychological, social, and economic subdimensions were found to be significantly affected.

All the students continued with online education during the data collection period, as stay-at-home restrictions had been imposed. Preventative measures were promptly implemented in Turkey because of the rapid spread of COVID-19 and the high morbidity and mortality rates. Consequently, several psychosocial functioning effects such as anxiety, depression, fear, and panic developed as a result of the uncertainty about education, restrictions, confinement to home, and social isolation (10). The COVID-19 pandemic caused personal and family economic problems, academic shortfalls, social isolation, and mental health problems, which are among the subjects that have been studied. It has also been reported that one out of every four students suffer from pandemic-related anxiety (2, 10). University students are normally concerned about their careers and future, and the pandemic has increased their level of concern about these issues.

The sources of information regarding the pandemic were questioned, as it was believed that young people, in particular, can be negatively affected, increasing their level of concern about this subject. Several studies have reported that young people obtain information about the pandemic mainly through social media (11-13). In this study, the students reported that they obtained information from the Internet and television. As with many subjects, it is critical that the public is properly informed about the COVID-19 pandemic, and media outlets should do this in collaboration with healthcare professionals (14). To prevent misinformation, it is important to prevent the transmission of false information caused by the increased use of technology by young people in particular. Informing and educating young people about reliable sources of information, such as articles, official government publications, and daily information broadcasts by the Ministry of Health, can be considered beneficial.

When the students were asked how often they went outside, the vast majority reported that they went out 1–2 days a week. This suggests that they had adopted a sedentary lifestyle. Considering the numerous studies that have demonstrated the positive effects of physical activity on mental health, the students' level of coronaphobia could have been influenced by their sedentary lifestyle (15). Therefore, students should be encouraged to engage in physical activities and exercises that can be applied at home to combat coronaphobia.

In the present study, the female students were

observed to score highly in relation to the psychological subdimension and, therefore, to have a moderate level of coronaphobia. The gender variable has been examined in a number of prior studies. In accordance with the findings of this study, Elsharkawy and Abdelaziz (2020) and Nguyen et al. (2020) reported that female students developed a higher level of COVID-19-related fear than male students (16, 17). Similarly, a study by Aristovnik et al. (2020) determined that male students were more hopeful and experienced fewer psychosocial effects than female students (18). Moreover, several studies have shown that female students exhibit higher levels of anxiety than male students (19-22). By contrast, Cao et al. (2020) reported that the vast majority of students did not experience anxiety, and further, that there was no difference between male and female students in this regard. It is possible that personal factors and other factors known to affect anxiety may have influenced these latter results (2).

In a study by Cao et al. (2020), university students reported that they faced a higher risk of anxiety when a relative or close friend had COVID-19 (2). Furthermore, a previous study conducted in Turkey found that the fear of relatives being infected with the virus was greater than the fear of the individual themselves being infected (23). In the present study, the levels of coronaphobia were observed to be higher in those students who lived in the same house as individuals categorized as being in high-risk groups when compared with those who did not live with high-risk individuals. This finding may stem from the students accepting a degree of moral responsibility to protect those closest to them from COVID-19. No significant difference with respect to coronaphobia was observed in this study between those who had previously been infected with the virus and those who had not. By contrast, in a study involving medical students conducted by Nakhostin-Ansari et al. (2020), the levels of both depression and anxiety were determined to be higher in those students who showed symptoms of COVID-19 than in those who did not (19).

A study by Aristovnik et al. (2020) found that first-year university students reported greater feelings of boredom than students in other year groups, while Elsharkawy and Abdelaziz (2020) determined that students in lower classes exhibited higher levels of fear and uncertainty (16, 18). Similarly, Nguyen et al. (2020) reported that older students and those in higher year level experienced lower levels of fear (17). In contrast to these studies, in the present study, the

students in higher year level were found to be more affected, particularly in relation to the psychological subdimension of coronaphobia. This finding was thought to be due to concerns and uncertainties related to their career and future, a greater awareness and understanding of the seriousness of the pandemic, anxiety concerning lessons (including professional practice), geographical differences, differing levels of family and peer support, and economic concerns.

### Strengths and Limitations

To the best of our knowledge, this study is the first to have examined coronaphobia among university students. Contrary to previous studies, it handled the coronaphobia of university students due to COVID-19 with psychological, somatic, social and economic sub-dimensional. Therefore, its findings may provide valuable guidance for public health studies related to the impacts of the pandemic in young adults. The limitations of this study concern the fact that it was conducted in a single university setting, and further, that the participants were not a homogenous group with regard to the faculties in which they were studying, which prevent the generalization of the results obtained.

### Conclusion

This study determined that university students experience coronaphobia to varying levels and for different reasons. The female gender, living with individuals in high-risk groups, and being in higher year level were all variables found to increase coronaphobia. Based on these results, there exists a need for further studies to evaluate the psychological, social, and economic effects of the pandemic in students, in addition to identifying ways of preventing these effects among both students and other population groups. If students are to be able to live healthy and productive educational lives, it is highly important to make all necessary arrangements and provide sufficient psychosocial support for them. For this, we think that students can be trained on coping with stress and supported with psychosocial support programs according to their needs. In order to continue participating in social life, activities, where students can interact together should be organized on online platforms.

Unfortunately, many people and sectors worldwide have been adversely affected in different ways by the COVID-19 pandemic. University represents the final step in most people's formal education; therefore, it marks a turning point in life prior to moving on to

training and employment in many fields. At this stage, individuals acquire the qualifications necessary to enter the profession in which they may well remain throughout their lives, which causes their position in society to change. Thus, protecting both the physical and mental health of university students is of great importance in terms of ensuring their professional success in the future. The present study has shown that university students experience different dimensions of coronaphobia and face concerns that may affect their futures. Health professionals play a vital role in ensuring students reduce anxiety during this process. In light of this, serious measures should be adopted by multidisciplinary teams and implemented as soon as possible. Most importantly, it should be borne in mind that coronaphobia can cause significant problems among university students if allowed to develop into a chronic condition. As a consequence, the protection and improvement of the mental health of students, who can be considered the architects of the future, who will go on to work in various fields, and who will eventually become the parents of the next generation, represent key aspects of the fight against coronaphobia.

### Conflict of Interest Statement

The authors have no conflicts of interest to declare.

### Ethical Approval

This study was designed as a cross-sectional study and conducted according to the principles of the Helsinki Declaration. Students attending university between November 2020 and March 2021 were defined as the study population. Approval for the study was granted by the Non-Interventional Clinical Research Ethics Committee of İzmir Demokrasi University in 2020 (Decision no: 2020/22-7).

### Consent to Participate and Publish

Written informed consent to participate and publish was obtained from all individual participants included in the study.

### Funding

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

### Availability of Data and Materials

Data sharing not applicable

### Authors Contributions

BT: Conceptualization; Investigation; Data curation; Formal analysis; Writing-original draft; Writing-review & editing

FT: Conceptualization; Investigation; Data curation; Formal analysis.

HG: Conceptualization; Investigation; Data curation; Formal analysis.

ASKK: Data curation; Formal analysis; Writing-original draft; Writing-review & editing

## References

- World Health Organization (WHO). Report of the WHO-China joint mission on coronavirus disease 2019 (COVID-19) [Internet]. WHO. 2020. Available from: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>
- Cao W, Fang Z, Hou G, Han M, Xu X, Dong J, et al. The psychological impact of the COVID-19 epidemic on college students in China. *Psychiatry Res.* 2020;287:112934-.
- Zhai Y, Du X. Addressing collegiate mental health amid COVID-19 pandemic. *Psychiatry Res.* 2020;288:113003.
- Arpaci I, Karataş K, Baloğlu M. The development and initial tests for the psychometric properties of the COVID-19 Phobia Scale (C19P-S). *Personality and Individual Differences.* 2020;164:110108.
- Mei S, Yu J, He B, Li J. Psychological investigation of university students in a university in Jilin province. *Med Soc (Berkeley).* 2011;24(05):84-6.
- Chen Q, Liang M, Li Y, Guo J, Fei D, Wang L, et al. Mental health care for medical staff in China during the COVID-19 outbreak. *Lancet Psychiatry.* 2020;7(4):e15-e6.
- Li S, Wang Y, Yang Y, Lei X, Yang Y. Analysis of influencing factors of anxiety and emotional disorders in children and adolescents during home isolation during the epidemic of novel coronavirus pneumonia. *Chinese Journal of Child Health.* 2020;28(3):1-9.
- Yang Y, Li W, Zhang Q, Zhang L, Cheung T, Xiang YT. Mental health services for older adults in China during the COVID-19 outbreak. *Lancet Psychiatry.* 2020;7(4):e19.
- Statistical Cohen J. *Analysis Power. Current Directions in Psychological Science.* 1992;1(3):98-101.
- Yanarates E. An Overall Evaluation of The Covid-19 Pandemic. *Social Scientific Centered Issues.* 2020;2:24-33.
- Chao M, Xue D, Liu T, Yang H, Hall BJ. Media use and acute psychological outcomes during COVID-19 outbreak in China. *Journal of Anxiety Disorders.* 2020;74:102248.
- Mertens G, Gerritsen L, Duijndam S, Saleminck E, Engelhard IM. Fear of the coronavirus (COVID-19): Predictors in an online study conducted in March 2020. *Journal of Anxiety Disorders.* 2020;74:102258.
- Qiu J, Shen B, Zhao M, Wang Z, Xie B, Xu Y. A nationwide survey of psychological distress among Chinese people in the COVID-19 epidemic: implications and policy recommendations. *Gen Psychiatr.* 2020;33(2):e100213.
- Shimizu K. 2019-nCoV, fake news, and racism. *Lancet.* 2020;395(10225):685-6.
- Taspinar B, Aslan UB, Agbuga B, Taspınar F. A comparison of the effects of hatha yoga and resistance exercise on mental health and well-being in sedentary adults: a pilot study. *Complement Ther Med.* 2014;22(3):433-40.
- Elsharkawy NB, Abdelaziz EM. Levels of fear and uncertainty regarding the spread of coronavirus disease (COVID-19) among university students. *Perspectives in Psychiatric Care.* 2020; Jul;57(3):1356-1364. doi: 10.1111/ppc.12698..
- Nguyen HT, Do BN, Pham KM, Kim GB, Dam HTB, Nguyen TT, et al. Fear of COVID-19 Scale-Associations of Its Scores with Health Literacy and Health-Related Behaviors among Medical Students. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(11):4164.
- Aristovnik A, Keržič D, Ravšelj D, Tomaževič N, Umek L. Impacts of the COVID-19 Pandemic on Life of Higher Education Students: A Global Perspective. *Sustainability.* 2020;12(20):8438.
- Nakhostin-Ansari A, Sherafati A, Aghajani F, Khonji MS, Aghajani R, Shahmansouri N. Depression and Anxiety among Iranian Medical Students during COVID-19 Pandemic. *Iran J Psychiatry.* 2020;15(3):228-35.
- Saddik B, Hussein A, Sharif-Askari FS, Kheder W, Temsah MH, Koutaich RA, et al. Increased Levels of Anxiety Among Medical and Non-Medical University Students During the COVID-19 Pandemic in the United Arab Emirates. *Risk Manag Healthc Policy.* 2020;13:2395-406.
- Sartorão Filho CI, de Las Villas Rodrigues WC, de Castro RB, Marçal AA, Pavelqueires S, Takano L, et al. Impact Of Covid-19 Pandemic On Mental Health Of Medical Students: A Cross-Sectional Study Using GAD-7 And PHQ-9 Questionnaires. *medRxiv.* 2020:2020.06.24.20138925.
- Xiao H, Shu W, Li M, Li Z, Tao F, Wu X, et al. Social Distancing among Medical Students during the 2019 Coronavirus Disease Pandemic in China: Disease Awareness, Anxiety Disorder, Depression, and Behavioral Activities. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(14):5047.
- Akdeniz G, Kavakci M, Gozugok M, Yalcinkaya S, Kucukay A, Sahutogullari B. A Survey of Attitudes, Anxiety Status, and Protective Behaviors of the University Students During the COVID-19 Outbreak in Turkey. *Front Psychiatry.* 2020;11:695.



## EFFECT OF RAMELTEON ON LIPOPOLYSACCHARIDE INDUCED HIPPOCAMPAL TOXICITY

### LİPOLİSAKKARİT İLE İNDÜKLENMİŞ HİPOKAMPAL TOKSİSİTEDE RAMELTEON'UN ETKİSİ

Mine KAYNAK<sup>1</sup>, Mehtap SAVRAN<sup>1</sup>, Halil ASCI<sup>1</sup>, Kanat GULLE<sup>2</sup>, İlter İLHAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Suleyman Demirel University, Isparta, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Department of Histology, Faculty of Medicine, Suleyman Demirel University, Isparta, TÜRKİYE

<sup>3</sup> Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Suleyman Demirel University, Isparta, TÜRKİYE

**Cite this article as:** Kaynak M, Savran M, Asci H, Gulle K, İlhan I. Effect of Ramelteon on Lipopolysaccharide Induced Hippocampal Toxicity. Med J SDU 2023; 30(2): 171-178.

#### Öz

##### Amaç

Tıptaki gelişmelere rağmen sepsis dünya çapında hala önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir ve beyin dokusu sepsisin erken döneminde hasar gören yapılardan biridir. Nöroinflamasyon (NI), septik beyin hasarında ana mekanizma olarak kabul edilir. Ramelteon (RML), seçici olmayan (MT1/MT2) bir melatonin reseptör agonistidir ve 2005 yılında uykusuzluk endikasyonu için FDA tarafından onaylanmıştır. RML, diğer melatonerjik agonist ilaçlar arasında her iki reseptör alt tipi için nispeten daha yüksek afinite gösterir.

##### Gereç ve Yöntem

RML'nin lipopolisakarit (LPS) ile indüklenen NI üzerindeki koruyucu etkisini araştırmak için yirmi sekiz erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Kontrol, LPS (5 mg/kg, intraperitoneal), RML (8 mg/kg, oral) ve LPS + RML (LPS'den 45 dakika önce) grupları oluşturuldu. Son ilaç uygulamasından 6 saat sonra sıçanlar sakrifiye edildi. Hemogram analizi için kan, histopatolojik değerlendirme için kortikal ve hipokampal dokular toplandı.

##### Bulgular

LPS, lökosit ve nötrofil/lenfosit oranını (NLR) artırırken, lenfosit ve trombosit sayısını azalttı. Buna karşın

RML ile, NLR'de anlamlı bir azalma ve trombosit sayısında anlamlı bir artış izlendi. Histokimyasal değerlendirmede LPS grubuna ait hipokampal ve kortikal alanlarda belirgin inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve apoptoz gözlemlendi. RML, bu alanlarda inflamatuvar yanıtı ve apoptotik cisimleri azalttı.

##### Sonuç

RML, hipokampusta gözlenen LPS'ye bağlı NI'de antiinflamatuvar ve antiapoptotik mekanizmalar aracılığıyla koruyucu olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Lipopolisakarit, Hipokampus, Ramelteon, Nöroinflamasyon

##### Abstract

##### Objective

Despite the advances in medicine, sepsis still remains a major health problem worldwide and brain tissue is one of the structures damaged in the early period of sepsis. Neuroinflammation (NI) is considered as the main mechanism in septic brain injury. Ramelteon (RML) is a non-selective (MT1 / MT2) melatonin receptor agonist and was approved by the FDA in 2005 with the indication of insomnia. RML shows relatively higher affinity for both receptor subtypes among other melatonergic agonist drugs.

**Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address:** M.S. / mehtapsavran@sdu.edu.tr

**Müracaat tarihi/Application Date:** 21.12.2022 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 22.05.2023

**ORCID IDs of the authors:** M.K: 0000-0003-3956-7672; M.S: 0000-0002-7933-0453;

H.A: 0000-0002-1545-035X; K.G: 0000-0002-6337-8962; İ.İ: 0000-0003-3739-9580

## Material and Method

Twenty-eight male Wistar Albino rats were used to investigate the protective effect of RML on lipopolysaccharide (LPS) induced NI. Control, LPS (5 mg/kg, intraperitoneally), RML (8 mg/kg, orally) and LPS + RML (45 minutes before LPS) groups were created. Six hours following the last drug administration, rats were sacrificed. Blood for hemogram analysis and cortical and hippocampal tissues for histopathological evaluation were collected.

## Results

LPS increased white blood cell and neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) while it decreased lymphocyte and platelet counts. RML decreased NLR and

increased platelet counts significantly. In histochemical evaluation, marked inflammatory cell infiltration and apoptosis were observed in both hippocampal and cortical areas of LPS group. RML decreased the inflammatory response and apoptotic bodies in these areas.

## Conclusion

RML may be protective on LPS-induced NI observed in hippocampus via anti-inflammatory and anti-apoptotic mechanisms.

**Keywords:** Hippocampus, Lipopolysaccharide, Neuroinflammation Ramelteon,

## Introduction

The central nervous system (CNS) is affected by damaging mechanisms such as oxidative stress and inflammation that occur in the systemic circulation for various reasons. (1). In the case of inflammation, cytokines circulating in the blood, increase the blood-brain barrier permeability (2). Increased permeability contributes to the development of neuroinflammation (NI) by causing the brain tissue to be more exposed to these stressor effects (3-5). Therefore, NI emerges as a response to the damage in the CNS, involving all cells of the brain tissue, including macroglia and microglia (6, 7). Inflammatory cells with increased infiltration into the tissue due to developing NI cause changes in neuronal plasticity in the brain, neuronal loss as a result of decreased neurogenesis, permanent behavioral changes secondary to the effects on hippocampal tissue, deterioration in cognitive performance, and decrease in quality of life (8). NI, a critical pathological process occurring in the brain tissue, is also accepted as one of the main causes of neurodegenerative (ND) diseases such as Alzheimer's, Parkinson's, and Multiple Sclerosis (9, 10).

Lipopolysaccharide (LPS), which is an important component of the cell wall of gram-negative bacteria, is used in experimental studies to mimic systemic inflammation (11-13). It has been shown that a single dose of LPS administered at an adequate dose intraperitoneally (i.p.) produces neurodegenerative effects secondary to NI in mouse or rat brain tissue (14-16). It is known that in addition to inflammation and oxidative stress, which are the main damage mechanisms, apoptosis, a cell death mechanism, also plays an important role in tissue damage during NI (17-20).

Melatonin (MEL) is the main hormone produced by the pineal gland and its level decreases with age in humans (21-23). Ramelteon (RML), a tricyclic synthetic MEL analog (24), acts on the MT1 and MT2 receptors with a 3 to 16 times higher affinity than that of endogenous MEL (25-27). Also, RML shows its effect without interacting with other receptors in the hippocampus (GABA receptor complex or neuropeptide, serotonin, dopamine, noradrenaline, acetylcholine, and opioid receptors) by means of no side effects due to the activation of these receptors. (28). In many studies, RML has been shown to have significant anti-inflammatory and antioxidant effects (29-32).

In this study, we aimed to evaluate the effects of RML on LPS-induced hippocampal damage. The results of this study will provide new scientific data on both the reduction of LPS-induced hippocampal damage and the effect of RML on the hippocampus and the possible mechanisms of this effect.

## Material and Method

### Animals and Ethical Approval

All experiments were performed under the guidelines for animal research from the National Institutes of Health and were approved by the Committee on Animal Research of Suleyman Demirel University, Isparta (Approval No: 08.07.2020/04-04).

Totally twenty-eight Wistar albino male rats weighing 300-350 grams and provided from Suleyman Demirel University Experimental Animals and Medical Research Application and Research Center were housed at a controlled room temperature (21-22 °C), maintained under a 12-hour light/12-hour dark

cycle and humidity ( $60 \pm 5\%$ ). During the study, experimental animals were subjected to standard feeding (Korkuteli Yem, Antalya, TURKIYE), housing and care conditions.

Experimental design: Rats were divided into 4 groups of 7 animal in each as below:

1. Control (n=7): Fourty five minutes after oral administration of normal salin (SF) in 1 ml volume, 1 ml of SF was given i.p.
2. LPS (n=7): 45 minutes after oral administration of SF in 1 ml volume, LPS (048 K4126, Sigma Aldrich, Sweden) in 5 mg/kg dose was given i.p. (33).
3. LPS+RML (n=7): 45 minutes after oral administration of 8 mg/kg RML (Ramelda, Abdi Ibrahim Ilac, Turkey) dissolved in 1 ml SF, LPS in 5 mg/kg dose was given i.p (33, 34).
4. RML (n=7): 45 minutes after oral administration of 8 mg/kg RML dissolved in 1 ml SF, salin in 1 ml volume was given i.p. (34).

Six hours after the all administrations, rats were sacrificed under i.p. injection of 90 mg/kg ketamine (Alfamin, Alfasan IBV) and 10 mg/kg xylazine (Alfazin, Alfasan IBV) anesthesia. Blood samples were collected from inferior vena cava for surgical exanguination and hematological analyses. A hippocampus extraction mechanism was created by placing filter papers soaked in cold phosphate buffer on ice packs while harvesting the hippocampus. Then, cortical and hippocampal tissues were taken into containers containing 10% formaldehyde for routine Hematoxylin-Eosin (HE) staining.

### Hematological Analyses

Red blood cell (RBC), hemoglobin (Hb), white blood cell (WBC), neutrophil (N), lymphocyte (L), and platelet (PLT) counts and percentages were measured from heparinized blood samples taken into anticoagulant tubes. An automated hematology analyzer (Code No: CR163712, Sysmex, Japan) were used to count these cells. The ratio of N count to L count was considered as Neutrophil/Lymphocyte Ratio (NLR) (35).

### Histopathological Analyses

Cortical and hippocampal tissues fixed in 10% neutral formalin solution were routinely processed by an automatic tissue processor equipment (Leica ASP300S, Wetzlar, Germany), then embedded into paraffin wax and sections in 5  $\mu$ m thickness

cut by a rotary microtome (Leica RM2155, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) were obtained. These pieces were stained by HE, covered with a coverslip with a mounting medium and examine under a light microscope (36).

### Statistical Analyses

Variables were presented as mean + standard deviation. Analysis of variance (with a post hoc Bonferroni test) was used to compare hematological and histopathologic scores between the groups. SPSS 18.0 program pack was used for statistical calculations  $P < 0.05$  was set as the value for significance.

## Results

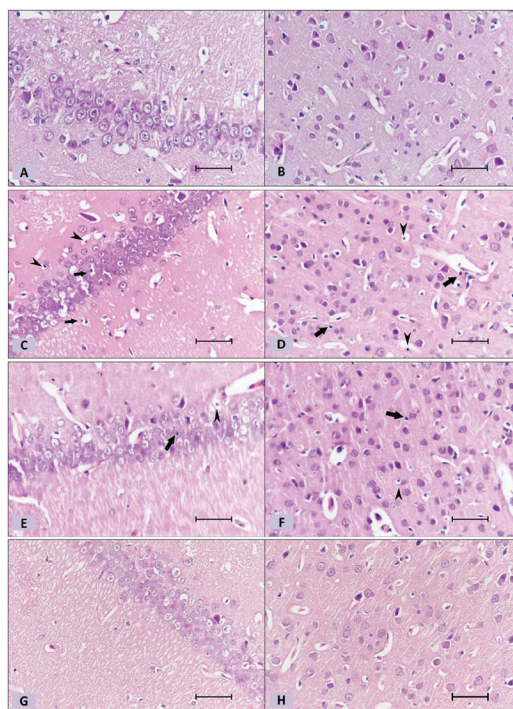
### Hematological Findings

Hematological results of the study groups were shown in Table 1. While WBC and NLR were significantly increased in LPS group compared to control ( $p:0.044$  and  $p<0.001$ , respectively) RML treatment decreased both values, but only the decrease in NLR was statically significant ( $p>0.05$  and  $p<0.001$ , respectively). LPS caused a significant decreament in L and PLT counts compared to controls ( $p<0.001$  for both). The increaments by RML added to LPS seen in L and PLT count was only significant for PLT, compared to LPS ( $p>0.05$  and  $p.0.003$ , respectively). There were no significant differences between the groups by means of RBC or Hb

### Histopathological Findings

Cortical and hippocampal tissues stained with HE were evaluated under an imaging-assisted binocular light microscope for histopathological evaluation and photographs were obtained. Pathological findings were scored as: (-): no pathological finging, (+): low level pathological finging, (++) : moderate level pathological finging, (+++) : severe level pathological finging. Scores of pathological finding belonging to the cortical and hippocampal areas were shown in Table 2.

In control group, normal architecture was seen in hippocampal and cortical areas (Figure 1A-B). In LPS treated group, several apoptotic bodies and inflammatory cell infiltrations were observed in both hippocampus and cortex (Figure 1C-D). RML treatment added to LPS regressed the hippocampal and cortical histopathological findings compared to LPS only group (Figure 1E-F). Histological appearances of hippocampal and cortical areas belonging to RML group were in normal architecture, similar to controls (Figure 1G-H).



**Figure 1:**

Normal histological appearance of hippocampal (A) and cortical (B) tissues belonging to control group. Histopathological appearance of hippocampal (C) and cortical (D) tissues belonging to LPS group. Inflammatory cell infiltration (arrows) and apoptotic bodies (arrowhead). Histopathological appearance of hippocampal (E) and cortical (F) tissues belonging to LPS+RML group. Inflammatory cell infiltration (arrows) and apoptotic bodies (arrowhead). Normal histological appearance of hippocampal (G) and cortical (H) tissues belonging to RML LPS: Lipopolysaccharide; RML: Ramelteon; HE: Hematoxylin-Eosin, 40x, Bars = 50 µm

**Table 1** Hematological results of the study groups

| Group Parameter | Control        |         | LPS                         |         | LPS + RML                      |                               | RML                             |                               |
|-----------------|----------------|---------|-----------------------------|---------|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
|                 | Mean ± SD      | P value | Mean ± SD                   | P value | Mean ± SD                      | P value                       | Mean ± SD                       | P value                       |
| RBC             | 8.49 ± 0.67    |         | 8.28 ± 0.42                 |         | 8.03 ± 0.39                    |                               | 8.17 ± 0.30                     |                               |
| Hb              | 14.5 ± 1.63    |         | 13.35 ± 2.34                |         | 14.50 ± 0.66                   |                               | 14.00 ± 0.52                    |                               |
| NEU             | 33.43 ± 4.35   |         | 85.20 ± 2.20 <sup>a</sup>   | a<0.001 | 85.24 ± 2.27 <sup>b</sup>      | b<0.001                       | 55.5 ± 5.96 <sup>a, b</sup>     | a<0.001<br>b<0.001            |
| WBC             | 3.33 ± 0.76    |         | 4.91 ± 0.69 <sup>a</sup>    | a:0.044 | 4.11 ± 1.04                    |                               | 6.12 ± 1.39 <sup>a, c</sup>     | a:0.002<br>c:0.005            |
| PLT             | 561.25 ± 88.46 |         | 178.16 ± 84.07 <sup>a</sup> | a<0.001 | 357.50 ± 96.00 <sup>a, b</sup> | a:0.003<br>b:0.003            | 625.16 ± 91.08 <sup>b, c</sup>  | b<0.001<br>c<0.001            |
| LYMP            | 63.40 ± 3.43   |         | 13.10 ± 2.03 <sup>a</sup>   | a<0.001 | 14.48 ± 3.74 <sup>a</sup>      | a:0.002                       | 43.88 ± 5.85 <sup>a, b, c</sup> | a<0.001<br>b<0.001<br>c<0.001 |
| NLR             | 0.52 ± 0.08    |         | 6.68 ± 1.36 <sup>a</sup>    | a<0.001 | 6.64 ± 1.30 <sup>a, b, c</sup> | a<0.001<br>b<0.001<br>c<0.001 | 1.30 ± 0.35 <sup>b</sup>        | b<0.001                       |

Values were presented as means + SD. LPS: Lipopolysaccharide, RML: Ramelteon, RBC: Red blood cell, Hb: Hemoglobin, NEU: Neutrophil, WBC: White blood cell, PLT: Platelet, LYMP: Lymphocyte, NLR: Neutrophil Lymphocyte Ratio. a: p<0.05 compared to control, b:p<0.05 compared to LPS, c:p<0.05 compared to LPS+RML

**Table 2** Histopathological scores of cortical and hippocampal areas belonging to the study groups

| Group                         | Parameter                      | Control | LPS | LPS + RML | RML |
|-------------------------------|--------------------------------|---------|-----|-----------|-----|
| Findings in cortical areas    | Inflammatory cell infiltration | -       | +++ | +         | -   |
|                               | Apoptotic bodies               | -       | +++ | +         | -   |
| Findings in hippocampal areas | Inflammatory cell infiltration | -       | ++  | -         | -   |
|                               | Apoptotic bodies               | -       | ++  | +         | -   |

LPS: Lipopolysaccharide, RML: Ramelteon, (-): no pathological finding, (+): low level pathological finding, (++) : moderate level pathological finding, (+++): severe level pathological finding,

## Discussion

One of the most important consequences of sepsis, known as the excessive inflammatory response developed against to a microbial infection, is multi-organ damage and the CNS is one of the organs affected in this pathological process (37, 38). This excessive inflammatory response observed in peripheral tissues manifests itself as NI in the CNS which constitutes the basic mechanism of the destruction that develops in neuronal tissues (39).

In experimental sepsis studies, bacterial LPS used to mimic microorganism attack actually does not create a complete picture of sepsis, but it is quite successful in forming NI underlying the pathogenesis of sepsis. In this study, we created a LPS-mediated NI model and evaluated the effects of RML, which is a melatonin agonist, especially in the hippocampal tissue.

The finding of severe inflammatory cell infiltrations, seen in both hippocampal and cortical tissues in the LPS group are consistent with previous studies evaluating LPS-mediated NI and it should first be interpreted that the experimental model was set up successfully (5, 40, 41)

Exaggerated inflammation is the main mechanism in LPS-mediated neural injury and it has led to the hypothesis that some molecules with anti-inflammatory properties may be protective against this damage. In vivo and in vitro studies confirm this hypothesis (5, 42-44). RML, which was used as a treatment molecule in our study, decreased the amount of inflammatory cells that increased by LPS in both hippocampal and cortical areas. Although the anti-inflammatory effects of RML in many organs or tissues have been demonstrated in both clinical and experimental studies, our study is the first to show the effect of this molecule on hippocampal NI (45-48).

The hippocampal tissue is important as it is one of the main site where NI occurs. (49). It has been shown that developing NI causes a decrease in intracellular pH in CA1 neurons in the hippocampus (50). Whether this change in pH is really a part of the damage mechanism and the effects of RML on this variable, especially in chronic use, should be evaluated in further studies.

Blood parameters change in septic conditions as well as in many diseases. In particular, WBC and neutrophil counts are important in terms of reflecting bacterial inflammation (51, 52). In our study, the significant increases of WBC and neutrophils counts in the LPS group is important in terms of being consistent with the literature and confirming the inflammatory model (53, 54). On the other hand, the significant decreases in these values in the RML group reveal the anti-inflammatory effect of the treatment molecule. Low LYMP numbers in addition to high neutrophil count observed in septic conditions were also shown in our study A non-significant elevation in LYMP count by RML may be related to a single dose treatment and should be evaluated in a long-term therapy, as well. NLR, which is currently used for many medical conditions, is calculated by dividing the neutrophil count by the LYMP count. This value, which was shown to increase in septic conditions in clinical and experimental studies, increased significantly in the LPS group in our study (55, 56). Changes in NLR are important in terms of rapid and practical evaluation of both the inflammation and the anti-inflammatory effect of the treatment. In experimental sepsis studies, LPS administration has also been shown to reduce the number of PLT (57). In consistent with this knowledge, in our study, the number of PLT decreased significantly in the LPS treated group compared to the control group and increased significantly with RML treatment. This effect of RML on PLT count may be protective against thrombocytopenia-related complications, especially in

septic patients who have hemorrhagic diathesis or are taking drugs that predispose to bleeding.

It is known that increased reactive oxygen species (ROS) and inflammation trigger apoptosis in septic conditions. LPS similarly induces apoptosis (58, 59). In our study, apoptotic bodies were observed at a significant rate in the cortical and hippocampal tissues of the experimental groups in which LPS was applied, supporting the literature findings. RML treatment regressed these changes. Besides the prominent anti-inflammatory properties of RML, its antiapoptotic effect, parallel to our results, has been demonstrated in traumatic lung injury and cocaine-induced NI (60). On the other hand, there is also a study showing that chronic RLM treatment does not cause a change in apoptotic indices and cognitive functions in the mouse Alzheimer model (61). So the effect and possible mechanisms of RML on apoptosis should be evaluated with study designs that include different doses and treatment durations of RML.

One of the limitations of our study is that LPS-related inflammation, apoptosis, and the protective effect of RML on these processes were demonstrated only by hematological and histopathological analyses. Further studies are needed to reveal the anti-inflammatory and antiapoptotic effects of RML with quantitative methods and to evaluate the possible mechanisms of action. In addition, in this study model, which was planned to mimic acute inflammation, a single dose of RML was used and only the structural changes in the hippocampal and cortical areas were examined. Considering the role of the hippocampus on learning and memory behavior, the impact of chronic RML use on NI-related learning-memory impairment should be evaluated with behavioral tests and further molecular studies.

In conclusion, RML can be a useful treatment option in the ongoing therapy of patients with NI due to various central causes, such as sepsis, aneurysm, or tumor in intensive care or clinical conditions, in terms of both regressing inflammation and treating sleep disorder secondary to the disease. In addition, RML can be a treatment alternative for many NI based neurodegenerative diseases. A single dose of RML administered in this study did not reveal a negative result, at least in terms of histology. Besides, the fact that this molecule is already a licensed product for another indication may make RML safer as a new treatment candidate in a new indication. However, there is a need for more comprehensive experimental studies and randomized controlled clinical studies on this subject.

## Acknowledgment

This article is a publication of a master's thesis.

## Conflict of Interest Statement

The authors have no conflicts of interest to declare.

## Ethical Approval

All experiments were performed under the guidelines for animal research from the National Institutes of Health and were approved by the Committee on Animal Research of Suleyman Demirel University, Isparta (Approval No: 08.07.2020/04-04). During the test protocol, all precautions regarding animal welfare were taken.

## Funding

This research was supported by "The Scientific Research Projects Coordination Unit of Süleyman Demirel University" with project code TYL-2020-8048.

## Availability of Data and Materials

Data are available on request due to privacy or other restrictions.

## Authors Contributions

M.K: Conceptualization; Data curation; Investigation; Methodology; Visualization; Writing-original draft.

M.S: Conceptualization; Data curation; Investigation; Methodology; Visualization; Writing-original draft. Project administration; Writing-review & editing.

H.A: Investigation; Methodology; Data curation; Writing-original draft.

K.G: Formal analysis; Writing-original draft.

I.I: Formal analysis; Writing-review & editing.

## Editorial

Although MS and KG, two of the authors of the article, are editorial board members of the journal, they have not taken part in any stage of the publication processes of this article.

## References

1. Tsai MC, Chen WJ, Tsai MS, Ching CH, Chuang JI. Melatonin attenuates brain contusion-induced oxidative insult, inactivation of signal transducers and activators of transcription 1, and upregulation of suppressor of cytokine signaling-3 in rats. *Journal of pineal research*. 2011; 51(2): 233-245.
2. Solov'eva T, Davydova V, Krasikova I, Yermak I. Marine compounds with therapeutic potential in gram-negative sepsis. *Marine Drugs*. 2013; 11(6): 2216-2229.
3. Jain KK. Role of neuroinflammation in the pathogenesis of

- neurologic disorders and principles of management.
4. Frank-Cannon TC, Alto LT, McAlpine FE, Tansey MG. Does neuroinflammation fan the flame in neurodegenerative diseases? *Molecular neurodegeneration*. 2009; 4(1): 1-13.
  5. Savran M, Ozmen O, Erzurumlu Y, Savas HB, Asci S, Kaynak M. The impact of prophylactic lacosamide on LPS-induced neuroinflammation in aged rats. *Inflammation*. 2019; 42(5): 1913-1924.
  6. Bradl M, Hohlfeld R. Molecular pathogenesis of neuroinflammation. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2003; 74(10): 1364-1370.
  7. Carson MJ, Dose JM, Melchior B, Schmid CD, Ploix CC. CNS immune privilege: hiding in plain sight. *Immunological reviews*. 2006; 213(1): 48-65.
  8. Fu HQ, Yang T, Xiao W, Fan L, Wu Y, Terrando N, Wang TL. Prolonged neuroinflammation after lipopolysaccharide exposure in aged rats. *PLoS one*. 2014; 9(8): e106331.
  9. Owens T, Babcock AA, Millward JM, & Toft-Hansen H. Cytokine and chemokine inter-regulation in the inflamed or injured CNS. *Brain Research Reviews*. 2005; 48(2): 178-184.
  10. Dantzer R, Kelley KW. Twenty years of research on cytokine-induced sickness behavior. *Brain, behavior, and immunity*. 2007; 21(2): 153-160.
  11. Flierl MA, Stahel PF, Rittirsch D, Huber-Lang M, Niederbichler AD, Hoesel LM, Ipahtchi K. Inhibition of complement C5a prevents breakdown of the blood-brain barrier and pituitary dysfunction in experimental sepsis. *Critical Care*. 2009; 13(1): 1-9.
  12. Badshah H, Ali T, Rehman SU, Amin FU, Ullah F, Kim TH, Kim MO. Protective effect of lupeol against lipopolysaccharide-induced neuroinflammation via the p38/c-Jun N-terminal kinase pathway in the adult mouse brain. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2016; 11(1): 48-60.
  13. Tripathi A, Paliwal P, Krishnamurthy S. Piracetam attenuates LPS-induced neuroinflammation and cognitive impairment in rats. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 2017; 37(8): 1373-1386.
  14. Shaw KN, Commins S, O'Mara SM. Lipopolysaccharide causes deficits in spatial learning in the watermaze but not in BDNF expression in the rat dentate gyrus. *Behavioural brain research*. 2001; 124(1): 47-54.
  15. Qin L, Wu X, Block ML, et al. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia*. 2007; 55(5): 453-62.
  16. Skelly DT, Hennessy E, Dansereau MA, Cunningham C. A systematic analysis of the peripheral and CNS effects of systemic LPS, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IL-6 challenges in C57BL/6 mice. *PLoS one*. 2013; 8(7): e69123.
  17. Jiao D, Jiang Q, Liu Y, Ji L. Nephroprotective effect of wogonin against cadmium-induced nephrotoxicity via inhibition of oxidative stress-induced MAPK and NF- $\kappa$ B pathway in Sprague Dawley rats. *Human & Experimental Toxicology*. 2019; 38(9): 1082-1091.
  18. Kireev RA, Vara E, Viña J, Tresguerres JA. Melatonin and oestrogen treatments were able to improve neuroinflammation and apoptotic processes in dentate gyrus of old ovariectomized female rats. *Age*. 2014; 36(5): 1-15.
  19. Parada E, Buendia I, León R, Negro P, Romero A, Cuadrado A, Egea J. Neuroprotective effect of melatonin against ischemia is partially mediated by alpha-7 nicotinic receptor modulation and HO-1 overexpression. *Journal of pineal research*. 2014; 56(2): 204-212.
  20. O'Neal-Moffitt G, Delic V, Bradshaw PC, Olcese J. Prophylactic melatonin significantly reduces Alzheimer's neuropathology and associated cognitive deficits independent of antioxidant pathways in A $\beta$ PPswe/PS1 mice. *Molecular neurodegeneration*. 2015; 10(1): 1-21.
  21. Pintado C, Gavilán MP, Gavilán E, García-Cuervo L, Gutiérrez A, Vitorica J, Ruano D. Lipopolysaccharide-induced neuroinflammation leads to the accumulation of ubiquitinated proteins and increases susceptibility to neurodegeneration induced by proteasome inhibition in rat hippocampus. *Journal of neuroinflammation*. 2012; 9(1): 1-10.
  22. Knierim JJ. The hippocampus. *Current Biology*. 25(23): R1116-R1121.
  23. Witter MP, Kleven H, Flatmoen AK. Comparative contemplations on the hippocampus. *Brain, Behavior and Evolution*. 2017; 90(1): 15-24.
  24. Ardestani PM, Evans AK, Yi B, Nguyen T, Coutellier L, Shallow M. Modulation of neuroinflammation and pathology in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease using a biased and selective beta-1 adrenergic receptor partial agonist. *Neuropharmacology*. 2017; 116: 371-386.
  25. Prema A, Justin Thenmozhi A, Manivasagam T, Mohamed Essa M, Guillemin GJ. Fenugreek seed powder attenuated aluminum chloride-induced tau pathology, oxidative stress, and inflammation in a rat model of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017; 60(s1): S209-S220.
  26. Pandi-Perumal SR, Spence DW, Verster JC, Srinivasan V, Brown GM, Cardinali DP, Hardeland R. Pharmacotherapy of insomnia with ramelteon: safety, efficacy and clinical applications. *Journal of Central Nervous System Disease*. 2011; 3: JCNSD-S1611.
  27. Laudon M, Frydman-Marom A. Therapeutic effects of melatonin receptor agonists on sleep and comorbid disorders. *International journal of molecular sciences*. 2014; 15(9): 15924-15950.
  28. Owen RT. Ramelteon: profile of a new sleep-promoting medication. *Drugs of Today*. 2006; 42(4): 255-264.
  29. Shimizu N, Nozawa M, Sugimoto K, Yamamoto Y, Minami T, Hayashi T, Uemura H. Therapeutic efficacy and anti-inflammatory effect of ramelteon in patients with insomnia associated with lower urinary tract symptoms. *Research and Reports in Urology*. 2013; 5: 113.
  30. Babae A, Eftekhari-Vaghefi SH, Asadi-Shekaari M, Shahrokhi N, Soltani SD, Malekpour-Afshar R, Basiri M. Melatonin treatment reduces astrogliosis and apoptosis in rats with traumatic brain injury. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2015; 18(9): 867.
  31. Motaghinejad M, Motaghinejad O, Hosseini P. Attenuation of morphine physical dependence and blood levels of cortisol by central and systemic administration of ramelteon in rat. *Iranian Journal of Medical Sciences*. 2015; 40(3): 240.
  32. Uchinaka A, Kawashima Y, Sano Y, Ito S, Sano Y, Nagasawa K, Nagata K. Effects of ramelteon on cardiac injury and adipose tissue pathology in rats with metabolic syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2018; 1421(1): 73-87.
  33. Cao C, Gao T, Cheng M, Xi F, Zhao C, Yu W. Mild hypothermia ameliorates muscle wasting in septic rats associated with hypothalamic AMPK-induced autophagy and neuropeptides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2017; 490(3): 882-888.
  34. Savran M, Aslançoç R, Ozmen O, Erzurumlu Y, Savas H B, Temel EN, Boztepe, S. Agomelatine could prevent brain and cerebellum injury against LPS-induced neuroinflammation in rats. *Cytokine*. 2020; 127: 154957.
  35. Stroethoff M, Christoph I, Behmenburg F, Raupach A, Bunte S, Senpolat S, Huhn R. Melatonin receptor agonist ramelteon reduces ischemia-reperfusion injury through activation of mitochondrial potassium channels. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2018; 72(2): 106-111.
  36. Vesna J, Danica J, Kamil K, Viktorija DS, Silva D, Sanja T, Aleksandar D. Effects of fullerene nanoparticles and amifostine on radiation-induced tissue damages: Histopathological analysis. *Journal of Applied Biomedicine*. 2016; 14(4): 285-297.
  37. Chong DL, Sriskandan S. ro-inflammatory mechanisms in sepsis. *Sepsis-Pro-Inflammatory and Anti-Inflammatory Responses*. 2011; 17: 86-107.

38. Nardocci G, Martin A, Abarzúa S, Rodríguez J, Simon F, Reyes EP, Fernández R. Sepsis progression to multiple organ dysfunction in carotid chemo/baro-denervated rats treated with lipopolysaccharide. *Journal of Neuroimmunology*. 2015; 278: 44-52.
39. Li Y, Zhu H, Pan L, Zhang B, Che H. microRNA-103a-3p confers protection against lipopolysaccharide-induced sepsis and consequent multiple organ dysfunction syndrome by targeting HMGB1. *Infection, Genetics and Evolution*. 2021; 89: 104681.
40. Liu YL, Hsu CC, Huang HJ, Chang CJ, Sun SH, Lin AMY. Gallic acid attenuated LPS-induced neuroinflammation: protein aggregation and necroptosis. *Molecular neurobiology*. 2020; 57(1): 96-104.
41. Pérez-Nievas BG, Madrigal JL, García-Bueno B, Zoppi S, Leza JC. Corticosterone basal levels and vulnerability to LPS-induced neuroinflammation in the rat brain. *Brain research*. 2010; 1315: 159-168.
42. Alam Q, Krishnamurthy S. Dihydroquercetin ameliorates LPS-induced neuroinflammation and memory deficit. *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*. 2022; 3: 100091.
43. Olajide OA, Kumar A, Velagapudi R, Okorji UP, Fiebich BL. Punicalagin inhibits neuroinflammation in LPS-activated rat primary microglia. *Molecular nutrition & food research*. 2014; 58(9): 1843-1851.
44. Zhang F, Zhang JG, Yang W, Xu P, Xiao YL, Zhang HT. 6-Gingerol attenuates LPS-induced neuroinflammation and cognitive impairment partially via suppressing astrocyte overactivation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018; 107: 1523-1529.
45. De Crescenzo F, D'Alò GL, Ostinelli EG, Ciabattini M, Di Franco V, Watanabe N, Cipriani A. Comparative effects of pharmacological interventions for the acute and long-term management of insomnia disorder in adults: a systematic review and network meta-analysis. *The Lancet*. 2022; 400(10347): 170-184.
46. Peres MF, Masruha MR, Zukerman E, Moreira-Filho CA, Cavalheiro EA. Potential therapeutic use of melatonin in migraine and other headache disorders. *Expert opinion on investigational drugs*. 2006; 15(4): 367-375.
47. Stroethoff M, Goetze L, Torregroza C, Bunte S, Raupach A, Heinen A, Huhn R. The melatonin receptor agonist ramelteon induces cardioprotection that requires MT2 receptor activation and release of reactive oxygen species. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. 2020; 34(3): 303-310.
48. Zhang Y, Li X, Grailer JJ, Wang N, Wang M, Yao J, Li X. Melatonin alleviates acute lung injury through inhibiting the NLRP3 inflammasome. *Journal of pineal research*. 2016; 60(4): 405-414.
49. Zhang XY, Xu ZP, Wang W, Cao JB, Fu Q, Zhao WX, Mi, WD. Vitamin C alleviates LPS-induced cognitive impairment in mice by suppressing neuroinflammation and oxidative stress. *International immunopharmacology*. 2018; 65: 438-447.
50. Tyrtshnaia AA, Lysenko LV, Madamba F, Manzhulo IV, Khotimchenko MY, Kleschevnikov AM. Acute neuroinflammation provokes intracellular acidification in mouse hippocampus. *Journal of neuroinflammation*. 2016; 13(1): 1-11.
51. Hambardzumyan D, Gutmann DH, Kettenmann H. The role of microglia and macrophages in glioma maintenance and progression. *Nature neuroscience*. 2016; 19(1): 20-27.
52. Zhang J, Shi X, Hao N, Chen Z, Wei L, Tan L, Zhu G. Simvastatin reduces neutrophils infiltration into brain parenchyma after intracerebral hemorrhage via regulating peripheral neutrophils apoptosis. *Frontiers in neuroscience*. 2018; 12: 977.
53. Zhong Y, Zhang X, Hu X, Li Y. Effects of repeated lipopolysaccharide treatment on growth performance, immune organ index, and blood parameters of Sprague-Dawley rats. *Journal of veterinary research*. 2018; 62(3): 341-346.
54. Zaki OS, Safar MM, Ain-Shoka AA, Rashed LA. Bone marrow mesenchymal stem cells combat lipopolysaccharide-induced sepsis in rats via amendment of P38-MAPK signaling cascade. *Inflammation*. 2018; 41(2): 541-554.
55. Hwang SY, Shin TG, Jo IJ, Jeon K, Suh GY, Lee TR, Sim MS. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a prognostic marker in critically-ill septic patients. *The American journal of emergency medicine*. 2017; 35(2): 234-239.
56. Brooks HF, Osabutey CK, Moss RF, Andrews PLR, Davies DC. Caecal ligation and puncture in the rat mimics the pathophysiological changes in human sepsis and causes multi-organ dysfunction. *Metabolic brain disease*. 2007; 22(3): 353-373.
57. Huang HC, Tsai HJ, Wang CC, Tsao CM, Ka SM, Liaw WJ, Wu CC. Levosimendan mitigates coagulopathy and organ dysfunction in rats with endotoxemia. *Journal of the Chinese Medical Association*. 2017; 80(7): 432-441.
58. Martins PS, Kallas EG, Neto MC, Dalboni MA, Blecher, S, Salomão R. Upregulation of reactive oxygen species generation and phagocytosis, and increased apoptosis in human neutrophils during severe sepsis and septic shock. *Shock*. 2003; 20(3): 208-212.
59. Power C, Fanning N, Redmond HP. Cellular apoptosis and organ injury in sepsis: a review. *Shock*. 2002; 18(3): 197-211.
60. Kandezi N, Majdi F, Davoudizadeh R, Motaghinejad M, Safari S. Preventive Properties of Ramelteon against Cocaine-Induced Autophagia and Apoptosis: A Hypothetic Role of TNF- $\alpha$  Receptor Involvement and JNK/Bcl-2-Beclin1 or Bcl-2/Bax Signaling Pathway. *International journal of preventive medicine*. 2020; 11(3): 11-36.
61. McKenna JT, Christie MA, Jeffrey BA, McCoy JG, Lee E, Connolly NP, Strecker RE. Chronic ramelteon treatment in a mouse model of Alzheimer's disease. *Archives italiennes de biologie.*, 2012; 150(1): 5.



# DIFFERENCES OF RIB FRACTURES IN BLUNT TRAUMA PATIENTS ACCORDING TO AGE AND GENDER: A COMPUTED TOMOGRAPHY STUDY

## KÜNT TRAVMALI HASTALARDA KOSTA KIRIKLARININ YAŞ VE CİNSİYETE GÖRE FARKLILIĞI: BİLGİSAYARLI TOMOGRAFİ ÇALIŞMASI

Ebru TORUN<sup>1</sup>, Yavuz YÜKSEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Radyoloji Ana Bilim Dalı, Isparta, TÜRKİYE

**Cite this article as:** Torun E, Yüksel Y. Differences of Rib Fractures in Blunt Trauma Patients According to Age and Gender: A Computed Tomography Study. Med J SDU 2023; 30(2): 179-184.

### Öz

#### Amaç

Künt travmalı hastalarda kosta kırıklarının yaş ve cinsiyete göre farklılığını araştırmak.

#### Gereç ve Yöntem

Toraks BT incelemede akut torasik travmatik patoloji saptanan 18 yaş ve üzeri 411 erişkin hasta (214 erkek, 197 kadın) çalışma kapsamına dahil edildi ve geriye dönük olarak incelendi. BT incelemede hastalarda kırık (kosta, skapula, sternum, vertebra, klavikula), hemotoraks, pnömotoraks, pnömomediastinum, akciğer parankiminde posttravmatik patoloji (kontüzyon, lase-rasyon), diyafragmatik ve vasküler hasar varlığı kaydedildi. Hastalar yaş gruplarına göre 1. Grup: 18-44 yaş, 2. Grup: 45-69 yaş ve 3. Grup: 70 yaş ve üzeri olmak üzere 3 grupta sınıflandırıldı. Kosta kırıkları seviyesine göre 3 grupta (üst seviye: 1-4. kostalar, orta seviye: 5-8. kostalar ve alt seviye: 9-12. kostalar) sınıflandırıldı. Kosta kırıkları aksiyel plandaki lokalizasyonuna göre; ön, orta ve arka olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

#### Bulgular

Kosta kırıklarının erkeklerde (%69), kadınlara göre (%53) daha sık olduğu bulundu ( $p=0.002$ ). Yaş art-tıkça kırık sıklığının arttığı görüldü ( $p=0.001$ ;  $r=615$ ). Tüm yaş gruplarında kosta kırıkları en sık orta kosta-larda (5.-8. kostalar) tespit edildi. İleri yaş grubunda

(Grup 3) üst kostalarda kırık varlığı diğer yaş grup-larına göre belirgin düşüktü ( $p=0.002$ ). Tüm yaş grup-larında en düşük sıklıkla kostaların anterior kesiminde kırık tespit edildi. Genç erişkinlerde (Grup 1) diğer yaş gruplarının aksine kosta kırığı lateral kesimde daha yüksek oranda izlendi ( $p=0.001$ ). Kosta kırığı olma-dan parankimal kontüzyon varlığı açısından yaş grup-ları arasında genç erişkinler (grup 1) lehine belirgin farklılık bulundu ( $p=0.014$ ).

#### Sonuç

Künt toraks travma hastalarında kosta kırığı erkekler-de kadınlara göre daha yüksek oranda görülmüştür. İleri yaş grubunda üst kostalarda kırık olasılığı diğer yaş gruplarına göre daha azdı. Diğer gruplardan farklı olarak, gençlerde, kostaların lateral kesiminde daha yüksek oranda kırık saptanmıştır. Genç yaş grubunda kosta kırığı olmadan parankimal kontüzyon olasılığı açısından uyanık olunmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Akut künt toraks travması, Biyo-mekanikler, Bilgisayarlı tomografi, Kosta kırığı

#### Abstract

#### Objective

To investigate the difference between rib fractures according to age and sex in blunt trauma patients.

Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address: E.T. / ebru.torun@alanya.edu.tr

Müracaat tarihi/Application Date: 27.12.2022• Kabul tarihi/Accepted Date: 10.04.2023

ORCID IDs of the authors: E.T: 0000-0003-0879-5285; Y.Y: 0000-0002-3805-4245

## Material and Method

The patients were classified into 3 age groups: Group-1:18-44 years, Group-2:45-69 years, and Group-3:70 years or more. Rib fractures were classified into 3 groups based on their level on the coronal plane (upper (1st-4th ribs), medium (5th-8th ribs) and lower (9th-12th ribs)) and axial plane (anterior, lateral and posterior).

## Results

Rib fractures were found to be more common in male (69%) to female (53%) ( $p=0.002$ ). The incidence of fractures was seen to increase with age ( $p=0.001$ ;  $r=615$ ). Rib fractures were most commonly found in the middle ribs (5th-8th ribs) in all-age-groups. The incidence of fractures in the upper ribs was significantly lower in the advanced age than the other age groups ( $p=0.002$ ). Fractures were least commonly found in the anterior part of the rib in all age groups. Rib fractures

were observed at a higher rate in the lateral part in young adults unlike the other age groups ( $p=0.001$ ). A significant difference was found between the age groups in favor of young adults (group 1) in terms of the presence of parenchymal contusion without rib fracture ( $p=0.014$ ).

## Conclusion

Rib fracture was seen at a higher rate in male than female in blunt thoracic trauma patients. Fractures possibility of in the upper rib structures is lower in the advanced age group. Unlike other groups, in young people, a higher rate of fractures was detected in the lateral part of the costa. One should be aware of the possibility of parenchymal contusion without a rib fracture in the young age group.

**Keywords:** Acute blunt chest trauma; Biomechanics; Computed tomography; Rib fracture

## Introduction

Chest traumas are divided into two type: blunt and penetrating. Penetrating injuries such as penetrating, cutting and firearm injuries are disruptive to tissue integrity. Blunt injuries can damage the organs and structures under the tissue without deterioration of tissue integrity. Falling from height, traffic accidents, and occupational accidents are the main mechanisms of blunt trauma (1).

Blunt chest traumas comprise 10–15% of all traumas and are the cause of death in 25% of all fatalities due to trauma (2). Blunt trauma may cause injuries in many anatomical structures such as the thoracic wall, pleura, lung parenchyma, tracheobronchial tree, vascular structures and diaphragm. The pathologies that may occur essentially depend on the trauma severity and the morphology of the anatomical structure exposed to the trauma (3).

The number of studies on the biomechanics of the human rib cage has increased recently (4-10). A recent CT study on 339 subjects conducted by Weaver et al. has reported age- and gender-related structural changes of the rib cage. They found an increase in the diameter of the rib cage in all three directions from birth to adolescence, together with a decrease in thoracic kyphosis, and inferior rotation of the ribs according to the sagittal plane of the vertebrae. They also reported an increase in thoracic kyphosis, superior rotation of the ribs at the sagittal plane,

and an increase in the anterior-posterior diameter of the rib cage from young adulthood to advanced age that was especially pronounced in men. Studies investigating the biomechanics of the human rib cage have reported that age- and gender-related changes in the thoracic anatomical structures may have an effect on trauma-related damage (10). However, to our knowledge, there is no study in the literature investigating the relationship between age and gender and the presence and incidence of acute pathologies in patients with blunt thoracic trauma.

The aim of this study was to analyze the difference in acute traumatic pathologies (especially rib fractures) based on age and gender in patients with blunt thoracic trauma.

## Material and Method

### Study Design and Participant Characteristics

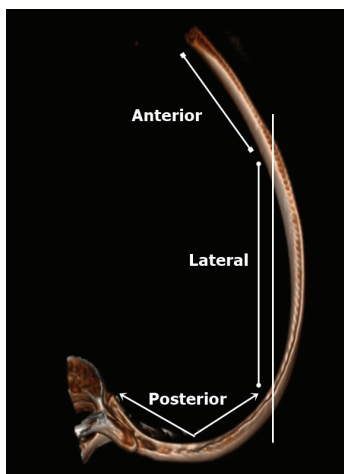
A total of 2346 patients who had undergone a thoracic CT examination due to blunt thoracic trauma between July 2018 and September 2022 were investigated retrospectively. In the end, 411 adult patients (214 males, 197 females) aged 18 years or more who were found to have acute thoracic traumatic pathology on CT examination were included in the study. Patients whose thorax CT images were not suitable for evaluation or who were not found to have acute traumatic pathology on thoracic CT were not included. The study protocol was approved by the Institutional Review Board of the Alanya Alaaddin Keykubat University Ethics

Committee (The registration number for the study is 10354421-2021/12-09). All methods were performed in accordance with the relevant guidelines and regulations. Informed consent was waived because all analyses were based on aggregated data which do not contain any identifying or sensitive information.

The patients were classified into 3 groups by age as Group 1: aged 18-44 years, Group 2: aged 45-69 years, and Group 3: aged 70 years or more.

Thoracic CT analyses were obtained in the supine position by using a 16-section CT device (Toshiba Alexion™/Advance, Toshiba Medical Systems Corporation Nashu, Japan). Imaging parameters were section thickness 1 mm; 120 kVp; 140 mAs; 0.938 pitch; 0.5 sec rotation time; 4x1 collimation; matrix 512x512; and 250x300 mm field of view. The images were obtained after intravenous contrast material administration.

The images were evaluated at a workstation (Sectra Workstation IDS 7, Linköping, Sweden) using both the bone window and soft tissue window on axial, coronal, and sagittal plane and volume rendering 3D images. Evaluation was performed by two radiologists who were experts in Thorax CT, with a joint decision. Fracture (of the costa, scapula, sternum, vertebra, or clavicle), hemothorax, pneumothorax, pneumomediastinum, and posttraumatic pathology (contusion, laceration) and diaphragmatic or vascular damage in the lung parenchyma were recorded on the CT examination.



**Figure:** Rib anatomy in volume rendering 3D CT image. Anterior: from the sternum to the anterior axillary line. Lateral: from the anterior axillary line to the posterior axillary line. Posterior: from the posterior axillary line to the capitis costa.

Rib fractures were classified in 3 groups based on their level in the coronal plane as upper level: 1st-4th ribs, medium level: 5-8th ribs, and lower level: 9th-12th ribs. In addition, rib fractures were divided into 3 groups as anterior, lateral, and posterior, based on their location in the axial plane, similar to what Diaz and Azar reported with anterior denoting from the sternum to the anterior axillary line, lateral from the anterior axillary line to the posterior axillary line, and posterior from the posterior axillary line to the capitis costa (11) (Figure 1).

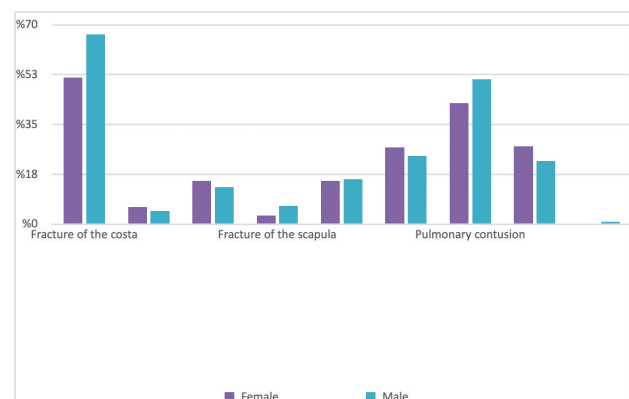
### Statistical Analysis

Statistical analysis was performed by using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 21.0). The relationship between the age groups of the patient and the level of rib fractures, the location, and the presence of traumatic pathologies was analyzed by using one-way ANOVA. The relationship between the gender of the patient and the level of rib fractures, the location, and the presence of traumatic pathologies was investigated by using Student's t test. The relationship between age groups and the fracture incidence was analyzed with the Spearman correlation test.

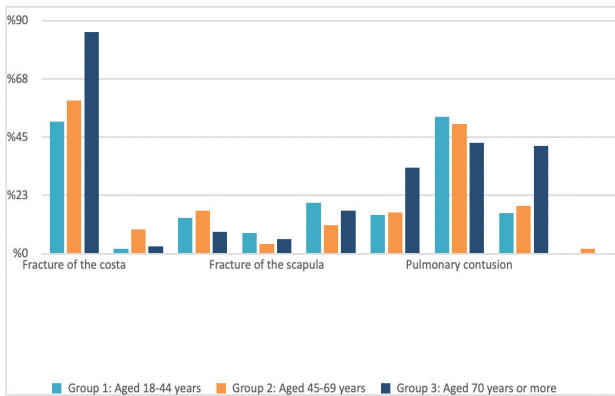
### Results

A total of 411 patients consisting of 214 (52%) males and 197 (48%) females were included in the study. The mean age was  $51.1 \pm 19.2$  years in the males and  $54.15 \pm 19.3$  years in the females. No statistically significant difference was present between the patients in terms of age according to gender ( $p=0.704$ ).

The incidence of the pathologies based on the age groups and gender of the patients is summarized in Table 1 and 2.



**Table 1:** The incidence of the acute traumatic pathologies based on the gender.



**Table 2:** The incidence of the acute traumatic pathologies based on the age.

Rib fracture was observed in 251 patients (61%). Analysis of the rib fracture incidence by age groups revealed a rib fracture in 73 Group 1 patients (48.650.6%) (n=150), 92 Group 2 patients (57.859.1%) (n=159), and 86 (84.385.2%) Group 3 patients (n=102). A positive correlation was present between the age groups and fracture incidence (p=0.001; r=615).

When the patients were analyzed based on the level of the fractures at the coronal plane, a total of 471 fractures at various levels were found in the 251 patients (n=108 upper level, n=195 middle level, and

n=168 lower level). The distribution of the fracture level based on age groups is presented in Table 3 and there were 138 fractures at various levels in Group 1, 186 in Group 2, and 147 in Group 3 (Table 3).

Fractures were more common at the middle level (5th-8th ribs) in all age groups and in both genders. The incidence of fractures in the upper ribs was lower at advanced age (Group 3), that an increase in the incidence of fractures in the lower ribs was also found compared to other age groups (Table 3). The incidence of upper rib fractures was significantly lower in Group 3 (p=0.002).

Analysis of the location of the fractures on the axial plane revealed the following distribution for the 516 fractures in 251 patients: n=90 for anterior, n=216 for lateral, and n=210 for posterior. The distribution of fracture location based on age groups is presented in Table 4. There were 153 fractures in Group 1, 192 in Group 2, and 171 in Group 3 (Table 4). The rib location with the lowest fracture incidence was the anterior section in all age groups (Table 4). However, rib fractures were observed at a higher rate in the lateral part in Group 1, unlike the other groups (p=0.001).

Analysis of the relationship between gender and the presence of rib fractures revealed a higher incidence in male (n=147, 69%) than in female (n=104, 53%)

**Table 3** The distribution of rib fracture level in the coronal plane based on age group.

| Rib Fracture Level | Age Groups      |                 |                 |
|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                    | Group 1 (n=138) | Group 2 (n=186) | Group 3 (n=147) |
| Upper (n=108)      | 39 (28.2%)      | 54 (29.1%)      | 15 (10.2%)      |
| Middle (n=195)     | 54 (39.1%)      | 72 (38.7%)      | 69 (46.9%)      |
| Lower (n=168)      | 45 (32.6%)      | 60 (32.2%)      | 63 (42.8%)      |

**Table 4** The distribution of rib fracture location in the axial plane based on age group.

| Rib Fracture Location | Age Groups      |                 |                  |
|-----------------------|-----------------|-----------------|------------------|
|                       | Group 1 (n=153) | Group 2 (n=192) | Group 3 (n= 171) |
| Anterior (n= 90)      | 24 (15.7%)      | 33 (17.2%)      | 33 (19.3%)       |
| Lateral (n= 216)      | 78 (50.9%)      | 75 (39%)        | 63 (36.9%)       |
| Posterior (n= 210)    | 51 (33.4%)      | 84 (43.8%)      | 75 (43.8%)       |

( $p=0.002$ ). A positive correlation was found between the presence of a rib fracture and the detection of a pneumothorax or hemothorax ( $p=0.001$ ,  $r=0.752$ ;  $p=0.001$ ,  $r=0.614$ , respectively). No relationship was encountered between the presence of a rib fracture and the other traumatic pathologies. Parenchymal contusion was detected in 81 patients (54%) in Group 1 ( $n=150$ ), 81 (50.9%) in Group 2 ( $n=159$ ), and 45 (44.1%) in Group 3 ( $n=102$ ). No relationship was found between the presence of a rib fracture and parenchymal contusion. On the other hand, parenchymal contusion was observed in 42 Group 1 patients ( $n=75$ ) and 21 Group 2 patients ( $n=75$ ) but none of the Group 3 patients ( $n=15$ ) without rib fracture. A significant difference was present between the age groups in terms of the presence of parenchymal contusion without rib fracture ( $p=0.014$ ).

## Discussion

We found age and gender to be determinants of the pathologies that may occur due to chest trauma (especially rib fractures) in this study where we investigated the acute pathological findings in patients with blunt thoracic trauma according to their demographic data (12).

The gradual increase in the aging population has created the need for a more detailed analysis of elderly individuals. Therefore, there has been increased interest in studies investigating the age- and gender-related changes in the thoracic structure in recent years (4-10).

Kent et al. have found age to be an important factor regarding the costal angles measured in the sagittal plane in their study on 161 males aged 18-89 years. They found the ribs to become more perpendicular to the spine with increasing age (5). Gayznik et al. found morphological changes such as an increase in the thoracic kyphosis and the anterior-posterior diameter of the rib cage to develop with increased age (7). Campbell and Lefrak have similarly reported increased chest wall stiffness, decreased lung capacity, and decreased chest wall muscle strength with increasing age (8).

The most common finding in thoracic trauma is rib fractures. Fractures of the first three ribs may damage the brachial plexus and subclavian vascular structures. Fractures of the lower three ribs may be associated with liver, spleen, and kidney injuries, and less commonly lung injury. Rib fractures can lead to restricted respiratory movements and an increased

incidence of atelectasis, which can cause subsequent pneumonia and increased mortality and morbidity (13). We mainly investigated rib fractures in this study. Rib fractures have been reported to occur most commonly between the 4th and 9th ribs after blunt thoracic trauma in the literature (14). Our study revealed this finding to be valid for all the age groups and both genders.

In contribution to the literature, we found that the upper ribs were injured at a lower rate in the advanced age group compared to the other age groups in our study ( $p=0.002$ ). In addition, we found the lateral part of the ribs to be more fragile in the young age group than the other age groups ( $p=0.001$ ). This finding may be related to the fact that age-related alterations in the rib angles lead to a deviation in the force that occurs during trauma. We also think that the reason for this difference may depend on the cause of the trauma. In addition to our study, we think that future studies to be carried out by considering the cause of trauma will be useful in terms of this issue.

The chest wall resists injury during blunt chest trauma. If a rib fracture develops due to the kinetic energy generated during trauma, the energy transferred to the lung parenchyma decreases, whereas if rib fracture does not develop, the energy is transmitted directly to the lung. In the latter case, the alveoli are stretched and torn due to positive pressure, and blood passes into the interstitium and alveolar space (15, 16). We showed in our study that rib fractures are less common in the younger age group compared to the advanced age group while parenchymal contusion may occur more commonly in the younger age group, consistent with the pathophysiology of trauma.

It is extremely important to detect traumatic pathologies quickly and to start treatment during the diagnosis and treatment phase of thoracic traumas as they have high mortality and morbidity rates. Our results reveal that age and gender are determinants for traumatic pathologies, and we believe that these criteria must be considered during the evaluation of patients with thoracic trauma.

## Conclusion

Rib fractures in blunt thoracic trauma patients are more common in males than females. The possibility of fractures in the upper rib structures is lower in the advanced age group than in other age groups. Fractures in the lateral part of the ribs are more common in young patients than in the other age groups and one should also be aware of the possibility

of parenchymal contusion without a rib fracture in this group.

### Conflict of Interest Statement

The authors have no conflicts of interest to declare.

### Ethical Approval

Ethics committee approval was provided by the Institutional Review Board of the Alanya Alaaddin Keykubat University Ethics Committee (The registration number for the study is 10354421-2021/12-09).

### Consent to Participate and Publish

Written informed consent to participate and publish was not obtained due to retrospective design of the study.

### Funding

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

### Availability of Data and Materials

The datasets generated and analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

### Authors Contributions

Concept - E.T.; Design - E.T., Y.Y.; Supervision - Y.Y.; Materials - E.T.; Data Collection and/or Processing - E.T, Y.Y.; Analysis and/or Interpretation - E.T, Y.Y.; Literature Review - E.T.; Writing - E.T.; Critical Review - Y.Y.

### References

1. Dogrul BN, Kiliccalan I, Asci ES, Peker SC. Blunt trauma related chest wall and pulmonary injuries: An overview. *Chin J Traumatol.* 2020;23:125-138.
2. Sirmali M, Turut H, Topcu S, et al. A comprehensive analysis of traumatic rib fractures: morbidity, mortality and management. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2003;24:133-138
3. Ozerdemoglu AR, Aydınlı U. Çocuklarda Torakolomber Vertebra Kırıkları. *SDU Tıp Fakültesi Dergisi.* 1995; 2:19-22
4. Holcombe SA, Wang SC, Grotberg JB. Age-related changes in thoracic skeletal geometry of elderly females. *Traffic Inj Prev.* 2017;29:122-128.
5. Kent R, Lee SH, Darvish K, Wang S, Poster CS, Lange AW, Brede C, Lange D, Matsuoka F. Structural and material changes in the aging thorax and their role in crash protection for older occupants. *Stapp Car Crash J.* 2005;49:231-49.
6. Kindig MW, Kent RW. Characterization of the centroidal geometry of human ribs. *J Biomech Eng.* 2013;135:111007.
7. Gayzik FS, Yu MM, Danelson KA, Slice DE, Stitzel JD. Quantification of age-related shape change of the human rib cage through geometric morphometrics. *J Biomech.* 2008;41:1545-54.
8. Campbell EJ, Lefrak SS. How aging affects the structure and function of the respiratory system. *Geriatrics.* 1978;33:68-74.
9. Esme H, Solak O, Yurumez Y, Yavuz Y, Terzi Y, Sezer M, Kucuker H. The prognostic importance of trauma scoring systems for blunt thoracic trauma. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2007;55:190-5.
10. Weaver AA, Schoell SL, Stitzel JD. Morphometric analysis of variation in the ribs with age and sex. *J Anat.* 2014;225:246-61.
11. Diaz JJ, Azar FK. Minimally invasive chest wall stabilization: a novel surgical approach to video-assisted rib plating (VARP). *Trauma Surg Acute Care Open.* 2019;18;PMCID: PMC6924860.
12. Torun E., Yavuz Y. Acute Traumatic Pathologies (Especially Rib Fractures) Based on Age and Gender in Patients with Blunt Thoracic Trauma: a CT Study. *Research Square* DOI: 10.21203/rs.3.rs-1529053/v1
13. Beshay M, Mertzluft F, Kottkamp HW, Reymond M, Schmid RA, Branscheid D, Vordemvenne T. Analysis of risk factors in thoracic trauma patients with a comparison of a modern trauma centre: a mono-centre study. *World J Emerg Surg.* 2020;15:45
14. Simon JB, Wickham AJ. Blunt chest wall trauma: an overview. *Br J Hosp Med (Lond).* 2019;80:711-715.
15. Yazkan R. Pulmonary contusion in adult isolated chest injuries: Analysis of 73 cases. *Bidder Tıp Bilimleri Dergisi.* 2011;3:9-15.
16. Altınok T. Akciğer Yaralanmaları. *TTD Toraks Cerrahisi Bülteni* 2010;1:55-9.

# PARAMETERS ASSOCIATED WITH ACUTE APPENDICITIS IN PREGNANCY

## GEBELİKTE AKUT APANDİSİTLE İLİŞKİLİ PARAMETRELER

Samet ŞAHİN<sup>1</sup>, Eyüp Murat YILMAZ<sup>2</sup>, Mahir KIRNAP<sup>3</sup>, Ethem BİLGİÇ<sup>4</sup>, Ahmet Ender DEMİRKIRAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, Muğla, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Aydın Cerrahi Merkezi, Aydın, TÜRKİYE

<sup>3</sup> Medicana Bahçelievler Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul, TÜRKİYE

<sup>4</sup> Didim Devlet Hastanesi, Aydın, TÜRKİYE

**Cite this article as:** Şahin S, Yılmaz EM, Kirnap M, Bilgiç E, Demirkiran AE. Parameters Associated with Acute Appendicitis in Pregnancy. Med J SDU 2023; 30(2): 185-191.

### Öz

#### Amaç

Akut apandisit, gebelerde obstetrik olmayan akut batinın en sık nedenidir. Gebe hastalarda semptomatolojinin akla ilk olarak obstetrik nedenleri getirmesi, fizyolojik lökositozun gebelik boyunca görülmesi ve görüntüleme yöntemlerindeki kısıtlılıklar tanıda kafa karışıklığına neden olmaktadır. Bu durum laboratuvar parametrelerinde ayrıntılı değerlendirme ihtiyacını kaçınılmaz kılmaktadır. Çalışmanın amacı nötrofil lenfosit oranı (NLR), trombosit lenfosit oranı (PLR), lenfopeni gibi laboratuvar parametrelerinin apandisit tanısı ile ilişkisini ve tanılma gücünü ortaya koymaktır.

#### Gereç ve Yöntem

Değerlendirmede Ocak 2017-Şubat 2021 tarihleri arasında gebelikte akut apandisit tanısı ile opere edilen 31 hasta değerlendirildi. Hastaların demografik verileri, laboratuvar sonuçları, ultrasonografi veya manyetik rezonans görüntüleme raporları ve intraoperatif bulguları değerlendirilerek korelasyon ve roc analizi yapıldı.

#### Bulgular

Eksplorasyonda apandisit saptanması ile nötrofil, lökositoz ve NLR artışı arasında anlamlı bir ilişki bu-

lundu (sırasıyla p: 0,014, p: 0,015, p: 0,020). Yine lenfopeni varlığı, yüksek NLR ve artmış palet/lenfosit oranı (PLR) uzamış yatış ile ilişkili bulundu (sırasıyla, p:0,037, p:0,008, p:0,024). Roc analizi ayrıca lökositoz [AUC: 0,938 (%95 CI: 0-1,00, p:0,019)], nötrofil yüksekliği [AUC: 0,938 (%95 CI: 0-1,00, p:0,019)] ve NLR [AUC: 0,917 (0-1,00 p: 0,025)] anlamlı akut apandisit varlığını ortaya koyma gücüne sahip olduğu bulundu.

#### Sonuç

Gebelerde akut apandisit tanısında hemogram parametrelerinin ve görüntüleme yöntemlerinin etkin bir şekilde kullanılması önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Akut apandisit, Appendektomi, Gebelik

#### Abstract

#### Objective

Acute appendicitis is the most common cause of non-obstetric acute abdomen in pregnant women. The fact that sympathomatology brings to mind primarily obstetric causes in pregnant patients, physiological leukocytosis is observed throughout pregnancy, and limitations in imaging methods cause confusion in the

**Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address:** S.Ş. / sametsahin@mu.edu.tr

**Müracaat tarihi/Application Date:** 23.01.2023 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 15.05.2023

**ORCID IDs of the authors:** S.Ş: 0000-0003-0748-3458; E.M.Y: 0000-0002-0336-1747;

M.K: 0000-0001-5181-2971; E.B: 0000-0002-3144-868X; A.E.D: 0000-0002-2106-9731

diagnosis. This makes the need for detailed evaluation in laboratory parameters inevitable. The aim of the study is to reveal the relationship of laboratory parameters such as neutrophil lymphocyte ratio (NLR), platelet lymphocyte ratio (PLR), lymphopenia with the diagnosis of appendicitis and its diagnostic power.

### Material and Method

In the evaluation of 31 patients who were operated on with the diagnosis of acute appendicitis during pregnancy between January 2017 and February 2021 were evaluated. Correlation and roc analysis were performed by evaluating patients' demographic data, laboratory results, ultrasonography or magnetic resonance imaging reports and intraoperative findings.

### Results

A significant correlation was found between detection of appendicitis in exploration and increased

neutrophils, leukocytosis, and NLR (p: 0.014, p: 0.015, p: 0.020, respectively). Again, the presence of lymphopenia, high NLR and increased platelet / lymphocyte ratio (PLR) were found to be associated with prolonged hospitalization (p:0.037, p:0.008, and p:0.024, respectively). Roc analysis also showed that leukocytosis [AUC: 0.938 (95%CI: 0-1.00, p:0.019)], neutrophil elevation [AUC: 0.938 (95%CI: 0-1.00, p:0.019)] and NLR [AUC: 0.917 (0-1.00 p: 0.025)] was found to have the power to reveal the presence of significant acute appendicitis.

### Conclusion

It is recommended to use hemogram parameters and imaging methods effectively in the diagnosis of acute appendicitis in pregnant.

**Keywords:** Acute appendicitis, appendectomy, Pregnancy

## Introduction

Acute appendicitis (AA) is the most seen reason of non-gynecological acute abdomen in gravid patients (1). Even though the incidence is similar in gravid and non-gravid populations, trying to associate symptomatology with the current pregnancy status in pregnant patients may lead to delays in the diagnosis of AA. Concerns about the health of the fetus, changes in the definition and localization of pain due to physiological reasons during pregnancy, and the inability to use imaging methods such as computed tomography can be shown among the reasons leading to this situation (2). Among the imaging methods, ultrasonography (US) is the most used and first choice method in pregnant women. Although the incidence is higher especially in the 2nd trimester, compared to other trimesters, there is a risk of AA during the whole pregnancy. In addition, increase in the area occupied by the fetus and uterus in the abdomen during pregnancy may lead to delays in diagnosis, especially in the 3rd trimester, when the fetal volume is the highest. The risks of anesthesia and surgery in cases of AA in gravid women require timely diagnosis and timely administration of appropriate treatment, and continuation of gynecological follow-up in the preoperative, perioperative, and postoperative periods. Therefore, effective use of clinical findings, laboratory parameters and imaging methods can both prevent delays in diagnosis and prevent unnecessary

surgical decisions that may cause fetal and maternal complications (3).

Laboratory hemogram findings, especially leukocytosis and increased c-reactive protein (CRP) in AA cases support the diagnosis. Neutrophils are among the most abundant white blood cells and take an important role in immunity. In addition, it helps to regulate the role of many other cells in the immune system, especially mast cells, macrophages and platelets. Again, platelets are among the cells that play a regulatory role in inflammation. Therefore, changes in the neutrophil / lymphocyte (NLR) or platelet / lymphocyte ratio (PLR) can be used as a marker in the AA diagnosis in pregnant women with physiological leukocytosis (4).

It was aimed to evaluate the preoperative data leading to the diagnosis in pregnant, operated for AA, and to discuss the diagnostic effect of the mentioned laboratory findings of the patients.

### Material and Method

Pregnants, operated on with the diagnosis of AA between 2016 and 2021 were evaluated retrospectively. For the ethical compliance of the study, the approval of the Aydın Adnan Menderes University, School of Medicine, Non- Interventional Clinical Research Committee (protocol no:2021/35,



decision no:6) was obtained.

Belonging to patients; demographic and clinical findings, laboratory findings of leukocytes, neutrophils, lymphocytes, platelets, albumin, NLR, PLR values, imaging method, parameters of appendix diameter detected on imaging, presence of appendicitis in exploration, postoperative hospital stay and presence of postoperative complications were evaluated.

Statistical analyzes were conducted using SPSS version 24, (SPSS, Inc., IBM, Armonk, NY, USA). After the descriptive analyses were performed, spearman correlation test was performed to evaluate the relationship between laboratory parameters and parameters showing the severity of appendicitis and pregnancy trimester. ROC analysis was performed to evaluate the power of patients to predict appendicitis protrusion during exploration.  $P < 0.05$  was accepted as significance value.

## Results

The mean age of 31 patients was 27.87 ( $\pm 5.6$ ). It was observed that 10 (32.63%) of the participants were in the trimester I, 18 (58.1%) patients were in the trimester II, and 3 (9.7%) patients were in the trimester III. Information on the preoperative clinical, laboratory, imaging methods, intraoperative and postoperative findings were shown in table 1.

Correlation analysis was performed between the laboratory findings of the preoperative period and the parameters showing the severity of the appendicitis clinic. Accordingly, when the correlation between appendix diameter, the detection of appendicitis in the intraoperative exploration, the parameters of the postoperative hospital stay of the patients and the pregnancy trimester were evaluated, it was seen that the increase in the diameter of the appendix was associated with increase in the NLR and PLR ( $p: 0.006$  and  $p: 0.022$  respectively). Also there was a significant correlation between appendicitis as an exploration finding and leukocyt, neutropil values and NLR ( $p: 0.001$ ,  $p < 0.001$  and  $p: 0.001$  respectively). Again, high NLR was found to be associated with prolonged hospitalization ( $p: 0.013$ ). In the evaluation of pregnancy trimester and laboratory findings, leukocytosis, neutrophil elevation and NLR elevation were found to be associated with the trimester ( $p: 0.001$ ,  $p: 0.001$  and  $p: 0.013$  respectively) (Table 2).

In the ROC analysis, leukocytosis [AUC: 0.893 (95%CI: 0.717-1.00,  $p: 0.002$ )], neutrophil elevation

[AUC: 0.929 (95%CI: 0.793-1.00)  $p: 0.001$ ] and NLR [AUC: 0.899 (95%CI: 0.757-1.00)  $p: 0.025$ ] were found to have significant power to detect the presence of AA (Table 3).

## Discussion

Although AA is the most common non-gynecologic surgical pathology in pregnancy, its incidence is very low; our study covers a period of five years, the fact that the number of participants is limited to 31 patients supports this data. In our study, the gestational week of our patients diagnosed with AA was  $18.90 \pm 7.63$  weeks, and 18 (58.1%) of the patients were diagnosed in the trimester II. This finding was evaluated in accordance with the literature (5). In the presence of AA in gravid women, abdominal pain is a very common symptom and the patient's most common complaint during the emergency admission. In our study, when the location of the pain was questioned in the patients, the pain could not be localized in 19 (61.3%) of the patients. When looking at the normal course of AA, visceral and non-localized pain is seen at the beginning, while localized pain occurs when the inflammation reaches beyond the serosa and affects the parietal peritoneum. In the literature, there are opposing views about the movement pattern of the appendix and cecum during pregnancy, while many studies argue that the cecum shifts superiorly as the trimester progresses, some studies show that the cecum does not move as much as thought during pregnancy (6, 7). As a result, considering that the abdominal wall, that is, the parietal peritoneum, also moves away because of the increase in the uterine diameter in pregnant women, the removal of the appendix from the parietal peritoneum independent of the superior mobilization of the cecum may have prevented the localization of pain in the patients. In fact, the fact that Rutherford-Morrison expansion was needed more than normal in the patient group in our study was evaluated due to the difficulty in visualizing the deeply located appendix. In pregnant women who develop abdominal pain, this pain primarily brings to mind obstetric reasons and because of the concern about fetal mortality, applications are faster than the normal population. Again, the period from the first application to the operation in pregnant women was reported to be shorter than in non-pregnant patients (8). In addition, the patients were young women of childbearing age may have provided an advantage in revealing the appendicitis clinic. Because, in the literature, the diagnosis of appendicitis is made later in elderly patients than in younger patients, and accordingly, the possibility of encountering

Table 1

Data on preoperative clinical, laboratory, imaging methods, intraoperative and postoperative findings of the patients

| Parameters                                   |                      | n= 31               |
|--|----------------------|---------------------|
| Age ( $\pm$ SD)                              |                      | 27,87 (5,6)         |
| Gestational Week ( $\pm$ SD)                 |                      | 18,90 (7,63)        |
| <b>Trimester (%)</b>                         |                      |                     |
|  | 1.                   | 10 (32,63)          |
|  | 2.                   | 18 (58,1)           |
|  | 3.                   | 3 (9,7)             |
| <b>Location of pain (%)</b>                  |                      |                     |
|  | Not localizable      | 19 (61,3)           |
|  | Right lower quadrant | 4 (12,9)            |
|  | Flank pain           | 2 (6,5)             |
|  | Groin pain           | 6 (19,4)            |
| <b>Anorexia (%)</b>                          |                      |                     |
|  | (-)                  | 10 (32,3)           |
|  | (+)                  | 21 (67,7)           |
| <b>Nausea and vomiting (%)</b>               |                      |                     |
|  | (-)                  | 23 (74,2)           |
|  | (+)                  | 8 (25,8)            |
| Leukocyte ( $\times 10^3$ /McL) ( $\pm$ SD)  |                      | 11,77 (3,83)        |
| Neutrophil ( $\times 10^3$ /McL) ( $\pm$ SD) |                      | 9,84 (3,58)         |
| Lymphocyte ( $\times 10^3$ /McL) ( $\pm$ SD) |                      | 1,45 (0,82)         |
| PLT ( $\times 10^6$ /McL) ( $\pm$ SD)        |                      | 225,6(51,45)        |
| Albumin (g/dl) ( $\pm$ SD)                   |                      | 3,23 (0,52)         |
| NLR (iqr)                                    |                      | 7,15 (5,14-12,13)   |
| PLR (iqr)                                    |                      | 169,73 (114-244,62) |
| Appendix diameter (mm) (iqr)                 |                      | 8 (7-9)             |
| <b>Imaging technique (%)</b>                 |                      |                     |
|  | US                   | 26 (83,9)           |
|  | MR                   | 5 (16,1)            |
| <b>Surgical method (%)</b>                   |                      |                     |
|  | Open technique       | 27 (87,1)           |
|  | Laparoscopic         | 4 (12,9)            |
| <b>Intraoperative diagnosis (%)</b>          |                      |                     |
|  | Acute appendicitis   | 24 (77,4)           |
|  | Normal appendix      | 7 (22,6)            |
| Length of stay / day (iqr)                   |                      | 2 (1-4)             |

McL: microliter, PLT: Platelet, PLR: platelet / lymphocyte ratio, NLR: Neutrophil / lymphocyte ratio, iqr: interquartile range, n: number of patients

Table 2

Correlation analysis of laboratory parameters performed in the preoperative period and parameters for the severity of appendicitis clinic

|                                    | Leukocyte    | Neutrophil       | Lymphocyte | NLR          | PLT    | PLR          | Albumin      |
|------------------------------------|--------------|------------------|------------|--------------|--------|--------------|--------------|
| <b>Appendix diameter</b>           |              |                  |            |              |        |              |              |
| Rho                                | 0,192        | 0,287            | -0,258*    | 0,478**      | 0,138  | 0,410*       | -0,271       |
| p                                  | 0,300        | 0,117            | 0,161      | <b>0,006</b> | 0,460  | <b>0,022</b> | 0,141        |
| <b>Appendicitis in Exploration</b> |              |                  |            |              |        |              |              |
| Rho                                | 0,570**      | 0,622*           | -0,039     | 0,579**      | -0,199 | 0,121        | -0,061       |
| p                                  | <b>0,001</b> | <b>&lt;0,001</b> | 0,835      | <b>0,001</b> | 0,282  | 0,517        | 0,746        |
| <b>Length of stay</b>              |              |                  |            |              |        |              |              |
| Rho                                | 0,181        | 0,183            | -0,275*    | 0,423*       | 0,093  | 0,329        | -0,109       |
| p                                  | 0,329        | 0,324            | 0,134      | <b>0,018</b> | 0,619  | 0,070        | 0,560        |
| <b>Pregnancy trimester</b>         |              |                  |            |              |        |              |              |
| Rho                                | 0,547**      | 0,564**          | -0,130     | 0,442*       | -0,341 | -0,067       | -0,469*      |
| p                                  | <b>0,001</b> | <b>0,001</b>     | 0,485      | <b>0,013</b> | 0,060  | 0,718        | <b>0,008</b> |

NLR: Neutrophil/ Lymphocyte ratio, PLR: Platelet/ Lymphocyte ratio, PLT: Platelet, Rho: Spearman correlation  
 (\*:Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed). \*\*: Correlation is significant at the 0.01 level (2 -tailed)).

Table 3

ROC analysis to evaluate the predictive power of diagnosing appendicitis with preoperative laboratory findings

|                   | Cut off | AUC (%95 CI)        | p value      | Sensitivity | Spesifty |
|-------------------|---------|---------------------|--------------|-------------|----------|
| <b>Leukocyte</b>  | 9400    | 0,893 (0,717-1,00)  | <b>0,002</b> | 0,917       | 0,857    |
| <b>Neutrophil</b> | 7000    | 0,929 (0,793-1,00)  | <b>0,001</b> | 1,00        | 0,857    |
| <b>Lymphocyte</b> | 1290    | 0,473 (0,242-0,705) | 0,832        | 0,583       | 0,714    |
| <b>Platelet</b>   | 197500  | 0,363 (0,086-0,640) | 0,277        | 0,750       | 0,286    |
| <b>NLR</b>        | 4,76    | 0,899 (0,757-1,00)  | <b>0,002</b> | 0,958       | 0,857    |
| <b>PLR</b>        | 104,13  | 0,583 (0,327-0,840) | 0,502        | 0,917       | 0,429    |

NLR: Neutrophil/Lymphocyte Ratio, Mcl: mikrolitre, AUC: Area under the curve

complications such as perforation, abscess development, and surgical site infection increases (8). It was seen that the patient group had an admission time of 8-36 hours in our study. Anorexia, nausea, and vomiting, which are common in AA, are shown in a wide range for pregnant patients (9). In our study, anorexia is more common than nausea and vomiting and is in accordance with the literature.

It has been shown that laparoscopic appendectomy does not increase both maternal and infant mortality,

especially in the 1st and 2nd trimesters in the literature (10). The use of the laparoscopic method in pregnancy appendicitis, which has started to be used in pregnant appendicitis patients, is more suitable for fetal acidosis, premature birth, decrease in uterine blood flow due to pressure and possible harms, and it is more suitable for first trimester patients (10). We also operated laparoscopically on 4 of our patients in the first trimester of their pregnancy and we did not encounter any fetal or maternal complications.

The rate of negative appendectomy in pregnancy has been reported 30% (11). This rate was seen as 22.6% and was consistent with the literature.

Despite the fact that there is no specific laboratory finding for AA, leukocytosis and C-Reactive Protein (CRP) level are widely used in the diagnosis of AA (12). Early and accurate diagnosis of AA in pregnant patients is very important in terms of preventing both fetal and maternal complications, which makes laboratory parameters even more important considering our limitations in the imaging process in pregnant women. Looking at the laboratory parameters; Up to 80% leukocyte elevation is detected in non-pregnant appendicitis patients, but leukocyte and CRP values are already physiologically high in pregnant women in all three trimesters (13). Therefore, high wbc alone is insufficient to support AA in pregnancy. It was inevitable to evaluate other ratios such as neutrophil count, NLR, PLR belonging to laboratory parameters and laboratory parameters. We found that both NLR and PLR were associated with both the increase in appendix diameter and the length of stay. Again, in the Roc analysis, the power of NLR in predicting AA was found to be significant. In a study evaluating the relationship between laboratory parameters and pregnant appendicitis cases, it was found that WBC and neutrophil counts, NLR and PLR were significantly higher, and lymphocyte counts were lower in pregnant women diagnosed with AA (14). In particular, the fact that NLR is unrelated to the trimester of pregnancy supports its importance in diagnosing AA in gravid patients in all three trimesters.

In addition, the presence of lymphopenia was found to be associated with the postoperative hospital stay, but the predictive power of AA was found to be insufficient in the ROC analysis. When we look at the literature, lymphopenia is found to be significantly higher in pregnant appendicitis (15).

The most used imaging method in pregnant AA is ultrasonography. MRI without known fetal and maternal risk can also be used as an aid in diagnosis and provides benefits in patients who cannot be diagnosed with ultrasound (16). In our study, the majority of the patient group could be diagnosed with ultrasound, but 2 patients needed MRI as an advanced imaging method. In addition to these, there are publications showing that low-dose CT is used in the 2nd and 3rd trimesters and does not cause fetal mortality or morbidity (17). As mentioned at the beginning, cases of pregnant appendicitis are rarely encountered, which supports the fact that only 19 patients were identified in the 4-year clinical data. However, the small number

of patients can be cited as a limitation of the study.

## Conclusion

Although AA is a rare acute surgical disease in pregnant women, it requires not only general surgery but also a multidisciplinary evaluation jointly with obstetrics clinics in the diagnosis and effective treatment of the disease. This multidisciplinary approach becomes even more important in preventing both fetal and maternal morbidity and mortality. For this reason, it is recommended to use hemogram parameters and imaging methods effectively, which can be done in emergency conditions. Because of the limited number of patients in our study and similar studies, multicenter studies with larger patient groups are needed.

## Conflict of Interest Statement

The authors have no conflicts of interest to declare.

## Ethical Approval

Ethical approval of the Aydın Adnan Menderes University, School of Medicine, Non-Interventional Clinical Research Committee (protocol no:2021/35, decision no:6) was obtained. The study was conducted in line with the principles of the "Helsinki Declaration".

## Consent to Participate and Publish

Written informed consent to participate and publish was obtained from all individual participants included in the study.

## Funding

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

## Availability of Data and Materials

Data are available on request due to privacy or other restrictions.

## Authors Contributions

S.Ş: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Validation; Visualization; Writing-original draft.

E.M.Y: Conceptualization; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Validation; Writing-review & editing.

M.K: Investigation; Validation; Writing-original draft.  
E.B: Formal analysis; Investigation; Visualization; Writing-original draft.

A.E.D: Funding acquisition; Resources; Supervision; Writing-review & editing.

## References

1. Nakashima M, Takeuchi M, Kawakami M. Clinical outcomes of acute appendicitis during pregnancy: conservative management and appendectomy. *World Journal of Surgery*, 2021;45(6): 1717-1724.
2. Jung SJ, Lee DK, Kim JH, Kong PS, Kim KH, Bae SW. Appendicitis during pregnancy: the clinical experience of a secondary hospital. *Journal of the Korean Society of Coloproctology*, 2012;28(3):152-159.
3. Di Saverio S, Podda M, De Simone B, et al. Diagnosis and treatment of acute appendicitis: 2020 update of the WSES Jerusalem guidelines. *World journal of emergency surgery*, 2020; 15(1):1-42.
4. İlhan M, İlhan G, Gök AF, Bademler S, Verit Atmaca F, Ertekin C. Evaluation of neutrophil-lymphocyte ratio, platelet-lymphocyte ratio and red blood cell distribution width-platelet ratio as early predictor of acute pancreatitis in pregnancy. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 2016; 29(9):1476-1480.
5. Weinstein MS, Feuerwerker S, Baxter JK. Appendicitis and cholecystitis in pregnancy. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 2020;63(2):405-415.
6. Ishaq A, Khan MJH, Pishori T, Soomro R, Khan S. Location of appendix in pregnancy: does it change? *Clinical and Experimental Gastroenterology*, 2018;11:281-287.
7. Hirsch L, Yogev Y, Ashwal E, From A, Ben-Haroush A, Peled Y. The impact of pregnancy on the accuracy and delay in diagnosis of acute appendicitis. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 2014;27(13):1357-1360.
8. Fugazzola P, Ceresoli M, Agnoletti V, et al. The SIFIPAC/WSES/SICG/SIMEU guidelines for diagnosis and treatment of acute appendicitis in the elderly (2019 edition). *World Journal of Emergency Surgery*, 2020;15(1):1-15.
9. Mohammed IF, AlBayati BA. Acute appendicitis in pregnancy: the presentation and the outcome. *Eur J Molecul Clin Med*, 2020;7(6):450-455.
10. Lee SH, Lee JY, Choi YY, Lee JG. Laparoscopic appendectomy versus open appendectomy for suspected appendicitis during pregnancy: a systematic review and updated meta-analysis. *BMC surgery*, 2019;19(1):1-12.
11. Rottenstreich M, Tankel J, Vilik Ayalon N, Rotem R, Yellinek S, Khatib F, Grisar-Granovsky S. Laparoscopic negative appendectomy during pregnancy is associated with adverse neonatal outcome. *Surgical Endoscopy*, 2022;36(1):544-549.
12. Akbas A, Aydın Kasap Z, Hacım NA, Tokocin M, Altinel Y, Yiğitbaş H, Meriç S, Okumuş B. The value of inflammatory markers in diagnosing acute appendicitis in pregnant patients. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 2020;26(5):769-776.
13. Başkıran A, İnce V, Çiçek E, Şahin T, Dirican A, Balıkcı Çiçek İ, Işık B, Yılmaz S. Efficacy of laboratory tests and ultrasonography in the diagnosis of acute appendicitis in gravid patients according to the stages of pregnancy. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 2018;24(4):333-336
14. Gentles JQ, Meglei G, Chen L, Hague CJ, Melck AL. Is neutrophilia the key to diagnosing appendicitis in pregnancy? *The American Journal of Surgery*, 2020;219(5):855-859.
15. Hajibandeh S, Hajibandeh S, Hobbs N, Mansour M. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts acute appendicitis and distinguishes between complicated and uncomplicated appendicitis: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Surgery*, 2020;219(1):154-163.
16. Mervak BM, Wilson SB, Handly BD, Altun E, Burke. LM MRI of acute appendicitis. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 2019;50(5):1367-1376.
17. Poletti PA, Botsikas D, Becker M, Picarra M, Rutschmann OT, Buchs NC, Zaidi H, Platon A. Suspicion of appendicitis in pregnant women: emergency evaluation by sonography and low-dose CT with oral contrast. *European Radiology*, 2019;29(1):345-35



## İNVAZİV MELANOMLARDA CD271 VE BRAF EKSPRESYONUNUN KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE VE PROGNOZ İLE İLİŞKİSİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN CD271 AND BRAF EXPRESSION WITH CLINICOPATHOLOGICAL PARAMETERS BY IMMUNOHISTOCHEMICAL METHOD IN INVASIVE MELANOMA

Afife UĞUZ<sup>1</sup>, Nermin KARAHAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Karaman Eğitim-Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji Laboratuvarı, Karaman, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı, Isparta, TÜRKİYE

**Cite this article as:** Uğuz A, Karahan N. İnvaziv Melanomlarda CD271 ve BRAF Ekspresyonunun Klinikopatolojik Parametrelerle ve Prognoz ile İlişkisinin İmmünohistokimyasal Yöntemle Araştırılması. Med J SDU 2023; 30(2): 193-202.

### Öz

#### Amaç

Amaç: İnvaziv melanomun (İM) en önemli prognostik faktörleri patolojik evreleme ve metastaz varlığı olarak bilinmektedir. Patolojik evrelemede tümör boyutu, invazyon derinliği, ülserasyon, mitotik indeks önem arz etmektedir. Çalışmamızda BRAF V600E ve CD271'in immünohistokimyasal (İHK) ekspresyonları ile klinikopatolojik parametreler ve prognoz ile ilişkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

#### Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda Süleyman Demirel Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Aralık 2010 - Mayıs 2017 tarihleri arasında tanı almış 47 İM olgusu incelendi. Bu olgulara BRAF V600E ve CD271 belirleyicileri uygulandı. Bu belirteçlerin primer ve metastatik İM'lerde ve sağkalım ile ilişkisi immünohistokimyasal yöntemle araştırıldı. Ayrıca primer ve metastatik İM'lerin ülser, lenfositik infiltrasyon, pigmentasyon, mitoz, Breslow kalınlığı, metastaz yapısı yapmaması, yaş, cinsiyet ve sağkalım ile ilişkisi araştırıldı.

#### Bulgular

Primer İM'ler ve metastatik İM'ler karşılaştırıldığında ülserasyon, mitotik indeks açısından, aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, Breslow tümör kalınlığı, lenfositik infiltrasyon, pigmentasyon, CD271 ve BRAF V600E ekspresyonu açısından aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Sağkalım ile ilişkilerine bakıldığında Breslow tümör kalınlığı, ülserasyon, BRAF V600E ekspresyonu şiddeti, BRAF V600E ekspresyonu olmayanlar ile olanlar arasındaki ve BRAF V600E ekspresyon şiddeti 3+ olanlar ile diğerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Cinsiyet, pigmentasyon, BRAF V600E ekspresyon yüzdesi, CD271 ekspresyon şiddeti, CD271 ekspresyon yüzdesi ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Çalışmamızda Primer İM'si olan bireylerin yaşları 35-93 arasında değişmekte olup ortalama  $64,12 \pm 20,35$ , metastatik İM grubundaki bireylerin yaşları 35-89 arasında değişmekte olup ortalama  $69 \pm 13,42$  idi. Yaş yönünden iki grup arasındaki fark anlamlı bulunmadı.

Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address: N.K. / nerminkarahan@sdu.edu.tr

Müracaat tarihi/Application Date: 20.03.2023• Kabul tarihi/Accepted Date: 09.04.2023

ORCID IDs of the authors: A.U: 0000-0002-3886-5099; N.K: 0000-0003-0883-4037

## Sonuç

Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz verilerde BRAF V600E ekspresyonu prognoz ile ilişkili olduğu gözük-mektedir. BRAF V600E ekspresyonu olmayanlarda yüksek sağkalım oranları varken ekspresyon şiddeti yüksek olanlarda sağkalımın azaldığı bulundu. Çalışmamızda CD271 ekspresyon şiddeti ve yüzdesi açısından primer ve metastatik İM gruplarında ve sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulmadık.

**Anahtar Kelimeler:** BRAF, CD271, İmmünohistokimya, İnvaziv melanom, Prognoz faktörler

## Abstract

### Objective

Metastasis and pathological staging are considered the primary prognostic indicators for invasive melanoma (IM). Pathological staging is determined by evaluating tumor size, depth of invasion, ulceration, and mitotic index. Our study aims to explore the relationship between the prognosis of BRAF V600E and CD271 and their immunohistochemical expressions, as well as clinicopathological parameters.

### Materials and Methods

Our study analyzed 47 cases of IM that were observed between December 2010 and May 2017 at Süleyman Demirel University's Department of Pathology. These cases were assessed using BRAF V600E and CD271 markers, and their correlation with primary and metastatic IM, as well as survival rates, were examined using immunohistochemical analysis. We also investigated the relationship between referral, lymphocytic infiltration, pigmentation, mitosis, Breslow depth, lack of metastasis screening, age, gender, and survival to provide a comprehensive understanding of the factors that may influence the disease progression and patient outcomes.

## Results

The age of the primary IM patients ranged from 35 to 93 years old, with an average of  $64.12 \pm 20.35$  years. The age of the metastatic IM patients ranged from 35 to 89 years old, with an average of  $69 \pm 13.42$  years. Our analysis did not reveal any statistically significant differences in age between these two groups. Significant statistical differences were observed between primary IM and metastatic IM in terms of ulceration and mitotic index. However, there were no significant differences between these two groups in Breslow tumor thickness, lymphocytic infiltration, pigmentation, or the expression of CD271 and V600E. In terms of survival, statistically significant differences were observed in relation to Breslow tumor thickness, ulceration, and the intensity of BRAF V600E expression, as well as between individuals with and without expression of BRAF V600E, specifically in cases with a 3+ expression intensity. No significant differences were observed in relation to gender, pigmentation, BRAF V600E percentage of expression, CD271 expression intensity, or survival. We did not determine a statistically significant difference between primary and metastatic IM groups and survival in terms of CD271 expression severity and percentage in our study.

## Conclusion

In summary, our findings suggest that the expression of BRAF V600E is associated with prognosis, with patients without this expression exhibiting a higher survival rate. However, our results indicate that the survival rate decreases as the intensity of expression increases.

**Keywords:** BRAF, CD271, immunohistochemistry, invasive melanoma, prognostic factors

## Giriş

İnvaziv melanom (İM) nöroektodermal kökenli pigment üreten melanositlerin malignitesi olarak tanımlanmaktadır (1, 2). İM insidansı tüm dünyada diğer tümörlerden daha hızlı şekilde artmaktadır. Her yıl tüm dünyada 160.000 yeni vaka tanı alırken 48.000 ölüm rapor edilmektedir (3). Erken evre primer İM tanı için yapılan cerrahi rezeksiyon sıklıkla tedavi edicidir, fakat lokal metastazı olan hastalarda prognoz daha kötü seyredebilmektedir. Uzak metastazlı hastalarda sağkalım ve konvansiyonel kemoterapiye yanıt pek

bildirilmemiştir (4). Melanositik biyolojide hızla anlaşılan buluşlarda yeni moleküler testlerin geliştirilmesiyle tümör prognozu ve sınıflandırılmasının daha iyi anlaşılmasına olanak sağlamaktadır (5). İM'lerin melanositlerdeki genetik anormalliklerin birikiminden kaynaklanan genetik kompleks bir hastalık olduğunun kanıtları da günden güne artmaktadır. İM'lerin çoğunda mitoz aktive eden protein kinaz (MAPK) yolağının hiperaktivasyonunun invazyon, sağkalım ve hücre proliferasyon regülasyonunda kritik oyuncu olduğu tanımlanmıştır (6). En sık görülen mutasyon BRAF proteininde 600. dizideki valinin yerine glutamik asi-



din geçmesiyle (V600E) oluşan mutasyonudur. Bu mutasyonla kinaz aktive olarak kalır (7). Primer İM'lerde %33-%47 oranında ve metastatik İM'lerde %41-55 oranında BRAF onkogenini aktive eden mutasyon vardır (7, 8).

İM'lerin tümörögenezi ve metastazında, tümörün oluşup yayılmasına neden olan kendini sürekli yenileyen kanser kök hücrelerinin etkili olduğu anlaşıldı (1, 9). İM nöral krest kök hücrelerinden köken alan melanositlerin fenotipik özelliklerini gösterirler (1, 10).

CD271, düşük afiniteli sinir büyüme faktörü reseptörüdür. p75 ve sinir büyüme faktörü reseptörü (NGF-R) adlarıyla da bilinmektedir. Düşük afiniteli sinir büyüme faktörü reseptörü nöral krestten köken alan hücrelerin yüzeyinde ekspresyon edilirler. Birçok nöral tümörde CD271 ekspresyonu gösterilmiştir (11, 12). CD271, tümör kök hücre belirteçlerindedir. CD271 ekspresyon eden tümörler CD271 negatif olan İM'lerden daha yüksek metastaz potansiyeli ve daha kötü prognoza sahiptir (9). Özellikle CD271 ekspresyonu gösteren İM'lerde beyin metastazı artmış ve CD271 ekspresyonu kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir (1).

Bu çalışma ile Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış primer ve metastatik İM olgularında BRAF V600E ve CD271 ekspresyonunun immünohistokimyasal yöntemle belirlenmesi, prognostik faktörler ve sağkalım ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmada Süleyman Demirel Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Aralık 2010 - Mayıs 2017 tarihleri arasında tanı almış 47 İM olgusu incelendi. Bu olgulara BRAF V600E ve CD271 belirleyicileri uygulandı. Bu belirteçlerin primer ve metastatik İM'lerde ve sağkalım ile ilişkisi immünohistokimyasal yöntemle araştırıldı. Ayrıca primer ve metastatik İM'lerin ülser, lenfositik infiltrasyon, pigmentasyon, mitoz, Breslow kalınlığı, metastaz yapısı yapmaması, yaş, cinsiyet ve sağkalım ile ilişkisi araştırıldı.

%10'luk formalin solüsyonu ile tespit edilmiş dokulara ait tüm hematoksilin&eoazin (H&E) boyalı kesitler arşivden çıkarıldı. Bunlar incelenerek uygun İM odaklarını içeren kesitler belirlendi. Seçilen kesitlere ait rutin doku takibi ile hazırlanmış parafin bloklar tespit edildi. Parafin bloklardan Poly-L-Lysine ile kaplı lamlara 5 µm kalınlığında kesitler alınıp sonrasında avidin-biyotin peroksidaz İHK'sal olarak BRAF V600E (Ventana, Mouse Monoclonal Antibody, clone VE1, kullanıma

hazır form), CD271 (LSBio, Rabbit Monoclonal Antibody, clone EP1039Y, 1:100) boyandı. Bu çalışma Helsinki Deklarasyonuna göre yapılmıştır.

## Değerlendirme

Çalışmadaki histolojik değerlendirmede olgulara ait bütün H&E boyalı preparatlar, ışık mikroskopunda incelendi. Olgulara ait klinik bilgiler patoloji ve onkoloji rapor arşivinden elde edildi. Breslow kalınlığı da aynı mikroskopta mikrometre ile  $\leq 1$ mm, 1.01–2.0 mm, 2.01–4.0 mm ve  $>4$  mm olarak sınıflandırıldı. Ülser var ya da yok olarak belirtildi. Mitoz, x40'luk büyütmede mitotik figürlerin en çok olduğu alandan başlayarak 1mm<sup>2</sup>'ye tamamlanana kadar sayıldı. Pigmentasyon var ya da yok olarak belirtildi. Lenfositik infiltrasyon var ya da yok belirtildi. Her bir İHK'sal boya için eksternal kontrol preparatları hazırlandı.

BRAF V600E ekspresyonu değerlendirilirken, sitoplazmik boyanma esas alındı. Boyanmanın en yüksek olduğu alan belirlenerek yüzde oranı verildi. Boyanma yüzde ve şiddet olarak gruplara ayrıldı. Şiddet olarak 0, 1+ (zayıf pozitif), 2+ (orta şiddette pozitif), 3+ (kuvvetli pozitif) yüzde olarak  $<10$ , %10-50,  $>50$  şeklinde değerlendirildi (13).

CD271 ekspresyonu değerlendirilirken, sitoplazmik boyanma esas alındı. Boyanmanın en yüksek olduğu alan belirlenerek yüzde oranı verildi. Boyanma yüzde ve şiddet olarak gruplara ayrıldı. Şiddet olarak 0, 1+ (zayıf pozitif), 2+ (orta şiddette pozitif), 3+ (kuvvetli pozitif) yüzde olarak  $<10$ , %10-50,  $>50$  şeklinde değerlendirildi (14).

## İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmanın verileri SPSS 14.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, America) programına yüklendi. Verilerin değerlendirilmesinde 2x2 düzenlerde Ki-kare, çok gözlü düzenlerde Ki-kare testi, Kaplan-Meier analizi kullanıldı. Verilerimiz tablolarda olgu sayısı ve yüzdesi şeklinde belirtilip yanılma düzeyi 0,05 olarak alındı.

## Bulgular

Primer İM'si olan bireylerin yaşları 35-93 arasında değişmekte olup ortalama  $64,12 \pm 20,35$ , metastatik İM grubundaki bireylerin yaşları 35-89 arasında değişmekte olup ortalama  $69 \pm 13,42$  idi. Yaş yönünden iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p:0,310$ ;  $p<0,05$ ). Primer İM'si olan bireylerin 10'u (%58,9) erkek, 7'si (%41,1) kadın, metastatik İM grubundaki bireylerin 19'u (%62,4) erkek, 11'i (%36,6) kadın olup cinsiyet yönünden gruplar arası fark anlamlı bulunmadı ( $p:0,760$ ) (Tablo 1).

The American Joint Committee on Cancer (AJCC)

Tablo 1

Primer ve metastatik İM'lerde klinik ve histolojik parametrelerin karşılaştırılması

| Özellikler           | Primer İM<br>n=17      | Metastatik İM<br>n=30     | P değeri |
|----------------------|------------------------|---------------------------|----------|
| <b>Cinsiyet</b>      |                        |                           |          |
| Kadın (%)            | 7 (%41,1)              | 11 (%36,6)                | 0,760    |
| Erkek (%)            | 10 (%58,9)             | 19 (%62,4)                |          |
| <b>Yaş</b>           |                        |                           |          |
| ortalama             | 64,12                  | 69                        | 0,310    |
| ortanca              | 59                     | 71,5                      |          |
|                      | Primer İM<br>n= 17 (%) | Metastatik İM<br>n=11 (%) | P değeri |
| <b>Ülser</b>         |                        |                           |          |
| Var                  | 10 (%58,8)             | 11 (%100)                 | 0,000    |
| Yok                  | 7 (% 41,2)             | 0 (% 0)                   |          |
|                      | Primer İM<br>n= 17 (%) | Metastatik İM<br>n=11 (%) | P değeri |
| <b>Mitoz</b>         |                        |                           |          |
| < 2/ mm <sup>2</sup> | 2 (% 11,8)             | 0 (% 0)                   | 0,02     |
| ≥ 2/ mm <sup>2</sup> | 15 (% 88,2)            | 11 (% 100)                |          |

ye göre primer İM'lu hastaların 1'i (%5,8) Evre 1A, 1'i (%5,8) Evre 1B, 4'ü (%23,5) Evre 2A, 3'ü (%17,6) Evre 2B, 8'i (%47) Evre 2C bireylerden oluşurken metastatik İM'lu bireylerin 9'u (%30) Evre 3 iken, 21'i (%70) Evre 4'ten oluşmaktaydı (Bu parametrede Khi-kare dağılışı ile ilgili varsayımlar yerine getirilemediğinden test istatistiğine ait sonuçlar verilememiş ve yüzdeler ile açıklanmıştır). Primer İM'lerin hepsi kutanöz İM'lerdir. Evre 3 ve Evre 4 İM hastalarının 11'inin primeri kutanöz kaynaklıdır, 19'unun primerinin tanısına ait bilgi bulunmamaktadır.

**Ülser:** Primer İM'lerde 7 olguda (%41,2) ülser bulunmazken, 10 olguda (%58,8) ülser görüldü. Metastatik İM'lerde 0 olguda (%0) ülser bulunmazken, 11 olgunun tamamında (%100) ülser görüldü. Primer ve metastatik İM'lar, ülser yönünden karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p:0,000) (Tablo 1).

**Mitoz:** Primer İM'lerde <2/mm<sup>2</sup> mitoz görülen 2 olgu (%11,8), ≥2/mm<sup>2</sup> mitoz görülen 15 olgu (%88,2) saptandı. Metastatik İM'lerde <2/mm<sup>2</sup> mitoz görülen 0 (%0), ≥2 /mm<sup>2</sup> mitoz görülen 11 olgu (%100) bulunmaktaydı. Primer ve metastatik İM'ler mitoz yönünden karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı pozitif

doğrusal bir ilişki vardır (p:0,02) (Tablo 1).

**Breslow kalınlığı:** Primer İM'lerde Breslow kalınlığı < 1.0 mm olan 2 olgu (%11,8), 1.01–2.0 mm olan ve 2.01–4.0 mm olan 3'er olgu (%17,6) ve > 4 mm olan 9 olgu (%52,9) bulunmaktaydı. Metastatik İM'lerde ise ≤ 1.0 mm olan 0 olgu (%0), 1.01–2.0 mm ve 2.01–4.0 mm olan 1'er olgu (%10) ve > 4 mm olan 8 olgu (%80) bulunmaktaydı. Primer İM'lerde ve metastatik İM'lerde, Breslow kalınlığı yönünden karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,358).

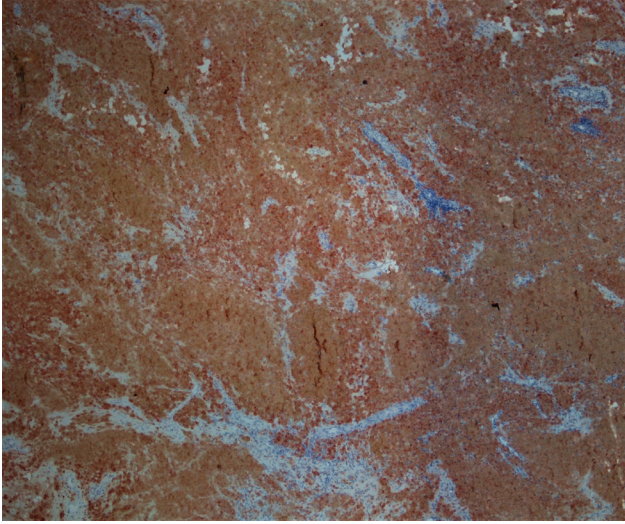
**Lenfositik infiltrasyon:** Primer İM'lerde lenfositik infiltrasyon yapan 5 olgu (%29,4), lenfositik infiltrasyon yapmayan 12 olgu (%70,6) bulunmaktaydı. Metastatik İM'lerde lenfositik infiltrasyon yapan 3 olgu (%30) lenfositik infiltrasyon yapmayan 7 olgu (%70) bulunmaktaydı. Primer ve metastatik İM'lerde lenfositik infiltrasyon yönünden karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,974).

**Pigmentasyon:** Primer İM'lerde pigmentasyon olan 4 olgu (%23,5), pigmentasyon olmayan 13 olgu (%76,5) bulunmaktaydı. Metastatik İM'lerde ise pigmentasyon olan 4 olgu (%36), pigmentasyon olmayan 7 olgu

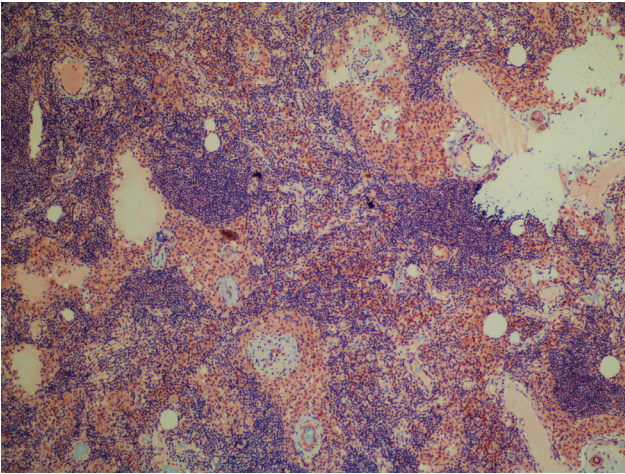
(%64) bulunmaktaydı. Primer İM'lerde ve metastatik İM'lerde pigmentasyon yönünden karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,376).

**BRAF V600E ekspresyonu:** Primer İM'lerde BRAF V600E ekspresyonu şiddeti negatif olan 4 olgu (%23,5), 1+ olan 3 olgu (%17,6), 2+ olan 6 olgu (%35,3), 3+ olan 4 olgu (%23,5) bulunmaktaydı. Metastatik İM'lerde BRAF V600E ekspresyonu şiddeti 0 olan 9 olgu (%30), 1+ olan 7 olgu (%23,3), 2+ olan 6 olgu (%20), 3+ olan 8 olgu (%26,6) bulunmaktaydı. Primer İM'lerde ve metastatik İM'lerde BRAF V600E ekspresyonu şiddeti açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,803) (Resim 1 ve 2).

Primer İM'lerde BRAF V600E ekspresyon yüzdesi



**Resim 1**  
Metastatik lenf nodunda 2+ BRAF V600E boyanması (H&E x40)



**Resim 2**  
Metastatik lenf nodunda 1+ BRAF V600E boyanması (H&E x40)

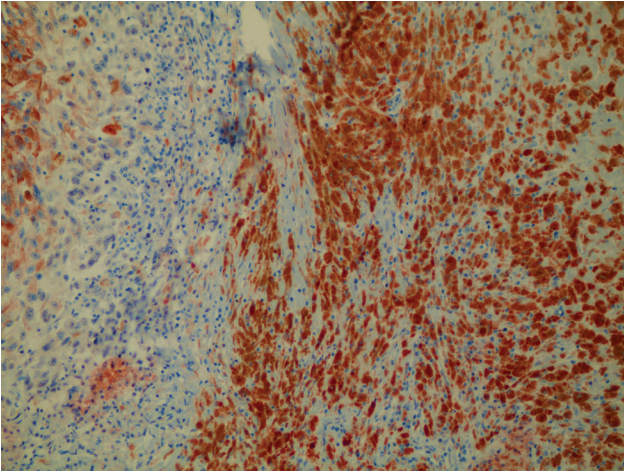
negatif olan 4 olgu (%23,5), <%10 olan 0 olgu (%0), %10-50 olan 3 olgu (%17,6), >%50 olan 10 olgu (%58,8) bulunmaktaydı. Metastatik İM'lerde BRAF V600E ekspresyonu yüzdesi % 0 olan 9 (%30), <%10 olan 2 (%6,6), %10-50 olan 6 (%20), >%50 olan 13 (%43,3) olgu bulunmaktaydı. Primer ve metastatik İM'lerde BRAF V600E ekspresyonu yüzdesi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,602).

Primer ve metastatik İM'lerde her olguda BRAF V600E ekspresyonu şiddeti (negatif, 1+, 2+, 3+ ) BRAF V600E ekspresyonu yüzdesi ( negatif, < %10, %10-50, > %50) sırasıyla 0, 1, 2, 3 şeklinde puanlanmıştır. Her olgu kendi içinde puanları toplanarak istatistiksel olarak bakılmıştır. Primer İM'lerde BRAF V600E ekspresyonu şiddeti ve yüzdesi toplam puanı 0 olan 4 olgu (%23,5), 2 olan 0 olgu (%0), 3 olan 2 olgu (% 11,8), 4 olan 1 olgu (% 5,9), 5 olan 7 olgu (%41,1), 6 olan 3 olgu (%17,6) bulunmaktaydı. Metastatik İM'lerde BRAF V600E ekspresyonu şiddeti ve yüzdesi toplam puanı 0 olan 8 olgu (%26,7), 2 olan 1 olgu (%3,3), 3 olan 2 olgu (%6,6), 4 olan 8 olgu (%26,7), 5 olan 7 olgu (%23,3), 6 olan 4 olgu (%13,3) bulunmaktaydı. Primer ve metastatik İM'lerde BRAF V600E ekspresyonu şiddeti ve yüzdesi toplam puan açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,456).

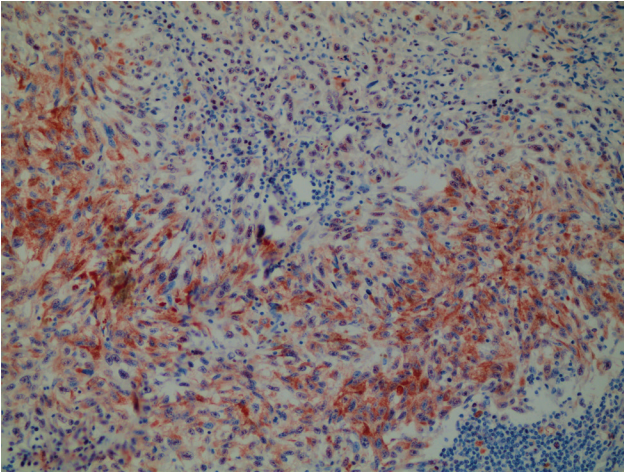
**CD271 ekspresyonu:** Primer İM'lerde CD271 ekspresyonu şiddeti negatif olan 1 olgu (%5,9), 1+ olan 1 olgu (%5,9), 2+ olan 5 olgu (%29,4), 3+ olan 10 olgu (%58,8) bulunmaktaydı. Metastatik İM'lerde CD271 ekspresyonu şiddeti 0 olan 2 olgu (%6,6), 1+ olan 3 olgu (%10), 2+ olan 4 olgu (%13,3), 3+ olan 21 olgu (%70) bulunmaktaydı. Primer ve metastatik İM'lerde CD271 ekspresyonu şiddeti açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,837) (Resim 3,4).

Primer İM'lerde CD271 ekspresyon yüzdesi negatif olan 1 olgu (%5,9), <%10 olan 3 olgu (%17,6), %10-50 olan 6 olgu (%35,3), >%50 olan 7 olgu (%41,2) bulunmaktaydı. Metastatik İM'lerde CD271 ekspresyonu yüzdesi %0 olan 2 olgu (%6,6), <%10 olan 3 olgu (%10), %10-50 olan 4 olgu (%13,3), >%50 olan 21 olgu (%70)olgu bulunmaktaydı. Primer ve metastatik İM'lerde CD271 ekspresyonu yüzdesi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,214; p<0,05).

Primer ve metastatik İM'lerde her olguda CD271 ekspresyonu şiddeti (negatif, 1+, 2+, 3+ ve CD271) ekspresyonu yüzdesi (negatif, <%10, %10-50, > %50) sırasıyla 0, 1, 2, 3 şeklinde puanlanmıştır. Her olgu



**Resim 3**  
Metastatik lenf nodunda 3+ CD 271 boyanması (H&E x100)



**Resim 4**  
Metastatik lenf nodunda 2+ CD 271 boyanması (H&E x100)

kendi içinde puanları toplanarak istatistiksel olarak bakılmıştır. Primer İM'lerde CD271 ekspresyonu şiddeti ve yüzdesi toplam puanı 0 olan 1 olgu (%5,9), 2 olan 0 olgu (%0), 3 olan 2 olgu (% 11,8), 4 olan 4 olgu (% 23,5), 5 olan 5 olgu (%29,4), 6 olan 5 olgu (%29,4) bulunmaktaydı. Metastatik İM'lerde CD271 ekspresyonu şiddeti ve yüzdesi toplam puanı 0 olan 2 olgu (%6,6), 2 olan 1 olgu (%3,3), 3 olan 1 olgu (%3,3), 4 olan 5 olgu (%16,6), 5 olan 3 olgu (%10), 6 olan 18 olgu (%60) bulunmaktaydı. Primer ve metastatik İM'lerde BRAF V600E ekspresyonu şiddeti ve yüzdesi toplam puan açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,258).

**Sağkalım Analizleri:** Olguların tanı anından bugüne kadar izlemleri incelendi. Primer İM'si olan bireylerin 1-51 ay arasında izlendiği bunların da 3'ünün (%17,6)

öldüğü, metastatik İM'li bireylerin 1-77 ay arasında izlendiği bunların 7'sinin (% 23,3) öldüğü görüldü.

Primer İM'li ölüm olan 3 bireyin hepsi tanı anında evre 2c olarak değerlendirilirken metastatik İM'li ölüm olan bireylerin 5'i (%71,4) Evre 3, 2'si (%28,5) Evre 4 olarak değerlendirildi. Sağkalım ilişkileri Kaplan-Meier Analizi ile değerlendirildi. Cinsiyet, ülser, mitoz, pigmentasyon, lenfositik infiltrasyon, Breslow kalınlığı, BRAF V600E ekspresyon şiddeti, BRAF V600E ekspresyon yüzdesi, CD271 ekspresyon şiddeti, CD271 ekspresyon yüzdesinin puan olarak değerinin sağkalım ile ilişkisi değerlendirildi.

Kadınların 6'sı (%60), erkeklerin 4'ünde (%40) ölüm olmuştur. Kadın ve erkekler arasında sağkalım ilişkisine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,765; %95 CI:24,512-34,724) (%95 CI: Confidence Interval (Güven Aralığı)).

Breslow kalınlığı  $\leq 1.0$  mm olan 3 olgu, 1.01–2.0 mm olan 3 olgu ve 2.01–4.0 mm olan 4 olgunun hiçbirinde ölen olmazken  $\geq 4$  mm olan 18 olguda 5 olguda (%27,8) ölüm olmuştur. Breslow kalınlığı ile sağkalım ilişkisine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p:0,000; %95 CI: 24,512- 34,724) (Tablo 2).

Ülser olan olguların 5'i (%23,8) ölüm olurken ülser olmayan olgularda ölen yoktur. Ülser ile sağkalım ilişkisine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p:0,02; %95 CI: 24,512- 34,724) (Tablo 2).

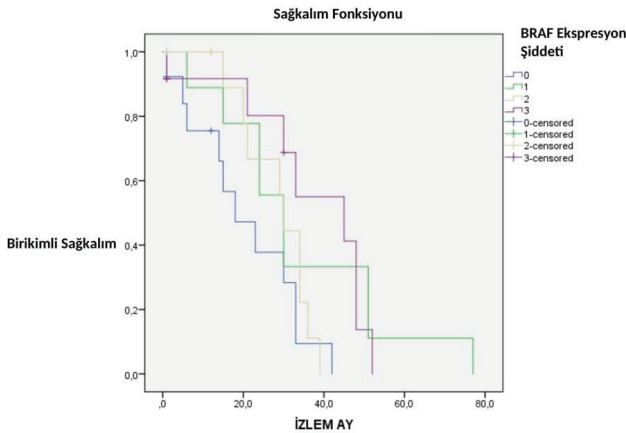
Pigmentasyon olan olguların 1'inde (%12,5) ölüm olurken pigmentasyon olmayan olguların 4'ünde (%20) ölüm olmuştur. Pigmentasyon ile sağkalım ilişkisine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,02; %95 CI: 24,512- 34,724) (Tablo 2).

BRAF V600E ekspresyon şiddeti 0 (0 puan) olan 13 (%), 1+ (1puan) olan 10 (%), 2+ (2 puan) olan 12, 3+ (3 puan) olan 12 olgu bulunmaktaydı. Ölenlerin BRAF V600E ekspresyon şiddetine bakıldığında; şiddeti 0 olan 2 (%15,4), 1+ olan 10 (%10,0), 2+ olan 12 (%25), 3+ olan 12 (%33,3) olgu bulunmaktadır. BRAF V600E ekspresyon şiddeti ile sağkalım ilişkisine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p:0,037; %95 CI: 24,512- 34,724) (%95 CI: Confidence Interval (Güven Aralığı) (Tablo 2 – Şekil 1).

BRAF V600E ekspresyon yüzdesi %0 (0 puan) olan 13, <%10 (1puan) olan 2, %10-50 (2puan) olan 9, >%50 (3puan) olan 23 olgu bulunmaktaydı. Ölenlerin BRAF V600E ekspresyon yüzdesine bakıldığında; %0 olan 2 (%16,7), <%10 olan 0 (%0), %10-50 olan 2 (%22,2), >%50 olan 6 (%26,1) bulunmaktadır. BRAF

Tablo 2 Sağkalım analizleri

| Breslow kalınlığı                    | N  | % 95 CI       | P değeri |
|--------------------------------------|----|---------------|----------|
| ≤ 1 mm                               | 3  |               | 0,000    |
| 1,01 – 2 mm                          | 3  |               |          |
| 2,01 – 4 mm                          | 4  |               |          |
| ≥4 mm                                | 18 |               |          |
| <b>Ülser</b>                         |    |               |          |
| Var                                  | 21 | 16,054-27,664 | 0,02     |
| Yok                                  | 7  | 31,567-47,290 |          |
| <b>Pigmentasyon</b>                  |    |               |          |
| Var                                  | 8  | 6,013-13,239  | 0,668    |
| Yok                                  | 20 | 3,413-21,354  |          |
| <b>BRAF V600E Ekspresyon Şiddeti</b> |    |               |          |
| 0 (Negatif)                          | 13 | 13,04 – 28,22 | 0,037    |
| 1 (1 +)                              | 10 | 19,97 – 48,46 |          |
| 2 (2 +)                              | 12 | 23,29 – 34,03 |          |
| 3 (3 +)                              | 12 | 27,12 – 46,82 |          |



Şekil 1

Sağkalım eğrisi. BRAF V600E ekspresyon şiddeti ile sağkalım ilişkisi.

V600E ekspresyon yüzdesi ile sağkalım karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,066; %95 CI: 24,512- 34,724).

BRAF V600E ekspresyon şiddeti 0 puan olan 13 (%27,6) , 1, 2, 3 puan olan 34 (%72,4) olgu bulunmaktaydı. Ölenlerin BRAF V600E ekspresyon şiddeti; 0 puan olan 2 (%15,4), 1, 2, 3 puan olan 34 (%23,5) bulunmaktadır. BRAF V600E ekspresyon şiddeti ile

sağkalım ilişkisine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p:0,012; %95 CI: 24,512- 34,724).

BRAF V600E ekspresyon şiddeti ve yüzdesi puanları toplamı 3 puan olan 13 (%27,6) , 2, 4, 5, 6 puan olan 34 (%72,3) olgu bulunmaktaydı. Ölenlerde; 3 puan olan 2 (%15,4), 2, 4, 5, 6 puan olan 34 (%23,5) olgu bulunmaktadır. BRAF toplam puan 3 ile sağkalım ilişkisine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p:0,029; %95 CI: 24,512- 34,724).

CD271 ekspresyon şiddeti 0 (0 puan) olan 3 (%6,3), 1+ (1 puan) olan 4 (%8,5), 2+ (2 puan) olan 9 (%19,1), 3+ (3 puan) olan 31 (%65,9) olgu bulunmaktadır. Ölenlerin CD271 ekspresyon şiddeti; şiddeti 0 olan 0 (%0), 1+ olan 2 (%50), 2+ olan 2 (%22,2), 3+ olan 6 (%19,4) olgu vardır. CD271 ekspresyon şiddeti ile sağkalım ilişkisine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,520; %95 CI: 24,512- 34,724).

CD271 ekspresyon yüzdesi %0 (0 puan) olan 3 (%6,3), <%10 (1puan) olan 6 (%12,7), %10-50 (2 puan) olan 10 (%21,3), >%50 (3 puan) olan 28(%59,6) olgu bulunmaktadır. Ölenlerin CD271 ekspresyon yüzdesi; %0 olan 0 (%0), <%10 olan 2 (%33,3), %10-50 olan 2 (%20), >%50 olan 6 (%21,4) olgu vardır. CD271 ekspresyon yüzdesi ile sağkalım karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,231; %95 CI: 24,512- 34,724).

## Tartışma

İM tüm deri kanserlerinin %4-5'ini ve deri kanserlerine bağlı ölümlerin de %75'ini oluşturmaktadır (2, 15). Uzak metastazlı İM hastaları tipik olarak kötü prognoza sahiptir ve beş yıllık sağkalım oranları yaklaşık % 16 ve medyan sağkalım bir yıldan azdır (16). I. ve II. evre İM'lerde prognostik faktörler: güçlü prognostik olanlar (sağkalım açısından bağımsız prediktif faktörler): Breslow tümör kalınlığının artması, ülser varlığı, mitotik indeksin artması; zayıf prognostik faktörler; yaşın artması, erkek cinsiyet, baş-boyun lokalizasyonu, Clark level'in artması, yüzeysel dışındaki alt tipler, lenfovasküler invazyon varlığı, perinöral invazyon varlığı, regresyonun olması tümörü infiltrate eden lenfositlerin olmaması olarak sınıflandırılabilir (17). Literatürde yer alan diğer çalışmalarda ise CD271 ekspresyonunun İM'nin prognostik faktörlerinden olan Breslow kalınlığı, Clark level, sentinel lenf nodu durumu, patolojik evresi, rekürens, ölüm ile önemli bir korelasyonu gösterilememiştir (1, 9).

Primer İM'lerde ve metastatik İM'lerde BRAF V600E ekspresyonu şiddeti açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Literatürde, konu hakkında birbiriyle çelişen veriler yer almaktadır. Ancak, Bhandaru ve arkadaşları AJCC evre I'den evre III'e ilerledikçe yüksek BRAF ekspresyonunun anlamlı şekilde arttığını ve evre III'den IV'e ilerledikçe anlamlı şekilde azaldığını bildirmişlerdir (18). Chen ve arkadaşları lenf nodu metastazı ile BRAF mutasyonu arasında anlamlı ilişki bildirmişlerdir (19). Shinozaki ve arkadaşları eşzamanlı lenf nodu metastazı ile ilişkili primer tümörlerde BRAF mutasyon sıklığı biraz daha yüksek bulurken, lenf nodu metastazı olmayan primer İM'lere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlardır (20). Bunun aksine Eigentler ve arkadaşları ilk tanıdaki tümör evresi ile BRAF mutasyonu arasında anlamlı ilişki olduğunu bildirmişlerdir (21).

Primer İM'lerde ve metastatik İM'lerde lenfositik infiltrasyon yönünden karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Lenfosit infiltrasyonu ile tümör hücreleri tipi, pigmentasyon, atipi, mitotik sayı ve hastanın cinsiyeti ve yaşı arasında anlamlı bir ilişki gösteremedik. Başka bir çalışmada invazyon seviyesi, tümör tipi ve lenfosit infiltrasyonu arasında bizim çalışmamıza benzer şekilde anlamlı bir ilişki bulunmadığını belirtmişlerdir (22).

Primer İM'lerde ve metastatik İM'lerde CD271 ekspresyonu şiddeti ve yüzdesi açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Fakat CD271 ekspresyonunun şiddet ve yüzdesinin toplam puan olarak değerlerine bakıldığında

da en yüksek puan olan 6 puanı alan olgu sayısının primer İM'lerde % 29,4 oranında, metastatik İM'lerde % 60 oranında bulduk. Bu durumda yeterli olgu sayısında metastatik İM'lerde CD271 ekspresyonunun daha fazla olduğu görülebilir. Guo ve arkadaşları yine bizim çalışmamızda olduğu gibi primer ve metastatik İM'lerde CD271 ekspresyonu arasında fark bulmamışlardır (1). Mohamed ve arkadaşları bizim çalışmamıza benzer şekilde, CD271 ile Breslow, evre, lenf nodu durumu ile ya da sağkalım ile ilişki bulamamışlardır (9). CD271'in nörotropik invaziv İM'lerde eksprese edildiğini, buna karşın perinöral invazyonu olmayan invaziv İM'lerde CD271 ekspresyonu bulunmadığını gösteren çalışmalar vardır (23). Ayrıca İM'lerde CD271 pozitif olanların daha invaziv olduğu ve beyin invazyonunun sık olduğu bilinmektedir (11). Bizim çalışmamızda da primer İM'lerde CD271 pozitif olan olgularda CD271 pozitifliğini tümörün daha derin alanlarında daha fazla olduğunu ya da ekspresyon şiddetinin arttığını gözlemledik. Ayrıca metastatik ve primer İM'lerde büyük damarların çevresine ve perinöral invazyon alanlarında CD271 ekspresyon şiddetinin diğer alanlardan daha fazla olduğunu beyin invazyonu yapan vakaların hepsinde de CD271 ekspresyonu olduğunu gözlemledik.

BRAF V600E ile CD271 arasında ekspresyon şiddeti ve yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı. CD271 ekspresyonunun invaziv tümörlerle ilişkilendirilmesi tam aksine BRAF V600E'nin evre III'den evre IV'e geçerken ekspresyonun azaldığını gösterilmesi bu iki belirtecin invazyon ve metastaz üzerinde benzer etkisinin olmadığını göstermektedir (11,18).

BRAF V600E ekspresyon şiddeti ile sağkalım ilişkisine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu. BRAF ekspresyonunun bağımsız bir prognostik faktör olmadığını gösteren veriler de yer almaktadır (6, 18, 20, 24).

CD271 ekspresyon şiddeti ile sağkalım ilişkisine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. CD271 ekspresyon yüzdesi ile sağkalım karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken; Beretti ve arkadaşları CD271 ve sağkalım arasında önemli ilişki bildirdiler (10). Gambichler ve arkadaşları CD271 ile yaş arasında negatif ölümle pozitif korelasyon bildirmişlerdir (25).

Bu verilere ilave olarak çalışmamızda, primer ve metastatik İM'lerde arasında ülser varlığı ve mitoz sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Metastatik İM'lerde hepsinde ülser tespit ettik. Bu durum metastatik İM gelişene kadar ülserasyonun da olduğu şeklinde ya da ülserasyon olanlar da metas-

taz gelişmesinin daha kolay olduğu şeklinde yorumlanabilir. Ülserasyonun tek başına İM'nin prognostik bir faktörü olduğu bilinmektedir (26). Mitoz sayısında ile pozitif doğrusal bir ilişki vardır mitoz sayısı arttıkça lokal İM'den metastatik İM'ye ilerlemektedir. Tümör kalınlığı arttıkça mitotik indeks arttığını gösteren çalışmalar vardır aynı zamanda mitoz metastatik İM'li hastalarda prognozu etkilemektedir (17).

Çalışmamızda Breslow tümör kalınlığı ile primer ve metastatik İM'lerde arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Fakat primer İM'lerde tümör kalınlığı  $\geq 4$ mm olanlar %52,9 iken metastatik İM'lerde bu oran % 82'dir. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da yeterli olgu sayısı sağlandığında aradaki orantısal fark göz önüne alındığında metastatik İM'lerde tümör kalınlığının daha fazla olduğunu görebiliriz.

Çalışmamızda pigmentasyon varlığı ve tümöre lenfositik infiltrasyon açısından primer ve metastatik İM grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Fakat lenfositik infiltrasyon ve pigmentasyon varlığının her iki grupta da benzer oranlarda ve aynı vakalarda olması lenfositik infiltrasyonun pigmentasyon olan olgularda olduğunu düşündürdü. Ancak bununla ilgili daha çok olgu sayısı olan çalışmalar yapılması fayda sağlayacaktır.

Çalışmamızda cinsiyet, pigmentasyon varlığı açısından sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki belirlemedik. Fakat Breslow kalınlığı ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulduk ve Breslow kalınlığı arttıkça sağkalım oranları düşmektedir. Ülser varlığı ve sağkalım arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulduk. Ülser olanlarda sağkalım oranlarının düştüğünü belirledik.

## Sonuç

Çalışmamızda CD271 ekspresyon şiddeti ve yüzdesi açısından primer ve metastatik İM gruplarında ve sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlemedik. Fakat CD271 ekspresyonunun şiddet ve yüzdesinin toplam puan olarak değerlerine bakıldığında en yüksek puan olan 6 puanı alan olgu sayısının primer İM'lerde % 29,4 oranında, metastatik İM'lerde % 60 oranında olduğunu belirledik.

Çalışmamızda BRAF V600E ekspresyon şiddeti ve yüzdesi açısından primer ve metastatik İM gruplarında istatistiksel olarak anlamlı sonuç çıkmadı ve her grupta benzer şiddet ve yüzde oranlarında ekspresyon görüldü. Fakat BRAF V600E ekspresyonunun sağkalımla istatistiksel olarak anlamlı ilişkisini bulduk. Ayrıca BRAF V600E ekspresyonu olmayanlarla şid-

deti ne olursa olsun ekspresyon olanlar arasında da sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Bu durum da BRAF V600E ekspresyonunun evreden bağımsız bir prognostik faktör olabileceğini gösterebilir.

## Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

## Etik Kurul Onayı

Çalışma için gerekli etik kurul onayı, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nda 28.09.2016 tarihinde 154 karar no'lu rapor ile alındı. Çalışma Helsinki Deklarasyonuna uygun olarak yürütülmüştür.

## Bilgilendirilmiş Onam

Çalışmada yer alan tüm bireylerden bilgilendirilmiş onam ve verilerin yayınlaması için yazılı izin alınmıştır.

## Finansman

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinasyon Birimi tarafından 4811-TU1-16 proje numarası ile desteklenmiştir.

## Verilerin Ulaşılabilirliği

Tüm veriler makalede mevcuttur.

## Yazar Katkıları

N.K: Çalışmanın planlanması, metodoloji, makalenin yazılması, finansman eldesi, kaynakların sağlanması, A.U: Çalışmanın planlanması; Verilerin İşlenmesi; Formal Analizler; Araştırma; Metodoloji; Görselleştirme; Makalenin Yazımı.

## Kaynaklar

1. Guo R, Fierro-Fine A, Goddard L, Russell M, Chen J, Liu CZ, et al. Increased expression of melanoma stem cell marker CD271 in metastatic melanoma to the brain. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(12):8947-51.
2. Schadendorf D, Fisher DE, Garbe C, Gershenwald JE, Grob J-J, Halpern A, et al. Melanoma. *J Nat Rev Dis Primers.* 2015;1(1):1-20.
3. Eggermont AM, Spatz A, Robert C. Cutaneous melanoma. *Lancet.* 2014;383(9919):816-27.
4. Akbani R, Akdemir KC, Aksoy BA, Albert M, Ally A, Amin SB, et al. Genomic classification of cutaneous melanoma. *J Cell.* 2015;161(7):1681-96.
5. Cooper C, Sorrell J, Gerami P. Update in molecular diagnostics in melanocytic neoplasms. *Adv Anat Pathol.* 2012;19(6):410-6.
6. Rutkowski P, Gos A, Jurkowska M, Switaj T, Dzierwinski W, Zdzienicki M, et al. Molecular alterations in clinical stage III cutaneous melanoma: Correlation with clinicopathological features and patient outcome. *Oncol Lett.* 2014;8(1):47-54.
7. Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, Haydu LE, Hamilton AL, Mann GJ, et al. Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. *J Clin Oncol.* 2011;29(10):1239-46.

8. Mar VJ, Liu W, Devitt B, Wong SQ, Dobrovic A, McArthur GA, et al. The role of BRAF mutations in primary melanoma growth rate and survival. *Br J Dermatol.* 2015;173(1):76-82.
9. Mohamed A, Gonzalez RS, Lawson D, Wang J, Cohen C. Tumor stem cells (CD271, c-kit, SOX10) in Melanomas: prognostic and outcome implications. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2014;22(2):142-5.
10. Beretti F, Manni P, Longo C, Argenziano G, Farnetani F, Cesinaro A, et al. CD271 is expressed in melanomas with more aggressive behaviour, with correlation of characteristic morphology by in vivo reflectance confocal microscopy. *J British Journal of Dermatology.* 2015;172(3):662-8.
11. Marconi A, Borroni RG, Truzzi F, Longo C, Pistoni F, Pellacani G, et al. Hypoxia-Inducible Factor-1 $\alpha$  and CD 271 inversely correlate with melanoma invasiveness. *J Experimental Dermatology.* 2015;24(5):396-8.
12. Sigal AC, Keenan M, Lazova R. P75 nerve growth factor receptor as a useful marker to distinguish spindle cell melanoma from other spindle cell neoplasms of sun-damaged skin. *J The American Journal of dermatopathology.* 2012;34(2):145-50.
13. Hugdahl E, Kalvenes MB, Puntervoll HE, Ladstein RG, Akslen LA. BRAF-V600E expression in primary nodular melanoma is associated with aggressive tumour features and reduced survival. *J British journal of cancer.* 2016;114(7):801-8.
14. Lazova R, Tantcheva-Poor I, Sigal AC. P75 nerve growth factor receptor staining is superior to S100 in identifying spindle cell and desmoplastic melanoma. *J Journal of the American Academy of Dermatology.* 2010;63(5):852-8.
15. Shenenberger DW. Cutaneous malignant melanoma: a primary care perspective. *Am Fam Physician.* 2012;85(2):161-8.
16. Evans RD, Kopf AW, Lew RA, Rigel DS, Bart RS, Friedman RJ, et al. Risk factors for the development of malignant melanoma—I: Review of case-control studies. *J The Journal of dermatologic surgery.* 1988;14(4):393-408.
17. Bartlett EK, Karakousis GC. Current staging and prognostic factors in melanoma. *Surg Oncol Clin N Am.* 2015;24(2):215-27.
18. Bhandaru M, Ardekani GS, Zhang G, Martinka M, McElwee KJ, Li G, et al. A combination of p300 and Braf expression in the diagnosis and prognosis of melanoma. *BMC Cancer.* 2014;14(1):398.
19. Chen G, Dudley J, Tseng LH, Smith K, Gurda GT, Gocke CD, et al. Lymph node metastases of melanoma: challenges for BRAF mutation detection. *Hum Pathol.* 2015;46(1):113-9.
20. Shinozaki M, Fujimoto A, Morton DL, Hoon DS. Incidence of BRAF oncogene mutation and clinical relevance for primary cutaneous melanomas. *Clin Cancer Res.* 2004;10(5):1753-7.
21. Eigentler T, Assi Z, Hassel JC, Heinzerling L, Starz H, Berneburg M, et al. Which melanoma patient carries a BRAF-mutation? A comparison of predictive models. *J Oncotarget.* 2016;7(24):36130.
22. Larsen TE, Grude TH. A Retrospective Histological Study of 669 Cases of Primary Cutaneous Malignant Melanoma in Clinical Stage I: 3. The Relation between the Tumour-Associated Lymphocyte Infiltration and Age and Sex, Tumour Cell Type, Pigmentation, Cellular Atypia, Mitotic Count, Depth of Invasion, Ulceration, Tumour Type and Prognosis. *J Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section A Pathology.* 1978;86(1-6):523-30.
23. Chan MM, Tahan SR. Low-affinity nerve growth factor receptor (P75 NGFR) as a marker of perineural invasion in malignant melanomas. *J Journal of cutaneous pathology.* 2010;37(3):336-43.
24. Kumar R, Angelini S, Czene K, Sauroja I, Hahka-Kemppinen M, Pyrhonen S, et al. BRAF mutations in metastatic melanoma: a possible association with clinical outcome. *Clin Cancer Res.* 2003;9(9):3362-8.
25. Gambichler T, Petig AL, Stockfleth E, Stucker M. Expression of SOX10, ABCB5 and CD271 in melanocytic lesions and correlation with survival data of patients with melanoma. *Clin Exp Dermatol.* 2016;41(7):709-16.
26. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, Thompson JF, Atkins MB, Byrd DR, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol.* 2009;27(36):6199-206.



# HEMŞİRELERİN GÖĞÜS CERRAHİSİ UYGULAMALARI HAKKINDAKİ BİLGİ DÜZEYLERİ

## KNOWLEDGE LEVEL OF NURSES ABOUT THORACIC SURGERY APPLICATIONS

Hasan Ekrem ÇAMAŞ<sup>1</sup>, Süleyman Emre AKIN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Isparta, TÜRKİYE

**Cite this article as:** Çamaş HE, Akın SE. Hemşirelerin Göğüs Cerrahisi Uygulamaları Hakkındaki Bilgi Düzeyleri. Med J SDU 2023; 30(2): 203-210.

### Öz

#### Amaç

Bu çalışmada bir araştırma ve uygulama hastanesinde çeşitli branşlarda görev alan hemşirelerin göğüs cerrahisi uygulamaları hakkındaki bilgi düzeylerini ölçmek ve bunları etkileyen faktörleri belirlemek amaçlanmıştır.

#### Gereç ve Yöntem

Araştırmanın yapıldığı hastanede aktif görev yapmakta olan hemşireler davet edildi. Evrenin tamamına(N:480) ulaşılması hedeflendi. Gönüllü olan 175(%36) hemşire üzerinde anket çalışması yapıldı. Veriler profesyonel çevrimiçi anket değerlendirme ve oylama platformu aracılığıyla toplandı. Tek değişkenli analizde anlamlı bulunan parametreler lineer regresyon modeline alınarak; etki eden değişkenler değerlendirildi.

#### Bulgular

Ankete katılanların göğüs cerrahisi uygulamaları bilgi düzeyi ortalama puanı 69,8±12,6 olarak tespit edildi. 30 yaşın üzerinde olanların puanı, 30 yaş ve altında olanlardan daha yüksekti(p<0,001). Lisans/ lisansüstü mezunu olanların puanı, lise / ön lisans mezunu olanlardan daha yüksekti(p<0,001). Göğüs cerrahisi kliniğinde çalışmış olanların puanı, çalışmamış olanlardan daha yüksekti(p<0,001). Göğüs cerrahisi kliniğinde

çalışmayı ya da çalışmaya devam etmeyi isteyenlerin puanı, istemeyenlerden daha yüksekti(p<0,001). Tek değişkenli analizde anlamlı bulunan değişkenler (yaş, eğitim durumu, göğüs cerrahisi kliniğinde çalışma durumu, göğüs cerrahisi kliniğinde çalışmayı / çalışmaya devam etmeyi isteme durumu) lineer regresyon modeline alınarak göğüs cerrahisi uygulamaları bilgi düzeyi puanına etki eden değişkenler değerlendirildi. 30 yaşın üzerinde olmanın(p<0,001), göğüs cerrahisi kliniğinde çalışmış olmanın(p<0,001) bilgi düzeyi puanı açısından koruyucu faktörler olabileceği belirlendi.

#### Sonuç

Hemşirelerin göğüs cerrahisi uygulamaları bilgi düzeylerinin istenen seviyede olmadığı saptanmıştır. Göğüs cerrahisi uygulamaları ile ilgili bilgilerin güncellenmesi amacıyla, hemşirelere yönelik kurum içi eğitimler düzenli şekilde, güncel bilgilerle verilmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Bilgi Düzeyi, Göğüs Cerrahisi, Hemşire

#### Abstract

#### Objective

This study, it was aimed to measure the knowledge level of nurses working in various branches in a research and practice hospital about thoracic surgery practices and to determine the factors affecting them.

**Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address:** H.E.Ç. / hasanekremcamas@hotmail.com

**Müracaat tarihi/Application Date:** 31.03.2023 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 17.05.2023

**ORCID IDs of the authors:** H.E.Ç: 0000-0003-0212-0439; S.E.A: 0000-0002-0641-5229

## Material and Method

Nurses working actively in the hospital where the research was conducted were invited. It was aimed to reach the entire universe (N:480). A survey was conducted on 175 (36%) nurses who volunteered. Data were collected through a professional online survey evaluation and voting platform. Parameters found to be significant in univariate analysis were included in the linear regression model; influencing variables were evaluated.

## Results

The mean score of the knowledge level of thoracic surgery practices of the participants was determined as  $69.8 \pm 12.6$ . Those over 30 years of age had a higher score than those aged 30 years and younger ( $p < 0.001$ ). The scores of those with postgraduate/graduate degrees were higher than those with high school/associate degree graduates ( $p < 0.001$ ). The scores of those who worked in the thoracic surgery clinic were higher than those who did not work ( $p < 0.001$ ). The scores of those who wanted to work or continue working in the thoracic surgery

clinic were higher than those who did not ( $p < 0.001$ ). Variables that were found to be significant in the univariate analysis (age, education, working status in the thoracic surgery clinic, willingness to work in the thoracic surgery clinic/willingness to continue working in the thoracic surgery clinic) were included in the linear regression model, and the variables affecting the thoracic surgery practice knowledge level score were evaluated. It was determined that being over 30 years old ( $p < 0.001$ ) and having worked in a thoracic surgery clinic ( $p < 0.001$ ) might be protective factors in terms of knowledge level score.

## Conclusion

It was determined that the knowledge level of nurses on thoracic surgery practices was not at the desired level. In order to update the information about thoracic surgery practices, in-house trainings for nurses should be given regularly with up-to-date information.

**Keywords:** Knowledge Level, Nurse, Thoracic Surgery

## Giriş

Tıp biliminde cerrahi branşlar özellikle 20. yüzyılın ortalarına doğru antibiyotiklerin keşfi ve dünya savaşları ile birlikte gelişmeye başlamıştır. Eric Carlens 1949 yılında çift lümenli entübasyon tüpünü keşfetmiştir. 1962'de Frank Robertshaw'in bugün tercih edilen çift lümenli entübasyon tüp modelini geliştirmesi ile beraber tek akciğer ventilasyonu sağlanabilmiştir. Anestezi alanındaki bu yeniliklerle birlikte göğüs cerrahisi gelişmeye başlamıştır (1).

Ülkemizde ise göğüs cerrahisi 1990'lı yılların başlarında ayrı bir ana bilim dalı olarak çalışmaya başlamıştır. Önceleri genel cerrahi ana bilim dalı içinde daha sonra ise göğüs kalp damar cerrahisi branşı olarak tanımlanmıştır. Göğüs cerrahisi diğer cerrahi birimlere göre nispeten geç gelişim göstermesi ve yakın zamana kadar ayrı bir anabilim dalı olarak çalışmaya başlamaması neticesinde, sağlık çalışanları arasında fazla tanınmayan ve yeterli bilgi düzeyine sahip olunmayan bir bilim dalı olmuştur (2, 3, 4). Bunun yanında şu an için bile sağlık hizmeti veren merkezlerin bazılarında göğüs cerrahisi branşı tam anlamıyla işlev göremektedir. Bu ve benzeri sebeplerden dolayı göğüs cerrahisi diğer uzman hekimler tarafından bile yeterince tanınmamaktadır. Bu durum özellikle daha önce göğüs cerrahisi kliniğinde çalışma deneyimi olmayan

hemşirelerin, göğüs cerrahisi hastalarının klinikteki takip ve tedavilerinde destek ihtiyacı duymasına ve günlük pratikte zorlanmasına sebep olmaktadır. Bunun yanında hemşirelikte branşlaşmanın olmaması, sık görev yeri değişimi gibi etmenler durumu daha da zorlaştırmaktadır. Bu çalışma ile bir hastanede çeşitli branşlarda görev alan hemşirelerin göğüs cerrahisi uygulamaları hakkındaki bilgi düzeylerini ölçmek ve bunları etkileyen faktörleri belirlemek amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışma için Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 02.11.2020 tarih ve 343 sayısı ile etik kurul onayı alınmıştır. Anket uygulaması öncesi, hemşirelere araştırma ile ilgili gerekli bilgilendirmeler yapılmıştır. Araştırmaya dâhil edilme kriterleri; araştırmanın yapıldığı hastanede çalışan hemşire olmak ve katılımcının gönüllü olmasıydı.

Bu çalışmaya 10/11/2020-01/03/2021 tarihleri arasında araştırmanın yapıldığı hastanede aktif görev yapmakta olan hemşireler davet edildi. Evrenin tamamına (N:480) ulaşılması hedeflendi. Gönüllü olan 175 (%36) hemşire üzerinde anket çalışması yapıldı. Göğüs cerrahisi uygulamalarının temel prensiplerini, hasta bakım ve tedavisinde dikkat edilmesi gereken

günlük pratikte sık karşılaşılan konuları kapsayan 30 soruluk anket formu oluşturuldu ve gönüllülere uygulandı.

Veriler profesyonel çevrimiçi anket değerlendirme ve oylama platformu olan www.surveey.com aracılığıyla toplandı. Verilerin toplanmasında kullanılan anket formunun ilk bölümünde hemşirelerin tanıtıcı özelliklerini içeren beş soru, ikinci bölümünde ise; göğüs cerrahisi kliniği ile ilgili bilgi düzeylerini tespit etmeye yönelik 22 soru (Tablo 1) bulunup, cevap şıkları "doğru" ve "yanlış" ifadelerini içermekteydi. Ayrıca anketin son üç sorusu klinik ile ilgili memnuniyeti ve bilgi düzeyini yükseltme konusundaki önerilerini açıklamaya yönelikti. Ankette bulunan 22 bilgi sorusu her soru için 4,54 puan verilerek toplam 100 puan üzerinden değerlendirilmiştir. Anket çalışmasının değerlendirmesi için; 60 ve altı yetersiz, 60-80 arası orta, 80 ve üstü iyi olarak belirlendi. Verilerin analizinde SPSS paket programı kullanıldı.  $p < 0,05$  anlamlı olarak kabul edildi. Tek değişkenli analizde anlamlı bulunan parametreler lineer regresyon modeline alınarak; etki eden değişkenler değerlendirildi.

## Bulgular

Araştırma grubunun %70,8'i 40 yaşın altındaydı ve %73,1'i kadındı. %76'sı lisans/lisansüstü mezunuydu ve %81,1'i yoğun bakım, acil servis veya ameliyathanede çalışmıştı. Grubun %9,1'i 5 yıldan fazla, %14,9'u 1-5 yıl arasında, %13,7'si 1 yıldan az süreyle göğüs cerrahisi kliniğinde çalışmıştı. Araştırma grubunun %40,6'sı göğüs cerrahisi kliniğinde çalışmayı ya da çalışmaya devam etmeyi istiyordu. Araştırma grubunun sosyodemografik ve işle ilgili özelliklere göre dağılımı Tablo 2'de yer almaktadır.

Katılımcıların büyük çoğunluğunu oluşturan kadınların puan ortalamasının erkeklerden yüksek olduğu görülmekle beraber iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı.

30 yaşın üzerinde olanların göğüs cerrahisi uygulamaları bilgi düzeyi puan (GCUBDP) ortalaması  $73,6 \pm 11,4$  idi. Bu grubun puan ortalaması, 30 yaş ve altında olanlardan ( $64,4 \pm 12,5$ ) daha yüksekti ( $p < 0,001$ ). Lisans/ lisansüstü mezunu olanların GCUBDP değeri ( $71,8 \pm 12,0$ ), lise/ön lisans mezunu olanlardan ( $63,6 \pm 12,9$ ) daha yüksekti ( $p < 0,001$ ). Göğüs cerrahisi kliniğinde çalışmış olanların GCUBDP değeri ( $76,4 \pm 11,5$ ) çalışmamış olanlardan ( $65,8 \pm 11,7$ ) daha yüksekti ( $p < 0,001$ ). Göğüs cerrahisi kliniğinde çalışmayı ya da çalışmaya devam etmeyi isteyenlerin GCUBDP değeri ( $73,9 \pm 13,3$ ), istemeyenlerden

( $67,1 \pm 11,5$ ) daha yüksekti ( $p < 0,001$ ). Araştırma grubunun GCUBDP ortalamalarının sosyodemografik ve işle ilgili özelliklere göre dağılımı Tablo 3'de yer almaktadır.

Göğüs cerrahisi kliniğinde çalışmış olanların memnuniyet durumu incelendiğinde katılımcıların (%94) büyük oranda çalışmış olmaktan memnun-çok memnun olduğu saptanmıştır. Memnuniyet durumunun bilgi düzeyinde anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlenmiştir. Tek değişkenli analizde anlamlı bulunan değişkenler (yaş, eğitim durumu, göğüs cerrahisi kliniğinde çalışma durumu, göğüs cerrahisi kliniğinde çalışmayı / çalışmaya devam etmeyi isteme durumu) lineer regresyon modeline alınarak GCUBDP değerine etki eden değişkenler değerlendirildi (Tablo 4).

30 yaşın üzerinde olmanın ( $B=8,4$ , %95 GA=5,0-11,9,  $p < 0,001$ ), göğüs cerrahisi kliniğinde çalışmış olmanın ( $B=9,0$ , %95 GA=4,9-13,1,  $p < 0,001$ ) GCUBDP açısından koruyucu faktörler olabileceği belirlendi.

Anketin sonunda hemşirelere yöneltilen açık uçlu soruya ("Göğüs cerrahisi hemşireliği ile ilgili önerileriniz varsa yazınız?") geri dönüş yapanların %81'i hizmet içi eğitimin ihtiyaç olduğunu ifade etmiştir.

## Tartışma

2012 yılında uzman hekimler üzerinde yapılan anket çalışması sonucunda; hekimler içerisinde göğüs cerrahisi alanı ile ilgili hatalı yorumların olduğu tespit edilmiştir (2). Benzer şekilde bu çalışmada hemşirelerin göğüs cerrahisi uygulamaları hakkındaki bilgi düzeyinin istenen seviyede olmadığı görüldü.

Bu çalışmada katılımcıların %78,9'unun bilgi düzeyinin orta ve iyi derecede olduğu saptanmıştır. Tarhan ve ark.'nın (2016) göğüs cerrahisi uygulamalarıyla ilgili hasta yönetimi konusunda yaptıkları çalışmada, hemşirelerin %55,6'sının bilgi düzeyinin yeterli ve orta derecede olduğu saptanmıştır (5). Çalışmamızda hemşirelerin göğüs cerrahisi klinik uygulamalarıyla ilgili bilgi düzeylerinin orta seviyede olduğu saptanmış olup, bilgi düzeylerinin yükseltilmesi gerektiği açıktır. Yaş durumuna göre bilgi düzeyi incelendiğinde 30 yaş ve üstü grubun puan ortalamasının yüksek olduğu saptanmıştır. Bu durumun mesleki tecrübenin yaş ile artmasına bağlıyoruz.

Eğitim düzeyine göre bilgi düzeyi incelendiğinde, eğitim düzeyi yükseldikçe bilgi puanı artmıştır. Lisans-lisansüstü eğitim alanlarda ortalama bilgi puan ortalaması, lise-ön lisans eğitim alanlara göre daha yüksek

Tablo 1

Göğüs cerrahisi pratik uygulamaları ile ilgili sorular ve cevap dağılımları

| Göğüs cerrahisi pratik uygulamaları ile ilgili sorular   | n         | (%)          |
|--|-----------|--------------|
| <b>Multiple kaburga kırığı olan hastalar hareket ettirilmemelidir.</b>   |           |              |
| Doğru Yanlış   | 139<br>36 | 79,4<br>21,6 |
| <b>Sternum fraktürü olan hasta yan yatırılabilir.</b>  |           |              |
| Doğru Yanlış   | 17<br>158 | 9,7<br>90,3  |
| <b>Post-op göğüs cerrahisi hastasının mümkün olan en kısa sürede oral alımı açılmalı ve mobilizasyonu sağlanmalıdır.</b>   |           |              |
| Doğru Yanlış   | 121<br>54 | 69,1<br>30,9 |
| <b>Pnömotoraks nedeniyle takip edilen hastaya oksijen tedavisi vermek pnömotoraksın rezorbe olmasını hızlandırmaktadır.</b>  |           |              |
| Doğru Yanlış   | 129<br>46 | 73,7<br>26,3 |
| <b>Post-op göğüs cerrahisi hastalarında ilk 24 saatte solunum egzersizine başlanmamalıdır.</b>   |           |              |
| Doğru Yanlış   | 92<br>83  | 52,6<br>47,4 |
| <b>Akciğer rezeksiyonu olan hastaların post-op erken monitorizasyonu ritm bozukluğu ve vital bulgular takibi için önemlidir.</b>   |           |              |
| Doğru Yanlış   | 174<br>1  | 99,4<br>0,6  |
| <b>Plöredez kısaca akciğer zarlarını birbirine yapıştırma işlemidir.</b>   |           |              |
| Doğru Yanlış   | 148<br>27 | 84,6<br>15,4 |
| <b>Osilasyon göğüs tüpü hattındaki sıvının aşağı yukarı gidip gelme hareketidir.</b>   |           |              |
| Doğru Yanlış   | 145<br>30 | 82,9<br>17,1 |
| <b>Drenaj şişesinde hava kabarcıklarının görülmesi hava kaçağının devam ettiğini göstermez.</b>  |           |              |
| Doğru Yanlış   | 46<br>129 | 26,3<br>73,7 |
| <b>Heimlich valf hava ya da sıvının geri dönüşüne engel olmak için kullanılan tek yönlü alettir</b>  |           |              |
| Doğru Yanlış   | 154<br>51 | 88<br>12     |
| <b>Gomco istenen aralıkta ve basınçta aspirasyon sağlayan cihazdır.</b>  |           |              |
| Doğru Yanlış   | 143<br>32 | 81,7<br>18,3 |
| <b>Göğüs tüpü takılan toraks travmalı veya post-op hastalarda drenaj miktarında hızlı artış vasküler yaralanma göstergesi olabilir ve yakın takibi önerilir.</b>   |           |              |
| Doğru Yanlış   | 171<br>4  | 97,7<br>2,3  |
| <b>Plevral efüzyonlu hastalarda su altı drenaj şişesi dolduğu zaman; şişenin üstünde yer alan doldurma deliğinden steril aspiratör sondasını içine yerleştirilerek seviye en az 100'e gelecek şekilde aspire etmek uygundur.</b> |           |              |
| Doğru Yanlış   | 144<br>31 | 82,3<br>17,7 |
| <b>Hastaların mobilizasyonu esnasında su altı drenaj şişeni her zaman diz altında tutması önerilmektedir. Böylece şişe içindeki mayinin toraks boşluğuna kaçması ve enfeksiyon riskini azaltırız.</b>                            |           |              |
| Doğru Yanlış   | 172<br>3  | 92,3<br>1,7  |
| <b>Su altı drenaj şişesinin sürekli dik tutulması sistemin hava almasının engellemek için önerilmektedir.</b>  |           |              |
| Doğru Yanlış   | 161<br>14 | 92<br>8      |
| <b>Göğüs tüpünde hava kaçağı olan hastanın transferi esnasında göğüs tüpü klemlenebilir.</b>   |           |              |
| Doğru Yanlış   | 151<br>24 | 86,3<br>13,7 |

Tablo 1  
Devamı

## Göğüs cerrahisi pratik uygulamaları ile ilgili sorular ve cevap dağılımları- Devamı

| Göğüs cerrahisi pratik uygulamaları ile ilgili sorular  | n         | (%)          |
|---|-----------|--------------|
| <b>Drenaj şişesindeki tüm sıvının steril bir şekilde tamamının boşaltılmasında sakınca yoktur.</b>  |           |              |
| Doğru Yanlış  | 38<br>137 | 21,7<br>78,3 |
| <b>Göğüs tüpü takılan hastalara solunum egzersizi yapılması ağrıyı arttıracığı için önerilmemektedir.</b>   |           |              |
| Doğru Yanlış  | 38<br>137 | 21,7<br>78,3 |
| <b>Göğüs tüpünün bağlı olduğu su altı drenaj şişesinin içindeki sıvı seviyesi en az 100'de olmalıdır ve sıvı takviyesi yapılacaksa %5 dekstroz ile yapılabilir.</b>   |           |              |
| Doğru Yanlış  | 46<br>129 | 26,3<br>73,7 |
| <b>Plevral efüzyon nedeniyle göğüs tüpü takılan hastaların hattaki sıvı aşırı yükseldiyse bağlantı yerindeki kapağı çıkarmak ve şişeye boşaltmak yeterlidir.</b>  |           |              |
| Doğru Yanlış  | 85<br>90  | 48,6<br>51,4 |
| <b>Özellikle pnömotorakslı hastalarda su altı drenaj şişesinin üstünde yer alan sıvı doldurma deliğinin ambulansa veya hasta nakli esnasında kapatmak sistemin güvenliği için önemlidir.</b>                |           |              |
| Doğru Yanlış  | 112<br>63 | 64<br>36     |
| <b>Göğüs tüpü takılan hastalardan plevral mayi numunesi gönderilecekse hatta biriken yerden povidon iyodür ile steril edilmesi ve sonrasında enjektör ile hatta batırılarak sıvının çekilmesi uygundur.</b> |           |              |
| Doğru Yanlış  | 113<br>62 | 64,6<br>35,4 |

Not: Tabloda koyu renkli ve kalın olarak yazılan rakamlar doğru cevabı verenlerin sayısını ve yüzdesini göstermektedir.

saptanmıştır. Bu sonuç beklenen bir durum olan eğitim durumu arttıkça bilgi düzeyinin de olumlu yönde artması hipotezini olumlu yönde desteklemektedir.

Bu çalışmada katılımcıların %81'inin yoğun bakım, acil servis veya ameliyathanede çalışma öyküsü mevcuttur. Ankete katılanların yoğun bakım, acil servis veya ameliyathanede çalışma durumuna göre puan ortalaması incelendiğinde, bu birimlerde çalışanlar ile çalışmayanlar arasında anlamlı fark görülmedi. Oysaki bu birimlerde çalışma öyküsü olan sağlık personelinin, göğüs cerrahisi hasta popülasyonu ile karşılaşma sıklığı diğer birimlere göre daha yüksek olup, mesleki deneyimlerinin fazla olması ve daha yüksek puan alması beklenmektedir. Çalışmamızda saptanan durumun; bu birimlerde takip edilen hastaların yatış sürelerinin kısa olması nedeniyle hemşirelerin, mevcut hasta grubuna yönelik mesleki tecrübelerinin artmamasına ve göğüs cerrahisine spesifik çalışmalarına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Magner ve ark. (2013) toraks drenajları ile ilgili bilgi ve uygulama arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmada; göğüs cerrahisi kliniğinde çalışan hemşirelerin

%54'ünün en yüksek puanı aldığını tespit etmiştir (6). Bu çalışmada katılımcıların %62,3'ünün göğüs cerrahisi kliniğinde çalışma öyküsünün olmadığı gözlenmiştir. Göğüs cerrahisi kliniğinde çalışanların puan ortalaması daha yüksek saptanmış olup, bu durum göğüs cerrahisi kliniği çalışanlarının ilgili hasta popülasyonuna hizmet vermeleriyle bilgi ve tecrübelerini arttırmasına bağlanabilir.

Bu çalışmada göğüs cerrahisi kliniğinde çalışmayı/ çalışmaya devam etmeyi isteme durumu incelendiğinde katılımcıların %40,6'sının çalışmayı/ çalışmaya devam etmek istediği gözlenmiştir. Bu grubun bilgi düzeyi puan ortalaması daha yüksek saptanmış olup çalışanların motivasyonunun, bilgi ve tecrübelerini olumlu yönde etkilediği düşünülmektedir.

Bilindiği kadarıyla hemşirelerin göğüs cerrahisi uygulamaları hakkındaki bilgi düzeyini ölçen ilk çalışma olması, 3. basamak bir hastanede yapılması, anketteki soruların geniş bir konuyu kapsamaması bu çalışmanın güçlü yanlarıdır. Bunun yanında tek bir hastanede yapılması, hemşirelerin ankete katılım oranının düşük olması, verilerin teorik olarak değerlendirilmesi, pratik

Tablo 2

## Araştırma Grubunun Sosyodemografik ve İşle İlgili Özelliklere Göre Dağılım

| Sosyodemografik ve İşle İlgili Özellikler                                   |                             | Sayı       | Yüzde        |
|---|-----------------------------|------------|--------------|
| Yaş   | 18-30                       | 71         | 40,5         |
|   | 31-40                       | 53         | 30,3         |
|   | 41-50                       | 50         | 28,6         |
|   | 50'nin üstü                 | 1          | 0,6          |
| Cinsiyet  | Kadın                       | 128        | 73,1         |
|   | Erkek                       | 47         | 26,9         |
| Eğitim Durumu   | Lise                        | 18         | 10,3         |
|   | Ön lisans                   | 24         | 13,7         |
|   | Lisans                      | 115        | 65,7         |
|   | Lisans üstü                 | 18         | 10,3         |
| Yoğun Bakım, Acil Servis veya Ameliyathanede Çalışma Durumu                 | Çalışanlar                  | 142        | 81,1         |
|   | Çalışmayanlar               | 33         | 18,9         |
| Göğüs Cerrahisi Kliniğinde Çalışma Durumu                                   | Çalışmayanlar               | 109        | 62,3         |
|   | 1 yıldan az süre çalışanlar | 24         | 13,7         |
|   | 1-5 yıl çalışanlar          | 26         | 14,9         |
|   | 5 yıldan fazla çalışanlar   | 16         | 9,1          |
| Göğüs Cerrahisi Kliniğinde Çalışmış Olanların Memnuniyet Durumu             | Çok memnun                  | 31         | 47,0         |
|   | Memnun                      | 31         | 47,0         |
|   | Kararsız                    | 3          | 4,5          |
|   | Hiç memnun değil            | 1          | 1,5          |
|   | <b>Toplam</b>               | <b>66</b>  | <b>100,0</b> |
| Göğüs Cerrahisi Kliniğinde Çalışmayı / Çalışmaya Devam Etmeyi İsteme Durumu | İstemeyenler                | 104        | 59,4         |
|   | İsteyenler                  | 71         | 40,6         |
| <b>TOPLAM</b>   |                             | <b>175</b> | <b>100,0</b> |

uygulamalarda yaşanan problemlerin değerlendirilememesi çalışmanın kısıtlılıklarını oluşturmaktadır.

## Sonuç

Göğüs cerrahisi klinik uygulamalarında rol alan hemşirelerin bilgilerinin güncellenmesi amacıyla temel ve sürekli eğitim programları düzenlenmelidir. Eğitim ve çalışma sürecinde klinik uygulamalara yönelik teorik eğitimin yanı sıra meslek hayatında motivasyonun yüksek düzeyde tutulması, klinik uygulamalarda bilgi ve başarıyı olumlu olarak etkileyecektir. Göğüs cerrahisi uygulamaları bilgi düzeyini artıran etkenlerin

başında klinik tecrübenin olduğu; tecrübenin yaşla ve ilgili klinikte çalışmakla geliştiği belirgin bir şekilde görülmüştür. Bu nedenle göğüs cerrahisi kliniklerinde, 30 yaş üstü veya göğüs cerrahisi kliniğinde çalışma öyküsü olan hemşireler görevlendirilmelidir. Aynı zamanda hemşirelerin klinik branşlara göre uzmanlaşmasının, klinik uygulamalarda başarıyı olumlu etkileyeceğini düşündürmektedir.

## Teşekkür

Yayının istatistiksel analizinde yardımlarını esirgemeyen Dr. Serdar Yıldırım'a teşekkür ederiz.

Tablo 3

Araştırma Grubunun Göğüs Cerrahisi Uygulamaları Bilgi Düzeyi Puan Ortalamalarının Sosyodemografik ve İşle İlgili Özelliklere Göre Dağılımı

| Sosyodemografik ve İşle İlgili Özellikler                                   |                            | GCUBDP Ort±SS | p*       |
|---|----------------------------|---------------|----------|
| Yaş   | 30 ve altı                 | 64,4±12,5     | <0,001** |
|   | 30'un üstü                 | 73,6±11,4     |          |
| Cinsiyet  | Kadın                      | 69,8±12,3     | 0,935    |
|   | Erkek                      | 70,0±13,7     |          |
| Eğitim Durumu   | Lise - Ön lisans           | 63,6±12,9     | <0,001** |
|   | Lisans – Lisans üstü       | 71,8±12,0     |          |
| Yoğun Bakım, Acil Servis veya Ameliyathanede Çalışma Durumu                 | Çalışanlar                 | 70,1±12,8     | 0,559    |
|   | Çalışmayanlar              | 68,7±12,3     |          |
| Göğüs Cerrahisi Kliniğinde Çalışma Durumu                                   | Çalışmayanlar              | 65,8±11,7     | <0,001** |
|   | Çalışanlar                 | 76,4±11,5     |          |
| Göğüs Cerrahisi Kliniğinde Çalışmış Olanların Memnuniyet Durumu             | Çok memnun-Memnun          | 76,8±11,6     | 0,215    |
|   | Kararsız- Hiç memnun değil | 70,0±7,4      |          |
| Göğüs Cerrahisi Kliniğinde Çalışmayı / Çalışmaya Devam Etmeyi İsteme Durumu | İstemeyenler               | 67,1±11,5     | <0,001** |
|   | İsteyenler                 | 73,9±13,3     |          |
| TOPLAM  |                            | 69,8±12,6     |          |

\* Tek değişkenli analiz p değeri. \*\*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlıdır.

Tablo 4

Araştırma Grubunun Göğüs Cerrahisi Uygulamaları Bilgi Düzeyi Puanı ile İlişkili Değişkenlerle Oluşturulan Regresyon Modeli Sonuçları

| Analize Alınan Değişkenler   | p*       | B (%95 GA)          |
|--|----------|---------------------|
| Yaş<br>(30'un üstü =1, 30 ve altı = 0)   | <0,001** | 8,44 (4,98-11,90)   |
| Eğitim Durumu<br>(Lisans – Lisans üstü =1, Lise - Ön lisans = 0)   | 0,066    | 3,72 (-0,24-7,69)   |
| Göğüs Cerrahisi Kliniğinde Çalışma Durumu<br>(Çalışanlar =1, Çalışmayanlar= 0)                                   | <0,001** | 9,01 (4,90-13,13)   |
| Göğüs Cerrahisi Kliniğinde Çalışmayı / Çalışmaya Devam Etmeyi İsteme Durumu<br>(İsteyenler =1, İstemeyenler = 0) | 0,321    | 2,08 (-2,04-6,20)   |
| Sabit  | <0,001** | 57,74 (54,13-61,36) |
| Uyarlanmış R <sup>2</sup>  |          | 0,299               |
| Durbin-Watson  |          | 2,100               |

\* Lineer regresyon analizi p değeri. \*\*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlıdır.

### **Çıkar Çatışması Beyanı**

Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

### **Etik Kurul Onayı**

Bu çalışma için Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 02.11.2020 tarih ve 343 sayılı ile etik kurul onayı alınmıştır. Çalışmanın "Helsinki Deklarasyonu"na uygun olarak yürütülmüştür.

### **Bilgilendirilmiş Onam**

Çalışmada yer alan tüm bireylerden bilgilendirilmiş onam ve verilerin yayınlaması için yazılı izin alınmıştır.

### **Finansman**

Bu araştırma, kamu, ticari veya kar amacı gütmeyen sektörlerdeki finansman kuruluşlarından herhangi bir finansal destek almamıştır.

### **Verilerin Ulaşılabilirliği**

Veriler, gizlilik veya diğer kısıtlamalar nedeniyle yalnızca yazarlardan talep edilebilir.

### **Yazar Katkıları**

H.E.Ç: Çalışmanın planlanması, verilerin toplanması, işlenmesi, makalenin yazımı, kaynakların sağlanması, makalenin düzenlenmesi, validasyon, araştırma.

S.E.A: Çalışmanın planlanması, makalenin yazımı, makalenin düzenlenmesi, denetim, görselleştirme.

### **Kaynaklar**

1. Hoşten T, Aksu C. Gelecek Bronşiyal Blokerlerin mi? Derleme. GKDA Derg. 2014;20(2):69-76.
2. Aktin B, Apilioğulları B, Esmel H, Yoldaş T. Uzman hekimler ile yapılan bir görüşme: Göğüs cerrahisi nelerle uğraşır? Turk Gogus Kalp Damar. 2012;20(4):840-42.
3. Yıldırım Ş, Metin B, Yıldırım E. Göğüs cerrahisinin ilgi alanları: Anket çalışması. Bozok Med J 2015;5(2):19-23.
4. Akçay O. Göğüs Cerrahisi'ni Tanıyor Muyuz? Klinik Tıp Bilimleri 2018;6(2): 1-4.
5. Tarhan M, Gökdoğan SA, Ayan A, Dalar L. Nurses' Knowledge Levels of Chest Drain Management: A Descriptive Study. Eurasian Journal of Pulmonology. 2016;18(3):153-9.
6. Magner C, Houghton C, Craig M, Cowman, S. Nurses' knowledge of chest drain management in an Irish Children's Hospital. Journal of clinical nursing. 2013;22(19-20):2912-22.



## PLAZMA APELİN DÜZEYİ VE PRE-EKLAMPSİ VAKALARI ARASINDAKİ BAĞLANTININ ARAŞTIRILMASI

### INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN PLASMA APELIN LEVEL AND PRE-ECLAMPSIA CASES

Rahim KOCABAŞ<sup>1</sup>, Melike GEYİK BAYMAN<sup>2</sup>, Fatih ZEYTİN<sup>3</sup>, Ercan KARABULUT<sup>4</sup>, Mehmet AKÖZ<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Karaman, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Konya Şehir Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Konya, TÜRKİYE

<sup>3</sup> Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Konya, TÜRKİYE

<sup>4</sup> Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Ankara, TÜRKİYE

**Cite this article as:** Kocabaş R, Geyik Bayman M, Zeytin F, Karabulut E, Aköz M. Plazma Apelin Düzeyi ve Pre-Eklampsi Vakaları Arasındaki Bağlantının Araştırılması. Med J SDU 2023; 30(2): 211-216.

#### Öz

#### Amaç

Gebelikte gelişen ve multi-sistemik bir hastalık olan pre-eklampsi, yılda en az 42.000 anne ölümüne sebep olan bir patolojidir. Pre-eklampsi patofizyolojisine ilişkin teoriler, temel olarak yüzeysel plasentasyon ile ilişkili olduğu düşünülen maternal-fetal immün malperfüzyona dayanmakta ve pre-eklampsinin nedeni ise henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Apelin, kan basıncı regülasyonu ve vasküler fonksiyonları etkileyen, ayrıca çeşitli fizyolojik görevleri olan bir peptittir. Bu çalışmada, pre-eklampsi gelişiminde apelin-13'ün rolünün olup olmadığını değerlendirmek amacıyla normal ve erken başlangıçlı pre-eklampsi vakalarında, plazma apelin-13 seviyeleri çalışıldı.

#### Gereç ve Yöntem

Bu vaka kontrol prospektif çalışma, Kadın Hastalıkları ve Doğum Servisine başvuran gebelerin içerisinde toplam 60 gebe çalışmaya dahil edildi. Projedeki gruplar sağlıklı gebe kontrol (n:30) ve erken başlangıçlı pre-eklampsi gebe (n:30) olarak dizayn edildi. Erken başlangıçlı pre-eklampsi grubu 30. haftada

pre-eklampsi tanısı konan erken başlangıçlı pre-eklampsi gebelerden oluşmakta idi. Katılımcılardan 30. hafta alınan kan örneklerinden trombosit, serum albümin, ALT, AST, üre, kreatinin ve plazma apelin-13 değerleri ölçüldü.

#### Bulgular

Sağlıklı gebe kontrollere göre, erken başlangıçlı pre-eklampsi gebelerdeki trombosit, serum albümin, seviyelerindeki azalma ve ALT, AST, üre ve kreatinin parametrelerindeki artma, istatistiksel değerlendirme açısından anlamlı bulundu ( $p=0,011$ ;  $p=0,001$ ;  $p=0,006$ ;  $p=0,05$ ;  $p=0,001$ ;  $p=0,003$ ; sırasıyla). Plazma apelin-13 değeri sağlıklı ve erken başlangıçlı pre-eklampsi gebeler arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı.

#### Sonuç

30. haftadan sonra gelişen erken başlangıçlı pre-eklampsinin teşhisinde Apelin-13'ün tanısal değeri bulunmamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Apelin, Apelin 13, Gebelik, Hipertansiyon, Pre-eklampsi.

**Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address:** R.K. / drrahim42@gmail.com

**Müracaat tarihi/Application Date:** 24.01.2023 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 24.05.2023

**ORCID IDs of the authors:** R.K: 0000-0001-8006-284X; M.G.B: 0000-0003-0008-2205;

F.Z: 0000-0002-2581-4938; E.K: 0000-0001-6733-2497; M.A: 0000-0003-2748-5493

## Abstract

### Objective

Pre-eclampsia, a multi-systemic disease that develops during pregnancy, is a pathology that causes at least 42.000 maternal deaths per year. Theories regarding the pathophysiology of pre-eclampsia are mainly based on maternal-fetal (paternal) immune malperfusion, which is thought to be associated with superficial placentation, and the cause of pre-eclampsia has not yet been fully elucidated. Apelin is a peptide that affects blood pressure regulation and vascular functions, and also has various physiological functions. In this study, plasma apelin-13 levels were studied in normal and development of early-onset pre-eclampsia pregnant women to evaluate whether apelin-13 has a role in the development of early-onset pre-eclampsia.

### Material and Method

In this case-control prospective study, a total of 60 pregnant women who applied to the Obstetrics and Gynecology Service were included in the study. The groups in the project were designed as healthy pregnant control (n: 30) and the development of early-onset pre-eclampsia pregnant (n: 30). The development of early-onset pre-eclampsia group

consisted of the development of early-onset pre-eclampsia pregnant women diagnosed with pre-eclampsia at the 30th week. Platelet, serum albumin, ALT, AST, urea, creatinine and plasma apelin-13 values were measured from the blood samples taken from the participants at the 30th week.

### Results

Compared to healthy pregnant controls, the decreases in platelet and serum albumin levels, and the increases in ALT, AST, urea, and creatinine parameters in the development of early-onset pre-eclampsia pregnant women were statistically significant ( $p=0,011$ ;  $p=0,001$ ;  $p=0,006$ ;  $p=0,05$ ;  $p=0,001$ ;  $p=0,003$ ; respectively). When the plasma apelin-13 value was compared between healthy and the development of early-onset pre-eclampsia pregnant women, no significant difference was found.

### Conclusion

Apelin-13 has no diagnostic value in the diagnosis of development of early-onset pre-eclampsia developing after the 30th week.

**Keywords:** Apelin, Apelin 13, Hypertension, Pre-eclampsia, Pregnancy.

## Giriş

Pre-eklamsi (PE) gebeliğin 20. haftasından sonra gelişen multi-sistemik bir hastalıktır. PE'nin ortaya çıkış dönemine göre 34 haftanın altında görülen PE'ler erken başlangıçlı pre-eklamsi (E-PE), 34 haftanın üstündekiler geç başlangıçlı PE (L-PE) olarak tanımlanmaktadır. Gebeliklerin %3-5'ini etkileyen PE, yaşamı tehdit eden, yılda en az 42.000 anne ölümüne sebep olan bir patoloji olup, proteinüri ve/veya böbrek yetmezliği, karaciğer tutulumu, nörolojik ve hematolojik komplikasyonların eşlik ettiği de novo hipertansiyon ile karakterizedir (1-3).

PE patofizyolojisinde ana neden, plesentadaki yüzeysel değişiklikler olduğu düşünülmektedir. Bu değişiklikler sonucu maternal-fetal immun malperfüzyon geliştiği düşünülmektedir (2, 4). Bozulmuş plasental gelişim plesental iskemiye, oksidatif stres oluşumuna ve inflamasyona yol açmaktadır. Bu inflamasyon anti-anjiyogenik faktörlerin artışına, devam eden süreç endotel disfonksiyonuna, çeşitli pro-inflamatuvar sitokinlerin ve vasküler endotelial büyüme faktörlerinin maternal dolaşıma salınmasına yol açar (2, 4). Nor-

mal gebelik sürecindeki fizyolojik süreçlerden farklı olarak, maternal-fetal ara yüzdeki anormallikler sonucu meydana gelen PE'deki biyokimyasal değişiklikler, endotel/maternal disfonksiyonun sonucudur. Böylelikle PE'de gebeliğin ilerleyen süreçlerinde annenin gebeliğe uyumu tam oluşmaz (2, 4). Bununla birlikte PE'nin nedeni henüz tam olarak aydınlatılmamıştır ve araştırmalar devam etmektedir.

Apelin, hücre üzerindeki G protein-bağlı APJ (anjiyotensin II reseptörü benzeri 1) reseptörünün endojen bir ligandıdır. Apelin, aktif fragmanlara (Örn: apelin-13, apelin-17, ve apelin-36...) dönüşen 77 amino asitten oluşan preproapelin kaynaklıdır. Tüm apelin fragmanları, APJ reseptörü üzerinde agonistik aktivite sergiler; bununla birlikte apelin-13, apelinin biyolojik aktivitesinden sorumlu en aktif fragmandır, APJ reseptörü için en yüksek bağlanma afinitesine sahiptir. Apelin, özellikle kan basıncı regülasyonu, anjiyogenez, hücrel farklılaşma ve sıvı dengesi dahil olmak üzere çeşitli vasküler ve kardiyak fonksiyonları etkileyen biyoaktif çok işlevli bir peptittir (5, 6). Memeli çalışmaları apelin ve APJ reseptörünün birçok damarın endotelial hücrelerinde, yağ dokusunda, iskelet kaslarında,

kalpte ve plasentanin sinsityotrofoblast hücrelerinde eksprese edildiğini göstermiştir (6–8).

Wang C ve ark (2017) ve Cheng J ve ark (2019) yaptıkları çalışmaları sonucu endotel disfonksiyonu ile ilişkili hastalıkların tanısını ve tedavisinde apelinin kullanılabileceğini bildirmişlerdir (6, 9). PE'de apelinin araştırılan az sayıdaki çalışmada birinden farklı yönde tartışmalı veriler bulunmaktadır (10–19). Çalışmalarında total apelin değerlendirilmeleri yapıldığı gibi apelinin alt fragmanları da değerlendirilmeye başlanmıştır. Bu çalışmada, E-PE gelişiminde apelin-13'ün rolünün olup olmadığını değerlendirmek amacıyla normal ve E-PE'li gebelerde, plazma apelin-13 seviyeleri çalışıldı.

## Gereç ve Yöntem

Bu vaka kontrol prospektif çalışmada, Kadın Hastalıkları ve Doğum Servisine başvuran gebelerin verileri incelendi. Çalışmadaki gebeler, 20-35 yaş aralığında, 30 hafta üstüydü. Proje için etik onayı (N.E.Ü. Etik kurulu: 04/12/2020, 2020/121) ve katılımcılardan onam alındı, Helsinki deklarasyonuna uyuldu. Toplam 60 gebe, kontrol grubu olarak 30 sağlıklı kontrol gebe ve PE grubu olarak da 30 E-PE'li gebe şeklinde dizayn edildi. E-PE grubu gebeler 30. haftada E-PE tanısı konan E-PE gebelerden oluşmakta idi. Çoğul gebelikler, fetal konjenital malformasyonlar, fetal kromozomal anormallikler, kardiyovasküler veya renal bozukluklar dahil olmak üzere hipertansiyon ile ilişkili maternal hastalıklar, diabetes mellitus, tiroid bozuklukları, kronik karaciğer hastalıkları, vasküler veya inflamatuvar hastalık öyküsü bulunan hastalar çalışmaya alınmadı. İlave anti-platelet veya non-steroid anti-enflamatuvar ilaçlarla tedavi olanlar, erken doğum öyküsü veya erken doğum için risk faktörleri ve sigara veya alkol kullanım öyküsü olanlar, daha önce PE tanısı almış, tedaviye başlanmış veya aktif doğum döneminde olan gebeler çalışmaya dahil edilmedi.

### Pre-Eklampsi Teşhisi

PE tanısı American College of Obstetricians and Gynecologist kriterlerine göre konuldu. Bu kriterlere göre PE tanısı gebeliğin 20. haftasından sonra 4 saat aralığı yapılan iki ölçümde sistolik kan basıncı  $\geq 140$  mmHg veya diyastolik kan basıncı  $\geq 90$  mmHg ve proteinüri varlığında (24 saatlik idrarda turbidimetrik metotla protein düzeyi  $\geq 300$  mg/gün veya spot idrar örneği sribinde +1 protein görülmesi veya en az sistemik tutulum varsa) konuldu (20).

### Kan Örneği Alımı ve Apelin-13 Analizi

Katılımcılardan rutin takip sırasında, E-PE tanısı ko-

nulduğunda tedaviye başlamadan önce 30. haftada, analiz için laboratuvara gönderilen kan örneklerinde jelli biyokimya (içerisinde herhangi bir antikoagülan içermeyen) ve EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinde testler çalışıldı. Fazladan kan örneği alınmadı. Biyokimya tüpünde serum albumin ALT, AST, üre ve kreatinin testleri çalışıldı. PLT değeri EDTA'lı tüpe alınan hemogram sonucundan elde edildi. Hemogram çalışıldıktan sonra plazma bekletilmeden mikro tüplere aktarılıp  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Apelin-13 analizleri hemogram testlerinden artan plazma örneklerinden çalışıldı. Serum örnekleri için katılımcılardan alınan kan numuneleri önce 30 dakika pıhtılaşmaya bırakıldı. Ardından numuneler  $1800\times\text{g}$ 'de 10 dakika süreyle  $8^{\circ}\text{C}$ 'de santrifüjlendi. Biyokimyasal testler serum eldesi ile birlikte hemen çalışıldı (21). Apelin 13 için elde edilen plazma örnekleri de aynı santrifüj işlemlerine maruz bırakıldı.

Apelin-13 seviyeleri, human apelin-13 (Bioassay Technology Laboratory apelin-13 kiti, Cat No: E1273Hu, China) ticari kiti kullanılarak belirlendi. Bu testin prensibi, insan Apelin 13 proteinine bağlanan iki anti-Apelin 13 poliklonal antikorunu kullanarak çalışan sandviç ELISA yöntemidir. Kiti intra-assay ve inter-assay CV değerleri sırasıyla  $<8\%$  ve  $<10\%$ 'dur. Apelin-13 değerleri ng/L olarak ifade edildi. ALT, AST, üre, kreatinin ve albümin seviyeleri tespiti rutin ölçümlerde kullanılan Abbott Architect C8000 otoanalizöründe ticari kitler kullanılarak üreticinin belirlediği yöntemlerle ölçüldü (Abbott Laboratories, USA). Trombosit, ölçümü Sysmex XN-1000 tam kan sayım otoanalizörü ile gerçekleştirildi. Test sonuçları ( $103/\mu\text{L}$ , U/L, U/L, mg/dl, mg/dl ve g/L; sırasıyla) olarak ifade edildi.

### İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme SPSS 16.0 programı kullanılarak yapıldı. Normallik dağılımı için Kolmogorov-Smirnov kullanıldı. Apelin-13 değerlerinin, biyokimyasal testlerin ve demografik değerlerin istatistiksel değerlendirilmesinde; normal dağılım gösterenler Student's t-testi, normal dağılım göstermeyenler Mann-Whitney U testi kullanıldı. Veriler ortalama değerleri  $\pm$  standart sapma (SD) olarak, ayrıca güven aralığı değerleri verildi. Her bir gruptaki minimum katılımcı sayısı power analizi (0,05 alfa / 0,10 beta) yapılarak 30 olarak belirlendi.

### Bulgular

Çalışmada gruplar oluşturulur iken benzer yaş ve vücut kitle indekslerine sahip bireyler seçildiği için iki grup arasında hem gebelik yaşı hem de vücut kitle indekslerinde istatistiksel değerlendirme açısından an-

lamli fark görülmedi. Sağlıklı gebe kontrol grubuna göre E-PE gebe grubunda kan trombosit, serum albümin değerlerindeki azalma, serum ALT, AST, üre ve kreatinin değerlerindeki artma istatistiksel değerlendirme açısından anlamlı bulundu ( $p=0,011$ ;  $p=0,001$ ;  $p=0,006$ ;  $p=0,05$ ;  $p=0,001$ ;  $p=0,003$ ; sırasıyla). Demografik değerler açısından sağlıklı gebe kontrol grubuna göre E-PE gebe grubunda doğum haftası, doğum ağırlığı ve ilk Apgar Skoru parametrelerindeki azalma istatistiksel değerlendirme açısından anlamlı bulundu ( $p=0,001$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,003$ ; sırasıyla) Çalışmada sağlıklı kontrol gebe ve E-PE gebe grupları plazma apelin-13 değeri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel değerlendirmeye göre iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p=0,186$ ). Daha detaylı değerler tablo 1'de verilmektedir.

## Tartışma

Bu çalışmada sağlıklı gebe kontrol grubuna göre E-PE gebe grubunda serum apelin-13 seviyeleri arasındaki farklılıklar değerlendirildi. Sağlıklı gebe kontrol grubuna göre E-PE gebe grubunda doğum haftası, doğum ağırlığı ve ilk Apgar skoru (1.dakika) parametrelerindeki azalma anlamlı bulundu. E-PE'deki bu anlamlı azalmalar beklediğimiz bir durum olup plasental kan akımının pre-eklampitik durumdan etkilenmesin-

den kaynaklanmaktadır (11, 12, 14, 15). Ayrıca laboratuvar testlerinde sağlıklı gebe kontrol grubuna göre E-PE gebe grubunda kan trombosit, serum albümin değerlerindeki anlamlı azalma, serum ALT, AST, üre ve kreatinin değerlerindeki anlamlı artma olması E-PE gelişimi destekler şekildedir (10, 11, 13). Çalışmamızda değerlendirdiğimiz asıl parametre olan serum apelin-13 seviyeleri açısından sağlıklı gebe kontrol grubu ile E-PE grubu karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 1).

Literatürdeki şu ana kadar olan apelin çalışmalarında, birbiriyle çelişen ve hatta kısmen kendi içinde çeliştirdiğini düşündüren sonuçlar mevcuttur. Bu çalışmalarda; Bortoff ve ark. (2012) doğum esnasında alınan numunelerden total apelin seviyelerini ölçmüşler ve PE grubunda anlamlı şekilde apelin seviyelerinin azaldığını bildirmişlerdir (12). Yine Deniz ve ark. (2019) kordon kanından aldıkları numunelerde total apelin ve nitrik oksit seviyelerini değerlendirmişler, bu sonuçları PE ve ağır PE gruplarında kontrole göre anlamlı olarak daha düşük bulmuşlardır (13). Bu sonuçları destekler şekilde Temur ve ark. (2020)'de PE tanısını belirledikten sonra alınan numunelerde total apelin analizini gerçekleştirmişler, ağır PE'de apelin seviyelerinin hafif olanlara göre daha da azaldığını, sistolik kan basıncı ile apelin seviyeleri aralarında güçlü, negatif

Tablo 1

Sağlıklı ve Pre-eklampitik gebelerde biyokimyasal, demografik parametreler ve Apelin-13 değerleri.

| Parametreler                    | Sağlıklı Gebe Kontrol (n= 30) | Erken Başlangıçlı Pre-eklampitik Gebe (n= 30) | p değerleri    |
|---------------------------------|-------------------------------|---|----------------|
|                                 | mean±SD / CI                  | mean±SD / CI                                  |                |
| Trombosit (10 <sup>3</sup> /μL) | 243±80,4 / 211-276            | 193±59,5 / 170-215                            | <b>0,011**</b> |
| Albümin (g/L)                   | 36,3±3,59 / 34,9-37,8         | 32,1±5,33 / 30,1-34,1                         | <b>0,001**</b> |
| ALT (U/L)                       | 11,4±2,9 / 10,3-12,6          | 18,8±13,3 / 13,9-23,8                         | <b>0,006**</b> |
| AST (U/L)                       | 18,1±5,4 / 15,9-20,3          | 22,0±9,0 / 18,7-25,4                          | <b>0,050**</b> |
| Üre (mg/dl)                     | 16,2±3,8 / 14,6-17,7          | 25,5±12,3 / 20,1-30                           | <b>0,001**</b> |
| Kreatinin (mg/dl)               | 0,58±0,12 / 0,53-0,63         | 0,73±0,22 / 0,64-0,80                         | <b>0,003**</b> |
| Anne yaşı (yıl)                 | 27,4 ± 4,7 / 25,3-29,4        | 29,7 ± 4,8 / 27,8-31,5                        | 0,102*         |
| VKİ (kg/m <sup>2</sup> )        | 30,2 ± 3,3 / 28,8-31,6        | 30,3 ± 4,5 / 28,6-32,0                        | 0,908**        |
| Doğum Haftası                   | 38,3 ± 1,4 / 37,7-38,9        | 34,3 ± 2,5 / 33,4-35,2                        | <b>0,001*</b>  |
| Doğum Ağırlığı (g)              | 3184 ± 397 / 3012-3356        | 2204 ± 493 / 2017-2391                        | <b>0,001**</b> |
| İlk Apgar Skoru                 | 6,83 ± 0,7 / 6,5-7,1          | 5,62 ± 1,7 / 5,0-6,3                          | <b>0,003*</b>  |
| Apelin-13 (ng/L)                | 0,262 ± 0,27 / 0,162-0,363    | 0,384 ± 0,42 / 0,227-0,541                    | 0,186*         |

Not: CI: Mean için %95 güven aralığında alt ve üst değerler. \*: Mann-Whitney U testi, \*\*: Student t-testi.

korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (22). Ayrıca Inuzuka et al. (2013) apelin mRNA seviyelerini plasenta örneklerinde PE grubunda kontrole göre anlamlı azaldığını bulmuşlar, fakat aynı çalışmada serum apelin 36 seviyelerinin kontrole göre PE grubunda anlamlı olarak arttığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar aynı çalışmada kontrol grubunda 1. 2. ve 3. trimesterde apelin 36 seviyelerinin gittikçe azaldığını ölçmüşler, bu sonucu apelinin implantasyon veya plasentasyonda fonksiyonel bir rolü olabileceği şeklinde yorumlamışlardır. Fakat kontrole göre PE grubunun plasenta örneklerinde apelin mRNA seviyelerinin azalmış olarak bulunup, apelin 36 fragmanlarının artmış bulunması açıklanması gereken bir husustur (14). Yamaleyeva et al. (2015) koriyonik vilüs örneklerinde normal ve PE gebelerde 36-38. gebelik haftasında apelin içeriğinin ekspresyonunu belirlemişler. Apelin seviyelerinin PE'li gebelerde kontrollere göre anlamlı şekilde daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar apelin alt tiplerini incelemişler, sağlıklı ve PE'li gebelerde apelin-36 veya apelin-17 ekspresyonlarının çok az olduğunu, Apelin-13 formunun baskın olduğunu bildirmişlerdir (18). Fakat Gürlek ve ark. (2020) çalışmalarında paragrafın ilk cümlelerinde bahsi geçen Deniz ve ark. (2019)'dan farklı olarak serum apelin düzeyinin gebeliğin ortasında düşerken, sağlıklı bir gebelikte son trimesterde yükselme eğilimi göstereceği şeklinde açıklama getirmişler, PE'li gebelerde serum apelin-13 ve apelin-36 konsantrasyonlarını kontrole kıyasla anlamlı şekilde daha düşük seviyede tespit etmişlerdir (11). Aynı şekilde Liao et al. (2007) hafif ve ağır PE'de dereceli olarak apelin mRNA ve apelin 36 değerlerinin azaldığını bildirmişlerdir (19). Buradaki sonuçlara göre Inuzuka et al. apelin 36 seviyelerini PE grubunda artmış bulması diğer çalışmalarla çalışmaktadır.

Yukarıda geçen verilerden zıt yönde Kucur ve ark. (2014) ise erken ve L-PE'lerde total apelin seviyelerinin kontrollerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar kontrol grubuna göre E-PE grubunda artış gösteren apelin seviyelerinin anlamlı olduğunu, bu durumu apelinin kan basıncında da görevli olduğunu, dolayısıyla erken ve geç plasenta içindeki kan akışındaki değişikliklerle birlikte fetal büyüme kısıtlaması ile ilişkili olduğuna dair kanıtlara dayanarak apelinin E-PE ve L-PE arasında ayırt edici bir belirteç olabileceğini düşünmüşlerdir. E-PE'den farklı olarak L-PE'de genellikle umbilikal arterlerin kan akışında herhangi bir değişiklik olmaksızın normal bir fetal büyüme ile ilişkili olduğunu, maternal serum apelin seviyeleri ile diyastolik kan basıncı arasında da anlamlı bir pozitif korelasyon göstermekte olduğunu ve hastalık şiddeti ile apelin seviyeleri arasında pozitif

bir ilişki olduğu yönünde açıklama getirmişlerdir (23). Çölçimen ve ark. (2017) benzer şekilde PE'nin şiddeti ile apelin immünoreaktivite skorunda arttığını ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış olduğunu bildirmişler. Araştırmacılar 20. haftadan sonra PE gelişen hastalarda apelin değerlendirmesi yapmışlar, PE'de artan vasküler epidermal büyüme faktörü ile birlikte apelin seviyelerinin de arttığını bildirmişlerdir (17). Cobellis ve ark. (2007)'de Çölçimen ve ark.'nin bulgularıyla aynı yönde değerlendirme yapmıştır (24).

Hamza et al. (2021) ise diğer çalışmalardan farklı olarak deneysel modelde PE indükleyip, tedavi amaçlı apelin-13 enjeksiyonları gerçekleştirmişler. Gebeliğin 6. gününden 20. gününe kadar günde iki defa apelin-13 uygulamışlar. PE indüklenen grupta apelinin PE'ye ve PE'nin komplikasyonlarına (yüksek tansiyon, üre, kreatinin yüksekliği...) karşı koruyucu olduğunu, bu etkiyi anti-enflamatuvar ve antioksidan mekanizmayı etkileyerek gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir (10). Araştırmacıların çalışmaları umut verici olsa da, PE gelişmeden apelin-13 uygulanmaya başlamışlar ve PE'ye karşı koruyucu olduğunu bildirseler de sonuçlarını destekleyen, örneğin klinik araştırmaları da içeren daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Yapılan çalışmalarda apelin ve diğer fragmanların analizi gebeliğin farklı zamanlarında alınan farklı numunelerden gerçekleştirildiği dikkat çekmektedir. Kimi çalışmada doğum anında apelin çalışılmış, kimisinde ise belli bir haftada apelin değerleri ölçülmüştür. Sonuçların birbirlerinden zıt yönde olması gebeliğin değişik dönemlerinde apelin ölçülmesinden kaynaklanıyor olabilir. Bizim çalışmamızda her ne kadar E-PE gelişen gebelerde 30. haftada apelin-13 analizi gerçekleştirilse de bireysel farklılıktan ve/veya E-PE şiddetinin farklılığından, kaynaklanan sebeplerden gruplar arası beklenen muhtemel farklılık oluşmamış olabilir.

Çalışmamızın kısıtlılıkları şunlardır. E-PE grubu kendi içinde E-PE şiddetinin de dikkate alınarak fazla sayıda grubun olduğu, daha geniş çapta hastanın dahil edilmemesidir. Yine gruplar da başlangıç ve ara zamanlardaki Apelin-13 değerleri çalışılmamıştır. Son olarak PE şiddeti ile korele olabilecek enflamatuvar belirteçler çalışmaya dahil edilmemiştir. Üstünlükleri ise E-PE'de Apelin-13 değerlendirmesini gerçekleştiren literatürdeki az sayıdaki çalışmalardan biridir ve E-PE kriterlerini tam karşılamayan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Sonuç olarak, bulgularımıza göre 30. haftadan sonra gelişen E-PE'nin teşhisinde Apelin-13'ün tanısasal değeri bulunmamaktadır.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

### Etik Kurul Onayı

Bu araştırma için Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar etik kurulundan 04/12/2020 tarih ve 2020/121 sayısı ile onay alındı.

### Bilgilendirilmiş Onam

Çalışmada yer alan tüm bireylerden bilgilendirilmiş onam ve verilerin yayınlaması için yazılı izin alınmıştır.

### Finansman

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 191318005 proje numarası ile desteklenmiştir.

### Verilerin Ulaşılabilirliği

Veriler, gizlilik veya diğer kısıtlamalar nedeniyle yalnızca yazarlardan talep edilebilir.

### Yazar Katkıları

R.K: Çalışmanın planlanması; Verilerin işlenmesi; Formal analizler; Araştırma; Metodoloji; Validasyon; Görselleştirme; Makalenin Yazımı.

M.G.B: Çalışmanın planlanması; Verilerin işlenmesi; Araştırma; Makalenin yazımı.

F.Z: Çalışmanın planlanması; Formal analizler; Metodoloji.

E.K: Görselleştirme; Makalenin yazımı; Makalenin düzenlenmesi.

M.A: Proje yönetimi; Araştırma; Makalenin düzenlenmesi.

### Kaynaklar

1. Mol BWJ, Roberts CT, Thangaratnam S, Magee LA, De Groot CJM, Hofmeyr GJ. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2016;387(10022):999–1011.
2. Chappell LC, Cluver CA, Kingdom J, Tong S. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2021;398(10297):341–54.
3. Abraham C, Kushiheva N. Management of preeclampsia and eclampsia. *Oxymag*. 2019;23(15):10832.
4. Burton GJ, Redman CW, Roberts JM, Moffett A. Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications. *BMJ*. 2019;366:1–15.
5. Kleinz MJ, Davenport AP. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacol Ther*. 2005;107(2):198–211.
6. Cheng J, Luo X, Huang Z, Chen L. Apelin/APJ system: A potential therapeutic target for endothelial dysfunction-related diseases. *J Cell Physiol*. 2019;234(8):12149–60.

7. Castan-Laurell I, Masri B, Valet P. The apelin/APJ system as a therapeutic target in metabolic diseases. *Expert Opin Ther Targets*. 2019;23(3):215–25.
8. Hamza RZ, Diab AAA, Zahra MH, Asalah AK, Moursi SMM, Al-Baqami NM, et al. Correlation between Apelin and Some Angiogenic Factors in the Pathogenesis of Preeclampsia: Apelin-13 as Novel Drug for Treating Preeclampsia and Its Physiological Effects on Placenta. *Int J Endocrinol*. 2021;2021.
9. Wang C, Liu X, Kong D, Qin X, Li Y, Teng X, et al. Apelin as a novel drug for treating preeclampsia. *Exp Ther Med*. 2017;14(6):5917–23.
10. Hamza RZ, Diab AAA, Zahra MH, Asalah AK, Attia MS, Moursi SMM. Ameliorative effect of apelin-13 against renal complications in L-NAME-induced preeclampsia in rats. *PeerJ*. 2021;9:1–17.
11. Gürlek B, Yılmaz A, Durakoğullu ME, Karakaş S, Kazaz İM, Önal Ö, et al. Evaluation of serum apelin-13 and apelin-36 concentrations in preeclamptic pregnancies. *J Obstet Gynaecol Res*. 2020;46(1):58–65.
12. Bortoff KD, Qiu C, Runyon S, Williams MA, Maitra R. Decreased maternal plasma apelin concentrations in preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2012;31(4):398–404.
13. Deniz R, Baykus Y, Ustebay S, Ugur K, Yavuzkir Ş, Aydın S. Evaluation of elabela, apelin and nitric oxide findings in maternal blood of normal pregnant women, pregnant women with pre-eclampsia, severe pre-eclampsia and umbilical arteries and venules of newborns. *J Obstet Gynaecol (Lahore)*. 2019;39(7):907–12.
14. Inuzuka H, Nishizawa H, Inagaki A, Suzuki M, Ota S, Miyamura H, et al. Decreased expression of apelin in placentas from severe pre-eclampsia patients. *Hypertens Pregnancy*. 2013;32(4):410–21.
15. Simsek Y, Celik O, Yılmaz E, Karaer A, Dogan C, Aydın S, et al. Serum levels of apelin, salusin-alpha and salusin-beta in normal pregnancy and preeclampsia. *J Matern Neonatal Med*. 2012;25(9):1705–8.
16. Lee DL, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, Liu Y, et al. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem*. 2000;74(1):34–41.
17. Colcimen N, Bulut G, Erkeç ÖE, Ragbetli MÇ. Investigation of role of vascular endothelial growth factor, Annexin A5 and Apelin by immunohistochemistry method in placenta of preeclampsia patients. *Cell Mol Biol*. 2017;63(11):42–5.
18. Yamaleyeva LM, Chappell MC, Bridget Brosnihan K, Anton L, Caudell DL, Shi S, et al. Downregulation of apelin in the human placental chorionic villi from preeclamptic pregnancies. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 2015;309(10):852–60.
19. Liao Y-M, Qiao F-Y. Expression of Apelin in placentas of patients with hypertensive disorders complicating pregnancy. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2007;42(6):382–5.
20. Hypertension in Pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obs Gynecol*. 2013;122(5):1122–31.
21. Kocabas R, Aköz M. The effects of vitamin D supplementation on healthy and hypercholesterolemic rabbits on levels of OSI and paraoxonase. *Turk J Biochem*. 2018;43(5):549–56.
22. Temur M, Yılmaz Ö, Taşgöz FN, Kume T. The evaluation of serum apelin levels in patients complicated with preeclampsia. *J Matern Neonatal Med*. 2022;35(10):1848-1852.
23. Kucur M, Tuten A, Oncul M, Acikgoz AS, Yuksel MA, Imamoglu M, et al. Maternal serum apelin and YKL-40 levels in early and late-onset pre-eclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2014;33(4):467–75.
24. Cobellis L, De Falco M, Mastrogiacomo A, Giraldo D, Dattilo D, Scaffa C, et al. Modulation of apelin and APJ receptor in normal and preeclampsia-complicated placentas. *Histol Histopathol*. 2007;22(1–3):1–8.

## THE MMP9 -1562 C/T POLYMORPHISM IS ASSOCIATED WITH INCREASED RISK OF DIABETIC RETINOPATHY IN TURKISH TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS

MMP9 -1562 C/T POLİMORFİZMİ, TÜRK TİP 2 DİABETES MELLİTUS HASTALARINDA ARTMIŞ DİYABETİK RETİNOPATİ RİSKİ İLE İLİŞKİLİDİR

Fadime MUTLU ICDUYGU<sup>1</sup>, Egemen AKGUN<sup>2</sup>, Ebru ALP<sup>2</sup>, Sibel DOGUZI<sup>3</sup>, Murat Atabey OZER<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Giresun University, Giresun, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Giresun University, Giresun, TÜRKİYE

<sup>3</sup> Department of Ophthalmology, Ulucanlar Eye Education and Research Hospital, Ankara, TÜRKİYE

<sup>4</sup> Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Giresun University, Giresun, TÜRKİYE.

**Cite this article as:** Mutlu Icduygu F, Akgun E, Alp E, Doguizi S, Ozer MA. The Mmp9 -1562 C/T Polymorphism is Associated with Increased Risk of Diabetic Retinopathy in Turkish Type 2 Diabetes Mellitus Patients. Med J SDU 2023; 30(2): 217-224.

### Öz

#### Amaç

Tip 2 diabetes mellitus (T2DM) ve diyabetin mikro-komplikasyonlarından olan diyabetik retinopati (DR) gelişimi genetik faktörlerden etkilenmektedir. Matriks metalloproteinazlar (MMPs), ekstraselüler matriks proteinlerinin yeniden şekillendirilmesi ve anjiyogenez gibi pek çok hücrel proseste rol alırlar. Bu çalışmada Türk toplumunda MMP9 -1562 C/T (rs3918242) polimorfizmi ile T2DM ve DR gelişim riski arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

#### Gereç ve Yöntem

Mevcut çalışmaya 168 DR'si olan T2DM hastası, 168 DR'si olmayan T2DM hastası ve 174 kontrol olmak üzere toplam 510 birey dahil edilmiştir. Genotipleri belirlemek amacıyla Polimeraz zincir reaksiyonu-Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi kullanılmıştır.

#### Bulgular

T2DM gelişimi ile MMP9 -1562 C/T polimorfizmi arasında bir ilişkiye rastlanmazken, CT ve CT+TT genotipleri ile T (p=0,001) alleli artmış DR riski ile ilişkili bu-

lunmuştur. Ayrıca CT (p=0,010) ve CT+TT (p=0,015) genotip sıklığı proliferatif diyabetik retinopati (PDR) hastalarında proliferatif olmayan diyabetik retinopati (NPDR) hastalarına kıyasla yüksek bulunmuş, fakat regresyon analizi sonrasında sadece insülin kullanımının (p=0,003) PDR gelişimi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

#### Sonuç

Elde ettiğimiz veriler Türk T2DM hastalarında MMP9 -1562 C/T polimorfizminin DR gelişimi ile ilişkili olduğunu, fakat bu polimorfizm ile DR şiddeti ve T2DM gelişimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabetik retinopati, MMP9, Polimorfizm, Proliferatif diyabetik retinopati, Tip 2 diabetes mellitus,

#### Abstract

#### Objective

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) and diabetic retinopathy (DR) development is affected by genetic factors. Matrix metalloproteinases (MMPs) are involved

**Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address:** F.M.I. / fadimemutlu@yahoo.com

**Müracaat tarihi/Application Date:** 23.03.2023 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 29.05.2023

**ORCID IDs of the authors:** F.M.I: 0000-0002-4913-9420; E.A: 0000-0003-1979-419X;

E.A: 0000-0001-7303-666X; S.D: 0000-0001-6047-218X; M.A.Ö: 0000-0003-1807-6911

in many cellular processes, such as remodeling of extracellular matrix proteins and angiogenesis. In this study, we investigated the relationship between MMP9 –1562 C/T (rs3918242) polymorphism and the development of T2DM and DR in Turkish population.

### Material and Method

A total of 510 participants, involving 168 T2DM cases with DR, 168 T2DM cases without DR, and 174 controls, were included in the study. The polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method was carried out to identify genotypes.

### Results

The CT, CT+TT genotypes and the T allele of the MMP9 –1562 C/T polymorphism were associated with increased risk of DR ( $p=0.001$ ). On the other hand, no relationship was found between the development

of T2DM and this polymorphism. In addition, CT ( $p=0.010$ ) and CT+TT ( $p=0.015$ ) genotype frequencies were found to be higher in proliferative diabetic retinopathy (PDR) cases compared to non-proliferative diabetic retinopathy (NPDR) cases, but after regression analysis, only insulin use ( $p=0.003$ ) was found to be associated with the development of PDR.

### Conclusion

Our data show that the MMP9 –1562 C/T polymorphism is associated with the development of DR in Turkish T2DM patients, but no significant relationship was found between this polymorphism and the severity of DR and the development of T2DM.

**Keywords:** MMP9, Diabetic retinopathy, proliferative diabetic retinopathy, type 2 diabetes mellitus, polymorphism.

## Introduction

Diabetic retinopathy (DR) is the frequent complication of diabetes mellitus (DM) and it is among the common causes of vision problems and vision loss worldwide (1, 2). The early stage of DR which are observed microaneurysms and hemorrhages is called non-proliferative DR (NPDR). In the later stage of the disease, the formation of new blood vessels begins and the disease is called proliferative DR (PDR) at this stage (3,4). Diabetic macular edema (DME), a complication of DR, is the most prevalent cause of sight loss in DR patients (5). Long duration of DM, ineffective glycemic control, hyperlipidemia, hypertension, and increased body mass index (BMI) are major risk factors for DR (2, 3, 6). However these risk factors do not fully explain the differences between individuals in terms of DR risk and the disease severity (7). For example, between the patients with similar diabetes duration and similar glycemic control, substantial differences are observed in the risk and the severity of disease. In addition, the high risk of disease development in the families of individuals with DR indicates the effect of genetic factors on individual differences in disease development and severity (8).

Matrix metalloproteinases (MMPs) are enzymes belonging to the family of zinc-dependent endoproteases and they contribute to degradation and remodeling of protein components in the extracellular matrix. MMPs take a role in the regulation of various developmental mechanisms such as vascular

remodeling, morphogenesis and angiogenesis (3, 9, 10). MMP9 is a member of the gelatinase family of MMPs, and the gene encoding the MMP9 protein is located on chromosome 20 (9). The –1562 C/T polymorphism is a common functional variation located in the promoter region. This polymorphism has been reported to increase the transcription level of MMP9 (9, 11).

Alterations in the blood-retina barrier are one of the most important changes observed in the early stages of DR, and MMP9 is thought to have a primary role in maintaining the integrity of this barrier. The formation of new blood vessels in DR, especially in PDR, is a characteristic feature of the disease. MMP9 is known to be critically important in angiogenesis. (3). MMP9 variations are suggested to have a role in the DR development. There are very few studies in the literature investigating the association between MMP9 polymorphisms and type 2 diabetes mellitus (T2DM) and DR. In these studies, it was reported that –1562 C/T variation may be related with susceptibility to these diseases (12, 13). A similar study was not found in the Turkish population. In the current study, we aimed to investigate the relationship between the MMP9 gene –1562 C/T polymorphism and the development of T2DM, DR, and the clinical features of the disease.

### Material and Method

#### Subjects

The current study complies with the Declaration of



Helsinki and approval was obtained from the Giresun University Faculty of Medicine Clinical Research Ethics Committee. (Approval No: 23.12.2021-08). A total of 510 patients, 168 without DR, 168 with DR and 174 healthy controls, were involved in the present study. T2DM diagnosis was made according to the American Diabetes Association (ADA) standards (14). The diagnosis of DR was made by the ophthalmologists involved in the study, with a detailed ophthalmologic examination with fundus evaluation. Exclusion criteria for the patient group included having a different ocular disease other than DR, poor fundus photo quality, and having a severe systemic disease other than T2DM. In addition, patients with DR were staged as NPDR and PDR according to their examination findings. The control group was selected from individuals who did not have any eye disease, any type of diabetes mellitus and any systemic disease. In addition individuals who have positive family history of DR and diabetes mellitus in their first-degree relatives were excluded from the study. Blood samples were taken from the entire study group for DNA isolation. Moreover, data including age, height, weight, presence of hypertension, fasting blood glucose, HbA1c levels, duration of diabetes and lipid parameters of the patients and the controls were recorded.

### DNA Extraction and Genotyping

DNA extraction was carried out using a commercial kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) and the manufacturer's protocol was followed. PCR analysis of the region of interest was performed with following primers F-5'-CTCATGCCCGTAATCCTAGC-3', R-5'-CTCCCTCACTCCTTCTTCCTA-3'. 2% agarose gel electrophoresis was used to display PCR products

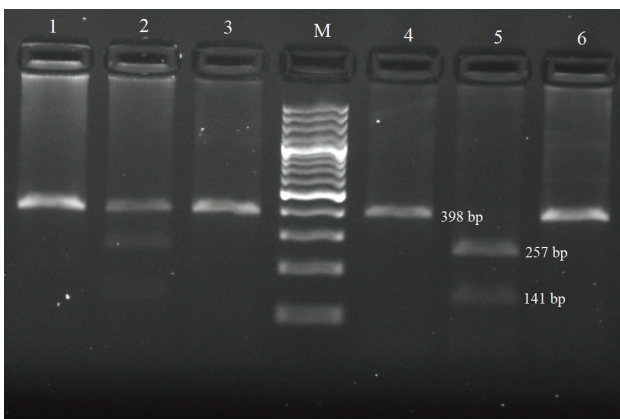
with a size of 398 base pair (bp). The temperature, time, and cycle numbers of the PCR protocol; 95 °C for 5 min, followed by 35 cycles of 95 °C for 1 min, 65 °C for 1 min, 72 °C for 1 min, and a final extension at 72 °C for 5 min. PaeI enzyme was used for RFLP analysis. For enzyme digestion, 0.3 µl PaeI enzyme, 1.25 µl buffer, 6 µl sterile distilled water and 10 µl PCR product were used and incubated at 37°C for 3 hours. After enzyme digestion, the products were run in 2% agarose gel electrophoresis. A single band of 398 bp for the CC genotype, 3 bands of 398bp, 257bp and 141 bp for the CT genotype, and 2 bands of 257bp and 141 bp for the TT genotype was observed (Figure 1).

### Statistical Analyses

Statistical analyzes were performed using the SPSS software program (SPSS, Windows version release 15.0; SPSS Inc.; Chicago, IL, USA). Continuous values were expressed as mean ± SD, and categorical values were expressed as numbers and percentages. The genotype distribution among groups was tested for the Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) using the  $\chi^2$  test. Comparison of allele and genotype frequencies between groups was performed with the  $\chi^2$  test. The distribution of continuous variables between groups was evaluated with Mann–Whitney U and Kruskal Wallis tests. Whether the -1562 C/T polymorphism had an independent effect on the development of DR and PDR was evaluated with binary logistic regression analyzes in which other risk factors were included. P values below 0.05 were considered significant.

### Results

Clinical and demographic characteristics of the DR, non-DR and control groups are given in Table 1. Between T2DM patients with and without DR, a significant difference was observed in terms of duration of diabetes, HbA1c, fasting blood glucose level, total cholesterol, LDL, presence of hypertension, insulin use, and presence of DME (Table 1). The genotype distribution in all groups was consistent with the Hardy Weinberg (HWE) equation (Table 2). Allele and genotype frequencies were not different between the T2DM patients and the control group (Table 2). There was a statistically significant difference between the patient groups with and without DR in terms of both genotype and allele frequency. The frequency of CT ( $p=0.001$ ) and CT+TT ( $p=0.001$ ) genotypes and the frequency of T allele ( $p=0.001$ ) were significantly higher in T2DM patients with DR compared to patients without DR (Table 2). In addition, CT ( $p=0.010$ ) and CT+TT ( $p=0.015$ ) genotype frequencies were significantly higher in NPDR patients compared to



**Figure 1**

Agarose gel electrophoresis of PCR products. Lane 1, 3, 4, 6: GG genotype, lane 2: CT genotype, lane 5: TT genotype. M: 100 bp marker

PDR patients (Table 2). When the DR patient group was separated according to MMP9 rs3918242 genotypes, the mean diabetes duration was found to be higher in those carrying the CC genotype compared to the other genotypes ( $p=0.023$ ). Also, the mean total cholesterol was found to be higher in those carrying the CC and CT genotypes compared to those carrying the TT genotype ( $p=0.025$ ) (Table 3). In the logistic

regression analysis, long diabetes duration ( $p<0.001$ ), insulin use ( $p=0.004$ ), high HbA1c levels ( $p=0.003$ ) and MMP9 rs3918242 CT genotype ( $p=0.005$ ) were found as independent risk factors for the DR development (Table 4). On the other hand, only insulin use ( $p=0.003$ ) was determined as an independent risk factor, for PDR development (Table 5).

**Table 1** Demographic and clinical characteristics of study groups.

| Characteristic                | Controls<br>n=174 | Cases<br>(without DR)<br>n=168 | Cases<br>(with DR)<br>n=168 | P<br>value       |
|-------------------------------|-------------------|--------------------------------|-----------------------------|------------------|
| Gender (male/female)          | 90/84             | 74/94                          | 74/94                       | 1.000            |
| Age (years)                   | 62 ± 11.5         | 63.3 ± 8.2                     | 62.4 ± 7.5                  | 0.373            |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )      | 29.6 ± 4.6        | 29.6 ± 3.7                     | 30 ± 5                      | 0.612            |
| Duration of diabetes (years)  | -                 | 8.9 ± 3.9                      | 15.4 ± 5.6                  | <b>&lt;0.001</b> |
| HbA1c (%)                     | 4.8 ± 0.7         | 7.4 ± 1.2                      | 8.2 ± 1.6                   | <b>&lt;0.001</b> |
| Fasting glucose level (mg/dL) | 85.6 ± 9.8        | 164.5 ± 55.3                   | 193.9 ± 94.2                | <b>0.001</b>     |
| Total cholesterol (mg/dl)     | 154.1 ± 30.3      | 191.9 ± 37.8                   | 208.4 ± 59                  | <b>0.009</b>     |
| LDL (mg/dL)                   | 103.8 ± 25.7      | 108.5 ± 30.9                   | 118 ± 39.7                  | <b>0.029</b>     |
| HDL (mg/dL)                   | 50.6 ± 8          | 49.2 ± 12.3                    | 47.8 ± 12.7                 | 0.224            |
| Triglyceride (mg/dL)          | 131.8 ± 18.7      | 188.4 ± 144.6                  | 171.1 ± 122.5               | 0.539            |
| Presence of hypertension (%)  | 11.5              | 37.5                           | 54.2                        | <b>0.002</b>     |
| Insulin therapy               | -                 | 24.4                           | 65.5                        | <b>&lt;0.001</b> |
| DME (%)                       | -                 | 3                              | 74.4                        | <b>&lt;0.001</b> |
| PDR (%)                       | -                 | -                              | 27.4                        | -                |

\*P value compares cases with DR to cases without DR. DR= Diabetic retinopathy, BMI= Body mass index, LDL= Low-density lipoprotein, HDL= High-density lipoprotein, DME= Diabetic macular edema, PDR= Proliferative diabetic retinopathy.

## Discussion

The structure and synthesis of the extracellular matrix are altered in DM (15). Disruption of the blood-retina barrier and angiogenesis are very important in the development of DR (3). MMP9 plays an important role in angiogenesis and the degradation and remodeling of extracellular matrix components. (12). As a matter of fact, in a study investigating the relationship between MMP9 polymorphism and T2DM susceptibility in the Indian population, it was reported that -1562 C/T polymorphism may cause T2DM susceptibility (13). In another study, MMP9 279 A/G (rs17576) polymorphism was found risk factor for T2DM susceptibility in Iranian individuals (15). In our study, however, genotype and

allele frequencies of MMP9 -1562 C/T polymorphism were not different between T2DM patients and the control group (Table 2). Our results do not seem to be compatible with the other two studies in the literature. The reasons of this inconsistency may include ethnicity differences, differences in T2DM risk factors between the patient and control groups, and the relatively low number of patients included in the studies.

The MMP9 -1562 C/T polymorphism has also been associated with different complications of T2DM. For example, the T allele has been related with a lower risk of developing diabetic nephropathy in Han Chinese (16). Similarly, Shalaby et al., argued that the T allele has a protective role for the development of

Table 2

Comparison of MMP9 genotype and allele frequencies between the groups.

| MMP9 rs3918242 Genotypes and alleles | Controls N (%)           | T2DM Cases N (%)      | OR (95% CI)          | p value      |
|--------------------------------------|--------------------------|-----------------------|----------------------|--------------|
| CC                                   | 124 (71.3)               | 228 (67.9)            | Ref                  | -            |
| CT                                   | 48 (27.6)                | 99 (29.4)             | 1.122 (0.746-1.687)  | 0.581        |
| TT                                   | 2 (1.1)                  | 9 (2.7)               | 2.447 (0.521-11.504) | 0.342        |
| CT+TT                                | 50 (28.7)                | 108 (32.1)            | 1.175 (0.787-1.753)  | 0.430        |
| C                                    | 296 (85.1)               | 555 (82.6)            | Ref                  | -            |
| T                                    | 52 (14.9)                | 117 (17.4)            | 1.200 (0.841-1.713)  | 0.315        |
|                                      | HWE:0.261                | HWE:0.653             |                      |              |
| MMP9 rs3918242 Genotypes and alleles | Cases (without DR) N (%) | Cases (with DR) N (%) | OR (95% CI)          | p value      |
| CC                                   | 129 (76.8)               | 99 (58.9)             | Ref                  | -            |
| CT                                   | 36 (21.4)                | 63 (37.5)             | 2.280 (1.402-3.708)  | <b>0.001</b> |
| TT                                   | 3 (1.8)                  | 6 (3.6)               | 2.606 (0.636-10.679) | 0.190        |
| CT+TT                                | 39 (23.2)                | 69 (41.1)             | 2.305 (1.438-3.696)  | <b>0.001</b> |
| C                                    | 294 (87.5)               | 261 (77.7)            | Ref                  | -            |
| T                                    | 42 (12.5)                | 75 (22.3)             | 2.011 (1.331-3.040)  | <b>0.001</b> |
|                                      | HWE:0.791                | HWE:0.292             |                      |              |
| MMP9 rs3918242 Genotypes and alleles | NPDR N(%)                | PDR N(%)              | OR (95% CI)          | p value      |
| CC                                   | 65 (53.3)                | 34 (74)               | Ref                  | -            |
| CT                                   | 53 (43.4)                | 10 (21.7)             | 0.361 (0.163-0.797)  | <b>0.010</b> |
| TT                                   | 4 (3.3)                  | 2 (4.3)               | 0.956 (0.167-5.486)  | 1.000        |
| CT+TT                                | 57 (46.7)                | 12 (26)               | 0.402 (0.190-0.850)  | <b>0.015</b> |
| C                                    | 183 (75)                 | 78 (84.8)             | Ref                  | -            |
| T                                    | 61(25)                   | 14 (15.2)             | 0.538 (0.284-1.020)  | 0.055        |

T2DM=Type II Diabetes Mellitus, OR= Odds ratio, CI= Confidence interval, HWE= Hardy-Weinberg equilibrium, DR= Diabetic retinopathy, PDR= Proliferative diabetic retinopathy, NPDR= Nonproliferative diabetic retinopathy.

diabetic nephropathy (17). In a study investigating the relationship between diabetic foot ulcer and MMP9 profile in T2DM patients, it was observed that MMP9 expression level increased as the wound grade increased. It was also found that the MMP9 promoter was unmethylated in diabetic wounds compared to control wounds. Researchers reported that the -1562 C/T polymorphism CT and TT genotypes combined with unmethylated promoter status caused an increase in MMP9 expression, resulting in chronic non-healing ulcers in the wounds of T2DM patients (18). Singh et al. reported that the MMP9 -1562 C/T polymorphism was a major risk factor for the development of PDR in the Indian population. Researchers claimed that the T allele can induce retinal angiogenesis by causing

increased MMP9 production. (12). In another study by Beranek et al. in the Czech Republic, genotype and allele frequencies of MMP9 -1562 C/T and R279Q polymorphisms did not differ significantly between PDR, NPDR and control groups (19). In our study, frequencies of CT genotype, CT+TT genotype, and T allele were significantly higher in T2DM patients with DR compared to those without. In the logistic regression analysis, which also included other risk factors, diabetes duration, HbA1c level and MMP9 CT genotype were determined as independent risk factors for DR development. In terms of comparison between the groups with and without DR, our results are similar to Sing et al.' study (12). On the other hand, our results could not be compared with the

Table 3

Comparison of clinical characteristics stratified by genotypes of MMP9 rs3918242 polymorphism among T2D patients with DR.

| Parameters                                 | T2DM patients<br>(with DR) |            |             |              |
|--|----------------------------|------------|-------------|--------------|
|  | CC                         | CT         | TT          | P value      |
| <b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>              | 30.6±5.3                   | 29±4.7     | 30.6±3      | 0.127        |
| <b>Hypertension N(%)</b>                   |                            |            |             |              |
| No   | 46 (60.5)                  | 28 (36.8)  | 2 (2.6)     | 0.814        |
| Yes  | 52 (57.1)                  | 35 (38.5)  | 4 (4.4)     |              |
| <b>Total cholesterol (mg/dl)</b>           | 211.7±60.1                 | 207.2±57.6 | 155.2±27.8  | <b>0.025</b> |
| <b>LDL (mg/dL)</b>                         | 117.7±37.2                 | 120.9±42.4 | 82.1±42.3   | 0.085        |
| <b>HDL (mg/dL)</b>                         | 49.3±13.9                  | 45.9±10.2  | 41.2±10.6   | 0.096        |
| <b>Triglyceride (mg/dL)</b>                | 172.1±144.2                | 167.5±79.2 | 190.7±109.8 | 0.448        |
| <b>Diabetes duration (years)</b>           | 16.3±5.3                   | 14.1±5.9   | 14.2±3.8    | <b>0.023</b> |
| <b>HbA1c (%)</b>                           | 8.2±1.6                    | 8.2±1.6    | 9.4±1.9     | 0.214        |
| <b>Fasting blood glucose level (mg/dL)</b> | 191.1±76                   | 185±94     | 320.2±230.3 | 0.306        |
| <b>DME N (%)</b>                           |                            |            |             |              |
| No   | 26 (60.5)                  | 15 (34.9)  | 2 (4.7)     | 0.808        |
| Yes  | 73 (58.4)                  | 48 (38.4)  | 4 (3.2)     |              |

T2DM=Type II Diabetes Mellitus, BMI= Body mass index, LDL= Low-density lipoprotein, HDL= High-density lipoprotein, DME= Diabetic macular edema

Table 4

Risk factors for DR using logistic regression analysis.

| Variables                | Odds ratio | 95% CI      | P value          |
|--------------------------|------------|-------------|------------------|
| BMI                      | 0,982      | 0,916-1,053 | 0,615            |
| Diabetes duration        | 1,337      | 1,238-1,445 | <b>&lt;0.001</b> |
| Presence of hypertension | 1,180      | 0,645-2,159 | 0,592            |
| Total cholesterol        | 1,003      | 0,991-1,015 | 0,592            |
| LDL                      | 1,007      | 0,991-1,023 | 0,372            |
| HDL                      | 1,000      | 0,975-1,025 | 0,973            |
| Triglyceride             | 0,999      | 0,996-1,001 | 0,340            |
| HbA1c                    | 1,458      | 1,134-1,876 | <b>0,003</b>     |
| Fasting glucose level    | 1,002      | 0,997-1,007 | 0,426            |
| Insulin therapy          | 2,549      | 1,349-4,816 | <b>0,004</b>     |
| MMP9 CT genotype         | 2,562      | 1,334-4,922 | <b>0,005</b>     |
| MMP9 TT genotype         | 1,288      | 0,193-8,614 | 0,794            |

OR= Odds ratio, CI= Confidence interval, BMI= Body mass index, LDL= Low-density lipoprotein, HDL= High-density lipoprotein.

**Table 5** Risk factors for PDR using logistic regression analysis.

| Variables                | Odds ratio | 95% CI       | P value      |
|--------------------------|------------|--------------|--------------|
| BMI                      | 1.060      | 0.982-1.145  | 0.137        |
| Diabetes duration        | 1.046      | 0.976-1.120  | 0.202        |
| Presence of hypertension | 1.175      | 0.542-2.550  | 0.683        |
| Total cholesterol        | 1.002      | 0.991-1.013  | 0.732        |
| LDL                      | 1.004      | 0.,988-1.021 | 0.607        |
| Insulin therapy          | 4.887      | 1.719-13.899 | <b>0.003</b> |
| MMP9 CT genotype         | 0.424      | 0.179-1.003  | 0.051        |
| MMP9 TT genotype         | 0.940      | 0.147-6.002  | 0.948        |

OR= Odds ratio, CI= Confidence interval, BMI= Body mass index, LDL= Low-density lipoprotein

study by Beranek et al. because this study did not include T2DM cases without DR (19). Interestingly, in the comparison between NPDR and PDR patients, the frequency of CC genotype was found to be higher in the PDR group. However, in the logistic regression analysis performed afterwards, it was determined that only insulin use was an independent risk factor for PDR development. In addition, in DR patients classified according to MMP9 genotypes, total cholesterol levels were lower in patients with TT genotype, and diabetes duration was longer in patients with CC genotype. Our data show that the CT and CT+TT genotypes and the T allele increase the risk of developing DR in patients with T2DM. On the other hand, contrary to expectations, the higher frequency of CC genotype in the PDR group compared to the NPDR group may be due to the longer diabetes duration of patients with CC genotype or the poor glycemic control of these patients. Another reason may be the low number of patients in the PDR group.

In conclusion, current study demonstrated that MMP9 -1562 C/T polymorphism increases the risk of DR development in Turkish T2DM patients, but this polymorphism has no effect on the risk of T2DM development. In addition, while insulin use was associated with the development of PDR, no relationship was found between the MMP9 -1562 C/T polymorphism and the development of PDR. Although it has some limitations such as the low number of patients, our study is important in terms of the data obtained on the relationship between MMP9 polymorphism and the development of DR in Turkish population.

#### Conflict of Interest Statement

The authors have no conflicts of interest to declare.

#### Ethical Approval

The current study was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki and approved by Giresun University's Faculty of Medicine Clinical Trials Ethics Committee (Approval No: 23.12.2021-08).

#### Consent to Participate and Publish

Written informed consent to participate and publish was obtained from all individual participants included in the study.

#### Funding

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

#### Availability of Data and Materials

Data available on request from the authors.

#### Authors Contributions

FMI: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Validation; Visualization; Writing-original draft.

EAK: Conceptualization; Formal analysis; Investigation; Methodology.

EA: Conceptualization; Methodology; Review & editing

SD: Resources; Formal analysis; Review & editing

MAO: Resources; Formal analysis; Review & editing

## References

1. Simó-Servat O, Hernández C, Simó R. Diabetic Retinopathy in the Context of Patients with Diabetes. *Ophthalmic Res* 2019;62(4):211–7.
2. Han J, Lando L, Skowronska-Krawczyk D, Chao DL. Genetics of Diabetic Retinopathy. *Curr Diab Rep*. 2019;19(9):67.
3. Kowluru RA, Mishra M. Regulation of Matrix Metalloproteinase in the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2017;148:67–85.
4. Bhatwadekar AD, Shughoury A, Belamkar A, Ciulla TA. Genetics of Diabetic Retinopathy, a Leading Cause of Irreversible Blindness in the Industrialized World. *Genes (Basel)* 2021;12(8):1200.
5. Browning DJ, Stewart MW, Lee C. Diabetic macular edema: Evidence-based management. *Indian J Ophthalmol* 2018;66(12):1736.
6. Simó R, Vujosevic S, Aldington SJ, Silva P, Hernández C, Scanlon P, et al. Screening for diabetic retinopathy: new perspectives and challenges. *Rev Lancet Diabetes Endocrinol* 2020;8(4):337–84.
7. Lin KY, Hsih WH, Lin YB, Wen CY, Chang TJ. Update in the epidemiology, risk factors, screening, and treatment of diabetic retinopathy. *J Diabetes Investig*. 2020;12(8):1322–5.
8. Skol AD, Jung SC, Sokovic AM, Chen S, Fazal S, Sosina O, et al. Integration of genomics and transcriptomics predicts diabetic retinopathy susceptibility genes. *Elife* 2020;9:1–20.
9. Gajewska B, Śliwińska-Mossoń M. Association of MMP-2 and MMP-9 Polymorphisms with Diabetes and Pathogenesis of Diabetic Complications. *Int J Mol Sci* 2022;23(18):10571.
10. Mohammad G, Kowluru RA. Diabetic retinopathy and signaling mechanism for activation of matrix metalloproteinase-9. *J Cell Physiol* 2012;227(3):1052–61.
11. Zhang Z, Wu X, Cai T, Gao W, Zhou X, Zhao J, et al. Matrix Metalloproteinase 9 Gene Promoter (rs 3918242) Mutation Reduces the Risk of Diabetic Microvascular Complications. *Int J Environ Res Public Health* 2015;12(7):8023–33.
12. Singh K, Goyal P, Singh M, Deshmukh S, Upadhyay D, Kant S, et al. Association of functional SNP-1562C>T in MMP9 promoter with proliferative diabetic retinopathy in north Indian type 2 diabetes mellitus patients. *J Diabetes Complications* 2017;31(12):1648–51.
13. Singh K, Agrawal NK, Gupta SK, Singh K. A Functional Single Nucleotide Polymorphism -1562C>T in the Matrix Metalloproteinase-9 Promoter Is Associated With Type 2 Diabetes and Diabetic Foot Ulcers. 2013;12(3):199-204.
14. Committee ADAPP. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care* 2022;45(S1):S17–38.
15. Saravani S, Yari D, Saravani R, Ahmadabadi CA. Association of COL4A3 (rs55703767), MMP-9 (rs17576) and TIMP-1 (rs6609533) gene polymorphisms with susceptibility to type 2 diabetes. *Biomed Reports* 2017;6(3):329–34.
16. Feng S, Ye G, Bai S, Wei H, Liao X, Li L. Matrix Metalloproteinase-9 -1562C/T Gene Polymorphism Is Associated with Diabetic Nephropathy. *Biomed Res Int* 2016;2016:1627143.
17. Shalaby K, Bahriz R, Mahsoub MME-A N, Said GE. Matrix metalloproteinase-9 gene polymorphism (-1562 C/T) and its correlation with diabetic nephropathy. *Egypt J Intern Med*. 2021;33:7.
18. Singh K, Agrawal NK, Gupta SK, Mohan G, Chaturvedi S, Singh K. Differential Expression of Matrix Metalloproteinase-9 Gene in Wounds of Type 2 Diabetes Mellitus Cases With Susceptible -1562C>T Genotypes and Wound Severity. *Int J Low Extrem Wounds* 2014;13(2):94–102.
19. Beránek M, Kolar P, Tschoplova S, Kankova K, Vasku A. Genetic variations and plasma levels of gelatinase A (matrix metalloproteinase-2) and gelatinase B (matrix metalloproteinase-9) in proliferative diabetic retinopathy. *Mol Vis* 2008;14:1114–21.

## ANKAFERD BLOOD STOPPER ALLEVIATES CADMIUM-INDUCED LUNG INJURY BY REDUCING MITOCHONDRIAL STRESS-RELATED APOPTOSIS VIA BAX/BCL-2 AND CYT-C/CAS-3 PATHWAYS

ANKAFERD BLOOD STOPPER BAX/BCL-2 VE CYT-C/CAS-3 YOLAKLARI ARACILIĞIYLA MİTOKONDRIYAL STRESLE İLİŞKİLİ APOPTOZU AZALTARAK KADMİYUM KAYNAKLI AKCİĞER HASARINI HAFİFLETİR

Muhammet Yusuf TEPEBAŞI<sup>1</sup>, Perihan SEZGİNER<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Isparta, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, Antalya, TÜRKİYE

**Cite this article as:** Tepebaşı MY, Sezginer P. Ankaferd blood stopper alleviates cadmium-induced lung injury by reducing mitochondrial stress-related apoptosis via Bax/Bcl-2 and Cyt-c/Cas-3 pathways. Med J SDU 2023; 30(2): 225-233.

### Öz

#### Amaç

Çevresel faktörlerin bir sonucu olarak vücuda alınan kadmiyum (Kd) akciğer dokularında inflamasyon, oksidatif stres ve artan apoptozis ile hasara neden olur. Hemostatik bir ajan olarak kullanılan Ankaferd Blood Stopper (ABS), bileşimindeki beş farklı bitki özütü ve bileşeni nedeniyle antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiapoptotik ve yara iyileştirici özelliklere sahiptir. Bu nedenle çalışmamızda Kd'un akciğer üzerinde oluşturduğu toksisite üzerine ABS'nin iyileştirici etkisini araştırmayı amaçladık.

#### Gereç ve Yöntem

Çalışmada 32 rat kullanıldı ve her grupta 8 rat olmak üzere 4 gruba ayrıldı: kontrol, Kd (2,5 mg/kg tek doz ip), ABS (1,5 ml/kg tek doz ip) ve Kd+ABS (Kd, 2,5 mg/kg tek doz ip-ABS, 1,5 ml/kg tek doz ip). Akciğer dokuları histopatolojik olarak değerlendirildi. İnflamasyon, tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ile immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Oksidatif stres, total oksidan seviye (TOS) ve total antioksidan seviye

(TAS) ile spektrofotometrik yöntem kullanılarak değerlendirildi. Apoptoz, Bcl-2 ile ilişkili X (Bax), B-hücreli lenfoma 2 (Bcl-2), Sitokrom c (Sit c) ve kaspaz 3 genlerinin rölatif mRNA kat değişimleri ile RT-PCR yöntemi kullanılarak değerlendirildi.

#### Bulgular

Kd grubunda, konjesyon, hemoraji ve mononükleer hücre infiltrasyonu gibi histopatolojik bulgularda artış bulundu. Kd'un TNF- $\alpha$ 'yı yükselterek inflamasyonu arttırdığı, TOS ve OSİ artırıp TAS'ı azaltarak oksidatif stres artışına neden olduğu ayrıca Bax, Sit c ve kaspaz 3 gen ekspresyonlarının artırıp Bcl-2 gen ekspresyonunu azaltarak mitokondriyal stres ile ilişkili apoptozise neden olduğu bulundu ( $p<0.05$ ). ABS uygulamasından sonra tüm bu parametrelerde anlamlı düzelme olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ).

#### Sonuç

Sonuç olarak, ABS'nin Kd kaynaklı akciğer toksisitesinden koruyucu alternatif bir seçenek olabileceği ve bu konuda daha fazla araştırma yapılması gerektiği kanısındayız.

**Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address:** M.Y.T. / muhammettepebasi@sdu.edu.tr

**Müracaat tarihi/Application Date:** 07.04.2023 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 17.05.2023

**ORCID IDs of the authors:** M.Y.T: 0000-0002-1087-4874; P.S: 0000-0002-1846-5530

**Anahtar Kelimeler:** Akciğer, Ankaferd Blood Stopper, Apoptoz, İnflamasyon, Kadmiyum, Oksidatif stres

## Abstract

### Objective

As a result of environmental factors, cadmium (Cd) taken into the body causes damage to lung tissues through inflammation, oxidative stress, and increased apoptosis. Ankaferd Blood Stopper (ABS), which is used as a hemostatic agent, has antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, antiapoptotic, and wound healing properties due to five different plant extracts and components in its composition. Therefore, in our study, we aimed to investigate the curative effect of ABS on the toxicity of Cd on the lung.

### Material and Method

Thirty two rats were used in the study, and they were divided into 4 groups, with 8 rats in each group: control, Kd (2.5 mg/kg single dose ip), ABS (1.5 ml/kg single dose ip), and Kd+ABS (Kd, 2,5 mg/kg single dose ip-ABS, 1.5 ml/kg single dose ip). Lung tissues were evaluated histopathologically. Inflammation was evaluated immunohistochemically with tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Oxidative stress was

evaluated with the total oxidant level (TOS) and total antioxidant level (TAS) using the spectrophotometric method. Apoptosis was evaluated using RT-PCR with relative mRNA fold changes of Bcl-2-associated X (Bax), B-cell lymphoma 2 (Bcl-2), cytochrome c (Cyt c), and caspase 3 genes.

### Results

Histopathological findings such as congestion, hemorrhage, and mononuclear cell infiltration were found to increase in the Cd group. It was found that Cd increased inflammation by increasing TNF- $\alpha$ , increasing TOS and OSI, and decreasing TAS, causing an increase in oxidative stress. ( $p < 0.05$ ). It was determined that there was a significant improvement in all these parameters after the ABS application ( $p < 0.05$ ).

### Conclusion

In conclusion, we suggested that ABS may be an alternative option to protect against Cd-induced lung toxicity, and more research should be done on this subject.

**Keywords:** Ankaferd Blood Stopper, Apoptosis, Cadmium, Inflammation, Lung, Oxidative stress

## Introduction

Heavy metals formed as a consequence of a rise in industrial goods are regarded as one of the primary sources of environmental pollution and are known to cause a variety of health concerns (1). Cadmium (Cd), which is in the group of non-essential and heavy metals discharged to the environment in various ways, is one of the most prominent causes of environmental pollutants and is present in phosphate fertilizers, cigarettes, batteries, detergents, and refined petroleum derivatives (2, 3).

Exposure to hazardous Cd is through contaminated water, air, food, and cigarette smoke (4). It has been shown that Cd has a function in the pathophysiological process in organs such as the lungs, kidneys, liver, and bone (5). Among these organs, the lungs are the most sensitive to cadmium toxicity when taken into the body by inhalation. When cadmium is inhaled, it causes lung damage, bronchial and pulmonary inflammation, which can lead to pulmonary fibrosis, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), emphysema, and even lung cancer (6).

Studies have shown that the most important mechanism of cadmium toxicity is increased reactive oxygen species (ROS) load and increased oxidative stress by Cd binding to glutathione and sulfhydryl groups in cells (7, 8). It's been reported that free Cd causes oxidative stress via binding to some of the electron transport chain complexes, and some dehydrogenase enzymes in mitochondria, then inducing the activities of other oxidant enzymes such as NADPH oxidase, causing an increase in ROS (9, 10). The loss of membrane potential after mitochondrial damage leads to the release of Cytochrome c (Cyt-c) and activation of the caspase-dependent pathway, leading the cell to apoptosis (11). Increasing ROS causes a decrease in antioxidant enzymes and activates apoptotic pathways by causing damage to structural components of the cell such as DNA, protein and lipid (12–14). Cd also induces genotoxicity through DNA methylation and histone acetylation, causing a decrease in the expression of tumor suppressor genes and an increase in proinflammatory cytokines such as Interleukin-6 (IL-6), Interleukin 1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (15). Bax and Bcl 2 are also well-known proteins that play significant roles in



the development of oxidative stress and mitochondria-mediated apoptosis (16).

Ankaferd Blood Stopper (ABS), which is widely used as a hemostatic agent in traditional medicine, is a mixture used by standardizing the extracts of five plants such as *Thymus vulgaris* (thyme) dried herb (5 mg/dl), *Alpinia officinarum* (galangal) dried leaf (7 mg/dl), *Vitis vinifera* (grape) dried leaf (8 mg/dl), *Glycyrrhiza glabra* (licorice) dried leaf (9 mg/dl) and *Urtica dioica* (nettle) root (6 mg/dl) (17–19). Each of these plants in the mixture has different healing effects at the cellular and tissue level (eg cell proliferation, endothelium, angiogenesis, antioxidant, etc.) (20, 21). In addition, studies have revealed that ABS reduces the apoptotic process that occurs due to hemorrhagic and mitochondrial stress (22–24).

As a result of the literature studies, no studies were found on the antioxidant, antiapoptotic, and healing properties of ABS on the damage caused by Cd toxicity in the lung tissues. In light of all of this knowledge, an investigation into the protective effects of ABS against Cd-induced acute lung damage was undertaken.

## Material and Method

### Experimental Animal Protocol

Thirty-two male rats were randomly divided into 4 groups, with 8 in each group. Rats were kept in the light for 12 hours and in darkness for 12 hours at 22–24 degrees to ensure standardization. Rats were fed with ad libitum in Euro type 4 cages.

Control group (n=8): 1 ml of saline was administered intraperitoneally (ip) into the rats' right inguinal region on the day of the experiment.

ABS group (n=8): 1.5 ml/kg ABS was administered ip from the right inguinal regions of the rats (25).

Cd group (n=8): Cadmium chloride (CdCl<sub>2</sub>) dissolved in saline at a dose of 2.5 mg/kg was administered ip from the right inguinal region (26).

ABS + Cd group (n=8): First administered CdCl<sub>2</sub> at a single dose of 2.5 mg/kg (ip) from the right inguinal region. One hour after the cadmium application, 1.5 ml/kg ABS was administered to the rats from the same area as i.p.

24 hours after Cd administration, the rats were sacrificed under anesthesia and their lung tissues were taken. The right lung was placed in 10%

neutral formaldehyde for histopathological and immunohistochemical evaluations. The left lung was wrapped in aluminum foil and stored at -80° C for biochemical and genetic analysis.

### Histopathological and Immunohistochemical Analyzes

Lung tissue samples to be used for histopathological examinations were fixed with formalin and embedded in paraffin blocks. Five microns (μ) of sections were taken from the paraffin blocks with a Leica brand cylinder microtome, and the general characteristics of the lung tissue were revealed by staining with Hematoxylin+Eosin (H+E) dye and visualized on the ZEISS AX10 Lab.A1 photomicroscope 40X. Histopathological findings were evaluated and scored as "(0) = normal, (1) = mild, (2) = moderate, (3) = severe" (27).

For immunohistochemical examinations, 5 μm thick sections were taken from the lung tissue and deparaffinization was performed. Sections were stained immunohistochemically with TNF-α (Catalog no: bs-2081R, Bioss) according to the kit manufacturer's protocol. Then, immunohistochemistry analyzes were performed using secondary antibodies and evaluated by scoring on a 20X ZEISS AX10 Lab. A1 photomicroscope.

### Biochemical Analyzes

Lung tissues were homogenized with phosphate buffer (10 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.8 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2.7 mM KCl, 137 mM NaCl, pH 7.4) and centrifuged. TAS (mmol Trolox Eq/L) and TOS (μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eq/L) measurements from the supernatants were performed using colorimetric kits (Randox Laboratories, United Kingdom) by the method developed by Erel et al. in a Beckman Coulter AU5800 device (Beckman Coulter, USA). The formula  $OSI = [(TOS / (TAS) \times 100)]$  was used to calculate the OSI values (28, 29).

### Genetic Analyzes

#### RNA isolation

RNA isolation of lung samples was performed with the RiboEx (TM) RNA Isolation Kit (Atlas Biotechnology, Turkey). The amount and purity of the RNAs obtained were measured with the BioSpec nanodrop (Shimadzu Ltd., Kyoto, Japan) device. Each isolated RNA sample was standardized at 1 μg and stored at -80°C for use in the cDNA synthesis step.

#### cDNA Synthesis

cDNA synthesis was carried out in a thermal cycler according to the protocol of the A.B.T. TM cDNA

**Table 1** Primary sequences of genes and product size

| Genes                       | Primary sequence            | product size |
|-----------------------------|-----------------------------|--------------|
| <b>GAPDH (HouseKeeping)</b> | F: AGGTTGTCTCCTGTGACTTC     | 130 bp       |
|                             | R: CTGTTGCTGTAGCCATATTC     |              |
| <b>Cyt c</b>                | F: TAAATATGAGGGTGTTCGC      | 192 bp       |
|                             | R: AAGAATAGTTCCGTCCTG       |              |
| <b>Caspase 3</b>            | F: GGCCGACTTCCTGTATGCTT     | 110 bp       |
|                             | R: CGTACAGTTTCAGCATGGCG     |              |
| <b>Bax</b>                  | F: AGGGTGGCTGGGAAGGC        | 93 bp        |
|                             | R: TGAGCGAGGCGGTGAGG        |              |
| <b>Bcl2</b>                 | F: ATCGCTCTGTGGATGACTGAGTAC | 134 bp       |
|                             | R: AGAGACAGCCAGGAGAAATCAAA  |              |

F: Forward, R: Reverse, GAPDH: Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, Cyt c: Cytochrome, Bax: Bcl2 associated X, protein, BCL2: B-cell lymphoma 2

Synthesis Kit (Atlas Biotechnology, Turkey). The following concentrations were prepared on ice for each sample: 10X reaction buffer 2 µl, dNTP mix (2.5 mM) 1 µl, Random hexamer (50 µM) 2 µl, Reverse Transcriptase (200 U/µl) 1 µl, RNase inhibitor 0.5 µl, RNase-free water 3.5 µl, and RNA sample 10 µl. The prepared mixture was placed in the thermal cycler and the kit protocol was used. All stages were performed in 1 cycle and obtained cDNAs were stored at -20 °C.

#### qRT PCR

Primer designs were made by detecting specific mRNA sequences and testing possible primer sequences using the NCBI website. The genes and specific primer sequences used in the expression step are given in Table 1. Expression levels were measured by the Biorad CFX96 (California, USA) real-time qPCR instrument using the A.B.T. 2X qPCR SYBR-Green MasterMix (Atlas Biotechnology, Turkey). RT-qPCR conditions according to the manufacturer's protocol were pre-denaturation at 95 °C for 5 min, followed by 40 cycles of 20 s at 95 °C and 30 s at 60 °C. Expression of the GAPDH gene was used for normalization and each sample was run in triplicate.

#### Statistical Analysis

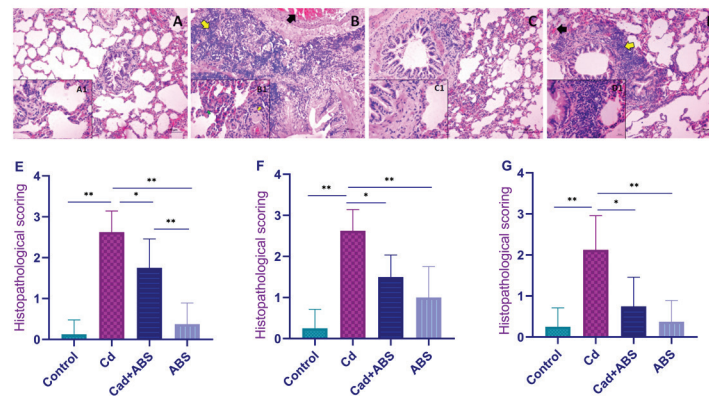
The normality distribution was performed using the Shapiro-Wilk test. One-Way ANOVA (posthoc Bonferroni) test was used to compare data between groups. The data in our study were presented as

the mean±standard deviation. All analyzes were performed using the SPSS 20 program and p <0.05 was considered significant.

#### Results

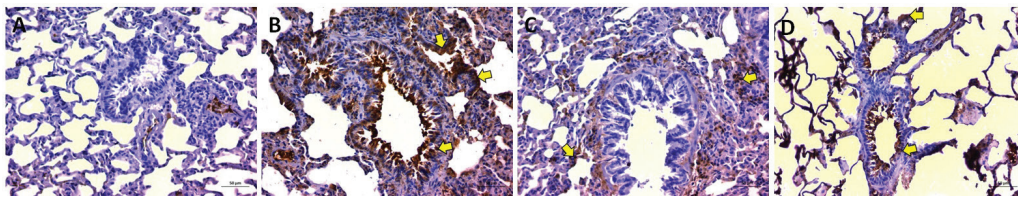
Histopathological and immunohistochemistry findings Scores obtained after H-E staining lung tissue slices were assessed. No histopathological findings were found in the rat lung tissues in the control group. A significant increase was found in histopathological findings such as mononuclear cell infiltration, hemorrhage and congestion in the vessels, and thickening of the alveolar walls in the lung tissues of the Cd group (p<0.001). Similar to the control group, histopathological findings were not observed in the ABS group (p>0.05). Only minor signs of hemorrhage and congestion were detected in the vessels (p=0.07). In the Cd+ABS group, histopathological findings such as cell mononuclear cell infiltration, vascular hemorrhage and congestion, and alveolar wall thickening were observed to be significantly reduced compared to the Cd-administered group (p<0.05) (Figure 1).

TNF-α was evaluated immunohistochemically. TNF-α synthesis was significantly increased in the Cd group compared to the control group (p<0.001). TNF-α synthesis was found to be significantly decreased in the Cd+ABS group compared to the Cd group (p<0.001) (Table 2) (Figure 2).



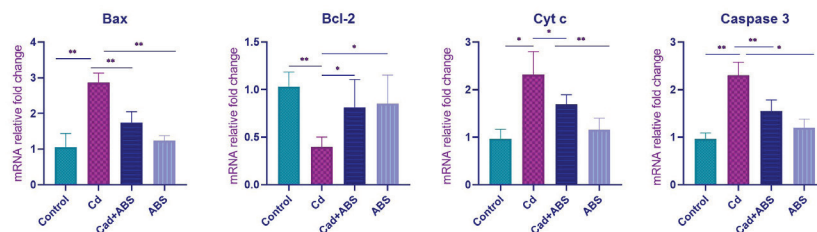
**Figure 1;**

A and A1 images contain H-E staining images of the control group. There is no histopathological finding in the images of the control group. B and B1 images belong to the Cd group and the black arrow shows the congestion and hemorrhage in the vessels, while the mononuclear cell infiltration is marked with the yellow arrow. C and C1 images belong to the ABS group and no histopathological finding exists. D and D1 images belong to the Cd+ABS group. In the group given Cd+ABS, mononuclear cell infiltration is shown with a yellow arrow and hemorrhage in the vessel with a black arrow (A, B, C, and D X10) and (A1, B1, C1, and D1 X40). Statistical graphs of E Mononuclear cell infiltration, F hemorrhage, and congestion, G Thickening of alveoli.



**Figure 2;**

Picture A of the control group is shown and there is no TNF- $\alpha$  synthesis. Cd group B picture is shown and TNF- $\alpha$  synthesis is marked with yellow arrows. The picture of the ABS group is indicated by C, the Cd+ABS group is indicated by D, and TNF- $\alpha$  syntheses are shown with yellow arrows (A, B, C, and D X20).



**Figure 3;**

mRNA relative fold change graph of genes in groups.

Cd: Cadmium, ABS: Ankaferd blood stopper, Bax: Bcl-2 associated X, Bcl-2: B-cell lymphoma 2, Cyt c: Cytochrome c. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$ .

**Table 2** Statistical analysis of TNF immunohistochemistry scoring.

|                                | Groups          |                 |                 |                 | p-value         |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                | Control         | Cd              | Cd+ABS          | ABS             |                 |
| <b>TNF-<math>\alpha</math></b> | 0.00 $\pm$ 0.00 | 2.50 $\pm$ 0.53 | 1.37 $\pm$ 0.52 | 0.50 $\pm$ 0.43 | a**, b**, c**d# |

Data were given as mean $\pm$ SD (Standard deviation). The results of oxidative stress markers were assessed by a one-way ANOVA test. a Control vs. Cd., b Cd vs. Cd+ABS, c Cd vs. ABS, d Control vs. ABS. Cd: Cadmium, ABS: Ankaferd blood stopper, TOS: Total oxidant status, TAS: Total antioxidant status, OSI: Oxidative stress index. \*\* p<0.001, # p>0.05.

**Table 3** Statistical analysis of TOS, TAS, and OSI values between groups in rat lung tissues

|                   | Groups           |                  |                  |                  | p-value           |
|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
|                   | Control          | Cd               | Cd+ABS           | ABS              |                   |
| <b>Parameters</b> |                  |                  |                  |                  |                   |
| <b>TOS</b>        | 18.55 $\pm$ 1.78 | 29.15 $\pm$ 2.77 | 23.66 $\pm$ 4.16 | 20.36 $\pm$ 2.17 | a**, b*, c**, d # |
| <b>TAS</b>        | 1.63 $\pm$ 0.24  | 0.78 $\pm$ 0.26  | 1.25 $\pm$ 0.11  | 1.33 $\pm$ 0.27  | a**, b*, c**, d#  |
| <b>OSI</b>        | 1.16 $\pm$ 0.23  | 4.16 $\pm$ 1.58  | 1.92 $\pm$ 0.46  | 1.61 $\pm$ 0.45  | a**, b**, c**, d# |

Data were given as mean $\pm$ SD (Standard deviation). The results of oxidative stress markers were assessed by a one-way ANOVA test. a Control vs. Cd., b Cd vs. Cd+ABS, c Cd vs. ABS, d Control vs. ABS. Cd: Cadmium, ABS: Ankaferd blood stopper, TOS: Total oxidant status, TAS: Total antioxidant status, OSI: Oxidative stress index, SD: Standard deviation. \*\* p<0.001, \* p<0.05, # p>0.05.

**Table 4** Relative mRNA expression levels and statistical analysis of genes in groups

|                  | Groups          |                 |                 |                 | p-value           |
|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|
|                  | Control         | Cd              | Cd+ABS          | ABS             |                   |
| <b>Genes</b>     |                 |                 |                 |                 |                   |
| <b>Bax</b>       | 1.05 $\pm$ 0.39 | 2.87 $\pm$ 0.26 | 1.75 $\pm$ 0.31 | 1.24 $\pm$ 0.14 | a**, b**, c**, d# |
| <b>Bcl-2</b>     | 1.03 $\pm$ 0.15 | 0.39 $\pm$ 0.10 | 0.81 $\pm$ 0.29 | 0.85 $\pm$ 0.30 | a**, b*, c*, d#   |
| <b>Cyt c</b>     | 0.96 $\pm$ 0.20 | 2.32 $\pm$ 0.48 | 1.69 $\pm$ 0.20 | 1.16 $\pm$ 0.24 | a**, b*, c**, d#  |
| <b>Caspase 3</b> | 0.96 $\pm$ 0.12 | 2.30 $\pm$ 0.28 | 1.55 $\pm$ 0.23 | 1.20 $\pm$ 0.19 | a**, b**, c**, d# |

Mean $\pm$ SD levels of relative mRNA expression levels of genes were given and evaluated by a one-way ANOVA test. a Control vs. Cd., b Cd vs. Cd+ABS, c Cd vs. ABS, d Control vs. ABS. Cd: Cadmium, ABS: Ankaferd blood stopper, Bax: Bcl-2 associated X, BCL2: B-cell lymphoma 2, Cyt c: Cytochrome c. \* p<0.05, \*\* p<0.001, # p>0.05.

### Results of Oxidative Stress Markers

TOS and OSI values used to measure oxidative stress and TAS values indicating antioxidant levels were

determined and compared between groups (Table 3). TOS and OSI levels increased in the Cd group compared to the control group, TAS levels were

significantly decreased ( $p < 0.001$ ). When the Cd and Cd+ABS groups were compared, TOS and OSI values decreased and TAS values increased significantly in the Cd+ABS group ( $p < 0.004$ ,  $p < 0.001$  and  $p = 0.002$ ).

### Genetic Analysis Results in Rat Lung Tissues

Relative mRNA expression levels of pro-apoptotic and anti-apoptotic genes were determined in rat lung tissues in groups. When the Cd group was compared with the control group, a significant increase in the expression levels of Bax, Cyt c, and caspase 3 genes and a significant decrease in the expression levels of the Bcl-2 gene were determined in the Cd group ( $p < 0.001$ ). When the Cd group was compared with the Cd+ABS group, a significant decrease was observed in the Bax, cyt c, and caspase 3 gene expression levels in the Cd+ABS group, while there was a significant increase in the Bcl-2 gene ( $p < 0.001$ ,  $p = 0.002$ ,  $p < 0.001$  and  $p = 0.007$ , respectively) (Table 4) (Figure 3).

### Discussion

Cd causes significant toxic effects in many organs and tissues as a result of environmental and cigarette smoke factors. One of the organs where toxic effects are seen is the lung (30, 31). ABS consists of a blend of five plants and is used as a hemostatic agent in Turkish traditional medicine. ABS is also known to have antioxidant and anti-inflammatory effects (32). In this study, it was tried to determine the effect of ABS on the lung in rats with lung toxicity as a result of Cd exposure.

It has been shown that the most important mechanism of Cd toxicity in tissues and cells is the rise in ROS (8, 33). Cd achieves this action by attaching to the sulfhydryl groups of antioxidant enzymes and raising mitochondrial oxidative stress by disrupting the electron transport chain (9). In addition, oxidative stress activates mitochondrial apoptotic pathways and causes cell death (34). In a study conducted in 2018, it was stated that Cd decreased TAS levels and increased TOS levels in sublingual gland tissues (35). Miltonprabu et al. were reported that Cd causes inflammation and apoptosis by increasing mitochondrial oxidative stress (36). Kumar et al. In their study on the effect of Cd on lung epithelial cells, they determined that TNF- $\alpha$  and Bax levels increased, while Bcl-2 levels decreased (37). In a study by Yeşildağ et al. in 2021, it was revealed that Cd increased oxidative stress, inflammation, and apoptosis in lung tissues. It has been stated that Cd shows its oxidative effect through antioxidant and oxidant enzymes, its inflammatory effect by increasing TNF- $\alpha$  level, and its

apoptotic effect by Bax, Caspase 3 increase, and Bcl-2 decrease (1). In our study, we found that Cd increases oxidative stress, inflammation, and apoptosis similar to the literature. We determined that Cd increased mitochondrial stress-related apoptosis as a result of Bax, Cyt c, cas 3 increase and Bcl-2 decrease, as well as increased oxidative stress. In addition, as a result of our histopathological evaluation, we determined that Cd causes pathological effects such as mononuclear cell infiltration in the lung, hemorrhage congestion, and thickening of the alveolar wall.

Each of the five plant extracts contained in ABS has its different properties and in the chemical analyzes, it has been determined that there are compounds with antioxidant properties (38). There is evidence that ABS regulates oxidative stress, inflammation, and apoptosis through these compounds. In the study of Buyuktiryaki et al. in 2019, it was determined that ABS decreased the oxidative stress markers TOS and OSI and increased the TAS level in necrotizing enterocolitis. It has also been stated that ABS reduces inflammation and apoptosis by affecting TNF- $\alpha$  and Caspase 3 levels. In addition, in the histopathological evaluation, fewer pathological findings were found in the ABS-treated group (24). When Kosmaz et al. investigated the negative effects of ABS in rats with experimental obstructive jaundice, they found that ABS decreased oxidative stress parameters and histopathologically, inflammation and fibrosis (32). Hasgül et al. investigated the effect of ABS on the damage caused by acetylsalicylic acid in the gastric mucosa and determined that ABS had a positive effect on tissue damage by reducing histopathological, inflammation, and oxidative stress (20). Hortu et al. were reported that it reduced TNF- $\alpha$  and apoptosis (25). Although previous studies have revealed that ABS has antioxidant, anti-apoptotic, and anti-inflammatory effects, no study has been found on the curative effect of Cd against the toxic effect of Cd in the lung. In our study, we determined that ABS application has an anti-inflammatory effect on lung toxicity induced by Cd and also has a healing effect by reducing oxidative stress and mitochondrial stress-related apoptosis. We determined that the healing effect of ABS on lung tissue was achieved by reducing hemorrhage and congestion, mononuclear cell infiltration, and alveolar wall thickness.

Our study has some limitations. The use of TUNEL method as well as gene expressions in the evaluation of mitochondrial apoptotic process may support the evidence on the effect of Cd and ABS on lung tissue. In addition, since this study is the first to evaluate

the effect of ABS on lung toxicity, we think that more studies should be done to evaluate its effectiveness.

## Conclusion

As a result of our study, we determined that Cd causes histopathological changes by mononuclear cell infiltration, hemorrhage-congestion, and thickening of the alveolar wall in lung tissues. In addition, Cd increased oxidative stress, inflammation, and apoptosis. It positively affected the entire pathological process after treatment with ABS. For these reasons, we think that ABS can be used as an alternative for lung toxicities after Cd exposure.

## Acknowledgment

The authors thank Dr. İter İLHAN for his support in biochemical analysis.

## Conflict of Interest Statement

The authors have no conflicts of interest to declare.

## Ethical Approval

The experimental protocol was approved by the local animal experiments ethics committee of Isparta Süleyman Demirel University with the number 15.09.2022/06-81.

## Funding

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

## Availability of Data and Materials

All data generated during the study will be sent by the corresponding author upon reasonable request

## Authors Contributions

M.Y.T: Planning of the study; Genetic analysis; Writing the Article.

P.S: Histopathological analysis, Immunohistochemical analysis, Editing of the article.

## References

1. Yesildag K, Gur C, İleriturk M, Kandemir FM. Evaluation of oxidative stress, inflammation, apoptosis, oxidative DNA damage and metalloproteinases in the lungs of rats treated with cadmium and carvacrol. *Mol Biol Rep.* 2022;49(2):1201–11.
2. Zwolak I. The role of selenium in arsenic and cadmium toxicity: an updated review of scientific literature. *Biol Trace Elem Res.* 2020;193(1):44–63.
3. Zhang Y, Xu X, Sun D, Cao J, Zhang Y, Huo X. Alteration of the number and percentage of innate immune cells in preschool children from an e-waste recycling area. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2017;145:615–22.
4. Wang Y, Wu Y, Luo K, Liu Y, Zhou M, Yan S, et al. The protective effects of selenium on cadmium-induced oxidative stress and apoptosis via mitochondria pathway in mice kidney. *Food Chem Toxicol.* 2013;58:61–7.
5. Rahimzadeh MR, Rahimzadeh MR, Kazemi S, Moghadamnia A. Cadmium toxicity and treatment: An update. *Casp J Intern Med.* 2017;8(3):135.
6. Park JH, Lee BM, Kim HS. Potential protective roles of curcumin against cadmium-induced toxicity and oxidative stress. *J Toxicol Environ Heal Part B.* 2021;24(3):95–118.
7. Rikans LE, Yamano T. Mechanisms of cadmium-mediated acute hepatotoxicity. *J Biochem Mol Toxicol.* 2000;14(2):110–7.
8. Chang K-C, Hsu C-C, Liu S-H, Su C-C, Yen C-C, Lee M-J, et al. Cadmium induces apoptosis in pancreatic  $\beta$ -cells through a mitochondria-dependent pathway: the role of oxidative stress-mediated c-Jun N-terminal kinase activation. *PLoS One.* 2013;8(2):e54374.
9. Monteiro C, Ferreira de Oliveira JMP, Pinho F, Bastos V, Oliveira H, Peixoto F, et al. Biochemical and transcriptional analyses of cadmium-induced mitochondrial dysfunction and oxidative stress in human osteoblasts. *J Toxicol Environ Heal Part A.* 2018;81(15):705–17.
10. Hu X, Chandler JD, Park S, Liu K, Fernandes J, Orr M, et al. Low-dose cadmium disrupts mitochondrial citric acid cycle and lipid metabolism in mouse lung. *Free Radic Biol Med.* 2019;131:209–17.
11. Zhang J, Zhang Y, Qi X, Cui Y, Chen X, Lin H. TRAF2/ASK1/JNK Signaling Pathway Is Involved in the Lung Apoptosis of Swine Induced by Cadmium Exposure. *Biol Trace Elem Res.* 2022;1–9.
12. Bertin G, Averbek D. Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (a review). *Biochimie.* 2006;88(11):1549–59.
13. Wu KC, Liu JJ, Klaassen CD. Nrf2 activation prevents cadmium-induced acute liver injury. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012;263(1):14–20.
14. Pathak N, Khandelwal S. Influence of cadmium on murine thymocytes: potentiation of apoptosis and oxidative stress. *Toxicol Lett.* 2006;165(2):121–32.
15. Guo AH, Kumar S, Lombard DB. Epigenetic mechanisms of cadmium-induced nephrotoxicity. *Curr Opin Toxicol.* 2022;100372.
16. Susnow N, Zeng L, Margineantu D, Hockenbery DM. Bcl-2 family proteins as regulators of oxidative stress. In: *Seminars in cancer biology.* Elsevier; 2009. p. 42–9.
17. Goker H, Haznedaroglu IC, Ercetin S, Kirazli S, Akman U, Ozturk Y, et al. Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper®. *J Int Med Res.* 2008;36(1):163–70.
18. Beyazit Y, Kurt M, Kekilli M, Goker H, Haznedaroglu IC. Evaluation of hemostatic effects of Ankaferd as an alternative medicine. *Altern Med Rev.* 2010;15(4):329–36.
19. Fisgin NT, Cayci YT, Coban AY, Ozatli D, Tanyel E, Durupinar B, et al. Antimicrobial activity of plant extract Ankaferd Blood Stopper®. *Fitoterapia.* 2009;80(1):48–50.
20. Hasgul R, Uysal S, Haltas H, Akyol S, Yuksel Y, Gurel A, et al. Protective effects of Ankaferd blood stopper on aspirin-induced oxidative mucosal damage in a rat model of gastric injury. *Toxicol Ind Health.* 2014;30(10):888–95.
21. Sheela ML, Ramakrishna MK, Salimath BP. Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by Glycyrrhiza glabra. *Int Immunopharmacol.* 2006;6(3):494–8.
22. Mumcuoglu M, Akin DF, Ezer U, Akar N. Ankaferd Blood Stopper induces apoptosis and regulates PAR1 and EPCR expression in human leukemia cells. *Egypt J Med Hum Genet.* 2015;16(1):19–27.

23. Nenni M, Öncül S, Ercan A, Çelebier M, Süslü İ, Haznedaroğlu İC. Exposure of hepatocellular carcinoma cells to ankaferd blood stopper® alters cell death signaling networks confirmed by Oncoproteomic and genomic profiling studies. *Curr Tradit Med.* 2021;7(2):246–58.
24. Buyuktiyaki M, Tayman C, Koyuncu I, Cakir U, Turkmenoglu TT, Cakir E, et al. Therapeutic and preventative effects of ankaferd blood stopper in an experimental necrotizing enterocolitis model. *Biomed Pharmacother.* 2019;110:105–10.
25. Hortu I, Ozceltik G, Karadadas E, Erbas O, Yigitturk G, Ulukus M. The role of ankaferd blood stopper and oxytocin as potential therapeutic agents in endometriosis: a rat model. *Curr Med Sci.* 2020;40(3):556–62.
26. Coşan DT, Aylin DAL, Soyocak A, Çolak E, Çiçek A, Hülyam K. Kadmiyum Toksikitesi Oluşturulan Sıçanlarda Tannik Asitin, Ağır Metal Giderimi ve Bazı Biyokimyasal Değerler Üzerine Et-kisinin Araştırılması. *Kocatepe Tıp Derg.* 2017;18(4):146–53.
27. Savran M, Asci H, Armagan İ, Erzurumlu Y, Azırak S, Kaya Ozer M, et al. Thymoquinone could be protective against valproic acid-induced testicular toxicity by antioxidant and anti-inflammatory mechanisms. *Andrologia.* 2020;52(7):e13623.
28. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38(12):1103–11.
29. Altındag O, Erel O, Soran N, Celik H, Selek S. Total oxidative/anti-oxidative status and relation to bone mineral density in osteoporosis. *Rheumatol Int.* 2008;28(4):317–21.
30. Yu W, Xu Z, Gao Q, Xu Y, Wang B, Dai Y. Protective role of wogonin against cadmium induced testicular toxicity: Involvement of antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic pathways. *Life Sci.* 2020;258:118192.
31. Naidoo SVK, Bester MJ, Arbi S, Venter C, Dhanraj P, Oberholzer HM. Oral exposure to cadmium and mercury alone and in combination causes damage to the lung tissue of Sprague-Dawley rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2019;69:86–94.
32. Koşmaz K, Durhan A, Süleyman M, Ünal Y, Bostancı MT, Haskaraca TY, et al. The effect of Ankaferd blood stopper on liver damage in experimental obstructive jaundice. *Turkish J Med Sci.* 2021;51(3):1472–80.
33. Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology.* 2011;283(2–3):65–87.
34. Kannan K, Jain SK. Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiology.* 2000;7(3):153–63.
35. KostECKA-Sochoń P, Onopiuk BM, Dąbrowska E. Protective effect of increased zinc supply against oxidative damage of sublingual gland in chronic exposure to cadmium: experimental study on rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:3732842.
36. Miltonprabu S, Manoharan V. Hepatoprotective effect of grape seed proanthocyanidins on Cadmium-induced hepatic injury in rats: possible involvement of mitochondrial dysfunction, inflammation and apoptosis. *Toxicol reports.* 2016;3:63–77.
37. Kiran Kumar KM, Naveen Kumar M, Patil RH, Nagesh R, Hegde SM, Kavya K, et al. Cadmium induces oxidative stress and apoptosis in lung epithelial cells. *Toxicol Mech Methods.* 2016;26(9):658–66.
38. Koluman A, Akar N, Malkan UY, Haznedaroglu IC. Qualitative/chemical analyses of Ankaferd hemostat and its antioxidant content in synthetic gastric fluids. *Biomed Res Int.* 2016;2016:8957820.





# BİR DIŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİNDE LİSANS ÖĞRENCİLERİNİN EMPATİ DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

## THE EVALUATION OF EMPATHY LEVELS OF UNDERGRADUATE STUDENTS OF A FACULTY OF DENTISTRY

Özge KAM HEPDENİZ<sup>1</sup>, Uğur Burak TEMEL<sup>1</sup>, Muhittin UĞURLU<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi Ana Bilim Dalı, Isparta, TÜRKİYE

**Cite this article as:** Kam Hepdeniz Ö, Temel UB, Uğurlu M. Bir Diş Hekimliği Fakültesinde Lisans Öğrencilerinin Empati Düzeylerinin Değerlendirilmesi. Med J Sdu 2023; 30(2): 235-244.

### Öz

#### Amaç

Bu çalışmanın amacı bir diş hekimliği fakültesindeki diş hekimliği lisans öğrencileri arasında eğitim yılına göre değişen empati düzeylerini belirlemektir.

#### Gereç ve Yöntem

Tanımlayıcı nitelikteki bu çalışmanın evrenini Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği fakültesinde 2022-2023 eğitim döneminde öğrenim gören tüm öğrenciler, örneklemini ise çalışmaya katılmayı kabul eden 558 öğrenci oluşturdu. Çalışmaya katılan öğrencilere yaş, sınıf, cinsiyet, ebeveynlerinin eğitim durumları ve gelir düzeyi gibi sosyo-demografik özellikleri içeren bir bilgi formu uygulandı. Öğrencilerin empati düzeylerini değerlendirmek amacıyla 20 maddeden oluşan yedili likert tarzı bir ölçek olan Jefferson Doktor Empati Ölçeği Öğrenci Versiyonu (JSPE-S) kullanıldı. İstatistiksel analiz SPSS programı versiyon 25 kullanılarak yapıldı. Verilerin analizi için bağımsız örneklem t-testi, tek yönlü varyans analizi testi ve Tukey testi kullanıldı ( $p < 0.05$ ).

#### Bulgular

Tüm diş hekimliği öğrencileri için toplam ortalama empati puanları  $87.46 \pm 14.88$  olarak hesaplandı. Ka-

dınlarda empati puanı ortalaması  $86.75 \pm 14.03$  iken; erkeklerde  $88.80 \pm 16.33$  olarak belirlendi ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p = 0.123$ ). Yirmi yaş altı öğrencilerin empati puanı, 20 yaş üstü öğrencilerin empati puanından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktü ( $p = 0.020$ ). Tüm sınıflara ait empati puanları karşılaştırıldığında, birinci, ikinci, üçüncü sınıf öğrencilerinin benzer empati puan ortalamaları aldığı gözlenirken, dördüncü ve beşinci sınıf öğrencilerinin empati puanlarının daha yüksek olduğu tespit edildi. Analizler; sınıflara göre empati puanları arasında anlamlı bir fark olmadığını gösterdi ( $p = 0.052$ ).

#### Sonuç

Çalışmanın empati bulguları ışığında genel empati ve empati alt faktör değerlerinin birçok parametreye bağlı değişiklik gösterebileceği görülmüştür. Diş hekimliği ve hasta arasındaki sağlıklı ilişkiyi sürdürmenin temel bileşenlerinden olan empati konusunun eğitim müfredatına dahil edilmesinin ve empati becerisi geliştirilmesine yönelik stratejiler oluşturmanın öğrencilerin empati değerleri üzerinde olumlu etki yaratacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Demografik faktörler, Diş hekimliği eğitimi, Empati

Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address: Ö.K.H. / ozgekam@gmail.com

Müracaat tarihi/Application Date: 25.04.2023- Kabul tarihi/Accepted Date: 25.05.2023

ORCID IDs of the authors: Ö.K.H: 0000-0002-6198-8839; U.B.T: 0000-0001-8100-9805;

M.U: 0000-0002-8900-7449

## Abstract

### Objective

This study aimed to determine the level of empathy among undergraduate dentistry students in a dentistry faculty, depending on the education year.

### Material and Method

The universe of this descriptive study consisted of all students studying at the Faculty of Dentistry of Süleyman Demirel University in the 2022-2023 academic year, and the sample consisted of 558 students who agreed to participate in the study. An information form containing socio-demographic characteristics such as age, class, gender, educational status of their parents, and income level was applied to the students participating in the study. The Jefferson Doctor's Empathy Scale Student Version (JSPE-S), a seven-point Likert-style scale of 20 items, was used to evaluate the students' empathy levels. Statistical analysis was performed using the SPSS program version 25. Independent samples t-test, one-way analysis of variance test, and Tukey test were used for data analysis ( $p < 0.05$ ).

### Results

The total mean empathy scores for all dentistry

students were  $87.46 \pm 14.88$ . While the mean empathy score in women was  $86.75 \pm 14.03$ , it was determined as  $88.80 \pm 16.33$  in men, and this difference was not statistically significant ( $p = 0.123$ ). The empathy score of the students under the age of 20 was statistically significantly lower than that of those over 20 ( $p = 0.020$ ). When the empathy scores of all grades were compared, it was observed that first, second, and third-grade students had similar empathy score averages, while fourth and fifth-grade students had higher empathy scores. Statistical analyzes showed no significant difference between empathy scores according to classes ( $p = 0.052$ ).

### Conclusion

In light of the empathy findings of the study, it was seen that the general empathy and empathy sub-factor values might vary depending on many parameters. Empathy is one of the main components of maintaining a healthy relationship between the dentist and the patient. Developing empathy skills in the curriculum will positively affect the empathy values of the students.

**Keywords:** Demographic factors, Dental education, Empathy

## Giriş

Empati, bir kişinin kendisini bir başkasının yerine koyabilmesi ve onun duygu, düşünce ve davranışlarını anlayabilmesi olarak tanımlanmıştır (1). Empati bilişsel ve duygusal olmak üzere iki temel boyuttan oluşmaktadır. Bilişsel empati, dünyayı başka birinin bakış açısıyla gözlemlenme, başka bir kişinin deneyimlerini ve duygularını anlama yeteneğidir ancak onların duygularıyla etkileşime girme zorunluluğu içermemektedir. Duygusal empati, bir başkasının deneyimlerini paylaşmanın duygusal yönü ile ilgilidir ve başka bir kişinin deneyimine katılmayı ifade eder (2, 3).

Sağlık hizmetlerinde hasta merkezli yaklaşımlar giderek önem kazanmakta ve yüksek düzeyde empatik davranış bu alanın temel taşlarından birini oluşturmaktadır (4). Yetenekli bir klinisyen, hastalık hakkında uygun bilgiye sahip, kapsamlı bir teşhis koyma ve ilgili risk faktörlerini belirleme yeteneğine sahip olan kişi olarak tanımlanabilir. Bununla birlikte, bir klinisyen için eşit derecede önemli olan diğer bir özellik ise empatidir (5). Empati, iyi bir doktor-hasta ilişkisinin temel

“öğelerinden” biridir ve genellikle sağlık çalışanları için önemli bir nitelik olarak kabul edilir (6-8). Sağlık hizmeti ortamında empati bir hastanın semptomlarından, hastalıklarından etkilenen duygularını nasıl deneyimlediğini anlama yeteneğini ve bu anlayışı hastaya iletme yeteneğini içeren bilişsel ve davranışsal bir nitelik olarak görülebilir (6, 8, 9). Başka bir kişinin duygularını anlama yeteneği olan empati, hasta hekim ilişkisinde “klinik empati” adını alır (10). Bir klinisyen-hasta karşılaşması sırasında bilgi alışverişi, etkili tedavi kararları almak için kişiler arası ilişkileri geliştirmenin anahtarıdır (5). Sağlık alanındaki çalışanlar için, yüksek düzeyde empatiye sahip olmak, hastaların deneyimlerinin hastalıkları üzerindeki etkisini anlama becerilerini artırır ve daha iyi iletişim becerileri, daha iyi tedavi sonuçları anlamına gelir (5).

Hekim ve hasta arasındaki güveni, tanısal doğruluğu, tedaviye uyumu ve sağlıklı yaşam tarzı önerilerini artıran ve hasta sağlığını olumlu etkileyen empatinin diş hekimliği alanında da önemi vurgulanmaktadır (9). Farklı ülkelerde hem lisans hem de lisansüstü diş hekimliği öğrencileri arasında empati düzeyinin

değerlendirildiği birçok çalışma bulunmaktadır (2, 3, 6, 7, 8, 11, 12). Amerikan Diş Hekimliği Eğitimi Derneği, sağlıklı diş hekimi-hasta ilişkilerinde empatinin önemli bir rol oynadığını belirterek, empatiyi diş hekimliği eğitimi için en önemli ikinci klinik yeterlilik olarak listelemiş ve empatinin diş hekimliği müfredatına dahil edilmesinin önemini vurgulamıştır (3, 8, 11). Bu nedenle, sağlık çalışanları için empatinin gelişimi, eğitimin önemli bir parçası olmalıdır ve öğrencilerde empatinin düzeylerinin değerlendirilmesi ve gerekirse öğrencilerin mesleki eğitimleri sırasında empati gelişiminin desteklenmesine yönelik stratejiler oluşturulması gerekmektedir (3). Empati düzeyi bireylerin kişisel özelliklerine göre değişebilmekle birlikte, hastalarının beklentilerini anlayabilen klinisyenler yetiştirmek için sağlık eğitimi sırasında empatik düşünmeyi de göz önünde bulundurmak önemlidir (4). Spesifik olarak, diş hekimleri tarafından empati gösterilmesi, diş tedavisine karşı korkunun azalması, restorasyonlar ve endodontik tedavilerden memnuniyeti kolaylaştırması, ortodontik tedaviye uyumun artması, çocuk hastalarda tedavi başarısının ve iş birliğinin artması, miyofasiyal ağrılarda tedavi sonuçlarının iyileşmesi ve hasta memnuniyetinin artması ile ilişkilendirilmiştir (2, 6, 7, 8, 13).

Sağlık alanında empati uygulamalarını ölçmenin, tıbbi hizmetlerin kalitesini artırmaya yardımcı olduğu belirtilmiştir. Geçmişte, genel popülasyonda empatiyi ölçmek için birkaç araştırma aracının mevcut olduğu, ancak hiçbirinin tıp eğitimine özgü içeriğe sahip olmadığı ve hasta bakımıyla ilgili olmadığı bildirilmiştir (7, 14). İçeriğe özgü olmasalar da, tıp eğitimi araştırmalarında sıklıkla üç empati ölçüm aracı kullanılmaktaydı. Bunlardan biri hem bilişsel hem de duygusal empatiye dokunan 28 madde içeren Kişilerarası Reaktivite İndeksidir (IRI). Diğer bir araştırma aracı ise Hogan tarafından geliştirilen 64 maddelik Empati Ölçeği'dir. Üçüncü araştırma aracı, Mehrabian ve Epstein tarafından geliştirilen ve "duygusal empati"yi ölçmeye yönelik 33 madde içeren Duygusal Empati Ölçeğidir. Mehrabian, dolaylı duygusal empatiyi ölçmek için 30 maddelik yeni bir araç olan Dengeli Duygusal Empati Ölçeği'ni (BEES) de tanıtmıştır (14). Daha sonra Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Jefferson Medical College'daki araştırmacılar özellikle tıp öğrencileri, doktorlar veya sağlık profesyonellerinde hekim hasta ilişkisi bağlamında empatiyi ölçmek için bir öz bildirim ölçeği olarak Jefferson Doktor Empati Ölçeğini (JSPE) geliştirmişlerdir (14-16). JSPE'nin biri öğrenciler için (S-Versiyonu), diğeri doktorlar ve diğer sağlık profesyonelleri için (HP-Versiyonu) olmak üzere iki versiyonu vardır ve empatinin altında yatan üç yapıyı (bakış açısı alma, şefkatli bakım ve ayakta durma)

ölçmek için 20 madde içerir (16). Jefferson Doktor Empati Ölçeği, tıp öğrencilerinin yanı sıra diş hekimliği öğrencilerinin empati düzeylerini değerlendirmek için onaylanmış bir araçtır (1). Çoğu çalışmada, tıp ve diş hekimliği öğrencilerinin empati düzeyi Jefferson Empati Ölçeği Öğrenci Versiyonu (JSPE-S) ile ölçülmüştür (9, 10). Diş hekimliği öğrencileri arasında empatiyi ölçmek için bu ölçeğin bir araç olarak geçerliliğini ve güvenilirliğini gösteren birkaç çalışma da vardır (7, 8). Bu ölçeğin Türkçe geçerlik ve güvenilirlik çalışması ise Gönüllü ve Öztuna tarafından yapılmıştır (16).

Tıp eğitimi sırasında hekim-hasta iletişiminin artırılması, hasta merkezli klinik deneyim, standart hasta eğitimi gibi öğrencilerin empatilerini geliştirecek öğrenme ortamlarının geliştirilmesi son derece önemlidir (17). Tıp ve diş hekimliği eğitiminde empati konusunun vurgulanması açısından yarının hekimlerinin empati düzeylerinin değerlendirilmesi önem kazanmaktadır. Bu nedenle son yıllarda tıp ve diş hekimliği öğrencilerinde empati düzeyinin değerlendirilmesi ve empati düzeyine etki eden faktörleri konu alan çalışmalar giderek artmaktadır (9, 18, 19). Klinik eğitimler sırasında artan hasta maruziyeti ile empati düzeylerini düşürme eğilimi olsa da, farklı öğrenci popülasyonları arasındaki farklılıklar hala mevcuttur. Farklılıklar cinsiyet, yaş, farklı müfredatlar veya öğrencilerin kültürel geçmişleri gibi birçok faktör ile açıklanmıştır (4). Teknolojiye dayalı tanılarının artması ve hasta başı etkileşimlerinin azalması, hekim-hasta ilişkisini zorlaması ve sağlık bakım sisteminde gelişen değişiklikler tıp eğitiminde empatiyi önemli ve güncel hale getirmektedir. Sağlık sistemindeki terapötik ilişkilerde empatiyi baltalayan birçok değişiklik, tıp eğitimcilerini doktor empatisinin gelişimi ve bağlantıları ve klinik sonuçlara katkısını araştırmaya başlamaya teşvik etmiştir (16). Bu çalışma da, Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği fakültesindeki diş hekimliği öğrencileri arasında eğitim yılına göre değişen empati düzeylerini belirlemeyi ve empatinin çeşitli demografik değişkenler açısından incelenmesini amaçlamıştır.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışmanın etik kurul onayı, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan (tarih: 18/11/2022, no: 22/328) alındı. Çalışmada, 2022-2023 eğitim döneminde Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinde devam eden 1., 2., 3., 4. ve 5. sınıf öğrencileri yer aldı. Tanımlayıcı nitelikteki çalışmanın verileri, çevrim içi veri toplama araçları (Google Docs) kullanılarak elde edildi. Ölçümde kullanılacak anket ve form, bu platform aracılığıyla çevrim içi olarak doldurulmaya hazır

Tablo 1 (JSPE-S) ölçeğine ait ifadeler

| Faktör                        | No | İfadeler   |
|-------------------------------|----|--|
| Perspektif alma               | 1  | Hastalarım duygularını anladığımda kendilerini daha iyi hissediyorlar.   |
|                               | 2  | Hekim-hasta ilişkilerinde sözlü iletişim kadar hastalarımın beden dilini anlamayı da önemli buluyorum.   |
|                               | 3  | Daha iyi bir klinik sonuca katkıda bulunduğunu düşündüğüm iyi bir mizah anlayışım var.   |
|                               | 4  | Hastalarımın tedavilerini yaparken kendimi onların yerine koymaya çalışırım.   |
|                               | 5  | Hastalarım tedavi edici olan duygularını anlamama değer veriyor.   |
|                               | 6  | Hastalarımın sözlü olmayan ipuçlarına ve beden dillerine dikkat ederek zihninde neler olup bittiğini anlamaya çalışırım.   |
|                               | 7  | Empati, onsuz tedavideki başarımın sınırlı olduğu tedavi edici bir beceridir.  |
|                               | 8  | Hastalarımın olan ilişkisinin önemli bir bileşeni, onların ve ailelerinin duygusal durumlarını anlamamdır.   |
|                               | 9  | Daha iyi tedavi sunabilmek için hastalarım gibi düşünmeye çalışıyorum.   |
|                               | 10 | Empatinin tıbbi veya cerrahi tedavide önemli bir tedavi edici faktör olduğuna inanıyorum.  |
| Şefkatli bakım                | 11 | Hastalarımın ve ailelerinin nasıl hissettiklerini anlamam, tıbbi veya cerrahi tedavimi etkilemez.  |
|                               | 12 | Anamnez alırken hastalarımın duygularına dikkat etmemeye çalışırım.  |
|                               | 13 | Hastalarımın kişisel deneyimlerine gösterilen özen, tedavi sonuçlarını etkilemez.  |
|                               | 14 | Hastaların hastalıkları ancak tıbbi veya cerrahi tedavi ile tedavi edilebilir; bu nedenle hastalarımın olan duygusal bağların tıbbi veya cerrahi sonuçlar üzerinde önemli bir etkisi yoktur. |
|                               | 15 | Hastalara kişisel yaşamlarında neler olup bittiğini sormak, fiziksel şikayetlerini anlamada yardımcı olmaz.  |
|                               | 16 | Tıbbi hastalıkların tedavisinde duygunun yeri olmadığına inanıyorum.   |
|                               | 17 | Tıbbi olmayan literatürü veya sanatı okumaktan hoşlanmıyorum.  |
| Hastanın yerine kendini koyma | 18 | Olaylara hastalarımın bakış açısından bakmak benim için zor.   |
|                               | 19 | İnsanlar farklı olduğu için, olayları hastalarımın bakış açısından görmek benim için zor.  |
|                               | 20 | Hastalarım ve aile üyeleri arasındaki güçlü kişisel bağlardan etkilenmeme izin vermiyorum.   |

hâle getirildi ve öğrencilere ulaştırıldı. Çalışma evrenini 697 öğrenci (164 öğrenci ile 1. sınıf, 142 öğrenci ile 2. sınıf, 119 öğrenci ile 3. sınıf, 130 öğrenci ile 4. sınıf ve 142 öğrenci ile 5. Sınıf) oluşturdu. Araştırmada, evrenin tamamına ulaşmaya çalışıldı ancak 558 gönüllü öğrenci çalışmaya katıldı. Çalışmanın örnekleme, evrenin %80.05'ünü oluşturdu.

Çalışmaya katılan öğrencilere araştırmacılar tarafından hazırlanan bilgi formu uygulandı. Bilgi formu yaş, sınıf, cinsiyet, ebeveynlerinin (anne-baba) eğitim durumları ve gelir düzeyi gibi sosyo-demografik özel-

liklerini öğrenmeye yönelik 6 adet soru içermektedir. Sorulara ait değişkenlere ilişkin cevap seçenekleri; cinsiyet (kadın; erkek), yaş ( $\leq 20$ ;  $20 <$ ), sınıf (1. sınıf; 2. sınıf; 3. sınıf; 4. sınıf; 5. sınıf), anne-baba eğitim durumu (ilkokul; ortaokul; lise; üniversite; lisansüstü), gelir düzeyi (düşük; orta; yüksek) olarak kategorize edildi.

Çalışmada öğrencilerin empati düzeylerini değerlendirmek amacıyla Jefferson Doktor Empati Ölçeği Öğrenci Versiyonu (JSPE-S) kullanıldı (Tablo 1). Bu ölçek; perspektif alma, şefkatli bakım, hastanın yeri-

ne kendini koyma olmak üzere üç faktörlü bir bileşen modeli kullanır. Ölçek kesinlikle katılmıyorum (1) ile kesinlikle katılıyorum (7) puan arasında puanlanan 20 maddeden oluşan yedili likert tarzı bir ölçektir. Ölçeğin 10 maddesi negatif, 10 maddesi de pozitif ifadelerden oluşmaktadır. Toplam puan yani empati skoru hesaplanmadan önce negatif ifadelerin puanları ters çevrilmektedir. Daha yüksek puanlar kişinin empatik tutarlılığını göstermektedir.

### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için SPSS 25.0 paket programı (IBM Corp., Armonk, NY) kullanıldı. Kategorik değişkenler için frekans ve yüzdelik ile gösterimde bulunuldu. Verilerin normallik dağılımı için "çarpıklık" ve "basıklık" değerlerine bakıldı ve Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. Verilerin analizi için bağımsız örneklem t-testi, tek yönlü varyans analizi testi ve Tukey testi kullanıldı. Analizlerde  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### Bulgular

Araştırmaya, birinci sınıftan 84, ikinci sınıftan 113, üçüncü sınıftan 100, dördüncü sınıftan 139 ve beşinci sınıftan 112 olmak üzere toplam 558 öğrenci katıldı. Öğrencilerin, %65.6'sı kadın, %34.4'ü erkek, %69'u 20 yaş altında ve %87.8'si orta gelir düzeyindedir. Öğrencilere ait tüm tanımlayıcı istatistikler Tablo 2'de verilmiştir.

Tüm diş hekimliği öğrencileri için toplam ortalama empati puanları  $87.46 \pm 14.88$  olarak hesaplandı. Öğrencilerin empati düzeyleri cinsiyete göre karşılaştırıldığında; kadınlarda empati puanı ortalaması  $86.75 \pm 14.03$  iken; erkeklerde  $88.80 \pm 16.33$  olarak belirlendi ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p = 0.123$ ). Tüm sınıflara ait empati puanları karşılaştırıldığında, birinci ( $85.06 \pm 11.95$ ), ikinci ( $86.01 \pm 10.26$ ), üçüncü ( $85.80 \pm 15.03$ ) sınıf öğrencilerinin benzer empati puan ortalamaları aldığı gözlenirken, dördüncü ( $89.38 \pm 16.86$ ) ve beşinci ( $89.61 \pm 17.24$ ) sınıf öğrencilerinin empati puanlarının daha yüksek olduğu tespit edildi. Ancak analizler; diş hekimliği öğrencilerinin sınıflarına göre empati puanları arasında anlamlı bir fark olmadığını gösterdi ( $p = 0.052$ ). Öğrencilerin anne-baba eğitim durumu ve gelir durumu ile empati düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ). Öğrencilerin empati düzeyleri yaşa göre karşılaştırıldığında; 20 yaş altı ( $\leq 20$ ) öğrencilerin empati puanı ( $85.27 \pm 11.65$ ), 20 yaş üstü ( $20 <$ ) öğrencilerin empati puanından ( $88.44 \pm 16.04$ ) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktü ( $p = 0.020$ ).

Öğrencilerin sosyo-demografik verileri ile empatinin üç faktörüne ilişkin puanların arasındaki ilişki ise Tablo 3'de sunulmuştur. Buna göre hem öğrencilerin sınıfları ile perspektif alma ve hastanın yerine kendini koyma faktör puanları arasında hem de öğrencilerin cinsiyetleri ile şefkatli bakım ve hastanın yerine kendini koyma faktör puanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ( $p < 0.05$ ). Sınıf ve cinsiyet verileri ile empati alt faktörleri arasındaki bu ilişki Tablo 4 ve 5'te ayrıntılı olarak belirtilmiştir.

Ölçekteki ifadelerden elde edilen skorlar ile öğrencilere ait sosyo-demografik veriler arasındaki anlamlılık değerleri Tablo 6'da verilmiştir. Buna göre, (JSPE-S) ölçeği ifadeleri ile öğrencilerin gelir düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ( $p > 0.05$ ).

### Tartışma

Teknolojik gelişmeler nedeniyle sağlık iş akışı hızla ilerlemiş, tıbbi uygulamaları daha kolay, daha hızlı ve daha etkili hale getirmiştir. Bununla birlikte, sağlık bir insan hizmeti mesleği olduğundan, hastalar ve hekimler arasındaki iletişim klinik uygulamanın merkezinde yer almalı ve kişisel iletişim becerilerinin önemi ihmal edilmemelidir (4). Diş hekimi-hasta ilişkisi, farklı kişisel ilgi alanlarına sahip iki kişi arasındaki etkileşimi içerir. Bu ilişki, hastanın iyileşme sürecine yardımcı olan öznel ve özneler arası unsurlara sahip olduğundan hem klinik hem de insani bir bakış açısı içermelidir. Bu nedenle diş hekimleri hastalarıyla empatik bir şekilde ilişki kurabilmelidir. Bu mesleki yeterliliği sağlamak için diş hekimliği çekirdek eğitim programlarında öğrencilere empatik bakış açısı kazandırmanın önemi vurgulanmalı ve empati becerilerinin geliştirilmesi yönünde hareket edilmelidir (2, 9). Bu bağlamda ilk aşama olarak da öğrencilerin empati düzeylerinin tespit edilmesi önem kazanmaktadır. Bu sonuçlar öğrencilerin empati ve iletişim becerilerinin geliştirilmesi ve desteklenmesi gerekliliğinin bir ön göstergesi olacaktır. Bu çalışmada da, diş hekimliği öğrencileri arasında eğitim yılına göre değişen empati düzeylerini belirlemek ve tanımlamak amaçlandı.

Bu çalışmada, diş hekimliği öğrencileri arasındaki ortalama toplam empati puanı, ( $87.46 \pm 14.88$ ), aynı ölçeği kullanan ve diş hekimliği öğrencileri arasındaki yapılan bazı çalışmaların sonuçlarını da destekler niteliktedir (2, 8, 20). Literatürde, diş hekimliği öğrencileri arasında bu çalışmaya kıyasla daha fazla empati düzeyi bildiren bazı araştırmalar bulunsa da (7, 9-12), empati puanının bu çalışmadan nispeten daha düşük olduğu araştırmalar da mevcuttur (6, 18, 19).

Tablo 2 Öğrencilere ait tanımlayıcı istatistikler (n=558)

| Değişkenler               | n   | %    |
|---------------------------|-----|------|
| <b>Yaş</b>                |     |      |
| ≤20                       | 173 | 31,0 |
| 20<                       | 385 | 69,0 |
| <b>Cinsiyet</b>           |     |      |
| Kadın                     | 366 | 65,6 |
| Erkek                     | 192 | 34,4 |
| <b>Sınıf</b>              |     |      |
| 1                         | 84  | 15,1 |
| 2                         | 113 | 20,3 |
| 3                         | 100 | 17,9 |
| 4                         | 139 | 24,9 |
| 5                         | 122 | 21,9 |
| <b>Anne eğitim durumu</b> |     |      |
| İlkokul                   | 133 | 23,8 |
| Ortaokul                  | 64  | 11,5 |
| Lise                      | 167 | 29,9 |
| Üniversite                | 176 | 31,5 |
| Lisansüstü                | 18  | 3,2  |
| <b>Baba eğitim durumu</b> |     |      |
| İlkokul                   | 48  | 8,6  |
| Ortaokul                  | 50  | 9,0  |
| Lise                      | 153 | 27,4 |
| Üniversite                | 267 | 47,8 |
| Lisansüstü                | 40  | 7,2  |
| <b>Gelir düzeyi</b>       |     |      |
| Düşük                     | 47  | 8,4  |
| Orta                      | 490 | 87,8 |
| Yüksek                    | 21  | 3,8  |

Literatürde toplam empati puanındaki bu farklılıklar her bir çalışmadaki çalışma evreninin farklı olmasına veya çalışmanın yapıldığı ülkeler arasındaki kültürel farklılıklara bağlı olabilir. Nitekim çalışmamızda gelir düzeyi dışındaki tüm sosyo-demografik veriler ile ölçüğe ait ifadelerle ait skorlar arasında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. Nepal’de dış hekimliği öğrencileri arasında yapılan benzer bir çalışmada, araştırmalar arasındaki empati düzeyindeki bu farklılıkların farklı

kültürel değerler, dini inançlar veya geleneklerin bir sonucu olabileceği bildirilmiştir. Aynı zamanda kültürel farklılıkların, etnik köken, dini inançlar ve cinsiyet klişelerinin empati puanı eşitsizliğine yol açabileceği ve klinik karşılaşmalar sırasında empatik katılımı etkileyebileceği de rapor edilmiştir (6). Bütün bu faktörler arasında empati düzeylerine etkisinin en çok araştırıldığı konulardan birini cinsiyet oluşturmaktadır. Şili’deki dış hekimliği öğrencilerinin empati düzeylerinin de-

Tablo 3

Öğrencilerin sosyo-demografik verileri ile empatinin üç faktörüne ilişkin puanlar arasındaki anlamlılık değerleri (p)

|                    | Perspektif alma | Şefkatli bakım | Hastanın yerine kendini koyma |
|--------------------|-----------------|----------------|-------------------------------|
| Yaş                | 0,070           | 0,975          | 0,898                         |
| Cinsiyet           | 0,819           | 0,000*         | 0,001*                        |
| Sınıf              | 0,000*          | 0,071          | 0,019*                        |
| Anne eğitim durumu | 0,639           | 0,190          | 0,059                         |
| Baba eğitim durumu | 0,073           | 0,055          | 0,64                          |
| Gelir düzeyi       | 0,885           | 0,966          | 0,921                         |

\* İstatistiksel olarak anlamlı farkı ifade eder (p<0,05).

Tablo 4

Cinsiyet ile şefkatli bakım ve hastanın yerine kendini koyma faktörleri arasındaki ilişki

| Empati alt faktör             | Cinsiyet       |                |
|-------------------------------|----------------|----------------|
|                               | Kadın (Ort±SS) | Erkek (Ort±SS) |
| Şefkatli bakım                | 2,28±1,30      | 3,39±1,43      |
| Hastanın yerine kendini koyma | 3,30±1,22      | 3,67±1,34      |

Tablo 5

Sınıf ile perspektif alma ve hastanın yerine kendini koyma faktörleri arasındaki ilişki

| Empati alt faktör             | Sınıf                   |                         |                        |                        |                         |
|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
|                               | 1. sınıf (Ort±SS)       | 2. Sınıf (Ort±SS)       | 3. sınıf (Ort±SS)      | 4. sınıf (Ort±SS)      | 5. sınıf (Ort±SS)       |
| Perspektif alma               | 5,41±0,99 <sup>a</sup>  | 5,62±0,91 <sup>ab</sup> | 5,96±0,85 <sup>b</sup> | 5,49±1,05 <sup>a</sup> | 5,53±0,92 <sup>a</sup>  |
| Hastanın yerine kendini koyma | 3,45±1,17 <sup>ab</sup> | 3,31±1,13 <sup>ab</sup> | 3,16±1,46 <sup>a</sup> | 3,70±1,22 <sup>b</sup> | 3,45±1,32 <sup>ab</sup> |

<sup>a, b</sup> Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder (p<0,05).

ğ erlendirildiği bir çalışmada, erkeklerin ve kadınların empati geliştirme konusunda aynı potansiyele sahip olduğunu, ancak sinirsel yolları ve empatilerini sosyal olarak dışsallaştırma biçimlerinin farklı olabileceğini, dolayısıyla empati ifadelerinin farklı olabileceği ifade edilmiştir (5). Literatür, empatideki cinsiyet farklılıkları konusunda değişken sonuçlar içermekte olsa da çoğu araştırma kadınların erkeklerden daha empatik olduğunu bildirmektedir (2, 4, 7, 17). Bazı araştırmalar empatinin kadınsı bir özellik olduğunu, kadınların duygusal sinyallere daha açık olduğunu ve kadınların do-

ğası gereği erkeklerden daha empatik olduğunu öne sürmektedir (2, 8). Naguib ve ark.'ı, kadınların daha yüksek empati değerlerine sahip olmalarını, erkekler göre daha iyi sosyal ilişkilere sahip olmalarına, duygusal olarak daha duyarlı olmalarına ve çevrelerindeki toplum ve hastalarıyla iletişim becerilerini keskinleştiren bakım odaklı niteliklere ve duygusal desteğe erken maruz kalmalarına dayanmakta olduğunu değinmişlerdir (2). Kadınların merhamet duygusuna daha yüksek bir empati aktivitesi ile karşılık verdiği savunulsa da erkeklerde de merhamet duygusunun

Tablo 6

Öğrencilerin sosyo-demografik verileri ile ifadelere ait skorlar arasındaki anlamlılık değerleri (p)

| İfadeler | Yaş    | Cinsiyet | Sınıf  | Anne eğitim durumu | Baba eğitim durumu | Gelir düzeyi |
|----------|--------|----------|--------|--------------------|--------------------|--------------|
| İfade 1  | 0,176  | 0,804    | 0,113  | 0,752              | 0,366              | 0,964        |
| İfade 2  | 0,102  | 0,055    | 0,006* | 0,026*             | 0,625              | 0,929        |
| İfade 3  | 0,547  | 0,000*   | 0,331  | 0,379              | 0,554              | 0,753        |
| İfade 4  | 0,752  | 0,848    | 0,025* | 0,389              | 0,029*             | 0,289        |
| İfade 5  | 0,046* | 0,994    | 0,003* | 0,894              | 0,176              | 0,907        |
| İfade 6  | 0,322  | 0,901    | 0,003* | 0,262              | 0,038*             | 0,796        |
| İfade 7  | 0,239  | 0,027*   | 0,000* | 0,884              | 0,549              | 0,840        |
| İfade 8  | 0,003* | 0,323    | 0,000* | 0,535              | 0,065              | 0,532        |
| İfade 9  | 0,097  | 0,910    | 0,001* | 0,388              | 0,005*             | 0,934        |
| İfade 10 | 0,522  | 0,121    | 0,018* | 0,483              | 0,014*             | 0,584        |
| İfade 11 | 0,879  | 0,000*   | 0,319  | 0,010*             | 0,053              | 0,718        |
| İfade 12 | 0,017* | 0,019*   | 0,111  | 0,384              | 0,110              | 0,889        |
| İfade 13 | 0,097  | 0,000*   | 0,406  | 0,073              | 0,159              | 0,474        |
| İfade 14 | 0,758  | 0,000*   | 0,412  | 0,006*             | 0,387              | 0,941        |
| İfade 15 | 0,790  | 0,003*   | 0,027* | 0,024*             | 0,384              | 0,413        |
| İfade 16 | 0,216  | 0,000*   | 0,003* | 0,038*             | 0,171              | 0,778        |
| İfade 17 | 0,010* | 0,000*   | 0,000* | 0,007*             | 0,370              | 0,625        |
| İfade 18 | 0,832  | 0,041*   | 0,037* | 0,143              | 0,108              | 0,967        |
| İfade 19 | 0,750  | 0,040*   | 0,134  | 0,122              | 0,013*             | 0,526        |
| İfade 20 | 0,678  | 0,000*   | 0,032* | 0,275              | 0,693              | 0,174        |

\* İstatistiksel olarak anlamlı farkı ifade eder ( $p<0.05$ ).

ahlaki yargı ile ifade edildiği ve yardım etme davranışını tetiklediği iddia edilmektedir (4). Daha önce de belirtildiği gibi empati farklı ekonomik koşullar, kültürel, ahlaki, eğitimsel ve kişilerarası davranışlar, kişisel deneyimler veya kaygı düzeyleri gibi birçok değişkene bağlı olabilir (4). Bu çalışmada yukarıdaki çalışmaların aksine, çalışmaya dahil olan erkek öğrenci sayısı (192) kız öğrenci sayısına (366) göre belirgin oranda düşük olmasına rağmen empati değeri erkeklerde daha yüksek tespit edildi. Çalışmamızın sonuçları literatürde birçok çalışmanın bulguları ile benzerlik göstermektedir (6, 8). Bununla birlikte, şefkatli bakım ve hastanın kendine yerine koyma alt faktör puanları da toplam empati puanı ile tutarlı sonuçlar sergilemiştir. Her iki alt faktör için anlamlı cinsiyet farklılıkları bulunmuş, toplam örnekleme olduğu gibi erkeklerin kadınlardan daha yüksek empati düzeyleri sergilediğini göstermiştir. Diş hekimliği lisans ve lisansüstü öğren-

cilerinin empati düzeylerinin değerlendirildiği güncel bir çalışmada da toplam empati puanı ve şefkatli bakım alt faktör puanları ile benzer sonuçlar gözlenmiş ancak çalışmamızın aksine bu çalışmada kadınların erkeklerden daha yüksek empati düzeyleri sergilediği bildirilmiştir (4). Literatürde tüm bu bulgulardaki değişkenlik cinsiyetin değil kişisel özelliklerin empatik davranışları daha fazla etkileyebilecek bir parametre olduğunu gösterebilir.

Diş hekimliği eğitimi müfredatı; bir, iki ve üçüncü sınıfta direkt hasta teması olmaksızın temel teorik dersleri ve klinik gözlemleri içerirken, dördüncü ve beşinci sınıflar klinik eğitim ve hasta bakım faaliyetlerine klinik mentorların gözetiminde başlar (4). Eğitim deneyimi boyunca diş hekimliği öğrencilerinde empatinin azaldığını gösteren mevcut literatüre dayanarak (8, 11, 12, 21) bu çalışmamın beklentisi empatide bir miktar



düşüş gözlemlenmesiydi. Bazı çalışmalar empatideki bu düşüşün, öğrencilerin dış hekimliği eğitimi başlangıcında idealizme yani hastaların duygularını paylaşmaya inanırken, dış hekimliği eğitiminin ilerlemesiyle bu duyguların kaybolmasından, yani idealizmin yerini realizme bırakmasına bağlı gelişebileceğini bildirmişlerdir (11). Javed ise çalışmasında, empati erozyonunu etkileyebilecek faktörler arasında öğrenciler için yetersiz sosyal destek, yaşlılar tarafından kötü muamele, uygun rol modellerin olmaması, yüksek iş yükü, yetersiz uyku ve çevresel faktörlerin sayılabileceğini ve aynı şekilde, klinik öncesi yıllardan klinik yıllara öğrencilerin empati düzeyindeki aşınmanın, artan klinik iş yükünden kaynaklanan strese bağlı olabileceğini savunmuştur (12). Ancak bulgularımız dış hekimliği öğrencisi empatisinde bildirilen düşüslere ilişkin literatürle çelişmektedir (13). Bu çalışmadaki bulgularımız, bir, iki ve üçüncü sınıftaki öğrencilerin benzer empati puanları gösterdiğini ve dördüncü ve beşinci sınıftaki öğrencilerin empati puanlarında istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış olduğunu ortaya koydu. Son sınıflarda empati puanındaki bu artışın, öğrencilerin üçüncü sınıftaki gözlemsel faaliyetlerinin hasta ile olan ilişkilerinde farkındalığı ve olağan etkileşimlerini arttırdığını ve onları daha dikkatli olmaya teşvik etmiş olabileceğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte sınıfla birlikte öğrenci empati düzeyindeki artış, öğrencilerin klinik eğitimine başlaması ile birebir hastalarla ilişkide olması, onları muayene etmesi, insan ve hasta olarak onların duygu, düşünce ve tutumlarını fark etmesine de bağlanabilir. Bu artışta göz önünde bulundurulması gereken diğer bir faktör ise yaş faktörüdür. Empati farkındalığının gelişmesinde yaşın ilerlemesi olası ve etkili bir faktör olarak değerlendirilebilir. Çalışmamızda da bu savunuyu destekler nitelikte sonuçlar elde edilmiş, 20 yaş üzeri katılımcılarda 20 yaş altı katılımcılara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek empati puanı tespit edilmiştir. Literatürde bu çalışmanın bulguları ile uyumlu sonuçlar sergileyen çalışmalar mevcuttur (4, 18, 20). Tuncer ve ark.'ı çalışmalarındaki benzer sonucu, hastalara hizmet etme niyetinin dördüncü sınıf öğrencileri için yüksek bir sorumluluk ve motivasyon oluşturmuş olması olarak değerlendirmişlerdir (4). Stajyerlerin puanlarının yüksek olması, stajyerlere hasta bakımı konusunda verilen sorumluluklara ve klinik uygulamaya başlama dürtüsüne bağlanmakta ve bu da onları başarılı dış hekimliği uygulamaları için "hastanın yerine geçmeyi" bir gereklilik haline getirmektedir (6). Nitekim çalışmamızda da hastanın yerine kendini koyma alt ölçeği ile sınıflar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler saptanmıştır. Hasta bakımı bağlamında empatinin gelişimi ve tezahürü, kültürel faktörlerin yanı sıra deneysel ve psikososyal faktörlerin bir işlevidir (16).

Tüm bu parametrelerin etkisi toplam empati puanında gözlenmeyebilse de empati alt faktör puanlarında kendini gösterebilmektedir. Bu nedenle bir çalışmada toplam empati puanı yanında empati alt faktörlerinin de değerlendirilmesi, empati kavramını şekillendirebilmek için önemli hale gelmektedir.

Dış hekimlerinin iç gözlem kapasitesi hasta kaygısını azaltmada önemli bir rol oynar. Uygun hasta ilişkileri kurabilme becerisi, klinisyenin profesyonellik düzeyinin yanı sıra doğruluk ve sorumluluğunu kısmen gösterir ve hastanın güvenini kazanmasına katkıda bulunur. Empati bu süreç için hayati önem taşımaktadır (20). Bu sebeple lisans eğitiminde hekim-hasta iletişiminin artırılması, hasta merkezli klinik deneyim, standartize edilmiş hasta eğitimi gibi öğrencilerin empatilerini geliştirecek öğrenme ortamlarının geliştirilmesi son derece önemlidir (17). Daha önceki araştırmalar dış hekimliği eğitiminde sözlü ve sözsüz iletişimdeki egzersizlerin yanı sıra hastalarla erken karşılaşmaların öğrencilerde empati düzeyini önemli ölçüde iyileştirdiğini ortaya koymuştur (3, 11). Hasta-hekim iletişimi ve hasta merkezli yaklaşım beceri eğitimi olarak verilmesi gerekliliği de bildirilmiştir (17). Şili'de dış hekimliği öğrencilerinin empati düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada, dış hekimliği öğrencilerinde empatik seviyeleri geliştirmek için kişi merkezli eğitim modüllerinin kullanılması gibi çeşitli stratejilerin kullanıldığı rapor edilmiştir (5). Fakültemizde ve ülkedeki diğer dış hekimliği fakültelerinde lisans eğitiminde kurgulanmış bir empati eğitimi bulunmamaktadır. Bu çalışmada sınıflar arasında empati değerleri arasında anlamlı farklılıkların gözlenmemesi mevcut lisans eğitiminin sınıflar arasındaki empati seviyesinde bir değişiklik yaratmadığını göstermektedir. Yukarıdaki bilgiler ışığında bu durum, lisans programlarının başlangıcından itibaren profesyonellik kavramını benimseterek empati bileşenlerinin artmasını teşvik edecek etkinlikleri içeren bir eğitim müfredatının hazırlanması gerekliliğini göstermektedir.

Bu çalışmada çalışma örnekleminin sadece aynı dış hekimliği fakültesinden oluşturulması ve tek bir yılda gerçekleştirilmiş olması çalışmamızın limitasyonunu göstermektedir. Çalışmada elde edilen bu sonuçların diğer programlardaki öğrencilere genellenebilirliğini sınırlandırması nedeniyle karşılaştırmalı çok kurumlu çalışmalar ile desteklenmesi bulguların daha iyi genelleştirilmesine olanak sağlayacaktır.

## Sonuç

Bu çalışma, dış hekimliği öğrencilerinin fakülteye girişlerinde sahip oldukları empati düzeyinin okulu bi-

tirirken değişmediğini, toplam empati puanlamasında kadınlar ve erkekler arasında fark olmadığını göstermiştir. Diş hekimliği öğrencilerinin empati düzeyindeki değişiklikleri anlamının, çok sayıda değişken nedeniyle zor olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın sonuçları empati becerisi geliştirilmesine yönelik stratejiler oluşturmanın gerekliliğini ve diş hekimliği eğitim programına dahil edilmesinin önemini göstermiştir.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

### Etik Kurul Onayı

Bu çalışmanın etik kurul onayı, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan (tarih: 18/11/2022, no: 22/328) alındı. Araştırma "Helsinki Deklarasyonu"na göre yapılmıştır.

### Bilgilendirilmiş Onam

Çalışmada yer alan tüm bireylerden bilgilendirilmiş onam ve verilerin yayınlaması için yazılı izin alınmıştır.

### Finansman

Bu araştırma, kamu, ticari veya kar amacı gütmeyen sektörlerdeki finansman kuruluşlarından herhangi bir finansal destek almamıştır.

### Verilerin Ulaşılabilirliği

Veriler, gizlilik veya diğer kısıtlamalar nedeniyle yalnızca yazarlardan talep edilebilir.

### Yazar Katkıları

Ö.K.H: Çalışmanın planlanması; Araştırma; Metodoloji; Validasyon; Görselleştirme; Makalenin Yazımı; Makalenin düzenlenmesi.

U.B.T: Çalışmanın planlanması; Araştırma; Metodoloji; Makalenin düzenlenmesi.

M.U: Çalışmanın planlanması; Araştırma; Formal Analizler, Verilerin işlenmesi; Makalenin düzenlenmesi.

### Kaynaklar

1. Ersoy EG, Köşger F. Empati: Tanımı ve önemi. Osmangazi Tıp Dergisi/Osmangazi Journal of Medicine 2016;38(2):9-17.
2. Naguib GH, Sindi AM, Attar MH, Alshouibi EN, Hamed MT. A Cross-sectional study of empathy among dental students at King Abdulaziz University. J Dent Educ 2020;84(1):22-26.
3. Brekalo Prso I, Mocny-Pachońska K, Trzcionka A, Pezelj-Ribaric S, Paljevic E, Tanasiewicz M, et al. Empathy amongst dental students: An institutional cross-sectional survey in Poland and Croatia. Eur J Dent Educ 2020;24(4):687-694.
4. Baloş Tuncer B, Canıgür Bavbek N, Arslan Avan B, Çelik B, Tuncer C. The influence of clinical training level on the empat-

- hy levels of undergraduate and postgraduate dental students. Acta Odontol Turc 2021;38(1):1-7.
5. Carvajal M, López S, Sarabia-Alvarez P, Fontealba J, Padilla M, Sumi J, et al. Empathy levels of dental faculty and students: A survey study at an academic dental institution in Chile. J Dent Educ 2019;83(10):1134-1141.
6. Ghimire S, Dixit PB, Roy DK, Dhital S, Dahal S. An assessment of empathy levels of dental students' in Nepal: A cross-sectional comparative study. Journal of Kathmandu Medical College 2020;8(3):146-150.
7. Ameh PO, Uti OG, Daramola OO. Empathy among dental students in a Nigerian institution. Eur J Dent Educ 2019;23(2):135-142.
8. Babar MG, Omar H, Lim LP, Khan SA, Mitha S, Ahmad SFB, et al. An assessment of dental students' empathy levels in Malaysia. Int J Med Educ 2013;21(4):223-229.
9. Akgün Ö, Akdeniz M, Kavukcu E, Avcı HH. Medical students' empathy level differences by medical year, gender, and specialty interest in Akdeniz University. J Med Educ Curric Dev 2020;7:2382120520940658.
10. Demirbaş N, Karaoğlu N. The evaluation of empathy and communication skills in medical students: A descriptive study. Eurasian JHS 2022;5(2): 24-32.
11. Aggarwal VP, Garg R, Goyal N, Kaur P, Singhal S, Singla N, et al. Exploring the missing link - Empathy among dental students: An institutional cross-sectional survey. Dent Res J 2016;13:419-423.
12. Javed MQ. The evaluation of empathy level of undergraduate dental students in Pakistan: A cross-Sectional study. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2019;31(3):402-406.
13. Yarascavitch C, Regehr G, Hodges B, Haas DA. Changes in dental student empathy during training. J Dent Educ 2009;73(4):509-517.
14. Hojat M, Vergare MJ, Maxwell K, Brainard G, Herrine SK, Isenberg GA, et al. The devil is in the third year: a longitudinal study of erosion of empathy in medical school. Acad Med 2009;84(9):1182-1191.
15. Hojat M, Mangione S, Nasca TJ, Cohen MJM, Gonnella JS, Erdmann JB, et al. The Jefferson scale of physician empathy: Development and preliminary psychometric data. Educational and Psychological Measurement 2001;61(2):349-365.
16. Gonullu I, Oztuna D. A Turkish adaptation of the student version of the Jefferson scale of physician empathy. Marmara Medical Journal 2012;25:87-92.
17. Igde FA, Sahin MK. Changes in empathy during medical education: An example from Turkey. Pak J Med Sci 2017;33(5):1177-1181.
18. Emine KAYA, Nursena ÖZTAN. Diş hekimliği fakültesi öğrencilerinin empati düzeylerinin değerlendirilmesi: Kesitsel bir çalışma. Türkiye Klinikleri J Dental Sci 2022;28(3):576-581.
19. Güneşer R. Diş hekimliği fakültesi öğrencilerinin iletişim becerileri ve empatik eğilimlerinin değerlendirilmesi: Tanımlayıcı bir çalışma. Türkiye Klinikleri J Dental Sci 2022;28(3):682-690
20. Mocny-Pachonska K, Łanowy P, Trzcionka A, Skaba D, Tanasiewicz M. Gender related changes of empathy level among Polish dental students over the course of training. Medicine 2020;99:1(e18470).
21. Karaoğlu N, Pekcan S, Yılmaz S. Are problem based scenarios supporting the positive affect and empathy of medical students? Procedia - Social and Behavioral Sciences 2013;82:101-107.

# NON-MEDICAL USE OF METHYLPHENIDATE IN MEDICAL STUDENTS IN THE MEDITERRANEAN REGION OF TÜRKİYE: A QUALITATIVE RESEARCH

TÜRKİYE'DE AKDENİZ BÖLGESİNDE EĞİTİM GÖREN TIP ÖĞRENCİLERİNDE METİLFENİDATIN TIBBİ OLMAYAN KULLANIMI: NİTEL BİR ARAŞTIRMA

Hilal YAKUT İPEKOĞLU<sup>1</sup>, Giray KOLCU<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Sanat Tarihi Bölümü, Isparta, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıp Eğitimi ve Bilişimi Ana Bilim Dalı, Isparta, TÜRKİYE

**Cite this article as:** Yakut İpekoğlu H, Kolcu G. Non-Medical Use of Methylphenidate in Medical Students in The Mediterranean Region of Türkiye: A Qualitative Research. Med J SDU 2023; 30(2): 245-252.

## Öz

### Amaç

Metilfenidatin reçetesiz kullanımı son yıllarda uluslararası yazında ilgi duyulan bir konu haline gelmiştir. Özellikle lise ve üniversite öğrencilerinin başarı için bu ilaçları kötüye kullanımları önemli bir araştırma konusu olmuştur. Gençler, hem derslerinde, girdikleri sınavlarda başarılı olmak hem de sosyal yaşamdan kopmamak için bu ilaçları bir kurtarıcı olarak görmektedir. Dünyada tıp eğitimi, öğrenciler açısından zor ve streslidir. Öğrenciler başarılı olmak için üzerlerinde çok fazla baskı hissetmektedir. Bu koşullar öğrencileri, üzerlerindeki baskıyı azaltacak, uyanık kalmalarını ve uzun süre odaklanmalarını sağlayacak alternatiflere yöneltmektedir. Bu çalışma, tıp eğitimi alan öğrencileri metilfenidat içeren ilaçlara yönelten süreci ve kullanım alışkanlıklarını anlamayı amaçlamaktadır.

### Gereç ve Yöntem

Çalışma, antropolojik bakış açısı ile tasarlanmış nitel bir araştırmadır. Tıp eğitimi alan öğrencilerle derinlemesine görüşmeler yapılarak, metilfenidatin reçete dışı kullanımı üzerine deneyimleri, düşünceleri ve gözlemleri derlenmiştir. Çalışmaya 2019 yılı sonlarında yüz yüze görüşmelerle başlanmıştır. Koronavirüs

pandemisi nedeniyle verilen uzun bir aranın ardından görüşmeler Şubat 2022'de tamamlanmıştır. Çalışmaya katılan 17 gönüllü öğrencinin görüşleri, betimleyici bir yaklaşımla değerlendirilmiştir.

### Bulgular

Araştırma bulgularımıza göre tıp öğrencileri yan etkilerine rağmen geçici ve hızlı bir çözüm olarak metilfenidatin reçete dışı kullanımına olumlu bakmaktadır. İlacın kullanımı özellikle sınav zamanlarında artmaktadır. Öyle görülüyor ki ilaç öğrenciler için kolay bir alternatiftir. İlaçlar büyük oranda yine kullanan diğer arkadaşlardan temin edilmektedir. Ayrıca ilacın zayıflamak için de kullanıldığı görüldü. Metilfenidatin olası etkilerinin yine reçete dışı kullanan öğrenciler tarafından övüldüğü ve diğer öğrencilere tanıtıldığı söylenebilir. Çalışmanın bulguları çeşitli ülkelerde yapılmış araştırma bulguları ile büyük oranda paralellik göstermektedir.

### Sonuç

Ülkemizde psikomotor stimülanların reçetesiz kullanımları üzerine yapılmış çok az sayıda araştırma bulunmaktadır. Bulgular, tıp öğrencilerinin üzerlerindeki stres ve baskı ile baş edebilmeleri yolunda sağlıklı ve sürdürülebilir alternatiflere ihtiyaç duyduklarını ka-

Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address: H.Y.İ. / hilalyakut@sdu.edu.tr

Müracaat tarihi/Application Date: 24.05.2023• Kabul tarihi/Accepted Date: 16.06.2023

ORCID IDs of the authors: H.Y.İ: 0000-0002-2273-1379; G.K: 0000-0001-8406-5941

nıtlar niteliktedir. İlaçların reçetesiz, kötüye kullanım-  
larının uzun vadede yaratacağı olumsuz etkilerinin  
belirlenebilmesi ve önlem alınabilmesi açısından, bu  
çalışmanın bir temel oluşturacağı düşünülmektedir.  
Araştırma, mevcut durumu keşfetme amaçlı bir ön  
değerlendirme niteliğindedir. Alanda daha çok bilgiye,  
nicel ve nitel veriye ihtiyaç olduğu açıktır.

**Anahtar Kelimeler:** Akademik başarı, Bağımlılık,  
Stres, Tıbbi antropoloji, Uyarınların reçetesiz kulla-  
nımı

## Abstract

### Objective

The misuse of methylphenidate is an important issue  
in the relevant literature. The abuse of these drugs  
for success, especially by high school and university  
students, is quite common at the international level.  
Young people consider these drugs as a savior in  
order to be successful in the exams and to sustain  
with their social life. It is possible that medical  
education is very hard and stressful for students in  
the world. The students feel too much pressure to  
succeed. So, this situation directs students towards  
alternatives that will reduce the pressure, stay awake  
and focus more. This study aims to understand the  
process and usage habits that direct medical students  
to methylphenidate.

### Material and Method

The study was designed as a qualitative research  
method with an anthropological perspective. Medical  
students' experiences, thoughts, and observations  
on the illicit use of methylphenidate were collected

by researcher, using the in-depth interviews. The  
study started with face-to-face interviews at the  
end of 2019. Due to the coronavirus pandemic, the  
negotiations were completed in February 2022, after  
a long break. The opinions of 17 volunteer students  
who participated in the study were evaluated with a  
descriptive approach.

### Results

According to our research findings, medical  
students are positive about the non-medical use of  
methylphenidate to save the day, despite its side  
effects. The use of the drug increases especially  
during exam periods. It is seen that drugs are as  
an easy alternative for students. The medicines are  
mostly provided from other friends who still use them.  
In addition, the drug is also used for weight loss. It is  
a fact that its effects are exaggerated and advertised  
among non-prescription users. The results of our  
research are similar with international ones.

### Conclusion

There are very few studies on the illicit use of  
psychomotor stimulants in our country. The findings  
prove that medical students need healthy and  
sustainable alternatives to cope with the stress and  
pressure on them. It is thought that this study will be  
a basis for determining the long-term negative effects  
of misuse of the drugs and taking precautions. The  
research is a preliminary assessment to explore the  
current situation. It is clear that there is a need for  
more information, quantitative and qualitative data in  
the field.

**Keywords:** Addiction, Academic success, Illicit use of  
stimulant, Medical anthropology, Pressure.

## Introduction

Methylphenidate hydrochloride is a central nervous  
system stimulant approved by the American Food  
and Drug Administration (FDA) for adults and children  
over the age of six, used in the treatment of attention  
deficit and hyperactivity disorder (ADHD) (1, 2). In  
many studies, it has been determined that there is  
an increase in the use of Methylphenidate among  
students studying at various grades, especially during  
exams, project submissions, and thesis periods to  
increase focus.

It is seen that attention deficit and hyperactivity  
disorder are more common in students studying in

the field of health compared to the general population  
(3-6). In studies conducted on medical students, the  
diagnosis of attention deficit and hyperactivity and the  
use of drugs containing methylphenidate have been  
reported (3, 5, 7). In addition to this group, it is stated  
that drugs containing methylphenidate are commonly  
used without control to increase cognitive activities in  
healthy individuals (8, 9). While many studies have  
stated that the uncontrolled use of methylphenidate  
is alarmingly common worldwide, further studies are  
recommended for a solution (8).

There are many studies on methylphenidate in our  
country (10-13). In these studies, its psychiatric and  
pharmacological properties are discussed, in addition

to these studies, it is recommended to study the causes of uncontrolled use of methylphenidate.

In this context, the use of methylphenidate has been discussed in the conversations and observations with medical faculty students in medical anthropology courses. In these discussion sessions, the intense curriculum, challenging exams, lessons, and the thought that there is no time for anything other than school, disconnection from social life, sleep, and eating disorders are the subjects that students frequently talk about. Another remarkable issue is the uncontrolled use of methylphenidate.

This study aims to understand the process that leads medical school students to use this drug by evaluating the opinions and thoughts of the medical faculty students about how to provide methylphenidate hydrochloride, their needs, the duration of use, and their habits in terms of methylphenidate use.

## Material and Method

The study was designed as phenomenological research in a qualitative research design. The population of the study was determined as students receiving medical education, and the sample was determined as students receiving medical education in the Mediterranean Region in Türkiye. Based on the anthropological point of view, in-depth interviews were conducted with the 17 volunteer students.

The study began with face-to-face interviews in late 2019. After a small number of face-to-face meetings, the onset of the coronavirus pandemic caused the work to be interrupted for a while. Due to the course of the pandemic, the interviews were continued over the phone, after a long break. The interviews were finished in February 2022. An announcement was made to the students and those who wanted to express their opinions were asked to reach the researchers. No demographic information was asked during the interview, only the period they studied was asked to ensure the diversity of the period. In the oral interview, the students were asked questions to understand whether they used a methylphenidate group drug at any time or not, the reasons for quitting and continuing their prescription and illicit use behaviors, and in what situations they needed these drugs. In addition, their opinions were obtained on what they observed in their environment regarding the subject. The statements of the participants are given in the findings section. It was adapted to grammar rules and written language only for ease of reading.

Expressions without italics in quotation marks are the explanations of the interviewing researcher. The data were evaluated and presented with the descriptive analysis approach.

## Results

Within the scope of the study, 17 students were interviewed (N:17). In the analysis of the study data, the most important reasons for students to use methylphenidate-containing drugs are to stay sober and awake and to sit for a long time without losing focus while studying.

It can be said that students are divided into three groups in terms of methylphenidate use. The first group is those who are diagnosed with ADHD (Attention Deficit Hyperactivity Disorder) at an early age, such as primary school and high school and use prescription drugs. It is seen that this group of students use the drug regularly/irregularly in their university life. From time to time, they stop using the drugs, reduce them, or start using them again when needed. The second group of students is those who try drugs containing methylphenidate without a prescription as a result of the advice of friends and/or rumors about its positive effects. These are limited to the availability of the drug without a prescription. The third group consists of students who did not try, did not feel the need to try, or stated that they could try if necessary due to side effects.

When we look at the reasons why students need drugs containing methylphenidate, it can be said that the most striking reason is stress and not being able to manage stress correctly. *"People start to use drugs because they can't cope. The system makes them use it. There is no time for social life, even if there is time, the students stress themselves out and want to study"* (S8). The students express that they need drugs containing methylphenidate, especially when they are under stress and during exam periods when they are too busy. For this reason, even if it is prescribed (due to its side effects and reduced duration of action), they mostly prefer to use it under stress. In other words, even if they need to use it regularly, they use it during exam periods so that its effect can be stronger. *"If I'm not going to study, I don't need it at all. When I get into a busy pace, I need it a lot under intense stress"* (S13).

Another reason seems to be that they do not know where and how to start studying. When this situation is combined with stress, it turns into a vicious circle.

*"My study pattern was problematic. I entered the faculty without knowing how to study, I had trouble, I could not study, I was sleeping, and I was falling asleep in class. In the first 3 years, this situation did not cause a problem, but in the 4th, the transition to the clinic was a problem" (S7).*

Students can try the drug without a prescription by observing their friends who use methylphenidate or by listening to their advice. It turns out from their statements that the students tried the drugs or they had the desire to try as a result of recommendations or mention of their positive effects. *"For example, my friend was using and working for 6 hours without a break. They were talking, it was understood. Everyone is emulating, they also want to study hard, the situation of the ones using these drugs causes me to use them" (S8).* *"My cousin used it while studying for the DUS (Dentistry Specialization Education Entrance Exam). I don't know if she used it with or without a prescription... She said that she studied for a long time by focusing" (S3).* *"While my friend and I were studying together, I couldn't complete all the topics, I had to sleep, so I tried. ... Once a person uses it, they think that they can't do anything without it in the next committee..." (S16).* *"I used it myself and got it from a close friend. ...I will use it if I need it again. There is a drug which works for focusing, why should I not use it?" (S1).*

The participants state that they have heard about drugs containing methylphenidate not only in the university but also during the pre-university period. It is seen that the positive effects of such drugs are discussed during the preparation period for university. *"While I was studying for the university exam, there was a rumor that there was such a drug" (S12).* *"... the students talked about it a lot. They said that the drug worked well, but it stupefied when you quit, so we thought that it would be logical not to start at all. ...my brother also studied (for the exam), and I also heard from him" (S15).*

It is seen that drugs are mostly taken free of charge from friends advising on illicit uses. It is also understood that some students are selling these drugs. *"I wanted to use it so many times. My friends were bringing it, asking would you use it, etc. I always tried to pull it off myself, but I could use it during the TUS (Medical Specialty Exam) period" (S8).* *"... If I want, I can find it... Since those with a prescription are used when needed, the rest are sold" (S1).*

Another situation is trying to get the drug prescribed

using symptoms. *"There are certain symptoms for prescribing these drugs. ... Some know these symptoms and go to the doctor. (S1).* *"People ask for advice about what they should say so that the doctor will prescribe this drug for them" (S2).*

So, at which educational grade do students feel the need for such drugs more? In other words, when they first started school or when they are close to graduation and TUS? The participants have different views about the periods when methylphenidates are used more. Some students think that these drugs are needed more in the first semesters of school. Adapting to university life, not having a good study order, and trying to stand on their legs, especially for those who study far from their families are great sources of stress when combined with the intensity of the courses. *"... we were talking about such things when we could not manage to focus/study at the beginning" (S15).* *"... The new students get into panic and this may be the reason why they use these drugs" (S11).* *"At first, life is very irregular, it becomes easier in time, you get accustomed to it in term 4, and you have an order" (S10).*

Others think that the closer they get to graduation and TUS, the more they tend to use these drugs. *"The closer TUS is, there are more users of these drugs" (S16).* *"When you see the difficulty of the courses in the 3rd grade, you feel a great pressure" (S14).*

The students who use methylphenidate-containing drugs on prescription and for a long time have different experiences and thoughts about the drug, its side effects, and use compared to others. This experience often causes them to act on their own in cases of starting, stopping, or restarting the drug. While this situation can lead to abuse, it is also seen that the students who know themselves better over time can develop alternatives to focus. *"I got the diagnosis of ADHD from the psychologist that I went to in primary school 3, but my family did not allow me to use drugs because they thought it was harmful. (After attending the school of medicine) I started to experience the effect of a lack of attention on committees and courses. I went to the doctor again, ... so I started using the drug. She prescribed the short-acting one, and I started using it. I experienced a significant improvement. It was as if "someone turned the electrical switches back on in my brain." However, after 4-5 hours, when the drug lost its effect, withdrawal symptoms started. Crying spells, collapse. I gave up using the drug by myself" (S17).* *"I was diagnosed with ADHD in 5th grade which*

means methylphenidate for life. ... During internship shifts, I reduced methylphenidate and its effect also went down. By feeling confident, I was also using it wrongly. I was using it as an alarm to study at night as it woke me up" (S7). "I'm trying to cope with it myself by reminders, notes, etc., I'm used to it" (S9).

There are cases where students share the prescribed drug with their close friends. "I shared my drugs at the committee time" (S17). However, the price of the drug may prevent sharing. "I didn't share it. ... The drug is expensive" (S14). "... I have a stock to use for a week before the exam, I use it sparingly because the drug is expensive" (S2). In particular, the fact that these drugs cannot be prescribed for male students due to health insurance and these drugs are expensive can prevent sharing them. However, the fact that female students have health benefits changes the situation. "Female students obtain the drugs more easily and males usually get these drugs from them" (S8).

Especially the fact that they have used them for a long term, they have more experience with their positive/negative effects may lead them to be more hesitant about sharing or recommending the drug. "Some people said, "Let me try" a few times, but I didn't give it because I know the side effects" (S9). "Because of the side effects, I hesitate and try not to give" (S2). "Since I was using it, my friends wanted me to buy it so they can use it (since these drugs require a red prescription), but it's not that easy. I had been using 54 mg lately, and I knew the side effects very well... People who have used them for many years do not share them, but those who arbitrarily buy distribute them like a dealer" (S11).

The main thing in the use of illicit methylphenidate is the tendency of students to save the day. Therefore, an unconscious way of use emerges where side effects or post-drug effects are ignored. "(For example) If I say in the committee that I am using it, some will use it without question, I think that there will be someone who will say that I can save the day with this" (S12).

There is another reason for students' illicit use of methylphenidate other than academic achievement; to lose weight. It is understood that drugs are also used to lose weight with the thought that it accelerates the metabolism and eliminates the appetite. "At first, it causes to lose weight until the body gets used to it, and some may use it for this reason" (S7). "...a friend used it to lose weight without a prescription" (S2).

We talked about a group that did not use methylphe-

nidate - containing drugs although they heard a lot about their effects on focusing and these drugs were recommended to them, they did not have a desire to do so. The opinions of students who have never used it are divided into two. While one group does not consider the success of a drug appropriate, the other group states that they do not prefer it because of its negative side effects. "...it feels artificial. I prefer to feel like I did it myself" (S4). "I've never used it. I did not feel the need, I can study myself" (S10). "Narcotic drugs do not start from the top. It seems to have a similar usage profile" (S6). "I never used it when I found out that it had side effects" (S12).

## Discussion

It seems that today, students need stimulants to increase their focus, study for a long time, and stay awake. In particular, the abuse (illicit and arbitrary use) of prescription drugs for these purposes is quite common (14-18).

The issue of abuse of methylphenidates started to be emphasized in the studies conducted shortly after their introduction to the market (19). It is possible to find many studies on stimulant substance use among university students in the United States. Stimulant substance use is much more intense in north-eastern universities (20). According to McCabe et al. stimulant use is not unusual or illegitimate for most people in a place like New York where daily life is difficult, people have high ambitions, and pressure is high (21). The pressure that students feel due to academic stress increases the use of stimulant substances for similar reasons in various parts of the world. In South Africa (22), Switzerland (23-24), the United Kingdom and Ireland (25), Lithuania (26), France (27), Nigeria (28), China (29-30), Iran (31), Southwest America (32), the Midwest America (33), Germany (34), and Australia (35) high school and university students use methylphenidates without a prescription considering that this will contribute to their academic success. Tuttle et al. believe that the coping strategies of medical students may not be sufficient for the strict demands of education, and this situation poses more risk for medical students in terms of non-medical use of prescription drugs (5).

The results of international studies on the reasons for the use of stimulants are in line with the results of our research. Students use drugs to help them study at night (14), increase their concentration, and stay awake while studying (24, 27, 31, 36, 37). For this reason, Ford and Schroeder have defined

methylphenidates as homework drugs and stated that their use reaches the highest rate during exam periods (38). The results of the mentioned studies are in line with our findings. Even the students who use prescription drugs use it more intensely during exam periods to feel its effect. It is also possible to say that the sharing of the drug increased during these periods. Another reason for abuse, according to our findings, was to lose weight. Teter et al. reached this finding and determined that students used methylphenidates to lose their excess weight (32).

It was revealed from the statements of the students that friends had a very important role in obtaining information about the drugs and accessing them. This is also in parallel with the related literature. In New Zealand, students first hear about drugs from their friends and then from the media (37). The primary source of information in Iran is friends (31, 39). According to Ram et al., the most common sources of information in New Zealand are friends and social networks (37). Abbasi-Ghahramanloo et al. considered the influence of peers and friends as the most important factor in the spread of stimulants (40). In addition to sharing their drugs, friends also share their experiences about the things to tell doctors to have them prescribe the drugs (41). In Brazil, medical students obtain drugs free of charge from their friends (36). According to Cadwalladr's study, students at Edinburgh University buy stimulants from Far Eastern websites or American students, almost all of whom use stimulants (30). Although the participants in our study said that the drug can also be bought, they mentioned that it is much more common to share among friends.

It was observed that there were differences in the opinions of the participants about the period in which methylphenidates were used more. Some students argued that those close to graduation needed more, while others stated that they may be used more in the first semesters. The relevant literature shows that stimulant use is more common close to graduation (23, 25, 31).

It is not known what the long-term effects of stimulant use to save the day will be. It is observed that some students rely on the education that they receive and act overly self-confident about the effects/side effects. In other words, it is seen that they make decisions on their own, such as starting the drug, stopping it, using it when necessary, using two different drugs at the same time to increase the effect, and increasing the dose. It is seen that the official prescription of drugs

has an important role in this situation. In a sense, it also causes it to be perceived as more reliable when compared to other stimulants. According to DeSantis and Hane, the idea that drugs are used for academic success and that they will not cause a problem if they are used in moderation and when necessary lead to the open and free use of these substances (42). Peterson et al. also stated that these stimulants were perceived as multivitamins for the same reason (41). According to Teter et al. and Cicero et al., the legality of methylphenidates also makes access to drugs easier. It is both legal and more socially acceptable (16, 43). Therefore, they are ideal substances for abuse in universities. In parallel, Ford and Schroeder state that the instrumental or recreational use of these substances is normalized among certain social groups in universities (38). According to the research of Franke et al. the participants were undecided about whether there is a difference between the use of caffeine-containing substances and the use of amphetamines and methylphenidates (44).

In addition to the issues mentioned in the related literature, other misuses of methylphenidates that can have fatal effects have also been identified. Overdosage to increase the effect and their frequent use in certain periods were also expressed by the participants in our study. However, nasal or intramuscular, or intravenous administration of these stimulants has been observed both national (45) and international (14, 46, 47).

## Conclusions

A fast and competitive lifestyle makes people work to be more active, successful, and social. The thought that the body cannot meet these requirements properly causes them to use chemical alternatives. As Le Breton stated, the lack of self-confidence leads people to psychopharmacology, even though they have no disease, and causes them to use drugs to have the desired moral state (48). Various products are used to sleep, wake up, stay in shape, relieve anxiety and stress. Thanks to these chemical prostheses, a person can always keep his/her body, which is insufficient to fulfil the requirements of the contemporary world, in a more efficient and more demanding system. Abiodun et al. stated that industrialization, urbanization, and Western lifestyle contributed to the prevalence of alcohol and substance use (cocaine, heroin, amphetamine, hallucinogens) in Nigeria (28). Circumstances bring increasing uncertainty and uncertainty brings insecurity. When the lack of social support caused by an individual lifestyle is added to



this, people start to look for remedies in substances.

The limitations of the study can be listed as the limitations due to the nature of the qualitative research design, the data collection from the participants voluntarily, and the use of two different data collection methods due to the pandemic. However, the study is very important in terms of determining the situation. We believe that this determination of the situation will guide further studies on what alternative methods can be developed in the short and long term to solve the problems that lead students to non-medically drug use with an interdisciplinary approach.

### Conflict of Interest Statement

The authors have no conflicts of interest to declare.

### Ethical Approval

Ethics Committee approval was received at the 07.07.2019 dated and 229 numbered meeting of Clinical Research Ethics Committee, School of Medicine, Süleyman Demirel University. The study was conducted in line with the principles of the "Helsinki Declaration".

### Consent to Participate and Publish

Written informed consent to participate and publish was obtained from all individual participants included in the study.

### Funding

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

### Availability of Data and Materials

Data available on request from the authors.

### Authors Contributions

HYI: Conceptualization; Investigation; Data curation; Methodology; Formal Analysis; Visualization; Supervision; Validation; Writing-original draft; Writing-review & editing.

GK: Conceptualization; Investigation; Methodology; Validation; Resources; Writing-original draft; Writing-review & editing.

### Editorial

Although GK, one of the authors of the article, is editorial board member of the journal, he has not taken part in any stage of the publication processes of this article.

## References

1. FDA. Methylphenidate hydrochloride [Internet]. FDA. 2022 [cited 01 March 2021]. Available from: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/methylphenidate-hydrochloride-extended-release-tablets-generic-concerta-made-mallinckrodt-and-kudco>
2. FDA. Questions and Answers Regarding Methylphenidate Hydrochloride Extended Release Tablets (generic Concerta) made by Mallinckrodt and UCB/Kremers Urban (formerly Kudco) [Internet]. FDA. 2022 [cited 01 March 2021]. Available from: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/questions-and-answers-regarding-methylphenidate-hydrochloride-extended-release-tablets-generic>
3. Kudlow PA, Naylor KT, Xie B, McIntyre RS. Cognitive enhancement in Canadian medical students. *Journal of Psychoactive Drugs*. 2013;45(4):360–365. <https://doi.org/10.1080/02791072.2013.825033>
4. McNeil AD, Muzzin KB, DeWald JP, McCann AL, Schneiderman ED, Scofield J, Campbell PR. The nonmedical use of prescription stimulants among dental and dental hygiene students. *Journal of Dental Education*. 2011;75(3):365–376.
5. Tuttle JP, Scheurich, NE, Ranseen J. Prevalence of ADHD Diagnosis and Nonmedical Prescription Stimulant Use in Medical Students. *Academic Psychiatry*. 2010;34(3):220-223. <https://doi.org/10.1176/appi.ap.34.3.220>
6. Webb JR, Thomas MW, Valasek MA. Contemplating Cognitive Enhancement in Medical Students and Residents. *Perspectives in Biology and Medicine*. 2010;53(2):200-214. <https://doi.org/10.1353/pbm.0.0154>
7. Webb JR, Valasek MA, North CS. Prevalence of stimulant use in a sample of US medical students. *Annals of Clinical Psychiatry: Official Journal of the American Academy of Clinical Psychiatrists*. 2013; 25(1):27–32.
8. Cohen YG, Segev RW, Shlafman N, Novack V, Ifergane G. Methylphenidate use among medical students at Ben-Gurion University of the Negev. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*. 2015; 6(3) 320–325. <https://doi.org/10.4103/0976-3147.158749>
9. Finger G, Silva ER, Falavigna A. Use of methylphenidate among medical students: a systematic review. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2013;59(3):285–289. <https://doi.org/10.1016/j.ramb.2012.10.007>
10. Caferoğlu Z, Özel HG, Hamidi F, Ertürk G. Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu Tanısı Olan Çocuklarda İlaç Tedavisinin Beslenme Durumu Üzerine Etkileri. *Beslenme ve Diyet Dergisi*. 2015; 42(2):99-107.
11. Durukan I, Erdem M, Kara K, Karaman D. Effects of Psychostimulant Drugs on Developing Brain. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar (Current Approaches in Psychiatry)*. 2013; 5(4):538-539. <https://doi.org/10.5455/cap.20130532>
12. Şahin S, Bozkurt H. Epileptic Seizure Following A Switch From Short-acting Methylphenidate to Long-acting Methylphenidate Treatment: A Case Report. *Turkish Journal of Child and Adolescent Mental Health*. 2016; 26(3):136–139. <https://doi.org/10.4274/tjcamh.galenos.2016.2015.09.022>
13. Yarıcı U, Görgülü Y, Çınar RK, Sönmez MB. Metilfenidat ile Tetiklenen Afektif ve Psikotik Süreç, Vaka Sunumu. *Bağımlılık Dergisi*. 2017;1: 25–30.
14. Babcock Q, Byrne T. Student Perceptions of Methylphenidate Abuse at a Public Liberal Arts College. *Journal of American College Health*. 2000; 49:143-145.
15. Low KG, Gendaszek AE. Illicit Use of Psychostimulants among College Students: A Preliminary Study. *Psychology, Health and Medicine*. 2002; 7:283-287. <https://doi.org/10.1080/13548500220139386>
16. Teter CJ, McCabe SE, Cranford JA, Boyd CJ, Guthrie SK. Prevalence and motives for illicit use of prescription stimulants in an undergraduate student sample. *J Am Coll Health*. May-Jun; 2005; 53(6):253-62. <https://doi.org/10.3200/JACH.53.6.253-262>

17. Quintero G, Peterson J, Young B. An Exploratory Study of Socio-Cultural Factors Contributing to Prescription Drug Misuse among College Students. *Journal of Drug Issues*. 2006; 6:903-931.
18. McCabe SE, West BT, Teter CJ, Boyd CJ. Trends in medical use, diversion, and nonmedical use of prescription medications among college students from 2003 to 2013: Connecting the dots. *Addictive Behaviors*. 2014; 39(7):1176–1182. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2014.03.008>
19. Gahr M, Freudenmann RW, Hiemke C, Kölle MA, Schönfeldt-Lecuona C. Abuse of methylphenidate in Germany: Data from spontaneous reports of adverse drug reactions. *Psychiatry Research*. 2014; 215(1): 252-254. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2013.11.008>
20. Johnston LD, O'Malley PM, Bachman JG, Schulenberg JE. Monitoring the Future National Survey Results on Drug Use, 1975–2009. Vol. II. College Students and Adults Ages 19–50. NIH publication No. 10–7585. Washington, DC: US Department of Health and Human Services, 2010.
21. McCabe SE, Knight JR, Teter CJ, Wechsler H. Non-medical use of prescription stimulants among US college students: prevalence and correlates from a national survey. *Addiction*. 2005; 100(1):96–106. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2005.00944.x>
22. Steyn F. Methylphenidate use and poly-substance use among undergraduate students attending a South African university: original research. *South African Journal of Psychiatry*. 2016;22(1):a760.
23. Merier LJ, Liechti ME, Herzig F, Schaub MP. To Dope or Not to Dope: Neuroenhancement with Prescription Drugs and Drugs of Abuse among Swiss University Students. *PLoS ONE*. 2013; 8(11):e77967. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077967>
24. Liakoni E, Schaub MP, Maier LJ, Glauser G-V, Liechti ME. The Use of Prescription Drugs, Recreational Drugs, and “Soft Enhancers” for Cognitive Enhancement among Swiss Secondary School Students. *PLoS ONE*. 2015; 10(10):e0141289. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141289>
25. Singh I, Bard I, Jackson J. Robust Resilience and Substantial Interest: A Survey of Pharmacological Cognitive Enhancement among University Students in the UK and Ireland. *PLoS ONE*. 2014; 9(10):e105969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105969>
26. Lengvenyte A, Strumila R, Grikinienė J. Use of cognitive enhancers among medical students in Lithuania. *Nordic Studies on Alcohol and Drugs*. 2017; 33(2):173-187. <https://doi.org/10.1515/nsad-2016-0014>
27. Micoulaud-Franchi JA, MacGregor A, Fond G. A preliminary study on cognitive enhancer consumption behaviors and motives of French Medicine and Pharmacology students. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci*. 2014; 18(3):1875-8.
28. Abiodun AO, Adelekan ML, Ogunremi OO et al. Psychosocial correlates of alcohol, tobacco and cannabis use amongst secondary school students in Ilorin, Nigeria. *West Afr J Med*. 1994; 13:213-7.
29. Liu Z, Zhou W, Lian Z, Mu Y, Cai Z, Cao J: The use of psychoactive substances among adolescents in an area in the south west of China. *Addiction*. 2001; 96(2):247-50. <https://doi.org/10.1080/09652140020020973>. PMID: 11182869.
30. Cadwalladr C. Students used to take drugs to get high [Internet]. Now they take them to get higher grades. *The Guardian*. 2015. [Accessed 03 March 2021]. Available from: <https://www.theguardian.com/society/2015/feb/15/students-smart-drugs-higher-grades-adderall-modafinil>
31. Fallah CF, Moudi S, Hamidia A, Bijani A. Stimulant use in medical students and residents requires more careful attention. *Caspian J. Intern. Med*. 2018; 9(1):87-91. <https://doi.org/10.22088/cjim.9.1.87>
32. Teter CJ, McCabe SE, Boyd CJ, Guthrie SK. Illicit Methylphenidate Use in an Undergraduate Student Sample: Prevalence and Risk Factors. *Pharmacotherapy*. 2003; 23 (5):609-617.
33. Wasserman JA, Fitzgerald JE, Sunny MA, Cole M, Suminski RR, Dougherty JJ. Nonmedical Use of Stimulants Among Medical Students. *The Journal of the American Osteopathic Association*. 2013; 114 (8):643-653.
34. Franke AG, Bonertz C, Christmann M, Huss M, Fellgiebel A, Hildt E, Lieb K. Non-Medical Use of Prescription Stimulants and Illicit Stimulants for Cognitive Enhancement in Pupils and Students in Germany. *Pharmacopsychiatry*. 2011;44(2):60-6. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1268417>
35. Partridge B, Bell S, Lucje J, Hall W. Australian university students' attitudes towards the use of prescription stimulants as cognitive enhancers: perceived patterns of use, efficacy and safety. *Drug Alcohol Rev*. 2013; 32(3):295-302. <https://doi.org/10.1111/dar.12005>
36. Silveira RR, Lejderman B, Ferreira PE, da Rocha GM. Patterns of non-medical use of methylphenidate among 5th and 6th year students in a medical school in southern Brazil. *Trends Psychiatry Psychother*. 2014; 36(02):101-106. <https://doi.org/10.1590/2237-6089-2013-0065>
37. Ram S, Hussainy S, Henning M, Jensen M, Russell B: Prevalence of cognitive enhancer use among New Zealand tertiary students. *Drug and Alcohol Review*. 2015; 35(3):345-351. <https://doi.org/10.1111/dar.12294>
38. Ford JA, Schroeder RD. Academic strain and non-medical use of prescription stimulants among college students. *Deviant Behavior*. 2009; 30:6-53. <https://doi.org/10.1080/01639620802049900>
39. Habibzadeh A, Alizadeh M, Malek A, Maghbooli L, Shoja MM, Ghabili K. Illicit methylphenidate use among Iranian medical students: prevalence and knowledge. *Drug Design, Development and Therapy*. 2011; 5:71-76.
40. Abbasi-Ghahramanloo A, Fotouhi A, Zeraati H, Rahimi-Movaghar A. Prescription Drugs, Alcohol, and Illicit Substance Use and Their Correlations Among Medical Sciences Students in Iran. *Int J High Risk Behav Addict*. 2015; 4(1), e21945. <https://doi.org/10.5812/ijhrba.21945>
41. Peterson MA, Nørgaard LS, Traulsen JM. Going to the doctor with enhancement in mind – An ethnographic study of university students' use of prescription stimulants and their moral ambivalence. *Drugs: Education, Prevention and Policy*. 2015; 22(3):201-207. <https://doi.org/10.3109/09687637.2014.970517>
42. DeSantis AD, Hane AC. Adderall is definitely not a drug: Justifications for the illegal use of ADHD stimulants. *Substance Use & Misuse*. 2010; 45:31–46. <https://doi.org/10.3109/10826080902858334>
43. Cicero TJ, Inciardi JA, Muñoz A. Trends in abuse of Oxycodone and other opioid analgesics in the United States: 2002-2004. *J Pain*. 2005;6(10):662-72. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2005.05.004>.
44. Franke AG, Lieb K, Hildt E. What users think about the differences between caffeine and illicit/prescription stimulants for cognitive enhancement. *PLoS One*. 2012; 7(6):e40047. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040047>
45. Erensoy H, Burhanoglu S. İntranasal Metilfenidat ve Bupropion Kötüye Kullanımı: Bir Olgu Sunumu. *Bağışlılık Dergisi*. 2014; 15 (2):102-104.
46. Parran TV Jr, Jasinski DR. Intravenous methylphenidate abuse. Prototype for prescription drug abuse. *Arch Intern Med*. 1991; 151:781-783.
47. Coetzee M, Kammer Y, Morales A. Megadose intranasal methylphenidate (ritalin) abuse in adult attention deficit hyperactivity disorder. *Subst Abus*. 2002; 23:165-169.
48. Le Breton D. Bedene Veda (Orj: L'Adieu au corps, Çev. Aziz Ufuk Kılıç). İstanbul: Sel Yayıncılık; 2014.

## DOĞUM SONRASI ERKEN TEN TENE TEMASIN BAŞLATILMASI VE EMZİRME UYGULAMALARI: BEBEK DOSTU HASTANE ÖRNEĞİ

STARTING EARLY SKIN-TO-SKIN CONTACT AND BREASTFEEDING PRACTICES IN THE POSTPARTUM PERIOD: A CASE STUDY OF BABY-FRIENDLY HOSPITAL

Hamide COŞKUN ERÇELİK<sup>1</sup>, Vildan KAYA<sup>1</sup>, Tuğçe ÇAMLICA<sup>1</sup>, Zehra SEZGİNER<sup>2</sup>, Betül ŞAVRAN<sup>3</sup>, Fatma BÜLBÜL<sup>4</sup>, Derya ÖZDEMİR<sup>4</sup>, Elif BAYER<sup>5</sup>, Sabriye ERCAN<sup>6</sup>, Rasih YAZKAN<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi, Isparta, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Isparta, TÜRKİYE

<sup>3</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Kalite Yönetimi, Isparta, TÜRKİYE

<sup>4</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Hemşirelik Hizmetleri Müdürlüğü, Isparta, TÜRKİYE

<sup>5</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi Hastane Müdürü, Isparta, TÜRKİYE

<sup>6</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi Başhekim Yardımcısı, Isparta, TÜRKİYE

<sup>7</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi Başhekimi, Isparta, TÜRKİYE

**Cite this article as:** Coşkun Erçelik H, Kaya V, Çamlıca T, Sezginer Z, Şavran B, Bülbül F, Özdemir D, Bayer E, Ercan S, Yazkan R. Doğum Sonrası Erken Ten Tene Temasın Başlatılması ve Emzirme Uygulamaları: Bebek Dostu Hastane Örneği. Med J SDU 2023; 30(2): 253-262.

### Öz

#### Amaç

Bu çalışma, bebek dostu bir hastanede ilk ten tene temas zamanını ve taburcu olana kadar sadece anne sütü alımında fark oluşturan faktörler ile bunlar arasındaki ilişkinin incelenmesini amaçlamaktadır.

#### Gereç ve Yöntem

Retrospektif ve tanımlayıcı olarak yapılan çalışmada, veriler Mart 2022-Mart 2023 tarihleri arasında bebek dostu bir hastanede doğum yapan 513 anne ve bebeklerine ait elektronik kayıtlardan ve hasta izlem kayıtlarından elde edilmiştir.

### Bulgular

Annelerin %90,1'inin doğum sonrası ilk bir saatte bebekleri ile ten tene temas kurabildikleri belirlenmiştir. İlk ten tene temas zamanı ortalaması 62,92±1,98 dakika olarak bulunmuştur. Yenidoğanların %97,1'inin taburcu olana kadar sadece anne sütü ile beslendiği, günde ortalama 10,67±0,04 kez anne sütü aldığı, %2,1'inin bir kez yapay besin ile beslendiği görülmüştür. Anne yaşının ve yenidoğanın doğum ağırlığının ten tene temas zamanını etkilediği; ilk bir saatte ten tene temasa başlayan yenidoğanların daha geç ten tene temasa başlayanlara göre, taburcu olana kadar sadece anne sütü ile beslenme oranının daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

**Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address:** H.C.E. / hamidecoskun@sdu.edu.tr

**Müracaat tarihi/Application Date:** 08.06.2023 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 21.06.2023

**ORCID IDs of the authors:** H.C.E: 0000-0003-1237-7019; V.K: 0000-0001-9668-757X;

T.Ç: 0000-0003-1940-1181; Z.S: 0009-0009-6344-3988; B.Ş: 0009-0004-1878-7494;

F.B: 0009-0007-4715-9157; D.Ö: 0009-0005-2401-9122; E.B: 0009-0005-6754-0356;

S.E: 0000-0001-9500-698X; R.Y: 0000-0002-7369-6710

## Sonuç

Bebek dostu hastane unvanı alan bir kurumda ten tene temas zamanı ortalamasının bir saate yakın olduğu ve taburcu olana kadar sadece anne sütü alan bebek oranının yüksek olduğu bulunmuştur. Ülkemizde bebek dostu hastane unvanı alan hastanelerin sayılarının artması anne sütünün teşviki konusunda yararlı olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Anne Sütü, Kanguru-Anne Bakımı, Emzirme

## Abstract

### Objective

This study aims to investigate the time of the first skin-to-skin contact in a baby-friendly hospital and the factors that make a difference in exclusive breast milk intake until discharge and their correlation with each other.

### Material and Method

In this retrospective and descriptive study, the data were obtained from electronic records and patient follow-up records of 513 mothers who gave birth in a baby-friendly hospital and their infants between March 2022 and March 2023.

## Results

It was concluded that 90.1% of the mothers were able to have skin-to-skin contact with their babies in the first hour after delivery. The mean duration of the first skin-to-skin contact was  $62.92 \pm 1.98$  minutes. It was also found that 97.1% of the newborns were exclusively breastfed until discharge with an average of  $10.67 \pm 0.04$  times a day, and only 2.1% were fed with formula nutrition once. It was further noted that maternal age and birth weight of the newborn had an impact on the time of skin-to-skin contact; those newborns who started skin-to-skin contact in the first hour were reported to have a higher rate of exclusive breastfeeding until discharge than those who began skin-to-skin contact later.

## Conclusion

It was revealed that the average skin-to-skin contact time was close to one hour and the rate of infants receiving exclusive breastfeeding until discharge was high in a baby-friendly hospital. It was suggested that increasing the number of baby-friendly hospitals in our country may be useful in promoting breastfeeding.

**Keywords:** Breast Milk, Kangaroo-Mother Care, Exclusive Breastfeeding

## Giriş

Ten tene temas (TTT) çıplak yenidoğanın annenin çıplak karnına veya göğsüne yüzüstü olarak konulmasıdır. Doğumu takiben ilk 10 dakikadan kısa bir süre içinde ten tene temas uygulamasına başlanması hemen TTT olarak tanımlanmaktadır. Bu aşamada gerekirse bebek aspire edilir, kurutulur, önceden ısıtılmış bir battaniye ile sırtı örtülür ve başı kuru bir başlıkla kapatılır. Doğumdan sonraki 10 dakika ile 24 saat arasında herhangi bir zamanda yapılan ten tene temas uygulaması ise erken TTT olarak tanımlanmaktadır. Bebeğin, annenin önden açılabilen rahat gömleğinin ya da önlüğünün içine bebeğin başı dışarıda kalacak şekilde yerleştirilmesiyle uygulanır. Burada önemli olan bebeğin ve annenin doğrudan temas etmesi ve bebeğin vücut sıcaklığının korunmasıdır (1, 2).

Doğumdan hemen sonra uygulanan TTT uygulaması yenidoğan ve anne için oldukça yararlıdır. TTT uygulaması yenidoğanın vücut sıcaklığının korunmasını sağlar (3, 4), hipoglisemiyi önler (3, 5) psiko-duygusal refahını ve fonksiyonel bebek beyin gelişimini destek-

ler (6), anne bebek bağıını güçlendirir ve emzirme başarısını artırır (4, 7).

UNICEF ve Dünya Sağlık Örgütü; dünya çapındaki sağlık kuruluşlarının emzirmeyi desteklemelerini teşvik etmek için 1991 yılında Bebek Dostu Hastane Girişimi'ni başlatmıştır. Emzirme oranlarını iyileştirmek amacıyla anne ve bebek için en uygun klinik bakımı sağlayan "Başarılı Emzirme İçin On Adım"ı geliştirmiştir (8).

Bebek Dostu unvanı alan hastaneler (BDH), annelerin ve bebeklerinin emzirme başarısını desteklemek amacıyla emzirmeye ilişkin kanıta dayalı uygulamaları düzenli olarak sürdürmektedir. "Başarılı Emzirme İçin On Adım"ın dördüncü adımı, doğumdan hemen sonra ten tene temasın başlatılmasını ve doğumu izleyen ilk bir saat içinde annelerin bebeklerini emzirmeye başlamasını hedeflemektedir. Ayrıca altıncı adımda; tıbbi bir zorunluluk olmadığı sürece, yenidoğana anne sütünden başka herhangi bir yiyeceğin veya sıvının verilmemesi gerektiği önerilmektedir (9).

Türkiye'de emzirme çok yaygındır. Türkiye Nüfus

Sağlık Araştırması (TNSA) (2018) verilerine göre; çocukların tamamına yakını (%98) bir süre emzirilmiştir. Ancak emzirmeye başlama zamanı ve sadece anne sütü (SAS) ile beslemenin sürdürülmesi istenilen seviyede değildir (10). Annelerin emzirmeye yönelik bilgi düzeylerinin yetersiz olması bebeğin anne sütü alımının kesintiye uğramasına neden olabilmektedir (11). Bu nedenle hastanelerde doğumdan hemen sonra emzirmenin başlatılması, annelerin emzirme konusunda desteklenmesi ve doğru emzirme alışkanlıkları kazandırılarak taburcu edilmeleri çok önemlidir. BDH unvanına sahip kuruluşların; emzirmenin başlatılmasında ve sürdürülmesinde oldukça önemli bir sorumluluk üstlendiği düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı, bebek dostu bir hastanede ilk TTT zamanını ve taburcu olana kadar SAS alımını etkileyen faktörlerin incelenmesi ile ilk TTT zamanı ve taburcu olana kadar SAS alımı ilişkisini belirlemektir. Çalışmanın, BDH örneğinde anne sütünün teşviki konusunda sağlık çalışanlarında farkındalık yaratacağı ve literatüre katkı sunacağı düşünülmektedir.

## Gereç ve Yöntem

### Araştırmanın Türü

Araştırma retrospektif ve tanımlayıcı tiptedir.

### Araştırmanın Evren ve Örneklemi

Çalışma, bebek dostu hastane unvanına sahip olan bir hastanenin kalite yönetim biriminde yapılmıştır. Araştırma kapsamında Mart 2022-Mart 2023 tarihleri arasında doğum yapan annelere ve bebeklerine ait elektronik kayıtlar ve hasta izlem kayıtları geriye dönük incelenmiştir.

### Veri Toplama Araçları

Veriler araştırmacılar tarafından oluşturulan veri toplama formu aracılığıyla toplanmıştır. Bu form; annenin demografik, obstetrik özellikleri ve yenidoğanın özellikleri ile annenin emzirmeye ilişkin uygulamalarını içeren iki bölümden oluşmaktadır. İlk bölüm annenin yaşına, uyruğuna, eğitim durumuna, doğum şekline, paritesine, gestasyon haftasına, bebeğin doğum ağırlığına ilişkin verilerden; ikinci bölüm ise ilk ten tene temasa başlama zamanı, anne sütü ile beslenme durumu ve yapay beslenme durumu ile ilgili verilerden oluşmaktadır. Annenin demografik, obstetrik özellikleri ve yenidoğanın özelliklerine ilişkin veriler elektronik hasta kayıtlarından elde edilmiştir. Annenin emzirmeye ilişkin uygulamalarına ait veriler ise emzirme danışmanlığı eğitimi almış bir hemşirenin izlemi sırasında oluşturduğu hasta kayıtlarından elde edilmiştir.

Annenin HIV (İng. Human Immunodeficiency Virus)

ile enfekte olması ya da annenin ilaç kullanım öyküsünün olması gibi emzirmenin kontrendike olduğu durumlar ile annenin ya da bebeğin kaybı, bebeğin doğum sonrası yoğun bakım tedavisine alındığı anne bebek çiftleri, ikiz doğum yapan anne ve bebekleri çalışma dışında bırakılmıştır. Elektronik hasta kayıtları ve hemşire izlemi kayıtlarından alınan verilerinde eksikliği olan anne bebek çiftleri araştırmaya dahil edilmemiştir.

### Verilerin Değerlendirilmesi

Verilerin analizinde SPSS v.23 paket programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı verilerin analizi yapıldıktan sonra verilerin normal dağılıma uygun olup olmadıkları Shapiro-Wilk testi ile incelenmiştir. Gruplar Monte Karlo düzeltmeli Ki-Kare testi ile fark analizine tabi tutulmuştur. Değişkenler arasındaki ilişkinin incelenmesi için Spearman korelasyon testi tercih edilmiştir. Sonuçlar, frekans (n), yüzde (%) ve ortalama  $\pm$  standart hata olarak sunulmuştur. P değeri  $\leq 0,05$  düzeyinde anlamlı kabul edilmiştir.  $p < 0,001$  iken  $0,20 \leq r < 0,40$  zayıf ilişkiyi,  $0,40 \leq r < 0,60$  orta düzey ilişkiyi,  $0,60 \leq r < 0,80$  iyi ilişkiyi ve  $0,80 \leq r < 1,00$  güçlü ilişkiyi ifade etmiştir.

## Bulgular

Araştırma kapsamında Mart 2022-Mart 2023 tarihleri arasında anne ve bebeklerine ait 805 veri elde edilmiştir. Dahil etme kriterlerine uymayan 162 ve verilerin eksikliği nedeniyle 130 anne-bebek çifti çalışma dışında bırakılmıştır. Çalışmayı 513 anne-bebek çiftine ait veriler oluşturmaktadır.

Araştırma kapsamındaki annelerin %90,4'ünün 20-39 yaş aralığında yer aldığı, %6,2'sinin yabancı uyruklu olduğu, %22,4'ünün lisans eğitimi aldığı, %96,5'inin multipar olduğu belirlenmiştir. Yenidoğanların %56,7'sinin gestasyon haftasının 37 hafta üstünde olduğu, %88,7'sinin sezaryen doğum şekliyle ve %91'inin 2500 gr üstü doğum ağırlığıyla doğduğu bulunmuştur (Tablo 1).

Çalışmamız, annelerin %90,1'inin doğum sonrası ilk bir saatte bebekleri ile TTT kurabildiklerini belirlemiştir. İlk TTT zamanı ortalaması  $62,92 \pm 1,98$  dakika olarak bulunmuştur. Yenidoğanların %97,1'inin taburcu olana kadar SAS ile beslendiği, %2,1'inin 1 kez yapay besin ile beslendiği, günde ortalama  $10,67 \pm 0,04$  kez anne sütü ile beslendiği görülmüştür (Tablo 2).

Tablo 3'te katılımcıların tanımlayıcı özellikleri ile ilk TTT'ye başlama zamanı karşılaştırılmıştır. İlk TTT'ye başlama zamanının annenin yaşına ( $p = 0,050$ ) ve bebeğin doğum ağırlığına ( $p = 0,016$ ) göre farklılık

Tablo 1 Katılımcıların Tanımlayıcı Özellikleri (n= 513)

|                       |                  | n   | %    |
|-----------------------|------------------|-----|------|
| Annenin yaşı (yıl)    | 16-19            | 22  | 4,3  |
|                       | 20-39            | 464 | 90,4 |
|                       | 40 ve üzeri      | 27  | 5,3  |
| Annenin uyruğu        | TC               | 481 | 93,8 |
|                       | Diğer            | 32  | 6,2  |
| Annenin eğitim durumu | Okuryazar değil  | 22  | 4,3  |
|                       | İlkokul          | 79  | 15,4 |
|                       | Ortaokul         | 107 | 20,9 |
|                       | Lise             | 126 | 24,5 |
|                       | Ön lisans        | 55  | 10,7 |
|                       | Lisans           | 115 | 22,4 |
|                       | Lisansüstü       | 9   | 1,8  |
| Parite                | Primipar         | 18  | 3,5  |
|                       | Multipar         | 495 | 96,5 |
| Gestasyon haftası     | 37 hafta ve altı | 222 | 43,3 |
|                       | 37 hafta üstü    | 291 | 56,7 |
| Doğum şekli           | Vajinal          | 58  | 11,3 |
|                       | Sezaryen         | 455 | 88,7 |
| Bebğin doğum ağırlığı | 2500 gr ve altı  | 46  | 9,0  |
|                       | 2500 gr üstü     | 467 | 91,0 |

Tablo 2 TTT'ye Başlama Zamanı ve Beslenmeye Ait Veriler

|  |  | n   | %    |
|--|--|-----|------|
| İlk TTT'ye Başlama Zamanı                | 0-60 dk                                  | 462 | 90,1 |
|  | 61 dk ve üzeri                           | 51  | 9,9  |
| Beslenme Durumu                          | Taburcu olana kadar SAS ile beslenenler  | 498 | 97,1 |
|  | Anne sütü ve yapay besin ile beslenenler | 15  | 2,9  |
| Yapay Besin ile Beslenme Sayısı          | Yok                                      | 498 | 97,1 |
|  | 1 kez                                    | 11  | 2,1  |
|  | 2 kez                                    | 2   | 0,4  |
|  | 3 kez                                    | 2   | 0,4  |
| İlk TTT Zamanı Ortalaması (dakika)       | 62,92±1,98                               |     |      |
| Anne Sütü ile Beslenme Sayısı (defa/gün) | 10,67±0,04                               |     |      |

Tablo 3

Katılımcıların Tanımlayıcı Özellikleri ile İlk TTT'ye Başlama Zamanının Karşılaştırılması

| Özellikler             |                  | İlk TTT'ye Başlama Zamanı |                               | p değeri |
|------------------------|------------------|---------------------------|-------------------------------|----------|
|                        |                  | 0-60 dk<br>%90,1 (n=462)  | 61 dk ve üzeri<br>%9,9 (n=51) |          |
| Annenin yaşı (yıl)     | 16-19            | 4,1 (19)                  | 5,9 (3)                       | 0,050*   |
|                        | 20-39            | 91,4 (422) <sup>a</sup>   | 82,3 (42) <sup>b</sup>        |          |
|                        | 40 ve üzeri      | 4,5 (21) <sup>a</sup>     | 11,8 (6) <sup>b</sup>         |          |
| Annenin uyruğu         | TC               | 93,9 (434)                | 92,2 (47)                     | 0,546    |
|                        | Diğer            | 6,1 (28)                  | 7,8 (4)                       |          |
| Annenin eğitim durumu  | Okuryazar değil  | 3,7 (17)                  | 9,8 (5)                       | 0,291    |
|                        | İlkokul          | 15,6 (72)                 | 13,7 (7)                      |          |
|                        | Ortaokul         | 21,2 (98)                 | 17,6 (9)                      |          |
|                        | Lise             | 25,1 (116)                | 19,6 (10)                     |          |
|                        | Ön lisans        | 10,4 (48)                 | 13,7 (7)                      |          |
|                        | Lisans           | 22,5 (104)                | 21,7 (11)                     |          |
|                        | Lisansüstü       | 1,5 (7)                   | 3,9 (2)                       |          |
| Parite                 | Primipar         | 3,7 (17)                  | 2,0 (1)                       | 1,000    |
|                        | Multipar         | 96,3 (445)                | 98,0 (50)                     |          |
| Gestasyon haftası      | 37 hafta ve altı | 42,2 (195)                | 52,9 (27)                     | 0,187    |
|                        | 37 hafta üstü    | 57,8 (267)                | 47,1 (24)                     |          |
| Doğum şekli            | Vajinal          | 11,9 (55)                 | 5,9 (3)                       | 0,291    |
|                        | Sezaryen         | 88,1 (407)                | 94,1 (48)                     |          |
| Bebeğin doğum ağırlığı | 2500 gr ve altı  | 7,8 (36) <sup>a</sup>     | 19,6 (10) <sup>b</sup>        | 0,016*   |
|                        | 2500 gr üstü     | 92,2 (426) <sup>a</sup>   | 80,4 (41) <sup>b</sup>        |          |

\*: Fisher Exact Ki-Kare Testi ile elde edilen p değeri 0,05 düzeyinde anlamlıdır. a-b: Farklı üstel harf ile gösterilen değişkenler arasında fark vardır.

gösterdiği saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). Bulgular göz önüne alındığında; 20-39 yaş grubu annelerin ve 2500 gr üstü doğum ağırlığına sahip yenidoğanların ilk bir saatte TTT'ye başlamalarının farklılık oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca; 40 ve üzeri yaş grubu annelerin ve 2500 gr ve altı doğum ağırlığına sahip yenidoğanların 61 dk ve üzerinde TTT'ye başlamaları arasında fark olduğu görülmüştür.

Tablo 4'te katılımcıların tanımlayıcı özellikleri ile SAS ile beslenme durumu karşılaştırılmıştır. SAS ile beslenme durumunun ilk TTT'ye başlama zamanına göre farklılık gösterdiği saptanmıştır ( $p < 0,001$ ). Bulgular göz önüne alındığında; ilk bir saatte TTT'ye başlayan yenidoğanların SAS ile beslenen grup arasında, 61

dakika ve üzeri sürede TTT'ye başlayan yenidoğanların SAS ile beslenmeyen grup arasında fark olduğu görülmüştür.

İlk TTT'ye başlama zamanı ile yapay besin ile beslenme sayısının ilişkisini belirlemek amacıyla Spearman Korelasyon Analizi kullanılmıştır (Tablo 5). İlk TTT'ye başlama zamanı ve yapay besin ile beslenme sayısı arasında zayıf düzeyde pozitif ( $r = 0,290$ ) yönlü ve anlamlı ( $p < 0,001$ ) bir ilişki bulunmuştur. Diğer bir ifade ile ilk TTT'ye başlama zamanı ve yenidoğanların yapay besin ile beslenme sayıları zayıf düzeyde bir ilişki göstererek anlamlı olarak artmaktadır.

Tablo 4 Katılımcıların Tanımlayıcı Özellikleri ile SAS İle Beslenme Durumunun Karşılaştırılması

| Özellikler                | SAS İle Beslenme Durumu      |                               | p değeri                |         |
|---------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------|---------|
|                           | Beslenenler<br>%97,1 (n=498) | Beslenmeyenler<br>%2,9 (n=15) |                         |         |
| Annenin yaşı (yıl)        | 16-19                        | 4,4 (22)                      | 0,0 (0)                 | 1,000   |
|                           | 20 -39                       | 90,2 (449)                    | 100,0 (15)              |         |
|                           | 40 ve üzeri                  | 5,4 (27)                      | 0,0 (0)                 |         |
| Annenin uyuşu             | TC                           | 93,6 (466)                    | 100,0 (15)              | 0,614   |
|                           | Diğer                        | 6,4 (32)                      | 0,0 (0)                 |         |
| Annenin eğitim durumu     | Okuryazar değil              | 4,2 (21)                      | 6,7 (1)                 | 0,892   |
|                           | İlkokul                      | 15,3 (76)                     | 20,0 (2)                |         |
|                           | Ortaokul                     | 21,1 (105)                    | 13,3 (2)                |         |
|                           | Lise                         | 24,3 (121)                    | 33,3 (5)                |         |
|                           | Ön lisans                    | 10,8 (54)                     | 6,7 (1)                 |         |
|                           | Lisans                       | 22,5 (112)                    | 20,0 (3)                |         |
|                           | Lisansüstü                   | 1,8 (9)                       | 0,0 (0)                 |         |
| Parite                    | Primipar                     | 3,4 (17)                      | 6,7 (1)                 | 0,419   |
|                           | Multipar                     | 96,6 (481)                    | 93,3 (14)               |         |
| Gestasyon haftası         | 37 hafta ve altı             | 42,8 (213)                    | 60,0 (9)                | 0,288   |
|                           | 37 hafta üstü                | 57,2 (285)                    | 40,0 (6)                |         |
| Doğum şekli               | Vajinal                      | 11,2 (56)                     | 13,3 (2)                | 0,682   |
|                           | Sezaryen                     | 88,8 (442)                    | 86,7 (13)               |         |
| Bebeğin doğum ağırlığı    | 2500 gr ve altı              | 8,6 (43)                      | 20,0 (3)                | 0,143   |
|                           | 2500 gr üstü                 | 91,4 (455)                    | 80,0 (12)               |         |
| İlk TTT'ye başlama zamanı | 0 – 60 dk                    | 92,8 (462) <sup>a</sup>       | 0,0 (0) <sup>b</sup>    | <0,001* |
|                           | 61 dk ve üzeri               | 7,2 (36) <sup>a</sup>         | 100,0 (15) <sup>b</sup> |         |

\*: Fisher Exact Ki-Kare Testi ile elde edilen p değeri 0,05 düzeyinde anlamlıdır. a-b: Farklı üstel harf ile gösterilen değişkenler arasında fark vardır.

Tablo 5 İlk TTT'ye Başlama Zamanı ile Yapay Besin ile Beslenme Sayısı İlişkisi

|                           | Yapay Besin ile Beslenme Sayısı |
|---------------------------|---------------------------------|
| İlk TTT'ye Başlama Zamanı | p<0,001*<br>r=0,290             |

\*: Spearman Korelasyon ile elde edilen p değeri 0,05 düzeyinde anlamlıdır.



## Tartışma

Bu çalışma, hastanede doğum yapan annelerin emzirmeye ilk başlama uygulamalarını konu edinen Türkiye'deki en büyük örneklem sayısına sahip araştırmalardan biridir. Doğum sonrası ilk TTT uygulama zamanı ve taburcu olana kadar SAS alımını etkileyen değişkenlerin fark oluşturduğu değişkenlere ve ilişkili faktörlere odaklanılmıştır.

Yenidoğanları doğumdan sonraki ilk bir saat içinde anneye buluşturmak onların hayatta kalmaları, gelişmeleri ve emme potansiyellerini kullanabilmeleri için yapılabilecek en iyi uygulamadır (12). TTT uygulamasının doğumdan sonraki ilk 10 dakika içinde yapılması hemen TTT, 10 dakika ile 24 saat arasında yapılması erken TTT anlamına gelmektedir (1). Çalışmamızda 513 anne-bebek çiftinin TTT zamanı ortalaması  $62,92 \pm 1,98$  dakika olarak bulunmuştur. Bu süre erken TTT tanımına karşılık gelmektedir. Uygulamanın doğum sonrası ilk 10 dakika içinde yapılması TTT'nin ameliyathanede ya da doğum salonunda başlatılmadığını göstermektedir. Bebeğin ilk bakım ve tedavi uygulamalarının ardından annesiyle TTT'nin başlatıldığı düşünülmektedir. Yenidoğanın ve annenin sağlığı için acil gerekli olmayan K vitamini enjeksiyonu, göz için antibiyotik profilaksisi, ayak izi alınması, vücut ağırlığı vb. ölçümleri gibi her işlemin ilk TTT sonrasına kadar ertelenmesi gerekmektedir (6). Hemen TTT'nin başlatılmamasının başka nedenleri de olabilmektedir. Alenchery ve ark. (2018) çalışmasında personel eksikliği, zaman kısıtlılığı ve güvenlik kaygılarından dolayı doğumda TTT'nin yapılamadığını belirlemiştir (13). Bununla birlikte çalışmamız TTT uygulamasının dünya çapında emzirmeyi destekleyen sağlık kuruluşlarının önerdiği şekilde (8), doğum sonrası ilk bir saate yakın bir sürede başlatıldığını bulmuştur. Bu sonucun çalışmanın yapıldığı kurumun bebek dostu hastane olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yenidoğanın yaşamının ilk zamanları sadece bebek için değil, aynı zamanda annelerin başarılı bir şekilde emzirmek için ihtiyaç duyduğu desteğin verilmesinde de oldukça kritik bir dönemdir (8). Dünya emzirme verilerine bakıldığında; tüm yeni doğan bebeklerin yarısından azı (%47) doğumdan sonraki bir saat içinde emzirilmektedir (14). Çalışmamızda hastane ölçeğinde ilk bir saat içerisinde TTT uygulamasına başlama oranı %90,1'dir. Bu oran Türkiye'deki diğer çalışmalarda elde edilen ilk bir saat içerisinde TTT verilerinden oldukça yüksektir (10, 15). Bu konuda yapılan bir çalışmanın bulguları kadınların yarısından biraz azının (%45,6) bebekleri ile ten tene temas ku-

rabildiğini belirlemiştir (15). TNSA (2018) verilerine göre; emzirilen bebeklerin sadece %71'i doğumdan sonraki ilk bir saat içinde emzirilmeye başlanmış ve bebeklerin %14'ü doğumdan sonraki ilk 24 saatte hiç emzirilmemiştir (10). Postpartum dönemdeki emzirme uygulamalarını inceleyen bir çalışmada; bebeklerin %50,1'inin doğumdan hemen sonra/ilk yarım saat içerisinde emzirildiği belirtilmiştir (16). TTT uygulayan annelerin bebeklerini daha uzun süre emzirdiği kanıtlandığı için (1), emzirme verilerinin iyileştirilmesinde TTT uygulamalarına gereken özen gösterilmelidir.

Çalışmamızda ilk TTT zamanının, annenin yaşı ve bebeğin doğum ağırlığı bağlamında fark oluşturduğu belirlenmiştir. 20-39 yaş grubu annelerin adolesan ve ileri yaş grubu annelere göre ilk saatte TTT uygulamasını başlatma oranlarının daha yüksek (iyi) olduğu bulunmuştur. Bu sonuç, ideal doğurganlık yaşının emzirme süreçlerini olumlu etkilediği şeklinde yorumlanabilir. Çalışmamızın diğer bir sonucuna göre; 40 ve üzeri yaş grubu anneler ile düşük doğum ağırlıklı (DDA) (2500 gr ve altı) bebeklerin TTT uygulama zamanları gecikmiştir. İleri yaştaki annelerin bebeklerinde DDA sıklığının artıyor olması düşünüldüğünde (17), çalışmanın bu sonucu beklenen bir bulgudur. DDA'lı bebeği olan ve ileri yaşta doğum yapan annelerin diğer annelere göre anne sütünün teşviki konusunda daha fazla desteğe ihtiyacı olduğu düşünülmeli ve daha yakından izlenmelidir.

Literatürde yer alan bir çalışma, annelerin eğitim durumunun artışını TTT ve emzirmeye erken başlama prevalanslarının artışıyla ilişkilendirmiştir (18). Ancak çalışma bulgularımız, annenin eğitim durumu ve ilk TTT zamanı arasındaki bir ilişkiyi doğrulamamıştır. 2018 TNSA verilerine göre; doğumdan sonra ilk bir saat içinde emzirilen bebeklerin oranı annenin eğitim durumundan etkilenmektedir. Eğitimi olmayan ve ilkökulu bitirmeyen annelerde emzirme oranı %64 iken, daha yüksek eğitim durumuna sahip annelerde bu oran (%71) yükselmektedir (10). Eğitim seviyesine bakılmaksızın doğum öncesi dönemden başlayarak, tüm annelerin emzirmeyi destekleme eğitimleri doğum sonrası da sürdürülmelidir.

Vajinal doğum yapan annelerin bebekleriyle TTT uygulama oranlarının sezaryen doğum yapanlardan daha yüksek olduğu ve bebeklerine anne sütü veremeye daha erken başladıkları bilinmektedir (19). Buna karşın çalışmamızda annelerin doğum şekli ile ilk TTT zamanı arasında bir fark bulunamamıştır. Benzer şekilde Esencan ve ark. (2018) çalışmasında doğum şekli ve ilk emzirme zamanı arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (15). Anne ile yenidoğanın hemen

TTT'sinin emzirme sonuçlarına olumlu etkileri bilinmesine karşın, sağlık profesyonelleri ameliyathanede sezaryen doğum sırasında TTT'nin uygulanmasında zorlanmaktadır (20). Bu konuda yapılan bir çalışma; TTT uygulaması için daha fazla personel gerekliliği gibi görünmesine karşın, hemen TTT uygulaması sayesinde annelerin hastanede kaldıkları süre içinde daha az emzirme sorunu yaşadıklarını ve dolayısıyla da sağlık çalışanlarının iş yükünün azalacağını bildirmiştir (7).

Çalışmamızda taburculuğa kadar SAS alan bebeklerin oranı %97,1 olarak bulunmuştur. 2018 TNSA verilerine göre bebeklerin %42'sine anne sütünden önce başka gıdalar verilmiştir (10). Başka bir çalışmada bebeklerin %88,1'ine ilk olarak anne sütü verildiği ve taburcu olmadan önce SAS ile beslendiği belirlenmiştir (16). Çalışmamızdaki SAS alan bebeklerin oranı Türkiye ortalamasından yüksek olmasına rağmen geliştirilmesi gerekmektedir. Çünkü çalışmamızdaki bebeklerin tümü sağlıklı ve anne yanında olduğu için tamamının SAS alması beklenmektedir.

Çalışmamızda yenidoğanların büyük çoğunluğunun emzirildiği ve çok az bir kısmının (%2,9) anne sütünün yanında yapay beslenme ürünü kullandığı belirlenmiştir. Bu durumun sağlık tesislerinde formül mama kullanımını sınırlamak için yapılan eylemlerin olumlu bir sonucu olduğu ve hastanenin BDH olmasının bir gereğini yerine getirdiği şeklinde yorumlanabilir.

Çalışmamızda, yenidoğanların taburcu olana kadar SAS alamama durumlarının annenin ve bebeğin birçok tanımlayıcı özelliğinden etkilenmediği bulunmuştur. Çalışmalar yüksek eğitim düzeyinin SAS ile beslenme oranlarını artırdığını (21,22); sezaryen ile doğumun bebeği ilk anne sütüyle besleme ve SAS'ın sürdürülmesi konusunda olumsuz etkilediğini (7, 19, 23) göstermektedir. Çalışmamızdaki SAS alamayan bebeklerin durumunun; annelerin gebelikte emzirme eğitimi alma, emzirmede yaşadığı zorluklar, annenin sütünün yetersiz olduğunu düşünmesi gibi başka faktörlerden etkilenebileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda erken TTT'ye başlayan yenidoğanların SAS ile beslenme oranlarının arttığı, TTT uygulamasına geç başlayan yenidoğanların yapay beslenme sayısının daha fazla olduğu bulunmuştur. Çalışma bulgumuza benzer şekilde literatürdeki çalışmalar da TTT uygulamasının SAS ile beslenme oranlarını iyileştirdiğini göstermektedir (4, 20, 21, 24). Erken TTT'nin yenidoğanlarda 6 haftalık SAS ile beslenme oranı üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmada; göbek kordonu kleplendikten hemen sonra annenin

çıplak göğsüne yatırılan yenidoğanların, 45'er dakika radyant ısıtıcı altında tutulan kontrol grubu bebeklerine göre önemli ölçüde daha yüksek SAS alımı oranına sahip olduğu belirlenmiştir (25). Marin Gabriel ve ark.'nın (2010) yaptığı başka bir randomize kontrollü çalışma, erken TTT uygulayan annelerin taburculukta bebeklerini daha sık emzirdiğini göstermiştir (5). Buna karşın sezaryen sonrası TTT süresi ile emzirme sonuçları arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma; hemen TTT uygulaması ile hastaneden taburcu olurken SAS ile besleme oranlarının ilişkili olmadığını belirlemiştir (26).

Bebeklerin doğumdan sonraki bir saat içinde emzirmeye başlanması, bebeğe anne sütü dışında yiyecek ve içecek verilmemesi SAS ile beslenmeyi kolaylaştırmaktadır. Bu doğrultuda emzirmenin hastanede başlatılması, annenin bilgilendirilmesi, emzirmenin desteklenmesi ve emzirme başarısının değerlendirilmesinin oldukça önemli olduğu düşünülmektedir.

#### Sınırlılık

Çalışmamıza doğum sonrası yoğun bakım ihtiyacı olan bebekler dahil edilmemiştir, bu çalışmanın sınırlılığıdır. Çok düşük doğum ağırlıklı, hasta ve/veya erken doğmuş bebeklerin de dahil edildiği TTT ve SAS ile beslemeyi içeren randomize kontrollü çalışmaların yapılması önerilebilir.

#### Sonuç

Çalışmamız, bebek dostu hastane unvanı alan bir kurumda ten tene temas zamanı ortalamasının bir saate yakın olduğunu ve taburcu olana kadar sadece anne sütü alan bebek oranının oldukça yüksek olduğunu göstermiştir. Ülkemizde bebek dostu hastane unvanı alan hastanelerin sayılarının artması anne sütünün teşviki konusunda yararlı olabilir. Ayrıca, bebek dostu hastane olsun olmasın doğum sonrası erken ten tene temasın başlatılması ve tıbbi bir zorunluluk olmadığı sürece bebeklerin sadece anne sütü almalarının desteklenmesi doğum hizmeti veren tüm sağlık kuruluşlarının politikası olmalıdır.

Özellikle düşük doğum ağırlıklı bebeği olan annelerin emzirmeyi başlatma ve sürdürme uygulamalarında daha fazla desteğe ihtiyacı olduğu bilinmelidir. Annelerin emzirme ve anne sütü konusunda bilgi sahibi olmaları, özgüven kazanmaları amacıyla doğum öncesi hazırlık eğitimlerine yönlendirilmesinin oldukça önemli olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu eğitimlerin annelerin vajinal doğumu tercih etmeleri konusunda yararlı olacağı da akılda tutulmalıdır.

Hasta bakım ekibinin tümü erken TTT'nin anne-bebek açısından yararları konusunda her ne kadar eğitilmiş olsa da tüm doğumlar için TTT uygulamasını koordine etmek zordur. Bu nedenle TTT'nin uygulanması için güçlü bir ekip koordinasyonuna ve sürdürülebilir bir hastane politikasına ihtiyaç vardır. Sağlık profesyonellerine ameliyathanede, doğum salonlarında ve doğum sonrası bakım verilen ortamlarda TTT uygulamasının nasıl yönetileceği öğretilmelidir. Bebek dostu hastane girişimlerinin daha fazla uygulanması, özellikle hastanede sadece anne sütü verilmesi, anne sütü dışında herhangi besin verilmemesi konusunda katı bir hastane politikasının olması daha fazla annenin SAS almasına yardımcı olabilir.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

### Etik Kurul Onayı

Araştırmacının yürütülebilmesi için araştırmanın yapıldığı kurumdan ve Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan (Tarih: 27.04.2023, Sayı: 103) onay alınmıştır. Araştırma "Helsinki Deklarasyonu"na göre yapılmıştır.

### Bilgilendirilmiş Onam

Araştırma retrospektif olarak yapıldığı için bilgilendirilmiş onam beyanı bulunmamaktadır.

### Finansman

Bu araştırma, kamu, ticari veya kar amacı gütmeyen sektörlerdeki finansman kuruluşlarından herhangi bir finansal destek almamıştır.

### Verilerin Ulaşılabilirliği

Veriler, gizlilik veya diğer kısıtlamalar nedeniyle yalnızca yazarlardan talep edilebilir.

### Yazar Katkıları

HCE: Çalışmanın planlanması; Verilerin işlenmesi; Formal Analizler; Araştırma; Metodoloji; Validasyon; Görselleştirme; Makalenin Yazımı.

VK: Çalışmanın planlanması; Verilerin işlenmesi; Araştırma; Metodoloji; Validasyon; Görselleştirme; Makalenin düzenlenmesi.

TÇ: Çalışmanın planlanması; Formal Analizler; Araştırma; Metodoloji; Validasyon; Görselleştirme; Makalenin düzenlenmesi.

ZS: Çalışmanın planlanması; Araştırma; Validasyon; Makalenin düzenlenmesi.

BŞ: Araştırma; Validasyon; Makalenin düzenlenmesi.

FB: Araştırma; Validasyon; Makalenin düzenlenmesi.

DÖ: Araştırma; Validasyon; Makalenin düzenlenmesi.

EB: Araştırma; Validasyon; Makalenin düzenlenmesi.

SE: Çalışmanın planlanması; Verilerin işlenmesi; Formal Analizler; Araştırma; Metodoloji; Validasyon; Görselleştirme; Makalenin düzenlenmesi.

RY: Çalışmanın planlanması; Araştırma; Validasyon; Makalenin düzenlenmesi.

### Editöryal

Makalenin yazarlarından SE ve RY dergi editörleri olarak görev almakla birlikte bu makalenin yayım süreçlerinin hiç bir aşamasında görev almamıştır.

### Kaynaklar

- Moore ER, Bergman N, Anderson GC, Medley N. Early skin-to-skin contact for mothers and their healthy newborn infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;11(11):CD003519.
- Pulse WS, DiCiccio HC. Immediate and sustained skin-to-skin contact for healthy late preterm and term newborns after birth: AWHONN practice brief number 14. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.* 2021;50(6):e13-e15.
- Ramesh Shanthi, Sundari S. Effect of kangaroo mother care on the growth and morbidity pattern of low birth weight infants: a hospital based cross sectional study. *International Journal of Contemporary Pediatrics.* 2020; 7(4):728-32.
- Srivastava S, Gupta A, Bhatnagar A, Dutta S. Effect of very early skin to skin contact on success at breastfeeding and preventing early hypothermia in neonates. *Indian J Public Health.* 2014;58(1):22-6.
- Marín Gabriel MA, Llana Martín I, López Escobar A, Fernández Villalba E, Romero Blanco I, Touza Pol P. Randomized controlled trial of early skin-to-skin contact: effects on the mother and the newborn. *Acta Paediatrica.* 2010;99(11):1630-4.
- Phillips R. The sacred hour: Uninterrupted skin-to-skin contact immediately after birth. *Newborn Infant Nurs Rev.* 2013;13(2):67-72.
- Stevens J, Schmied V, Burns E, Dahlen H. Immediate or early skin-to-skin contact after a Caesarean section: a review of the literature. *Matern Child Nutr.* 2014;10(4):456-73.
- UNICEF. Baby-Friendly Hospital Initiative. Ten steps to successful breastfeeding, from UNICEF and the World Health Organization [Internet]. 2023 [Erişim Tarihi 25 Nisan 2023]. Erişim adresi: <https://www.unicef.org/documents/baby-friendly-hospital-initiative#:~:text=UNICEF%20and%20WHO%20launched%20the,new%20mothers%20and%20their%20infants>.
- Baby-Friendly USA. 10 Steps & International Code. [Internet]. 2018 [Erişim Tarihi 01 Mayıs 2023]. Erişim adresi: <https://www.babyfriendlyusa.org/for-facilities/practice-guidelines/10-steps-and-international-code/>
- Türkiye Nüfus Sağlık Araştırması (TNSA). [Internet]. 2018 [Erişim Tarihi 25 Nisan 2023]. Erişim adresi: [http://www.sck.gov.tr/wp-content/uploads/2020/08/TNSA2018\\_ana\\_Rapor.pdf](http://www.sck.gov.tr/wp-content/uploads/2020/08/TNSA2018_ana_Rapor.pdf)
- Bostancı G, İnal S. Bebek dostu özel bir hastanede doğum yapan annelerin, emzirmeye ilişkin bilgi depolamanın ve bebeklerini emzirme durumlarının değerlendirilmesi. *Sağlık Bilimleri ve Meslekleri Dergisi.* 2015;2(3):260-70.

12. UNICEF. Breastfeeding from the first hour of birth: What works and what hurts. [Internet]. 2018 [Erişim Tarihi 25 Nisan 2023]. Erişim adresi: <https://www.unicef.org/stories/breastfeeding-first-hour-birth-what-works-and-what-hurts>
13. Alenchery AJ, Thoppil J, Britto CD, de Onis JV, Fernandez L, Suman Rao PN. Barriers and enablers to skin-to-skin contact at birth in healthy neonates - a qualitative study. *BMC Pediatr*. 2018;18(1):48.
14. UNICEF global databases, 2022, based on MICS, DHS and other nationally representative sources. [Internet]. 2022 [Erişim Tarihi 09 Mayıs 2023]. Erişim adresi: <https://data.unicef.org/topic/nutrition/breastfeeding/#:~:text=Yet%20despite%20all%20the%20potential,age%20worldwide%20are%20exclusively%20breastfed>.
15. Esencan TY, Karabulut Ö, Yıldırım AD, Abbasoğlu DE, Külek H, Şimşek Ç, et al. Doğuma hazırlık eğitimi alan gebelerin doğum şekli, ilk emzirme zamanı ve ten tene temas tercihleri. *Florence Nightingale J Nurs*. 2018;26(1):31-43.
16. Özsoy S, Dündar T. Postpartum erken dönemde annelerin emzirme davranışları (postpartum erken dönemde emzirme). *Çocuk Dergisi- Journal of Child*. 2022;22(3):221-8.
17. Özgen D, Şahin, S. Düşük doğum ağırlıklı bebeklerin annelerinin karakteristik özellikleri. *Journal of Human Rhythm*. 2016;2(2):72-7.
18. Ekholuenetale M, Barrow A, Arora A. Skin-to-skin contact and breastfeeding practices in Nigeria: a study of socioeconomic inequalities. *Int Breastfeed J*. 2022;17(1):2.
19. Uğurer Y. Planlı sezaryenin doğum sonrası erken süt salınımı ve emzirme başarısına etkisi. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi. 2023.
20. Brady K, Bulpitt D, Chiarelli C. An interprofessional quality improvement project to implement maternal/infant skin-to-skin contact during cesarean delivery. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*. 2014;43(4):488-96.
21. Giang HTN, Duy DTT, Vuong NL, Ngoc NTT, Pham TT, Tuan LQ, et al. Prevalence of early skin-to-skin contact and its impact on exclusive breastfeeding during the maternity hospitalization. *BMC Pediatr*. 2022;22(1):395.
22. Kök H, Senol E, Keskindemirci G, Selver MB, Gokcay EG. Bir çocuk sağlığı izlem polikliniğinde 4. ve 6. ay sadece anne sütü ile beslenme oranları ve anne eğitim düzeyi-ön çalışma sonuçları. *Çocuk Dergisi- Journal of Child*. 2020;20(2):43-7.
23. Guala A, Boscardini L, Visentin R, Angellotti P, Grugni L, Barbaglia M, et al. Skin-to-skin contact in cesarean birth and duration of breastfeeding: a cohort study. *Scientific World Journal*. 2017;2017:1940756.
24. Vila-Candel R, Duke K, Soriano-Vidal FJ, Castro-Sánchez E. Affect of early skin-to-skin mother-infant contact in the maintenance of exclusive breastfeeding: experience in a health department in Spain. *J Hum Lact*. 2018;34(2):304-12.
25. Sharma A. Efficacy of early skin-to-skin contact on the rate of exclusive breastfeeding in term neonates: a randomized controlled trial. *Afr Health Sci*. 2016;16(3):790-7.
26. Juan J, Zhang X, Wang X, Liu J, Cao Y, Tan L, et al. Association between skin-to-skin contact duration after cesarean section and breastfeeding outcomes. *Children (Basel)*. 2022;9(11):1742.

# SPOR HEKİMLİĞİ BAKIŞ AÇISIYLA HAREKET ANALİZİ SİSTEMLERİ VE BİYOMEKANİK

## MOTION ANALYSIS SYSTEMS AND BIOMECHANICS FROM THE PERSPECTIVE OF SPORTS MEDICINE

Görkem KIYAK<sup>1</sup>, Sabriye ERCAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Spor Hekimliği Ana Bilim Dalı, Isparta, TÜRKİYE

**Cite this article as:** Kıyak G, Ercan S. Spor Hekimliği Bakış Açısıyla Hareket Analizi Sistemleri ve Biyomekanik. Med J SDU 2023; 30(2): 263-275.

### Öz

Biyomekanik ve hareket analizi konuları, spor hekimleri tarafından günden güne önemi artan alanlardır. Hareket analizi sistemleri, farklı hareket paternleri sonucunda biyolojik dokunun etkilenimini incelemekte ve bu etkilenimi verilere dökmektedir. Bu veriler ışığında klinisyen, yaralanma öncesinde ve sonrasında yaralanmanın önlenmesi, tedavisi veya rehabilitasyonu konularında daha efektif yöntemlere başvurabilmektedir.

Profesyonel sporcular ve rekreasyonel düzeyde sporla ilgilenen bireyler, sıklıkla fırlatma ve koşma eylemlerini içeren aktivitelere katılmaktadır. Fırlatma eylemi toplamda 4 fazdan oluşmakta ve bu eylem sırasındaki teknik hataların düzeltilmesi özellikle üst ekstremité yaralanmalarının önlenmesinde ve tedavisinde çok büyük önem arz etmektedir. Koşma eylemi ise 5 fazdan oluşmakta ve biyomekanik olarak incelenmesi alt ekstremité yaralanmalarının önlenmesinde ve tedavisinde önemlidir. Bu derlemenin amacı, spor hekimliği pratiğinde sık kullanılan hareket analizi sistemlerinin, üst ekstremité ve alt ekstremité biyomekaniklerinin güncel bilgiler ışığında okuyucuya sunulmasıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Biyomekanik, Hareket, Spor.

### Abstract

Biomechanics and motion analysis are among the fields that are gaining importance day by day by sports physicians. Motion analysis systems examine the effects of biological tissue as a result of different motion patterns and put this effect into data. In the light of these data, the clinician can resort to more effective methods in the prevention, treatment or rehabilitation of injury before and after injury.

Professional athletes and individuals interested in recreational sports often participate in activities that involve throwing and running. The throwing action consists of 4 phases and the correction of technical errors during this action is of great importance, especially in the prevention and treatment of upper extremity injuries. The act of running consists of 5 phases and its biomechanical examination is important in the prevention and treatment of lower extremity injuries. The aim of this review is to present the motion analysis systems, upper extremity and lower extremity biomechanics, which are frequently used in sports medicine practice, to the reader in the light of current information.

**Keywords:** Biomechanics, Motion, Sport.

**Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address:** G.K. / gorkemkiyak0@gmail.com  
**Müracaat tarihi/Application Date:** 27.01.2023 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 12.03.2023  
**ORCID IDs of the authors:** G.K: 0000-0003-4780-8480; S.E: 0000-0001-9500-698X

## Giriş

Biyomekanik, 1970'lerin başlarından itibaren canlı yapılar da hareketi inceleyen bir bilim dalı olarak kabul edilmektedir (1). Spor hekimliği bakış açısından incelendiğinde ise biyomekanik, özellikle spor yaralanmalarının önlenmesinde ve sporcu performans/tekniklerinin iyileştirilmesinde günden güne önemi artan bir inceleme yöntemi olmaktadır (2).

Biyomekanik bilimi ile ilgilenen tüm disiplinler için önemi her geçen gün artan bir diğer konu hareket analizidir. Hareket analizi, geçmişten günümüze geliştirilmiş ve geliştirilmeye devam eden bir kavramdır. Kas-iskelet sistemi yaralanmaları üzerine çalışan klinisyenler hareket analizi sistemleriyle farklı hareketlerle dokuların üzerine binen yükleri, bu etkiye karşı dokunun verdiği tepkiyi, bu sistemlerden elde edilen verilerle elde etmektedirler (3).

Bu derlemede; spor hekimliği bakış açısı ile hareket analizi sistemleri, üst ekstremitelerde biyomekanikleri ve alt ekstremitelerde biyomekanikleri incelenecektir.

### Spor Hekimliği Bakış Açısıyla Hareket Analizi

Hareket analizinin temelde iki amacı bulunmaktadır. Bunlar; 1) normal hareket paternlerini insanlar arasında farklı varyasyonlardan bağımsız olarak nicel verilerle ifade etmek ve 2) anormal hareket paternlerini nedenleri veya işlevsel uyumları ile ilişkilendirmektir (4). Bu temel amaçlar doğrultusunda kas-iskelet yaralanmalarının biyomekanik risk faktörlerini önceden saptayarak yaralanmaları önlemek, yaralanma sonrası rehabilitasyonun bilimsel zemin altında yararlılığını artırmak ve sporcunun teknik gelişimi sonrası performansını artırmak hareket analizinin yan amaçları olarak sayılabilmektedir (4).

Spor hekimliği pratiğinde, temel olarak incelenen hareket paterni sportif aktivitedir. Doğru teknikte, tekrarlayan sportif aktivitenin kusursuz bir biçimde yapılması sportif performans için olmazsa olmazdır. Ancak sportif aktivitenin yanlış teknikte yapılması spor yaralanmaları için risk faktörü oluşturmaktadır (5). Bu noktada hareket analizi sistemleri klinisyenlerin normal/anormal sportif aktivitenin nicel olarak incelemesine katkıda bulunmaktadır. Sportif aktivitenin nicel verilerle ifadesi, normal/anormal hareketin tanımlanabilmesi, teknik hataların fark edilmesi, tüm bunlar sonucunda elde edilen sportif performansın analiz edilebilmesi ve yaralanmalar hakkında fikir verebilmesi hareket analizinin spor hekimliği alanındaki temel faydaları olarak sayılabilir (6).

Sportif aktivite sırasındaki anormal hareket birçok farklı nedene bağlı olabilir. Anatomik veya postüral

farklılıklar, teknik beceri eksikliği, spor sırasında yanlış ekipman seçimi gibi faktörler anormal harekete neden olan durumlar arasında sayılabilir (4). Hareket analizi sonucunda saptanan biyomekanik anormalliklerin sebebinin ortaya konulması ve bu sebebin ortadan kaldırılması spor yaralanmalarından korunma yöntemlerinden biridir (4).

Hareket analizi çalışmaları spor hekimliği pratiğine birçok bilgi sağlamıştır. Yanlış tekniğin yaralanmalar ile ilişkisinin ortaya konması (6), diz eklemine kalça ve ayak bileği eklemleriyle beraber oluşturduğu kinetik zincir nedeniyle diz eklem yaralanmalarında dizin bu eklemlerle beraber değerlendirilmesi gerekliliği (7), ön çapraz bağ yaralanmasında kadınların erkeklere göre riskinin fazla olması örneğinde olduğu gibi biyomekanik normallerin cinsiyet, yaş, etnik köken gibi birçok faktöre göre değişebildiği (7) gibi birçok farklı bilgi literatürümüze ve klinik pratiğimize hareket analizi çalışmaları sonucunda kazandırılmıştır.

### Hareket Analizi

Hareket analizi temelde iki ana başlık altında incelenmektedir: 1) statik ve 2) dinamik hareket analizi. Ayrıca hareket analizi yardımcı cihazların kullanımına bağlı olarak ekipmanlı ve ekipmansız hareket analizi olarak da sınıflandırılabilir.

#### 1) Statik Hareket Analizi

Statik analizde ekleme etki eden kuvvetler ve bu kuvvetlere dokuların vermiş olduğu tepki kuvvetleri incelenmektedir (3). Bu etki-tepki kuvveti bilindiği üzere Newton'un üçüncü hareket kanununa dayanmaktadır. Bu kanuna göre bir cisme (ekleme) kuvvet uygulandığında bu cisim uygulanan kuvvete eşit büyüklükte ancak zıt yönde bir tepki kuvveti oluşturmaktadır (3). Bu yasa biyomekanik olarak incelendiğinde, insan vücudunun canlı bir yapı olduğu unutulmamalıdır. Farklı dokuların etkiye verdiği tepki eşit olsa da dokuların yapılarından kaynaklı olarak etkinin farklı dokulardaki sonuçları farklı olabilir. Aynı kuvvet sonucunda vücuttaki bir doku etkilenmezken diğer bir doku yaralanabilmektedir (3).

Zemin reaksiyon kuvveti, etki-tepki yasası sonucu zeminin sportif aktivite sırasında insan vücuduna uygulamış olduğu tepki kuvvetidir. Bu kuvvet yaralanmaya sebebiyet veren bir faktör olarak karşımıza çıkabilmektedir. Ayrıca özellikle alt ekstremitelerde yaralanmaları sonucunda bireylere önerilen su içi egzersizler de zemin reaksiyon kuvvetini elimine etmekte, mevcut yaralanmanın tedavisinde kullanılabilir (8).

#### 2) Dinamik Hareket Analizi

Sportif aktivite, yapısı gereği dinamik hareket patern-

leri gerektirmektedir. Birçok eklem aynı anda hareketiyle yapılan sporun, performans ve teknik istekleri sporcu tarafından yerine getirilmektedir. Yürüme, koşma, sıçrama, fırlatma gibi temel hareketlerin yanında bunların bileşmelerini de birçok farklı spor dalında farklı hareket paternleri olarak görmekteyiz. Bu nedenle dinamik hareket analizi sistemleri spor biyomekaniği araştırmalarında çok büyük önem gerektiren bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır ve spor biyomekaniği ve hareket analizi araştırmalarında genellikle dinamik analizler kullanılmaktadır (3).

Sportif aktivitenin dinamik ve üç boyutlu yapısı dinamik hareket analizi sistemlerinin oluşturulmasında temel zorluk olarak göze çarpmaktadır. Her eklem farklı yapıda olması, her eklem ve uzvun kütle merkezinin farklılığı ve bu farklılığın sportif aktiviteler sırasında değişmesi, sporcular arasındaki anatomik ve postüral farklılıklar, hareketin üç boyutlu yapısından kaynaklı olarak farklı açılardan değerlendirilme gerekliliği gibi birçok faktör dinamik hareket analizi sistemlerinin zorlukları olarak sayılabilir. Geçmişten günümüze dinamik hareket analizi sistemleri bu ve bunlar dışındaki birçok faktörün üstesinden gelerek veya gelmeye çalışarak gelişmiş ve hâlâ gelişmeye devam etmektedir (9).

Bu gelişim süreci boyunca birçok ekipman dinamik hareket analizi için geliştirilmiştir. Dinamik hareket analizi pahalı ve ulaşımı zor ekipmanlarla yapılabileceği gibi fizik muayene ile de yapılabilir ki, buna ekipmansız dinamik hareket analizi denmektedir. Her klinisyen kendi deneyimleriyle fizik muayene sonucunda hareket analizi yapabilir. Biyomekanik değerlendirme sırasında inspeksiyon, eklem hareket açıklığı değerlendirmesi, antropometrik ölçüm yapılması, eklem spora özgü hareketi sırasında inspeksiyonu, eklem özgü fonksiyonel testlerin uygulanması (denge, sıçrama vb.) gibi birçok muayene yöntemi uygulanabilir (2).

Cep telefonu kamerası gibi basit, günlük olarak kullanılan bir ekipman da dinamik hareket analizi sırasında kullanılabilir. Sporcunun yürüyüşü, koşuşu veya spora özgü hareketleri video kaydı ile kayıt altına alınarak tekrar tekrar izlenerek değerlendirilebilmektedir (10). Ancak daha önce de bahsettiğimiz gibi sportif aktivitenin üç boyutlu yapısı nedeniyle bu basit bir ekipman olarak kalmakta ve birçok kısıtlılığı bulunmaktadır. Ancak bu kısıtlılıklara rağmen özellikle yürüyüş analizi sırasındaki bu basit hareket analizinin klinisyene birçok konuda yardımcı olabileceğini göz ardı etmemek gerekmektedir.

### **Ekipmanlı Dinamik Hareket Analizi Sistemleri**

Sportif aktivitenin dinamik ve üç boyutlu yapısı gereği

hareket analizi sistemleri farklı ekipmanların kullanımı ile gelişmiş ve gelişime açık bir konudur. Özellikle gözlemlenemeyen biyomekanik verilerin nicel olarak veri setine dönüşmesi ekipman gerektirmektedir (4). Hareket analizi sistemlerinde birçok ekipman bu nedenle günümüzde kullanılmaktadır. Kameralar, kameradan elde edilen videoların incelenmesi için geliştirilmiş yazılımlar, kuvvet veya basınç platformları, elektromiyografi cihazları, izokinetik dinamometre, jiroskop gibi birçok farklı ekipman örnek olarak gösterilebilir (4).

Şu anki bilgimizle en değerli biyomekanik analiz yöntemleri olarak gösterilebilecek ekipmanlı sistemlerin bu değerlerine rağmen birçok kısıtlılığı bulunmaktadır. Video kameralı sistemlerde birçok protokole sporcu hareketi 3-6 kez tekrarlamaktadır (11, 12). Çekimler sonucu elde edilen veriler referans değerler ile karşılaştırılmaktadır (13). Çekimler sırasında kayıt, ortam ışığı gibi birçok faktörden etkilenmektedir (13). Bunlar gibi birçok kısıtlılık ekipmanlı dinamik hareket analizi sistemlerinin gelişime ne kadar açık bir alan olduğunu göstermektedir.

Video kayıt sistemleri ile üç boyutlu hareket yakalama sistemleri kısıtlılıklarına rağmen günümüzde sık kullanılan bir yöntemdir (14). Kameraların niteliği ve niceliği arttıkça yapılan analizdeki hata oranları azalmaktadır (4). Video kamera ile hareket analizi yöntemlerinin diğer sistemlere kıyasla daha ucuz, ulaşılabilir ve uygulanması kolay olması nedeniyle kullanımı diğer ekipmanlı sistemlere göre yaygındır (15).

Ekipmanlı hareket analizi sistemlerinin pahalı ve zor ulaşılabilir yapısı nedeniyle birçok farklı pratik yöntem geliştirilmekte ve geliştirilmeye devam edilmektedir. Ön çapraz bağ yaralanması spor hekimliği pratiğinde çok sık karşılaşılan bir yaralanma olup profesyonel veya rekreasyonel sporcunun yaşam kalitesini ve performansını düşüren bir yaralanma olarak göze çarpmaktadır (16). Hareket analizi sistemleriyle bu yaralanma olmadan tespiti yaralanma riski taşıyan sporcu için maddi ve manevi olarak birçok kazanımı olan bir durumdur. Spor hekimlerince yürütülmüş, Türkçeye uyarlanmış ve geliştirilmesine devam edilen iki adet çalışmada bu yaralanmaya risk oluşturan kesme ve sıçrama hareketleri incelenmiştir (11, 12) (Resim 1). Bu çalışmalar ekipman kolaylığı ile özel bir merkez gerekmeden yapılabilecek hareket analizlerine örnek teşkil etmektedir.

Video kayıt sistemleri temelinde geliştirilen çevrimiçi hareket analizi sistemleri sportif aktivite analiz çalışmaları için günümüzde temel araçtır (17). Bu sistemlerle sporcunun uzaysal konumu ve hareketi analiz



a



b

### Resim 1

Kesme (1a) ve sıçrama (1b) hareketleri üzerine yapılan biyomekanik analizlerden örnek görüntüler

edilmekte ve veriler nicel olarak elde edilmektedir (17). İşaretçi kullanımı bu sistemlerin analizinde temel yardımcı olmakta ve analiz sırasında kullanılan işaretçi sayısının artışıyla analiz kalitesi artmaktadır (17). Teknolojik gelişmelerin bu sistemleri çok daha ileriye götüreceği göz önüne alındığında bu sistemlerin gelecekte çok daha kalite sonuçlar verecek sistemlere dönüşeceği ön görülmektedir (17).

Kuvvet veya basınç ölçen platformlar bir diğer ekipmanlı hareket analizi yöntemidir. Bu yöntemler temelde Newton'un üçüncü hareket kanununu araştırmaktadır (15). Bu ekipmanlarla sporcunun zeminle ve diğer yüzeylerle arasındaki kuvvet ve basınç nicel olarak ölçülmektedir (15). Zemin tepki kuvvetinin ve diğer yüzeylerin tepki kuvvetlerinin spor yaralanması ve performans üzerine etkileri bu platformlarla beraber klinisyen tarafından incelenmektedir.

Elektromiyografi, dinamik hareket analizinde kullanılan bir diğer yöntemdir. Kas aktivasyonunun elektriksel potansiyel değişimlerini kaydeden elektromiyografi cihazı farklı hareket paternlerinde kas aktivasyonu ve bu paternlerde sporcunun performans artışı konusunda sık kullanılan ekipmanlı bir hareket analizi sistemidir (18). Elektromiyografik inceleme ile sportif aktivite sırasında hangi hareketin hangi aşamasında hangi kas lifinin aktif olduğu anlaşılabilir (4).

Spor hekimliği pratiğinde sık kullandığımız bir diğer cihaz ise izokinetik dinamometredir. İzokinetik dinamometre, hareket sırasındaki kasın kuvvet ve fonksi-

yonunu ölçebilen, üzerindeki dinamometre sayesinde sabit açısal hızda kas kasılmasının izokinetik olarak sağlanabildiği hem test hem de bir egzersiz cihazıdır (15). Kasa maksimum yüklenme olanağı sağlamasına rağmen sabit açısal hızlarda harekete izin verdiği için güvenilir bir cihaz olan izokinetik dinamometre, hareket sırasında ölçülen kas kuvvetini bilgisayar yardımı ile nicel olarak klinisyene vermektedir (15).

Video kamera ve/veya bilgisayar bağımlı birçok ekipmanlı hareket analiz sistemi dışında kullanımı daha basit olan ivme ölçer, jiroskop gibi ekipmanlar da klinisyene hareket analizi sırasında yardımcı olabilmektedir (4). Daha az maliyetli ve daha çok ulaşılabilir olan bu ekipmanlar da kullanımı ile ekipmanlı dinamik hareket analizi sistemleri olarak spor biyomekaniği alanında kullanılmaktadır.

### Sporcularda Üst Ekstremitte Biyomekaniği

Sporcularda üst ekstremitte biyomekaniği konusu, fırlatma eylemini içeren tüm spor dallarında sporcuların ve sporcu sağlığı ve/veya performansı üzerine çalışan diğer paydaşların birincil önceliklerinden biri olmuştur. Beyzbol sporundaki atıcının topu atma eylemi, cirit sporcusunun cirit atma eylemi, voleybolda smaç ve servis eylemleri, tenisteki servis eylemi, Amerikan futbolunda oyun kurucunun pas atma eylemi ve futbolda kalecinin topu eli ile uzun mesafelere atma eylemi gibi farklı spor disiplinlerine ve spor disiplinindeki farklı mevkilere özgü fırlatma eylemlerine örnek verilebilir ve bu örnekler çoğaltılabilir.



### Fırlatma Eyleminde Kinetik Zincir

Fırlatma sırasında; sırasıyla bacaklar ve kalçalar, gövde, omuz, dirsek ve el eklemlerinde kinetik zincir ilerlemekte ve nesnenin fırlatılması sırasındaki güç aktarımı bu şekilde sağlanmaktadır. Fırlatma eylemi bacak kasları ve kalça rotasyonu ile başlatılan, gövdenin ve omuz rotasyonu ile devam eden bir tüm vücut aktivitesidir (19). Tüm vücuttan ve sonrasında omuz ekleminde gelen bu momentum, ekstansiyondaki dirsek ve ön kol aracılığı ile elin küçük kaslarına transfer edilir ve kırbaç tarzındaki bu hareket sonucunda ileri itici kuvvet fırlatılacak nesneye aktarılır (19). Bu aktarım sırasında; sırt, gövde ve kalçalar kinetik zincirde bir dönme merkezi olarak işlev görerek bacaklardan omuza kuvvet aktarımını sağlamaktadır (19).

Kinetik zincirdeki herhangi bir ögenin yetersizliği fırlatma eylemi sırasında omuz ağrısı veya instabilitesi gibi semptomlara neden olabilmektedir. Bir fırlatma sporcusunun omuz ağrısı şikayetinin nedeni araştırılırken gastroknemius/soleus (kalf) kas güçsüzlüğü, skapular koordinasyon eksikliği, kalça/bacak bölgesi kaslarında esneklik eksikliği veya gövde rotasyonunda hareket kısıtlılığı gibi kinetik zincirin diğer ögelerinin de kapsamlı değerlendirilmesi klinisyenlerin omuz ağrısı nedenini ortaya koymasında ve tedavi etmesinde yardımcı olacaktır.

### Fırlatma Eylemi ve Fazları

Fırlatma eylemi toplamda 4 faza ayrılabilir: 1) Hazırlanma/Yükselme, 2) Kurma, 3) İvmelenme ve 4) Yavaşlama/Tamamlama (2) (Resim 2).



**Resim 2**

2a hazırlanma/yükselme,  
2b kurma,  
2c ivmelenme,  
2d yavaşlama/tamamlama

**1-Hazırlanma/Yükselme Fazı:** Hazırlanma/yükselme fazında fırlatmanın ritmi belirlenir ve vücut rotasyonu gerçekleşir (2). Bu rotasyon sonucunda kalçalar ve omuzlar nesnenin fırlatılacağı hedef bölgeye göre 90°'de olur (2).

**2-Kurma Fazı:** Kurma fazı, tüm vücut bölümlerinin nesnenin atılma işine katkıda bulunmak için konumlandığı evredir (2). Bu evrede, yükselme fazı sırasında pasif olan omuz ekleminin aktive olduğu ve tam horizontal ekstansiyon ve sonrasında maksimal dış rotasyonla beraber abdüksiyona gittiği gözlemlenmektedir (2). Omzun maksimal dış rotasyonu sırasında omuz aşırı yüklenmekte ve ön kapsül endişe pozisyonunu almaktadır, aynı zamanda omuz iç rotator kasları maksimal esnemektedir ve omuz ekleminin önündeki kuvvetler 350 Newton seviyesi ve fazlasına çıkarak maksimum seviyeleri görmektedir (2). Bu kadar yüksek kuvvetlerde eksternal rotasyonun omuz instabilitesine neden olan primer biyomekanik faktörlerden en önemlisi olduğu bilinmektedir (20). Omuz patolojileri fırlatmanın herhangi bir fazında olabilir ancak glenohumeral eklemin maksimum abdüksiyon ve eksternal rotasyonu nedeniyle kurma ve kurma evresinden sonraki ivmelenme evreleri klinisyenler tarafından daha fazla suçlanmakta ve yaralanmaların önlenmesi açısından daha fazla incelenmektedir (20).

Kurma fazının sonuna doğru anterior inferior glenohumeral ligament ve omuz kapsülünün anterior inferioru olmak üzere statik anterior omuz stabilizatörleri en yüksek kuvvetler ile karşı karşıya gelirler (2). Tekrarlanan baş üstü fırlatma eylemi sonucunda da bu yapılar gevşeyerek instabiliteye neden olurlar (21). Kurma fazı, ön bacağın yere temasıyla sona ermektedir. Yükselme ve kurma fazlarının toplam süresi, tüm fırlatma eylemi süresinin %80'ini oluşturmaktadır (2).

**3-İvmelenme Fazı:** İvmelenme fazı, sporcunun nesneye vermekte olduğu patlayıcı kuvveti nesneye aktardığı evredir. Bu patlayıcı kuvvet iki kuvvetin çok hızlı bir şekilde açığa çıkmasından oluşur ki bu evre tüm fırlatma eylemi süresinin yalnızca %2'sini oluşturmaktadır. Bu kuvvetlerden biri kapsül fibröz dokusunda depolanan elastik kuvvet iken diğeri ise klinisyenlerce çok daha fazla öneme sahip olan subskapularis, teres majör, latissimus dorsi ve pektoralis majör kaslarınca üretilen kurma fazındaki maksimum eksternal rotasyon sonrasında üretilen güçlü iç rotasyon kuvvetidir. Bu güçlü iç rotasyon kuvveti glenohumeral eklemden yüksek şiddette kuvvetler üretilmesine ve bu kuvvetler sonucunda humerus başının glenoidde tutulması için rotator manşet grubu kaslarına ciddi stabilizatör görevler düşmesine neden olmaktadır (22).

İlk ve ani omuz ivmelenmesinden sonraki ikincil ivmelenmede göğüs duvarının ön grup kasları görevlidir. Kurma fazının sonlarındaki ve ivmelenme fazındaki rotator manşet kas yorgunluğu, hareket koordinasyonu kaybına ve ön omuz duvar desteğinde azalmaya neden olabilir (23). İvmelenme fazında, ani omuz iç rotasyonu sonucunda dirsek eklemi üzerine de önemli derece valgus kuvveti binmektedir. Bu ani kuvvet sonucunda da özellikle dirsek medial kollateral bağ akut veya aşırı kullanım yaralanmaları görülebilmektedir (24).

**4) Yavaşlama/Tamamlama Fazı:** Yavaşlama/tamamlama fazı, nesnenin fırlatılmasından ziyade vücudun daha önceki fazlarda karşılaştıkları kuvvetlere karşı gelme evresi olarak nitelendirilebilir. Nesnenin serbest bırakılmasını takiben glenohumeral eklemden yüksek şiddetli ön çekme kuvvetleri gerçekleşir (2). Bu durum omuz posterior yapılarına aşırı yük binmesine sebep olmaktadır. Bu yük sonucunda internal ve eksternal omuz kasları yüksek düzeyde kuvvetler üreterek humerusu glenoid içinde tutmaya çalışırlar (2). Rotator manşet dış rotator kaslar, skapular stabilizatör kaslar ve arka deltoidin beraber eksenrik kuvvet üretmesi ile omzun bu hareketi kısıtlanır (2). Eğer sporcu atış tekniğini doğru yapmışsa bu kaslara omurga kasları da yardımcı olmakta ve iş yüklerini azaltmaktadır. Bu örnekte de görebileceğimiz gibi yanlış teknik birçok spor yaralanmasında risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır (25). Yavaşlama/tamamlama fazında, omuz yüksek streslerinin dışında dirsek ekstansiyonunun yavaşlatılmasını sağlayan dirsek fleksör kaslarında da stres oluşmaktadır. Bu faz, tüm fırlatma süresinin yaklaşık %18'ini oluşturmaktadır.

#### **Skapulanın Üst Ekstremitte Biyomekaniğindeki Rolü**

Fırlatma biyomekaniği sırasında ayrıca incelenmesi gereken ve belki de biyomekanik önemi en fazla olan kemik skapuladır. Skapulanın koordinasyonu fırlatma biyomekaniği için çok önemlidir. Ben Kibler tarafından 1998 yılında skapulanın fırlatma sırasındaki görevleri tanımlanmış ve bu görevler Tablo 1'de özetlenmiştir (26).

#### **Anormal Skapula Biyomekaniği**

Anormal skapula biyomekaniği, omuz işlevlerinin bozulmasına neden olmaktadır (27). İncelemeyle gözlemlenebilen anormal skapula biyomekanikleri skapulotorasik diskinezi şeklinde isimlendirilmektedir. Fırlatma eylemi sırasında skapulotorasik diskinezi yanlış hareket paternlerine ve dolayısıyla da omuz ve dirsek patolojilerine yol açmaktadır (27).

Tablo 1'de skapulanın retraksiyonu ve protraksiyonu-

Tablo 1 Skapulanın omuz biyomekaniği sırasındaki görevleri

| Skapulanın Görevi                                 | Açıklaması   |
|---|--|
| Humerus için stabil bir soket sağlar.             | Glenoid, top-soket tipinde bir eklem olan glenohumeral eklem sockets kısmıdır. Fırlatma eylemi sırasında humerus hareketi boyunca skapula dönerek glenohumeral eklem stabilizasyonunda görev alır. |
| Toraks duvarı boyunca retrakte ve protrakte olur. | Skapula fırlatma eyleminin kurma fazında retrakte olurken ivmelenme eylemi ve sonrasındaki yavaşlama eylemi sırasında kuvvetlerin bir kısmını dağıtmak amacıyla protrakte olur.                    |
| Akromiyonun elevasyonu için rotasyon yapar.       | Fırlatma eylemi sırasında humerus- omurga abduksiyonunun 85°-100° arasında olması gerekir. Bu eylem sırasında akromiyonun rotator manşetten kurtulması için skapula yukarı rotasyon yapar.         |
| Kasların yapışacağı alan sağlar.                  | Stabilizatör kaslar, skapulanın medial, superior ve inferioruna; ekstrinsik kaslar (deltoid, biceps ve triceps) skapulanın laterale tutunurlar.  |
| Kinetik zincir için anahtar bağlantı rolündedir.  | Skapula, alt ekstremiteden ve gövdeden gelen büyük kuvvetlerin üst ekstremiteye aktarılmasını sağlar.  |

nun biyomekanik öneminden bahsedilmiştir. Skapulo-toraksik diskinezi durumunda skapular retraksiyonun kısıtlanması fırlatma eyleminin kurma fazında instabiliteye neden olmakta ve ivmelenme fazına geçişi engellemektedir (2). Skapula protraksiyonunun kısıtlandığı durumda ise omuzdaki yavaşlama kuvvetleri artarak ivmelenme fazında omuz hareket ederken glenohumeral eklemdeki biyomekanik denge bozulmaktadır (2). Protraksiyonun arttığı durumda ise skapulanın antero-inferior rotasyonu sırasında sıkışma meydana gelmektedir (2).

Fırlatma eylemi sırasındaki retraksiyon ve protraksiyon dengesinin kaybı glenohumeral eklem anterioruna binen yükü artırmaktadır. Bu eklemdeki anterior kemik desteğinin az olmasından kaynaklı olarak, anterior stabilizatörler (glenohumeral ligamentler ve labrum) üzerine fazla yük binmekte ve dolayısıyla omuz eklem anterior instabilitesine zemin hazırlanmaktadır.

Skapular elevasyon, akromiyonun elevasyonunda rol almaktadır. Akromiyonun elevasyonunun kısıtlanması durumunda, fırlatmanın kurma ve tamamlama fazlarında sıkışma oluşmaktadır. Alt trapez ve serratus anterior kaslarının (akromiyon elevatör kas çifti) inhibisyonu ile beraber akromiyonun elevasyon kısıtlılığı artar ve bu inhibisyon sıkışma ile sonuçlanmaktadır (28).

Skapular instabilite, origoları bu kemik üzerinde olan kasların instabilitesi ve dolayısıyla bu kasların kuvvet oluşturamaması durumuyla sonuçlanır. Bu instabilite genellikle skapular spinal aksesuar sinir felcinde görülmektedir (29). Böylece origoları skapulada olan kasların kasılma doğrultusu inseriyonun origoya doğru olacak şekilde yer değiştirir, kasların stabil humerustan kasılmasıyla skapula laterale çekilir (29). Aynı şekilde, skapulanın fırlatma eylemi kinetik zincirindeki köprü görevi kaybolur. Alt ekstremiteden üst ekstremiteye kuvvet aktarımı engellenir. İtme eylemi sırasındaki bu kuvvet kaybı nedeniyle kinetik zincirin distal komponentleri kuvvet üretmek amacıyla daha fazla çalışmak durumunda kalır. Fazla çalışma durumuna rağmen üst ekstremitede kas gruplarının yetersiz boyutta ve kesitsel kas alanına sahip olmasından dolayı kuvvet üretimi kısıtlı kalır. Bu distal adaptasyon sonucunda da üst ekstremitede aşırı yüklenme yaralanmaları kaçınılmaz hale gelir. Bu örnekte de anlaşılacağı üzere, alt ekstremiteye ait yaralanmalar fırlatma sporcusunun performansını azaltırken üst ekstremitede yaralanma riskini de artırmaktadır (2).

### Fırlatma Sporcusunda Dominant Ekstremitedeki Adaptasyonlar

Düzenli aralıklarla yapılan ve tekrarlayan fırlatma eylemi, özellikle sporcunun omuz ve dirsek eklemlerindeki kemik yapıda, yumuşak dokuda ve dolayısıyla

kas kuvvetinde ve esneklikte adaptasyonlara neden olmaktadır (30).

Düzenli fırlatma eylemi gerçekleştiren sporcuda omuz eksternal rotasyon eklem hareket açıklığı kronik süreçte artar (31). Kurma fazında anterior kapsülün ve anterior stabilizatörlerin (inferior glenohumeral ligamentler) gerilmesi ve instabilitesi nedeniyle eklem hareket açıklığı değişimi gerçekleşmektedir. Bu fonksiyon kaybı ve instabilite, fırlatma eylemi biyomekaniğini bozarak omuzun anterior instabilitesine ve sıkışma sendromlarına yol açabilir (2).

Tekrarlayıcı fırlatma eylemi sporcuda omuz eksternal rotasyon ve internal rotasyon kuvvet dengesini bozmaktadır (32). İzokinetik dinamometre ile yapılan ölçümler sonucunda araştırmacılar, konsantrik/konsantrik modda iç rotator/dış rotator kas kuvvet oranını normal değerini 3/2 olarak saptamışlardır (32). Ancak fırlatma sporcusunda bu oran aşırı derecede artmakta ve kas dengesinde yaşanan değişim sonucunda omuz yaralanmalarına zemin hazırlamaktadır (32). İç rotator/dış rotator kas kuvvet oranı dengesizliğinin engellenmesi/düzenlenmesi ve koruyucu hekimlik yaklaşımı açısından yapılandırılmış egzersiz programlarının önemi göz ardı edilmemelidir (32). Ayrıca fonksiyonel yavaşlama oranı (functional deceleration ratio-FDR) olarak da adlandırılan konsantrik/eksantrik modda ölçülen iç rotator/dış rotator kas oranı spor yaralanmalarının önlenmesinde kullanılabilecek bir diğer uygulamadır (35).

Tekrarlayıcı fırlatma, dirsekte de valgus stresine bağlı olarak medial stabilizatörlerin (medial kollateral ligament, eklem kapsülü ve fleksör kaslar) bozulmasına neden olup sporcuda taşıma açısının artmasına sebebiyet vermektedir (33). Valgus stres sonuçlarına göre daha az sıklıkla olmakla beraber, fırlatma eylemi sırasındaki aşırı eksantrik yüklenme dirsekte ön kapsül yaralanmalarına, posterior sıkışmaya, ön kol fleksör kas yaralanmalarına neden olabilmektedir (34).

### Fırlatma Sporcusunda Sık Görülen Biyomekanik Teknik Hatalar

Fırlatma sporcularında en sık görülen biyomekanik teknik hata, sporcunun kurma fazından ivmelenme fazına çok erken geçmesinden kaynaklanmaktadır. Kurma fazındaki sporcu, gövde rotasyonunu erken yaparsa omuz yeterince eksternal rotasyon yapamaz. Bu durum anterior omuz yapılarında stres artışına, omuz eksternal rotatorlarında aşırı eksantrik yüklenmeye ve dirsekte valgus stres artışına neden olur (2).

Sporcunun yorulduğu durumda da fırlatma sırasında omuz abduksiyonunun azaldığı görülür. Bu azal-

ma, dirsek alçalması ve fırlatma hızının düşmesi ile sonuçlanır. Bu biyomekanik hatalar sonucu omuz rotator manşet kas yaralanmalarında ve dirsek yaralanma oranlarında artış görülebilmektedir. Sporcunun mevcut müsabaka sırası yorgunluğu veya sürantrane olması durumları da biyomekanik hatalara zemin hazırlamaktadır (2).

Normal fırlatma biyomekaniğinde nesne serbest bırakılırken ön kol pronasyondadır. Sporcunun atış tipi veya teknik hatası nedeniyle ön kolun supinasyonda olması veya pronasyundayken supinasyona zorlanması da yine yaralanma riskinde artışa neden olabilmektedir (2).

### Sporcularda Alt Ekstremitte Biyomekaniği

Sporcularda alt ekstremitte biyomekaniği ve alt ekstremitte biyomekanik yetersizlikleri spor yaralanmalarının önlenmesi ve tedavisi süreçlerinde klinisyenlerin en önemli ilgi alanlarından biri olmuştur. Prospektif kanıt eksikliklerine rağmen biyomekanik faktörler geleneksel olarak çeşitli yaralanmalarla ilişkilendirilmiştir (35). Bu durum da klinisyenlerin geçmişten günümüze alt ekstremitte biyomekaniklerine, biyomekanik anormalliklere ve bu anormalliklerin tedavisi sonucu sporcu yaralanma insidansı düşüşünü sağlamaya yönelik çalışmalarına ilham olmuştur.

Spor sırasında alt ekstremitte birçok farklı hareket yaparak sporcunun tekniğine ve performansına katkı sağlamaktadır. Alt ekstremitenin hareket paternleri; 1) statik duruş, 2) basit fonksiyonel hareketler (tek bacak üstünde dengede duruş, tek bacak ile skuat, basamak inme, sıçrama vb.), 3) dinamik hareketler (koşu) ve 4) spora özgü hareketleri olmak üzere dört ana başlık altında sınıflandırılabilir (2).

### Koşu Eylemi Biyomekaniği

Giriş bölümünde de bahsedildiği üzere alt ekstremitte biyomekanikleri dört hareket paterni başlığı altında incelenmektedir. Bu bağlamda, sporcular tarafından sıklıkla kullanılan ve yaralanmalara da sebebiyet verebilen koşu eylemi, bu bölümde biyomekaniği tartışılacak hareket paternidir.

Özellikle aşırı kullanım yaralanması mekanizmaları, yetersiz koşu biyomekaniği ile ilişkilendirilmektedir. Koşu biyomekaniği 5 fazdan oluşmaktadır: 1) yüklenme fazı (topuk vuruşu ve taban teması arası), 2) orta duruş fazı (taban teması ile topuk kalkışı arası), 3) ileri itiş fazı (topuk kalkışı ile parmak kalkışı arası), 4) erken salınım fazı ve 5) salınım sonu fazı (2) (Resim 3). Yürüyüş biyomekaniği ve koşu biyomekaniği arasında çok büyük benzerlikler olsa da koşuyu yürüyüşten ayıran temel farklılıklar bulunmaktadır. Bu kapsamda

**Resim 3**

Sağ alt ekstremite için sırasıyla  
Yüklenme (3a),  
Orta Duruş (3b),  
İleri İtiş (3c),  
Erken Salınım (3d) ve  
Salınım Sonu (3e) Fazları

en temel farklılık, koşuda ayakların zemine temas etmediği 'süzülme fazı'dır (36). Ayrıca koşu eyleminde maruz kalınan zemin tepki kuvveti (ZTK), yürüyüşe göre 2 kat fazladır (37), pelvisin öne tilti daha fazladır (38) ve diz ile kalça eklemlerinin sagittal hareketleri artmıştır (2). Bu durum da alt ekstremite stres yaralanması riskini artırmaktadır (2).

#### 1-Yüklenme Fazı

Yüklenme fazının başlangıcında, topuk (arka ayak) çok hafif bir inversiyonla (0-5°) yere temas eder (39). Pelvis, topuk ile aynı hatta, öne tiltte (10°) ve iç rotasyondadır. Kalça dış rotasyonda (5-10°) ve fleksiyonda (20-30°), diz fleksiyondadır (10°). Topuk teması sırasındaki ZTK vektörünün laterale doğru olması bu fazda alt ekstremite eklemlerinde bir takım hareket zincirine neden olmaktadır. Bu hareket zinciri; topuk eversiyonu, tibia ve femur iç rotasyonu ile kalça addüksiyonudur. ZTK hattının diz posteriorundan geçmesiyle diz fleksiyonu 45°'ye kadar çıkar (40). Bu hareket zincirinin tamamı ZTK'nin dağılımını sağlayan eksantrik kas aktiviteleri ile kontrol altındadır (40).

Yüklenme fazının başındaki topuk inversiyonunun ZTK ile eversiyona dönüşümü midtarsal eklemlerin serbestleşmesini sağlamaktadır (41). Bu serbestleş-

me, yere basış sırasında ön ayağın zemine sağlam temas etmesini sağlamakta (42) ve olası uygunsuz zeminlerde yüklenmeye uyum sağlanmasına olanak vermektedir (41).

Ayak pronasyonu yüklenme fazında görülen normal bir hareket paterni olsa da ayağın hiperpronasyonu; ayak pronasyonunu kontrol eden plantar fasyada, tibialis posterior kasında ve intrinsek ayak kaslarında zorlanmaya neden olmaktadır (41). Ayrıca hiperpronasyon, ZTK'nin mediale kaymasına neden olarak alt ekstremite proksimalindeki hareketleri belirginleştirerek o bölgenin kontrolünü sağlayan bağ ve kas yapılarındaki yükü artırmaktadır (41). Bu durumun tam tersine ayağın yetersiz pronasyonu veya aşırı supinasyonu ZTK'nin laterale kaymasına yol açar (41) ve bu durum ayağın hipomobilitesine ve daha kötü şok emme kapasitesine neden olur. Sonuç olarak da bu laterale kayma; stres kırıklarına (36), lateral ayak bileği burkulmalarına ve kronik ayak bileği instabilitesine neden olabilmektedir (43).

Bu faz sırasında alt ekstremite proksimalindeki yapıların biyomekanik hataları da yaralanmalara sebebiyet vermektedir. Aşırı kontralateral pelvik düşme ve aşırı kalça addüksiyonu/iç rotasyonu; iliotal bant, glute-

al kaslar ve tensor fascia lata üzerindeki stresi artırmaktadır (2). Aynı şekilde bu durum; lomber omurga, patellofemoral eklem ve tibiofemoral eklem üzerindeki yüklerin değişmesine de neden olmaktadır (2).

### 2-Orta Duruş Fazı

Bu fazın başlangıcı, ön ayağın nötral olarak zemine temas etme anı olarak belirtilmektedir (39). Bu faz temas anındaki şok emiliminden ileri itiş kuvveti için gerekli biyomekaniklere geçiş fazıdır. Bu süreçte ayak bileği azami olarak dorsifleksiyona (DF) (20°) gelir ve alt bacağın ve vücut kütle merkezinin (VKM) ileriye doğru hareketi sağlanmış olur (44). DF açısının aşırı olarak arttığı durumlar; plantar fasya, aşil tendonu ve kalf kasları (gastroknemius ve soleus) üzerindeki zorlanmanın artışı ile sonuçlanabilir (2).

Kalça ve diz ekstansiyonu ile birlikte VKM, yere basan ekstremitenin önüne geçer. Hemen sonrasında ise azami ayak pronasyonu ve ardından azami ayak bileği DF'si gerçekleşir (39). Bununla birlikte azami ayak eversiyonu yaklaşık 10° ve azami ön ayak abdüksiyonu 5° olmalıdır (39). Daha sonrasında topuk inversiyona başlar, ön ayak addüksiyona gelir ve bunun sonucunda da ayak supinasyonu ile tibia ve femur dış rotasyonu gerçekleşir (2).

Bu fazdaki hiperpronasyonun veya ileri itişin gecikmesi/başarısız olması durumlarında aşırı zorlanma yaralanmaları görülebilmektedir. Distal yapılar; plantar fasya yaralanmaları, aşil ve tibialis posterior tendinopatileri, tibia stres reaksiyonları ve proksimal yapılar; patellofemoral eklem, iliotibial bant, patellar tendon yaralanmaları görülebilecek zorlanma yaralanmalarına örnek olarak verilebilir (2).

### 3-İleri İtiş Fazı

Bu fazın başında topuk kalkışıyla beraber ayak supinasyonu görülmektedir. Supinasyonla birlikte topuk inversiyonu transvers tarsal eklem eksenlerinin yaklaşmasına neden olur (41). Bu yakınlaşma orta ayağın kilitlenmesine neden olur ve orta ayak bu fazda kaldırma etkisi oluşturur (41). Yere temas eden ekstremitenin dış rotasyona orta duruş fazındaki gibi devam eder ve kalça eklemi 0-10° azami ekstansiyona ulaşır (38). Diz eklemi, diz fleksörleri yardımıyla önceki faza göre daha da fleksiyona gelir (45). Son olarak da yere temas eden bacağın öne ivmelenmesi ayak bileği plantar fleksiyonu ile sağlanır (36).

Plantar fleksiyonu sağlayan kalf kasları, tibialis posterior ve intrinsik ayak kasları ile birlikte bu fazdaki orta ayak kaldırma etkisinin sürdürülmesine yardımcı olmaktadır (41). Bu etki sırasındaki ayağın sertliği çıkırık mekanizması ile desteklenir. Bu mekanizma, me-

tatars ekstansiyonu nedeniyle görülen plantar fasya gerginliği artışı ve kalkaneus ile metatars başlarının birlikte çekilmesiyle gerçekleşmektedir (41).

Bu fazın normal olarak yapılamaması durumunda anormal koşu kalıbı gelişir. İleri itiş kısıtlanması sonucu performans kaybı yaşanır. Ayrıca peroneal kasların bu kaybı tolere etmeye çalışması nedeniyle peroneal tendinopati ve/veya fibula stres reaksiyonları görülebilir (2).

Bu fazda supinasyon eksikliği görülürse itiş birinci parmak yerine lateral parmaklar tarafından yaptırılır. Bu durum da Morton nöroması ve lateral ön ayak stres reaksiyonuna neden olabilmektedir (2).

Son olarak da ileri itişin azalması, koşu sırasındaki ileriye doğru momentumun salınım evresinde yapılmasına neden olur. Bunu sağlamak için kalça fleksörleri, rektus femoris ve iliopsoas kası kalça fleksiyonunu arttırmak durumunda kalır ve bu kasların tendinopatileri görülebilir. Ayrıca ileri itişin azalması durumunun telafisi için pelvis ve gövde rotasyonu artabilir, bu durum da spinal yaralanmalara neden olabilir (2).

### 4-Erken Salınım Fazı

Bu fazda vücut her iki alt ekstremitenin de yere temas etmediği süzülme fazına girer. Süzülen ekstremitedeki ileri momentumu, rektus femoris ve iliopsoas kas aktivitesi sağlamaktadır (36). Bacak ile pelvis de öne doğru ilerler, kalça abdüksiyona ve dış rotasyona gelir (36). Bu hareket kalça addüktörleri tarafından kontrol edilmektedir. Salınım sonunda yere temas edecek ayak bileğinin DF'si için tibialis anterior kasılır (36).

Bu fazda karşı ekstremitenin kendi yüklenme fazına başlamaktadır. Salınımdaki ekstremitenin salınımına devam etmesi yüklenme fazındaki ekstremitenin gluteal kaslar yardımı ile ortaya çıkan ZTK'yi dağıtmasına ve pelvisin salınım fazı tarafına düşmesini önlemesine bağlıdır. Bu düşmenin engellenememesi durumunda salınan ekstremitenin toparlanabilmesi için salınan ekstremitenin kalça ve diz fleksörleri aşırı kullanılır, böylece aşırı kullanım yaralanmalarına açık hale gelir (2).

### 5-Salınım Sonu Fazı

Karşı ekstremitenin, ayak parmak ayrılığı ile süzülme fazına girer. Salınım sonundaki kalça eklemi azami fleksiyona (yaklaşık 30°) ulaşır (36). Hamstring aktivitesi ile hızla ekstansiyona giden diz yavaşlatılır. Kalça abdüksiyonunu kısıtlamak için eksenrik kasılan kalça addüktörleri konsantrik kasılarak kalçaya addüksiyon yaptırır ve kalçayı orta hatta yaklaştırır (13).

### Koşu Eyleminde Ayak Açısı ve Adım Genişliği

Yürüyüş sırasında normal ayak açısı ilerleme çizgisine göre yaklaşık  $10^\circ$  abdüksiyondadır (2). Adım genişliği (iki ayağın mediallyeri arasındaki mesafe) ise yani yaklaşık 2,5-3 cm'dir (2). Bu değerler koşu sırasında stabiliteyi artırmak için değişmektedir. Yavaş koşudan sprinte doğru koşu hızı arttıkça, ayak abdüksiyon açısı ve iki ayak arasındaki adım genişliği azalmaktadır (2). Sprint sırasında bu değerler o kadar azalır ki ayak abdüksiyon açısı  $0^\circ$ 'ye yaklaşır ve ayak vuruşu ilerleme hattında seyrederek adım genişliği 0 cm'ye inebilir. Bu durum VKM'nin sapmasını kısıtlayarak performansı artırır (2).

### Koşu Eyleminde Vücut Kütle Merkezi ve Basma Noktası

Koşu sırasında, ayağın temas noktası ile VKM arasındaki mesafenin artışının alt ekstremiteye daha fazla stres bindirdiği düşünülmektedir (46). Bu durum da yaralanma riskini artırmaktadır. VKM ile temas noktası arasındaki farkın ayak uzunluğunun üçte birinden fazla olmaması gerekmektedir (46). Sprint sırasında temas noktası VKM ile aynı hizaya gelmektedir (46).

### Koşu Hızı Artışının Biyomekanik Etkileri

Koşu hızı arttıkça alt ekstremitte proksimal eklemlerde (pelvis, kalça ve diz) eksantrik kas kontrolüne artan gereksinimle bu eklemlerde hareket artarken (36), distal eklemlerde (ayak bileği, arka/orta/ön ayak) stabilite ihtiyacı nedeniyle hareket azalmaktadır (47).

Koşu hızının, faz geçişlerine de etkisi görülmektedir. Yavaş koşuda, salınım fazı yere basma fazından kısya hız arttıkça süreler birbirine yaklaşır. Hatta sprint sırasında salınım fazı yere basma fazından daha kısa hale gelmektedir (41).

Son olarak koşu hızı arttıkça ayağın yere temas yüzeyi değişmektedir. Çoğu kişide yürüyüş ve yavaş koşu sırasında yere ilk önce ayak topuğu temas etmektedir. Ancak koşu hızı arttıkça bu temas önce orta ayağa daha sonrasında da sprintle birlikte parmak ucuna doğru kaymaktadır. Ayrıca bu durum çıplak ayakla koşuda da görülür ki çıplak ayakla koşarken insanlar ön ayak vuruş kalıbı göstermektedirler (48).

### Koşu Eyleminde Topuk ile Ön Ayak Vuruşunun Karşılaştırılması

Son dönemde koşucuların ön ayak vuruşunu topuk vuruşuna tercih ettikleri gözlemlenmektedir. Bu durum McDougall tarafından yazılmış 'Born to Run' isimli kitabın popülaritesinden kaynaklanmaktadır (49). Bu da klinisyenlerin bu iki koşuş tekniği arasındaki farkı araştırması ve öğrenmesi açısından gereklilik doğurmaktadır.

Ön ayak vuruşu, yere temas sonrası ayak bileği plantar fleksiyonuna ve ardından topuğun yere teması sonrası ayak bileği DF'sine neden olmaktadır (41). Ön ayak vuruşu sonrasında görülen DF, ayak bileği ekleminin esneklik artışı ve ayak bileğine ZTK ile yüklenme azalmasıyla sonuçlanır (48). Ayrıca ön ayak vuruşu sırasında diz ve kalça eklemine binen yüklerin de azaldığı bildirilmiştir (50). Ancak ön ayak vuruşu sonrası ayak bileği eklemine binen yük artmakta ve aşil tendinopatisi, plantar fasyopati, metatars stres reaksiyonu gibi patolojilere neden olabilmektedir (50).

### Sonuç

Hareket analizi sistemleri ve üst ve alt ekstremitte hareket paternlerindeki hataların tespit edilip düzeltilmesi spor yaralanması önlenmesi, rehabilitasyonda kalite artışı ve sporcuda performans artışı için kullanılmakta ve kullanıcıya verdiği verilerle faydalı bilgiler sunmaktadır. Teknolojinin durdurulamaz gelişimiyle günden güne değişen ve gelişen bir konu olarak spor biyomekaniği üzerinde çalışılması gereken önemli bir alan olarak göze çarpmaktadır.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

### Etik Kurul Onayı

Bu makale, insan veya hayvanlar üzerinde herhangi bir çalışma içermemektedir.

### Finansman

Bu çalışma, kamu, ticari veya kar amacı gütmeyen sektörlerdeki finansman kuruluşlarından herhangi bir finansal destek almamıştır.

### Verilerin Ulaşılabilirliği

Tüm veriler makalede ve/veya ek dosyalarda mevcuttur.

### Yazar Katkıları

G.K: Çalışmanın planlanması; Verilerin İşlenmesi; Formal Analizler; Araştırma; Metodoloji; Validasyon; Kaynakların Sağlanması; Görselleştirme; Makalenin Yazımı.

S.E: Çalışmanın planlanması; Formal Analizler; Araştırma; Metodoloji; Proje Yönetimi; Denetim; Validasyon; Makalenin düzenlenmesi.

### Editöryal

Makalenin yazarlarından SE dergi editörlerinden biri olarak görev almakla birlikte bu makalenin yayım süreçlerinin hiç bir aşamasında görev almamıştır.

## Kaynaklar

- Hall SJ, Lyssell D. Basic biomechanics. 2nd ed. St. Louis: Mosby; 1995.
- Brukner P, Brukner KK. Khan's clinical sports medicine: Volume 1 Injuries. 5th ed. North Ryde. NSW McGraw-Hill Education Australia; 2017.
- Miller MD, Thompson SR. DeLee and Drez's orthopaedic sports medicine e-book: 2-volume set: Elsevier Health Sciences; 2009.
- Dönmez G, Ak E, Ödek U, Özberk N, Korkusuz F. Sporda hareket analizi. Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği (TOT-BİD) Dergisi. 2014;13:369-80.
- Caniberk M, Sesli FA, Çetin C. Spor Biyomekaniğinde ve Üç Boyutlu Hareket Analizinde Sayısal Fotogrametrinin Kullanılması. Spor Hekimliği Dergisi. 2016;51(4):117-27.
- Micheli LJ. Encyclopedia of sports medicine. 1st ed. Sage Publications; 2010.
- Dingenen B, Gokeler A. Optimization of the return-to-sport paradigm after anterior cruciate ligament reconstruction: a critical step back to move forward. Sports medicine. 2017;47(8):1487-500.
- Alcalde GE, Fonseca AC, Bôscua TF, Gonçaves MR, Bernardo GC, Pianna B, et al. Effect of aquatic physical therapy on pain perception, functional capacity and quality of life in older people with knee osteoarthritis: study protocol for a randomized controlled trial. Trials. 2017;18(1):1-6.
- O'Connor FG. ACSM's sports medicine: a comprehensive review. 1st ed. LWW, Illustrated edition; 2012.
- Dicharry J. Kinematics and kinetics of gait: from lab to clinic. Clinics in sports medicine. 2010;29(3):347-64.
- Arslan E, Ercan S. Kesme (Koşarken Ani Yön Değiştirme) Hareketini Değerlendirme Puanlaması'nın Türkçe Uyarlama Çalışması. SPORMETRE Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi. 20(2):43-55.
- Ercan S, Arslan E, Çetin C, Başkurt F, Başkurt Z, Baser Kolu Mİ. Sıçramadan Sonra Yere İniş Hata Puanlama Sistemi'nin Türkçe Uyarlama Çalışması. Kocaeli Tıp Dergisi. 2021;10(2):174-8.
- Winter DA. Biomechanics and motor control of human movement. 4th ed. John Wiley & Sons; 2009.
- Souza RB. An evidence-based videotaped running biomechanics analysis. Physical Medicine and Rehabilitation Clinics. 2016;27(1):217-36.
- Payton CJ, Burden A. Biomechanical evaluation of movement in sport and exercise: the British Association of Sport and Exercise Sciences guide: Routledge; 2017.
- Kaeding CC, Léger-St-Jean B, Magnussen RA. Epidemiology and diagnosis of anterior cruciate ligament injuries. Clinics in sports medicine. 2017;36(1):1-8.
- Milner CE. Motion analysis using on-line systems. Biomechanical evaluation of movement in sport and exercise. 1st ed. Routledge; 2017.
- He X, Leong HT, Lau OY, Ong MT-Y, Yung PS-H. Altered neuromuscular activity of the lower-extremities during landing tasks in patients with anterior cruciate ligament reconstruction: a systematic review of electromyographic studies. Journal of sport rehabilitation. 2020;29(8):1194-203.
- Arui AS, Kanekar N, Lee Y-J, Ganesan M. Enhancement of anticipatory postural adjustments in older adults as a result of a single session of ball throwing exercise. Experimental brain research. 2015;233(2):649-55.
- DeFroda SF, Goyal D, Patel N, Gupta N, Mulcahey MK. Shoulder instability in the overhead athlete. Current Sports Medicine Reports. 2018;17(9):308-14.
- Lin DJ, Wong TT, Kazam JK. Shoulder injuries in the overhead-throwing athlete: epidemiology, mechanisms of injury, and imaging findings. Radiology. 2018;286(2):370-87.
- Sangwan S, Green RA, Taylor NF. Stabilizing characteristics of rotator cuff muscles: a systematic review. Disability and rehabilitation. 2015;37(12):1033-43.
- Gaudet S, Tremblay J, Dal Maso F. Evolution of muscular fatigue in periscapular and rotator cuff muscles during isokinetic shoulder rotations. Journal of sports sciences. 2018;36(18):2121-8.
- Park J-Y, Kim H, Lee J-H, Heo T, Park H, Chung SW, et al. Valgus stress ultrasound for medial ulnar collateral ligament injuries in athletes: is ultrasound alone enough for diagnosis? Journal of shoulder and elbow surgery. 2020;29(3):578-86.
- Aicale R, Tarantino D, Maffulli N. Overuse injuries in sport: a comprehensive overview. Journal of orthopaedic surgery and research. 2018;13(1):1-11.
- Ben Kibler W. The role of the scapula in athletic shoulder function. The American journal of sports medicine. 1998;26(2):325-37.
- Kibler WB, Sciascia A. Evaluation and management of scapular dyskinesis in overhead athletes. Current Reviews in Musculoskeletal Medicine. 2019;12(4):515-26.
- Chung Y-C, Chen C-Y, Chang C-M, Lin Y-L, Liao K-K, Lin H-C, et al. Altered corticospinal excitability of scapular muscles in individuals with shoulder impingement syndrome. PloS one. 2022;17(5):e0268533.
- Didesch JT, Tang P. Anatomy, etiology, and management of scapular winging. The Journal of hand surgery. 2019;44(4):321-30.
- McDonald AC, Mulla DM, Keir PJ. Muscular and kinematic adaptations to fatiguing repetitive upper extremity work. Applied ergonomics. 2019;75:250-6.
- Manzi JE, Dowling B, Trauger N, Fu MC, Hansen BR, Dines JS. The influence of shoulder abduction and external rotation on throwing arm kinetics in professional baseball pitchers. Shoulder & Elbow. 2022;14(1 Suppl):90-98. doi: 10.1177/17585732211010300.
- Berckmans K, Maenhout AG, Matthijs L, Pieters L, Castelein B, Cools AM. The isokinetic rotator cuff strength ratios in overhead athletes: Assessment and exercise effect. Physical Therapy in Sport. 2017;27:65-75.
- Hattori H, Akasaka K, Otsudo T, Hall T, Amemiya K, Mori Y. The effect of repetitive baseball pitching on medial elbow joint space gapping associated with 2 elbow valgus stressors in high school baseball players. Journal of Shoulder and Elbow Surgery. 2018;27(4):592-8.
- Tajika T, Kobayashi T, Yamamoto A, Kaneko T, Shitara H, Shimoyama D, et al. A clinical and ultrasonographic study of risk factors for elbow injury in young baseball players. Journal of Orthopaedic Surgery. 2016;24(1):45-50.
- Van Gent R, Siem D, van Middelkoop M, Van Os A, Bierma-Zeinstra S, Koes B. Incidence and determinants of lower extremity running injuries in long distance runners: a systematic review. British journal of sports medicine. 2007;41(8):469-80.
- DeJong P, Hatamiya NS, Barkley LC. Running Gait Analysis and Biomechanics. Current Sports Medicine Reports. 2022;21(4):107-8.
- Ismail SI, Nunome H, Marzuki FF, Suaidi I. The influence of additional surface on force platforms ground reaction force data during walking and running. Am J Sports Sci. 2018;6:78-82.
- Franz JR, Paylo KW, Dicharry J, Riley PO, Kerrigan DC. Changes in the coordination of hip and pelvis kinematics with mode of locomotion. Gait & posture. 2009;29(3):494-8.
- Pohl MB, Buckley JG. Changes in foot and shank coupling due to alterations in foot strike pattern during running. Clinical Biomechanics. 2008;23(3):334-41.
- Vanrenterghem J, Venables E, Pataky T, Robinson MA. The effect of running speed on knee mechanical loading in females during side cutting. Journal of biomechanics. 2012;45(14):2444-9.
- Dugan SA, Bhat KP. Biomechanics and analysis of running gait. Physical Medicine and Rehabilitation Clinics. 2005;16(3):603-21.
- Bruening DA, Pohl MB, Takahashi KZ, Barrios JA. Midtarsal locking, the windlass mechanism, and running strike pattern: a kinematic and kinetic assessment. Journal of biomechanics. 2018;73:185-91.
- Drewes LK, McKeon PO, Paolini G, Riley P, Kerrigan DC, Ingersoll CD, et al. Altered ankle kinematics and shank-rear-foot



- coupling in those with chronic ankle instability. *Journal of sport rehabilitation*. 2009;18(3):375-88.
44. Hannigan J, Pollard CD. Differences in running biomechanics between a maximal, traditional, and minimal running shoe. *Journal of science and medicine in sport*. 2020;23(1):15-9.
  45. Riley PO, Dicharry J, Franz J, Croce UD, Wilder RP, Kerrigan DC. A kinematics and kinetic comparison of overground and treadmill running. *Medicine and science in sports and exercise*. 2008;40(6):1093.
  46. Wille CM, Lenhart RL, Wang S, Thelen DG, Heiderscheit BC. Ability of sagittal kinematic variables to estimate ground reaction forces and joint kinetics in running. *Journal of orthopaedic & sports physical therapy*. 2014;44(10):825-30.
  47. Nester CJ. Lessons from dynamic cadaver and invasive bone pin studies: do we know how the foot really moves during gait?. *Journal of Foot and Ankle Research*. 2009;2(1):1-7.
  48. Lieberman DE, Venkadesan M, Werbel WA, Daoud AI, D'andrea S, Davis IS, et al. Foot strike patterns and collision forces in habitually barefoot versus shod runners. *Nature*. 2010;463(7280):531-5.
  49. McDougall C. *Born to run: The hidden tribe, the ultra-runners, and the greatest race the world has never seen*. 1st ed. Profile Books; 2010.
  50. Williams III DB, Green DH, Wurzing B. Changes in lower extremity movement and power absorption during forefoot striking and barefoot running. *International journal of sports physical therapy*. 2012;7(5):525.

