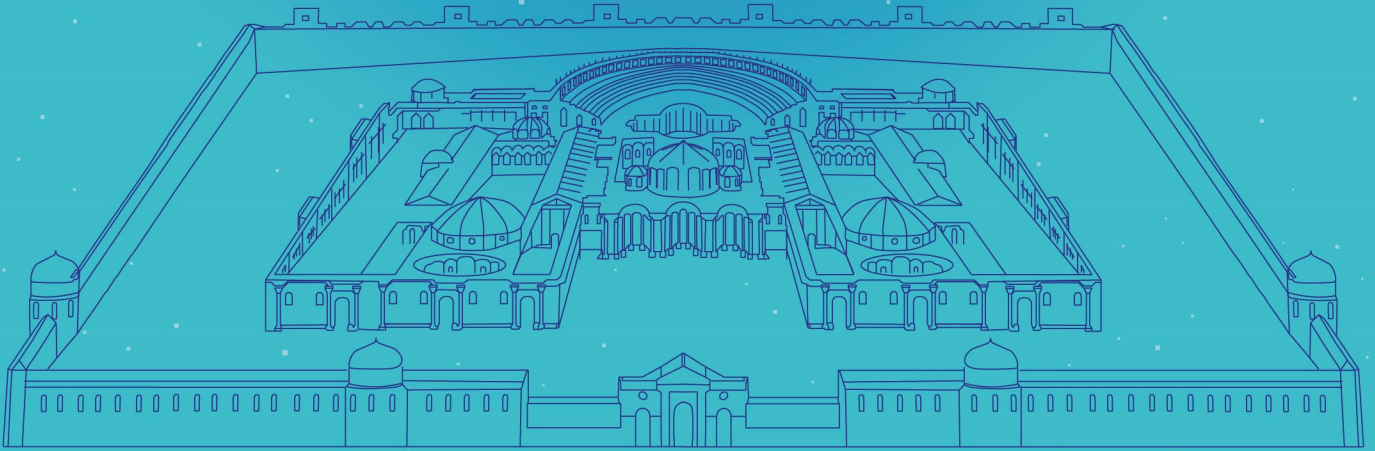




Acta Medica Nicomedia

1996



<https://dergipark.org.tr/tr/pub/actamednicomedia>

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin Süreli Bilimsel Yayınıdır.
The Periodical Scientific Publication of Kocaeli University Faculty of Medicine.





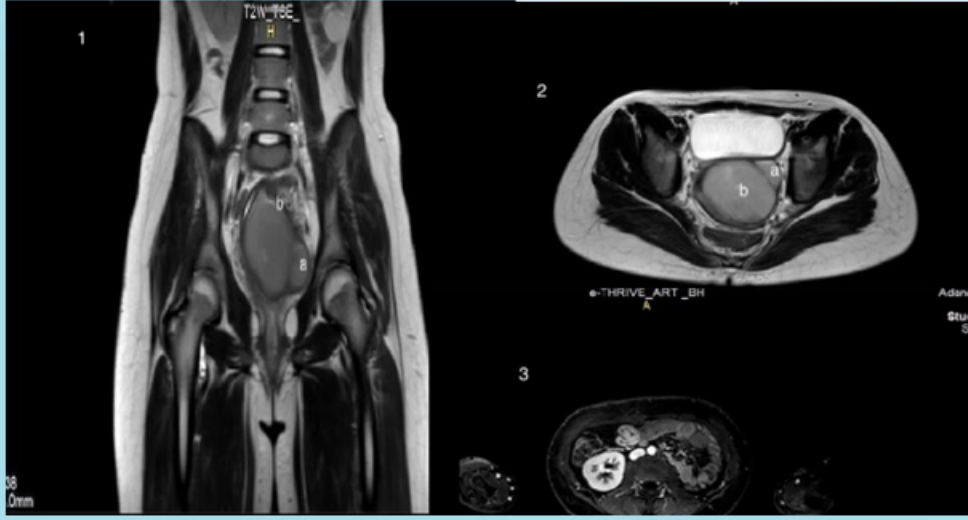
Acta Medica Nicomedia

1996

Cilt: 6 - Sayı: 3 - Ekim 2023 / Vol: 6 - Issue: 3 October 2023

Eski adı Kocaeli Üniversitesi Tıp Dergisi / Formerly Medical Journal of Kocaeli University

e-ISSN: 2717-8994



Longitudinal (1) and sagittal (2) MRI view of drained (a) and non-drained (b) uterine cavity and MRI view of unilateral renal agenesis (3)



<https://dergipark.org.tr/tr/pub/actamednicomedia>

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin Süreli Bilimsel Yayınıdır.
The Periodical Scientific Publication of Kocaeli University Faculty of Medicine.



ACTA MEDICA NICOMEDIA

Sayı Künyesi

Eski Adı 'Kocaeli Üniversitesi Tıp Dergisi'

Formerly 'Medical Journal of Kocaeli University'

Yılda üç sayı: Şubat, Haziran ve Ekim

Three issues annually: February, June and October

Yayın dili: Türkçe ve İngilizce

Publishing Language: Turkish and English

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/actamednicomedia>

İmtiyaz Sahibi | Privilege Owner

Prof. Dr. Nuh Zafer Cantürk (Rektör), Kocaeli Üniversitesi Rektörlüğü Adına

Baş Editör | Editor-In-Chief

Prof. Dr. N. Zafer Utkan, Kocaeli Üniversitesi

Editörler | Editors

Prof. Dr. Nurettin Özgür Doğan, Kocaeli Üniversitesi

Prof. Dr. Murat Öztürk, Kocaeli Üniversitesi

Prof. Dr. Zuhale Gündoğdu, Kocaeli Üniversitesi

Doç. Dr. Uğur Demirsoy, Kocaeli Üniversitesi

Doç. Dr. Önder Kara, Kocaeli Üniversitesi

Doç. Dr. Mustafa Ümit Uğurlu, Marmara Üniversitesi

Doç. Dr. Aylin Kanlı, Kocaeli Üniversitesi

Doç. Dr. Eviç Zeynep Akgün, Kocaeli Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Sibel Balci, Kocaeli Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Büşra Yılmaz Tuğan, Kocaeli Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Ayla Tekin Orha, Kocaeli Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Esra Acar, Kocaeli Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Büşra Öncel Duman, Kocaeli Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Eda Aktaş, Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Dr. Mehmet Deniz Yener, Kocaeli Üniversitesi

Dr. Tuğcan Korak, Kocaeli Üniversitesi

Uzm. Dr. Mustafa Çakan, İstanbul Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları

Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi

Araş. Gör. Nihal Zorlu, Kocaeli Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi

Türkçe Dil Editörü | Turkish Language Editor

Dr. Öğr. Üyesi Cem Yılmaz Budan, Kocaeli Üniversitesi

İngilizce Dil Editörü | English Language Editor

Doç. Dr. Uğur Demirsoy, Kocaeli Üniversitesi

Biyoistatistik Editörü | Editor in Biostatistics

Prof. Dr. Canan Baydemir, Kocaeli Üniversitesi

Etik Editörü | Editor in Publication Ethics

Doç. Dr. Aslıhan Akpınar, Kocaeli Üniversitesi

Mizanpaj | Grafik Tasarım

Uğur Nişancı

Hülya Altan

***Editör ve Danışma Kurulu listelerindeki ünvan ve isimler, isimlerin alfabetik sırasına göre yazılmıştır.**

Yayım Tarihi | Publication Date

21.10.2023

Yazışma Adresi | Correspondence

Kocaeli Üniversitesi Batı Kampüsü

Araştırma Merkezi Binası, 1. Kat, 41001, Kocaeli

Dergi Yazı Gönderimi Sayfası: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/actamednicomedia>

E-posta: actamednicomedia@kou.edu.tr

nicomediamedj@gmail.com

Tel: +90 (262) 303 70 04

ACTA MEDICA NICOMEDIA

KAPAK SAYFASI

SAYI KÜNYESİ

i-iii

İÇİNDEKİLER

iv-vi

A. *Editöre Mektup*

- **Evaluation of Children and Adolescents Admitted to an Adult Psychiatry Outpatient Clinic** 304-305
Mehmet Hamdi Orum

B. *Araştırma Makalesi*

- **Evaluation of the Relationship of Postpartum Depression and Social Support in Women With Vaginal and Cesarean Delivery** 306-314
Sevil Sahin, Döndü Sevimli, Kevser Ilcioglu, Alaattin Unsal
- **Aftöz Stomatit, Faranjit ve Adenit ile Seyreden Periyodik Ateş (PFAPA) ile Takipli Hastaların Klinik İzlem ve Tedavi Yanıtları** 315-319
Yunus Emre Bayrak, Nihal Şahin, Hafize Emine Sönmez
- **The Relationship Between Metal Element Content of Drinking Water and Body Compositions of People in Batman (Türkiye)** 320-326
Ihsan Cetin, Selcuk Akin, Mahmut Tahir Nalbantçilar, Nazli Koc, Kezban Tosun
- **Vaccination Status of Employees at Trakya University Health Center for Medical Research & Practice (Hospital) And Edirne Sultan 1. Murat State Hospital With Vaccines Recommended for Health Workers** 327-333
Pinar Zehra Davarcı, Galip Ekuklu, Fulya Özder Taş, Elif Sultan Bolaç, Ülfiye Çalikkalp, Faruk Yorulmaz1
- **Neuropeptide W (NPW) Alleviates Cognitive Impairment and Anxiety-Like Behaviors in Rats With Chronic Stress** 334-339
Sevil Arabaci Tamer, Emine Karahan
- **Çocuk ve Ergen Psikiyatri Kliniğine Başvuran Ergenlerde Okul Reddi Sıklığının ve Klinik Özelliklerinin Araştırılması-Naturalistik Bir İzlem Çalışması** 340-347
Burcu Kardaş, Dilek Toprak, Ömer Kardaş, İrem Damla Çimen
- **Establishment of Acquired Sorafenib Resistance in Hepatocellular Carcinoma Cell Line and Examination of EMT** 348-351
Fuat AKSOY, Secil AK AKSOY
- **Investigation of in Silico Properties of [5-Hydroxy-7-(Pentyloxy)-2-Phenyl-4h-Chromen-4-One] Molecule and Its Effects on in-Vitro Epileptiform Activation in Brain Slices** 352-360
Altun Harun Basoglu, Hilal Ozturk, Nuri Yorulmaz, Selcen Aydın-Abidin, İsmail Abidin

- **Evaluation of the Patients Followed in Newborn Intensive Care Unit For Cardiac Diseases** 361-366
Ajda Mutlu Mihçioğlu, Özgül Salihoğlu
- **Impact of Blood Parameters on Bcr/Abl1 P210 Testing in Patients With Chronic Myeloid Leukemia: A Pilot Study** 367-372
Cem Karaosmanoğlu, Saliha Handan Yıldız, Müjgan Özdemir Erdoğan, Filiz Yavaşoğlu, Haktan Doğuş
- **Kadınlar Gebeliklerini Nasıl Öğreniyor? Sağlık Algısı Gebelik Farkındalığını Etkiler Mi?** 373-379
Sena Dilek Aksoy, Resmiye Özdilek, Nafiye Dutucu
- **Investigating Gene Expression Changes and Hub Genes Playing a Role in the Progression of Glial Brain Tumors** 380-389
Nurhan Külcü Sarıkaya, Deniz Sünnetçi Akkoyunlu
- **Cytochemical Evaluation of Sperm DNA Integrity and Relation to Conventional Semen Parameters in Idiopathic Infertile Men** 390-394
Sevilay Erimsah, Yusufhan Yazir
- **Pregnant Women's Background Knowledge, Expectations and Attitude About Second Trimester Detailed Ultrasound** 395-402
Yasemin Doğan, Ercan Koçkaya , Müzeyyen Dilşad Eser, Ayşe Seda Daryal
- **Pediatric Hekimlerinin Bağımlı Hastaları Damgalama Düzeylerine Bağımlılık Eğitiminin Etkisi** 403-408
Ömer Kardeş, Ahmet Sefa Gümüşsoy, Muhammed Furkan Tanır, Ayşe Hilal Başkan
- **Evaluation of Forensic Cases Admitted to The Hospital in Amasya** 409-412
Bedirhan Sezer Öner
- **Sliding Sign: Could It Be a New Marker for Predicting Perinatal Outcomes?** 413-416
Mine Daggez, Simge Sezer, Şeyma Banu Arslanca, Cem Yener
- **Rituksimab Dışı Biyolojik İlaç Kullanan Hastalarda Hepatit B Seroprevalansı ve Reaktivasyon Sıklığı; Tek Merkez Sonuçları** 417-421
Özlem Özdemir Işık, Enes Başaran, Neslihan Gökçen, Duygu Temiz Karadağ, Ayten Yazıcı, Ayşe Cefle
- **Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalarında Pro-Aterojenik Lipid Profili ve Aterojenik İndeksin Değerlendirilmesi** 422-428
Aysel Gürkan Toçoğlu, Ahmed Cihad Genç
- **Tip 2 Diyabetes Mellitus Hastalarının in Vivo Korneal Konfokal Mikroskopi ile Değerlendirilmesi** 429-433
Müge Toprak, Özgül Altıntaş, Büşra Yılmaz Tuğan
- **Minimal İnvaziv Paratiroidektomi: Tek Merkez Deneyimi** 434-440
Fuldem Mutlu, Bahaeddin Umur Aka


- **Sağ Ventrikül Çıkış Yolu Rekonstrüksiyonu Uygulanan Fallot Tetralojili Olgularda Ventrikül Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi** 441-446
Murat Deveci, Reşit Ertürk Levent, Mustafa Orhan Bulut, Yüksel Atay
- **Evaluation of Quality of Life Among Turkish Women With Hirsutism: A Cross Sectional Study** 447-451
Şükran Sarıgül Gündük, Sadiye Kuş
- **Optimization of Protein Quantification in Wharton Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cell Exosomes** 452-458
Zehra Seda Halbutoğulları, Zeynep Ece Utkan Korun, Cansu Subaşı Demir, Kamil Can Kılıç, Büşra Alper, Yusufhan Yazır
- **Obez Çocuklarda Kilo Kaybının Serum D Vitamini Düzeyine Etkisi** 459-463
Gökmen Akgün, Hasan Önay
- **Tıp Fakültesi Öğrencilerinde Gebelik ile İlgili Bilgi Düzeyi Yeterli Mi?** 464-471
Sibel Balcı, Görker Sel
- **Nöromyelitis Optika Spektrum Hastalığı ve Multipl Skleroz Hastalarında İlk Demiyelinizan Atakta İnflamasyon Belirteçlerinin Karşılaştırılması** 472-476
Sena Destan Bünül, Beyza Canik, Hüsnü Efendi
- **Diyabetik Hastalarda A-Dalgalarının Görünme Oranı ve Karakteristikleri: Retrospektif Çalışma** 477-480
Celal Şalçini
- C. Olgu Sunumu**
- **Everolimus Treatment in Refractory Epilepsy Due to Tuberous Sclerosis Complex: A Single - Center Case Series** 481-486
Halil Ural Aksoy, Celil Yılmaz, Senem Ayça, Aslı Kübra Atasever, Çisil Çerçi Kubur, Sibgatullah Ali Orak, Muzaffer Polat
- **Yenidoğan Dönemi Tekrarlayan Kan Transfüzyonunun Nadir Sebeplerinden Osteopetrozis: Bir Olgu Sunumu** 487-490
Muharrem Çiçek, Özlem Kalaycık Şengül, Merve Küçükberber, Sümeyra Doğan, Emel Karaoğlan
- **A Rare Case of Paraneoplastic Limbic Encephalit: Anti-Yo Antibody Positive Colon Adenocarcinoma** 491-494
Fatma Ebru Algul, Mehmet Tecellioglu
- **Previously Missed Diagnosis of Herlyn-Werner-Wunderlich Syndrome (Ohvira Syndrome) and Vaginoscopic Surgery Accompanied by Fluoroscopy** 495-499
İlknur Benli Cesur, Zerrin Özcelik, Dilek Kaplanoglu, Mustafa Kaplanoglu



Letter to the Editor | Editöre Mektup

EVALUATION OF CHILDREN AND ADOLESCENTS ADMITTED TO AN ADULT PSYCHIATRY OUTPATIENT CLINIC

BİR ERİŞKİN PSİKİYATRİ POLİKLİNİĞİNE BAŞVURMUŞ OLAN ÇOCUK VE ERGENLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

 Mehmet Hamdi Orum^{1*}

¹Elazığ Mental Health and Diseases Hospital, Elazığ, Türkiye.



ABSTRACT

Psychiatric disorders in childhood and adolescence are gradually increasing and more diagnosed. However, there are not enough physicians to treat psychiatric disorders in this age group. Especially in rural areas, this task falls on adult psychiatrists. In this study, we aimed to evaluate the cases admitted to the district state hospital for a period of one year.

Keywords: Child and adolescent psychiatry, adolescent, outpatients, retrospective study, forensic case

ÖZ

Çocukluk ve ergen dönemindeki psikiyatrik bozukluklar giderek artmakta ve daha fazla tanı konulmaktadır. Bununla birlikte, bu yaş grubundaki psikiyatrik bozuklukların tedavisi için yeterli sayıda hekim bulunmamaktadır. Özellikle kırsal kesimlerde bu görev erişkin psikiyatri hekimlerine düşmektedir. Biz bu çalışmada, ilçe devlet hastanesine bir yıllık sürede başvurmuş olan olguların değerlendirilmesini amaçladık.

Anahtar Kelimeler: Çocuk ve ergen psikiyatrisi, ergen, ayaktan hastalar, retrospektif çalışma, adli olgu



Dear Editor,

The number of diagnoses of autism spectrum disorder (ASD), attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD), substance use disorder (SUD) and major depressive disorder (MDD) reported in childhood and adolescence is gradually increasing.¹⁻³ However, compared to other childhood diseases, child and adolescent mental disorders do not attract enough attention from health systems. Access to child and adolescent psychiatrists is still difficult, except for provincial and large district centers. In places where child and adolescent psychiatrists are not available, adult psychiatrists can intervene in psychiatric disorders in this age group.¹ Our aim in this study is to examine the sociodemographic and clinical characteristics of the cases who admitted to the adult psychiatry outpatient clinic of a district state hospital.

This was retrospective, cross-sectional and descriptive study. All cases under the age of 18 who admitted to the adult psychiatry outpatient clinic of the Kahta State Hospital between June 1, 2019 and June 1, 2020 were included in the study. Sociodemographic and clinical data of the cases were accessed through the patient registry system. All psychiatric diagnoses were according to the fifth edition of Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5).⁴ Approval was obtained from the Adiyaman University Non-Interventional Ethics Committee for this study (Decision Date: 20/10/2020, Decision Number: 2020/9-30). In statistical analysis, descriptive data and continuous variables were given as mean±standard deviation, and categorical variables as frequency and percentage. Chi-square test was used in comparison of independent variables in categorical data and independent sample t test was used for numerical data. Statistical significance level was accepted as $p < 0.05$. Seventy-three cases admitted to the adult psychiatry outpatient clinic on the specified dates. Twenty-one (28.76%) of the cases were female and 52 (71.14%) were male. While the mean age was 15.47 ± 1.74 years in females, it was 14.96 ± 1.65 years in males ($p = 0.241$). The mean age in total was 15.10 ± 1.68 years. The median age was 15 years; the minimum age was 12 years; the maximum age was 17 years. Health insurance of 42 cases were “Yeşil Kart”; of 21 cases were “Sosyal Sigortalar Kurumu-SSK”; of 5 cases were “Bagkur”; and 5 cases had paid entrance. In terms of diagnosis; There were 13 cases with mental retardation, 6 cases with MDD, 5 cases with psychotic disorder, 3 cases with bipolar disorder, 8 cases with ADHD, 6 cases with generalized anxiety disorder, 3 cases with stuttering, 8 cases with ASD, 6 cases with SUD. The diagnosis of 15 cases was general psychiatric examination (GPE). ASD, SUD, MDD, and GPE diagnoses were significantly higher in males ($p < 0.05$). In 18 cases (2 females, 16 males) the reason for admission was forensic. In 14 of these forensic cases, the reason was “realizing and distinguishing”, the reason was “guardianship” in 3 cases and was article 32 of the Turkish Penal Code one of them. Forensic admission was higher in males than females ($p = 0.004$). Thirty-nine cases had a history of

psychotropic drug use. There was no significant difference between males and females in terms of health insurance ($p = 0.340$) and the history of psychotropic drug use ($p = 0.250$).

The absence of a child and adolescent psychiatrist in the hospital and the proximity of the hospital where child and adolescent psychiatrists are located to our district hospital affects the profile of the cases in this age group. Psychiatric cases with agitation and forensic cases are more frequently admitted to the adult psychiatry outpatient clinic of the hospital in the child and adolescent age group. Examination of child and adolescent psychiatry cases under the age of 18 is not routinely performed in the hospital where the study was conducted, except for emergency and forensic cases. In this sense, based on these data, it is not appropriate to comment on the child and adolescent psychiatry patient profile in the hospital or district. This study shows that male gender was the majority, the number of forensic cases constituted one fourth of all admissions, the most common reason for forensic admission was “realizing and distinguishing”, and the most common psychiatric diagnosis was mental retardation. Comparison of the data of this study with the data of similar studies to be conducted in the future will provide a better clarification on the current topic. Further prospective studies may provide more detailed consideration of the variables.

Compliance with Ethical Standards

Approval was obtained from the Adiyaman University Non-Interventional Ethics Committee (Decision Date: 20/10/2020, Decision Number: 2020/9-30).

Conflict of Interest

None

Author Contribution

MHO: Concept, design, data collection and processing, literature review, analysis and interpretation, writing the study.

Financial Disclosure

None

References

1. Skokauskas N, Fung D, Flaherty LT, et al. Shaping the future of child and adolescent psychiatry. *Child Adolescent Psychiatry Ment Health*. 2019;13:19. doi:10.1186/s13034-019-0279-y
2. Merikangas KR, McClair VL. Epidemiology of substance use disorders. *Hum Genet*. 2012;131(6):779-789. doi:10.1007/s00439-012-1168-0
3. Matson JL, Kozlowski AM. The increasing prevalence of autism spectrum disorders. *Res Autism Spectr Disord*. 2011;5(1):418-425. doi:10.1016/j.rasd.2010.06.004
4. American Psychiatric Association., 2013. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5). Arlington, VA: APP.

Research Article | Araştırma Makalesi

EVALUATION OF THE RELATIONSHIP OF POSTPARTUM DEPRESSION AND SOCIAL SUPPORT IN WOMEN WITH VAGINAL AND CESAREAN DELIVERY

VAJİNAL VE SEZARYEN DOĞUM YAPAN KADINLARDA POSTPARTUM DEPRESYON VE SOSYAL DESTEK İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Sevil Sahin^{1*}, Döndü Sevimli², Kevser Ilcioglu³, Alaattin Unsal⁴

¹Ankara Yıldırım Beyazıt University, Faculty of Health Sciences, Department of Nursing, Ankara, Türkiye. ²Sakarya University, Sakarya Training and Research Hospital, Sakarya, Türkiye. ³Sakarya University, Faculty of Health Sciences, Department of Nursing, Sakarya, Türkiye. ⁴Eskisehir Osmangazi University, Public Health Department, Eskisehir, Türkiye.

ABSTRACT

Objective: This study was conducted to determine the prevalence of postpartum depression in women following normal vaginal delivery and caesarean section, to review some variables that are believed to be associated and to assess the relationship between the level of social support and postpartum depression.

Methods: The study group consisted of 710 women in total. In the study group, 355 women had normal vaginal delivery and 355 women had Caesarean section. The Edinburgh Postnatal Depression Scale was used to determine the level of postpartum depression. Level of social support was assessed with the Multidimensional Scale of Perceived Social Support. The questionnaire forms prepared in line with the study objective were completed by the investigators with face-to-face interview method. Chi-square test, Student's t-test and Mann-Whitney U test were used for statistical analyses.

Results: Prevalence of postpartum depression was found to be 24.4% in this study. Prevalence of postpartum depression was 21.7% in women who had normal vaginal delivery and 27.0% in women who had Caesarean section. Level of perceived social support was higher in women who had Caesarean section. It was determined that the levels of social support perceived by women with postpartum depression were lower in both normal vaginal delivery group and Caesarean section group.

Conclusion: Postpartum depression is one of important mental health problems in women. In our study, no difference in prevalence of postpartum depression was found in women who had normal vaginal delivery and Caesarean section. Level of perceived social support was higher in women who had Caesarean section.

Keywords: Postpartum women, postpartum depression, social support, vaginal delivery, cesarean delivery

ÖZ

Amaç: Bu çalışma, normal vajinal yolla ve sezaryen ile doğum yapanlar arasında postpartum depresyon sıklığının saptanması, ilişkili olduğu düşünülen bazı değişkenlerin incelenmesi ve sosyal destek düzeyi ile postpartum depresyon ilişkisinin değerlendirilmesi amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Çalışma grubu 355'i Normal Vajinal Yolla, 355'i de Sezaryen ile Doğum yapan toplam 710 kadından oluşmuştur. Postpartum depresyon düzeyinin değerlendirilmesinde Edinburgh Doğum Sonu Depresyon Ölçeği kullanılmıştır. Sosyal destek düzeyi ise Çok Boyutlu Algılanan Sosyal Destek Ölçeği ile değerlendirilmiştir. Çalışmanın amacına uygun olarak hazırlanan anket formlar, yüz yüze görüşme yöntemi ile araştırmacılar tarafından doldurulmuştur. İstatistiksel analizler için Ki-kare testi, Student t testi ve Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Bulgular: Bu çalışmada postpartum depresyon sıklığı %24,4 olarak saptanmıştır. Normal vajinal yolla doğum yapanlarda postpartum depresyon sıklığı %21,7, sezaryen ile doğum yapanlarda ise %27,0'dır. Sezaryen ile doğum yapanların algıladıkları sosyal destek düzeyi daha yüksekti. Hem normal vajinal yolla doğum yapanlarda hem de sezaryen ile doğum yapanlarda postpartum depresyon saptananların algıladıkları sosyal destek düzeylerinin daha düşük olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Postpartum depresyon, önemli kadın ruh sağlığı sorunlarından biridir. Çalışmamızda normal vajinal yolla ve sezaryen ile doğum yapanlar arasında postpartum depresyon sıklığı açısından bir fark bulunamadı. Sezaryen ile doğum yapanların algıladıkları sosyal destek düzeyi daha yüksekti.

Anahtar Kelimeler: Postpartum dönem kadın, postpartum depresyon, sosyal destek, normal vajinal doğum, sezaryen doğum

*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Sevil Sahin; Ankara Yıldırım Beyazıt University, Faculty of Health Sciences, Department of Nursing, Ankara, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (530) 600 31 07 e-mail/e-posta: sevilshahin1@gmail.com

Submitted/Başvuru: 28.06.2022

Accepted/Kabul: 30.09.2023

Published Online/Online Yayın: 21.10.2023

Introduction

Pregnancy and childbirth are very important and life-changing events. Childbirth is one of the most special experiences in women's life. Women go through biological, physiological and psychosocial changes during pregnancy. Physiological process of pregnancy and delivery also affects emotions of women. Childbirth is a process involving fear, anxiety, doubt and happiness, which is also shaped by body's childbearing ability, woman's faith, safety of delivery environment, and care given to a woman during pregnancy, delivery and postpartum period.^{1,2} In the postpartum period, the risk of developing some mental disorders, particularly depression, is very high in women.³ While postpartum depression onset usually begins in the first 4 weeks after childbirth, it may also start within the first year, last long years or cause postpartum psychosis.⁴

Global prevalence of postpartum depression (PPD) is estimated to be 7-30%.^{3,5} In the studies conducted in Turkey, prevalence of postpartum depression is reported to range from 15.0% to 51.3%.⁶⁻⁸ During pregnancy and the postnatal period, anxiety disorders, including panic disorder, generalised anxiety disorder, obsessive compulsive disorder, post-traumatic stress disorder and tokophobia (an extreme fear of childbirth), can occur on their own or can coexist with depression.⁹

Insufficient social support is known to be one of important risk factors for postpartum depression.^{3,4,6} Social support can be defined as material and moral support provided to a person by their inner circle usually in the face of a stressful event.^{10,11} Determined to be closely related to mental health of a person, social support cannot eliminate the situations causing stress but it reduces anxiety and desperation, promotes willingness to try new methods for stress management, boosts self-confidence, and allows easier toleration of stress.^{12,13} Regardless of its nature, social support provided by inner circle alleviates feeling of desperation and boosts self-confidence in stress management. Furthermore, it meets fundamental social needs of individuals such as love, devotion, self-respect and sense of belonging to a group with a positive impact on physical and psychological health.^{14,15}

This study was conducted to determine the prevalence of postpartum depression in women following normal vaginal delivery and Caesarean section, to review some variables that are believed to be associated and to assess the relationship between the level of social support and postpartum depression.

Methods

Study Design and Setting

This is a descriptive and relation-seeking study conducted on postpartum women presented to a Training and Research Hospital's Gynecology and Obstetric Polyclinic in Sakarya between January and June 2019.

Participants

Sample size for this study was calculated as minimum 710 (Power of test: 0.842, p: 0.30, Comparison p: 0.25). In the study group, 355 women (50.0%) had normal vaginal delivery and 355 women (50%) had Caesarean section. The women presented to Training and Research Hospital's Gynecology Polyclinic in Sakarya during the study were informed about the objective and purpose of the study. After written consent was obtained from the women who agreed to take part in the study, previously prepared questionnaires were completed by the investigators with face-to-face interview method. Over 20 years old, postpartum 6 weeks, pregnant women without chronic diseases, without multiple pregnancy and healthy babies were included in the study. The interview was conducted alone with the woman only. This procedure lasted for approximately 15-20 minutes. The rules stated in the Helsinki Declaration were complied in the stage of data collection.

Data Sources and Measurement

A questionnaire was prepared based on the literature to collect data.^{3,5-7} Questionnaire included questions about some socio-demographic characteristics of women, some obstetric and marriage characteristics, some problems developing during pregnancy, some characteristics about the infant as well as items of the Edinburgh Postnatal Depression Scale and Multidimensional Scale of Perceived Social Support.

In our study, postpartum depression level was assessed with the Edinburgh Postnatal Depression Scale. The scale was developed by Orr et al. Turkish reliability and validity study of the scale was performed by Engindeniz et al. The scale consists of 10 items with 4-point Likert type. Items 3, 5, 6, 7, 8, 9 and 10 are scored as 3, 2, 1 and 0 according to decreased severity. Other items are reversed scored. Higher scores denote higher severity of depression. Individuals who obtained a score of 12/13 from this scale were regarded to have "postpartum depression".^{16,17} Engindeniz et al. for Cronbach's alpha value was calculated as 0.72 and 0.70 for our study.

The Multidimensional Scale of Perceived Social Support developed by Zimet et al. was used to assess levels of social support provided to women. Its validity and reliability study in Turkey was conducted by Eker and Arkar. This scale allows assessment of perceived support from family, friends and other important people. The scale contains 12 items scored from 1 "very strongly disagree" to 7 "very strongly agree." The possible score range is between 12 and 84. Higher scores indicate high levels of perceived social support.^{18,19} Eker and Arkar for Cronbach's alpha value was calculated as 0.89 and 0.84 for our study.

The women who are actively engaged with a revenue-generating business were defined as "employed". Income status was defined as sufficient, medium or insufficient in the women's own statements. In the current study, the term 'smoker' was defined as an individual smoking at least one cigarette per day.

A woman having chronic disease was defined as a woman having any chronic disease diagnosed by a physician, such as cardiovascular system diseases, hypertension, diabetes mellitus, bronchial asthma, or chronic obstructive pulmonary disease.

Required Approvals

The approval of Sakarya University's Ethics Committee for Researches Other Than Drugs and Medical Devices was obtained with the resolution (number and dated 71522473/050.01.04/259) and permission of hospital management were obtained to conduct the study.

Statistical Analysis

The data obtained was evaluated in IBM SPSS (version 20.0) Statistical Package Program in computer. Shapiro-Wilk test was used to determine the normal distribution of data. Number, percentage, average, standard deviation, minimum, maximum and median values of were used for descriptive statistics. Chi-square test, Student's t-test and Mann-Whitney U test were used for statistical analyses. Pearson chi-square test and advanced chi-square analysis were used as the relationship test. Statistical significance was accepted as $p \leq 0.05$.

Results

In the study group, 355 (50.0%) women had normal vaginal delivery and 355 (50.0%) women had Caesarean section. Their ages ranged from 19 to 43 with a mean age of 28.96 ± 5.40 years.

Ages ranged from 19 to 42 with a mean age of 28.20 ± 5.21 years in women who had normal vaginal delivery and 19 to 43 with a mean age of 29.72 ± 5.48 years in women who had Caesarean section ($t=3.769$; $p=0.001$). It has been found that the average age of people who delivered by cesarean section is higher than those who had vaginal delivery. Prevalence of postpartum depression was found to be 24.4% ($n=173$) in this study. Prevalence of postpartum depression was 21.7% ($n=77$) in women who had normal vaginal delivery and 27.0% ($n=96$) in women who had Caesarean section. The distribution of women with and without postpartum depression in the study group by mode of delivery and some socio-demographic characteristics is given in Table 1a and Table 1b.

In the study group, number of women who had one pregnancy was 144 (40.6%) in normal vaginal delivery group and 106 (29.9%) in Caesarean section group. 322 (90%) of women who had normal vaginal delivery and 296 (83.4%) of women who had Caesarean section stated that it was a wanted pregnancy. The first marriage ranged from 13 to 36 with a mean age of 21.38 ± 4.00 years in women who had normal vaginal delivery and 13 to 40 with a mean age of 22.21 ± 4.25 years in women who had Caesarean section ($t=2.65$; $p=0.008$). Distribution of women with and without postpartum depression in normal vaginal delivery and Caesarean section groups by

some obstetric and marriage characteristics is given in Table 2.

In the normal vaginal delivery group, 64 (18.0%) women had a history of any health problem during pregnancy, 9 (2.5%) had a history of physical trauma, 234 (63.1%) had a history of food craving and 12 (3.4%) had a history of antidepressant use during pregnancy. In the Caesarean section group, 69 (19.4%) women had a history of any health problem during pregnancy, 14 (3.9%) had a history of physical trauma, 227 (63.9%) had a history of food craving and 8 (2.3%) had a history of antidepressant use during pregnancy. Distribution of women with and without postpartum depression in normal vaginal delivery and Caesarean section groups by some problems during pregnancy is given in Table 3.

In women who had normal vaginal delivery, 125 (35.2%) had a girl and 230 (64.8%) had a boy. Number of women who had a baby with a birth weight of 2500-3499 g was 246 (69.3%). 129 (36.3%) women had a baby with a health problem. In women who had Caesarean section, 155 (43.7%) had a girl and 200 (56.3%) had a boy. Number of women who had a baby with a birth weight of 2500-3499 g was 202 (56.9%). 70 (19.7%) women had a baby with a health problem. Distribution of women with and without postpartum depression in normal vaginal delivery and Caesarean section groups by some characteristics of infant is given in Table 4.

The scores obtained from the Scale of Social Support by the women in the study group ranged from 19 to 84 with a mean score of 73.38 ± 13.23 . The scores obtained from the Scale of Social Support ranged from 19 to 84 with a mean score of 71.08 ± 13.79 in women who had normal vaginal delivery and 12 to 84 with a mean score of 73.89 ± 14.54 in women who had Caesarean section ($t=4.656$; $p=0.001$). The average score from the social support scale in those who have given cesarean section was found to be higher than those who gave normal birth. Distribution of scores obtained from the Scale of Social Support by women with and without postpartum depression in the study group is given and distribution of scores obtained from the Scale of Social Support by women in normal vaginal delivery and Caesarean section groups is given in Table 5.

Table 1a. The distribution of women with and without postpartum depression in the study group by mode of delivery

Mode of delivery	Postpartum depression			Test value (χ^2 ; p)
	No n (%)	Yes n (%)	Total n (%)	
Normal vaginal delivery	278 (78.3)	77 (21.7)	355 (50.0)	2.759; 0.097
Caesarean section	259 (73.0)	96 (27.0)	355 (50.0)	
Total	537 (75.6)	173 (24.4)	700 (100.0)	

Table 1b. Distribution of women with and without postpartum depression in normal vaginal delivery and Caesarean section groups by some socio-demographic characteristics

Some socio-demographic characteristics	Normal Vaginal Delivery Postpartum Depression		Caesarean Section Postpartum Depression	
	No n (%)*	Yes n (%)*	No n (%)*	Yes n (%)*
Age group				
≤ 24	117 (72.7)	44 (27.3)	48 (69.6)	21 (30.4)
25-29	174 (75.0)	58 (25.0)	81 (74.3)	28 (25.7)
≥ 30	246 (77.6)	71 (22.4)	130 (73.4)	47 (26.6)
Test value (X ² ; p)	1.484; 0.476		0.525; 0.769	
Educational status				
Secondary school and below	144 (75.4)	47 (24.6)	130 (67.7)	62 (32.3)
High school and above	134 (81.7)	30 (18.3)	129 (79.1)	34 (20.9)
Test value (X ² ; p)	2.071; 0.150		5.840; 0.016	
Employment status				
Employed	67 (74.4)	23 (25.6)	36 (64.3)	20 (35.7)
Unemployed	211 (79.6)	54 (20.4)	223 (74.6)	76 (25.4)
Test value (X ² ; p)	0.778; 0.378		2.039; 0.153	
Family income status				
Good	99 (85.3)	17 (14.7)	83 (79.8)	21 (20.2)
Moderate	177 (76.6)	54 (23.4)	171 (73.4)	62 (26.6)
Poor	2 (25.0)	6 (75.0)	5 (27.8)	13 (72.2)
Test value (X ² ; p)	17.152; 0.001		21.119; 0.001	
Family type				
Nucleus	205 (76.5)	63 (23.5)	209 (71.6)	83 (28.4)
Extended	73 (83.9)	14 (16.1)	50 (78.4)	13 (20.6)
Test value (X ² ; p)	1.712; 0.191		1.223; 0.269	
Smoking				
Non-smoker	214 (80.1)	53 (19.9)	205 (75.4)	67 (24.6)
Smoker	64 (72.7)	24 (27.3)	54 (65.1)	29 (34.9)
Test value (X ² ; p)	1.732; 0.188		2.922; 0.087	
History of a physician-diagnosed disease requiring constant drug use				
No	253 (77.6)	73 (22.4)	223 (73.6)	80 (26.4)
Yes	25 (86.2)	4 (13.8)	36 (69.2)	16 (30.8)
Test value (X ² ; p)	0.708; 0.400		0.236; 0.627	
Total	278 (78.3)	77 (21.7)	259 (73.0)	96 (27.0)

*Percentages based on the line total

Table 2. Distribution of women with and without postpartum depression in normal vaginal delivery and Caesarean section groups by some obstetric and marriage characteristics

Some obstetric and marriage characteristics	Normal Vaginal Delivery Postpartum Depression		Caesarean Section Postpartum Depression	
	No	Yes	No	Yes
Number of pregnancy				
1	124 (86.1)	20 (13.9)	80 (75.5)	26 (24.5)
2	78 (75.0)	26 (25.0)	62 (75.6)	20 (24.4)
≥ 3	76 (71.0)	31 (29.0)	117 (70.1)	50 (29.9)
Test value (X ² ; p)	9.171; 0.010		1.343; 0.511	
Gestational week				
≤ 36	37 (78.7)	10 (21.3)	80 (75.5)	26 (24.5)
37-40	197 (77.3)	58 (22.7)	62 (75.6)	20 (24.4)
≥ 41	44 (83.0)	9 (17.0)	117 (70.1)	50 (29.9)
Test value (X ² ; p)	0.864; 0.649		1.343; 0.511	
Wanted pregnancy				
Unwanted	26 (78.8)	7 (21.2)	43 (72.9)	16 (27.1)
Wanted	252 (78.3)	70 (21.7)	216 (73.0)	80 (27.0)
Test value (X ² ; p)	0.000; 1.000		0.000; 1.000	
Postpartum period (week)				
≤ 4	37 (74.0)	13 (26.0)	21 (72.4)	8 (27.6)
5-14	53 (81.5)	12 (18.5)	55 (72.4)	21 (27.6)
15-24	64 (75.3)	21 (24.7)	48 (64.9)	26 (35.1)
≥ 25	124 (80.0)	31 (20.0)	135 (76.7)	41 (23.3)
Test value (X ² ; p)	1.661; 0.646		3.727; 0.293	
Number of childbirths				
1	133 (82.6)	28 (17.4)	86 (69.4)	38 (30.6)
2	80 (74.8)	27 (25.2)	81 (77.9)	23 (22.1)
≥ 3	65 (74.7)	22 (25.3)	92 (72.4)	35 (27.6)
Test value (X ² ; p)	3.205; 0.201		2.113; 0.348	

Table 2 (Continued)

First marriage age				
≤ 19	101 (75.9)	32 (24.1)	64 (67.4)	31 (32.6)
20-24	116 (78.4)	32 (21.6)	137 (76.5)	42 (23.5)
≥ 25	61 (82.4)	13 (17.6)	58 (71.6)	23 (28.4)
Test value (X ² ; p)	1.181; 0.554		2.741; 0.254	
Marriage type				
Arranged	55 (65.5)	29 (34.5)	59 (67.8)	28 (32.2)
Love	170 (83.3)	34 (16.7)	169 (76.1)	53 (23.9)
Bride kidnapping/elopement	53 (79.1)	14 (20.9)	31 (67.4)	15 (32.6)
Test value (X ² ; p)	11.201; 0.004		3.018; 0.221	
Total	278 (78.3)	77 (21.7)	259 (73.0)	96 (27.0)

*Percentages based on the line total

Table 3. Distribution of women with and without postpartum depression in normal vaginal delivery and Caesarean section groups by some problems during pregnancy

	Normal Vaginal Delivery Postpartum Depression		Caesarean Section Postpartum Depression	
	No n (%)*	Yes n (%)*	No n (%)*	Yes n (%)*
Some problems during pregnancy				
History of any health problem during pregnancy				
No	228 (78.4)	63 (21.6)	219 (76.6)	67 (23.4)
Yes	50 (78.1)	14 (21.9)	40 (58.0)	29 (42.0)
Test value (X ² ; p)	0.000; 1.000		8.830; 0.003	
History of physical trauma during pregnancy				
No	275 (79.5)	71 (20.5)	252 (73.9)	89 (26.1)
Yes	3 (33.3)	6 (66.7)	7 (50.0)	7 (50.0)
Test value (X ² ; p)	Fisher; 0.004		Fisher; 0.064	
History of food craving during pregnancy				
No	109 (83.2)	22 (16.8)	84 (65.6)	44 (34.4)
Yes	169 (75.4)	55 (24.6)	175 (77.1)	52 (22.9)
Test value (X ² ; p)	2.930; 0.087		5.455; 0.020	
History of antidepressant use during pregnancy				
No	267 (77.8)	76 (22.2)	253 (72.9)	94 (27.1)
Yes	11 (91.7)	1 (8.3)	6 (75.0)	2 (25.0)
Test value (X ² ; p)	Fisher; 0.475		Fisher; 1.000	
History of antidepressant use before pregnancy				
No	271 (79.5)	70 (20.5)	245 (73.4)	89 (26.6)
Yes	7 (50.0)	7 (50.0)	14 (66.7)	7 (33.3)
Test value (X ² ; p)	Fisher; 0.016		0.173; 0.677	
Total	278 (78.3)	77 (21.7)	259 (73.0)	96 (27.0)

*Percentages based on the line total

Table 4. Distribution of women with and without postpartum depression in normal vaginal delivery and Caesarean section groups by some characteristics of infant

	Normal Vaginal Delivery Postpartum Depression		Caesarean Section Postpartum Depression	
	No n (%)*	Yes n (%)*	No n (%)*	Yes n (%)*
Some characteristics of infant				
Sex				
Male	178 (77.4)	52 (22.6)	144 (72.0)	56 (28.0)
Female	100 (80.0)	25 (20.0)	115 (74.2)	40 (25.8)
Test value (X ² ; p)	0.324; 0.569		0.213; 0.644	
Birth weight (gram)				
≤ 2499	14 (73.7)	5 (26.3)	24 (57.1)	18 (42.9)
2500-3499	195 (79.3)	51 (20.7)	145 (71.8)	57 (28.2)
≥ 3500	69 (76.7)	21 (23.3)	90 (81.1)	21 (18.9)
Test value (X ² ; p)	0.515; 0.773		9.178; 0.010	
Any health problem				
No	178 (78.8)	48 (21.2)	226 (79.3)	59 (20.7)
Yes	100 (77.5)	29 (22.5)	33 (47.1)	37 (52.9)
Test value (X ² ; p)	0.075; 0.785		27.844; 0.001	
Breastfeeding status				
No breastfeeding	65 (77.4)	19 (22.6)	92 (73.0)	34 (27.0)
Breastfeeding	213 (78.6)	58 (21.4)	167 (72.9)	62 (27.1)
Test value (X ² ; p)	0.007; 0.932		0.000; 0.985	
Total	278 (78.3)	77 (21.7)	259 (73.0)	96 (27.0)

*Percentages based on the line total

Table 5. Distribution of scores obtained from the Scale of Social Support by women with and without postpartum depression in normal vaginal delivery and Caesarean section groups

Postpartum depression	n (%)	Normal Vaginal Delivery Scale of Social Support Score Median (min-max)	Caesarean Section Scale of Social Support Score Median (min-max)	Total Scale of Social Support Score Median (min-max)
No	537 (75.6)	78.0 (23.0-84.0)	82.0 (25.0-84.0)	79.0 (23.0-84.0)
Yes	173 (24.4)	63.0 (19.0-84.0)	72.5 (12.0-84.0)	69.0 (12.0-84.0)
Total	710 (100.0)	76.0 (19.0-84.0)	81.0 (12.0-84.0)	78.0 (12.0-84.0)
Test value* (z; p)		6.508; 0.001	5.122; 0.001	7.722; 0.001

*Mann-Whitney U test

Discussion

Prevalence of postpartum depression (PPD) was found to be 24.4% in this study. Prevalence of postpartum depression ranges from 15% to 51.3% in the studies conducted in Turkey.⁶⁻⁸ Prevalence of postpartum depression differs in literature. Compared to studies conducted, prevalence of postpartum depression is lower in our study. This low prevalence may result from timing of measurement as well as personal and cultural factors. In the same way, literature determined higher depressive complaints in women with high risk of Caesarean section.^{20,21} In our study findings, no difference in prevalence of postpartum depression was found in women who had normal vaginal delivery and Caesarean section.

In our study, no difference in prevalence of postpartum depression was determined in women who had normal vaginal delivery and Caesarean section in terms of age groups, educational status and employment. It was determined that prevalence of postpartum depression was only higher in women who had poor family income in the Caesarean section group. In the literature, Ozkan et al. determined that there was no significant difference between prevalence of postpartum depression and demographic characteristics and only the group with poor income status was statistically different than the group with good income status.²² Ceber found that there was no difference in terms of age, social security status, employment and family type with a depression risk of 2.87 times higher in women having an extended family than women having a nuclear family and 5 times higher in women with unplanned pregnancy than women with planned pregnancy.²³ In our study, it was determined that socio-demographic characteristics had no effect on the risk of postpartum depression but women with poor income status may be at risk of depression.

In our study, it was found that prevalence of postpartum depression was higher in women who had 3 or more pregnancy in the normal vaginal delivery group, that there was no difference between number of pregnancy and prevalence of postpartum depression in the Caesarean section group and that there was no difference in the prevalence of postpartum depression in terms of pregnancy period and wanted/unwanted status of pregnancy in both groups. This may be due to the fact that the mother feels inadequate and exhausted due to

being in a caring position for more than one child. Goweda & Metwally has shown that mothers with multiple children are more likely to have depression than those with only one child.²⁴ In the same study, beside previous factors increasing risk of depression, unplanned pregnancy was found to be one of the significant factors in the current study to increase Edinburgh Postnatal Depression Scale scores. Ceber found that the risk of depression was 5 times higher in women with unplanned pregnancy than those with planned pregnancy.²³ Because multi-parity increases both the physical and financial burden of childcare, it can increase the risk of family stress and Postpartum Depression.

Ozkan et al. reported that the difference between the scores of the Edinburgh Postnatal Depression Scale in women having their first pregnancy and women having more than one pregnancy was statistically significant in favor of women having their first pregnancy.²² Although primiparous mothers have higher scores of Postnatal Depression Scale, the difference is not significant. Postnatal depression scores may be higher due to increased stress after childbirth in primiparous mothers. Likewise, while there is no statistical difference between Caesarean section and vaginal delivery in terms of postpartum depression risk, mean scores obtained from the Edinburgh Postnatal Depression Scale by women in the Caesarean section group were found to be higher. This may be caused by higher number of problems experienced in the postpartum period by mothers who had Caesarean section and higher scores of traumatic childbirth perception in the Caesarean section group.

In our study, no difference in terms of prevalence of postpartum depression was determined between women with and without a history of health problem during pregnancy in the normal vaginal delivery group. However, the prevalence of postpartum depression was found to be higher in women with no history of health problem during pregnancy in the Caesarean section group. The results of our study are consistent with the literature.

Our study found that the women who used antidepressant before pregnancy in the normal vaginal delivery group had higher prevalence of postpartum depression and that there was no difference in terms of prevalence of postpartum depression between women who used and didn't use antidepressant before pregnancy in the Caesarean section group. It was

reported that the risk of developing postpartum depression is 3 times higher in people with a history of depression. In the literature, it is stated that pregnancy stress affects the postpartum period of the mother and causes depression, low birth weight and premature birth.^{25,26}

In our study, it was found that there was no difference between women having a baby with and without health problem in terms of prevalence of postpartum depression in the normal vaginal delivery group; however, women having a baby with a health problem in the Caesarean section group had higher prevalence of postpartum depression. No relationship was determined between postpartum depression and the infant's health. Gumus et al. reported that having a baby with a health problem is an important risk factor for postpartum depression.²⁷

In our study, the level of social support perceived by women who had Caesarean section was higher than those who had normal vaginal delivery. Social support ensures well-being of both mother and fetus. Having limited social support during pregnancy may cause depression during pregnancy or in postpartum period¹⁴. Furthermore, it is associated with low birth weight and increases smoking during pregnancy, birth complications, the risk of premature labor and intrauterine growth retardation.^{30,31} Women need to receive support and feel that they are cared during pregnancy.³⁰ ³² Pregnant women prefer to receive support from emotionally strong people.³¹ ³³ 74.5% of the women in Turkey need social support for childbirth. Women expect to receive support mostly from their family, spouse and healthcare professionals.³⁴

Psychosocial factors that increase the risk of postpartum depression are lack of social support, financial problems, stressful events and unwanted pregnancies.²⁴ Unplanned pregnancy disrupts maternal bond after childbirth and the risk of depression increases in mothers who cannot develop a bond with their baby. Ozkan et al. reported that the risk of depression is higher in mothers having unplanned pregnancy.²² In a study conducted to review maternal depression in planned and unplanned pregnancies, it was reported that women who had unplanned pregnancy are at risk of developing depression 2.5 times higher than those who had planned pregnancy in both assessments (during pregnancy and childbirth).³³ The results of our study are consistent with the literature.

The scores obtained from the scale of social support by the women who had postpartum depression in the study group were found to be lower. It was determined that the levels of social support perceived by women with postpartum depression were lower in both normal vaginal delivery group and Caesarean section group.

Conclusion

Postpartum depression is one of important mental health problems in women. In our study, no difference in prevalence of postpartum depression was found in women who had normal vaginal delivery and Caesarean

section. In the Caesarean section group, postpartum depression was higher in women whose educational level is secondary school and lower, whose family income level is poor, those with a history of any health problem during pregnancy, those with no history of food craving during pregnancy, those who gave birth to a baby with a birth weight of <2500 g and those having a baby with a health problem. Level of perceived social support was higher in women who had Caesarean section. It was determined that the levels of social support perceived by women with postpartum depression were lower in both normal vaginal delivery group and Caesarean section group. Screenings for early diagnosis of postpartum depression, offering psychological counseling to women to cope with this problem and increasing social support level may be advantageous. More comprehensive studies are required to establish the relationship between mode of delivery and postpartum depression.

Limitations

The limitations of the study may include the facts that it is differences between normal delivery and women who have been given by cesarean section, and they are not matched and there are differences between the sociodemographic characteristics, negative childbirth experience is associated with postpartum depression no questions asked, a cross-sectional study, it was conducted on the women who presented to one hospital only and it is not possible to establish definitive diagnosis with the scales used.

Compliance with Ethical Standards

The approval of Sakarya University's Ethics Committee for Researches Other Than Drugs and Medical Devices was obtained with the resolution (number and dated 71522473/050.01.04/259) and permission of hospital management were obtained to conduct the study.

Conflict of Interest

The author declares no conflicts of interest.

Author Contribution

SS, SDG, KO, AU: Study concept and design; KO, SDG: Acquisition of subjects and data; SS, KO, AU: Analysis and interpretation of data; SS, KO, SDG, AU: Preparation of manuscript. All the authors contributed to the writing of the paper. All authors read and approved the final manuscript.

Financial Disclosure

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

Acknowledgements

Thanks to women who participated in this study.

Authors' Note

Abstract of this study was presented as an oral presentation at 4th International Congress of Pregnancy, Delivery and Postpartum, 2020, Turkey.

References




- Guedes GW, Sousa MNA, Lima TNFA, Lima MNFA, Davim RMB, Costa TS. Pregnant women knowledge about the benefits of normal birth in prenatal consultation. *Journal of Nursing UFPE online*. 2016;10:3860-7. doi:10.5205/reuol.9667-87805-1-ED1010201618.
- Adams ED. Birth environments: a woman's choice in the 21st century. *The Journal of Perinatal & Neonatal Nursing*. 2016;3:224-227.
- Biaggi A, Conroy S, Pawlby S, Pariante CM. Identifying the women at risk of antenatal anxiety and depression: a systematic review. *Journal of Affective Disorders*. 2016;191:62-77. doi:10.1016/j.jad.2015.11.014
- Faisal-Cury A, Levy BR, Kontos A, Karen TK, Matijasevich A. Postpartum bonding at the beginning of the second year of child's life: the role of postpartum depression and early bonding impairment. *Journal of Psychosomatic Obstetrics & Gynecology*. 2020;41:224-230. doi:10.1080/0167482X.2019.1653846
- Daoud N, O'Brien K, O'Campo P, et al. Postpartum depression prevalence and risk factors among indigenous, non-indigenous and immigrant women in Canada. *Can J Public Health*. 2019;110: 440-452. doi:10.17269/s41997-019-00182-8
- Aytac HS, Yazıcı S. The effect of social support on pregnancy and postpartum depression. *International Journal of Caring Sciences*. 2020;13:746-758.
- Demir S, Sentürk MB, Cakmak Y, Altay M. Postpartum depression and associated factors in patients who admitted to our clinic to make child birth. *The Medical Bulletin of Haseki*. 2016;54:83-89. doi:10.4274/haseki.2856
- Ozcan NK, Boyacioglu NE, Dinc H. Postpartum depression prevalence and risk factors in Turkey: a systematic review and meta-analysis. *Arch. Psychiatr. Nurs*. 2017;31:420-428. doi:10.1016/j.apnu.2017.04.006
- National Institute for Health and Care Excellence. Antenatal and postnatal mental health: clinical management and service guidance. 2014. doi:10.1109/ICPHM.2017.7998331
- Hellfeldt K, López-Romero L, Andershed H. Cyberbullying and Psychological Well-being in Young Adolescence: The potential protective mediation effects of social support from family, friends, and teachers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020;17:2-16. doi:10.3390/ijerph17010045
- Onyedibe MCC, Ugwu LI, Mefoh PC, Onuiri C. Parents of children with down syndrome: do resilience and social support matter to their experience of career stress? *Journal of Psychology in Africa*. 2018;28:94-99. doi:10.1080/14330237.2018.1455308
- Borgmann LS, Rattay P, Lampert T. Single Parents in Germany: The interrelation between social support and mental health. *Gesundheitswese*. 2019;81:977-985. doi:10.1055/a-0652-5345
- Karaca A, Yildirim N, Cangur S, Acikgoz F, Akkus D. Relationship between mental health of nursing students and coping, self-esteem and social support. *Nurse Educ Today*. 2019;76:44-50. doi:10.1016/j.nedt.2019.01.029
- Li Y, Long Z, Cao D, Cao F. Social support and depression across the perinatal period: a longitudinal study. *Journal of Clinical Nursing*. 2017;26:2776-2783. doi:10.1111/jocn.13817
- Wang J, Mann F, Lloyd-Evans B, Ma R, Johnson S. Associations between loneliness and perceived social support and outcomes of mental health problems: a systematic review. *BMC Psychiatry*. 2018;18:156. doi:10.1186/s12888-018-1736-5
- Orr ST, James SA, Blackmore PC. Maternal prenatal depressive symptoms and spontaneous preterm births among african american women in baltimore, maryland. *Am J Epidemiol*. 2002;156:797-802. doi:10.1093/aje/kwf131
- Engindeniz AN, Kuey L, Kultur S. Reliability and validity study of turkish form for edinburgh postnatal depression scale. spring symposiums book 1. Ankara: *Psychiatric Association Publications*. 1997;51-52. doi:10.19127/mbsjohs.820538
- Zimet GD, Dahlem NW, Zimet SG, Farley GK. The multidimensional scale of perceived social support. *Journal of Personality Assessment*. 1988;52:30-41. doi:10.1207/s15327752jpa5201_2
- Eker D, Arkar H, Yaldiz H. Factorial structure, validity, and reliability of revised form of the multidimensional scale of perceived social support. *Turkish Journal of Psychiatry*. 2001;2:18-25.
- Chen HH, Lai JC, Hwang SJ, Huang N, Chou YJ, Chien LY. Understanding the relationship between cesarean birth and stress, anxiety, and depression after childbirth: a nationwide cohort study. *Birth*. 2017;44:369-376. doi:10.1111/birt.12295
- Mahishale VA, Bhatt AJ. Comparison of level of depression among mothers with lower segment cesarean section and vaginal delivery: a cross-sectional study. *Journal of the Scientific Society*. 2017;44:15-19. doi:10.4103/0974-5009.202547
- Ozkan H, Ust ZD, Gundogdu G, Capik A. Sahin SA. The relationship between breast feeding and depression in the early postpartum period. *The Medical Bulletin of Sisli Hospital*. 2014;2:125-132. doi:10.5350/SEMB.20140206061410
- Ceber E, Bilge A, Mermer G, Yucel U. Risk of postnatal depression and pregnancy in bornova, izmir. *Turkiye Klinikleri J Gynecol Obst*. 2010; 20:1-9.
- Goweda R, Metwally T. Prevalence and associated risk factors of postpartum depression: a cross sectional study, *Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)*. 2020;47:106-110. doi:10.1590/0101-60830000000242
- Handelzalts JE, Peyser A, Krissi H, Levy S, Wiznitzer A, Peled Y. Indications for emergency intervention, mode of delivery, and the childbirth experience. *Plos One*. 2017;12. doi:10.1371/journal.pone.0169132.
- Cankaya S. The effect of psychosocial risk factors on postpartum depression in antenatal period: A prospective study. *Archives of Psychiatric Nursing*. 2020;34:76-83. doi:10.1016/j.apnu.2020.04.007
- Gumus BA, Keskin G, Alp N, Ozyar S, Karsak A. The prevalence of postpartum depression and associated variables. *New Symposium Journal*. 2012;50:145-154.
- Gelaye B, Rondon MB, Araya R, Williams MA. Epidemiology of maternal depression, risk factors, and child outcomes in low-income and middle-income countries, *Lancet Psychiatry*. 2016;3:973-982. doi:10.1016/S2215-0366(16)30284-X

29. Silveira MF, Victora CG, Horta BL, da Silva BG, Matijasevich A, Barros FC. Low birthweight and preterm birth: trends and inequalities in four population-based birth cohorts in Pelotas, *International journal of epidemiology*. 2019;1982-2015. doi:10.1093/ije/dyy106
30. Karacam Z, Akyuz EO. Supportive care in labor and the role of midwife / nurse. *Florence Nightingale Journal of Nursing*. 2011;19:45-53.
31. Kabakian Khasholian T, El-Nemer A, Bashour H. Perceptions about labor companionship at public teaching hospitals in three arab countries. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. 2015;29:223-226. doi:10.1016/j.ijgo.2014.12.005
32. Timur S, Hotun Sahin N. Women's social support preferences and experiences during labor. *Journal of Research and Development in Nursing*. 2010;12:29-40.
33. Faisal -Cury A, Menezes PR, Quaylel J, Santiago K, Matijasevich A. The relationship between indicators of socioeconomic status and cesarean section in public hospitals. *Rev Saúde Pública*. 2017;51:14.

Araştırma Makalesi | Research Article

AFTÖZ STOMATİT, FARANJİT VE ADENİT İLE SEYREDEN PERİYODİK ATEŞ (PFAPA) İLE TAKİPLİ HASTALARIN KLİNİK İZLEM VE TEDAVİ YANITLARI

CLINICAL FOLLOW-UP AND TREATMENT RESPONSES OF PATIENTS WITH PERIODIC FEVER WITH APHTHOUS STOMATITIS, PHARYNGITIS, AND ADENITIS (PFAPA)

 Yunus Emre Bayrak^{1*},  Nihal Şahin¹,  Hafize Emine Sönmez¹

¹Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Romatoloji Bilim Dalı, Türkiye.



Öz

Amaç: Çocuk romatoloji polikliniğine aftöz stomatit, faranjit ve adenit ile seyreden periyodik ateş (PFAPA) tanısı ile izlenen hastaların klinik ve tedavi yanıtlarının değerlendirilmesini amaçladık.

Yöntem: Ağustos 2020-Ağustos 2022 arasında PFAPA tanısı alan olguların klinik özellikleri, laboratuvar verileri ve tedavi yanıtları geriye dönük olarak incelendi.

Bulgular: Çalışmaya 109 hasta dahil edildi. Hastaların 41'i (%37,6) kız, 68'i (%62,4) ise erkekti. Hastaların ortanca yaşı 46 (17-165) aydı. Ateşten sonra görülen en sık klinik bulgular sırasıyla; faranjit (%76,1), kript (%61,5), oral aft (%46,8) ve karın ağrısıydı (%38,5). Altmış beş hasta (%59,6) atak esnasında steroid (1 mg/kg/doz) ile tedavi edildi ve 52'sinin (%80) atağı steroid ile sonlandı. Ancak 9 (%13,8) hasta steroid sonrasında atak sıklığında artış olduğunu bildirdi. Kırk bir (%37,6) hastaya kolşisin verildi. Hastaların yaklaşık yarısı (%53,6) kolşisin ile atak sıklığının azaldığını söyledi. Sekiz hastaya tonsilektomi yapıldı. Tonsilektomi sonrasında tüm hastalar ataklarının sonlandığını veya belirgin azaldığını bildirdi. Kolşisin yanıtı olan hastaların hepsinde MEFV (Mediterranean FeVer) gen analizlerinde mutasyon saptandı.

Sonuç: En sık görülen periyodik ateş sendromu olması nedeni ile klinik pratikte çocuk hekimlerinin sık sık karşısına çıkan bir tablodur. Referans merkez olarak görev alan kliniğimizdeki tecrübeler bu hastalarla günlük pratiğinde uğraşan çocuk hekimlerine bir yol haritası çizebilir.

Anahtar Kelimeler: PFAPA, tekrarlayan ateş, ailevi Akdeniz ateşi

ABSTRACT

Objective: We aimed to evaluate the clinical and treatment responses of patients who were followed with the diagnosis of periodic fever with aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis (PFAPA).

Methods: The clinical features, laboratory data, and treatment responses of patients diagnosed with PFAPA between August 2020 and August 2022 were analyzed, retrospectively.

Results: The study group consisted of 109 patients. Of them, 41 (37.6%) were female and 68 (62.4%) were male. The median age of the patients was 46 (17-165) months. The most common clinical finding was fever, followed by pharyngitis (76.1%), exudative pharyngitis (61.5%), oral aphthous (46.8%), and abdominal pain (38.5%). Sixty-five patients (59.6%) were treated with steroids (1 mg/kg/dose) during the attack, and the attacks of 52 (80%) patients ended with steroids. However, 9 (13.8%) patients reported an increased frequency of attacks after steroids. Forty-one (37.6%) patients were given colchicine. About half of the patients (53.6%) stated that the frequency of attacks decreased with colchicine. Eight patients underwent tonsillectomy. After tonsillectomy, all patients reported that their attacks stopped or decreased significantly. The MEFV (Mediterranean FeVer) gene analyses revealed at least one mutation in all patients who were responsive to colchicine.

Conclusion: Since PFAPA is the most common periodic fever syndrome, pediatricians frequently encounter this issue in daily clinical practice. Our experiences about this common rheumatic disease as a reference center may provide a roadmap for pediatricians while dealing with these patients.

Keywords: PFAPA, periodic fever, familial Mediterranean fever

*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Yunus Emre Bayrak; Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Romatoloji Bilim Dalı, Kocaeli, Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (537) 573 84 01 e-posta/e-mail: yeb6141@gmail.com

Başvuru/Submitted: 16.01.2023

Kabul/Accepted: 28.03.2023

Online Yayın/Published Online: 21.10.2023



Giriş

Otoinflamatuvar hastalıklar doğal bağışıklık sisteminin hastalıklarıdır ve otoimmün hastalıklardan farklı olarak otoantikörler veya antijen-spesifik T hücreleri ile ilişkili değildir.¹ Tekrarlayan ateş sendromları otoinflamatuvar hastalıkların prototipini oluşturur. PFAPA sendromu dünyada en sık görülen tekrarlayan ateş sendromudur. Klasik klinik bulguları yineleyen ateş, aftöz stomatit, farenjit ve servikal adenittir. Hastalık genellikle erken çocukluk döneminde klinik bulgu verir ve başlangıcı genellikle beş yaş altındadır.² Hastalık her ne kadar sık görülse de sıklığını ortaya koyan net bir epidemiyolojik çalışma yoktur. Norveç'te yapılan bir çalışmaya göre kümülatif insidansı on binde 2,3 olarak bildirilmiştir.³ Hastalığın etyopatogenezi net olarak bilinmemektedir. En sık kabul gören görüş, hastalığa eğilimi olan bireylerde bağışıklık sisteminin bir tetikleyiciye abartılı yanıt vermesidir.⁴ Ayrıca, bazı çalışmalar MEFV genindeki mutasyonların PFAPA hastalığında düzenleyici bir rolü olduğunu savunmaktadır.⁵

Hastalık ataklar halinde seyretmektedir. Her ne kadar atak arası çocuklar tamamen normal olsa da hastalık hem çocukların hem de ebeveynlerin yaşam kalitesini düşürmektedir. Tipik bir PFAPA atağı ateş, farenjit, oral aftöz lezyonlar ve servikal lenfadenit ile birlikte seyredir, 3-7 gün sürer ve 2-8 haftada bir tekrarlar. Ayrıca ataklarda karın ağrısı, artralji, artrit, baş ağrısı, döküntü, ishal ve kusma yakınmaları da gözlenebilir.² Tedavi seçenekleri arasında atak esnasında steroid uygulaması, kolşisin ve tonsillektomi vardır.²

En sık görülen periyodik ateş sendromu olması nedeni ile klinik pratikte çocuk hekimlerinin sık sık karşısına çıkan bir tablodur. Bu nedenle, çalışmamızda kliniğimizde takipli PFAPA hastalarının klinik bulgularının ve tedavi yanıtlarının değerlendirilmesini amaçladık. Kliniğimizdeki tecrübelerimizi paylaşarak bu hastalarla günlük pratiğinde uğraşan çocuk hekimlerine bir yol haritası çizmeyi planladık.

Yöntem

Çalışmaya Ağustos 2020-Ağustos 2022 arasında Kocaeli Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı'nda PFAPA sendromu tanısı ile takip edilen 0-18 yaş arası hastalar dahil edildi. Kocaeli Üniversitesi Etik Kurulu'ndan çalışma için onay alındıktan sonra çalışmaya başlandı (Onay numarası ve tarihi:2022/278-17.10.2022).

PFAPA tanılı hastaların verileri elektronik dosyalardan geriye dönük olarak tarandı. Öncelikle demografik verileri (yaş, cinsiyet, tanı yaşı), klinik bulguları ve atak anındaki laboratuvar bulguları [tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C-reaktif protein (CRP)] kaydedildi. Tüm hastaların atak sıklığı, süresi, atakların düzenli olup olmaması, beraberinde eşlik eden karın ağrısı, göğüs ağrısı, eklem ağrısı, baş ağrısı, döküntü, eklem şişliği, oral aft, kusma, ishal, kas ağrısı veya konjunktivit olup olmadığı not edildi. Ayrıca hastaların eşlik eden

hastalıklarının olup olmadığı, kullandığı tedaviler ve tedavi sonrasında atak sıklığı ve süresinde değişiklik olup olmadığı da kaydedildi. MEFV gen analiz sonuçları da elektronik dosyalardan çıkarıldı. MEFV gen analizi Sanger dizileme yöntemi ile bakılarak yapıldı. Aft, servikal adenit, farenjit gibi klasik hastalık bulgularının yanı sıra karın ağrısı, artrit, eklem ağrısı gibi ek bulguları olan hastalara MEFV gen analizi bakıldı.

PFAPA tanısı Vanoni ve ark. tarafından oluşturulan PFAPA sınıflandırma kriterlerine göre belirlenmiştir.⁶ Bu kriterler aşağıda sıralanmıştır:

- 1) Hastalığın 6 yaşından önce başlaması,
- 2) 6 ay veya daha uzun süredir tekrarlayan ateş atakların olması (2-7 gün arası süren, aksiller ölçüm $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$), (Atak aralıkları ≤ 2 ay olmak üzere ≥ 5 düzenli tekrarlayan ateş atağının olması),
- 3) Aft, servikal adenit, farenjit bulgularından en az birinin her atakta, en az ikisinin atakların çoğunda olması,
- 4) Atakların tam iyileşmesi,
- 5) Normal büyümenin olması,
- 6) İmmün yetmezlik, enfeksiyonlar, siklik nötropeni ve diğer ateş yapan nedenlerin dışlanması.

İstatistiksel Yöntem

SPSS software kullanılarak veri tabanı oluşturuldu. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilks) incelendi. Tanımlayıcı analizlerde, normal dağılıma uymayan ve ordinal değişkenler için ortanca (minimum-maksimum) değer kullanıldı.

Bulgular

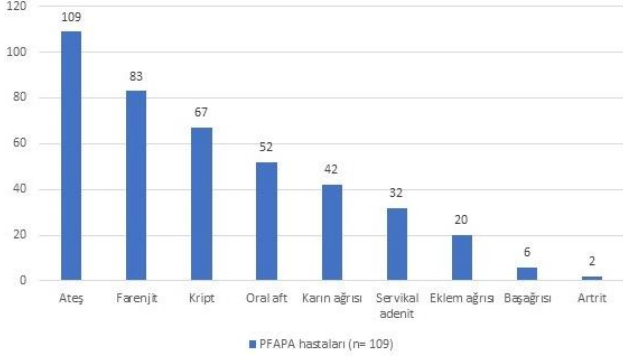
Çalışmaya 109 hasta dahil edildi. Hastaların 41'i (%37,6) kız, 68'i (%62,4) ise erkekti. Hastaların ortanca yaşı, semptom başlanma yaşı, tanı yaşı sırasıyla 46 (17-165), 24 (3-120), 40 (12-140) aydı.

Hastaların klinik özellikleri incelendiğinde; hastaların hepsinde (%100) ateş, 83'ünde (%76,1) farenjit, 67'sinde (%61,5) kript, 51'inde (%46,8) oral aft, 42'sinde (%38,5) karın ağrısı, 32'sinde (%29,4) lenfadenopati, 20'sinde (%18,3) eklem ağrısı, 6'sında (%5,5) baş ağrısı, 2'sinde (%1,8) artrit şikayeti vardı (Şekil 1). Hastaların atak sıklığı yılda ortanca 12 (4-52) idi ve ortanca atak süreleri 5 (2-10) gündü.

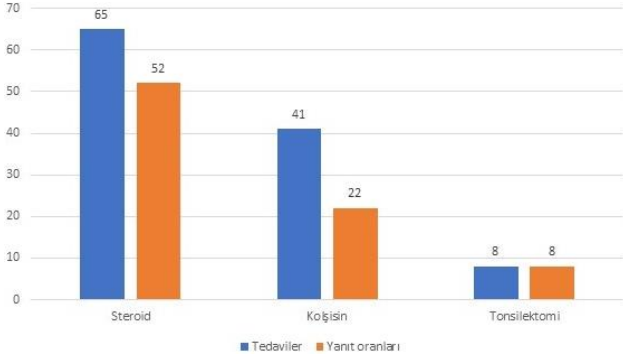
Atak esnasında bakılan laboratuvar verilerinde, ortanca lökosit sayısı 12257 (5760-20000)/mm³, C-reaktif protein 52 (7-220) mg/L ve eritrosit sedimentasyon hızı 32 (3-94) mm/saattir. Atak esnasında 32 (%29,3) hastanın boğaz kültürüne bakılmıştı ve hiçbirinde üreme saptandı.

Hastalara verilen tedaviler incelendiğinde; 65 hastaya (%59,6) atak esnasında steroid (1 mg/kg/doz) tedavisi verildi. Steroid yanıtı değerlendirildiğinde 52'sinde (%80) steroid ile atak sonlandı. Ancak 9 (%13,8) hastada steroid sonrasında atak sıklığında artış olduğu gözlemlendi. Kırk bir (%37,6) hastaya kolşisin başlanmıştı. Hastaların yarısında (%53,6) kolşisin yanıtı gözlemlendi. Dört (%9,7) hasta kolşisin

sonrasında karın ağrısı ve ishal yakınması bildirdi ancak ilacı kesmeyi gerektiren yan etki olmadı. Kırk (%36,6) hastaya tonsilektomi önerildi. Ancak hastaların sadece 8'i (%20) tonsilektomi yaptırmayı kabul etti. Tonsilektomi sonrasında tüm hastalar ataklarının sonlandığını veya belirgin azaldığını bildirdi (Şekil 2).



Şekil 1. Hastaların klinik bulgularının dağılımı



Şekil 2. Hastaların aldığı tedavilerin dağılımı

Yirmi dokuz (%26,6) hastada ek hastalık mevcuttu ve en sık eşlik eden hastalık alerjik (astım, atopi, alerjik rinit) yakınmalardı.

MEFV gen analizi 68 (%62,4) hastada yapıldı. En sık saptanan mutasyon sırasıyla M69V/- (n=12), E148Q/- (n=4), V726A/- (n=3), M694V/P369S (n=3), P369S/- (n=2), P588P/P588P (n=1), M694V/M694V (n=1) ve M680I/- (n=1) idi. Kolşisin yanıtı olan hastaların hepsinde MEFV gen analizlerinde mutasyon saptanmıştı. Artrit şikayeti olan 2 hastanın yapılan MEFV gen analizinde mutasyon saptanmadı.

Tartışma

Bu çalışmamızda PFAPA tanısı ile izlenen 109 hasta değerlendirilmiştir. PFAPA sendromu çocukluk çağında en sık görülen periyodik ateş sendromudur. Hastalığın tanısına yardımcı özgün bir laboratuvar yöntemi yoktur. Hastalığın doğru tanısı için klinik özelliklerinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Kliniğimiz Doğu Marmara Bölgesi'nde referans merkez olarak görev almaktadır. Bu nedenle, klinik tecrübelerimizin paylaşılması önem arz etmektedir. Hastaların demografik özelliklerini incelediğinde cinsiyet dağılımı ile ilgili veriler değişiklik göstermektedir. Her iki cinsiyetin eşit olarak etkilendiğini bildiren yayınlar olsa da

erkekleri daha sıklıkla etkilendiğini savunan çalışmalar çoğunluktadır.^{3,7-9} Çalışmamızda da erkeklerin kızlara oranla 1,6 kat daha fazla etkilendiği bulunmuştur. Hastalığın başlangıç yaşı genellikle 5 yaşından öncedir. Ancak coğrafi bölgelere göre fark görülebilir. Örneğin, Türkiye ile Amerika Bileşik Devleti'nde PFAPA tanısı alan hastalar karşılaştırılmış ve Türkiye'de hastalığın anlamlı olarak daha küçük yaşlarda başladığı (12 aya karşılık 36 ay, p<0,001) gösterilmiştir.⁷ Uluslararası yapılan bir çalışmada ise hastaların semptom başlama yaşı ortanca 1,7 yıl iken tanı yaşlarının ortanca 4 yıl olduğu bulunmuştur.⁸ Çalışmamızda ise ortanca semptom başlama yaşı 24 ayken tanı yaşı 40 ay olarak saptanmıştır. Tanıdaki gecikme hekimler arasında farkındalığın düşük olmasına ve referans merkeze ulaşana kadar zaman kaybedilmesine bağlı olabilir.

Tipik PFAPA atağına ateşe ek olarak farenjit, oral aft ve servikal lenfadenit gibi bazı ana semptomlar eşlik eder. Ataklar her 2-8 haftada bir tekrarlar ve 3-6 gün sürer.^{3,7-9} Daha önce yapılan çalışmalara benzer şekilde hastalarımızın atak aralığı ortanca 4 hafta, atak süresi ise ortanca 5 gün olarak izlenmiştir. Ateş dışında en sık görülen ana bulgu farenjittir (>%90) ve bunu sırasıyla servikal adenit (~%75) ve oral aft (~%50) izler.⁷⁻¹² Literatüre benzer şekilde çalışmamızda da ateş dışında en sık görülen semptom farenjittir (%76,1). Ancak hastalığın klinik seyrinin coğrafi bölgelere göre değişiklik gösterebildiği akılda tutulmalıdır. Örneğin Türkiye'de PFAPA tanısı alan hastalarda farenjit daha sıkken ABD'de tanı alanlarda ise adenit, baş ağrısı ve bulantı kusma daha sık bulunmuştur.⁷ Bu ana bulgular dışında ataklara karın ağrısı, bulantı-kusma, baş ağrısı gibi ek bulgular da eşlik edebilir. En sık görülen ek bulgu karın ağrısıdır ve ülkemizde yapılan büyük serili çalışmalarda PFAPA hastalarında karın ağrısı sıklığı %41-%45,1 olarak bildirilmiştir.^{7,13} Literatüre benzer şekilde çalışmamızda da ana bulgular dışında en sık görülen semptomun karın ağrısı (%38,5) olduğu görülmüştür.

PFAPA hastalarında atak esnasında akut faz belirteçleri yükselirken, atak aralarında bu değerler normale dönmektedir. Yine bu hastaların büyüme ve gelişmeleri etkilenmemekte, atak arası dönemlerde hastalar tamamen sağlıklı görünmektedir.² Çalışmamızda da hastalarımızın atak esnasında bakılan beyaz küre sayısı, CRP ve ESR düzeylerinin arttığı görülmüştür. Ancak çalışmamızın geriye yönelik tasarımı gereği ataksız dönemdeki kan değerleri bilinmemektedir.

Hastalığın tedavisi için kabul edilen bir fikir birliği yoktur. Tedavinin amacı akut atağı kontrol altına almak, atak sıklığını ve süresini azaltmaktır.² Manthiram ve ark.¹⁴ hekimlerin PFAPA sendromunun tanı ve tedavisine ilişkin bakış açılarını incelemiş ve sonuç olarak antipiretikler, simetidin ve kortikosteroidlerin en sık reçete edilen tedaviler olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca hekimlerin %57'si hastalara tonsilektomi önerdiğini ve kortikosteroidler ile tonsillektominin en etkili tedavi yöntemi olduğunu bildirmişlerdir. Peridis ve ark.¹⁵ yaptıkları meta-analizde ise PFAPA sendromu semptomlarının uzun süreli çözümü için tonsillektominin en etkili tedavi olduğunu savunmuşlardır. Otoinflamatuar

hastalıkların tedavi yanıtlarını değerlendirmek için uluslararası kayıt kütükleri incelenmiş ve tedavilerin kanıt düzeyleri sırasıyla (adeno)tonsillektomi için 1a, kortikosteroidler için 2b, ve anakinra için 4 olduğu bulunmuştur.¹⁶ Çalışmamızda da hastaların çoğu (%59,6) atak esnasında steroid ile tedavi edilmiştir. Ayrıca 8 hastaya tonsillektomi yapılmış ve hepsinde atakların sonlandığı gözlenmiştir. Steroid tedavisi oldukça etkili bir tedavi olsa da bazı olgularda steroid sonrasında atak sıklığının arttığı ve atak sürelerinin azaldığı gözlenmektedir.¹² Çalışmamızda hastaların %80'i steroid yanıtı iken %13,8'inde steroid sonrasında atak sıklığında artış olduğu gözlenmiştir. Bu durum daha önceki çalışmalarda %33 olarak bildirilmiştir.¹²

PFAPA sendromu ve ailevi Akdeniz ateşi (AAA) arasındaki güçlü bir ilişki olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur.² Butbul-Aviel ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, 270 PFAPA hastası incelenmiş ve hastaların 51'ine (%18,9) ek olarak AAA tanısı konulmuştur. Bu hastaların 50'si hem Marshall'ın PFAPA sınıflama kriterlerini¹⁷ hem de Yalçinkaya-Özen AAA sınıflama kriterlerini¹⁸ karşıladığı ve yaklaşık %70'inde AAA tanısını destekleyici yönde mutasyon olduğu bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada bu çocukların çoğunda PFAPA ve AAA'yı aynı anda düşündürülen semptomlar; karın ağrısı, artralji ve miyalji olarak kayıt edilmiştir.¹¹ Ülkemizde yapılan geniş serili bir çalışmada ise PFAPA tanılı hastaların %59,9'unda MEFV geninde mutasyon saptanmış ve en sık mutasyonun da M694V (%29,3) olduğu bildirilmiştir.¹⁹ Çalışmamızda benzer şekilde PFAPA semptomlarına eşlik eden karın ağrısı, artraljisi ve miyaljisi olan hastalardan MEFV gen analizi yapılmıştır. Bu hastalara eş zamanlı kolşisin tedavisi uygulanmış ve genetik analizlerinde en sık mutasyon M694V olarak saptanmıştır. Ayrıca kolşisin tedavisine yanıt veren hastaların tamamında MEFV gen analizinde mutasyon bulunmuştur. Ülkemizde AAA sıklığı göz önünde bulundurulursa PFAPA hastalarının bu açıdan sorgulanması önemlidir.

Ayrıca çalışmamızda hastalara en sık eşlik eden hastalıklar astım, atopi, alerjik rinit gibi alerjik durumlarıdır. Çocukluk çağında özellikle alerjik rinit ve astım gibi alerjik hastalığı olan bireylerde üst solunum yolu enfeksiyonlarına (Akut sinüzit, otitis media v.b) karşı yatkınlık olduğu bilinmektedir.²⁰ Bu durumda da sık tekrarlayan ateş olabileceğinden PFAPA atakları ile karışabilir. Ancak PFAPA'da ateş aralarının düzenli olması ve mevsimsel değişiklik göstermemesi ayırt ettirici özellikleridir.²

Çalışmamızın en önemli kısıtlılıkları; geriye dönük olması, hasta sayısının az, tek merkezden olması ve hastaların aile hikayelerine ilişkin verilerin eksik olmasıdır. Ancak kliniğimiz referans merkez olduğu göz önünde bulundurulduğunda sonuçlarımız bu hastalarla günlük pratiğinde uğraşan çocuk hekimlerine yardımcı olabilir.

Sonuç olarak ülkemiz gibi AAA'nın çok sık olduğu ülkelerde PFAPA ataklarına özellikle karın ağrısı da eşlik ediyorsa mutlaka MEFV gen analizi yapılmalı ve bu hastalığın tedavisinde tonsillektomi en etkili tedavi olarak gözüke de MEFV gen mutasyonu olanlarda kolşisin tedavisi tonsillektomiden önce etkili bir tedavi alternatifi olarak değerlendirilmelidir.

Etik Standartlara Uygunluk

Çalışmaya başlamadan önce Kocaeli Üniversitesi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Onay numarası ve tarihi:2022/278-17.10.2022).

Çıkar Çatışması

Yazarların konuyla ve/veya herhangi başka bir yazar ile ilgili maddi veya manevi bir çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Yazar Katkısı

YEB, NŞ, HES: Çalışmanın tasarımı, veri toplanması ve analizi, kaynak taraması ve makale yazımı esnasında ortak çalışmıştır.

Kaynaklar

1. Centola M, Aksentijevich I, Kastner DL. The hereditary periodic fever syndromes: molecular analysis of a new family of inflammatory diseases. *Hum Mol Genet.* 1998;7(10):1581-1588. doi:10.1093/hmg/7.10.1581
2. Batu ED. Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) syndrome: main features and an algorithm for clinical practice. *Rheumatol Int.* Jun 2019;39(6):957-970. doi:10.1007/s00296-019-04257-0
3. Forsvoll J, Kristoffersen EK, Oymar K. Incidence, clinical characteristics and outcome in Norwegian children with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and cervical adenitis syndrome; a population-based study. *Acta Paediatr.* Feb 2013;102(2):187-192. doi:10.1111/apa.12069
4. Manthiram K, Correa H, Boyd K, Roland J, Edwards K. Unique histologic features of tonsils from patients with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) syndrome. *Clin Rheumatol.* May 2018;37(5):1309-1317. doi:10.1007/s10067-017-3773-8
5. Berkun Y, Levy R, Hurwitz A, et al. The familial Mediterranean fever gene as a modifier of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenopathy syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* Apr 2011;40(5):467-472. doi:10.1016/j.semarthrit.2010.06.009
6. Vanoni F, Caorsi R, Aeby S, et al. Towards a new set of classification criteria for PFAPA syndrome. *Pediatr Rheumatol Online J.* Sep 21 2018;16(1):60. doi:10.1186/s12969-018-0277-2
7. Batu ED, Kara Eroglu F, Tsoukas P, et al. Periodic Fever, Aphthosis, Pharyngitis, and Adenitis Syndrome: Analysis of Patients From Two Geographic Areas. *Arthritis Care Res (Hoboken).* Dec 2016;68(12):1859-1865. doi:10.1002/acr.22901
8. Hofer M, Pillet P, Cochard MM, et al. International periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, cervical adenitis syndrome cohort: description of distinct phenotypes in 301 patients. *Rheumatology (Oxford).* Jun 2014;53(6):1125-1129. doi:10.1093/rheumatology/ket460
9. Feder HM, Salazar JC. A clinical review of 105 patients with PFAPA (a periodic fever syndrome). *Acta Paediatr.* Feb 2010;99(2):178-184. doi:10.1111/j.1651-2227.2009.01554.x
10. Cattalini M, Soliani M, Rigante D, et al. Basic Characteristics of Adults with Periodic Fever, Aphthous Stomatitis, Pharyngitis, and Adenopathy Syndrome in Comparison with

- the Typical Pediatric Expression of Disease. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:570418. doi:10.1155/2015/570418
11. Butbul Aviel Y, Harel L, Abu Rumi M, et al. Familial Mediterranean Fever Is Commonly Diagnosed in Children in Israel with Periodic Fever Aphthous Stomatitis, Pharyngitis, and Adenitis Syndrome. *J Pediatr.* Jan 2019;204:270-274. doi:10.1016/j.jpeds.2018.08.080
 12. Perko D, Debeljak M, Toplak N, Avcin T. Clinical features and genetic background of the periodic Fever syndrome with aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis: a single center longitudinal study of 81 patients. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:293417. doi:10.1155/2015/293417
 13. Yildiz M, Haslak F, Adrovic A, et al. Periodic Fever, Aphthous Stomatitis, Pharyngitis, and Adenitis Syndrome: A Single-Center Experience. *Turk Arch Pediatr.* Jan 2022;57(1):46-52. doi:10.5152/TurkArchPediatr.2021.21229
 14. Manthiram K, Li SC, Hausmann JS, et al. Physicians' perspectives on the diagnosis and management of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) syndrome. *Rheumatol Int.* Jun 2017;37(6):883-889. doi:10.1007/s00296-017-3688-3
 15. Peridis S, Pilgrim G, Koudounakis E, Athanasopoulos I, Houlakis M, Parpounas K. PFAPA syndrome in children: A meta-analysis on surgical versus medical treatment. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* Nov 2010;74(11):1203-1208. doi:10.1016/j.ijporl.2010.08.014
 16. Ter Haar N, Lachmann H, Ozen S, et al. Treatment of autoinflammatory diseases: results from the Eurofever Registry and a literature review. *Ann Rheum Dis.* May 2013;72(5):678-685. doi:10.1136/annrheumdis-2011-201268
 17. Marshall GS, Edwards KM, Lawton AR. PFAPA syndrome. *Pediatr Infect Dis J.* Sep 1989;8(9):658-659. doi:10.1097/00006454-198909000-00026
 18. Yalcinkaya F, Ozen S, Ozcakar ZB, et al. A new set of criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever in childhood. *Rheumatology (Oxford).* Apr 2009;48(4):395-398. doi:10.1093/rheumatology/ken509
 19. Yildiz M, Adrovic A, Ulkersoy I, et al. The role of Mediterranean fever gene variants in patients with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis syndrome. *Eur J Pediatr.* Apr 2021;180(4):1051-1058. doi:10.1007/s00431-020-03840-z
 20. Wautlet AJ, Patel PD, Chavez P, Codispoti CD. Influenza epidemics: The role of allergists-immunologists. *Ann Allergy Asthma Immunol.* Apr 2021;126(4):350-356. doi:10.1016/j.anai.2020.11.012



Research Article | Araştırma Makalesi

THE RELATIONSHIP BETWEEN METAL ELEMENT CONTENT OF DRINKING WATER AND BODY COMPOSITIONS OF PEOPLE IN BATMAN (TÜRKİYE)

İÇME SUYU METAL ELEMENT İÇERİĞİ İLE BATMAN'DA (TÜRKİYE) YAŞAYAN BİREYLERİN VÜCUT KOMPOZİSYONLARI ARASINDAKİ İLİŞKİ

İhsan Cetin¹, Selcuk Akin², Mahmut Tahir Nalbantçılar³, Nazli Koc^{1*}, Kezban Tosun⁴

¹Hitit University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Corum, Türkiye. ²Batman Training and Research Hospital, Biochemistry Laboratory, Batman, Türkiye. ³Konya Technical University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Department of Geological Engineering, Konya, Türkiye. ⁴Batman Regional State Hospital, Diet Polyclinic, Batman, Türkiye.



ABSTRACT

Objective: Previous studies showed that the levels of micro elements may have a contribution to weight loss. Nevertheless, it is not possible to find many comprehensive studies analysing the potential relation between micro elements found in water used for drinking purposes and body composition. The present study aims to assess the relation between micro element levels of drinking water and body composition in normal, fat and obese subjects.

Methods: The study consisted of 345 female participants, who were divided into 3 groups of 115, according to body mass index (BMI) for leanness, overweight, and obesity; and who applied to Diet Polyclinic of State Hospital. Iron (Fe), copper (Cu), cobalt (Co), zinc (Zn), manganese (Mn), molybdenum (Mo), selenium (Se), chromium (Cr) and bromine (Br) levels in water samples were analyzed with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS); and body composition measurements were made by bioelectrical impedance analysis.

Results: The obesity percentage in females demonstrated statistically positive correlations with Co and Se in water for drinking. Also, it was found that the BMI values of females significantly positively correlated with Cr.

Conclusions: It may be suggested that women who consume drinking water containing high levels of Co, Se and Cr might be at a greater risk of developing obesity. On the other hand, the lack of knowledge about influence of levels of micro elements in drinking water on blood parameters associated with obesity or tissue remains unclear and deserves more investigation.

Keywords: Obesity, body mass index, cobalt, selenium, chromium

ÖZ

Amaç: Önceki çalışmalar mikro element düzeylerinin kilo kaybına katkı sağlayabileceğini göstermiştir. Ancak, içme suyu mikro element düzeyleri ile vücut kompozisyonları arasındaki potansiyel ilişkiyi analiz eden kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, içme suyunda bulunan mikro element düzeyleri ile normal, kilolu ve obez kişilere ait vücut kompozisyonları arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmaya, Devlet Hastanesi Diyet Polikliniğine başvuran ve vücut kütle indeksi (VKİ) referans değerlerine göre normal, kilolu ve obez olarak üç gruba ayrılan, 55-70 yaş aralığında toplam 345 kadın dâhil edilmiştir. Su örneklerindeki demir (Fe), bakır (Cu), kobalt (Co), çinko (Zn), manganez (Mn), molibden (Mo), selenyum (Se), krom (Cr) ve brom (Br) düzeyleri indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (ICP-MS) ile analiz edildi ve vücut kompozisyonu ölçümleri biyoelektrik impedans analizi ile yapıldı.

Bulgular: Kadınlara ait obezite yüzdesi, içme suyu Co ve Se düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdi. Ayrıca, kadınlara ait VKİ değerlerinin içme suyu Cr düzeyleri ile pozitif korele olduğu bulundu.

Sonuç: Co, Se ve Cr yüksek düzeyde içeren içme suyu tüketen kadınların obezitenin gelişmesi açısından daha büyük bir risk altında olabileceği öne sürülebilir. Diğer taraftan, içme suyu mikro element seviyelerinin obezite ile ilişkili kan parametrelerine etkisi belirsizdir ve daha fazla araştırmayı hak etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Obezite, beden kitle indeksi, kobalt, selenyum, krom

Introduction

Excess body weight is accepted as a crucial risk factor aiding the overall burden of disease worldwide. Obesity is a process where fat is piled up in the body abnormally, generally 20% or more than the body weight of an individual.¹ It is found out that a great number of mortalities stem from various diseases related to obesity, for instance; diabetes, chronic kidney disease, gastro intestinal disease, and cardiovascular disease. Sustaining weight loss is frequently proved to be challenging or unsuccessful. Therefore, prevention and treatment of obesity are relevant to health promotion.²

It has been reported that deficient intake of trace elements might be relevant to obesity development.³ In contrast, in several examinations, obese and overweight children seem to be at a greater risk of advancing an instability [chiefly deficiency] of trace elements compared to those with a normal body weight; furthermore, resembling results have been found in adults.⁴⁻⁶ Some studies state that raised body mass index (BMI) is related to increased levels of serum ferritin and low transferrin saturation.^{7,8} A number of various epidemiological investigations have witnessed negative correlations between cellular Zn levels and the prevalence of obesity; while others have pronounced that serum Cu levels share common properties in obesity. In obese patients, abnormality in cellular Fe, Se, Cr and other element concentrations has also been seen.^{9,10}

Drinking water embodies a number of microelements, and their types and concentrations depend on the geochemical properties of the earth layers. The pollution of waters by industrial

plants has, with great probability, had an impact on the content of microelements.¹¹ It was suggested that element content of water used for drinking could offer negative health influences; and the carbohydrate metabolism and fats in human organisms are linked to several microelements.^{12,13} Yet, the studies conducted on elements in water have usually concentrated on whether or not minerals taken with water contribute to the suggested Daily intake amount of elements. Besides, the emphasis has been put on how elements that exist in hard water and are generally found missing in the general population (calcium and magnesium, especially) decrease the risk of disease, mainly cardiovascular diseases, and thus contribute to health. In 2008, the World Health Organization (WHO) published a guide on the quality of drinking water, and, due to their effect on human health, water hardness and nutrients in drinking water.^{14,15}

Considering the literature knowledge we have, the former studies examining the relationship of obesity or fat tissues and micro elements have been conducted mainly to examine the influence of their benefits as a supplement on obesity-related molecule levels, fat tissues and weight.^{5-9,13} However, elements scarcely go into the body in pure form or on their own, which means that to correctly calculate the influence of trace elements on adipose tissue or the existence of fat tissue, the

influence of water—the most significant reservoir of minerals—on the occurrence of fat tissues needs to be studied. Thereby, the objectives of this study were to assess the effect of Zn, Mn, Se, Cu, Co, Fe, Cr, Br and Mo levels in public drinking water wells on the body composition of people who consume this water in Batman, where most residents opt for tap water drawn from groundwater sources for economic and cultural reasons.

Methods

Study Design and Population

The subjects of the study consisted of 345 women, divided into 3 groups having 115 applicants each, who appeared at Batman Regional State Hospital, Diet Polyclinic from December 2015 till the end of February 2016. We received ethics committee approval from ethics committee of Batman University (06.07.2015/2015/1-1).

All subjects were told about the aim of the study. In addition, each was required to hand in a written informed consent document before they were accepted into the study, complying with Helsinki Declaration (World Medical Association). All subjects participating in the study were female, from the age of 18 to 50, and were living in the province of Batman. The subjects were neither have any systemic diseases such as coronary disease, diabetes, cancer, or other fatal diseases except for obesity nor taking any regular medication. Some subjects were let out of the study since they drank drinking water which is bottled or water from different water resources.

The subjects were weighed while they wore thin clothing without shoes. Before each measurement, a pre-calibrated electronic balance was utilized to find out the weight of each subject within 0.1 kg. The median (25th-75th percentile) weight of obese, overweight and control group subjects was 86.1 (79.8-92.1), 73.3 (68.5-78.3) and 61.9 (58.2-67.7) kg, respectively.

A stadiometer mounted on the wall was employed to compute how tall they are to the closest 0.1 cm taking Frankfurt horizontal plane into consideration. The medians (25th-75th percentile) height of obese, overweight and control group subjects were 162.0 (157.0-168.0), 163.0 (158.0-167.0) and 164.0 (159.0-170.0) cm, respectively.

Body mass index (BMI) values were calculated using weight and height (kg/m^2). Three groups were made up depending on the clinical cut-off values used by the general health community. Those who had a BMI between 18.50 and 24.99 kg/m^2 were grouped as lean, the control group; those who had a BMI between 25.00 and 29.99 kg/m^2 were placed in the overweight group; and those who had a BMI over 30.00 kg/m^2 were placed in the obese group. The median (25th -75th percentile) BMI of obese, overweight and control subjects was 32.4 (31.5-33.6), 27.8 (26.35-28.90) and 23.2 (22.0-24.2) kg/m^2 , respectively.

We got in touch with the municipality water authorities in connection with 16 wells in Batman to attain knowledge and consent for studying the samples of water obtained from the reservoirs of water providing the water requirements of the city and settlements nearby. The participants were matched with water sources according to their residence addresses so as to find the connection between the drinking water element levels and their body compositions. In accordance with international standards, samples of water were picked up from the wells providing water to every district of Batman.

Bioelectrical Impedance

In State Hospital Diet Polyclinic, measurements of the participants' body composition were fulfilled with the help of a body composition analyser (Tanita BC 418 MA). Before measurements were carried out for the terms of bioelectrical impedance analysis, knowledge about the gender, age and height of subjects' were loaded to the device. Once the body compositions were assessed with the help of balance, the subjects were wanted to hold their hands alongside their body during the measurement of impedance (Hand to foot BIA). A visceral index (from 1 to 55) was also suggested to predict visceral fat.¹⁶ To figure out statistical process, total fat mass, lean body mass, and the visceral adiposity index were taken down by the investigator on an excel sheet. This method works with body water conductivity principle changing in different parts of body. While it passes through the body's water pool, BIA calculates the impedance of an applied small electric current.¹⁷

Water Analysis and Analytical Procedures

The water samples with the number 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, or 16 were obtained from wells in the Selmo Formation, and the rest was picked up from wells located in the old alluvium area. Paying no attention to the sources, each sample was obtained after the pump was run for nearly 1 h taking out water from the well; afterwards it was filled into sterilised containers into which 10% hydrochloric acid was added in order to acquire pH levels of <2. On 16 samples, we carried out laboratory analyses according to the standard methods of the American Public Health Association (APHA). They were then preserved in a portable fridge at +4 °C. Additionally, we filled the water samples in 1 L sterilized plastic bottles double capped. Then, anion and cation analyses of the water were conducted in conformity with the standard methods of American Public Health Association rules.¹⁸ Nitrate analyses and phenol quantities were carried out in Diyarbakir Metropolitan Municipality laboratory. With the 2C Full Suite (ACME Analytical Laboratories, Vancouver, Canada), the samples were analysed chemically employing ICP-MS in order to specify all significant and heavy metal contents.¹⁹

Statistical Analysis

Using statistics packages with SPSS software version 15.0 and Sigma Stat 3.5, statistical analyses were conducted.

The data distribution normality was assessed via Kolmogorov- Smirnov test. A one-way ANOVA test was employed so as to study the average differences between groups to fit the normal distribution; nevertheless, the Kruskal Wallis test did not match within the normal distribution. The changes in the distribution of categorical variables were assessed by using the Chi-square test. The Pearson and Spearman Correlation test was carried out so as to look into the connection between element levels and body composition. Categorical variables were expressed with numerical digits, and continuous variables were stated as median (25th-75th percentile) or mean±SD where possible.

Results

Table 1 shows the demographic characteristics and body compositions of the participants. The median (25th -75th percentile) age of obese, overweight, and control group subjects was 31.0 (26.0-37.0), 31.0 (26.0-37.0), and 31.0 (26.0-35.0) year, respectively while the mean age was approximately 30 years in the patient groups, in the control group it was about 28 years. The median (25th - 75th percentile) BMR of obese, overweight, and control group subjects was 1576.0 (1490.5-1701.0), 1487.0 (1396.0-1576.5), and 1400.0 (1326.2-1515.0) kcal, respectively. As was anticipated, abdominal adiposity, fat mass and fat percentage coefficient were reported to be peak in the obese subjects. It was determined that there were important statistical variations among all groups with the exception of height and age ($p < 0.001$; Table 1). Table 2 displays the distribution of the water wells from which patients consumed water with reference to their addresses. The average mineral levels of the wells were determined as 0.067 ± 0.129 mg/L for Fe, 0.003 ± 0.002 mg/L for Cu, 0.0009 ± 0.003 mg/L for Co, 0.034 ± 0.905 mg/L for Zn, 0.071 ± 0.2690 mg/L for Mn, 0.001 ± 0.0009 mg/L for Mo, 0.001 ± 0.001 mg/L for Se, 0.003 ± 0.002 mg/L for Cr and 0.078 ± 0.049 mg/L for Br. When reviewing the distribution of patients to wells according to their address in Batman, it was observed that the individuals in control group mainly consumed drinking and domestic water from wells numbered as 1, 2, 3, 4, 5 and 7 in Batman. In contrast, it was observed that overweight individuals consumed drinking and domestic water from wells numbered as 1, 3, 4, 11, 12 and 14 in Batman. Finally, it was observed that obese and overweight individuals used up drinking and domestic water from wells numbered as 7, 8, 9, 11, 12 and 14 in Batman (Table 2).

Table 3 shows the correlation values between elements in drinking water and the anthropometric measurements and BIA computations of individuals. The BMI values demonstrated statistically significant moderate positive correlation with Cr in all subjects ($p < 0.05$). The percentage of obesity showed statistically significant moderate positive correlation with Co and Se in drinking water in all subjects ($p < 0.01$). In addition, statistically

insignificant mild correlations were found between individuals' BIA values and other elements present in the drinking water (Table 3).

Table 1. Demographic characteristics and body compositions of the participants

Parameters	Control (n=115)	Patients		Comparisons		
		Overweight (n=115)	Obese (n=115)	a	b	c
Age (year)	31.0(26.0-35.0)	31.0(26.0-37.0)	31.0(26.0-37.0)	p=0.375	p=0.123	p=0.473
Height (cm)	164.0(159.0-170.0)	163.0(158.0-167.0)	162.0(157.0-168.0)	p=0.056	p=0.952	p=0.600
Body weight (kg)	61.9(58.2-67.7)	73.3(68.5-78.3)	86.1(79.8-92.1)	p<0.001	p<0.001	p<0.001
BMI (kg/m ²)	23.2(22.0-24.2)	27.8(26.35-28.90)	32.4(31.5-33.6)	p<0.001	p<0.001	p<0.001
FFM (kg)	45.3(43.0-50.5)	47.80(45.50-51.25)	50.8(48.2-54.6)	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Bone mass	43.3(41.0-48.2)	2.40(2.30-2.60)	2.60(2.50-2.80)	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Obesity %	2.58±7.29	21.7±5.38	41.0±8.4	P<0.001	P<0.001	P<0.001
FM (kg)	24.4±6.9	32.2±5.6	38.5±5.2	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Fat %	25.6(19.8-28.8)	33.10(30.25-35.75)	40.1(37.3-41.7)	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Amount of minerals	3.22(2.94-3.59)	3.48(3.24-3.70)	3.66(3.40-3.94)	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Amount of protein	9.09(8.44-10.11)	9.46(8.88-10.23)	9.96(9.41-10.82)	P=0.013	P<0.001	P<0.001
Abdominal adiposity	3.00(1.25-4.00)	5.0(4.0-6.0)	8.00(7.00-9.00)	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Body density	1.038(1.031-1.052)	1.021(1.015-1.028)	1.005(1.002-1.012)	p<0.001	p<0.001	p<0.001
BMR (kcal)	1400.0(1326.2-1515.0)	1487.0(1396.0-1576.5)	1576.0(1490.5-1701.0)	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Calorie of activity	195.25(185.50-214.75)	175.7(166.0-184.2)	156.2(146.50-156.25)	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Total activity	1602.9(1507.3-1721.9)	1654.0(1567.3-1748.1)	1735.2(1648.8-1855.1)	P=0.008	P<0.001	P<0.001
TBW (kg)	33.3(31.6-36.9)	35.0(33.3-37.5)	37.2(35.3-39.9)	p<0.001	p<0.001	p<0.001
TBW %	54.25(52.07-58.64)	48.7(47.0-51.1)	43.9(42.6-45.9)	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Bone mineral weight (kg)	2.25(2.10-2.50)	2.40(2.30-2.60)	2.60(2.60-2.80)	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Skeletal muscle mass(kg)	25.86(24.51-28.64)	27.34(25.75-29.06)	28.7(27.2-30.9)	P=0.002	P<0.001	P<0.001
Intracellular fluid (kg)	19.30(18.29-21.37)	20.40(19.22-21.69)	21.4(20.25-23.10)	P=0.002	p<0.001	p<0.001
Extracellular fluid (kg)	14.14(13.14-15.63)	14.94(14.07-15.88)	15.70(14.94-16.90)	P=0.002	p<0.001	p<0.001

Data are expressed as mean±SD or median (25th-75th percentile) for continuous variables. Comparisons of study groups; a: Obese-Overweight, b: Overweight-Control, c: Obese-Control. BMI: Body Mass Index, BMR: Basal metabolic rate, FFM: Fat free mass, FM: Fatt mass, TBW: Total Body Water, TBW %: Total Body Water Percentage.

Table 2. The drinking water well distributions according to address of populations in Batman

Wells	Obese (n=115)	Overweight (n=115)	Controls (n=115)	Total participants
1. Well	2	10	26	38
2. Well	1	7	16	24
3. Well	7	19	23	49
4. Well	2	15	13	30
5. Well	5	-	9	14
6. Well	-	1	4	5
7. Well	9	4	1	14
8. Well	8	9	7	24
9. Well	12	3	2	17
10. Well	6	3	3	12
11. Well	23	15	1	39
12. Well	18	9	2	29
13. Well	1	2	2	5
14. Well	9	9	3	21
15. Well	6	2	2	10
16. Well	6	7	1	14
Total participants	115	115	115	345

Table 3. The correlation values between the BIA values of individuals and elements in drinking water

Variables/Minerals	Fe	Cu	Co	Zn	Mn	Mo	Se	Cr	Br
Height	-0.209	-0.156	-0.076	-0.072	-0.086	0.034	-0.086	-0.259	-0.073
Body weight	0.005	-0.021	0.065	0.094	-0.047	0.021	0.096	0.045	-0.137
BMI	0.316	0.144	0.238	0.278	0.101	-0.018	0.204	0.328*	-0.069
FFM	0.042	-0.055	0.066	-0.060	-0.082	-0.063	0.140	-0.018	-0.097
Bone mass	0.024	-0.045	0.049	0.037	-0.019	-0.075	0.066	-0.001	-0.127
Obesity %	0.241	0.296	0.386*	0.115	0.277	-0.080	0.446**	0.282	0.223
FM	0.038	-0.019	0.165	0.234	0.084	0.091	0.017	0.054	-0.054
Fat %	0.048	-0.063	0.099	0.143	0.081	0.106	-0.118	0.012	-0.109
Amount of minerals	0.139	0.102	-0.032	-0.064	-0.144	-0.059	0.092	-0.095	-0.004
Amount of protein	-0.122	-0.016	-0.044	0.138	-0.032	0.196	-0.282	-0.008	-0.289
Abdominal adiposity	0.178	-0.233	-0.101	-0.143	-0.079	-0.122	0.122	0.121	-0.107
Body density	-0.045	0.072	0.017	-0.060	-0.129	-0.151	0.210	-0.084	0.061
BMR	0.070	0.017	0.019	-0.126	-0.069	-0.184	0.232	-0.024	0.215
Activity calorie	-0.218	0.253	0.112	-0.081	0.073	-0.129	0.292	0.121	0.136
Total activity calorie	-0.060	0.161	0.155	-0.004	0.027	-0.121	0.337*	0.062	0.206
TBW	-0.044	0.136	0.002	0.056	-0.035	-0.180	0.222	0.055	-0.049
TBW %	-0.034	0.064	-0.089	-0.143	-0.069	-0.113	0.115	-0.013	0.106
Bone mineral weight	0.061	-0.022	0.090	0.045	0.045	-0.070	0.144	-0.001	-0.036
Skeletal muscle	0.004	0.072	0.054	-0.007	-0.009	-0.124	0.219	-0.024	-0.012
Extracellular fluid	0.011	0.071	0.064	-0.002	0.000	-0.124	0.220	-0.019	-0.010
Intracellular fluid	0.004	0.072	0.054	-0.007	-0.009	-0.124	0.219	-0.024	-0.012

BMI: Body Mass Index, BMR: Basal metabolic rate, FFM: Fat free mass, LM: Lean mass, FM: Fatt mass, TBW: Total Body Water, TBW %: Total Body Water Percentage. *P < 0.05 **P < 0.01

Discussion

Our outcomes provide evidence of obesity percentage showing moderate positive correlation with Co in drinking water. Despite the fact that the direct action of Co has not been displayed in adipose tissue, one of the studies demonstrates that cobalt chloride treatment repairs high-fat diet-induced hypertrophic adipocytes to their normal size.^{20,21} It was also contemplated that Co ions have a preventive role in dysregulated lipid metabolism. Additionally, Co ions have useful influences on lipid metabolism; for instance, a rise in blood levels of HDL-cholesterol level and a drop in LDL-cholesterol, free fatty acid, and triglyceride in the mice fed with a high-fat diet.²¹ Blood glucose levels and visceral fat content reduces, while adiponectin level increases with the help of Co protoporphyrin supplementation in obese/diabetic animal models.²⁰ It was also suggested that although the mechanism of the increased adiponectin levels in Co-treated mice is still unknown, the alterations could be due to the indirect influences of the metals. As restricted knowledge exists about the influence of Co in drinking water on weight loss or gain, further investigations ought to search for determining the link between obesity and Co levels found in drinking water.

In our study, we also found that the Se content in drinking water showed moderate positive correlations with the obesity percentage. It has been found that high Se levels give rise to increased adiposity and may also boost the risk of diseases such as hypertension, diabetes, and

dyslipidaemia.²² Se is necessary for glutathione peroxidase, which has a significant role in the organism protection against oxidative stress. Oxidative stress leads to increasing adiposity in the organism, and the requirement of antioxidants such as Se increases.²³ High-Se diets might trigger the discharge of glucagon, promoting hyperglycaemia, giving rise to insulin resistance and obesity.²⁴ Adverse health effects of Se are known and might occur owing to supra-nutritional Se intake even below the levels necessary for intoxication.²⁵ Considering these aspects, it might be speculated that Se content of drinking water might possess a number of significant regulatory influences on percentage of obesity.

Perhaps, another most important finding of our investigation was that the demonstration of the substantial influence of element levels in drinking water on the development of fat tissues, especially in the Cr levels of drinking water, which correlates positively with BMI.

Elements and elemental species are used in various biological functions, such as energy homeostasis in glucose metabolisms and lipid.^{11,13,21} The magnitude and function of adipocytes was found to possibly be influenced by elements. The literature has had a great many studies about the influences of necessary and unnecessary trace elements on adipocytes.²⁶ However, there are contradictory findings on this issue. For example, it is shown that Cr supplementation lessens body weight, arranges hunger, and also reduces body fat. In parallel with influencing insulin-mediated pathways, Cr

decreases inflammation which is known to play an important role in insulin resistance and obesity advancement.^{27,28} In contrast, some studies reported that regular Cr supplementation may have anabolic effects on individuals who do regular physical exercise. Adipose tissue and Cr have also been shown to significantly correlate with serum adiponectin, leptin, and insulin levels values.²⁹

Consistent with regular Cr supplementation study,²⁷⁻²⁹ in our study results showed positive correlations between the Cr content of drinking water and BMI values. This knowledge may be interpreted as the Cr content of drinking water having possible positive effects on BMI values of subjects who consume this water. In addition, metal element levels measured in drinking water are below toxic levels.^{30,31}

Study limitations: The population world of the study was small and it was conducted with a single gender. Blood micro element levels were absent. So, influences of micro element levels in drinking water on blood parameters were not assessed.

In conclusion, the findings of our study showed associations between obesity-related parameters and Co, Se and Cr levels of drinking water. It may be suggested that women who consume drinking water that contains high levels of Co, Se and Cr may be at a greater risk of developing obesity. More comprehensive research regarding Co, Se and Cr and their relationships to weight status are suggested.

Compliance with Ethical Standards

The study protocol was approved by the Batman University Ethics Committee (06.07.2015/2015/1-1).

Conflict of Interest

The author declares no conflicts of interest.

Author Contribution

This study was carried out in collaboration among all authors. İÇ: Designed the study; İÇ, SA, KT: Obtained data; İÇ, SA, MTN, KT: Analyzed and interpreted the data; İÇ, SA, NK: Develop the draft manuscript; MTN: Performed the statistical analysis. All authors read and approve the final manuscript.

Financial Disclosure

No financial support was received for this study.

References

1. Grundy SM. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2595-2600. doi:10.1210/jc.2004-0372
2. Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet.* 2005;366(9492):1197-1209. doi:10.1016/S0140-6736(05)67483-1
3. Yerlikaya H, Toker A. Obesity and trace elements. *Dialog Endocrinol* 2012;9(2): 64-70.
4. Gillum RF. Association of serum ferritin and indices of body fat distribution and obesity in Mexican American men: the Third National Health and Nutrition Examination








- Survey. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001;25(5):639-645. doi:10.1038/sj.ijo.0801561
5. Zimmermann MB, Zeder C, Muthayya S, et al. Adiposity in women and children from transition countries predicts decreased iron absorption, iron deficiency and a reduced response to iron fortification. *Int J Obes (Lond).* 2008;32(7):1098-1104. doi:10.1038/ijo.2008.43
6. Lecube A, Carrera A, Losada E, Hernández C, Simó R, Mesa J. Iron deficiency in obese postmenopausal women. *Obesity (Silver Spring).* 2006;14(10):1724-1730. doi:10.1038/oby.2006.198
7. Manios Y, Moschonis G, Chrousos GP, et al. The double burden of obesity and iron deficiency on children and adolescents in Greece: the Healthy Growth Study. *J Hum Nutr Diet.* 2013;26(5):470-478. doi:10.1111/jhn.12025
8. Cheng HL, Bryant C, Cook R, O'Connor H, Rooney K, Steinbeck K. The relationship between obesity and hypoferraemia in adults: a systematic review. *Obes Rev.* 2012;13(2):150-161. doi:10.1111/j.1467-789X.2011.00938.x
9. Tuormaa TE. Chromium, Selenium, Copper and other Trace Minerals in Health and Reproduction. *J Orthomol Med.* 2000;15(3):145-57.
10. Olusi S, Al-Awadhi A, Abiaka C, Abraham M, George S. Serum copper levels and not zinc are positively associated with serum leptin concentrations in the healthy adult population. *Biol Trace Elem Res.* 2003;91(2):137-144. doi:10.1385/BTER:91:2:137
11. Novakova S, Nikolchev G, Mautner G, Angelieva R, Dineva S. Prouchvane vlianieto na niakoi mikroelementi, sudurzhasthi se v piteinute vodi, vorkhu razvitiето na aterosklerozata [Effect of several microelements contained in drinking water on the development of atherosclerosis]. *Probl Khig.* 1983;8:121-131.
12. Bagriaciak N, Onat H, Ilhan B, et al. Obesity Profile in Turkey. *Int J Endocrinol Metab.* 2009;17(1): 5-8. doi:10.1159/000497665
13. Błoniarz J, Zareba S. Selected microelements [Cr, Zn, Cu, Mn, Fe, Ni] in slimming preparations. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2007;58(1): 165-70.
14. World Health Organization. Calcium and Magnesium in Drinking-water: Public health significance. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241563550>. Published: Mar. 2009. Accessed: Mar 8, 2016.
15. World Health Organization. Guidelines for Drinking-water Quality. 4th Edition. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950>. Published: Jun. 2011. Accessed: Mar 8, 2016.
16. Neovius M, Hemmingsson E, Freyschuss B, Uddén J. Bioelectrical impedance underestimates total and truncal fatness in abdominally obese women. *Obesity (Silver Spring).* 2006;14(10):1731-1738. doi:10.1038/oby.2006.199
17. Lee SY, Gallagher D. Assessment methods in human body composition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2008;11(5):566-572. doi:10.1097/MCO.0b013e32830b5f23
18. APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association Washington, DC, USA. 1992.
19. ACME. Methods and specifications for analytical package, Group 2C & 2D-Water Analysis by ICP-MS [www.acmelab.com], 2005.
20. Nicolai A, Li M, Kim DH, et al. Heme oxygenase-1 induction remodels adipose tissue and improves insulin sensitivity

- in obesity-induced diabetic rats. *Hypertension*. 2009;53(3):508-515.
doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.124701
21. Kawakami T, Hanao N, Nishiyama K, et al. Differential effects of cobalt and mercury on lipid metabolism in the white adipose tissue of high-fat diet-induced obesity mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2012;258(1):32-42. doi:10.1016/j.taap.2011.10.004
 22. Laclaustra M, Navas-Acien A, Stranges S, Ordovas JM, Guallar E. Serum selenium concentrations and hypertension in the US Population. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2009;2(4):369-376. doi:10.1161/CIRCOUTCOMES.108.831552
 23. Papp LV, Lu J, Holmgren A, Khanna KK. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxid Redox Signal*. 2007;9(7):775-806. doi:10.1089/ars.2007.1528
 24. Stranges S, Sieri S, Vinceti M, et al. A prospective study of dietary selenium intake and risk of type 2 diabetes. *BMC Public Health*. 2010; 10:564. doi:10.1186/1471-2458-10-564
 25. Steinbrenner H, Speckmann B, Pinto A, Sies H. High selenium intake and increased diabetes risk: experimental evidence for interplay between selenium and carbohydrate metabolism. *J Clin Biochem Nutr*. 2011;48(1):40-45. doi:10.3164/jcbrn.11-002FR
 26. Kawakami T, Sugimoto H, Furuichi R, et al. Cadmium reduces adipocyte size and expression levels of adiponectin and Peg1/Mest in adipose tissue. *Toxicology*. 2010;267(1-3):20-26. doi:10.1016/j.tox.2009.07.022
 27. Mertz W. Chromium occurrence and function in biological systems. *Physiol Rev*. 1969;49(2):163-239. doi:10.1152/physrev.1969.49.2.163
 28. Hasten DL, Rome EP, Franks BD, Hegsted M. Effects of chromium picolinate on beginning weight training students. *Int J Sport Nutr*. 1992;2(4):343-350. doi:10.1123/ijsn.2.4.343
 29. Jain SK, Kahlon G, Morehead L, et al. Effect of chromium dinicocysteinatate supplementation on circulating levels of insulin, TNF- α , oxidative stress, and insulin resistance in type 2 diabetic subjects: randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Mol Nutr Food Res*. 2012;56(8):1333-1341. doi:10.1002/mnfr.201100719
 30. TS-266 (2005) Turkish regulation concerning water intended for human consumption. Institute of Turkish Standard, Ankara, Turkey.
 31. WHO (2022) Guidelines for drinking-water-quality: Fourth edition incorporating the first and second addenda, World Health Organization, Geneva.

Research Article | Araştırma Makalesi

VACCINATION STATUS OF EMPLOYEES AT TRAKYA UNIVERSITY HEALTH CENTER FOR MEDICAL RESEARCH & PRACTICE (HOSPITAL) AND EDİRNE SULTAN 1. MURAT STATE HOSPITAL WITH VACCINES RECOMMENDED FOR HEALTH WORKERS

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ'NDE VE EDİRNE SULTAN 1. MURAT DEVLET HASTANESİ'NDE ÇALIŞANLARIN SAĞLIK ÇALIŞANLARINA ÖNERİLEN AŞILAR İLE AŞILANMA DURUMLARI

  Pınar Zehra Davarcı^{1*},  Galip Ekuklu¹,  Fulya Özder Taş¹,  Elif Sultan Bolaç¹,  Ülfiye Çalıklalp¹,  Faruk Yorulmaz¹

¹University of Trakya, Faculty of Medicine, Department of Public Health, Edirne, Türkiye.



ABSTRACT

Objective: Healthcare workers are exposed to vaccine-preventable disease agents due to their contact with patients and their infectious agents. The aim of this study is to determine the status of vaccination of physicians, nurses, midwives, health officers, laboratory workers and health technicians working Trakya University Health Center for Medical Research & Practice (Hospital) and Edirne Sultan 1. Murat State hospitals with the vaccines recommended for healthcare workers.

Methods: The cross-sectional study was conducted with healthcare professionals working in Trakya University Health Center for Medical Research & Practice (Hospital) and Edirne Sultan 1. Murat State Hospital.

Results: A total of 293 questionnaires were analyzed. 37.2% of health workers stated that they did not have at least one vaccine among the vaccines recommended by the Ministry of Health. Vaccination rates of the participants are as follows: 84.7% Hepatitis B, 78.2% Td, 69.4% Measles-Rubella-Mumps (MMR), 68.1% Diphtheria-pertussis-tetanus (DBT), 35.3% Chickenpox, 29.8% Hepatitis A and 10.6% of Meningococcal vaccine. When participants were asked about their lifetime influenza vaccination status, the results showed that 48.8% had never received it, 21.6% had received it once, 26.1% had received it multiple times, and 3.4% received it annually.

Conclusion: The status of health workers to have the recommended vaccinations is lower than expected. Raising awareness of the importance of vaccination due to occupational risks and eliminating hesitations in influenza vaccination may help in improving vaccination rates.

Keywords: Vaccination, Hepatitis B, Influenza, Healthcare workers

Öz

Amaç: Hastalarla ve hastalara ait bulaşıcı maddelerle temaslari nedeniyle, birçok sağlık çalışanı aşıyla önlenbilir hastalık etkenlerine maruz kalmaktadır. Bu çalışmanın amacı Trakya Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi (Hastane) ve Edirne Sultan 1. Murat Devlet hastanesinde çalışan hekim, hemşire, ebe, sağlık memuru, laboratuvar çalışanı ve sağlık teknisyenlerinin, sağlık çalışanlarına önerilen aşılarla aşılama durumlarını belirlemektir.

Yöntem: Kesitsel nitelikteki araştırma, Trakya Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi (Hastane) ve Edirne Sultan 1. Murat Devlet Hastanesi'nde görev yapan sağlık çalışanları ile yürütülmüştür.

Bulgular: Toplam 293 anket analiz edildi. Sağlık çalışanlarının %37,2'si Sağlık Bakanlığı'nın önerdiği aşılar arasında en az bir aşıyı yaptırmadığını belirtmiştir. Katılımcıların aşılama oranları; %84,7 Hepatit B, %78,2 Td, %69,4 Kızamık-Kızamıkçık-Kabakulak (KKK), %68,1 Difteri-boğmaca-tetanoz (DBT), %35,3 Suçiçeği, %29,8 Hepatit A ve %10,6 Meningokok aşıları şeklindedir. Katılımcılara ömür boyu grip aşısı olup olmadığı sorulduğunda %48,8'inin hiç yaptırmadığı, %21,6'sının bir kez, %26,1'inin birkaç kez ve %3,4'ünün her yıl aşı yaptırdığı belirlendi.

Sonuç: Sağlık çalışanlarının kendilerine önerilen aşıları yaptırmaları beklenenden düşüktür. Mesleki riskler nedeniyle aşılamanın öneminin farkındalığı sağlamak ve influenza aşılama tereddütleri gidermek, aşılama oranlarının iyileştirilmesinde yardımcı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Aşılama, Hepatit B, İnfluenza, Sağlık Çalışanı

Introduction

Biological products developed by purifying the disease-causing agents like viruses, bacteria that cause diseases in humans and animals or by eliminating the effects of toxins secreted by some microorganisms are called vaccines. The purpose of administering vaccines to at-risk individuals is to protect them and the wider population from diseases and their adverse consequences. Through vaccination, the body recognizes toxins or microorganisms and develops a defense against them.¹

According to the World Health Organization (WHO), one of the two interventions that contribute the most to human health in the world is the availability of vaccines.² With the introduction of the Extended Immunization Program (EIP) into Turkey in 1981, activities on vaccination have been speeded up and continued until today. The purpose of EIP is to ensure that vulnerable age groups are immunized before they become infected, and to prevent illness, disability and death caused by vaccine-preventable diseases.³

Infection risks are of particular importance among the risks and hazards that healthcare professionals (for example, doctors, nurses, emergency medical staff, dentists and students, medical and nursing students, laboratory technicians, hospital volunteers and administrative staff) are exposed to in their work environment. Many healthcare workers are at risk of exposure and possible transmission of vaccine-preventable diseases due to their contact with patients or patient-derived infectious agents. All non-immune healthcare workers should be fully vaccinated with the recommended vaccines due to their occupational risks.¹ Optimum use of vaccination has two-sided benefits in that it both preserves the health of workers and protects patients from exposure to infected HCWs.⁴

Vaccines recommended for health workers by the Ministry of Health of the Republic of Turkey are diphtheria tetanus (Td) (One dose of pertussis-containing vaccine is recommended), Measles-Rubella-Mumps, Seasonal Influenza, Hepatitis B, Chickenpox, Hepatitis A, and Meningococcus (for laboratory personnel working with meningococcus in the microbiology laboratory).⁵ These vaccines are provided free of charge in accordance with the Circular No. 7941 of 13.03.2009 on Extended Immunization Program of the Directorate General of Primary Health Care Services of the Ministry of Health.⁶ Regular immunization programs can significantly reduce the number of susceptible healthcare workers in health-care facilities as well as the risk of transmission of vaccine-preventable diseases to other workers and patients.⁷

The aim of this study is to determine the status of vaccination of physicians, nurses, midwives, health officers, laboratory workers and health technicians working in Trakya University Health Center for Medical Research & Practice (Hospital) (TUHCMRH) and Edirne Sultan 1. Murat State Hospital (ESH) with the vaccines recommended for healthcare workers.

Methods

Study design and patients

The study is a cross-sectional study conducted between 01.08.2021 and 01.11.2021 in the form of a face-to-face survey.

There were a total of 2100 study subjects, including physicians, nurses, midwives, health officers, laboratory assistants and health technicians, working at TUHCMRH and ESH. The sample size was calculated to be 231 by taking an effect size of 0.25, an alpha of 0.05 and a power of 0.85, and the study was conducted with a sample of 293 people, taking into account the possible data losses and the number of people falling into subgroups. In the selection of the participants, stratification was made by organization, gender and profession, and the subjects to be selected from each stratum were randomly selected by stratified sampling method. In this context, it was conducted with a total of 293 subjects, 208 of which were from TUHCMRH and 86 from ESH.

Those who stated that they had at least one dose of vaccination were considered as vaccinated.

The questionnaire, used for data collection, was developed by the researchers based on literature, encompassing socio-demographic characteristics (independent variables are; age, gender, place of birth, place of raised and family type, siblings, presence of chronic diseases, education status, marital status, number of children, whether their children are vaccinated regularly, hospital where they work, time spent in the profession, pregnancy for female employees), the vaccines recommended for healthcare workers by the Ministry of Health and the status of vaccination with them (as a dependent variable), and possible causes of missing or insufficient vaccination (for all recommended vaccines and also for influenza). In addition, the participants were questioned if they ever had antibodies checked.

The protocol for the research project has been approved by the TUHCMRH Non-Invasive Clinical Research Ethics Committee (date: 14-06-2021 and approval number: 2021/272) and written institutional permissions from the TUHCMRH and ESH where the research was conducted were obtained for the research. After explaining the purpose of the research to the subjects, the questionnaire was conducted.

Statistical Analysis

Data analysis was performed using SPSS 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Descriptive statistics (number, percentage, mean) of the data obtained at the end of the research were given and chi-square test was used for discrete variables to reveal the relationship between dependent and independent variables. Statistical significance level was set to $p < 0.05$.

Results

A total of 293 healthcare professionals, including 208 (71%) working at TUHCMRH and 85 (29%) working at ESH, were involved in the study. Participants' gender, age groups, professional fields, marital status, length of time in the profession, the unit they work in and chronic disease status are presented in Table-1. There is a significant difference between hospitals in terms of age groups, marital status and years spent in the profession ($p < 0.05$).

The vaccination percentage of the subjects was 84.7% for Hepatitis B vaccine, 78.2% for Td vaccine, 69.4% for Measles-Rubella-Mumps vaccine, 68.1% for Diphtheria-Pertussis-Tetanus (DPT) vaccine, 35.3% for Varicella vaccine; 29.8% for Hepatitis A vaccine, and 10.6% for the Meningococcal vaccine (Figure 1).

Vaccination percentage by the socio-demographic characteristics and working life data (field of profession, working unit and years spent) of the subjects are presented in Table 2.

In Table 2, the vaccination percentages by gender showed that women had higher rates compared to men, with percentages of 74.4% versus 53.3% for MMR and 40.4% versus 18.6% for Chickenpox, respectively ($p < 0.05$). Additionally, it was observed that participants in the 26-34 age group had a higher hepatitis A vaccination rate compared to participants under the age of 25 ($p < 0.05$).

Only 10.6% of the participants reported having received the meningococcal vaccine. Among them, 20.0% were employees of the microbiology laboratory, while 9.8% were employees of other departments. Considering the health workers' status of having certain vaccinations by the unit they work in, it was observed that the percentage of those working in the microbiology unit who had meningococcal vaccine was higher than those working in other units ($p < 0.05$).

The vaccination status of the subjects is unrelated with the characteristics of the place where they were born and raised, the number of siblings, the number of children they have, the status of having a child, the presence of a chronic disease and their educational background ($p > 0.05$).

When asked if they had ever undergone an antibody test in their lifetime, the participants reported the following percentages: 66.0% for Hepatitis B, 32.1% for Hepatitis A, 8.2% for Chickenpox, 7.5% for Measles, 7.5% for Rubella, and 5.1% for Mumps antibody tests.

Adult Td vaccination status is similar among female healthcare workers by whether they have been pregnant or not ($p > 0.05$).

Table 1. Socio-demographic characteristics and working life characteristics of the subjects by hospitals

Variable	TUHCMRH*		ESH**	
	n	%	n	%
Gender				
Female	147	70.7	67	78.2
Male	61	29.3	18	21.2
Age Groups				
≤25	40	19.2	7	8.2
26-34	105	50.5	28	32.9
35-44	42	20.2	30	35.3
≥45	21	10.1	20	23.5
Healthcare Professions				
Doctor	80	38.5	24	28.2
Nurse	105	50.5	48	56.5
Others	23	11.1	13	15.3
Marital Status				
Married	114	54.8	63	74.1
Single	94	45.2	22	25.9
Years in occupation				
≤1 year	32	15.4	5	5.9
1-10 years	114	54.8	31	36.5
11-20 years	35	16.8	22	25.9
≥20 years	27	13.0	27	31.8
According to unit				
Internal Medicine	123	59.1	43	50.6
Surgical Medicine	52	25.0	27	31.8
Basic Medicine	33	15.9	15	17.6
Chronic disease				
Yes	35	16.8	23	27.1
No	173	83.2	62	72.9
Total	208	71.0	85	29.0

*: Trakya University Health Center for Medical Research Practice (Hospital)

** : Edirne Sultan 1. Murat State Hospital

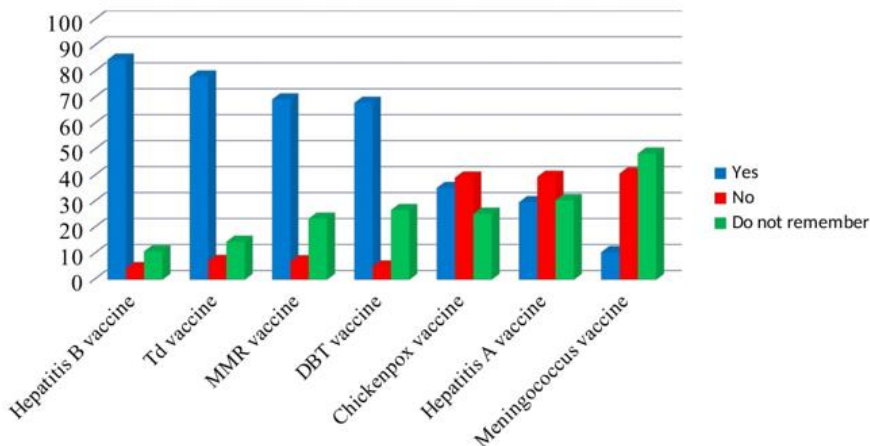


Figure 1. Percentage of vaccinated subjects by vaccines recommended to healthcare workers.

Among healthcare workers, the percentage of those who have received Td vaccine in the last 10 years was 65%. The status of Td vaccination in the last 10 years varies by the hospital. 70% of TUHCMRH employees and 56.1% of ESH employees have received Td vaccine in the last 10 years ($p<0.05$).

37.2% ($n=109$) of the healthcare workers participating in the study stated the reason why they have not had any vaccination, and the most frequently cited reasons were lack of vaccination and screening programs (64%, $n=82$), neglect-lack of time (22%, $n=28$), and side effects of vaccine (7%, $n=9$).

All of those who have children expressed that they always have their children vaccinated regularly.

When the life-long influenza vaccination status of the subjects is examined, 48.9% of them affirmed that they never had it done, 21.6% of them once, 26.1% of them several times, and only 3.4% got vaccinated every year.

When the status of being vaccinated against influenza is evaluated by years, in the season, 15.8%, 11.4% and 18.7% of the subjects had influenza vaccination in the season of 2018-2019, of 2019-2020, and of 2020-2021, respectively (Figure 2).

The percentage of those who received influenza vaccination among doctors was higher than those among nurses and other healthcare personnel ($p<0.05$). Lifelong influenza vaccination status was similar in terms of gender, age groups, hospital, working unit and having a chronic disease and years spent in profession ($p>0.05$).

The reasons why the subjects get vaccinated against influenza included self-protection (38%, $n=130$), protecting relatives (18%, $n=64$), recommendations by health authorities (16%, $n=53$), and encouragement of vaccination (10%, $n=41$) in the unit where they work.

The reasons why the subjects did not get vaccinated against influenza included mutation of the virus (21%, $n=50$), preferring other ways of protection (17%, $n=42$), thinking that influenza is not a serious and risky disease (16%, $n=39$) and not being at risk for influenza (12%, $n=29$). When the subjects' occupations and the reasons for getting vaccinated against influenza were examined, of 33 participants who stated "to protect my patients" as the reason, 48.5% were non-physician healthcare staff and 51.5% were doctors, which was statistically significant ($p<0.05$).

Table 2. Vaccination percentages by socio-demographic and working life characteristics

Variable	Hepatitis B Vaccine (%)	Td Vaccine (%)	MMR Vaccine (%)	DTaP Vaccine (%)	Varicella Vaccine (%)	Hepatitis A Vaccine (%)	Meningococcal Vaccine (%)
Gender							
Female	87.1	80.2	74.4*	71.6	40.4*	31.4	11.6
Male	76.9	71.9	53.3*	57.1	18.6*	25.0	7.4
Marital status							
Married	84.1	80.1	65.1	65.8	30.3	25.9	8.8
Single	85.5	75.2	75.2	71.3	42.1	35.3	13.1
Age Groups							
≤25 years	86.0	74.4	71.1	65.1	38.6	17.1*	7.5
26-34 years	85.3	75.6	70.4	66.7	39.8	39.8*	13.8
35-44 years	83.3	82.1	71.4	74.6	29.1	21.8	7.8
≥45 years	83.3	85.7	58.6	65.6	23.3	19.2	7.1
Chronic Disease							
Yes	90.6	74.5	71.7	73.5	33.3	26.1	7
No	83.3	79.0	68.9	66.8	35.8	30.7	11.5
Healthcare Professions							
Doctor	84.5	76.3	71.6	69.7	31.8	39.1	13.3
Nurse	86.0	80.0	69.2	68.5	38.1	23.0	9.2
Other	77.8	75.0	62.5	60.0	32.0	34.8	9.1
According to unit							
Internal Medicine Science	86.3	79.6	71.8	69.9	36.8	32.9	10.6
Surgical Medicine Science	80.6	75.8	66.2	64.7	36.9	19.0	11.1
Basic Medicine Science	85.4	76.3	64.5	66.7	25.7	36.4	9.7
Years in Occupation							
≤1 year	84.4	67.6	63.6	60.6	33.3	22.6	9.7
1-10 years	83.7	75.7	71.0	67.2	38.8	36.4	11.3
11-20 years	90.6	84.4	74.4	75.6	37.8	26.7	9.3
≥20 years	81.3	87.0	63.4	68.9	22.5	16.2	10.8
Total	84.7	78.2	69.4	68.1	35.3	29.8	10.6

*: $p<0.05$

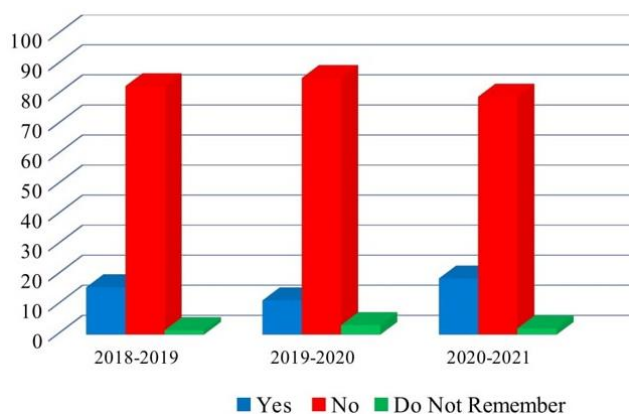


Figure 2. Influenza vaccination status of the subjects by year

Discussion

In this study conducted at TUHCMRH and ESH, the vaccination status of healthcare workers against vaccine-preventable infectious diseases was investigated. We found healthcare workers were vaccinated with Hepatitis B vaccine at the highest rate (84.7%), followed by Measles (69.4%), Diphtheria Pertussis Tetanus (68.1%), Chickenpox (35.3%), Hepatitis A (29.1%) and Meningococcal (10.6%) vaccines. In a study conducted in 250 medical assistants by Mir et al. in Paris in 2012 vaccination rates were 100% for Hepatitis B vaccine, 62.8% for Measles vaccine, 65.2% for Pertussis vaccine, 62.9% for Varicella vaccine, and 49.6% of Hepatitis A vaccine.⁸ Although there are differences between the vaccination rates, it is illustrated that Hepatitis B vaccine is made the most, Chickenpox and Hepatitis A vaccines are made less frequently, and the findings are consistent with the literature. The possible reason for some of the differences with this study may be the differences in the vaccination schedules of the countries (These vaccines were later included in the childhood vaccination calendar applied in our country; Hepatitis B 1998, Hepatitis A 2012, Chickenpox 2013). Regardless of the reason, the low rate of vaccination is a significant problem in terms of preventing the spread of diseases among vulnerable health workers and preventing hospital epidemics.⁹

In a study conducted by Dannelun et al. in Sweden in 2006, it was determined that 79% of healthcare workers were vaccinated with at least one dose of HBV vaccine, while only 40% were fully vaccinated.¹⁰ In a study conducted in healthcare workers by Yousafzai et al. in Pakistan in 2014, the rate of full-dose vaccination with HBV vaccine was found to be 40%.¹¹ In a study conducted in Diyarbakir State Hospital employees (secretary, cleaning staff, nurse, health technician) by Ahsen Öncül et al. in 2009, 468 of 503 participants answered questions about their hepatitis B vaccination status, and 40.2% of 468 participants were vaccinated against hepatitis B and reporting an antiHBs seropositivity.¹² In a study conducted in healthcare workers at Maltepe University Medical Faculty Hospital, in 2020, the percentage of HBV vaccination was found to be 71%.¹³ In our study, the rate

of those who stated that they were vaccinated with at least one dose of HBV vaccine is consistent with some studies and is higher than others. It is a remarkable finding that lower HBV vaccination is observed in surgical clinics where the risk of stab wounds is higher.

In a study in Egypt in 2017, having varicella vaccine was found to be statistically significantly higher in women than in men.¹⁴ In a study by Caterina Ledda et al. in Italy in 2018, it was reported that female healthcare workers received significantly more measles, mumps, rubella, varicella, and hepatitis B vaccines than male healthcare workers.⁹ Our study is also similar to the literature, and the status of measles and varicella vaccination is statistically significantly higher in women. The reason why these vaccines are more common in women may be that infections during pregnancy cause morbidity and mortality in both mother and fetus. For this purpose, it is recommended that measles, rubella, mumps, tetanus, diphtheria, polio and varicella vaccines, which are included in the childhood vaccination calendar, should be completed before pregnancy in all women of childbearing age.¹⁵ In this context, it is important to inform women in the pre-pregnancy period and to review the necessary vaccines to protect them.

In the study of Sari et al., it was determined that only 5 (4.3%) of the healthcare professionals had influenza vaccination, and 59 (51.3%) of them had never had influenza vaccination in their lifetime.¹⁶ In a study conducted in Italy, the rate of getting the flu vaccine was 32.5%¹⁷ while another study conducted in Oman found it to be 60%.¹⁸ In the study of Öztürk et al.¹⁹, 17% was the percentage of those who received the flu vaccine among all healthcare workers while it was 10.4% in the study of Solay et al.²⁰ Our findings were similar to or higher than those of the studies conducted in the country, but lower than those of the studies conducted abroad. The reason for the higher rate of vaccination in the last year, as suggested by this study, may be the anxiety caused by the Covid-19 pandemic. Although influenza vaccination rates by occupational groups were reported to be higher in nurses in some studies, vaccination rates in physicians were found to be higher in other studies, as in this study.¹⁹ Due to the educational level of physicians, the high vaccination rates are generally expected.

When the rate of vaccination by the years in the profession is looked into, influenza vaccination rate in the employees working for more than 10 years was found to be significantly higher than the employees with a working period of less than 1 year and 1 to 10 years.¹⁹ In this study, no significant difference was found between the years spent in the profession and the vaccination rates. Considering the low vaccination rates, it has been observed that there has not been enough awareness about vaccination over the years among participants.

In a study at three university hospitals in Catania, Messina and Palermo in Sicily, healthcare workers reported that they were vaccinated in order to protect patients.²⁰ The most frequently cited reason in our study was self-protection. 51.5% of those who stated that they were

vaccinated to protect patients were doctors, and a statistically significant difference was observed when compared to non-physician healthcare workers. Emphasizing the importance of vaccination of healthcare workers not only for personal protection, but also for the prevention of in-hospital outbreaks may be effective in eliminating this difference.

We found that there were also vaccine hesitancy problems for influenza vaccine among healthcare professionals in accordance with the literature. In a study, the reasons for not getting the flu vaccine were determined to be not believing that it is scientifically beneficial (43%), neglect (18%), workload (7%), negative news in the press (7%), and other reasons (24%).¹⁹ In the study of Sari et al.¹⁶, the most important reasons for not being eager to get vaccinated against influenza are disbelief in the necessity of the vaccine (64.5%), preferring other protection methods (40.9%), fear of the side-effect profile (39.1%) and insufficient vaccination of the vaccine and thinking that it has not been tried enough. Similarly, in the study of Solay et al.²¹, 28.6% of the subjects did not believe that the vaccination protected. The reasons for not getting vaccinated against influenza as found in our study were mutation of the virus, preferring other ways of protection, believing that influenza is not a risky and serious disease, and not being at risk for influenza. It is important to eliminate vaccine hesitancy and ensure full immunization of healthcare workers, who are in the highest risk group in terms of biological risks.

The EIP in Turkey includes vaccines recommended for healthcare workers.⁶ Despite this, inadequate vaccination /screening programs and neglect were the most common reasons for not being vaccinated in our study. This may be because participants are not sufficiently aware of the scope of the program.

The main limitation of the study is; based on self-reported vaccination status and so subject to recall bias. Also, for some vaccines, a single dose may be insufficient. Another limitation is the participants are only from two public hospitals in a city center, so the results cannot be generalized to all healthcare professionals.

In conclusion, a significant proportion of the health workers participating in this study are not aware of their vaccination status regarding occupational infectious diseases, and their immune status was not determined by antibody control.

Regular vaccination programs can reduce both the number of vulnerable healthcare workers in healthcare facilities and the risk of transmission of vaccine-preventable diseases to other workers and patients.

The vaccination rates we found in this study are not sufficient in terms of preventing the spread of diseases among healthcare workers and preventing hospital outbreaks. In order to increase vaccination rates; increasing awareness would make an important contribution. In this regard, establishing Occupational Health Centers in all health institutions or making existing centers more functional, constituting a regular registration and follow-up system for vaccination and

antibody level measurement, conducting training activities for employees and conducting risk analyses to reduce existing risks are among the first suggestions that come to mind.

Main Points

Healthcare workers are at risk of transmission of vaccine-preventable diseases.

Regular vaccination programs can reduce the risk of transmission of vaccine-preventable diseases to other workers and patients.

Increasing awareness is important to reach sufficient vaccination rates.

Compliance with Ethical Standards

The protocol for the research project has been approved by the TUHCMRH Non-Invasive Clinical Research Ethics Committee (date: 14-06-2021 and approval number: 2021/272)

Acknowledgements

None

Conflict of Interest

The authors have not conflict of interest to declare.

Author contributions

PZD: Concept; PZD, GE, FY: Design; PZD, GE, FY: Supervision; FÖT, ESB, ÜÇ: Resources; FÖT, ESB, ÜÇ: Materials; FÖT, ESB, PZD: Data Collection and/or Processing; PZD, FÖT, ESB, GE, ÜÇ: Analysis and/or Interpretation; PZD, FÖT, ESB, GE, ÜÇ: Literature Search; PZD, FÖT, ESB, GE, ÜÇ: Writing Manuscript; GE, ÜÇ, FY: Critical Review

Financial Disclosure

The authors declared that this study has received no financial support.

References



1. T.R. Ministry of Health, General Directorate of Public Health. Vaccine Portal. Available at: <https://asi.saglik.gov.tr/genel-bilgiler>. Accessed August 11, 2021.
2. World Health Organization. Global Vaccine Action Plan 2011–2020. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/global-vaccine-action-plan-2011-2020>. Accessed August 20, 2021.
3. Şimşek Orhon F. Genişletilmiş Bağışıklama Programına Her Yönüyle Bakış. *Osmangazi Tıp Dergisi Sosyal Pediatri Özel Sayısı*. 2020:6-14.
4. CDC. Immunization of Health-Care Workers: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) and the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Available at: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview>. Accessed August 11, 2021.
5. T.R. Ministry of Health, General Directorate of Public Health. Vaccination due to Occupational Risks. Available at: <https://asi.saglik.gov.tr/asi-kimlere-yapilir/>. Accessed August 11, 2021.

6. T.R. Ministry of Health. Extended Immunization Program Circular (2009). Available at: <https://www.saglik.gov.tr/TR,11137/genisletilmis-bagisiklama-programi-genelgesi-2009.html>. Accessed August 11, 2021.
7. CDC. Guidelines for infection control in health care personnel, 1997: recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Available at: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/healthcare-personnel/index.html> Accessed August 10, 2021.
8. Mir O, Adam J, Gaillard R, et al. Vaccination coverage among medical residents in Paris, France. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:137-139. doi:10.1111/j.1469-0691.2012.03788.x
9. Ledda C, Rapisarda V, Maltezou HC, et al. Coverage rates against vaccine-preventable diseases among healthcare workers in Sicily (Italy). *Eur J Public Health.* 2020;31:52-56. doi:10.1093/eurpub/ckaa179
10. Dannetun E, Tegnell A, Torner A, Giesecke J. Coverage of Hepatitis B vaccination in Swedish healthcare workers. *J Hosp Infect.* 2006;63:201-204. doi:10.1016/j.jhin.2006.01.014
11. Yousafzai MT, Qasim R, Khalil R, Kakakhel MF, Rehman SU. Hepatitis B vaccination among primary health care workers in Northwest Pakistan. *Int J Health Sci (Qassim).* 2014;8:67-76. doi:10.12816/0006073
12. Öncül A, Aslan S, Pirinççioğlu H, Özbek E. Diyarbakır Devlet Hastanesi çalışanlarında HBV, HCV, HIV, VDRL seropozitifliğinin ve aşılanma oranlarının belirlenmesi. *J Exp Clin Med.* 2012;29:280-284. doi:jecm.omu.29.04.006
13. Apaydın H, Demir Ş, Karadeniz A. Bir Tıp Fakültesi Hastanesi Sağlık Çalışanlarında Hepatit A, Hepatit B, Hepatit C Seroprevalansı ve Aşılanma Durumu. *Sakarya Tıp Dergisi.* 2021;11:360-365. doi:10.31832/smj.806090
14. Hemida E, Momen M, Fotouh AA, Boulos D. Susceptibility and Vaccination Coverage of Vaccine Preventable Diseases among Health Care Workers in a Paediatric Tertiary Hospital, Egypt. *The Egyptian Journal of Community Medicine.* 2020;38:42-50. doi: 10.21608/EJCM.2020.68619
15. Ak F. Aile Hekimliği ve Gebelikte Enfeksiyonlar. *Türkiye Klinikleri J Fam Med-Special Topics.* 2014;5:881-894.
16. Sarı T, Temoçin F, Köse H. Attitudes of Healthcare Workers Towards Influenza Vaccine. *Klimik Dergisi.* 2017;30:59-63. doi:10.5152/kd.2017.15
17. Panatto D, Lai PL, Mosca S, et al. Influenza Vaccination in Italian Healthcare Workers (2018-2019 Season): Strengths and Weaknesses. Results of a Cohort Study in Two Large Italian Hospitals. *Vaccines (Basel).* 2020;8:119. doi:10.3390/vaccines8010119
18. Awaidy STA, K Al Mayahi Z, Kaddoura M, et al. Influenza Vaccination Hesitancy among Healthcare Workers in South Al Batinah Governorate in Oman: A Cross-Sectional Study. *Vaccines (Basel).* 2020;8:661. doi:10.3390/vaccines8040661
19. Öztürk R, Ilgar T, Cesur S, Şahan S, Gür N, Şanal L. Sağlık çalışanlarının grip aşısı hakkındaki bilgi düzeyleri ve aşıya karşı yaklaşımlarının değerlendirilmesi. *Anadolu Güncel Tıp Dergisi.* 2020;2(1):13-18. doi:10.38053/agtd.656445
20. Costantino C, Ledda C, Squeri R, et al. Attitudes and Perception of Healthcare Workers Concerning Influenza Vaccination during the 2019/2020 Season: A Survey of Sicilian University Hospitals. *Vaccines (Basel).* 2020;8:686. doi:10.3390/vaccines8040686
21. Haykır Solay A, Uzar H, Acar A, et al. Üçüncü basamak sağlık hizmeti veren bir merkezde sağlık çalışmalarının influenza aşısına yaklaşımı, aşılanma oranları ve nozokomiyal influenza sıklığı. *ANKEM Derg.* 2020;34:6-12. doi:10.5222/ankem.2020.006

Research Article | Araştırma Makalesi

NEUROPEPTIDE W (NPW) ALLEVIATES COGNITIVE IMPAIRMENT AND ANXIETY-LIKE BEHAVIORS IN RATS WITH CHRONIC STRESS

NÖROPEPTİT W (NPW), KRONİK STRESLİ SIÇANLARDA BİLİŞSEL BOZUKLUĞU VE KAYGI BENZERİ DAVRANIŞLARI HAFİFLETİR

 Sevil Arabaci Tamer^{1*},  Emine Karahan²

¹Sakarya University, School of Medicine, Department of Physiology, Sakarya, Türkiye. ²Sakarya University, School of Medicine, Sakarya, Türkiye.



ABSTRACT

Objective: Neuropeptide W (NPW) plays a regulatory role in the neuroendocrine response to stress and the activation of the Hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis. The current study aimed to investigate the effects of peripherally administered NPW on the cognitive functions and anxiety-like behavior of rats under chronic stress conditions.

Methods: Wistar albino (250-290 gr) male rats were randomly divided as control, chronic stress group, and chronic stress exposed NPW-treated (0.1 µg/kg, subcutaneously) group. Chronic stress was induced by exposing the animals to water avoidance stress (WAS) for 1 h/day for ten consecutive days. At the end of the experimental stress procedure, an object recognition test was used to evaluate cognitive functions, and a hole-board test was used to assess anxiety levels. After the experiments, blood samples were collected to measure corticosterone levels.

Results: WAS significant increases in the level of corticosterone when compared with control rats ($p<0.05$), showing the activation of HPA axis. Application of WAS also caused anxiety and diminished cognitive functions. In NPW-treated rats with WAS, the corticosterone level was not different from the control group. The number of rearing up and head-dips by WAS-induced rats increased after NPW application ($p<0.05-0.01$) and also decreased the immobilization time ($p<0.01$). Moreover, the difference score in the object recognition test was increased by the NPW application in WAS group ($p<0.05$).

Conclusion: Our results showed for the first time that NPW pretreatment exerted an anxiolytic effect and attenuated cognitive function in rats subjected to water avoidance stress.

Keywords: Neuropeptide W, stress, anxiety, cognitive function, memory.

Öz

Amaç: Nöropeptit W (NPW), NPW, strese karşı nöroendokrin yanıtta ve hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) ekseninin aktivasyonunda düzenleyici bir rol oynar. Bu çalışmanın amacı, kronik stres koşullarında periferik olarak uygulanan NPW'nin sıçanların bilişsel işlevler ve kaygı benzeri davranışlar üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

Yöntem: Wistar albino (250-290 gr) erkek sıçanlar kontrol, kronik stres grubu ve kronik strese maruz kalan ve NPW ile tedavi edilen (0.1 µg/kg, subkutan) grup olarak rastgele ayrıldı. Kronik stres indüksiyonu hayvanlara art arda on gün boyunca günde 1 saat sudan kaçınma stresi (WAS) uygulanarak yapıldı. Deneysel stres işleminin sonunda bilişsel işlevleri değerlendirmek için obje tanıma testi, kaygı düzeylerini değerlendirmek için delikli tahta testi kullanıldı. Deneylerden sonra, kortikosteron seviyelerini ölçmek için kan örnekleri alındı.

Bulgular: Kontrol sıçanları ile karşılaştırıldığında WAS grubunda kortikosteron seviyesinde anlamlı artış görüldü ($p<0.05$), bu da HPA ekseninin aktivasyonunu göstermektedir. WAS uygulanması ayrıca kaygıya ve bilişsel işlevlerin azalmasına neden oldu. WAS uygulanıp NPW ile tedavi edilen sıçanlarda, kortikosteron seviyesi kontrol grubundan farklı değildi. NPW uygulaması, WAS ile indüklenen sıçanlarda şaha kalkma ve burun sokma sayılarını artırdı ($p<0.05-0.01$) ve immobilizasyon süresini azalttı ($p<0.01$). Ayrıca WAS grubunda NPW uygulaması ile obje tanıma testinde fark skoru arttı ($p<0.05$).

Sonuç: Sonuçlarımız ilk kez NPW ön tedavisinin sudan kaçınma stresi uygulanan sıçanlarda anksiyolitik etki gösterdiğini ve bilişsel işlevi hafiflettiğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Nöropeptit W, stres, anksiyete, bilişsel işlev, hafıza.

*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Sevil Arabaci Tamer; Sakarya University, School of Medicine, Department of Physiology, Sakarya, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (264) 295 31 40 e-mail/e-posta: sevilarabaci@gmail.com

Submitted/Başvuru: 13.06.2023

Accepted/Kabul: 14.09.2023

Published Online/Online Yayın: 21.10.2023

Introduction

Stress is regulated by the autonomic nervous system and increases sympathetic modulation when a threat is detected.¹ The hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis is an intricate hormonal network that is activated by stress.² Physiological and psychological stresses cause corticotropin-releasing hormone (CRH) to be secreted from the hypothalamus. CRH causes pituitary corticotrope cells to secrete adrenocorticotrophic hormone (ACTH), which in turn causes the adrenal cortex to secrete cortisol. Chronic stress (CS) disturbs HPA axis and increases glucocorticoid release, which concerns neural plasticity in the hippocampus and may lead to learning and memory deficits.³ Experimental studies have shown that stress induction causes learning and memory dysfunction and increases anxiety-like behaviors.^{4,5} Repeated unpredictable stress and social isolation elevate hypothalamic CRH and cause HPA axis dysfunction, which is associated with mental and physical illness.^{6,7}

CS also contributes to the formation of oxidative stress, which is involved in developing neurological diseases such as depression and Alzheimer's disease.⁸

Neuropeptide W (NPW) is a newly defined neuropeptide with two endogenous molecular isoforms, 23 and 30 amino acids. Two distinct G-protein-coupled receptors called NPBWR1 (GPR7) and NPBWR2 (GPR8) mediate the effects of NPW.^{9,10} NPW has regulatory functions in the activation of the HPA axis and the neuroendocrine response to stress.¹¹ Peripheral application of NPW has been reported to exhibit neuroprotective and antioxidant effects in hypoxic-ischemia-induced brain injury.¹² However, the role of NPW on chronic stress-induced cognitive impairment has not yet been clarified. The aim of the current study was to investigate the effects of peripherally administered NPW on the cognitive functions and anxiety-like behavior of rats under chronic stress conditions.

Methods

Animals

Wistar albino male rats weighing between 250 and 290 grams, provided by the Sakarya University Animal Center (SÜDETAM), were housed in an air-conditioned space with 12-hour day and dark cycles, where the temperature was maintained at 22°C and the relative humidity at between 67% and 70%. The animals were fed a standard pellet and had unrestricted access to food and water. The principles and criteria established by the New York Academy of Sciences were followed, and the tests were carried out in accordance with Turkish law regarding the use of animals in experiments. The experimental procedures were approved by the Sakarya University Animal Care and Use Committee (approval number: 35; date: 06/07/2022).

Experimental Procedures

Rats were randomly divided as control (n=7), a chronic stress group (n=7), and chronic stress-exposed NPW-treated group (n=7). NPW (Phoenix Pharmaceuticals, USA) was applied subcutaneously at dose of 0.1 µg/kg before water avoidance stress (WAS). Saline as NPW solvent was administered similarly in chronic stress group. Dose of NPW was selected based on the previous reports.¹³

An object recognition test was utilized to assess cognitive abilities after the experimental stress technique, and a hole-board test was performed to assess anxiety levels. Hole-board test was repeated before and after the stress procedure. After the experiments, the cardiac puncture was made to obtain blood samples from rats under anesthesia (100 mg kg⁻¹ ketamine and 10 mg kg⁻¹ xylazine, intraperitoneally), and the experimental animals were killed.

Water Avoidance Stress-WAS

The animals were subjected to WAS for one hour every day for ten straight days in order to create chronic psychological stress in them. Before the study, the same researcher handled rats every day for two weeks before subjecting them to WAS. The plastic container with a 90 cm diameter and 50 cm height was filled with fresh, room-temperature water to a depth of 1 cm below the surface of the platform, and rats in the WAS group were placed on a platform (8x8 cm) mounted in the center of the container. All experimental procedures were performed between 02:00 and 04:00 pm hours to minimize the effect of a circadian rhythm.

Measurements of Corticosterone Levels

According to the manufacturer's instructions, serum corticosterone levels (E0828Ra, BT LAB) were determined using rat ELISA kits. Corticosterone level was expressed as ng/ml.

Evaluation of the Anxiety Level

All rats underwent the hole-board test using a wooden box (100x100x50 centimeter) with 16 evenly spaced holes (3.8 cm in diameter) at the bottom. Each rat was placed separately in one of the box's corners, and a video camera captured all of its motion for five minutes. The box was cleansed with alcohol after each test to eliminate the odor. The number of head dips into the holes and rearing up on two hind legs were then recorded from videotapes by a watcher who was blind to the experimental groups to assess the rats' level of anxiety based on their exploratory behavior in the box. Rats with less head dipping and rearing up showed less exploratory activity, which led to increased anxiety.¹⁴

Object Recognition Test

A test for object recognition was performed to evaluate the cognitive function of the rats. The rat was given a day before the object identification test to acclimate to the new environment by spending 10 minutes in the empty test box (50x50x30 cm). The rat was then placed in the

same box on the 10th day of the experiment to examine the two identical objects for ten minutes before being returned to its cage. A video camera captured the rat's interest in the new object for three minutes an hour later after one of the objects was replaced (new object) while keeping one familiar object. The box and the items were cleaned with alcohol (70%), following each test. By comparing the amount of time spent with the known and unfamiliar things, recordings were processed and the outcomes were assessed. The number of contacts defined as determined the contact of the rat's nose with the object was evaluated. The following formula was used to determine the time difference spent with the objects:

Difference score (sec): time spent with the novel object – time spent with the sample object.¹⁵ An improvement in cognitive processes was indicated by a higher difference score.

Statistical Analysis

One-way ANOVA followed by the Bonferroni multiple comparisons test was used to define the level of statistically significant between experimental groups by using GraphPad Prism 9.3.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Student-t test was applied to compare two groups. The mean values and standard errors for all the data were reported. Statistical significance was determined to be $p < 0.05$.

Results

Serum corticosterone levels were measured to assess for HPA axis activation during stress response in the control or stress-applied groups. When compared with the control rats, WAS significantly increased in the level of corticosterone compared with control rats ($p < 0.05$; Figure 1), showing the activation of HPA axis. In NPW-treated rats with WAS, the corticosterone level was not changed respected to the control group.

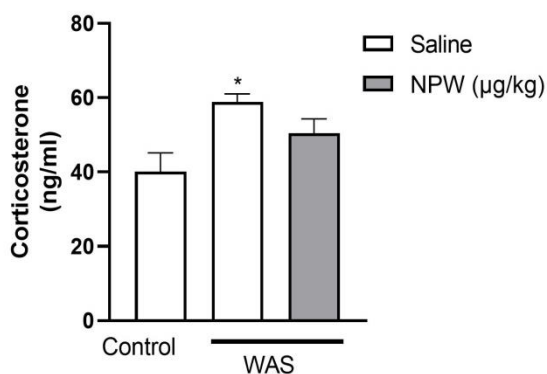


Figure 1. The corticosterone levels of control and water avoidance stress (WAS) groups were treated with either saline or NPW (0.1 µg/kg/day). * $p < 0.05$, compared to the control group.

The hole-board test was performed to evaluate the degree of anxiety in the experimental groups. Elevation of the immobilization time and reduction in the rats' free exploratory behavior (head-dipping and rearing up)

demonstrated increased anxiety. Application of WAS for ten days caused the increased immobilization time and reduced the numbers of head-dipping and rearing up compared to the control group ($p < 0.05-0.001$; Figure 2), exhibiting increased anxiety. NPW treatment elevated the numbers of rearing up and head-dips by WAS-induced rats ($p < 0.05-0.01$) and also decreased the immobilization time ($p < 0.01$), indicating the anxiolytic effect of NPW.

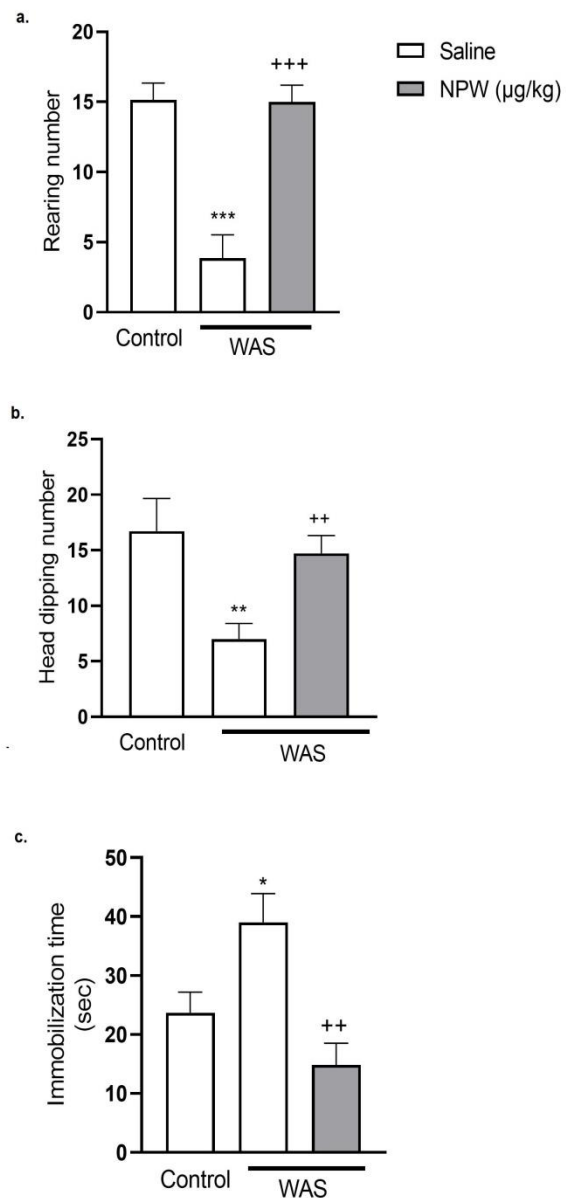


Figure 2. Numbers of rearing (a), head-dipping (b), and immobilization time (c) were recorded during the hole-board test of all experimental groups. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, compared to control group; ++ $p < 0.01$, +++ $p < 0.001$ compared to saline-treated WAS group.

When performing an object recognition test to evaluate cognitive function, the difference of the time spent with novel and same objects has reduced in WAS group compared to the control group ($p < 0.05$; Figure 3), demonstrating diminished cognitive functions. The difference score was increased by the NPW application in WAS group ($p < 0.05$).

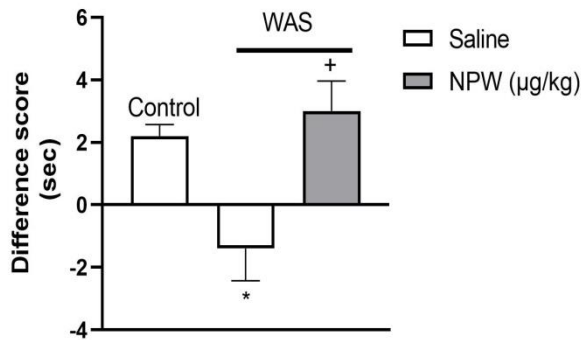


Figure 3. Object recognition test results of control or water avoidance stress (WAS) groups rats that were treated with either saline or NPW (0.1 µg/kg/day). Difference score (second): Time spent with the novel object – time spent with the sample object. * $p < 0.05$, compared to control group; + $p < 0.05$, compared to saline-treated WAS group.

Discussion

The results of the present study show that the application of WAS in rats created a cognitive impairment with increased activity of the HPA axis and anxiety-like behavior. Our results showed for the first time that NPW pretreatment exerted an anxiolytic effect and attenuated cognitive function in rats subjected to water avoidance stress.

The term "stress" refers to a situation in which the homodynamic balance is endangered by various stressors, which might be intrinsic or extrinsic, actual or imagined difficulties or stimuli.¹⁶ Stress and the neurobiological alterations have been linked to depression, anxiety, and cognitive dysfunction in many studies.^{17,18} The HPA axis has an important role in this research area because it is a modulator of pathophysiological alterations and a marker of the stress response.¹⁹ It was shown that reduced dopaminergic transmission and dysregulation of the HPA axis, which is characterized by glucocorticoid negative feedback resistance, is frequently seen in stress-induced depression.²⁰ Resulting from a dysregulated HPA axis, increased corticosterone has been linked to behavioral and cognitive abnormalities.²¹ The clinical results showed that hyperactivity of the HPA axis was strongly associated with depressive and anxiety disorders.²² It was reported that chronic stress in rodents can lead to anomalies in the HPA axis, including elevation of corticosterone levels.^{23,24} In the present study, we showed that serum corticosterone level was elevated in WAS-induced rats, demonstrating that the HPA axis was activated, which supports the previous study that demonstrated the elevation of corticosterone level due to WAS in mice.²⁵ Peripheral NPW application restored the secretion of corticosterone to normal levels. The production of corticosterone, which could be increased by the elevation of HPA axis activity, was inhibited by peripheral administration of NPW prior to stress ulcer formation, as we recently described.^{13,26} Contrary to these findings, NPW encourages human adrenocortical cells to secrete cortisol²⁷ and has been found to increase plasma corticosterone levels in healthy rats.²⁸

Water avoidance stress is widely used as a model of chronic psychological stress.²⁹ Chronic stress causes neuronal changes that lead to the development of anxiety, depression, cognitive decline and memory impairment.^{30,31} Stressful situations cause the hypothalamic paraventricular nucleus to release corticotrophin-releasing factor (CRF), which then causes the pituitary to release ACTH, which in turn causes the adrenal cortex to secrete cortisol in humans and corticosterone in rodents.³² Also, stressful events may result in blood-brain barrier malfunction, characterized by inflammation and leaking.³⁴ These all-important factors can contribute to the disturbance of cognitive functions and the development of anxiety and depression.^{33,34} In this study, we found that the administration of NPW ameliorated WAS-induced anxiety-like behaviors observed in the hole board test. The hole board test is a method to evaluate anxiety, it can also be used in experimental studies for the anxiogenic-like effect of pharmacological agents, hormones, and drugs.¹⁴ To our knowledge, there is no study on the anxiolytic effects of NPW in chronically stressed animals. The results of the object recognition test showed that water avoidance stress-induced cognitive impairments and NPW significantly prevented this memory dysfunction. Several studies demonstrated that synaptic plasticity was decreased, and cognitive impairment was brought on by stress-related impairment of the hippocampus' neuronal activity.³⁵ On the other hand, The BDNF/TrkB/CREB system controls the proliferation, differentiation, and migration of hippocampal neurons, which are crucial for cognitive function.³⁶ The increased expression of BDNF, TrkB, the pCREB/CREB ratio, and the inhibition of acetylcholinesterase activity were associated with cognitive improvements.³⁷ It was reported that about the interrelationships between BDNF and NPW, BDNF could modulate the expression of NPW in neuronal cells via the PI3K/Akt pathway and the application of exogenous BDNF to mice increased synthesis of NPW and also CRH levels in the hypothalamus.³⁸ NPW participates in the neuroendocrine regulation of pituitary hormone production and may have a significant role in the hypothalamic organization of the endocrine response to stress.^{11,39} Central administration of NPW elevated ACTH levels via activating hypothalamic CRF in rats.⁴⁰ Additionally, pretreatment with NPW did not affect serum levels of CRH or ACTH in rats with stress-induced stomach ulcers, but it did bring corticosterone back to normal ranges.¹³ It indicates that NPW does not directly affect the activation of the HPA axis brought on by stress; instead, it may be inflammatory mediators released by the wounded stomach. Cognitive dysfunction may be significantly influenced by neuroinflammation.⁴¹ According to Michelucci et al.⁴² microglia and astrocyte activation, as well as the production of cytokines, chemokines, or growth factors, are the main causes of inflammation in the brain and often occur before cognitive failure.⁴³ Our results revealed that NPW alleviates cognitive

dysfunctions and anxiety-like behaviors, which may be related to its anti-inflammatory properties.

In conclusion, our results indicated that WAS caused the deterioration of cognitive functions and anxiety-like behaviors. Furthermore, our findings show for the first time that NPW alleviated cognitive function and anxiety-like behavior along with a reduction of corticosterone level in the water avoidance stress-induced rats.

Compliance with Ethical Standards

The Sakarya University Animal Care and Use Committee approved this research project (approval number: 35; date: 06/07/2022).

Conflict of Interest

There are no relevant conflicts of interest for the authors of this article.

Author Contribution

SAT: Design of work, completing the experiments and data collection, data interpretation and use of statistical analysis, manuscript drafting, critical revision of the manuscript, approval of the last version of the manuscript. EK: Completing the experiments and data collection, data interpretation and use of statistical analysis and approval of the last version of the manuscript

Financial Disclosure

The Scientific and Technological Research Council of Turkey provided funding for this work in the form of a research grant (TUBITAK – programme code: 2209, project no: 1919B012204884).

References





- Bustamante-Sánchez Á, Tornero-Aguilera JF, Fernández-Elías VE, Hormeño-Holgado AJ, Dalamitros AA, Clemente-Suárez VJ. Effect of Stress on Autonomic and Cardiovascular Systems in Military Population: A Systematic Review. *Cardiol Res Pract.* 2020;2020:7986249.
- Karin O, Raz M, Tendler A, et al. A new model for the HPA axis explains dysregulation of stress hormones on the timescale of weeks. *Mol Syst Biol.* 2020;16(7):e9510.
- Choobdar S, Vafaei AA, Sedaghat K. Protective role of vitamin-D on chronic stress induced-learning and memory deficits in rats. *Koomesh.* 2019;21(4):708-715.
- Kasimay Cakir O, Ellek N, Salehin N, et al. Protective effect of low dose caffeine on psychological stress and cognitive function. *Physiol Behav.* 2017;168:1-10. doi:10.1016/j.physbeh.2016.10.010.
- Zhang H, Wei M, Sun Q, et al. Lycopene ameliorates chronic stress-induced hippocampal injury and subsequent learning and memory dysfunction through inhibiting ROS/JNK signaling pathway in rats. *Food Chem Toxicol.* 2020;145:111688. doi:10.1016/j.fct.2020.111688
- Algamil M, Pearson AJ, Hahn-Townsend C, et al. Repeated unpredictable stress and social isolation induce chronic HPA axis dysfunction and persistent abnormal fear memory. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2021;104:110035. doi:10.1016/j.pnpbp.2020.110035
- Leistner C, Menke A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and stress. *Handb Clin Neurol.* 2020;175:55-64. doi:10.1016/B978-0-444-64123-6.00004-7
- Juszczak G, Mikulska J, Kasperek K, Pietrzak D, Mrozek W, Herbet M. Chronic Stress and Oxidative Stress as Common Factors of the Pathogenesis of Depression and Alzheimer's Disease: The Role of Antioxidants in Prevention and Treatment. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(9):1439. Published 2021 Sep 9. doi:10.3390/antiox10091439
- Shimomura Y, Harada M, Goto M, et al. Identification of neuropeptide W as the endogenous ligand for orphan G-protein-coupled receptors GPR7 and GPR8. *J Biol Chem.* 2002;277(39):35826-35832. doi:10.1074/jbc.M205337200
- Fujii R, Yoshida H, Fukusumi S, et al. Identification of a neuropeptide modified with bromine as an endogenous ligand for GPR7. *J Biol Chem.* 2002;277(37):34010-34016. doi:10.1074/jbc.M205883200
- Niimi M, Murao K. Neuropeptide W as a stress mediator in the hypothalamus. *Endocrine.* 2005;27(1):51-54. doi:10.1385/ENDO:27:1:051
- Koyuncuoglu T, Ipek BE, Dertsiz EK, Akakin D, Yuksel M, Yegen BC. The neuroprotective effects of neuropeptide W in newborn rats with cerebral palsy. *In Acta Physiologica.* 2019;227:87-87.
- Arabacı Tamer S, Akbulut S, Peker Eyüboğlu İ, et al. Peripheral administration of Neuropeptide-W protects against stress-induced gastric injury in rats. *Life Sci.* 2022;310:121087. doi:10.1016/j.lfs.2022.121087
- Arabacı Tamer S, Üçem S, Büke B, et al. Regular moderate exercise alleviates gastric oxidative damage in rats via the contribution of oxytocin receptors. *J Physiol.* 2020;598(12):2355-2370. doi:10.1113/JP279577
- Koyuncuoglu T, Sevim H, Çetrez N, et al. High intensity interval training protects from Post Traumatic Stress Disorder induced cognitive impairment. *Behav Brain Res.* 2021;397:112923. doi:10.1016/j.bbr.2020.112923
- Agorastos A, Chrousos GP. The neuroendocrinology of stress: the stress-related continuum of chronic disease development. *Mol Psychiatry.* 2022;27(1):502-513. doi:10.1038/s41380-021-01224-9
- Chen P, Li X, Yu Y, et al. Administration Time and Dietary Patterns Modified the Effect of Inulin on CUMS-Induced Anxiety and Depression. *Mol Nutr Food Res.* 2023;67(8):e2200566. doi:10.1002/mnfr.202200566
- Liu C, Shi R, Liu Y, et al. Low-frequency transcranial magnetic stimulation protects cognition in mice with chronic unpredictable mild stress through autophagy regulation. *Behav Brain Res.* 2023;444:114366. doi:10.1016/j.bbr.2023.114366
- Mello AF, Mello MF, Carpenter LL, Price LH. Update on stress and depression: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Braz J Psychiatry.* 2003;25(4):231-238. doi:10.1590/s1516-44462003000400010
- Mizoguchi K, Shoji H, Ikeda R, Tanaka Y, Tabira T. Persistent depressive state after chronic stress in rats is accompanied by HPA axis dysregulation and reduced prefrontal dopaminergic neurotransmission. *Pharmacol Biochem Behav.* 2008;91(1):170-175. doi:10.1016/j.pbb.2008.07.002
- Lim DW, Han D, Lee C. *Pedicularis resupinata* Extract Prevents Depressive-like Behavior in Repeated Corticosterone-Induced Depression in Mice: A Preliminary Study. *Molecules.* 2022;27(11):3434. Published 2022 May 26. doi:10.3390/molecules27113434

22. Vinkers CH, Kuzminskaite E, Lamers F, Giltay EJ, Penninx BWJH. An integrated approach to understand biological stress system dysregulation across depressive and anxiety disorders. *J Affect Disord.* 2021;283:139-146. doi:10.1016/j.jad.2021.01.051
23. Eliwa H, Brizard B, Le Guisquet AM, Hen R, Belzung C, Surget A. Adult neurogenesis augmentation attenuates anhedonia and HPA axis dysregulation in a mouse model of chronic stress and depression. *Psychoneuroendocrinology.* 2021;124:10507. doi:10.1016/j.psyneuen.2020.105097
24. Gao K, Farzi A, Ke X, et al. Oral administration of *Lactococcus lactis* WHH2078 alleviates depressive and anxiety symptoms in mice with induced chronic stress. *Food Funct.* 2022;13(2):957-969. doi:10.1039/d1fo03723d
25. West EG, McDermott C, Chess-Williams R, Sellers DJ. Partial recovery of voiding function in female mice following repeated psychological stress exposure. *PLoS One.* 2022;17(4):e0266458. doi:10.1371/journal.pone.0266458
26. Atici AE, Arabacı Tamer S, Levent HN, et al. Neuropeptide W Attenuates Oxidative Multi-Organ Injury in Rats Induced with Intra-Abdominal Sepsis. *Inflammation.* 2022;45(1):279-296. doi:10.1007/s10753-021-01545-5
27. Mazzocchi G, Rebuffat P, Ziolkowska A, Rossi GP, Malendowicz LK, Nussdorfer GG. G protein receptors 7 and 8 are expressed in human adrenocortical cells, and their endogenous ligands neuropeptides B and w enhance cortisol secretion by activating adenylate cyclase- and phospholipase C-dependent signaling cascades. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(6):3466-3471. doi:10.1210/jc.2004-2132
28. Hochol A, Belloni AS, Rucinski M, et al. Expression of neuropeptides B and W and their receptors in endocrine glands of the rat. *Int J Mol Med.* 2006;18(6):1101-1106.
29. Zareie M, Johnson-Henry K, Jury J, et al. Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. *Gut.* 2006;55(11):1553-1560. doi:10.1136/gut.2005.080739
30. Bozorgi H, Rashidy-Pour A, Moradikor N, et al. Reversal of chronic restraint stress-induced memory impairment by Japanese sake yeast supplement in mice: Role of adenosine A₁ and A_{2A} receptors. *J Psychiatr Res.* 2023;161:123-131. doi:10.1016/j.jpsychires.2023.02.033
31. Ahmed Z, Tokhi A, Arif M, et al. Fraxetin attenuates disrupted behavioral and central neurochemical activity in a model of chronic unpredictable stress. *Front Pharmacol.* 2023;14:1135497. doi:10.3389/fphar.2023.1135497
32. Kageyama K, Iwasaki Y, Daimon M. Hypothalamic Regulation of Corticotropin-Releasing Factor under Stress and Stress Resilience. *Int J Mol Sci.* 2021;22(22):12242. doi:10.3390/ijms222212242
33. Welcome MO. Cellular mechanisms and molecular signaling pathways in stress-induced anxiety, depression, and blood-brain barrier inflammation and leakage. *Inflammopharmacology.* 2020;28(3):643-665. doi:10.1007/s10787-020-00712-8.
34. Qin D, Wang J, Le A, Wang TJ, Chen X, Wang J. Traumatic Brain Injury: Ultrastructural Features in Neuronal Ferroptosis, Glial Cell Activation and Polarization, and Blood-Brain Barrier Breakdown. *Cells.* 2021;10(5):1009. Published 2021 Apr 24. doi:10.3390/cells10051009
35. Yan Y, Xu X, Chen R, et al. Down-regulation of MST1 in hippocampus protects against stress-induced depression-like behaviours and synaptic plasticity impairments. *Brain Behav Immun.* 2021;94:196-209. doi:10.1016/j.bbi.2021.02.007
36. Lei H, Zhang Y, Huang L, et al. L-3-n-Butylphthalide Regulates Proliferation, Migration, and Differentiation of Neural Stem Cell In Vitro and Promotes Neurogenesis in APP/PS1 Mouse Model by Regulating BDNF/TrkB/CREB/Akt Pathway. *Neurotox Res.* 2018;34(3):477-488. doi:10.1007/s12640-018-9905-3
37. Choi GY, Kim HB, Cho JM, et al. Umbelliferone Ameliorates Memory Impairment and Enhances Hippocampal Synaptic Plasticity in Scopolamine-Induced Rat Model. *Nutrients.* 2023;15(10):2351. doi:10.3390/nu15102351
38. Wang R, Yan F, Liao R, Wan P, Little PJ, Zheng W. Role of brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in the regulation of Neuropeptide W in vitro and in vivo. *Mol Cell Endocrinol.* 2017;447:71-78. doi:10.1016/j.mce.2017.02.040
39. Taylor MM, Yuill EA, Baker JR, et al. Actions of neuropeptide W in paraventricular hypothalamus: implications for the control of stress hormone secretion. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005;288(1):R270-R275. doi:10.1152/ajpregu.00396.2004
40. Yogo K, Oki Y, Iino K, et al. Neuropeptide W stimulates adrenocorticotrophic hormone release via corticotrophin-releasing factor but not via arginine vasopressin. *Endocr J.* 2012;59(7):547-554. doi:10.1507/endocrj.ej11-0221
41. Hu Y, Li H, Zhang J, et al. Periodontitis Induced by *P. gingivalis*-LPS Is Associated With Neuroinflammation and Learning and Memory Impairment in Sprague-Dawley Rats. *Front Neurosci.* 2020;14:658. doi:10.3389/fnins.2020.00658
42. Michelucci A, Heurtaux T, Grandbarbe L, Morga E, Heuschling P. Characterization of the microglial phenotype under specific pro-inflammatory and anti-inflammatory conditions: Effects of oligomeric and fibrillar amyloid-beta. *J Neuroimmunol.* 2009;210(1-2):3-12. doi:10.1016/j.jneuroim.2009.02.003

Araştırma Makalesi | Research Article

ÇOCUK VE ERGEN PSİKİYATRİ KLİNİĞİNE BAŞVURAN ERGENLERDE OKUL REDDİ SIKLIĞININ VE KLİNİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI- NATURALİSTİK BİR İZLEM ÇALIŞMASI

A NATURALISTIC FOLLOW-UP STUDY TO INVESTIGATE THE FREQUENCY OF SCHOOL REFUSAL AND CLINICAL CHARACTERISTICS IN ADOLESCENTS ATTENDING THE CHILD AND ADOLESCENT PSYCHIATRY CLINIC

 Burcu Kardaş^{1*},  Dilek Toprak¹,  Ömer Kardaş¹,  İrem Damla Çimen¹

¹Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye.



Öz

Amaç: Bu çalışmada bir yıllık süreçte polikliniğimize okul reddi şikâyeti ile başvurmuş ergenlerin merkezimizdeki sıklığı, klinik özellikleri ve tedavi özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Okul reddi saptanan 45 olgu prospektif olarak değerlendirilmiştir. İlk görüşmede ve tedavisinin 6. ayında Beck Depresyon Ölçeği (BDÖ) ve Durumluk-Süreklilik Kaygı Envanteri (DSKE) uygulanmış olup, Okul Reddi Değerlendirme Ölçeği (ORDÖ) ilk muayene sırasında verilmiştir. Komorbid psikopatolojiler "Okul Çağı Çocukları için Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi-Şimdi ve Yaşam Boyu Şekli (K-SADS)" ile taranmıştır.

Bulgular: Çalışmamızın sonucunda; kliniğimizde bir yıl içinde ergenler için okul reddi sıklığı %1,3 olarak tespit edilmiştir. Okul reddi olan ergenler cinsiyetler açısından karşılaştırıldığında; kızlarda daha çok lise düzeyinde okul reddi olduğu, daha fazla depresif bozukluk ve kendine zarar verme davranışı tanılarına sahip oldukları, antipsikotik ve risperidon kullanımlarının daha fazla olduğu saptanmıştır (p<0,05). Takip sürecinde hastaların %68,9'unun (n=31) tedavi sürecine devam ettiği, yapılan görüşme sayısının kız ergenlerde anlamlı düzeyde daha fazla olduğu saptanmıştır (p<0,05). İzlemede depresyon ve anksiyete skorlarının anlamlı düzeyde azaldığı (p<0,05) belirlenmiş, ORDÖ açısından cinsiyetlere göre anlamlı düzeyde farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

Sonuç: Okul reddi acil müdahale gerektiren, özellikle ergenlerde daha az üzerinde durulmuş önemli bir konudur. Bu çalışmadan elde edilen verilerle ergenlik döneminde görülen okul reddinin daha iyi anlaşılmasını umuyoruz.

Anahtar Kelimeler: Okul reddi, ergenlik, komorbidite, psikopatoloji

ABSTRACT

Objective: In this study, it was aimed to investigate the frequency, clinical characteristics and treatment characteristics of adolescents who applied to our outpatient clinic with the complaint of school refusal for one year.

Methods: 45 cases with school refusal were evaluated prospectively. The Beck Depression Scale (BDI) and the State-Trait Anxiety Inventory (STAI) were administered at the first interview and at the 6th month of the treatment, and the School Refusal Rating Scale (SRSS) was given during the first examination. Comorbid psychopathologies were screened with the Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children Present and Lifetime Version (K-SADS).

Results: As a result of our study; In our clinic, the frequency of school refusal for adolescents was found to be 1.3% in one year. When adolescents with school refusal were compared in terms of gender; It was determined that girls were more likely to have high school refusal, have more depressive disorder and self-harming behavior diagnoses, and use antipsychotics and risperidone more (p<0.05). It was determined that 68.9% of the patients (n=31) continued the treatment process during the follow-up period, and the number of interviews was significantly higher in female adolescents (p<0.05). Depression/anxiety scores decreased significantly in the follow-up (p<0.05) and there was no significant difference between genders in terms of SRSS scores (p>0.05).

Conclusion: School refusal is an important issue that requires immediate intervention, especially in adolescents, which is less emphasized. We hope that the data obtained from this study will provide a better understanding of school refusal in adolescence.

Keywords: School refusal, adolescence, comorbidity, psychopathology

*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Burcu Kardaş; Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları, Umuttepe, 41001, Kocaeli, Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (262) 303 88 52 e-posta/e-mail: burcu-atar@hotmail.com

Başvuru/Submitted: 07.07.2023

Kabul/Accepted: 01.09.2023

Online Yayın/Published Online: 21.10.2023

Giriş

Okul reddi; okuldan hoşlanmama ve okula ilgisizliğin ötesinde kaygı, sosyal fobi, korku, içe kapanıklık, depresyon gibi duygusal nedenlerden dolayı okula gitmekte zorlanma ve tüm gün okulda kalamama olarak tanımlanabilir.¹ Okul çağındaki çocukların yaklaşık %2 ila %5'inin okul reddi yaşadığı belirtilmiştir.² Okul reddi çocuk ve ergen psikiyatrisi için acil bir durumdur. Kız ve erkek çocuklarda görülme sıklığı benzer saptanmıştır.¹

İlkokuldan ortaokula geçişle birlikte, gençler daha geniş ve daha karmaşık bir sosyal çevreyle (örneğin; daha fazla öğretmen ve daha fazla öğrenci) karşı karşıya kalırlar. Ergenlik döneminde sağlıklı bir benlik geliştiremeyen, benlik saygısı düşük bazı savunmasız ergenler için okul ve akranlar daha fazla sıkıntıya yol açabilir. Bu nedenler ergenlerin ev ortamının güvenli halini tercih etmesine neden olabilir, bu da okul reddini meydana getirir.³

Okul reddinin daha çok ilkokul çağlarında görülmesi nedeniyle ergenlerde yapılan çalışmalar daha az sayıdadır. Ergenlikte çocukluk dönemine oranla daha fazla devamsızlık, daha yüksek oranda eşlik eden sosyal fobi ve depresif bozukluk saptanmaktadır. Ergenliğe özgü gelişimsel zorluklar dâhil olmak üzere daha kötü tedavi sonuçlarının nedenlerini dikkate almak okul reddi tedavisinin belirlenmesinde önemlidir.³ Ergenlik döneminde başlayan okul reddi olan gençlerin, okuldaki diğer gençlerle karşılaştırıldığında depresyon ve yalnızlık düzeylerinin yüksek olduğu, benlik saygısının düşük olduğu, anne ve akranlarına bağlanmada daha az güvenli oldukları gösterilmiştir. Okul reddi olan gençlerde tüm bunlara bağlı olarak yaşam kalitelerinin de yaşitlarına göre daha düşük olduğu saptanmıştır.⁴

Kronik okul devamsızlığı ve okul reddi davranışı olan gençlerin, ergenlik döneminde suça karıştıkları, yaşamlarının ilerleyen dönemlerinde ciddi uyum sorunları gösterdikleri, çeşitli ekonomik, psikiyatrik, akademik ve sosyal konularda sorunlarla karşılaştıkları saptanmıştır. Yaşamın bu kritik aşamasında, ergenlerin sağlıklı bir benlik kavramı oluşturmaları için teşvik etmek, genel duygularının gelişmesine katkıda bulunmak, okul reddine yol açan ve sürdüren sorunları erken tespit etmek ve okul reddinin yarattığı zorlukları önlemek için uygun müdahaleleri yapmak oldukça önemlidir. Okul reddinin değerlendirilmesi ve yönetiminde, aile hekimi, okul yönetimi, rehber öğretmenler, ebeveynler ve çocuk ergen ruh sağlığı uzmanını içeren multidisipliner bir yaklaşım gerekir.^{1,5}

Bu veriler göz önüne alınarak; bu çalışmamızda iki faktörü saptamayı amaçladık. Birincisi; son bir yıl içerisinde polikliniğimize başvuran ergenler arasında okul reddinin sıklığını saptamak, ikinci amacımız da bir yıl içinde okul reddi tanısı alan ergenlerin takip sürecinde verilerini incelemektir.

Yöntem

Bu prospektif çalışma Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun izni

ile (Etik Kurul No: 2021/280) Kocaeli Üniversitesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Helsinki Bildirgesi'nin ilkeleri doğrultusunda, katılımcılara araştırma hakkında bilgi verilmiş ve çalışmaya katılmak isteyen ergenlere çalışmanın amacı açıklanarak sözlü ve yazılı onamları alınmıştır. Ayrıca çalışmada kullanılan Okul Reddi Değerlendirme Ölçeği (ORDÖ) için ölçek sahibinden yazılı izin alınmıştır.

Katılımcılar

Çalışmamızda; 12-17 yaş aralığında olan, Kasım 2021-Ekim 2022 tarihleri arasında okul reddi şikâyeti ile polikliniğimize başvuran ergenler prospektif olarak değerlendirilmiştir. Okul reddi DSM-5 (Diagnostic and Statical Manual of Mental Disorders-5) ve ICD-11 (International Statical Classification of Diseases and Related Health Problems-11) uluslararası tanı sınıflandırma sistemlerinde bağımsız klinik bir bozukluk olarak yer almamaktadır.^{6,7} Bu nedenle Berg tarafından belirlenen okul reddi kriterleri temel alınarak okul reddi olup olmadığına karar verilmiştir. Hekimin DSM-5 tanı kriterleri doğrultusunda yaptığı psikiyatrik muayene sonucunda; okula gitmeyi sık sık reddetme, okula gitmeyi başarsa bile tüm gün okulda duramama, okul saatlerinde ebeveynlere yakın olmayı veya ev gibi güvenilir bir ortamda kalmayı tercih etme, okula gitme saati geldiğinde duygusal ve bedensel sıkıntılar gösterme, okula gitmesi sonucu öfkelenme gibi antisosyal davranışlar sergileme, okula gidemediği durumları ebeveynlerden gizleme şeklinde belirtileri olan ergenler okul reddi olarak kabul edilmiştir.^{7,8} Psikiyatrik muayene sonucunda okula devamlılığı etkileyecek bedensel engeli olan, psikotik bozukluk, bipolar bozukluk, mental retardasyon ve otizm spektrum bozukluğu tanıları olan ergenler çalışmaya alınmamıştır. Psikiyatrik muayene ve Okul Çağı Çocukları için Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi-Şimdi ve Yaşam Boyu Şekli-(K-SADS) yapıldıktan sonra okul reddi olan ergenin Okul Reddi Değerlendirme Ölçeği (ORDÖ), Beck Depresyon Ölçeği (BDÖ) ve Durumluluk-Süreklilik Kaygı Ölçeği (DSKE) doldurması istenmiştir. Takip sürecine devam eden hastaların ölçekleri 6. ayda tekrarlanmıştır. Hastaların takipleri bireysel tedavi ihtiyaçlarına göre belirlenmiştir. Tedavi sürecine devam eden tüm olgulara okul reddine yönelik davranışçı müdahale yöntemleri (okul reddine yönelik psikoeğitim, sistematik duyarsızlaştırma, kademeli maruz bırakma, gevşeme ve nefes egzersizleri gibi stratejilerin kombinasyonu) uygulanmıştır.

Kullanılan Ölçekler

Olgu rapor formu

Araştırmacılar tarafından hazırlanan hastalara ait bilgilerin (sosyodemografik veriler, klinik belirtiler, tanılar, tedavi önerileri vb.) yer aldığı, hekim tarafından doldurulan formdur.

Beck Depresyon Ölçeği (BDÖ)

21 maddeden oluşan 4'lü likert tipi BDE, Beck ve Steer¹⁰ (1987) tarafından geliştirilmiş ve Hisli ve ark.¹¹ tarafından Türkçeye uyarlanmıştır. Ölçek depresif belirtilerin

şiddetini ölçmek amacıyla geliştirilmiş olup ölçekten alınacak toplam puan 0-63 arasında değişmektedir. Daha yüksek puan daha şiddetli depresif belirtiler olduğunu göstermektedir.

Durumluk ve Süreklilik Kaygı Envanteri (DSKE)

1983 yılında Spielberger ve ark.¹² tarafından geliştirilen, yaygın olarak kullanılan, kendi kendine bildirilen DSKÖ, durumluk ve sürekli kaygı kavramlarını ölçmek için Durumluk Kaygı Envanteri (DKE) ve Sürekli Kaygı Envanteri (SKE) bileşenlerinden oluşur. Her bileşen ölçeğinde 1-4 arasında yanıtlanan 20 madde vardır ve yüksek puan daha şiddetli anksiyete belirtilerini gösterir. DSKE'nin yüksek bir iç tutarlılığı vardır. Ölçeğin Türkçe geçerlik ve güvenilirliği Öner ve Le Compte (1985) tarafından yapılmıştır.¹³

Okul Reddi Değerlendirme Ölçeği-Çocuk Formu

Kearney ve Silverman (1993) tarafından¹⁴ geliştirilmiş ve Kearney tarafından (2002) gözden geçirilmiş olan "Okul Reddi Değerlendirme Ölçeği Çocuk Formu'nun (ORDÖ)" Türkçe'ye uyarlama, geçerlik ve güvenilirlik çalışması 2016 yılında yapılmıştır.¹⁵ ORDÖ'nün faktör yapısının geçerli bir model olup olmadığını saptanması için doğrulayıcı faktör analizi yapılmıştır. Ölçeği oluşturacak maddeleri ve ölçeğin güvenilirliğini belirlemek amacıyla, madde toplam test korelasyonu, ölçüt geçerliği ve Cronbach alfa iç tutarlık katsayısı hesaplanmıştır. ORDÖ'nün Türkçe uyarlama, geçerlik ve güvenilirlik çalışmaları sonucu elde edilen bulgular, ölçeğin 24 maddelik halinin Türk ortaöğretim öğrenci popülasyonu üzerinde geçerli ve güvenilir bir biçimde kullanılabileceğini göstermektedir.

Okul Çağı Çocukları için Duygulanım Bozuklukları ve Şizofreni Görüşme Çizelgesi-Şimdi ve Yaşam Boyu Şekli (K-SADS)

Kaufman ve ark.'ları¹⁶ tarafından geliştirilen K-SADS'in Ünal ve ark.'ları¹⁷ tarafından Türkçe geçerlilik ve güvenilirliği gerçekleştirilmiştir. Ünal ve ark.'ları K-SADS'in birçok tanı grubu için geçerli ve güvenilir olduğunu bildirmişlerdir.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) ile yapıldı. Normallik varsayımı için Shapiro-Wilk normallik testi uygulandı. Normal dağılıma uyan numerik değişkenler ortalama±standart sapma, normal dağılıma uymayan numerik değişkenler medyan (25.-75. yüzdeler) olarak verildi. Kategorik değişkenler frekans (yüzde) olarak verildi. Gruplar arası farklılık Ki-Kare Testi, Bağımsız Örneklem T-Testi ve Mann Whitney-U Testi ile belirlendi. Örneklem 1. ve 6. ay değişimlerinin karşılaştırılması için Bağımlı Örneklem T-testi kullanıldı. Hipotez testlerinde p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmamızda bir yıl boyunca okul reddi ile polikliniğimize başvuran 12-17 yaş aralığındaki tüm ergenler değerlendirilmiştir. Bir yıl boyunca tekrarlı başvurular çıkarıldığında 12-17 yaş aralığında 3448 hastanın başvuru yaptığı, 45 olgunun okul reddi ile takip edildiği saptanmıştır. Kliniğimiz için belirlenen yaş grubunda bir yıl içinde okul reddi sıklığı %1,3 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızın örneklemini 26 (%57,7) kız, 19 (%42,3) erkek olmak üzere toplam 45 okul reddi bulunan 12-17 yaş aralığındaki ergenden oluşmaktadır. Olguların yaş ortalaması kız cinsiyet için 14,6±1,32, erkek cinsiyet için 14,0±1,63 olarak saptanmıştır. Örneklemin sosyodemografik verileri Tablo 1'de verilmiştir.

Okul reddi olan ergenlerin eşlik eden psikiyatrik tanıları incelendiğinde olguların tamamının (%100) psikiyatrik bir tanısı olduğu saptanmıştır. Olguların %77,4 'ünün (n=35) anksiyete bozukluğu (AB), %64,4'ünün (n=29) major depresif bozukluk (MDB) tanısı aldığı ve en sık görülen psikiyatrik bozuklukların AB ve MDB olduğu bulunmuştur. Olgular cinsiyet açısından karşılaştırıldığında; kızlarda en sık tanının MDB (n=20, %44,4), erkeklerde ise dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB) (n=10, %22,2) olduğu görülmüştür. MDB ve KZVD tanıları okul reddi olan kız ergenlerde erkek ergenlere göre anlamlı düzeyde daha fazla bulunmuştur (p<0,05). Okul reddine eşlik eden psikiyatrik tanıları ve cinsiyetlere göre dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.

Okul reddi bulunan ergenlerin tedavinin başında bulunan planlanan ilaç tedavileri incelendiğinde olguların %88,9'unun (n=40) ilaç tedavisi aldığı belirlenmiştir. Kız ergenler ile erkek ergenler karşılaştırıldığında, okul reddi olan kız ergenlerin antipsikotik kullanımı, risperidon kullanımı ve yapılan görüşme sayısı anlamlı düzeyde daha fazla idi (p<0,05). Okul reddi bulunan ergenlerin cinsiyetlere göre tedavi süreçleri ve farmakolojik tedavi özellikleri Tablo 3'te verilmiştir.

Okul reddi bulunan ergenlerin %68,9 (n=31) tedavi sürecine devam etmiş, %31,1'i (n=14) altı aylık takip sürecini tamamlamamıştır. Takip sürecine devam eden ergenlerin %77,4'ü (n=24) okula devam etmiştir. Tüm ölçeklerde anlamlı düzeyde değişiklik (depresyon ve anksiyete skorlarında azalma) tespit edilmiştir (p<0,05). Takip sürecine devam eden ergenlerin ölçek değişimleri Tablo 4'te gösterilmiştir.

Okul Reddi Değerlendirme Ölçeği ve alt ölçekler cinsiyet dağılımları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Okul reddi olan ergenlerin kendilerinin doldurduğu ORDÖ ve alt ölçek skorlarının cinsiyetlere göre dağılımı Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 1. Okul reddi olan ergenlerin sosyodemografik özellikleri

Değişkenler	Kız n (%)	Erkek n (%)	Toplam n (%)	p
Yaş (Ort±SS)	14,6±1,32	14±1,63	14,3±1,48	0,146**
Okul düzeyi				0,036*
Ortaokul	7(26,9)	11(57,9)	18(40)	
Lise	19(73,1)	8(42,1)	27(60)	
Anne Eğitim				0,884*
Okuryazar değil	1(3,8)	1(5,3)	2(4,4)	
İlkokul	5(19,2)	6(31,6)	11(24,4)	
Ortaokul	3(11,5)	2(10,5)	5(11,1)	
Lise	9(34,6)	6(11,1)	15(33,3)	
Üniversite	8(30,8)	4(31,6)	12(26,7)	
Baba Eğitim				0,608*
Okuryazar değil	0(0)	1(5,3)	1(2,2)	
İlkokul	6(23,1)	4(21,1)	10(22,2)	
Ortaokul	3(11,5)	3(15,8)	6(13,3)	
Lise	9(34,6)	8(42,1)	17(37,8)	
Üniversite	5(18,5)	3(15,8)	11(24,4)	
Anne Meslek				0,642*
Çalışmıyor	14(53,8)	10(52,6)	34(53,3)	
Kamu	5(19,2)	2(10,5)	7(15,6)	
Özel Sektör	7(26,9)	7(36,8)	14(31,1)	
Baba Meslek				0,670*
Çalışmıyor	1(3,8)	0(0)	1(2,2)	
Kamu	6(23,1)	4(21,1)	10(22,2)	
Özel Sektör	19(73,1)	15(78,9)	34(75,6)	
Kardeş				0,193*
Var	24(59,3)	15(78,9)	39(86,7)	
Yok	2(7,7)	4(21,1)	6(13,3)	
Aile Tipi				0,768*
Çekirdek	17(65,4)	13(68,4)	30(66,7)	
Geniş	3(11,5)	3(11,5)	6(13,4)	
Parçalanmış	6(23,1)	3(15,8)	9(20)	
SED				0,357*
Düşük	6(23,1)	4(21,1)	10(22,2)	
Orta	15(57,7)	14(73,7)	29(64,4)	
Yüksek	5(19,2)	1(5,3)	6(13,3)	
Aile Psikopatolojisi				0,501*
Var	16(61,5)	12(63,1)	28(62,2)	
Yok	10(38,5)	7(36,9)	17(37,8)	

*Ki-kare testi, **Bağımsız Örneklem T testi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, SED: Sosyoekonomik Düzey

Tablo 2. Okul reddi olan ergenlerin cinsiyetlerine göre tanı dağılımları

Psikiyatrik Tanılar	Kız (n=26) n(%)	Erkek (n=19) n(%)	Toplam (n=45)	p
AB	21 (46,6)	14 (31,1)	35 (77,7)	0,252
MDB	20 (44,4)	9 (20)	29 (64,4)	0,041
DEHB	10 (22,2)	10 (22,2)	20 (44,4)	0,345
SKB	9 (20)	3 (6,3)	12 (26,7)	0,158
YAB	8 (17,8)	5 (11,1)	13 (28,9)	0,745
AAB	4 (8,9)	6 (13,3)	10 (22,2)	0,197
TSSB	2 (4,4)	4 (8,9)	6 (13,3)	0,193
OKB	6 (13,3)	2 (4,4)	8 (17,8)	0,277
DB	2 (4,4)	1 (2,2)	3 (6,7)	0,744
KZVD	20 (44,4)	3 (6,3)	23 (50,6)	0,024

AB: Anksiyete Bozukluğu, MDB: Major Depresif Bozukluk, DEHB: Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu, SKB: Sosyal Kaygı Bozukluğu, YAB: Yaygın Anksiyete Bozukluğu, AAB: Ayrılık Anksiyetesi Bozukluğu, TSSB: Travma Sonrası Stres Bozukluğu, OKB: Obsesif-kompulsif Bozukluk, DB: Davranım Bozukluğu, KZVD: Kendine zarar verme davranışı. Ki-Kare Testi

Tablo 3. Okul reddi olan ergenlerin tedavi süreçleri ve farmakolojik tedavi özellikleri

	Kız (n=26) n (%)	Erkek (n=19) n (%)	Toplam (n=45) n (%)	p
Psikotrop kullanımı	24 (53,3)	18 (40)	42 (92,4)	0,286*
SSGİ	24 (53,3)	16 (35,6)	40 (88,9)	0,393*
AP	18 (40)	6 (13,3)	24 (53,3)	0,012*
Fluoksetin	9 (20)	5 (11,1)	14 (31,1)	0,553*
Sertralin	15 (33)	11 (24,2)	26 (57,2)	0,609*
Risperidon	11 (24,2)	3 (6,7)	14 (31,1)	0,058*
Aripiprazol	7 (17,8)	3 (6,7)	10 (22,2)	0,248*
Tedavinin 6. Ayında okula devam etme	15 (33)	9 (20)	24 (53,3)	0,365*
Yapılan görüşme sayısı**	13 (6-18)	8 (4-12)	7 (5-16)	0,021**
Takip süresi (ay)**	5 (3-8)	4 (3-7)	4 (3-8)	0,292**

SSGİ: Selektif serotonin geri alım inhibitörü, AP: Antipsikotik, *Ki-Kare testi, **Mann Whitney U Testi: Medyan (25p-75p)

Tablo 4. Tedaviye devam eden ergenlerin ölçek skorlarındaki değişimler

	İlk ölçüm (n=31)	İkinci ölçüm (n=31)	p
BDÖ	32,1±12,5	22±12,8	0,001*
DSKE-durumluluk alt ölçeği	52,3±10,4	32±10,8	0,001*
DSKE- süreklilik alt ölçeği	54,7±12,6	42,4±15,3	0,001*

BDÖ: Beck Depresyon Ölçeği, DSKE: Durumluluk-Süreklilik Kaygı Envanteri, Bağımlı Örneklem T-testi

Tartışma

Bu çalışmada bir üniversite hastanesi çocuk ve ergen psikiyatri polikliniğine bir yıl içinde okul reddi şikâyeti ile başvuran ergen olgular prospektif olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre okul reddi olan ergenler cinsiyetlere göre karşılaştırıldığında kız ergenlerin erkek ergenlere göre anlamlı düzeyde; daha çok lise düzeyinde oldukları, daha fazla MDB ve KZVD tanılarına sahip oldukları, antipsikotik ve risperidon kullanımlarının daha fazla olduğu saptanmıştır. Takip sürecinde yapılan görüşme sayısının kız ergenlerde anlamlı düzeyde daha fazla olduğu saptanmıştır. İzlemde ölçek değişimleri ve ORDÖ skorları açısından cinsiyetlere göre anlamlı düzeyde farklılık saptanmamıştır.

Literatürde okul reddi yaygınlığına bakıldığında farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bunun nedenlerinden birinin okul reddi durumunun tanı kriterlerinin net olmaması, okul reddi davranışının tam olarak tanımlanamaması olarak gösterilmektedir.¹⁸ Amerika Birleşik Devletleri'nde genç yaş grubunda okul reddi sıklığı %1-2 arasında tahmin edilmektedir.¹⁹ Almanya'da birinci basamak sağlık hizmetlerine okul reddi ile sevk edilen gençlerin %5-16'sında okul reddi olduğu belirtilmiştir.²⁰ Bizim çalışmamızda ergen yaş grubunda okul reddi sıklığı %1,3 olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda bir yıl içinde cinsiyet oranlarına bakıldığında, okul reddi sıklığının kız cinsiyette erkek cinsiyete oranla daha fazla olduğu saptanmıştır. Çalışmamız kesitsel bir çalışma olması dolayısıyla

sonuçların geneli yansıtmayacağı düşünülmekle birlikte literatürde kız ve erkeklerde eşit oranda görüldüğüne dair çalışmalar mevcuttur.²¹ Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise okul reddinin lise düzeyinde erkeklerde daha sık olduğu tespit edilmiştir.²²

Genellikle literatürde ergenlik öncesi veya ergenlik çağındaki gençler arasında okul reddi yaygınlığının sık olduğu düşünülmektedir. 6-14 yaş aralığındaki gençleri değerlendiren bir çalışmada okul reddinin daha çok ortaokulu bitirme, liseye başlama dönemlerine denk geldiği, 13-14 yaşında zirve yaptığı belirtilmiştir.²³ Başka bir çalışmada da ortaokul veya liseye başlama gibi geçiş dönemlerinde de okul reddi sıklığının arttığı gösterilmiştir.¹⁸ Çalışmamızda yaş dağılımı cinsiyetler açısından karşılaştırıldığında anlamlı olarak farklılık saptanmamıştır. Ancak okul düzeyleri cinsiyetler açısından karşılaştırıldığında okul reddi olan kızların daha çok lise düzeyinde, erkeklerin ise ortaokul düzeyinde oldukları belirlenmiştir. Literatürde iki raporda erkeklerin daha erken sınıf düzeylerinde okul reddi olasılığı yüksekken, kızların daha büyük sınıf düzeylerinde okul reddi olasılığının yüksek olduğu gösterilmiştir.²⁴ Daha önce yukarıda bahsedilen çalışmada ise okul reddi olan erkeklerin daha çok lise düzeyinde oldukları saptanmıştır.²² Çalışmalardaki bu farklı sonuçlar okul reddi için farklı kriterlerin kullanılmasından kaynaklanmış olabilir.

Tablo 5. ORDÖ toplam puan ve alt ölçeklerin cinsiyetler açısından karşılaştırılması

	Kız (n=26)	Erkek (n=19)	Toplam	p
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
ORDÖ-Toplam	84,2±21,3	80,8±25,3	82,8± 22,9	0,629
ORDÖ-NEK	25,1±9,9	21,8±7,8	23,7±9,1	0,250
ORDÖ-İSDDK	26,3±9,0	22,4±11,1	24,7±10,0	0,205
ORDÖ-DÇİA	17,9±7,4	18,8±10,4	18,3±8,7	0,717
ORDÖ-ODPPA	14,8±6,4	17,5±8,8	16,0±7,5	0,236

ORDÖ: Okul Reddi Değerlendirme Ölçeği, NEK: Negatif Etkilerden Kaçınmak, İSDDK: İtici Sosyal ve Değerlendirici Durumlardan Kaçınmak, DÇİA: Dikkat Çekmek-İlgi Aramak, ODPPA: Okul Dışı Pekiştirme-Teşvik Aramak. *Bağımsız Örneklem T-testi

Çalışmalar ergenlerdeki okul reddi durumunun karmaşıklığını, eş tanı durumunu desteklemektedir. Okul reddi olan çocuk ve ergenlerin değerlendirildiği bir çalışmada en sık saptanan tanılar sırasıyla depresif bozukluk ve anksiyete bozukluğudur.²⁵ Başka bir çalışmada ergenlerde okul reddi ile depresif belirtilerin bir arada olduğu gösterilmiştir.²⁶ Çalışmamızda en sık saptanan tanı AB ve MDB idi. Ayrıca örneklemden kız ergenlerde erkek ergenlere oranla MDB tanısı anlamlı düzeyde fazlaydı. Okul reddi küçük çocuklarda ayrılık kaygısı bozukluğu ile ilişkilendirilirken, ergenlerde sosyal kaygı ile daha çok ilişkili gösterilmiştir. Özellikle okuldaki olumsuz sosyal ve değerlendirici durumlardan kaçınmak isteyen gençlerin okul reddi durumu olduğu belirlenmiştir.²⁷ Çalışmamızda AB ve MDB sonrasında en sık saptanan tanı DEHB'dur. Nayak ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada okul reddi olan çocuk ve ergenlerde DEHB sıklığının toplumdaki DEHB sıklığından anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır.²⁵ Okul reddi olan ergenlerin tanılarını cinsiyetlere göre inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda okul reddi olan kız ergenlerde KZVD anlamlı düzeyde fazla tespit edilmiştir. Kendine zarar verme davranışı ile depresyon ve anksiyete bozukluğu ile ilişkili bulunmuştur.²⁸ KZVD ile ilişkili faktörler incelendiğinde zayıf aile ve akran ilişkileri, psikiyatrik hastalık, alkol ve madde kullanımı gibi birçok faktör etkili bulunmuştur. Okul reddi ile direk ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Okul reddi olan ergenlerde psikiyatrik hastalık oranının fazla olduğu, kişilerarası ilişkilerde sorun yaşadıkları bilinmektedir.²⁵

Okul reddi için farmakolojik tedavilere ilişkin veriler azdır. Yapılan çalışmalar selektif serotonin geri-alım inhibitörleri ve benzodiazepinler üzerinde durmaktadır.²⁹ Çalışmamızda okul reddi olan kız ergenlerde antipsikotik ve risperidon kullanımı kız ergenlerde anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır. Bu sonuç kız ergenlerde erkek ergenlere göre daha fazla MDB, AB ve KZVD olması ile ilişkilendirilebilir. Antipsikotiklerden özellikle risperidon depresyon ve anksiyete bozukluklarının güçlendirme tedavisinde ve bu tanılara KZVD eşlik etmesi durumlarında sıklıkla kullanılmaktadır.³⁰ Yapılan görüşme sayısının kız ergenlerde daha fazla olması da hem MDB, AB, KZVD

tanılarının daha fazla olması hem de daha fazla antipsikotik ve risperidon kullanımı ile açıklanabilir.

Takip sürecine devam eden ergenlerin birçoğu (%77,4) okula devam etmeye başlamıştır. Ancak örneklemin %22,6'sı tedavi süreci bir yılı tamamlamış olmasına rağmen okula devamlılığı sağlanamamıştır. Okul reddi olan ergenlerin alındığı bir çalışmada 6. Ay takiplerinde %70'inin, 3.Yılda ise %76'sının okul devam ettiği saptanmıştır.³¹ Aynı çalışmada distimi, sosyal fobi gibi komorbid tanılarının okul devamlılık ile ilgili kötü sonuçlarla ilişkili olduğu bulunmuştur. Takip ettiğimiz hastalarda bu nedenle okul reddine yönelik uygulanan tedaviler dışında hastaların var olan tanılarına yönelik tedavi algoritmaları da uygulanmıştır. Hastaların ilk ölçümleri ve ikinci ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düzelleme saptanmıştır.

Okul reddini anlamaya yönelik uyguladığımız ORDÖ ve alt ölçekleri değerlendirildiğinde kız ve erkekler arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Alt ölçekler için bir kesme puanı bulunmadığından oransal olarak değerlendirildiğinde en fazla itici sosyal ve değerlendirici durumlardan kaçınmak alt ölçeğinde yüksek puanlar tespit edilmiştir. Bu işlev sorgulandığında tipik olarak okulda akranları ve diğerleri ile iletişim sorunları yaşayan çocuklar kastedilmektedir. Genellikle ergenlik döneminde akranları tarafından zorlanan, dışlanan ve zorbalığa uğrayan çocuklardır. Bu çocukların tanılarını incelendiğinde SAB ve YAB tanılarının sahip oldukları, bu tanıların yanı sıra stresli yaşam olaylarının eklenmesiyle depresyon ve distimi tanılarının sürece eşlik ettiği gösterilmiştir.³² Bizim çalışmamızda da en sık saptanan anksiyete bozukluğu alt tiplerinin YAB ve SAB olması ORDÖ'nin sosyal ve değerlendirici durumlardan kaçınmak alt ölçeğinin oransal olarak yüksek olduğunu açıklamaktadır.

Çalışmamız bu alanda yapılan nadir çalışmalardan olmasına rağmen bazı kısıtlılıklar içermektedir. Tek merkezli olması, belli bir zaman diliminde yapılmış kesitsel bir çalışma olması, hasta sayısının az olması ve standart bir tedavi yöntemi yerine bireylerin tanılarına yönelik tedavilerin uygulanmış olması, çalışmanın kısıtlılıklarından sayılabilir. Okul reddine neden olabilecek akran zorbalığının incelenmemiş olması, kontrol grubunun

bulunmaması ve ORDÖ'nin süreçte tekrarlanmaması çalışmanın diğer kısıtlılıklarındandır.

Sonuç olarak okul reddi özellikle ergen yaş grubunda daha az araştırılan bir konu olmasına rağmen acil müdahale gerektiren, geç kalındığında bireyin yaşamında birçok olumsuz etkiye neden olabilecek klinik bir tablodur. Uzun vadeli sonuçlara bakıldığında hem birey hem toplum için risklere neden olmaktadır. Bu çalışmadan elde ettiğimiz veriler sonucunda ergenlerde okul reddinin çocukluk dönemindeki okul reddinden farklı özelliklere sahip olduğu, birçok komorbid tanı ile birliktelik gösterdiği ve tedavi ile düzelebildiği kanaatine varılmıştır. Bu bilgiler ışığında okul reddinin daha iyi anlaşılacağı ve gelecek çalışmalar için bir basamak olacağını umuyoruz.

Etik Standartlara Uygunluk

Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma yapılmadan önce Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (Etik Kurul no:2021/280).

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Yazar Katkısı

BK, ÖK, İDÇ: Çalışmanın Tasarımı; BK, DT, ÖK, İDÇ: Veri toplama-işleme; BK, ÖK, İDÇ, DT: Analiz ve Yorum; BK, DT: Literatür taraması; BK, DT: Makale Yazımı; BK, ÖK, İDÇ: Eleştirel İnceleme

Kaynaklar

- Lingenfelter N, Hartung S. School refusal behavior. *NASN School Nurse*. 2015;30(5):269-273. doi:10.1177/1942602X15570115
- Kljakovic M, Kelly A, Richardson A. School refusal and isolation: The perspectives of five adolescent school refusers in London, UK. *Clinical Child Psychology and Psychiatry*. 2021;26(4):1089-1101. doi:10.1177/13591045211025782
- Heyne D. Developmental issues associated with adolescent school refusal and cognitive-behavioral therapy manuals. *Z Kinder Jugendpsychiatr Psychother*. 2022;50(6):471-494. doi:10.1024/1422-4917/a000881.
- Xavier J. Refus scolaire [School refusal]. *Rev Prat*. 2020;70(6):667-673.
- Kearney CA. School absenteeism and school refusal behavior in youth: a contemporary review. *Clin Psychol Rev*. 2008;28(3):451-471. doi:10.1016/j.cpr.2007.07.012
- American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. 5th ed. Washington, DC: APA; 2013.
- World Health Organisation. *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 11th Revision, Beta Draft*. <https://icd.who.int./browse11/l-m/en>.
- Berg I. Absence from school and mental health. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*. 1992;161:154-166.
- Berg I. School refusal and truancy. *Archives of Disease in Childhood*. 1997;76: 90-91.
- Beck AT, Steer RA, Brown GK. *Beck depression inventory*. New York: Harcourt Brace Jovanovich, 1987.
- Hisli N. Beck Depresyon envanterinin geçerliliği üzerine bir çalışma. *Psikol Derg*. 1988;6:118-22.
- Spielberger CD, Vagg PR, Barker LR, Donham GW, Westberry LG. The Factor Structure of the State-Trait Anxiety Inventory. 1th. *G Sarason and CD Spielberger (Eds). Stress and Anxiety (vol 7)*. Washington DC Hemisphere. 1980.
- Öner N, Le Compte A. *Durumluk/sürekli kaygı envanteri el kitabı*, İstanbul: Boğaziçi Üniversitesi Yayınları, 1985.
- Kearney CA, Silverman WK. Measuring the function of school refusal behavior: The School Refusal Assessment Scale. *Journal Of Clinical Child Psychology*. 1993;22:85-96.
- KAYACI Ü, Kaynak S, K. A. N. A. "Okul Reddi Değerlendirme Ölçeği Çocuk Formu'nun Türkçe geçerlik ve güvenilirlik çalışması." *Turkish Psychological Counseling and Guidance Journal*. 2016;6(45):91-100.
- Kaufman J, Birmaher B, Axelson D, Perepletchikova F, Brent D, Ryan N. Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Aged Children: Present and Lifetime Version (K-SADS-PL) DSM-5 November 2016. <https://www.kennedykrieger.org/sites/default/files/library/documents/faculty/ksads-dsm-5-screener.pdf>.
- Unal F, Oktem F, Cetin Cuhadaroglu F, et al. Reliability and validity of the Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Present and Lifetime Version, DSM-5 November 2016-Turkish adaptation (K-SADSPL-DSM-5-T). *Turk J Psychiatry* 2019;30(1):42-50
- Fremont WP. School refusal in children and adolescents. *American family physician*. 2003; 68(8):1555-60.
- Egger HL, Costello EJ, Angold A. School refusal and psychiatric disorders: a community study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2003;42(7):797-807. doi:10.1097/01.CHI.0000046865.56865.79
- Maynard BR, Brendel KE, Bulanda JJ, Heyne D, Thompson AM, Pigott TD. (2015), Psychosocial Interventions for School Refusal with Primary and Secondary School Students: A systematic review. *Campbell Systematic Reviews*. 2015;11:176. doi:10.4073/csr.2015.12
- Kearney CA. Forms and functions of school refusal behavior in youth: an empirical analysis of absenteeism severity. *J Child Psychol Psychiatry*. 2007;48(1):53-61. doi:10.1111/j.1469-7610.2006.01634.x.
- Özcan Ö, Kılıç BG, Aysev A. "Okul korkusu yakınması olan çocukların ana babalarında ruhsal bozukluklar." *Türk Psikiyatri Dergisi*. 2006;17(3):173-180.
- Heyne D. Developmental Issues Associated with Adolescent School Refusal and Cognitive-Behavioral Therapy Manuals. *Z Kinder Jugendpsychiatr Psychother*. 2022;50(6):471-494. doi:10.1024/1422-4917/a000881.
- Malcolm H, Wilson V, Davidson J, Kirk S. Absence from school: A study of its causes and effects in seven LEAs. The SCRE Centre University of Glasgow: Glasgow. 2003 May.
- Nayak A, Sangoi B, Nachane H. School Refusal Behavior in Indian Children: Analysis of clinical profile, psychopathology and development of a best-fit risk assessment model. *Indian J Pediatr*. 2018;85(12):1073-1078. doi:10.1007/s12098-018-2631-2.
- Carpentieri R, Iannoni ME, Curto M, et al. School refusal behavior: Role of personality styles, social functioning, and psychiatric symptoms in a sample of adolescent help-seekers. *Clinical Neuropsychiatry*. 2022;19(1):20.

27. Bernstein GA, Warren SL, Massie ED, Thuras PD. Family dimensions in anxious-depressed school refusers. *Journal of Anxiety Disorders*. 1999;13(5):513-528.
28. Hu Z, Yu H, Zou J, Zhang Y, Lu Z, Hu M. Relationship among self-injury, experiential avoidance, cognitive fusion, anxiety, and depression in Chinese adolescent patients with nonsuicidal self-injury. *Brain and behavior*, 2021;11(12):e2419. doi:10.1002/brb3.2419
29. Londono Tobon A, Reed MO, Taylor JH, Bloch MH. A systematic review of pharmacologic treatments for school refusal behavior. *J Child Adolesc Psychopharmacol*. 2018(6):368-378. doi:10.1089/cap.2017.0160.
30. Olfson M, Blanco C, Liu SM, Wang S, Correll CU. National trends in the office-based treatment of children, adolescents, and adults with antipsychotics. *Arch Gen Psychiatry*. 2012;69(12):1247-1256. doi:10.1001/archgenpsychiatry.2012.647
31. McShane G, Walter G, Rey JM. Functional outcome of adolescents with 'school refusal'. *Clinical Child Psychology and Psychiatry*. 2004;9:53-60.
32. Kearney CA, Lemos A, Silverman J. School refusal behaviour. In R.B.Mennuti, A.Freeman,& R.W.Christner (Eds.), *Cognitive-behavioral interventions in educational settings: A handbook for practise*. New York: Brunner-Routledge; 2006:59-105.

Research Article | Araştırma Makalesi

ESTABLISHMENT OF ACQUIRED SORAFENIB RESISTANCE IN HEPATOCELLULAR CARCINOMA CELL LINE AND EXAMINATION OF EMT

HEPATOSELÜLER KARSİNOM HÜCRE HATTINDA EDİNİLMİŞ SORAFENİB DİRENCİNİN BELİRLENMESİ VE EMT'NİN İNCELENMESİ

 Fuat AKSOY^{1,2},   Secil AK AKSOY^{3,4*}

¹Department of General, Bursa Uludag University Bursa, Türkiye. ²Organ Transplantation Center, Faculty of Medicine, Bursa Uludag University, Bursa, Türkiye. ³Inegol Vocation School, Bursa Uludag University, Inegol, Bursa, Türkiye. ⁴Experimental Animal Breeding and Research Unit, Faculty of Medicine, Bursa Uludag University, 16059 Bursa, Türkiye.



ABSTRACT

Objectives: Sorafenib is one of the major drugs used in Hepatocellular carcinomas (HCC) treatments, but its usage can be limited by acquired drug resistance. The aim of the study is to examine the activity of Epithelial mesenchymal transition (EMT) process in the formation of sorafenib resistance in HCC cells.

Methods: In this study, we established sorafenib-resistant HCC cell lines and characterized them using cell viability assays (WST-1). Expression levels EMT-related genes were determined by RT-PCR.

Results: As a result of increasing doses of sorafenib, HEPG2-SR cells were formed. When the EMT process in resistant cells was examined, it was determined that CDH2 and TWIST expression increased during the resistance acquisition process ($p < 0.001$).

Conclusion: Sorafenib is one of the most important treatment options, especially in HCCs who relapse after transplantation. However, since sorafenib resistance may develop in patients with high TWIST expression, new treatment options are needed in these patients

Keywords: Hepatocellular carcinoma, drug-resistance, EMT, Sorafenib

ÖZ

Amaç: Sorafenib, Hepatoselüler karsinoma (HCC) tedavilerinde kullanılan başlıca ilaçlardan biridir, ancak kazanılmış ilaç direnci nedeniyle kullanımı sınırlıdır. Çalışmada HCC hücrelerinde sorafenib direnci oluşum aşamasında epitelyal mezankimal geçiş (EMT) sürecinin aktivitesinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

Yöntem: HCC hücre hattı olan HEPG2'ye artan dozda sorafenib uygulanarak sorafenib'e dirençli HCC hücre hatları oluşturuldu (HEPG2-SR), kontrolü hücre proliferasyon testi olan WST-1 ile sağlandı. Direnç aşamasında RT-PCR analiz ile EMT ile ilgili genlerin ekspresyon profilleri incelendi.

Bulgular: Artan sorafenib dozları sonucunda HEPG2-SR hücreleri oluştu. Dirençli hücrelerde EMT süreci incelendiğinde, direnç kazanma sürecinde CDH2 ve TWIST ekspresyonunun arttığı belirlendi ($p < 0.001$).

Sonuç: Sorafenib, özellikle transplantasyon sonrası nüks gösteren HCC'lerde en önemli tedavi seçeneklerinden biridir. Ancak TWIST ekspresyonu yüksek olan hastalarda sorafenib direnci gelişebileceğinden bu hastalarda yeni tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Hepatoselüler karsinom, ilaç direnci, EMT, Sorafenib

* Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Secil Ak Aksoy; Experimental Animal Breeding and Research Unit, Faculty of Medicine, Bursa Uludag University, Gorukle, Bursa, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (541) 810 70 50 e-mail/e-posta: secilak@uludag.edu.tr

Submitted/Başvuru: 19.07.2023

Accepted/Kabul: 27.09.2023

Published Online/ Online Yayın: 21.10.2023

Bu eser, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır. Telif Hakkı © 2020 Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı



Introduction

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most frequently observed neoplasms worldwide and ranks third in cancer-related deaths.¹ HCC mostly develops due to cirrhosis resulting from chronic Hepatitis B virus (HBV) and Hepatitis C virus (HCV) infection.² In the treatment of this disease, different approaches such as tumor resection, radiofrequency ablation, chemoembolization, radioembolization or orthotopic liver transplantation (orthotopic liver transplantation: OLT) are applied.³ OLT is an increasingly common curative treatment option, especially for HCC patients with cirrhosis and no local or distant metastases.⁴ However, recurrence after transplantation is one of the most important factors reducing the success of the treatment in patients receiving this treatment.⁵ Sorafenib is a multikinase inhibitor approved by the Food and Drug Administration (FDA) for the treatment of HCC.⁶ However, HCC patients may develop drug resistance during chemotherapy with Sorafenib.⁷

In recent studies, it has been emphasized that the Epithelial Mesenchymal Transition (EMT) is migratory in the progression of solid tumors and the development of drug resistance.^{8,9} The EMT is a multistep process whereby epithelial cells change in plasticity by transient de-differentiation into a mesenchymal phenotype. In carcinoma progression, EMT plays a crucial role in early steps of metastasis when cells lose cell-cell contacts due to ablation of E-cadherin and acquire increased motility to spread into surrounding or distant tissues and drug resistance.¹⁰⁻¹²

ZEB (ZEB1/2), basic helix loop helix protein 38 (TWIST), and Snail (SNAIL1/2), have been reported as factors that can mediate gene expression and regulate EMT. Among these, ZEB1 may be particularly important as a key transcription factor for EMT: in the earliest stages of EMT, TWIST is induced by TGF- β signaling, a critical cellular initiator of EMT. These transcription factors are correlated with resistance to chemotherapy in cancers and disrupts the epithelial phenotype.¹³⁻¹⁵

In studies conducted in HCCs, a limited number of studies have shown that this mechanism plays a role in the development of recurrence and poor prognosis after treatment.⁹ However, the relationship between Sorafenib resistance in HCCs and EMT is unknown.

In the current study, it is aimed to determine the role of the EMT mechanism in the HCC cell line that has become Sorafenib resistant.

Methods

Cell Culture

Human HCC HepG2 cells were obtained from the American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA). Cells were incubated in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA) supplemented with 10% fetal bovine serum at 37°C and 5% CO₂. Sorafenib (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

was dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) as a 100 mM stock solution.

Establishment of Sorafenib Resistance

Initially, sorafenib was administered at a dose range of 2.5 μ M-25 μ M to determine the lethal dose of Sorafenib in HEPG2 cells (IC₅₀: killing more than 50% of cells).¹⁶ Cell proliferation was analyzed with the WST-1 kit at 24, 48 and 72 hours.

HEPG2 cells were exposed to sorafenib at a low dose (2.5 μ M) and higher dose (5 μ M, 7.5 μ M and 10 μ M) when cells grew stably (reached 80% occupancy). The medium containing sorafenib was changed every 2 days for 3 months. Eventually, cells were observed to be able to proliferate in medium containing 10 μ M sorafenib (a clinically relevant dose). HepG2 cells rendered resistant to sorafenib were named HEPG2-SR.

RNA Isolation, cDNA Synthesis and RT-PCR Analysis

Total RNA was isolated from HEPG2 and HEPG2S cells using E.Z.N.A.[®] Total RNA Kit I (Omega BioTek Inc., Norcross, GA, USA). All RNAs were checked for quality and quantity using a spectrophotometer (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA). Approximately 1 μ g of RNA was used for cDNA synthesis with a high capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Then, based on TaqMan™ Gene Expression Assays technology, CDH1 (E-Kaderin, Hs01023895_m1), SNAI1 (Snail, Hs00195591_m1) and CDH2 (N-cadherin, Hs00983056_m1), TWIST (Hs04989912_s1) and MMP9 (Hs00957562_m1) on AbiStepOnePlus™ instrument (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) -PCR analysis was performed. Gene expression levels were normalized to (Actin beta, Hs01060665_g1) expression.¹⁰

Statistical Analysis

For statistics, GraphPad Prism 6 (La Jolla, CA, USA) was used in all experiments. All analyzed values were expressed as mean \pm standard deviation. Statistics of gene expressions were used to compare gene expression differences between HEPG2 and HEPG2S, using the 2– $\Delta\Delta$ Ct method.

Results

Chronic exposure of HepG2 cells to increasing concentrations of sorafenib resulted in sorafenib-resistant cell lines termed HepG2-SR. Incubation of sorafenib with HepG2 cells reduced their viability in a concentration-dependent manner (Figure 1). However, HepG2-SR cells proved resistant to sorafenib when exposed to the same concentration of sorafenib as their viability was significantly higher than that of the respective parent cells (Figure 1). In the presence of 20 μ M sorafenib, HepG2-SR a was 36.3%, while the main cells were almost completely nonviable (Figure 1). While the IC₅₀ dose of Sorafenib for HEPG2 cells was determined as 8 μ M, it was observed that this dose increased above 25 μ M in HEPG2-SR cells (P< 0.001).

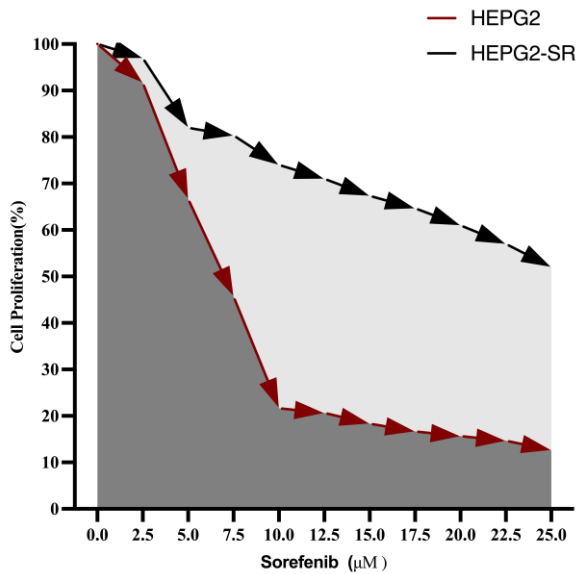


Figure 1. HepG2-SR exhibited elevated IC50 for sorafenib compared with its matched maternal cell line.

To evaluate EMT activity in sorafenib-resistant HEPG2-SR cells, EMT markers CDH1, CDH2, SNAIL, TWIST and MMP9 were analyzed at the mRNA level. Compared to HEPG2 cells, there was no statistically significant expression difference in CDH1, SNAIL and MMP9 mRNAs in HEPG2-SR cells (Figure 2A), while CDH2 and TWIST were found to be 3.2 and 3.6 times higher expressed in HEPG2-SR cells, respectively (Figure 2B and Figure 2C, $p < 0.001$).

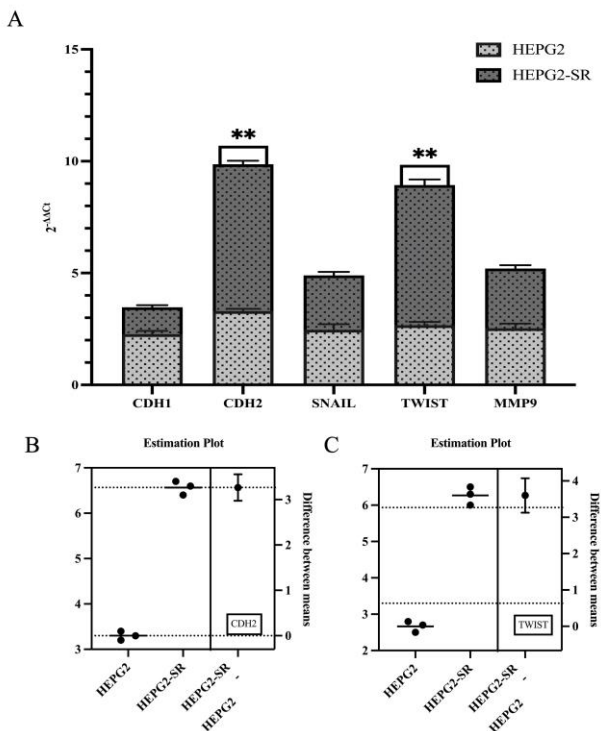


Figure 2. The expression profiles of EMT markers in HEPG2-SR compared to HEPG2 cells. (A) CDH2 was 3.2-fold up regulated in HEPG2-SR, (B) TWIST was found to be 3.6-fold higher expressed in HEPG2-SR cells compared to HEPG2 cells.

Discussion

Sorafenib remains the globally accepted systemic first-line treatment for advanced HCC.⁵ Even though it only has modest improvement in over-all median survival, its approval in 2007 is one of the hallmarks of HCC treatment.⁶ Sorafenib is a multikinase inhibitor with antiangiogenic and antiproliferative effects and is the only clinically approved drug for patients with advanced HCC.³ The main target of sorafenib is the serine/threonine kinase Raf-1, which is involved in the Raf/mitogen-activated protein kinase (MAPK)/extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway.⁴ Sorafenib shows potent inhibitory activity against cell proliferation, invasion, metastasis and multi-drug resistance (MDR) by inhibiting MAPK signaling in HCC. However, this promising treatment has shown limited survival benefits (2.8 months) with very low response rates (2-3%).⁴

Recently published studies highlight that EMT plays a role in chemoresistance as well as shorter disease-free survival in HCC.^{6,7} EMT, a developmental process involving loss of epithelial cell markers and acquisition of mesenchymal cell characteristics, is thought to have important roles in the development of the invasive and metastatic potential of HCC.⁸ The characteristic down-regulation of E-cadherin is expressed as the essential step of EMT and the zinc finger transcriptional repressors Snail, Slug and Twist are considered to bind to the E-boxes of the E-cadherin promoter and suppress its transcription in response to the upstream signal. These transcription factors are the most prominent repressors of E-cadherin transcription.⁹ In addition, the SNAIL transcription factor plays a crucial role in the expression of mesenchymal markers such as Vimentin and matrix metalloproteinases (MMP-2, 9) in HCC cells.¹¹ These studies suggest that SNAIL expression is an important step leading to invasion, metastasis, and HCC progression. In a previous report, sorafenib was shown to exert potent inhibitory activity against EMT by inhibiting SNAIL expression in HCC cells via the MAPK signaling pathway.¹¹ However, the association between EMT and MDR in sorafenib-resistant HCC cell lines has been rarely reported.

In our study, we analyzed the activation of the EMT mechanism in sorafenib-resistant HEPG2-SR cells. We determined that CDH2 (N-cadherin) and TWIST expressions were at least 3 times higher in HEPG2-SR cells than in HEPG2 cells. TWIST, which is a member of the basic helix-loop-helix class of proteins, is known to induce EMT and promote metastasis in many solid tumor.¹⁴⁻¹⁶ Lee et al. associated high TWIST expression with poor prognosis in their study on HCC tissues and HCC cell lines.¹⁷ Recent studies have reported that EMT is associated with chemoresistance in cancer.¹⁷⁻¹⁹ TWIST overexpression is also correlated with chemotherapy resistance in various types of cancer and leads to a poorer prognosis.²⁰ Therefore, TWIST may be considered a novel therapeutic target in overcoming MDR in liver cancer.

However, there is no study showing the effectiveness of TWIST on sorafenib resistance.

Sorafenib is one of the most preferred treatment options, especially in HCC patients with recurrence. However, drug resistance is an important problem. In our study, we investigated the activity of the EMT mechanism in the resistance acquisition process of the cells by creating sorafenib resistance in HEPG2 cells, and we determined that TWIST increased with the development of resistance in this process. Understanding the EMT as might contribute to enlighten new treatment strategies to overcome drug resistance.

Compliance with Ethical Standards

Ethical committee approval is not required for this study.

Conflict of Interest

The authors declare there are no conflicts of interest—financial or otherwise—related to the material presented herein.

Author Contribution

Authors contributed equally to this work.

Acknowledgments

This study was supported by a grant from the Scientific Research Projects Foundation of the Uludag University, Bursa, Turkey [Project No. THIZ-2023-1507]






References

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68:394–424. doi:10.3322/caac.21492
- Colombo M, Maisonneuve P. Controlling liver cancer mortality on a global scale: Still a long way to go. *J Hepatol.* 2017;67:216–217. doi:10.1016/j.jhep.2017.05.004
- Kim DW, Talati C, Kim R. Hepatocellular carcinoma (HCC): Beyond sorafenib—Chemotherapy. *J Gastrointest Oncol.* 2017;8:256–265. doi:10.21037/jgo.2016.09.07
- Lohitesh K, Chowdhury R, Mukherjee S. Resistance a major hindrance to chemotherapy in hepatocellular carcinoma: An insight. *Cancer Cell Int.* 2018;18:44. doi:10.1186/s12935-018-0538-7
- Liu Z, Lin Y, Zhang J, Zhang Y, et al. Molecular targeted and immune checkpoint therapy for advanced hepatocellular carcinoma. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2019;38:447. doi:10.1186/s13046-019-1412-8
- Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7:131–142. doi:10.1038/nrm1835
- Capece D, Fischietti M, Verzella D, Gaggiano A, Ciciarelli G, Tessitore A, Zazzeroni F, Alesse E. The inflammatory microenvironment in hepatocellular carcinoma: a pivotal role for tumor-associated macrophages. *Biomed Res Int.* 2013;2013:187204.
- Yochum ZA, Cades J, Wang H, et al. Targeting the EMT transcription factor TWIST1 overcomes resistance to EGFR inhibitors in EGFR-mutant non-small-cell lung cancer. *Oncogene.* 2019;38:656–70. doi:10.1038/s41388-018-0482-y
- Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med.* 2008;359:378–390.
- Ozturk E, Ak Aksoy S, Ugras N, et al., Coexistence of MACC 1 and NM 23-H1 dysregulation and tumor budding promise early prognostic evidence for recurrence risk of early-stage colon cancer. *APMIS.* 2018;126(2):99–108. doi:10.1111/apm.12801
- Ak Aksoy S, Tunca B, Erçelik M, et al. Early-stage colon cancer with high MALAT1 expression is associated with the 5-Fluorouracil resistance and future metastasis. *Mol Biol Rep.* 2022;49(12):11243–11253. doi:10.1007/s11033-022-07680-y
- Shi J, Zhang H, Han G, et al. Matrine improves the hepatic microenvironment and reverses epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma by inhibiting the Wnt-1/β-catenin signaling pathway. *Am J Transl Res.* 2023;15(8):5047–5070
- Song KA, Niederst MJ, Lochmann TL, et al. Epithelial-to-Mesenchymal Transition Antagonizes Response to Targeted Therapies in Lung Cancer by Suppressing BIM. *Clin Cancer Res.* 2018;24:197–208. doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-1577.
- Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest.* 2009;119:1429–1437.
- Thiery JP, Acloque H, Huang RY, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell.* 2009;139:871–890. doi:10.1016/j.cell.2009.11.007
- Azumi J, Tsubota T, Sakabe T, Shiota G. miR-181a induces sorafenib resistance of hepatocellular carcinoma cells through downregulation of RASSF1 expression. *Cancer Sci.* 2016;107(9):1256–1262. doi:10.1111/cas.13006
- Lee TK, Poon RTP, Yuen AP, et al. Twist Overexpression Correlates with Hepatocellular Carcinoma Metastasis through Induction of Epithelial-Mesenchymal Transition. *Clin Cancer Res.* 2006;12:5369–5376. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-2722
- Miyoshi A, Kitajima Y, Sumi K, et al. Snail and SIP1 increase cancer invasion by upregulating MMP family in hepatocellular carcinoma cells. *Br J Cancer.* 2004;90(6):1265–1273. doi:10.1038/sj.bjc.6601685
- Chen W, Gao Q, Han S, Pan F, Fan W. The CCL2/CCR2 axis enhances IL-6-induced epithelial-mesenchymal transition by cooperatively activating STAT3-twist signaling. *Tumour Biol.* 2015;36(2):973–981. doi:10.1007/s13277-014-2717-z
- Yang MH, Chen CL, Chau GY, et al. Comprehensive analysis of the independent effect of twist and snail in promoting metastasis of hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology.* 2009;50(5):1464–1474. doi:10.1002/hep.23221

Research Article | Araştırma Makalesi

INVESTIGATION OF IN SILICO PROPERTIES OF [5-HYRDOXY-7-(PENTYLOXY)-2-PHENYL-4H-CHROMEN-4-ONE] MOLECULE AND ITS EFFECTS ON IN-VITRO EPILEPTIFORM ACTIVATION IN BRAIN SLICES

[5-HİDROKSİ-7-(PENTİLOKSİ)-2-FENİL-4H-KROMEN-4-ONE] MOLEKÜLÜNÜN IN SİLİCO ÖZELLİKLERİNİN VE BEYİN DİLİMLERİNDE IN-VİTRO EPİLEPTİFORM AKTİVASYON ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

 Harun Basoglu^{1*},  Hilal Ozturk¹,  Nuri Yorulmaz²,  Selcen Aydin-Abidin¹,  İsmail Abidin¹

¹Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Department of Biophysics, Trabzon, Türkiye. ²Harran University, Faculty of Science, Department of Physics, Şanlıurfa, Türkiye.



ABSTRACT

Objective: Epilepsy is an incurable disorder, necessitating research into new drug candidates. The molecule 5-hydroxy-7-(pentyloxy)-2-phenyl-4h-chromen-4-one (5H7P4C4O) is available commercially, but its solubility, spectroscopic properties, and biological activity are unknown. This article focuses on the investigation of a molecule called 5H7P4C4O and its potential biological effects in the central nervous system (CNS) for the treatment of epilepsy.

Methods: Initially, the solubility and spectroscopic properties of 5H7P4C4O were determined. Physicochemical, pharmacokinetic and drug-likeness properties were evaluated in silico with the ADME program. Besides, focusing on the potential of the molecule on the neurological activity, interaction potentials of 5H7P4C4O molecule on NMDA, AMPA and GABA-A receptors was investigated by molecular docking method. Binding energies indicated potential affinity for NMDA and GABA-A receptors. Next, the acute effect of the 5H7P4C4O molecule was electrophysiologically examined in the CA3 region of the hippocampus in brain slices of 30-35 days old C57BL/6 mice. Epileptiform activity was induced in Mg+2-free medium or with 4-aminopyridine (4AP, 100 µM).

Results: When applied alone, 5H7P4C4O exhibited no stimulating effect at doses of 5, 10, and 20 µM. However, it extinguished ictal signals and demonstrated a remarkable modulatory effect on the total power of signals within the 0-47 Hz frequency range in Mg+2-free model.

Conclusion: Based on the results obtained, it was concluded that the 5H7P4C4O indicates modulator effect on neuronal stimulation. Showing this effect only in the Mg+2-free model suggests that it has activity on NMDA receptors. Additionally, its ability to gather power signals within a specific frequency range suggest potential effectiveness in cognitive and/or other brain functions.

Keywords: Epilepsy, Brain slice, Mg-free, 4AP, Electrophysiology

Öz

Amaç: Epilepsi tam tedavisi olmayan bir hastalıktır ve yeni ilaç adaylarının araştırılmasını gerektirir. 5-hidroksi-7-(pentiloksi)-2-fenil-4h-kromen-4-one (5H7P4C4O) molekülü ticari olarak mevcuttur, ancak çözünürlüğü, spektroskopik özellikleri ve biyolojik aktivitesi bilinmemektedir. Bu makale, epilepsi tedavisi için 5H7P4C4O adlı bir molekülün ve bunun merkezi sinir sistemindeki (MSS) potansiyel biyolojik etkilerinin araştırılmasına odaklanmaktadır.

Yöntem: İlk olarak 5H7P4C4O'nun çözünürlüğü ve spektroskopik özellikleri belirlendi. Fizikokimyasal, farmakokinetik ve ilaca benzerlik özellikleri ADME programı ile in silico olarak değerlendirildi. Ayrıca molekülün nörolojik aktivite üzerindeki potansiyeline odaklanılarak, 5H7P4C4O molekülünün NMDA, AMPA ve GABA-A reseptörleri üzerindeki etkileşim potansiyelleri moleküler yerleştirme yöntemiyle incelenmiştir. Bağlanma enerjileri, NMDA ve GABA-A reseptörleri için potansiyel afinite gösterdi. Daha sonra 5H7P4C4O molekülünün akut etkisi, 30-35 günlük C57BL/6 farelerinin beyin kesitlerinde hipokampusun CA3 bölgesinde elektrofizyolojik olarak incelendi. Epileptiform aktivite, Mg+2 içermeyen ortamda veya 4-aminopiridin (4AP, 100 µM) ile indüklendi.

Bulgular: 5H7P4C4O, tek başına uygulandığında 5, 10 ve 20 µM dozlarda hiçbir uyarıcı etki göstermedi. Bununla birlikte, Mg+2 içermeyen modelde iktal sinyalleri söndürdü ve 0-47 Hz frekans aralığındaki sinyallerin toplam gücü üzerinde dikkate değer bir modülatör etki gösterdi.

Sonuç: Elde edilen sonuçlara göre 5H7P4C4O'nun nöronal stimülasyon üzerinde modülatör etki göstermektedir. Bu etkiyi sadece Mg+2 içermeyen modelde göstermesi NMDA reseptörleri üzerinden etkinlik gösterdiğini düşündürmektedir. Ayrıca, güç sinyallerini belirli bir frekans aralığında toplama yeteneği, bilişsel ve/veya diğer beyin işlevlerinde potansiyel etkilerinin olduğunu gösterir.

Anahtar Kelimeler: Epilepsi, Beyin Kesitleri, Mg içermeyen, 4AP, Elektrofizyoloji

*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Harun Basoglu; Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Department of Biophysics, Trabzon, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (462) 377 78 05 e-mail/e-posta: hbasoglu@ktu.edu.tr, hbasoglu@gmail.com

Submitted/Başvuru: 21.07.2023

Accepted/Kabul: 18.09.2023

Published Online/Online Yayın: 21.10.2023

Introduction

Epilepsy is a neurological disorder characterized by recurrent seizures caused by abnormal and excessive neuronal activity in the brain.^{1,2} Seizures occur when there is an imbalance between neuronal excitation and inhibition in the central nervous system (CNS).³ Only the basic chemical properties of the 5H7P4C4O molecule are known, and best of our knowledge, there is no study in the literature on its biological effects. Our in-situ investigation revealed that 5H7P4C4O may have affinity for N-methyl-D-aspartate (NMDA) and gamma aminobutyric acid-A (GABA-A) receptors in the CNS.

Although various substances is used as neurotransmitters in CNS, as an excitatory neurotransmitter glutamate and as an inhibitory neurotransmitter GABA are the major neurotransmitters.⁴ Glutamate acts on three types of ionotropic glutamate receptors: NMDA, alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) and kainate receptors. When glutamate binds to these receptors, it triggers the opening of channels that allow the influx of cations resulting in excitatory synaptic transmission. At resting membrane potentials, Mg²⁺ ions strongly block NMDA channels and activation of NMDA channels are dependent on both glutamate release and membrane potentials.^{5,6} Removing of Mg²⁺ ions from the extracellular solution resulted in seizure like activity⁷, which has been used to generate epileptiform activity in brain slices. Therefore, the discovery of a new NMDA receptor antagonist is valuable for the treatment of epilepsy.

GABA is a major inhibitory neurotransmitter released from GABAergic neurons and binds to both GABA-A and GABA-B receptors. Activation of GABA-A receptors increase inward chloride currents which hyperpolarize the membrane potentials of neurons. On the other hand GABA-B receptor increases potassium permeability, decreases calcium entry, and inhibits the presynaptic release of other transmitters.⁸ While drugs that activate the GABA receptor suppress seizures, antagonist drugs cause seizures.

To expedite the drug discovery process, computer models and molecular docking techniques are used to predict the interaction of molecules with target receptors. While the ADME (Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion) software used in this study provides important information about the physicochemical and pharmacokinetic properties of a molecule⁹, information about the interaction of ligand structures with macromolecular targets is obtained by calculating the ligand-receptor binding free energy by molecular docking method.¹⁰

Temporal lobe epilepsy (TLE) is a common type of epilepsy, is characterized by recurrent focal seizures originating from mesial temporal lobe, particularly the hippocampus.¹¹ Investigating the effects of new molecules on GABA-A, NMDA or AMPA channels would be a reasonable approach to explore potential antiepileptic effects. Although 5H7P4C4O (Figure 1) is commercially available, current information is lacking regarding its

biological effects, solubility, absorbance wavelength, and fluorescence properties.

In this study, the effects of 5H7P4C4O on GABA-A, NMDA and AMPA channels were investigated for the first time by molecular docking method. The results revealed a stronger allosteric effect of the molecule on the NMDA receptor compared to the other channels, so its effect was electrophysiologically investigated in the both Mg²⁺-free epilepsy model and 4-aminopyridine (4AP) epilepsy model in the mouse brain slices for the first time. In addition, absorbance and fluorescence measurement results were reported for the first time in this study.

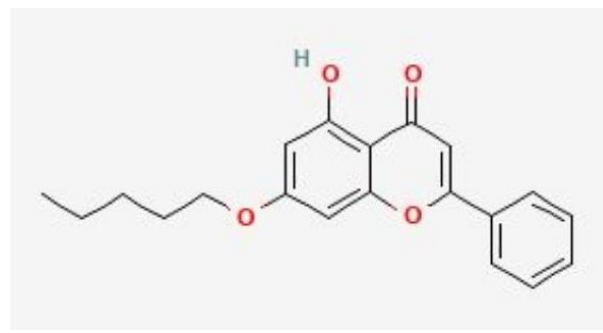


Figure 1. Molecular structure of 5-hydroxy-7-(pentyloxy)-2-phenyl-4h-chromen-4-one (5H7P4C4O) PubChem ID: 5877945

Methods

The animal experiments of this study were approved by Local Animal Care and Ethics Committee (approval number: 2021–108), and certify that the study was performed in accordance with the international ethical standards as declared in the Helsinki Declaration. All the chemicals were purchased from Sigma-Aldrich unless specified.

Absorbance and Fluorescence spectrometric measurement

First 5H7P4C4O cannot be dissolved in water. Therefore 5H7P4C4O was dissolved in pharma grade dimethyl sulfoxide (DMSO (Aromel Kimya)) by sonicating in an ultrasonic bath for 10 min. 100 µl samples were put into 96 well plate to investigate absorbance and fluorescence properties. To determine the absorbance values, the sample was scanned in the wavelength range of 230–1000 nm in the Spectramax Paradigm Spectrometers, Molecular Devices (USA). Then Fluorescence measurements were performed scanning from 400 to 800 nm with 360 nm excitation wavelength which is the minimum wavelength of the device.

Molecular docking and ADME studies

Molecular Docking studies were performed as described elsewhere.² Briefly the molecular structure of 5H7P4C4O was obtained from PubChem database (ID: 5877945) and protein structure obtained from protein data bank (PDB), which are NMDA (5B3J), GABA-A (6D6T), AMPA (7LEP) and 5H7P4C4O docked to these receptors by using Autodock 4.2.6 software. For detection of active binding

sites, ifenprodil, bicuculline and perampanel were used as references for NMDA, GABA-A and AMPA receptors, respectively. The protein–ligand complexes were visualized and analyzed using Auto-DockTools and Discovery Studio version 4.0 (Accelrys Software Inc., San Diego, CA, USA). SwissADME web site is used to evaluate physicochemical, water solubility, pharmacokinetic and drug-likeness properties of the molecule.⁹

Slice Preparation

Ex vivo fresh brain slices were prepared from 30 to 35-day-old C57BL/6 female mice as described elsewhere.^{12,13} After rapid decapitation mice brain was removed and put into cold (1.5–2 °C) artificial cerebrospinal fluid (ACSF) solution containing 125 mM NaCl, 2.5 mM KCl, 1.25 mM NaH₂PO₄, 25 mM NaHCO₃, 25 mM d-glucose, 2 mM CaCl₂, and 1.5 mM MgCl₂ for 3-4 min. Horizontal hippocampal slices 370-µm-thick were cut using the microtome (Leica VT100S, Germany) and incubated in 30 ± 1°C ACSF solution which was oxygenated with 95% O₂ and 5% CO₂ at pH 7.4, for recovery at least 40 minutes.

Electrophysiological Recordings

First 5, 10 and 20 µM 5H7P4C4O were applied to brain slices to discover whether 5H7P4C4O had a stimulating effects on neurons. The brain slice placed in a submerged type of recording chamber and perfused with oxygen saturated 30 ± 1°C ACSF. Micropipette electrodes were positioned on CA3 region and electrophysiological recording were performed. After being sure there was no abnormal activities or discharges, electrophysiological activities were recorded the slice both in ACSF and in variety concentrations of 5H7P4C4O.

Mg²⁺-free epilepsy model¹⁴ was modified to mimic epilepsy. Briefly brain slice removed to 30 ± 1 °C oxygenated Mg²⁺-free ACSF solution containing 125 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.25 mM NaH₂PO₄, 25 mM NaHCO₃, 25 mM d-glucose, 2 mM CaCl₂ and incubated for 80 minutes to repel Mg²⁺ ions from NMDA channels. After that the slice was placed in a recording chamber which was perfused with 30 ± 1 °C, 3 ml/minutes oxygen saturated Mg²⁺-free ACSF solution. The glass micropipette electrodes were placed on the CA3 region of the hippocampus. Before recording, the slice was allowed to accommodate for 10-15 minutes. Then 30 minutes

electrophysiological recording was taken. After that the bath solution was replaced by Mg²⁺-free ACSF containing 10 µM 5H7P4C4O and 30 minutes recording was obtained.

4-aminopyridine (4AP) induced epilepsy method in brain slices were performed as described elsewhere.^{2,12,13,15} Briefly ACSF containing 100 µM 4AP were perfused to the chamber to initiate epileptiform activities. Electrophysiological recordings were taken from the CA3 region for 30 minutes after mature epileptiform activity was obtained. Then, the bath solution was replaced by ACSF containing 100 µM 4AP + 10 µM 5H7P4C4O and the activity was recorded for another 30 minutes.

Statistical Analysis

Statistical analysis was conducted using GraphPad Prism software, employing paired t-tests. The data were presented as mean ± standard deviation (SD). A significance level of (p < 0.05) was considered statistically significant.

Results

Absorbance and Fluorescence Measurements

Visually 5H7P4C4O is well dissolved in DMSO and absorbance and fluorescence spectra are shown in Figure 2.

ADME Results

Physicochemical properties, lipophilicity, water solubility, pharmacokinetics and drug-likeness properties of 5H7P4C4O are given at the Table 1.

Molecular Docking Results

As a GluN2B selective NMDA antagonist, ifenprodil can change the course of epileptogenesis and ictogenesis in temporal lobe epilepsy.¹⁶ The binding energies of ifenprodil and 5H7P4C4O molecule to the relevant region of the NMDA receptor 5B3J were calculated as -8.20 and -6.97 kcal/mol, respectively, by molecular docking method (Table 2). Bicuculline is a GABA-A receptor antagonist and occupies agonist binding sites.¹⁷ Binding energies of Bicuculline and 5H7P4C4O molecule to 6D6T, the GABA-A receptor, were calculated as -6.76 and -6.34 kcal/mol, respectively (Table 2). The affinity of the

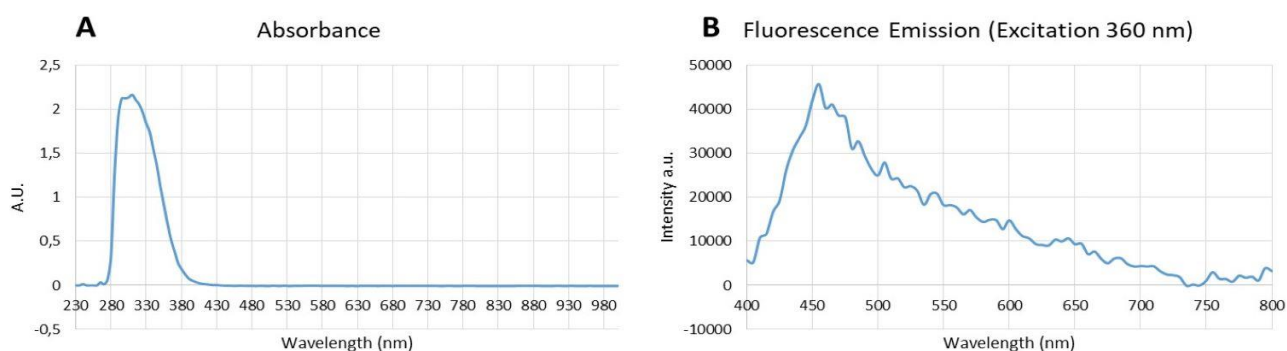


Figure 2. (A) Absorbance and (B) fluorescence spectrum of 5H7P4C4O. Absorbance peak wavelength of 5H7P4C4O is 295-310 nm and fluorescence emission peak value is 455 nm.

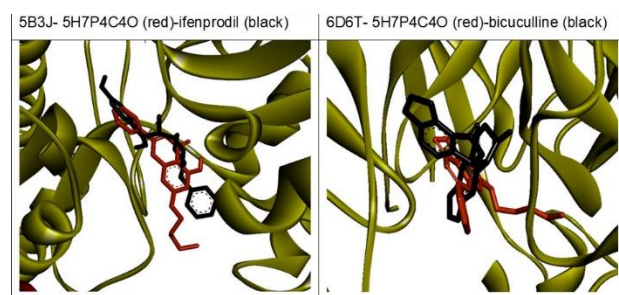
Table 1. ADME properties of 5H7P4C4O

Physicochemical Properties		Pharmacokinetics	
Formula	C20H20O4	GI absorption	High
Molecular weight	324.37 g/mol	BBB permeant	Yes
Num. of heavy atoms	24	CYP1A2 inhibitor	Yes
Num. Of rotatable bonds	6	CYP2C19 inhibitor	Yes
Num. of H-bond acceptors	4	CYP2C9 inhibitor	Yes
Num. of H-bond donors	1	CYP2D6 inhibitor	Yes
Molar refractivity	95.66	CYP3A4 inhibitor	Yes
Topolog. Polar Surface Area	59.67 (Å ²)	Log Kp (skin permeation)	-4.27 cm/s
Lipophilicity		Druglikeness	
Log P _{o/w} (iLOGP)	3.80	Lipinski	Yes; 0 violation
Log P _{o/w} (WLOGP)	4.73	Ghose	Yes
Log P _{o/w} (XLOGP3)	5.64	Veber	Yes
Log P _{o/w} (MLOGP)	2.27	Egan	Yes
Water solubility		Muegge	No; XLOGP3>5
Log S (ESOL)	-5.50 (Moderately soluble)	Bioavailability Score	0.55
Log S (Ali)	-6.66 (Poorly soluble)		

Table 2. The binding energies, hydrogen bonds, and bond distance of 5H7P4C4O to the relevant receptors (*indicates reference molecules that binds to the proteins)

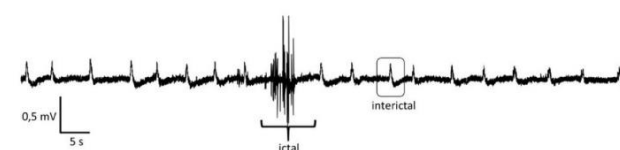
Macromolecule	Ligand	Binding Energy (kcal/mol)	Inhibition Constant, Ki	Hydrogen Bonds	The distance of hydrogen bonding (Armstrong)
5B3J	5H7P4C4O	-6.97	7.81 μM	H-GLN153:OE1	2.17
	Ifenprodil*	-8.20	979.36 nM	H – SER131:O H – GLU284:OE1	2.09 2.07
6D6T	5H7P4C4O	-6.34	22.61 μM	LYS105:NZ - O H – ASP57:O	2.97 2.04
	Bicuculline*	-6.76	11.03 μM	-	-
7LEP	5H7P4C4O	-5.09	184.44 μM	H – ALA117:O	1.99
	Perampanel*	-7.22	5.10 μM	VAL514:N - O	2.88

5H7P4C4O molecule for the AMPA (7LEP) receptor was found to be much lower than the reference molecule (Table 2). These results made us think that the 5H7P4C4O molecule may have an effect on NMDA and/or GABA-A receptors. Figure 3 shows the binding sites of both 5H7P4C4O and reference molecules for NMDA and GABA-A receptors. The 2D image of the bindings of 5H7P4C4O and reference molecules with the receptors is shown in the supplementary file ([SFigure 1](#)) which indicates possible other bonds with the amino acids.

**Figure 3.** 3D view of the binding sites and molecular position of 5H7P4C4O and reference molecules to the 5B3J (NMDA) and 6D6T (GABA-A) receptors.

Brain Slice Electrophysiological Results

The application of 5H7P4C4O at various concentrations (5, 10, and 20 μM) in brain slices immersed in ACSF did not trigger any spikes or synchronous discharges that could be interpreted as an epileptiform activity. The effects of 5H7P4C4O (10 μM) of epileptiform activities were investigated in two different epilepsy models which are Mg²⁺-free and 4AP models. Mg²⁺-free epilepsy model basically depends on the NMDA channels mediated depolarizing currents. In this model, two distinct types of epileptiform activities -both interictal and ictal like activities- were observed in the CA3 region (Figure 4). Signals with amplitude 4 times the initial amplitude, showing sharp rise deviations and lasting less than 4 seconds were called interictal, while activities lasting longer than 4 seconds were called ictal (Figure 4).

**Figure 4.** Sample trace of field potential recordings from CA3 region of hippocampus in the Mg²⁺-free epilepsy model. Interictal sample is shown in rounded rectangle and ictal sample is shown above the bracket.

Interictal frequency, ictal frequency, power of total records were analyzed (Figure 5). Statistical analysis indicated that 5H7P4C4O application did not change the interictal frequency significantly (Figure 5A, D). Although ictal signals were obtained in only 2 samples in Mg^{2+} -free model, they completely disappeared after 5H7P4C4O application. To prevent the inclusion of the 50 Hz frequency, a notch filter was used, and the power of frequencies within the 0-47.6 Hz range was calculated for the total power analysis (Figure 5B), and also average power calculated (Figure 5E). The average total power exhibited a decrease whereas no statistical significant difference was obtained. Upon closer examination of each sample in Figure 5B, it was observed that the total power in the 0-47 Hz range decreased after the application of 5H7P4C4O for samples with initial power higher than 0.011 mV^2/Hz , while lower power signals

increased. In other words, the application of 5H7P4C4O in this model exhibited a regulatory effect by reducing high-power signals and increasing low-power signals, resulting in the power of signals gathering between 0.0019 and 0.0090 mV^2/Hz . Although a decrease in the average total power was observed in the 52.4-97.6 Hz frequency range after the application of 5H7P4C4O, the change was not statistically significant (Figure 5C, F). Application of 5H7P4C4O significantly reduced the interictal frequency of 4AP induced epileptiform activity (Figure 6A). Although there was an increase in ictal events in some brain slices after 5H7P4C4O administration, it was not statistically significant (Figure 6B, F). Moreover it has no significant effect on total power of 0-47.6 Hz and 52.4-97.6 Hz on 4AP model (Figure 6C, D, G, H).

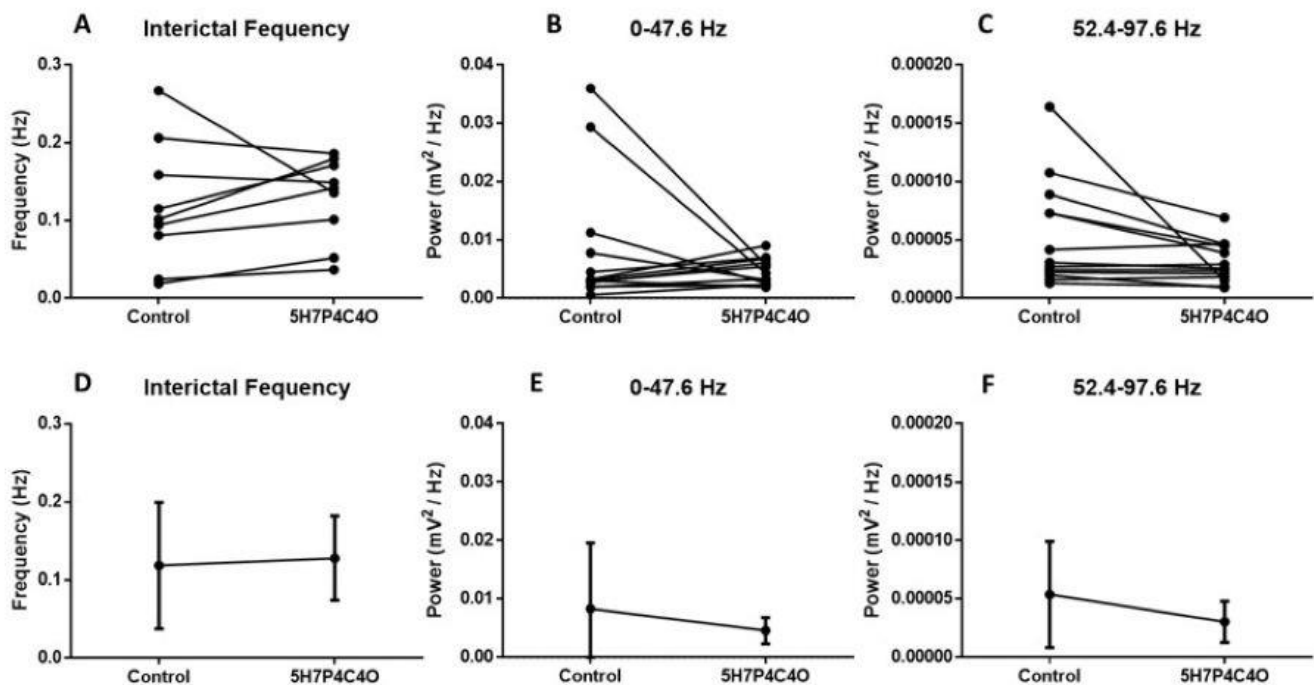


Figure 5. Frequency of interictal activities (A), total power of each sample frequency range 0-47,6 Hz (B) and 52,4-97,6 Hz range (C) in Mg^{2+} -free epilepsy model. Average frequency of interictal activities (D), average power of 0-47,6 Hz frequency range (E) and 52,4-97,6 Hz range (F). (n=9, mean \pm SD).

Discussion

The investigation of new molecules with potential as drugs becomes increasingly important, considering the lack of effectiveness of commonly used antiepileptic drugs in approximately 40% of patients with temporal lobe epilepsy.¹⁶ Molecular docking analyzes showed that the 5H7P4C4O molecule has a high potential to interact on neuronal targets (NMDA and GABA-A receptors), which are important in excitability in the brain. Furthermore, this study provides valuable insights into the basic physical and chemical properties of the molecule, which have been previously poorly documented. Spectrophotometric methods and ADME analysis were employed to elucidate these properties, offering a comprehensive understanding of the

molecule's characteristics. This study provides several important findings regarding the 5H7P4C4O molecule and its effects as a drug for epilepsy treatment.

Firstly, according to the ADME results (Table 1), molecular weight of 5H7P4C4O is smaller than 500, hydrogen bond acceptor is less than 10, hydrogen bond donor is less than 5, molar refractivity is less than 130, number of rotatable bonds are less than 10 and topological polar surface area is less than 140. Lipophilicity values (iLogP, WLogP and MLogP) are less than 5, but XLogP3 is greater than 5. Therefore drug-likeness of 5H7P4C4O is positive based on Lipinski¹⁸, Ghose¹⁹, Veber²⁰ and Egan²¹ filters, whereas it is not good enough for Muegge²² filter because of the XLogP3 which is greater than 5. Bioavailability (F) score is a percentage number that developed to predict the permeability and

bioavailability properties of compounds which should be greater than 10 % F in rats ²³, and since the F value for 5H7P4C4O is 55%, bioavailability can be considered good. Pharmacokinetic properties based on virtual screening indicated that its gastrointestinal (GI) absorption is high and can be able to pass the blood brain barrier (BBB). An increase in the negative Log K_p figure indicates a decrease in the skin permeability of the molecule under

investigation.²⁴ LogS value expresses the estimated solubility of a molecule in water.^{25,26} LogS scale; insoluble<-10<Poorly<-6<moderately<-4<soluble<-2 very<0< highly. Two different calculation methods have shown that 5H7P4C4O is moderately or poorly soluble in water. In this study, we also observed that the 5H7P4C4O molecule was insoluble in water, and therefore it was dissolved in DMSO.

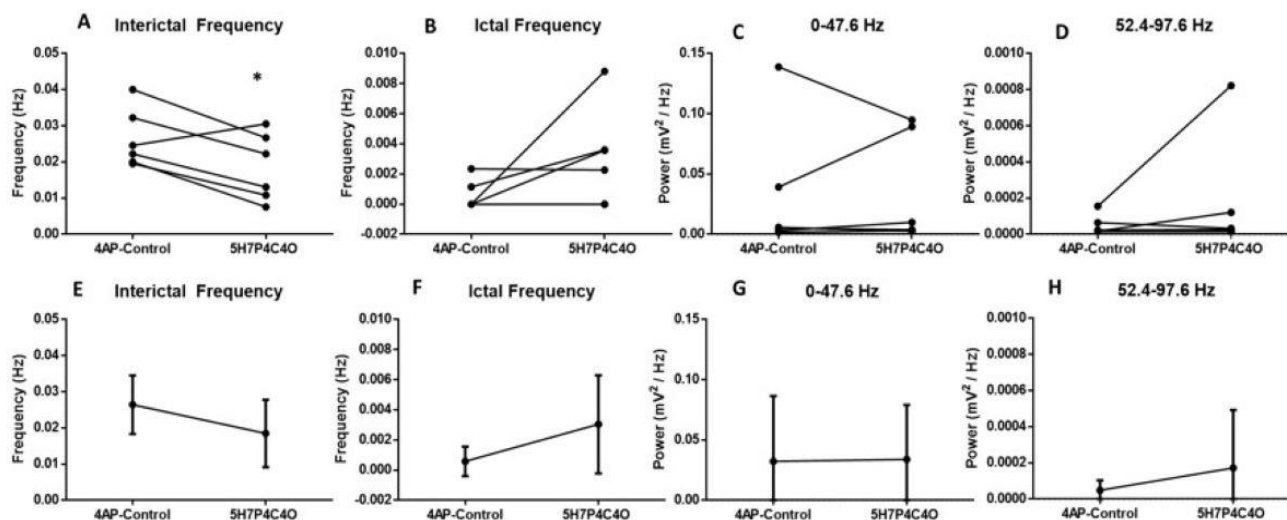


Figure 6. Frequency of interictal (A) and ictal events (B) in 4AP epilepsy model. Interictal frequency significantly decreases after 5H7P4C4O application. Total power of each sample frequency range 0-47,6 Hz (C) and 52,4-97,6 Hz range (D). Average frequency of interictal activities (E) and ictal activities (F). Average power of 0-47,6 Hz frequency range (G) and 52,4-97,6 Hz range (H). (n=6, mean±SD).

Second, the study reports the absorbance and fluorescence properties of 5H7P4C4O for the first time. 5H7P4C4O has absorbance peak at ultraviolet wavelength (UV) (315 nm) and also indicates fluorescence properties in visible range with the peak at 455 nm. However, the fluorescence curve is not sharp, indicating limitations in its usefulness for imaging purposes. Moreover, the UV excitation wavelength of the molecule raises concerns about potential harmful effects, such as cancer, in a biological environment.

The molecular docking analyses reveal that 5H7P4C4O has the potential to interact with important neuronal targets involved in excitability, specifically the NMDA and GABA-A receptors. The binding energies suggest that 5H7P4C4O may act as a blocker of the NMDA receptor and potentially have affinity for the GABA-A receptor as a blocker. There are H-bonds between the NMDA receptor 5B3J and the reference molecule ifenprodil at the GLU 284 and SER131 region. On the other hand the 5H7P4C4O molecule, can make H-bond in the GLN153 region. However, 5H7P4C4O has a van der Waals interaction to the GLU 284 and SER131 region (SFigure-1). The binding energies of Ifenprodil and 5H7P4C4O are -8.20 and -6.97, respectively (Table 2). Because of these results, it was thought that 5H7P4C4O might be a blocker of the NMDA receptor. Bicuculline is a well-known GABA-A receptor blocker and has no H-bond with the GABA-A receptor 6D6T, but can Alkyl bond with PRO184, MET58, PRO140 sites and Pi-Anion bond with GLU138 (SFigure-1). The 5H7P4C4O molecule can also Alkyl bond with

PRO184 and MET58, and conventional H-bond with GLU138. The binding energies are -6.76 and -6.34 for bicuculline and 5H7P4C4O, respectively (Table 2).

The effect of the 5H7P4C4O molecule in two different epilepsy models (Mg^{2+} - free and 4AP) was investigated for the first time. In the Mg^{2+} -free model, 5H7P4C4O modulates the power of neuronal signals in the frequency range of 0-47 Hz by decreasing high-power signals and amplifying low-power signals. Although ifenprodil is an NMDA antagonist, it is not as potent as Mg or ketamine in reducing the ionic permeability of NMDA channels.

In the studies performed with the patch clamp technique, it was reported that ifenprodil application prolonged the excitatory post-synaptic current decay time in the temporal lobe epilepsy model compared to the control¹⁶ and reduce neuronal excitability on neocortical pyramidal neurons of epilepsy patients in Mg^{2+} -free model.¹⁴ Ifenprodil has been shown to be moderately effective in suppressing seizures in acute seizure models and has an anti-ictogenic effect different from its anti-convulsive effect in acute seizure models.^{16,27} In this study 5H7P4C4O has no significant effect on interictal frequency, however, it extinguished the ictal discharges in Mg-free model. The main reason for this result may be that electrophysiological recordings are obtained from numerous cells within the brain slices, rather than focusing on a single cell as in the patch clamp technique. Additionally, in some recordings, interictals were poly-spiked and spike numbers were reduced after 5H7P4C4O

administration. These results suggest that 5H7P4C4O may be moderately effective in epilepsy models, similar to ifenprodil, by reducing interictal activity and potentially acting as a modulator of neuronal signals.

Aminopyridines (4AP) can induce generalized tonic seizures that were associated with neuronal discharges occurring in hippocampus, amygdala and neocortex.²⁸ 4AP blocks potassium channels and generates both ictal and interictal like events.²⁹ In this study both ictal and interictal discharges were observed after 4AP bath application to the mice brain slices. However 10 μ M 5H7P4C4O application significantly reduced the interictal activity, which may be the result of the inability to generate interictal signals due to the predominance of ictal signals after 5H7P4C4O administration. Although the molecular docking results showed that 5H7P4C4O has affinity for the GABA-A receptor, the ex-vivo test results indicated that the molecule had neither antagonist nor agonist effect on the GABA-A receptor.

Overall, the study highlights the unique properties of 5H7P4C4O, including its absorbance and fluorescence characteristics, as well as its effects on epileptiform activity in different models. 5H7P4C4O has no excitatory effect in the brain in ACSF for three concentrations (5, 10 and 20 μ M) which indicate that it does not stimulate epileptic activity. However it only indicated modulatory effect on the Mg²⁺-free epilepsy model. Additionally modulatory effect on the power of neuronal stimulation, specifically gathering the power of the frequency range of 0-47 Hz signals in a certain range suggest that it may be effective through secondary messenger pathways or other pathways that we could not examine in this study such as endocannabinoid pathway or cholecystokinin which modulates intrinsic neuronal excitability and synaptic transmission.³⁰ The molecule's modulatory effect on neuronal stimulation and its ability to gather power signals within a specific frequency range suggest potential effectiveness in cognitive or other brain functions. Further research is necessary to explore the broader implications and mechanisms of action of 5H7P4C4O in epilepsy and other neurological conditions. In conclusion, Overall, the study highlights the unique properties of 5H7P4C4O, including its absorbance and fluorescence characteristics, as well as its effects on epileptiform activity in different models. 5H7P4C4O has no excitatory effect in the brain in ACSF for three concentrations (5, 10 and 20 μ M) which indicate that it does not stimulate epileptic activity. However it only indicated modulatory effect on the Mg²⁺-free epilepsy model. Additionally modulatory effect on the power of neuronal stimulation, specifically gathering the power of the frequency range of 0-47 Hz signals in a certain range suggest that it may be effective through secondary messenger pathways or other pathways that we could not examine in this study such as endocannabinoid pathway or cholecystokinin which modulates intrinsic neuronal excitability and synaptic transmission.³⁰ The molecule's modulatory effect on neuronal stimulation and its ability to gather power signals within a specific frequency range suggest potential effectiveness in

cognitive or other brain functions. Further research is necessary to explore the broader implications and mechanisms of action of 5H7P4C4O in epilepsy and other neurological conditions.

Compliance with Ethical Standards

The study protocol was approved by the Kocaeli University Ethics Committee (Date: 09.05.2023, No: 2023-110).

Conflict of Interest

The author declares no conflicts of interest.

Author Contribution

All the authors equally contributed to this work.

Financial Disclosure

None

References

1. Sharifi-Rad J, Quispe C, Herrera-Bravo J, et al. A Pharmacological Perspective on Plant-derived Bioactive Molecules for Epilepsy. *Neurochemical research* 2021;46(9):2205-2225. doi:10.1007/s11064-021-03376-0
2. Ozturk H, Basoglu H, Yorulmaz N, Aydin-Abidin S, Abidin I. Fisetin decreases the duration of ictal-like discharges in mouse hippocampal slices. *Journal of Biological Physics* 2022;48(3):355-368. doi:10.1007/s10867-022-09612-0
3. Ozturk H, Yorulmaz N, Durgun M, Basoglu H. In silico investigation of Alliin as potential activator for AMPA receptor. *Biomedical Physics & Engineering Express*. 2021;8(1). doi:10.1088/2057-1976/ac351c
4. Hanada T. Ionotropic Glutamate Receptors in Epilepsy: A Review Focusing on AMPA and NMDA Receptors. *Biomolecules*. 2020;10(3):464.
5. Hansen KB, Yi F. Structure, function, and allosteric modulation of NMDA receptors. *J Gen Physiol*. 2018;150(8): 1081-1105. doi:10.1085/jgp.201812032
6. Blanke ML, VanDongen AMJ. Frontiers in Neuroscience Activation Mechanisms of the NMDA Receptor. In: *Biology of the NMDA Receptor*. (Van Dongen AM. ed.) CRC Press/Taylor & Francis Copyright © 2009, Taylor & Francis Group, LLC.: Boca Raton (FL); 2009.
7. Anderson WW, Anderson WW, Lewis DV, et al. Magnesium-free medium activates seizure-like events in the rat hippocampal slice. *Brain research* 1986;398(1):215-219. doi:https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)91274-6
8. Treiman DM. GABAergic mechanisms in epilepsy. *Epilepsia* 2001;42 Suppl 3(8-12). doi:10.1046/j.1528-1157.2001.042 suppl.3008.x
9. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep* 2017;7(1):42717. doi:10.1038/srep42717
10. Pinzi L, Rastelli G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18). doi:10.3390/ijms20184331
11. Bertram EH. Temporal lobe epilepsy: Where do the seizures really begin? *Epilepsy & Behavior* 2009;14(1, Supplement 1):32-37. doi:https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2008.09.017
12. Abidin İ, Aydin-Abidin S, Mittmann T. Neuronal excitability and spontaneous synaptic transmission in the entorhinal

- cortex of BDNF heterozygous mice. *Neuroscience letters*. 2019;690(69-75). doi:10.1016/j.neulet.2018.10.019
13. Basoglu H OH, Keser H, Aydin-Abidin S, Abidin I. L-Theanine Reduces Epileptiform Activity In Brain Slices. *Akdeniz Tip Dergisi*. 2022;8(2):121-127. doi: 10.53394/akd.1057342
 14. Wang X, He X, Li T, et al. Anti-epileptic effect of ifenprodil on neocortical pyramidal neurons in patients with malformations of cortical development. *Experimental and therapeutic medicine*. 2017;14(6):5757-5766. doi:10.3892/etm.2017.5311
 15. Aydin-Abidin S, Abidin İ. 7,8-Dihydroxyflavone potentiates ongoing epileptiform activity in mice brain slices. *Neuroscience letters*. 2019;703(25-31). doi:10.1016/j.neulet.2019.03.013
 16. Gorlewicz A, Pijet B, Orlova K, et al. Epileptiform GluN2B-driven excitation in hippocampus as a therapeutic target against temporal lobe epilepsy. *Experimental neurology*. 2022;354(114087). doi:10.1016/j.expneurol.2022.114087
 17. Masiulis S, Desai R, Uchański T, et al. GABA(A) receptor signalling mechanisms revealed by structural pharmacology. *Nature*. 2019;565(7740):454-459. doi:10.1038/s41586-018-0832-5
 18. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews* 2001;46(1-3):3-26. doi:10.1016/s0169-409x(00)00129-0
 19. Ghose AK, Viswanadhan VN, Wendoloski JJ. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *Journal of combinatorial chemistry* 1999;1(1):55-68. doi:10.1021/cc9800071
 20. Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J Med Chem*. 2002;45(12):2615-23. doi:10.1021/jm020017n
 21. Egan WJ, Merz KM, Jr., Baldwin JJ. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. *J Med Chem*. 2000;43(21):3867-3877. doi:10.1021/jm000292e
 22. Muegge I, Heald SL, Brittelli D. Simple selection criteria for drug-like chemical matter. *J Med Chem*. 2001;44(12):1841-1846. doi:10.1021/jm015507e
 23. Martin YC. A bioavailability score. *J Med Chem* 2005;48(9):3164-3170. doi:10.1021/jm0492002
 24. Potts RO, Guy RH. Predicting skin permeability. *Pharmaceutical research* 1992;9(5):663-669. doi:10.1023/a:1015810312465
 25. Delaney JS. ESOL: estimating aqueous solubility directly from molecular structure. *Journal of chemical information and computer sciences*. 2004;44(3):1000-1005. doi:10.1021/ci034243x
 26. Ali J, Camilleri P, Brown MB, et al. In Silico Prediction of Aqueous Solubility Using Simple QSPR Models: The Importance of Phenol and Phenol-like Moieties. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2012;52(11):2950-2957. doi:10.1021/ci300447c
 27. Yen W, Williamson J, Bertram EH, et al. A comparison of three NMDA receptor antagonists in the treatment of prolonged status epilepticus. *Epilepsy Research*. 2004;59(1):43-50, doi:10.1016/j.eplepsyres.2004.03.004
 28. Lévesque M, Salami P, Behr C, et al. Temporal lobe epileptiform activity following systemic administration of 4-aminopyridine in rats. *Epilepsia*. 2013;54(4):596-604. doi:10.1111/epi.12041
 29. Myers TL, Gonzalez OC, Stein JB, et al. Characterizing Concentration-Dependent Neural Dynamics of 4-Aminopyridine-Induced Epileptiform Activity. *Epilepsy journal*. 2018;4(2). doi:10.4172/2472-0895.1000128
 30. Lee SY, Soltesz I. Cholecystokinin: a multi-functional molecular switch of neuronal circuits. *Developmental neurobiology*. 2011;71(1):83-91. doi:10.1002/dneu.20815

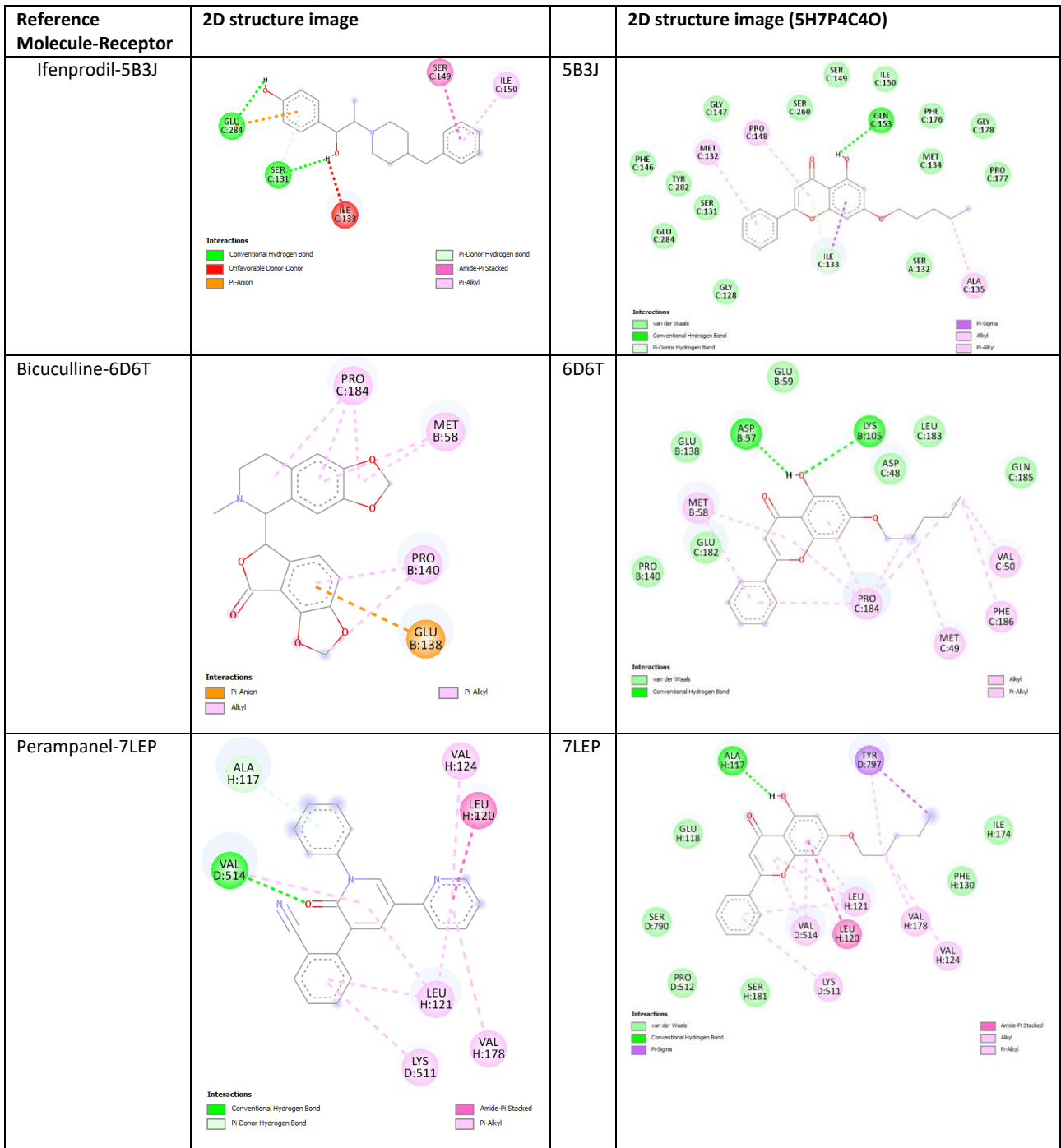




Figure 1. The 2D image of the bindings of 5H7P4C4O and reference molecules with the receptors

Research Article | Araştırma Makalesi

EVALUATION OF THE PATIENTS FOLLOWED IN NEWBORN INTENSIVE CARE UNIT FOR CARDIAC DISEASES

YENİDOĞAN YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE TAKİP EDİLEN HASTALARIN KALP HASTALIKLARI AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

 Ajda Mutlu Mihçioğlu^{1*},  Özgül Salihoglu²

¹University of Health Sciences Bakırköy Dr. Sadi Konuk Training and Research Hospital, Department of Pediatric Cardiology, Istanbul, Türkiye.

²University of Health Sciences Bakırköy Dr. Sadi Konuk Training and Research Hospital, Department of Neonatology, Istanbul, Türkiye.



ABSTRACT

Objective: Congenital Heart Diseases (CHD) constitute 0.8-1.2% of all live births. Echocardiography is frequently preferred in the diagnosis and follow-up of diseases because it is practical and noninvasive. We aimed to evaluate the frequency, types and clinical findings of congenital heart diseases in newborn babies admitted to the neonatal intensive care unit for different reasons.

Methods: The study was conducted among the patients hospitalized in neonatal intensive care unit between January 2022 and January 2023. The patients were grouped according to their gestational week, presence of murmur, cyanosis, respiratory distress, genetic anomaly, Down syndrome, maternal diabetes. The family history of consanguinity, presence of congenital heart disease were also recorded.

Results: Two hundred thirty seven patients were included in our study. Boys constituted 59% of all patients. 60.34% of the patients were between 37-42 gestational weeks. Mean age of the patients was 4.54 ± 8.90 days. Among acyanotic CHD, 30.2% had atrial septal defect (ASD), 23.6% had patent ductus arteriosus, 18.4% had ventricular septal defect (VSD). Among the cyanotic CHD, transposition of great arteries, hypoplastic left heart syndrome, truncus arteriosus were present. Reasons for requesting pediatric cardiology consultation were, in order of frequency, respiratory distress, cyanosis and murmur. 3.8% of the patients consisted of babies of diabetic mothers, and the other 3.8% were the patients with Down syndrome and genetic/congenital anomalies. The frequency of familial consanguinity was 4.2%.

Conclusion: Early detection of congenital heart diseases by using echocardiography will contribute to early interventional procedures and reduce the mortality in babies who are hospitalized in neonatal intensive care unit.

Keywords: Congenital heart disease, echocardiography, newborn

ÖZ

Amaç: Doğumsal Kalp Hastalıkları (DKH) tüm canlı doğumların %0,8-1,2'sini oluşturmaktadır. Ekokardiyografi pratik olması ve invaziv olmaması nedeniyle hastalıkların tanı ve takibinde sıklıkla tercih edilmektedir. Yenidoğan yoğun bakım ünitesine farklı nedenlerle yatan bebeklerde doğuştan kalp hastalıklarının sıklığını, tiplerini ve klinik bulgularını değerlendirmeyi amaçladık.

Yöntem: Çalışma Ocak 2022-Ocak 2023 tarihleri arasında yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar arasında yapıldı. Hastalar gebelik haftası, üfürüm varlığı, siyanoz, solunum sıkıntısı, genetik anomali, Down sendromu, maternal diyabet varlığına göre gruplandırıldı. Ailede akrabalık öyküsü, doğumsal kalp hastalığı varlığı kaydedildi.

Bulgular: Çalışmamıza 237 hasta dahil edildi. Erkekler tüm hastaların %59'unu oluşturmaktaydı. Hastaların %60,34'ü 37-42 gestasyon hafta arasındaydı. Hastaların yaş ortalaması $4,54 \pm 8,90$ gündü. Asiyantotik DKH arasında %30,2'sinde atriyal septal defekt (ASD), %23,6'sında patent duktus arteriozus (PDA), %18,4'ünde ventriküler septal defekt (VSD) vardı. Siyanozlu hastalar arasında büyük arter transpozisyonu, hipoplastik sol kalp sendromu, trunkus arteriozus mevcuttu. Kardiyoloji konsültasyonu istenme nedenleri sıklık sırasına göre solunum sıkıntısı, siyanoz ve üfürümdü. Hastaların %3,8'ini diyabetik anne bebekleri, %3,8'ini ise Down sendromlu ve genetik/konjenital anomali hastalar oluşturdu. Akraba evliliği sıklığı %4,2 idi.

Sonuç: Doğumsal kalp hastalıklarının ekokardiyografi kullanılarak erken tespiti, yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan bebeklerde erken girişimsel işlemlere katkı sağlayacak ve mortaliteyi azaltacaktır.

Anahtar Kelimeler: Doğumsal kalp hastalığı, ekokardiyografi, yenidoğan

*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Ajda Mutlu Mihçioğlu;University of Health Sciences Bakırköy Dr. Sadi Konuk Training and Research Hospital, Department of Pediatric Cardiology, İstanbul, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (212) 414 71 71 e-mail/e-posta:ajdamutlu@yahoo.com

Submitted/Başvuru: 02.08.2023 • Accepted/Kabul: 11.10.2023 • Published Online/Online Yayın: 21.10.2023

Bu eser, Creative Commons Atif-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır. Telif Hakkı © 2020 Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı



Introduction

Congenital heart diseases (CHD) are structural or functional anomalies of the heart that occur during pregnancy. It is the most common congenital anomaly in the neonatal period.¹ Congenital heart diseases have the prevalence of 0.8-1.2% among all live births. It is around 2% among premature babies.¹ Etiology includes genetic and employment factors.² These diseases can be presented as respiratory disorders, cyanosis, and murmur, but also can be asymptomatic.^{3,4} Therefore, echocardiography plays an important role in the diagnosis. Early diagnosis is important because early diagnosis and treatment will affect morbidity and mortality if CHD is detected.^{5,6} The aim of the study is to examine the newborns in the neonatal intensive care unit of our hospital who were evaluated by echocardiography.

Methods

Among the patients hospitalized in the neonatal intensive care unit between January 2022 and January 2023, those who underwent echocardiographic examination were evaluated retrospectively. The patients were analyzed from the archive files. The patient's anamnesis, physical examination findings, reasons for cardiology consultation, echocardiographic diagnoses, presence of additional findings, parental consanguinity, presence of CHD in the family, hospitalization diagnoses, and duration of hospitalization were recorded. Patent ductus arteriosus (PDA) detected during the first 3 days and patent foramen ovale were considered normal and were excluded from the study. All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. Informed consent was obtained from all the patients and their parents.

Statistical Analysis

After the data was obtained from the research, SPSS 29 (Statistical Program in Social Sciences) was used for statistical analysis. Descriptive characteristics were evaluated as mean \pm standard deviation, median (min-max). The values were expressed as numbers and as percentage. Chi-square test was used to compare the data. Statistical significance level was accepted as $p < 0.05$ for all tests.

Results

60.34% of the patients were between 37-42 weeks of gestation (GW). It was followed by 34-37 GW with a frequency of 24.05%. There were patients with 21-25 GW with a rate of 0.84%. The ratio of men to women was 140/97 (Table 1). Mean age of the patients was 4.54 ± 8.90

days. The mean duration of hospital stay was 14.93 ± 19.39 days.

Table 1. Demographic findings of the patients

		n (%)
Gestation week	21-25	1 (0.84)
	26-30	12 (5.06)
	30-34	20 (9.28)
	34-37	45 (24.05)
	37-42	156 (60.34)
	>42	3 (0.42)
Gender	M/F	140/97

M: Male, F: Female

Respiratory problems related to respiratory system diseases were the most common reason for requesting pediatric cardiology consultation. The other reasons for evaluation were presence of murmur and cyanosis. The rest of evaluation requirements include prematurity, jaundice, diabetic mother's babies, presence of congenital anomaly or suspected genetic anomaly, and having a family history of congenital heart disease (Table 2).

Table 2. Reasons for requesting cardiac consultation

	n (%)
Murmur	16 (6.75)
Cyanosis	19 (8.02)
Respiratory Distress	106 (44.73)
Congenital / Genetic disorders	7 (2.95)
Arrhythmia	2 (0.9)
Prematurity	13 (5.4)
Familial consanguinity / CHD in family	10/5 (4.2/2.1)
Jaundice	15 (6.4)
Down Syndrome	2 (0.84)
Diabetic mother's baby	9 (3.8)

CHD: Congenital heart disease

Jaundice, transient tachypnea of the newborn (TTN), respiratory distress syndrome (RDS), pneumonia were the most prevalent disorders among the patients who were hospitalized (Table 3). RDS was the most common diagnosis in preterm patients, too.

Atrial septal defect (ASD) was the most common acyanotic CHD among all patients with a ratio of 30.2%, followed by PDA with a ratio of 23.6% and ventricular septal defect (VSD) with a ratio of 18.4%. ASD secundum, PDA, and VSD were also the most common CHD among preterm patients. Cyanotic CHDs include hypoplastic left

heart syndrome (HLHS), transposition of great arteries (TGA) and truncus arteriosus in our study.

Table 3. Hospitalization diagnoses at admission of inpatients

Diagnoses of the patients	n (%)
Jaundice	39 (16.46)
Transient Tachypnea of Newborn	31 (13.08)
Respiratory Distress Syndrome	28 (11.81)
Pneumonia (Congenital/Neonatal)	24 (10.13)
Sepsis	21 (8.86)
Lower Tract Respiratory Infections	17 (7.17)
Prematurity	15 (6.33)
Meconium Aspiration Syndrome	8 (3.38)
Hypoglycemia	7 (2.96)
Congenital Heart Disease	5 (2.11)
Convulsion	5 (2.11)
Omphalitis	4 (1.69)
Upper Respiratory Tract Infection	4 (1.69)
Enteral Nutrition Problems	4 (1.69)
Conjunctivitis	3 (1.27)
Thrombocytopenia	1 (0.42)
Metabolic Disease	3 (1.27)
Gastroenteritis	2 (0.84)
Congenital Adrenal Hyperplasia	2 (0.84)
Polycythemia	2 (0.84)
Abscess	1 (0.42)
Substance Use of Mother	1 (0.42)
Asphyxia	1 (0.42)
Anomaly of Eye	1 (0.42)
Hypertremic Dehydration	1 (0.42)
Atresia of Ileum	1 (0.42)
Ischemic Trombosis	1 (0.42)
Urinary Tract Infection	1 (0.42)
Congenital Toxoplasmosis	1 (0.42)
Macrosomia	1 (0.42)
Pneumothorax	1 (0.42)
Cleft palate	1 (0.42)

Considering the weeks of gestation, the most common acyanotic diseases included VSD, PDA and ASD secundum and were most frequently prevalent at 37-42 gestation week. At 37-42 GW, coarctation of the aorta was detected in 1 patient and TGA in 1 patient. HLHS was detected in 1 patient between 34-37 GW. Truncus arteriosus was detected in 1 patient between 30-34 GW (Table 4).

The study included 24 acyanotic preterm and 41 acyanotic term patients, while there was 2 cyanotic preterm and 1 cyanotic term patients. Congenital heart diseases were detected in a total of 26 preterm patients and 42 term patients among the patients included in the study.

Discussion

Early diagnosis and management of critical CHD is important to avoid heart failure, cardiovascular collapse and sudden death, therefore echocardiographic evaluation has become an important method for evaluation.⁷ CHD constitutes one third of all congenital anomalies.⁸ In the literature, the frequency of CHD differs between 1.6%-11.7%.⁹⁻¹¹ Karapınarlı et al.⁴, declared that the frequency of CHD among newborn patients was 13.2%. Yalaki et al.³ reported that 31.1% of the patients were preterm and 53.7% were male in their study. Varal et al.¹² also stated similar results. In our study, 32.9% of our patients were preterm and %59 were male. Bulut et al.¹³ stated that the most common reason for consultation was murmur in their study.

Şap et al.¹⁴ stated that, most commonly respiratory diseases, afterwards infectious diseases, gastrointestinal system related diseases and jaundice were the reasons for hospitalization among newborns.¹⁰ Karapınarlı et al.⁴ and Zan et al.¹¹ reported, respiratory distress (tachypnea, retraction, etc.) as the main reason for cardiac evaluation of the patients like in our study. Ertürk et al.⁵ declared that murmur was the most common reason for evaluation with a rate of 50%. The rate of murmur was 27.4% in the study of Karapınarlı et al.⁴, 39.3% in the study of Bulut et al.¹³. The frequency of murmur was lower in our study than the studies mentioned and the most common reason for cardiac evaluation was respiratory distress instead of murmur. Şap et al.¹⁴ and Farrer et al.¹⁵ stated that CHD was also present in the patients without murmur. We supported this finding by showing that congenital heart diseases were reported in many patients who did not have murmur.

The most common CHD detected in the literature was VSD with a rate of 25-30%, followed by ASD.^{4,5} Şimşek et al.⁹ also detected VSD most frequently, followed by ASD and PDA. We detected ASD secundum more frequently, followed by PDA and afterwards VSD. Among acyanotic CHD, Karapınarlı et al.⁴ declared that the most common CHD was ASD, followed by PS, afterwards PDA and VSD like our study. The frequency of acyanotic CHD is 96.2%, and the rate of consultation due to cyanosis is 6.6% in the literature.⁴ In our study, the frequency of congenital

cyanotic CHD was found to be 1.26 %. Shah et al.¹⁶ stated the rate of acyanotic CHD to be 69%, and that of cyanotic 31% similar with the study of Aydoğdu et al.¹⁷ The frequency of cyanotic CHD was 3.8%, and HLHS had the highest ratio in the study of Karapınarlı et al.⁴ In the studies of Ekici et al.¹⁸, and Gürakan et al.¹⁹ transposition of great arteries was declared more frequently than other cyanotic diseases. In the study of Şimşek et al.⁹, the frequency of cyanotic CHD was 9.4%, while in our study, the frequency of cyanotic CHD was 1.26%. This difference can be attributed to the lack of a cardiovascular surgery

clinic in our hospital and referring the patients requiring surgery to other institutions. Also the patient population in the intensive care unit was more likely to have respiratory distress, jaundice, prematurity and metabolic or genetic disorders. Therefore, the patients with antenatal or postnatal diagnosis of CHD requiring intervention or surgery were transported to other hospitals. Cyanotic CHD included HLHS, TGA, Truncus arteriosus without a predominance of TGA.

Table 4. Distribution of the cardiac diseases according to gestational week

Gestational week	21-25 (n)	25-30 (n)	30-34 (n)	34-37 (n)	37-42 (n)	>42 (n)
VSD	0	1	3	2	12	0
PDA	1	1	0	7	10	1
PS	0	1	0	0	0	0
ASD secundum	0	3	1	6	13	1
HLHS	0	0	0	1	0	0
TGA	0	0	0	0	1	0
Truncus arteriosus	0	0	1	0	0	0
HCMP	0	0	0	1	0	0
PPS	0	0	0	1	0	1
PHT	0	0	1	0	0	0
AC	0	0	0	0	1	0
AA dilatation	0	0	1	0	0	0
Coronary artery fistula	0	0	0	0	1	0
BAV	0	0	0	0	1	0
Septal Hypertrophy	0	0	0	1	0	0

AA: Ascending aorta, AC: Aortic coarctation, ASD: Atrial septal defect, BAV: Bicuspid aortic valve, HCMP: Hypertrophic cardiomyopathy, HLHS: Hypoplastic left heart syndrome, PDA: Patent ductus arteriosus, PPS: Peripheral pulmonary stenosis, PS: Pulmonary stenosis, TGA: Transposition of great arteries, VSD: Ventricular septal defect

Mortality rates in cases with congenital heart disease vary according to different hospitals. The most common causes of death were recorded as heart failure, sepsis and pneumonia.^{11,13} Karapınarlı et al.⁴ stated that the most common causes of death were sepsis, cardiac causes, disseminated intravascular coagulation, and metabolic crisis. The mortality rates in the study of Tokel et al.²⁰ was 23.6%. The high mortality rates in the study of Tokel et al.²⁰ were attributed to the fact that pediatric cardiac operations and interventions were performed with a high frequency in their hospital. Karapınarlı et al.⁴ reported that the mortality rates of CHD in their study was 6.8%. Cardiac causes included septic myocarditis, arrhythmia, pulmonary hypertension, heart failure. Prematurity, chromosomal or extracardiac anomalies,

and complications related to ventilatory treatment also played important role in the mortality. In our study, the mortality rate was 4.4%. The reasons for mortality were sepsis, heart failure and the secondary problems related with prematurity. The relatively low rate of mortality in our study can be associated with the absence of a cardiovascular surgery clinic, therefore referring the patients with antenatally and postnatally diagnosed important CHD to other hospitals.

Development of CHD is related with some environmental and maternal factors.²¹ Asymmetric septal hypertrophy, VSD, ASD, PDA can be present in the babies of diabetic mothers. Consanguinity in the family and family history of CHD also increase the risk for CHD.^{4,5} Consanguinity in the family was found at a rate of 15.3% in the literature.⁵

Ertürk et al.⁵ declared familial consanguinity with a rate of 15.3%. Down syndrome is highly associated with CHD with a ratio of 50%.²¹ Reinhold et al.²² stated that Down syndrome had a ratio of 1.4% among the patients with CHD. Atrioventricular canal defect, VSD, ASD are frequently detected in patients with Down syndrome.^{4,5} In the studies conducted, presence of CHD in the family was found at a rate of 3.6-4.3%.⁵ In our study, the ratio of diabetic mother's babies was 3.8%, familial CHD was 2.1%, familial consanguinity was 4.2%, and Down syndrome was 0.8%. 4 of the patients with family consanguinity include ASD or VSD. Congenital heart diseases are quite common in newborns. Acyanotic congenital heart diseases are more frequent than the others. Cardiac evaluation is requested more frequently in the patients with respiratory problems, while the rate of CHD is higher in the patients who were evaluated for cyanosis and murmur. Diagnosis of CHD in the neonatal period is more difficult due to hemodynamic differences, but early diagnosis and treatment are important, therefore evaluation with echocardiography has become the gold standard method for this purpose.

Compliance with Ethical Standards

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional research committee (Health Sciences University, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Training and Research Hospital Ethics Committee (decision number: 2023-05-11, date: 06.03.2023) and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. Informed consent was obtained from all the patients and their parents.

Conflict of Interest

The author declares no conflicts of interest.

Author Contribution

All the authors equally contributed to this work.

Financial Disclosure

None

References

- Bernstein D. Congenital heart disease. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, editors. *Nelson text book of pediatrics*. 18th ed. Philadelphia: Saunders; 2007:1878-1942.
- Kliegman RM. In: Kliegman RM, Stanton B, St. Geme J, Schor N, editors. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 20th ed. Philadelphia: Elsevier 2016;2182-7.
- Yalaki Z, Çiftçi N, Kara S, Arıkan Fİ, Dallar YB. Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde İzlenen Bebeklerde Saptanan Konjenital Kalp Hastalıklarının Retrospektif Değerlendirilmesi. *Turkish J Pediatr Dis*. 2017;3:179-182. doi:10.12956/tjpd.2017.268
- Karapınarlı A, Kibar Gül AE, Ünal S, et al. Retrospective Evaluation of Congenital Heart Disease Cases Diagnosed in Neonatal Service and Intensive Care Unit. *Turkish J Pediatr Dis*. 2022;16:191-199. doi:10.12956/tchd.902641
- Ertürk EY, Küçüködük Ş, Baysal K, Ayyıldız P, Yılmaz A, Oğur G. A Retrospective Evaluation of the Patients with Congenital Heart Disease in Neonatal Intensive Care Unit. *J Curr Pediatr*. 2016;14:67-73. doi:10.4274/jcp.02486.
- Pinto Júnior VC, Branco KM, Cavalcante RC, et al. Epidemiology of congenital heart disease in Brazil. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2015;30:219-224. doi:10.5935/1678-9741.20150018
- Mertens L, Friedberg MK. The gold standard for noninvasive imaging in congenital heart disease: echocardiography. *Curr Opin Cardiol*. 2009;24:119-124. doi:10.1097/HCO.0b013e328323d86f
- Bernier PL, Stefanescu A, Samoukovic G, Tchervenkov CI. The challenge of congenital heart disease worldwide: epidemiologic and demographic facts. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu*. 2010;13:26-34. doi:10.1053/j.pcsu.2010.02.005
- Şimşek A, Baysal B. Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde Doğumsal Kalp Hastalığı Sıklık ve Dağılımı: Tek Merkez Deneyimi. *Ortadoğu Medical Journal*. 2019;11:446-449. doi:10.21601/ortadogutipdergisi.525745
- Güven H, Bakiler AR, Kozan M, Aydınlioğlu H, Helvacı M, Dorak C. Yenidoğan servislerinde konjenital kalp hastalıkları. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2006;49:8-11.
- Zan S, Yapıcıoğlu H, Erdem S, et al. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerinde son beş yılda izlenen konjenital kalp hastalarının retrospektif incelenmesi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2015;58:7-16.
- Varal İG, Köksal N, Özkan H. Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerinde İzlenen Konjenital Kalp Hastalıkları: Sıklığı, Risk Faktörleri ve Prognoz. *J Curr Pediatr*. 2015;13:15964. doi:10.4274/jcp.18291
- Bulut G, Ballı Ş, Atlıhan F, Meşe T, Çalkavur Ş, Olukman Ö. Yenidoğan servisinde izlenen doğumsal kalp hastalığı olanların retrospektif değerlendirilmesi. *İzmir Dr Behçet Uz Çocuk Hast Dergisi*. 2012;2:141-7. doi:10.5222/buchd.2012.141
- Şap F, Baysal T, Karataş Z, Altın H, Alp H, Karaarslan S. Yenidoğan döneminde duyulan üfürümün doğuştan kalp hastalığını saptamadaki önemi. *Yeni Tıp Dergisi*. 2012;29:80-3.
- Farrer KF, Rennie JM. Neonatal murmurs: are senior house officers good enough? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2003;88:147-51. doi:10.1136/fn.88.2.F147
- Shah GS, Singh MK, Pandey TR, Kalakheti BK, Bhandari GP. Incidence of congenital heart disease in tertiary care hospital. *Kathmandu Univ Med J*. 2008;6:33-36.
- Ekici F, Ünal S, Dablan S, Alpan N, Şaylan Çevik B, Vidinlisan S. Yenidoğan yoğun bakım ünitesindeki 119 bebeğin klinik ve ekokardiyografik değerlendirilmesi. *Turkish J. Pediatr Dis*. 2010;4:22-29.
- Gürakan B. Konjenital kalp hastalıklarının değerlendirilmesi. içinde: Yurdakök M, Erdem G, (eds). *Türk Neonatoloji Derneği Neonatoloji Kitabı*, 1. baskı. Ankara: Alp Ofset; 2004:503-512.
- Gül Ö, Gürses D, Doğan M. Down sendromlu çocukların klinik ve ekokardiyografik değerlendirilmesi. *Turkish J. Pediatr Dis*. 2017;11:116-119. doi:10.12956/tjpd.2016.263
- Tokel K SA, Mercan S, Varan B, Gürakan B, Aşlamacı S. Doğumsal kalp hastalıklı yenidoğanların değerlendirilmesi. *Türk Pediatri Arşivi*. 2001;36:138-143.

21. Brennan P, Young ID. Congenital heart malformations: etiology and associations. *Semin Neonatol.* 2001;6:17-25.doi: 10.1053/siny.2000.0032
22. Reinhold-Richter L, Fischer A, Schneider-Obermeyer J. Congenital heart defects. Frequency at autopsy. *Zentralbl Allg Pathol.* 1987;133:253-261.

Araştırma Makalesi | Research Article

IMPACT OF BLOOD PARAMETERS ON BCR/ABL1 P210 TESTING IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA: A PILOT STUDY

KRONİK MİYELOİD LÖSEMİ HASTALARINDA KAN PARAMETRELERİNİN BCR/ABL1 P210 TESTİ ÜZERİNE ETKİLERİ: PİLOT ÇALIŞMA

 Cem Karaosmanoğlu^{1*},  Saliha Handan Yıldız¹,  Müjgan Özdemir Erdoğan¹,  Filiz Yavaşoğlu²,  Haktan Doğuş³

¹Afyonkarahisar Health Sciences University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Afyonkarahisar, Türkiye. ²Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Department of Hematology, Eskişehir, Türkiye. ³Afyon Kocatepe University, Faculty of Science and Literature, Department of Molecular Biology and Genetics, Türkiye.



ABSTRACT

Objective: Chronic myeloid leukemia (CML) is one of the most common hematological malignancies derived from the BCR/ABL1 fusion gene. Patients with CML generally manifest leukocytosis with basophilia and neutrophilia. The verification of CML is often based on the detection of BCR/ABL1 fusion. We aimed to investigate the impact of peripheral blood (PB) differential and complete blood count (CBC) on BCR/ABL1 p210 test ordering in patients with suspected CML.

Methods: We performed a retrospective assessment of patients tested for the first time for BCR/ABL1 p210 fusion. We obtained clinical and laboratory findings of 235 patients from the database of our clinic. BCR/ABL1 p210 fusion was detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR). We implemented t-tests or Mann-Whitney U tests for the comparison of continuous data. We plotted the receiver operating characteristic (ROC curves) and calculated the area under the ROC curve (AUC) for each parameter.

Results: Among 235 patients, 25 (10.6%) received a new diagnosis of CML. CML patients had significantly increased white blood cell count (WBC) with differential. Absolute basophil count showed the highest area under the ROC curve (AUC) value of 0.829, which had a cut-off value of $0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$. 76.00% of CML cases had an absolute basophil count of $\geq 0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$, while 95.24% of the non-CML cases had an absolute basophil count of $< 0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$.

Conclusion: Our results indicate that an absolute basophil count of $\geq 0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$ can help improve BCR/ABL1 p210 test ordering and reduce healthcare costs.

Keywords: CML, BCR/ABL1 fusion, RT-qPCR, CBC

Öz

Amaç: Kronik miyeloid lösemi (KML), BCR/ABL1 füzyon geninden kaynaklanan en yaygın hematolojik malignitelerden biridir. KML'li hastalar genellikle bazofili ve nötrofilili içeren lökositöz gösterirler. KML'nin doğrulanması genellikle BCR/ABL1 füzyonunun saptanmasına dayanır. KML şüphesi olan hastalarda BCR/ABL1 p210 testi için periferik kan (PK) diferansiyeli ve tam kan sayımının (TKS) etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Yöntem: BCR/ABL1 p210 füzyonu için ilk kez test edilen hastaların retrospektif bir değerlendirilmesi yapıldı. Kliniğimiz veri tabanından 235 hastanın klinik ve laboratuvar bulgularını elde edildi. BCR/ABL1 p210 füzyonu, kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPCR) ile tespit edilmiştir. Sürekli verilerin karşılaştırılması için t-testi veya Mann-Whitney U testleri uygulandı. Her parametre için alıcı çalışma karakteristiği (ROC eğrileri) çizildi ve ROC eğrisi altındaki alan (AUC) hesaplandı.

Bulgular: 235 hastanın 25'ine (%10.6) yeni KML tanısı kondu. KML hastalarında, diferansiyel ile önemli ölçüde artmış beyaz kan hücresi sayısı (WBC) vardı. Mutlak bazofil sayısı, $0,3 \times 10^3/\mu\text{L}$ 'lik bir kesme değerine sahip olan 0,829'luk ROC eğrisi (AUC) değerinin altındaki en yüksek alanı gösterdi. KML vakalarının %76,00'ünde mutlak bazofil sayısı $\geq 0,3 \times 10^3/\mu\text{L}$ iken, KML olmayan vakaların %95,24'ünde mutlak bazofil sayısı $< 0,3 \times 10^3/\mu\text{L}$ idi.

Sonuç: Sonuçlarımız, $\geq 0,3 \times 10^3/\mu\text{L}$ mutlak bazofil sayısının BCR/ABL1 p210 test istemini iyileştirmeye ve sağlık hizmeti maliyetlerini düşürmeye yardımcı olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: KML, BCR/ABL1 füzyonu, RT-qPCR, TKS

Introduction

Chronic myeloid leukemia (CML) is a hematological malignancy characterized by abnormal clonal proliferation of myeloid precursor cells. The molecular basis of the CML, BCR/ABL1 fusion gene results from the translocation between the Abelson leukemia kinase (ABL) on chromosome 9 and the breakpoint cluster region (BCR) on chromosome 22.¹ Due to the BCR/ABL1 fusion, many patients with CML produce an oncoprotein called p210 with a molecular weight of 210 kDa which is sufficient for the disease phenotype.^{2,3} The proliferation of the immature myeloid lineage in blood, bone marrow, and spleen is governed by tyrosine kinase activity mediated p210.⁴ CML is effectively treated with tyrosine kinase inhibitors (TKIs) targeting the oncoprotein.⁵ Sensitive detection of BCR/ABL1 fusion transcripts is performed by quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR). Fusion transcripts are monitored by RT-qPCR at certain periods.⁶ Patients with CML often have abnormalities of peripheral blood (PB), such as elevated white blood cell (WBC) counts, basophilia, neutrophilia, mildly decreased hemoglobin, relative eosinophilia, and thrombocytosis.⁷ We aimed to retrospectively evaluate whether the PB differential and complete blood count (CBC) can effectively be used for BCR/ABL1 p210 test ordering in patients with suspected CML.

Methods

Patients

Patients tested for the first time for BCR/ABL1 p210 on PB samples at our hospital between October 2017 and January 2022 were retrospectively analyzed. In total, 242 tests were ordered for the BCR/ABL1 p210 fusion in our institution's database. Of these, 4 were performed for Philadelphia chromosome-positive (Ph+) Acute lymphoblastic leukemia (ALL). Another 3 tests were ordered as part of the routine examinations in the diagnosis of myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms (MDS/MPN). These patients were excluded and the remaining 235 patients were enrolled in the study. Clinical and laboratory data were collected from patient records and the database of our clinic. Age, gender, indication, CBC, and PB differential of the patients were examined. The incidence of leukocytosis is defined as WBC $>10 \times 10^3/\mu\text{L}$, basophilia as an absolute basophil count $>0.1 \times 10^3/\mu\text{L}$, neutrophilia as an absolute neutrophil count $>6 \times 10^3/\mu\text{L}$, and eosinophilia as an absolute eosinophil count $>0.4 \times 10^3/\mu\text{L}$ at our institution.

Detection of BCR-ABL fusion transcripts

Total RNA was obtained from WBC. First-strand cDNA was synthesized with fusion-specific primers. After reverse transcription, the determination of b2a2 and b3a2 transcripts was performed by RT-qPCR with primers/probes. Detection of transcripts was made using the Ipsogen BCR-ABL1 MbcR IS-MMR kit (Qiagen,

Germany). Copy numbers of the transcripts, control gene ABL1, and plasmid standards are determined by the threshold cycle (Ct). Ct is directly related to the amount at the beginning of the reaction. A standard curve is generated by plasmid standards, and then the amount of transcripts is detected in the samples. The results of the samples with ABL1 copy number $\geq 10,000$ copies/mL are evaluated. BCR/ABL p210 fusion to ABL1 ratio gives a normalized copy number (NCN). Samples greater than the limit of detection of the assay (LOD) ≥ 0.0069 NCN are quantified. The normalized copy number on the international scale (IS-NCN%) is calculated using the conversion factor.

Statistical Analysis

The normality of the data was tested with Anderson-Darling and Kolmogorov-Smirnov test. Parametric data were assessed using the t-test, and Mann-Whitney U test was applied for nonparametric data. P values of <0.05 were considered to indicate statistical significance. The receiver operating characteristic (ROC) curves were plotted and sensitivity, specificity, and area under the ROC curve (AUC) were calculated for each parameter. All statistical analyses were performed with GraphPad Prism version 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

Results

CBCs and absolute blood cell count in 25 CML cases and 210 non-CML cases were gathered (Table 1). Clinical indications for ordering the test included smear abnormality, cytopenias, thrombocytosis, basophilia, neutrophilia, eosinophilia, splenomegaly, hepatomegaly, and anemia in these patients (Table 2, 3). Of the 235 patients, 34 (14.4%) were detected as BCR/ABL p210 positive. Of these, 25 (10.6%) had equal or higher than ≥ 0.0069 NCN and were diagnosed with CML. The average NCN value of this group was 48.971 (range = 0.306-82.309), and the average IS-NCN % value was 42,514% (range = 0.427%-102.745%). The majority of CML patients showed leukocytosis (76%), basophilia (76%), neutrophilia (76%), and smear abnormalities. One patient was referred to our clinic for thrombocytopenia with leukocytosis. The patient's PB smear showed an abnormality. Then, the BCR/ABL1 p210 test was ordered. 82.309 (NCN) and 39.825% (IS-NCN %) were obtained. 18 (72%) of 25 patients had immature granulocyte counts. Leukocytosis and basophilia were observed in 12 patients with increased immature granulocyte counts. In the remaining 6 patients, immature granulocyte and WBC counts were within the normal range. The remaining 9 patients (3%) were detected as low-positive (≤ 0.0069 NCN). The average NCN value of the low-positive group was 0.0016 (range = 0.000606-0.003), and the average IS-NCN % value was 0.0015% (range = 0.001%-0.003%). This group indicated leukocytosis (44%), neutrophilia (44%), and thrombocytosis (33%). Immature granulocyte counts were within the normal range in this group. One of these

patients had mild basophilia. None of them were defined clinically to have CML 201 patients (85.5%) detected as BCR/ABL p210 negative. These patients showed less leukocytosis (56.6%), basophilia (23.3%), and neutrophilia (16.1%), but they had higher splenomegaly (32.8%) compared with the CML cases. WBC and differential counts of these cases were less than those of the CML cases. WBC and absolute blood cell counts showed statistically significant differences between CML and non-CML cases ($p < 0.001$) (Table 3). The areas under the ROC curve (AUC) were measured by constructing the ROC curve for each PB parameter (table 4). To determine the WBC differential count, a detailed analysis was carried out for each differential. The AUC values of monocytes, basophils, lymphocytes, and neutrophils were 0.737, 0.733, 0.731 and 0.719, respectively. Their cut-off values were 2.5%, 18.9%, 72.9% and 3.6%, respectively. Then, absolute WBC differential counts were applied to the analysis to calculate the AUC values. Basophil count showed the highest AUC value (0.829) among PB parameters at a cut-off value of $0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$. The AUC values of neutrophils, lymphocytes, immature granulocytes, and eosinophils were 0.795, 0.774, 0.770, and 0.712, respectively. With respect to the CBC

parameters, the AUC value of WBC (0.797) was the highest at a cut-off value of $22.2 \times 10^3/\mu\text{L}$. In our cohort, WBC of CML cases was observed mostly over $22 \times 10^3/\mu\text{L}$, whereas WBC of non-CML cases was observed mostly in the range of $10\text{--}22 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Figure). At the upper limit of WBC ($10 \times 10^3/\mu\text{L}$), sensitivity was 76.00% and specificity was 41.43%. When comparing the cut-off value and upper limit of WBC, sensitivity decreased to 72.00% and specificity increased to 94.29%. The absolute basophil count produced the first high AUC value (0.829). The cut-off values of basophil, the sensitivity and specificity increased to 76.00%, and 95.24%, respectively. When considering the cut-off values of WBC and basophils, the sensitivity was 72.00% and specificity 97.62%. If the cut-off values of either WBC or basophils were selected, the sensitivity increased to 76.00% and specificity decreased to 91.43%. Finally, the absolute neutrophil count yielded the third-highest AUC value of 0.795. When considering the cut-off values of basophils and neutrophils, the sensitivity was 76.00%, but the specificity decreased to 88.57%. If the cut-off values of either basophils or neutrophils were selected, the sensitivity decreased to 72.00% and the specificity increased to 97.61%.

Table 1. Recorded clinical indications of p210 positive group

	CML		Non-CML	
	NCN ≥ 0.0069		NCN < 0.0069	
	WBC = $4\text{--}10 \times 10^3/\mu\text{L}$ n=6	WBC $>10 \times 10^3/\mu\text{L}$ n=19	WBC = $4\text{--}10 \times 10^3/\mu\text{L}$ n=5	WBC $>10 \times 10^3/\mu\text{L}$ n=4
Smear abnormality	0	19	2	1
Cytopenias	3	9	1	0
Thrombocytosis	2	9	2	1
Basophilia	1	19	0	1
Neutrophilia	0	19	3	1
Eosinophilia	0	14	1	1
Splenomegaly	3	4	3	1
Hepatomegaly	1	4	1	1
Anemia	2	8	1	0

Table 2. Recorded clinical indications of p210 negative group

	WBC $<4 \times 10^3/\mu\text{L}$ n=10	WBC = $4\text{--}10 \times 10^3/\mu\text{L}$ n=72	WBC $>10 \times 10^3/\mu\text{L}$ n=119
Smear abnormality	8	24	62
Cytopenias	8	26	26
Thrombocytosis	0	15	66
Basophilia	3	2	44
Neutrophilia	0	1	33
Eosinophilia	0	1	11
Splenomegaly	5	43	21
Hepatomegaly	0	18	11
Anemia	3	12	23

Table 3. Clinical characteristics and CBC parameters of patients.

	CML		Non-CML				
			NCN < 0.0069		NCN = 0		
Number of patients	25		9		119		
Sex (M/F)	12/13		5/4		104/97		
	Mean ± SD	Range	Mean ± SD	Range	Mean ± SD	Range	p-Value
Age (years)	48.84±17.81	42-80	45±15.73	23-77	51.31±16.70	18-88	0.5351
WBC (× 10 ³ /μL)	60.14±68.26	5.01-289.3	9.63±3.29	5.42-14.06	12.03±6.54	2.17-38.47	<0.0001
RBC (× 10 ⁶ /μL)	4.6±0.85	3.4-6.67	4.89±0.57	4.23-6.1	5.06±0.98	0.1-7.7	0.0142
HGB (g/dL)	12.95±1.85	10.3-16.9	14.53±1.65	11.5-16.9	13.95±2.64	6.8-21.4	0.0577
HCT (%)	40.67±5.68	32.6-51.8	43.56±5.62	35.2-54.2	43.09±7.56	22.1-67.7	0.1164
PLT (× 10 ³ /μL)	412.12±347.25	17-1358	361.78±268	119-918	391.56±297.68	33-1767	0.9698
Differentiation (%)							
Neutrophils	74±10.97	51.9-87	64.84±9.07	49.5-75.5	63.8±14.02	12.3-93	0.0002
Lymphocytes	15.7±10.43	4.7-38.7	25.18±9.33	14.8-42.7	24.4±11.27	1.8-78.8	<0.0001
Monocytes	4.6±2.27	1.5-13.5	6.89±1.3	5.3-8.9	7±3.02	2.3-34.3	<0.0001
Basophils	3.6±3.52	0.1-12.4	0.66±0.33	0.1-0.8	0.9±1.22	0.1-12.3	<0.0001
Eosinophils	2±1.49	0.3-6.7	2.54±1.68	0.6-6	4±8.26	0-70.9	0.1637
Immature granulocytes	13.4±17.6	0.2-33.7	0.36±0.1	0.1-0.4	1.4±3.32	0-22.6	0.0001
Absolute blood cell count (× 10³/μL)							
Neutrophils	48.99±68.26	2.62-242	6.26±2.46	3.79-10.07	8.01±5.72	0.64-35.49	<0.0001
Lymphocytes	5.15±3.56	1.53-17.34	2.43±1.19	1.03-4.35	2.64±1.63	0.51-14.91	<0.0001
Monocytes	2.76±4.69	0.27-23	0.64±0.20	0.42-1.03	0.78±0.47	0.21-4.41	0.0014
Basophils	2.12±2.95	0.01-11.32	0.06±0.05	0.01-0.16	0.10±0.17	0.01-1.96	<0.0001
Eosinophils	1.04±1.36	0.08-5.9	0.24±0.15	0.05-0.47	0.57±1.82	0-21.62	0.0004
Immature granulocytes	13.44±17.57	0.01-54.56	0.03±0.02	0.01-0.06	0.24±0.75	0-19.4	<0.0001

Table 4. Area-under-the-curve values and sensitivity and specificity of CBC parameters.

	Sensitivity%	Specificity%	p-value	cut-off value	AUC
Age (years)	NA	NA	0.5522	NA	0.536
WBC (× 10 ³ /μL)	72.00	94.29	<0.0001	22.20	0.797
RBC (× 10 ⁶ /μL)	58.82	71.9	0.002	4.615	0.639
HGB (g/dL)	76.00	50.95	0.0263	14.05	0.636
HCT (%)	80.00	43.81	0.0610	44.70	0.614
PLT (× 10 ³ /μL)	48.00	61.43	0.9690	260	0.502
Differentiation (%)					
Neutrophils	60.00	81.43	0.0003	72.95	0.719
Lymphocytes	72.00	72.38	0.0002	18.9	0.731
Monocytes	48.00	93.33	0.0001	3.65	0.737
Basophils	52.00	97.14	0.0001	2.55	0.733
Eosinophils	56.00	60.29	0.1628	1.65	0.585
Immature granulocytes	61.11	90.86	0.0059	2.77	0.696
Absolute blood cell count (× 10³/μL)					
Neutrophils	72.00	91.43	<0.0001	14.51	0.795
Lymphocytes	80.00	62.86	<0.0001	2.78	0.774
Monocytes	56.00	87.14	0.0013	1.21	0.696
Basophils	76.00	95.24	<0.0001	0.3	0.829
Eosinophil	76.00	57.42	0.0005	0.25	0.712
Immature granulocytes	72.22	93.55	0.0002	0.83	0.770

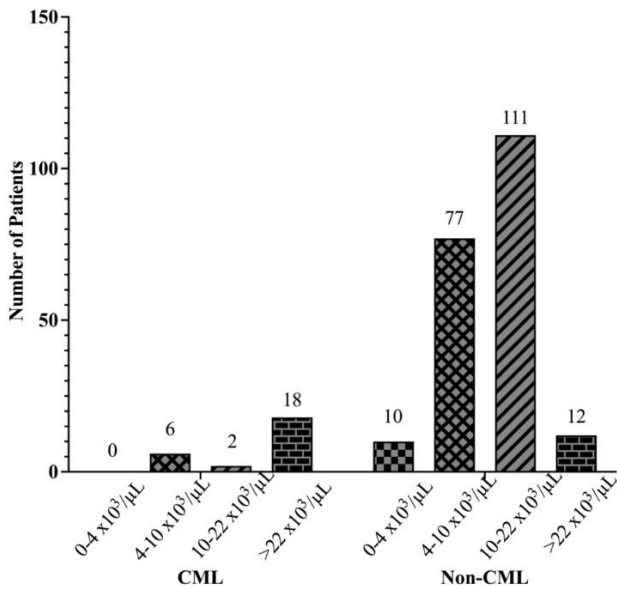


Figure 1. Variations of WBC between patients with CML and non-CML

Discussion

Leukemia is one of the deadliest malignancies worldwide. CML accounts for 15-20% of all leukemias and is caused by the formation of the Philadelphia Chromosome t(9;22), resulting from a fusion between chromosomes 9 and 22 and leads to the expression of the BCR/ABL1 fusion oncogene. Common laboratory findings include leukocytosis, basophilia, neutrophilia, eosinophilia, and anemia.^{8,9} Basophilia, a characteristic feature of patients with CML, is seen in many diseases including myeloproliferative neoplasms, cancer, and infections.¹⁰ Our study showed the predictive feature of absolute basophil count at a cut-off value of $0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$ for CML. 76.00% of CML cases had an absolute basophil count of $\geq 0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$, while 95.24% of the non-CML cases had an absolute basophil count of $< 0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$. Ogunleye et al. defined that the absolute basophil count at a cut-off value of $0.1 \times 10^3/\mu\text{L}$ was predictive for the BCR/ABL1 PCR test in 99 patients. However, the population of this study was lower than that of our study.¹¹ Masuda et al. stated that an absolute basophil count higher than $0.5 \times 10^3/\mu\text{L}$ had a good predictive value for distinguishing CML from non-CML cases.¹² Ogasawara et al. showed that the cut-off value of $0.43 \times 10^3/\mu\text{L}$ for the absolute basophil count was significantly different between CML and non-CML cases with leukocytosis.¹³ In our study, we detected the cut-off value of the absolute basophil count ($0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$), which is lower than those of other studies. At the same time, our study included cases with suspected CML as a control group. We detected absolute neutrophil count at a cut-off value of $14.51 \times 10^3/\mu\text{L}$, which was the third highest AUC value. When comparing the absolute neutrophil count of $6 \times 10^3/\mu\text{L}$ and a cut-off value of $14,51 \times 10^3/\mu\text{L}$, the sensitivity decreased to 72.00% and specificity increased to 91.43%. Ogunleye et al. reported that neutrophilia should be present in

addition to basophilia for the ordering of PCR tests in patients with suspected CML.¹¹ When basophils and neutrophils cut-off values were evaluated together, sensitivity decreased to 72.00%, but specificity increased to 97.61%. For the upper limit of WBC, 76.00% of the CML cases had WBC of $\geq 10 \times 10^3/\mu\text{L}$, while 41.43% of the non-CML cases had WBC of $< 10 \times 10^3/\mu\text{L}$. For a cut-off value of WBC, 72.00% of CML cases had WBC of $\geq 22.20 \times 10^3/\mu\text{L}$, while 94.29% of the non-CML cases had WBC of $< 22.20 \times 10^3/\mu\text{L}$. If the cut-off values of WBC and absolute basophil count were selected for the diagnosis of CML, the sensitivity and specificity were 72.00% and 97.62%, respectively. When WBC and absolute basophil count were assessed separately, the sensitivity was increased to 76.00% and specificity decreased to 91.43%. When patients with leukocytosis are evaluated for the BCR/ABL1 p210 test ordering, these values are less effective than the cut-off value of absolute basophil count. In comparison with WBC of $\geq 10 \times 10^3/\mu\text{L}$, the specificity of the absolute basophil count at a cut-off value of $\geq 0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$ increased from 41.43% to 95.24% with preservation of sensitivity. Our results show that the absolute basophil count ($\geq 0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$) is a specific marker for cases with suspected CML. If the absolute basophil count of $\geq 0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$ had been selected for BCR/ABL1 p210 test ordering, 113 fewer PCR tests would have been performed. Healthcare costs are increasing rapidly and will continue to grow. Medical cost increases are one of the most important problems in the health sector. The resources allocated to healthcare services and the expenditures made in their presentation have an important place in the total expenditures for all countries.¹⁴ Hence, the effect of CBC parameters on the BCR/ABL1 p210 test is an undeniable fact. TKIs are successfully used in the standard treatment of patients with chronic phase CML.¹⁵ It has been shown that basophilia is an independent prognostic factor for CML progression before TKI in many studies.¹⁶⁻¹⁸ In recent studies, it has been reported that basophils produce and secrete angiogenic and fibrogenic cytokines that trigger the malignant clone.^{19,20} At the same time, basophils express vasoactive amines and enzymes responsible for the transport of leukemic stem cells to extramedullary organs.^{21,22} Our results and the characteristics of basophils for malignant progression indicate a relationship with CML. The importance of using basophils with adequate clinical follow-up for easy and cost-effective screening of CML cases in the early period is clear. Our results highlight the potential of an absolute basophil count ($\geq 0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$) to facilitate the diagnosis of CML and the costs of PCR testing.

In conclusion, the importance of using basophils with adequate clinical follow-up for easy and cost-effective screening of CML cases in the early period is clear. Our results highlight the potential of an absolute basophil count ($\geq 0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$) to facilitate the diagnosis of CML and the costs of PCR testing.

Compliance with Ethical Standards

The design of our study was approved by the ethics committee of Afyonkarahisar Health Sciences University (number 2022-14-559).

Acknowledgements

None

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Author contributions

Study conception and design were performed by C.K. Material preparation, data collection were performed by S.H.Y., M.Ö.E. and F.Y. Analysis was performed by C.K. and H.D. The first draft of the manuscript was written by C.K. and all authors read and approved the final manuscript.

Financial Disclosure

No financial resources were used.




References

- Rowley JD. New Consistent Chromosomal Abnormality in Chronic Myelogenous Leukaemia identified by Quinacrine Fluorescence and Giemsa Staining. *Nature*. 1973;243:290–293. doi.org/10.1038/243290a0
- Quintás-Cardama A, Cortes J. Molecular biology of bcr-abl1-positive chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2009;113:1619–1630. Doi:10.1182/blood-2008-03-144 790
- Chereda B, Melo JV. The biology and pathogenesis of chronic myeloid leukemia. In: Chereda B, Melo JV, In Chronic Myeloid Leukemia. 1st ed. Cham, Switzerland: Springer; 2016:17–39.
- Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, Kurzrock R, Kantarjian HM. The Biology of Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 1999;341:164–172. doi.org/10.1056/NEJM 199907153410306.
- Wylie AA, Schoepfer J, Jahnke W, et al. The allosteric inhibitor ABL001 enables dual targeting of BCR–ABL1. *Nature*. 2017;543:733–737. doi.org/10.1038/nature21702
- Fava C, Rege-Cambrin G, Saglio G. The choice of first-line Chronic Myelogenous Leukemia treatment. *Ann Hematol*. 2015;94:123-131. doi.org/10.1007/s00277-015-2321-3
- Wong WJ, Pozdnyakova O. Myeloproliferative neoplasms: Diagnostic workup of the cythemic patient. *Int J Lab Hematol*. 2019;41:142-150. doi.org/10.1111/ijlh.13005
- Shanbehzadeh M, Afrash MR, Mirani N, Kazemi-Arpanahi H. Comparing machine learning algorithms to predict 5-year survival in patients with chronic myeloid leukemia. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2022;22:236. doi.org/10.1186/s12911-022-01980-w
- Clarke CJ, Holyoake, TL. Preclinical approaches in chronic myeloid leukemia: from cells to systems. *Exp Hematol*. 2017;47:13-23. doi.org/10.1016/j.exphem.2016.11.005
- Galli SJ, Metcalfe DD, Arber DA, Dvorak AM. In: Basophils and mast cells and their disorders. Williams Hematology. 8th ed. McGraw-Hill, New York, 2010:915-932
- Ogunleye F, Ibrahim M, Allen E, et al. BCR-ABL testing by polymerase chain reaction in patients with neutrophilia: the William Beaumont hospital experience and the case for rational laboratory test requests. *J Oncol Pract*. 2016;12:1001-e1005. doi.org/10.1200/JOP.2016.014449
- Masuda A, Jona M, Satoh Y, et al. The criteria to suspect chronic myeloid leukemia using absolute basophil counts in peripheral blood. *Int J Hematol*. 2015;101:626-628. doi.org/10.1007/s12185-015-1777-1
- Ogasawara A, Matsushita H, Tanaka Y, et al. A simple screening method for the diagnosis of chronic myeloid leukemia using the parameters of a complete blood count and differentials. *Clin Chim Acta*. 2019;489:249-253. doi.org/10.1016/j.cca.2018.08.038
- Esen E, Keceli MC. Economic Growth and Health Expenditure Analysis for Turkey: Evidence from Time Series. *Journal of the Knowledge Economy*. 2022;13:1786–1800. doi.org/10.1007/s13132-021-00789-8
- Hochhaus A, O'Brien SG, Guilhot F, et al. Six-year follow-up of patients receiving imatinib for the first-line treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2009;23:1054-61. doi.org/10.1038/leu.2009.38
- Denburg JA, Wilson WE, Bienenstock J. Basophil production in myeloproliferative disorders: increases during acute blastic transformation of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 1982;60:113-120. doi.org/10.1182/blood.V60.1.113.113
- Denburg JA, Browman G. Prognostic implications of basophil differentiation in chronic myeloid leukemia. *Am J Hematol*. 1988;27:110-114. doi.org/10.1002/ajh.2830270 208
- Hasford J, Bacarani M, Hoffmann V, et al. Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score. *Blood*. 2011;118:686-692. doi.org/10.1182/blood-2010-12-319038
- de Paulis A, Prevete N, Fiorentino I, et al. Expression and functions of the vascular endothelial growth factors and their receptors in human basophils. *J Immunol*. 2006;177:7322-7331. doi:10.4049/jimmunol.177.10.73 22
- Marone G, Varricchi G, Loffredo S, Granata S. Mast cells and basophils in inflammatory and tumor angiogenesis and lymphangiogenesis. *Eur J Pharmacol*. 2015;778:146-151. doi:10.1016/j.ejphar.2015.03.088
- Agis H, Sperr WR, Herndlhofer S, et al. Clinical and prognostic significance of histamine monitoring in patients with CML during treatment with imatinib (ST1571). *Ann Oncol*. 2007;18:1834- 1841. doi:10.1093/annonc/mdm 343
- Herrmann H, Sadovnik I, Cerny-Reiterer S, et al. Dipeptidylpeptidase IV (CD26) defines leukemic stem cells (LSC) in chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2014;123:3951-3962. doi:10.1182/blood-2013-10-536078

Araştırma Makalesi | Research Article

KADINLAR GEBELİKLERİNİ NASIL ÖĞRENIYOR? SAĞLIK ALGISI GEBELİK FARKINDALIĞINI ETKİLER Mİ?

HOW DO WOMEN FIND OUT ABOUT THEIR PREGNANCY? DOES PERCEPTION OF HEALTH AFFECT PREGNANCY AWARENESS?

 Sena Dilek Aksoy^{1*},  Resmiye Özdilek¹,  Nafiye Dutucu¹

¹Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Ebelik Bölümü, Kocaeli, Türkiye.



Öz

Amaç: Araştırma kadınların gebeliklerini öğrenme zamanı, şekli ve ilk doğum öncesi izleme gitme zamanları gibi bazı değişkenlerin sağlık algısı ile ilişkisinin incelenmesi amacıyla yapıldı.

Yöntem: Araştırma 31 Ocak-31 Mayıs 2023 tarihleri arasında 256 gebe ile kesitsel yöntemde çalışma olarak gerçekleştirildi. Veriler Bilgi Formu ve Sağlık Algısı Ölçeği (SAÖ) kullanılarak toplandı. Verilerin analizinde IBM SPSS Statistics 29 paket programı kullanıldı.

Bulgular: Gebelerin yaş ortalaması $29,38 \pm 5,47$ ve gebelik haftası ortalaması $31,76 \pm 7,89$ idi. Katılımcılar gebe olduklarını ortalama $5,67 \pm 2,53$ gebelik haftasında öğrenmişti. %86,7'sinin sekizinci haftaya kadar ilk izlemine yaptırıldığı, %69,9'unun gebeliklerini evde idrarda gebelik testi ile öğrendikleri belirlendi. Öğrenim durumu ve gelir durumunu düşük olarak bildiren gebelerin SAÖ puan ortalamaları da anlamlı şekilde düşüktü ($p < 0,05$). Gravida ve parite arttıkça SAÖ puan ortalamaları da anlamlı şekilde düşüktü ($p < 0,05$).

Sonuç: Eğitim ve gelir durumunun artması sağlık algısını olumlu etkileyebilir ve bu da daha erken süreçte antenatal bakım almalarını sağlayabilir. Bu sebeple sağlık profesyonelleri eğitim ve gelir durumu düşük, parite ve gravidası yüksek gruba antenatal bakım ulaştırmada daha dikkatli davranmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Gebelik, sağlık algısı, antenatal bakım

ABSTRACT

Objective: The study was conducted to examine the relationship between health perception and some variables such as the time of learning of pregnancy, the type of pregnancy and the time to go to the first prenatal follow-up.

Methods: The study was carried out as a descriptive study of 256 pregnant women between 31 January and 31 May 2023. Information Form and Health Perception Scale (SAÖ) were used to collect data. IBM SPSS Statistics 29 package program was used in the analysis of the data.

Results: The mean age of the pregnant women was 29.38 ± 5.47 and the mean week of gestation was 31.76 ± 7.89 . Participants realized that they were pregnant at an average of 5.67 ± 2.53 weeks of gestation. It was determined that 86.7% of them had their first follow-up until the eighth week, and 69.9% of them learned about their pregnancy with a urine pregnancy test at home. The mean SAI scores of the pregnant women who reported low educational status and income were also significantly lower ($p < 0.05$). As the gravida and parity increased, the mean SAI scores were also significantly lower ($p < 0.05$).

Conclusion: The increase in education and income status may positively affect the perception of health and this may enable them to receive antenatal care at an earlier stage. For this reason, health professionals should be more careful in delivering antenatal care to the group with low education and income, and high parity and gravida.

Keywords: Pregnancy, health perception, antenatal care

Giriş

Gebelik, son menstruasyonun ilk gününden itibaren 280 gün ya da 10 lunar ay süren sistemik ve metabolik birçok değişikliğin olduğu bir süreçtir. İntaruterin dönem embriyonel ve fetal devre olarak ikiye ayrılır ve erken gebelik haftalarını kapsayan embriyonel dönem fetüsün sonraki gelişimi için kritik bir dönem olarak görülür.^{1,2}

Kadınlar gebe olduklarının farkında olmadan bu önemli süreçte istemeden ilaca devam etme, sigara içme gibi riskli davranışlara devam edebilmektedir.³ Çalışmalar kadınların gebeliklerini fark edildikten hemen sonra riskli davranışları azalttığını veya durduğunu göstermiştir.^{4,5} Doğum öncesi izlemin ön koşulu gebeliğin varlığı olduğu için gebeliğin tanınmasındaki gecikmeler doğum öncesi izlemin erken başlamasına da engel olmaktadır.⁶ Bireylerin sağlık algıları sağlık davranışlarını etkilemektedir.^{7,8} Çoğu gebelik sorunsuz olmakla birlikte aslında tüm gebelikler risk altındadır.⁹ Erken gebelik tespiti ve ilk trimesterde doğum öncesi bakımın başlatılması sağlıklı bir gebelik ve bebek sahibi olma şansını artırır.⁴ Amerikan Kadın Doğum ve Jinekologlar Koleji (ACOG), Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) ve diğer kuruluşlar, bazı risklerin mümkün olduğunca erken tespit edilmesini önermektedir.¹⁰⁻¹² Özellikle ektopik gebelik tanısı en sık birinci trimesterde, 6-10. haftalarda konulur ve tüm gebeliklerin yaklaşık %2'sini oluşturur. Fakat maternal mortalitenin %10'undan sorumludur.^{13,14} Ayrıca erken gebelikte gebelik farkındalığı, riskli davranışların azaltılması için önemli olup, kadınların gebeliklerinin erken dönemlerinde farkına varmaları istenmeyen gebelikleri sonlandırmada yasal haftaları kaçırmaları önüne geçebilir.^{15,16}

Bu riskler göz önünde bulundurulduğunda kadınların gebelik bilinci ve bunu etkileyen faktörlerin belirlenmesi önem kazanmaktadır. Ülkemizde kadınların gebeliklerini hangi haftada, hangi yöntemler ile öğrendiklerine ve sağlık algısıyla ilişkisine yönelik çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada kadınların gebeliklerini öğrenme zamanı, şekli ve ilk doğum öncesi izleme gitme zamanları gibi bazı değişkenlerin sağlık algısı ile ilişkisinin incelenmesi amaçlanmış ve aşağıdaki araştırma sorularına yanıt aranmıştır.

Araştırma Soruları

1. Kadınlar gebe olduklarını hangi gebelik haftasında öğrenmektedir?
2. Kadınların sağlık algısı ne düzeydedir?
3. Kadınların sağlık algısı gebeliği öğrenme zamanı, şekli ve ilk doğum öncesi izleme gitme zamanını etkilemekte midir?

Yöntem

Araştırmanın Tipi, Evren ve Örneklemi

Araştırma kesitsel desende yürütüldü. Araştırmanın evrenini Kocaeli ilinde bir kamu hastanesi gebe izlem birimine 31 Ocak-31 Mayıs 2023 tarihleri arasında başvuran gebeler oluşturmaktadır. Ancak tüm gebelere

ulaşması mümkün olmadığından örnekleme yapılması uygun görülmüştür. Araştırmada evreni bilinen örneklem formülünden yararlanılarak N=2500, %90 güven ve %5 hata ile 245 katılımcı ile görüşülmesi gerektiği tespit edilmiştir. Olası veri kayıpları da göz önüne alınarak toplam 256 katılımcı ile çalışma tamamlanmıştır. Gebeliğe dair herhangi bir risk durumu olmayan, ruhsal hastalık tanısı almayan ve herhangi bir psikiyatrik ilaç kullanmayan katılımcılar dahil edildi ve konuşma ve dil problemi yaşayan, anketi tamamlamayan gebeler çalışmadan dışlandı.

Veri Toplama Araçları

Araştırma verilerinin toplanmasında Bilgi Formu ve Sağlık Algısı Ölçeği kullanıldı.

Bilgi Formu

Araştırma verileri, araştırmacılar tarafından literatür çerçevesinde^{7,9,17,18} hazırlanan, 18 sorudan oluşan bir form (gebelerin demografik özellikleri ve obstetrik öyküleri ile ilgili sorular) kullanılarak toplanmıştır.

Sağlık Algısı Ölçeği (SAÖ)

Ölçek 2007 yılında Diamond ve ark.ları tarafından geliştirilmiş Kadioğlu ve Yıldız tarafından Türkçe Geçerlilik ve güvenilirliği yapılmıştır.^{18,19} SAÖ 15 madde ve dört alt faktörden oluşan beşli likert tipi bir ölçektir. 1., 5., 9., 10., 11. ve 14. maddeler olumlu tutum, 2., 3., 4., 6., 7., 8., 12., 13. ve 15. maddeler olumsuz ifadelerdir. Olumlu ifadeler "Çok katılıyorum=5", "Katılıyorum=4", "Kararsızım=3", "Katılmıyorum=2", "Hiç katılmıyorum=1" şeklinde puanlanmıştır. Olumsuz ifadeler ise ters puanlanmıştır. Ölçekten alınabilecek en az puan 15, en çok puan 75'tir. Ölçeğin Cronbach's Alpha katsayısı Türkçe geçerlik güvenilirlik yapılan çalışmada 0.70 bulunmuştur.¹⁹ Bu çalışmada ise Cronbach's Alpha katsayısı 0,71 bulundu.

Veri Toplama Süreci

Katılımcılara önce araştırmacılar tarafından çalışma hakkında bilgi verilir ve onamları alınmıştır. Daha sonra çalışmada kullanılan bilgi formu ve Sağlık Algısı Ölçeğini doldurmaları sağlanmıştır. Veri toplama formlarının doldurulması yaklaşık 20 dakika sürmüş olup, formlar katılımcılar tarafından anlaşılır bulunmuştur.

İstatistiksel Analiz

Veriler, IBM SPSS 29.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) yazılımı kullanılarak analiz edildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak kontrol edildi. Tanımlayıcı veriler için yüzdeler, frekans, ortalama hesaplaması yapıldı. Karşılaştırmalı veriler Mann-Whitney U Testi, Kruskal-Wallis H testi ve Spearman's Rho Korelasyon testi ile analiz edildi. *p* değeri 0,05 düzeyde anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Araştırma grubunu oluşturan 256 katılımcıların sosyo-demografik özelliklerine ilişkin bulgular Tablo 1'de yer

almaktadır. Gebelerin yaş ortalamasının $29,38 \pm 5,47$ ve gebelik haftası ortalamasının da $31,76 \pm 7,89$ olduğu belirlendi (Tablo 1).

Tablo 1. Katılımcıların tanıtıcı özellikleri (n: 256)

Değişkenler	Min-Maks	Ort±SS
Yaş	18-43	29,38±5,47
Gravida	0-9	2,52±1,44
Parite	0-6	1,13±1,04
Abortus	0-4	0,39±0,76
Yaşayan	0-6	1,18±1,59
Gestasyon haftası	20-40	31,76±7,89
Değişkenler	Sayı	%
Öğrenim durumu		
İlköğretim	93	36,3
Lise	80	31,3
Üniversite	83	32,4
Eşinin öğrenim durumu		
İlköğretim	74	28,9
Lise	111	43,4
Üniversite	71	27,7
Ekonomik durumu		
Gelir giderinden az	9	3,5
Gelir gidere eşit	173	67,6
Gelir giderden fazla	74	28,9

Min: Minimum, Maks: Maksimum, SS: Standart sapma

Tablo 2’de katılımcıların gebeliklerine ilişkin özellikler yer almaktadır. Son gebeliğin üzerinden geçen sürenin ortalama $3,39 \pm 3,73$ yıl olduğu belirlendi. Katılımcılar gebe olduklarını ortalama $5,67 \pm 2,53$, gebelik haftasında öğrendiğini bildirdi. Gebeliğinin ilk sekiz haftasında ilk izlemi yaptıranların oranı %86,7 olarak belirlendi. Katılımcıların %69,9’u gebeliklerini idrarda gebelik testi ile öğrendiklerini, %69,1’i gebelik belirtilerinden adet gecikmesi, %30,1’i bulantı, %27,7’si uyku hali yaşadığını bildirdi (Tablo 2).

Tablo 3’te Sağlık Algısı Ölçeği (SAÖ) toplam puanı ve alt boyutlarının puan ortalamaları yer almaktadır. Gebelerin SAÖ toplam puan ortalaması $51,87 \pm 7,52$ olarak belirlendi. Katılımcılara ait bazı değişkenler ile ölçek puanının karşılaştırılması Tablo 4’te verildi. Katılımcılara ait bazı değişkenlerden yaş grupları ile ölçek toplam puan ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$). Öğrenim durumu üniversite olan gebelerin SAÖ puan ortalamaları lise ve ilköğretim mezunlarından anlamlı şekilde yüksekti ($p < 0,05$). Gelir durumunu düşük olarak bildiren gebelerin SAÖ puan ortalamaları, gelir durumunu orta ve yüksek olarak bildirenlerden anlamlı şekilde düşüktü ($p < 0,05$). Gebeliğinin ilk sekiz haftasından izlem yaptıran, gebeliğinin ilk on haftasında izlem yaptıran ve gebeliğini öğrenene kadar sigara içme değişkenleri ile ölçek puan ortalaması istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$), (Tablo 4).

Katılımcılara ait özelliklerden gravida ve ile SAÖ toplam puan ortalaması arasında negatif yönde istatistiksel olarak ileri düzeyde ilişki belirlendi ($p < 0,001$). SAÖ kontrol merkezi alt boyut puan ortalaması ile gravida ve parite

değişkeni arasında negatif yönde istatistiksel olarak ileri düzeyde ($p < 0,001$); son gebelikten geçen süre değişkeni ile negatif yönde, fakat sağlığın önemi alt boyutu ile pozitif yönde anlamlı ilişki belirlendi ($p < 0,05$). SAÖ Kesinlik alt boyutu puan ortalaması ile gravida arasında negatif yönde ileri düzeyde ($p < 0,001$); parite ile negatif yönde anlamlı ilişki belirlendi ($p < 0,05$). SAÖ sağlığın önemi alt boyut puan ortalaması ile ilk izlem haftası arasında negatif yönde anlamlı ilişki saptandı ($p < 0,05$). SAÖ öz farkındalık alt boyut puan ortalaması ile ilk izlem haftası arasında negatif yönde anlamlı ilişki belirlendi ($p < 0,05$) (Tablo 5).

Tablo 2. Katılımcıların gebeliğine ilişkin özellikler (n: 256)

Değişkenler	Min-Maks	Ort±SS
Son gebeliğin üzerinden geçen süre (yıl)	0-20	3,39±3,73
Gebeliğini öğrendiği hafta	4-24	5,67±2,53
İlk gebelik izlemi haftası	4-37	7,13±4,60
Değişkenler	Sayı	%
Gebeliği öğrenme yöntemi		
İdrarda gebelik testi	179	69,9
Kan testi	77	30,1
Gebeliğin ilk sekiz haftası izlem		
Evet	222	86,7
Hayır	34	13,3
Gebeliğin ilk on haftası izlem		
Evet	238	93,0
Hayır	18	7,0
Gebeliği öğrenene kadar sigara kullanımı		
Evet	53	20,7
Hayır	203	79,3
Gebeliği öğrenene kadar ilaç kullanımı		
Evet	11	4,3
Hayır	245	95,7
Bulantı-kusma		
Evet	77	30,1
Hayır	179	69,9
Baş dönmesi		
Evet	45	17,6
Hayır	211	82,4
Koku hassasiyeti		
Evet	49	19,1
Hayır	207	80,9
Adet gecikmesi		
Evet	177	69,1
Hayır	79	30,9
Uyku hali		
Evet	71	27,7
Hayır	185	72,3
Meme dolgunluğu		
Evet	45	17,6
Hayır	211	82,4
Sık idrara çıkma		
Evet	48	18,8
Hayır	208	81,2

Min: Minimum, Maks: Maksimum, SS: Standart sapma

Tablo 3. Sağlık Algısı Ölçeği (SAÖ) toplam ve alt boyut puan ortalamaları (n: 256)

Ölçek/Alt ölçek	Ort±SS	Min-Maks
SAÖ Kontrol merkezi alt boyutu	15,87±4,23	6-25
SAÖ Kesinlik alt boyutu	13,31±3,39	4-20
SAÖ Sağlığın önemi alt boyutu	11,64±2,01	4-15
SAÖ Öz farkındalık alt boyutu	11,16±2,22	4-15
SAÖ toplam puan	51,87±7,52	34-73

Min: Minimum, Maks: Maksimum, SS: Standart sapma

Tablo 4. Katılımcılara ait bazı değişkenler ile ölçek puanının karşılaştırılması (n: 256)

Sosyo-demografik özellikler	SAÖ Puan ort			
	n	Ort±SS	X ² /Z	p
Yaş				
25 yaş ve altı	66	53,14±7,95	X ² 3,310	0,191
26-30 yaş	90	52,27±7,15		
31 yaş ve üzeri	100	50,96±7,50		
Öğrenim durumu			X ² 26,742	<0,001
İlköğretim	93	49,45±7,51		
Lise	80	51,34±7,33		
Lisans	83	55,43±6,42		
Gelir durumu			X ² 9,633	0,008
Düşük	9	44,78±4,20		
Orta	173	52,07±7,69		
Yüksek	74	52,65±7,05		
Gebeliğin ilk sekiz haftası izlem			Z -0,890	0,373
Evet	222	51,81±7,57		
Hayır	34	53,12±7,21		
Gebeliğin ilk on haftası izlem			Z -0,312	0,755
Evet	238	52,00±7,54		
Hayır	18	51,67±7,53		
Gebeliği öğrenene kadar sigara kullanımı			Z -0,576	0,564
Evet	53	52,32±6,79		
Hayır	203	51,89±7,72		
Gebeliği öğrenme yöntemi			Z -0,064	0,949
İdrarda gebelik testi	179	51,99±7,28		
Kan testi	77	51,96±8,12		

Kalın değerler: p<0,05 ve p<0,001 düzeyinde sonuçlar anlamlıdır.

Z: Nonparametrik Mann-Whitney U Test. X²: Nonparametrik Kruskal-Wallis H Test

Tartışma

Kadınların gebeliklerini öğrenme zamanı, şekli, ilk doğum öncesi izleme gitme zamanı gibi bazı değişkenlerin sağlık algısı ile ilişkisinin incelendiği çalışmada bazı önemli veriler elde ettik. Katılımcıların son gebeliklerinin üzerinden geçen süre ortalama 3,39±3,73 yıl idi. Son gebelik üzerinden geçen süre sağlıklı bir gebelik açısından son

derece önemlidir. Sarğın ve Demir'in yaptığı çalışmada ortalama 4,73±2,646 bulmuşlardır.²⁰ TNSA 2018 verileri incelendiğinde ise doğum aralıklarının ortanca değerinin 44 ay olduğu bildirilmiştir.²¹ Elde ettiğimiz veri TNSA verileri ile benzerdir. Son gebelik üzerinden geçen sürenin kısalması doğum sayısının artmasının bir göstergesidir. Ayrıca maternal ve neonatal risklerin artmasının da bir nedenidir.²² Çalışmalar doğum sayısı arttıkça, kadınların kontrol edemeyeceği bir dizi risk faktörünün ortaya çıkabileceğini göstermektedir.^{20,23} Ayrıca gebelikte anemi ve postpartum kanamalarla da ilişkili olabileceği vurgulanmaktadır.^{24,25}

Katılımcılar gebe olduklarını ortalama 5,67±2,53 gebelik haftasında öğrendiğini bildirdi. Literatür incelendiğinde kadınların gebe olduklarını öğrendikleri haftaya ilişkin Türkiye verisi bulunmamaktadır. Fakat Amerika'da yapılan bir araştırma kadınların evde gebelik testi ile 6 haftada öğrendiklerini göstermektedir.²⁶ Amerika'da yüksek örneklemli başka bir çalışmada ise gebelik farkındalığı sırasındaki ortalama gebelik süresi 5,5 hafta olarak bildirilmiştir.²⁷ Gebelik şüphesi ve doğrulanmasının zamanlaması gebelik ile ilgili antenatal bakıma erken başlama, sağlıklı fetal gelişim ve gebelik temelli küretaj kısıtlamalarından etkilenmesi muhtemel kişilerin belirlenmesi adına sağlık çalışanları açısından son derece önemlidir. Bu bağlamda evde uygulanan idrarda gebelik testinin doğru kullanımı önem arz etmektedir. Çalışmada katılımcıların %69,9'u gebeliklerini idrarda gebelik testi ile öğrendiklerini bildirdi. Bu oran Amerika'da %74'dür.²⁶ Türkiye'de daha önce konu ile ilgili yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Evde uygulanan idrarda gebelik testi kadınların üreme sağlığı hizmetleri üzerindeki kontrolleri bakımından "devrim niteliğinde" olduğu tanımlanmış olsa da,²⁶⁻²⁸ kadınlar arasında kullanım sıklığı ve gebeliğin öğrenilme zamanını nasıl etkiledikleri konusunda yeterli kanıt bulunmamaktadır.

Bu çalışmada gebeliğin ilk izlemi ortalama 7-8, haftada gerçekleşmiş olup, katılımcıların %86,7'si ilk sekiz haftada sağlık kurumuna başvuruda bulunmuştur. Dünya Sağlık Örgütü'nün Temel Antenatal Bakım Modeli çerçevesinde 12, haftaya kadar en az bir ziyaret yapılması gerektiğini önermektedir.⁹ İsveç'te 62562 kişiyle yapılan bir çalışmada ortalama 10, haftada ilk izlemin gerçekleştiği bildirilmektedir.²⁹ Gelişmiş ülkelere benzer şekilde elde ettiğimiz bu veri gebelikte komplikasyonların önlenmesi ve komplikasyonların maternal ve neonatal sonuçlarının azaltılması adına son derece önemlidir.

Bu çalışmada Sağlık Algısı puan ortalaması 51,87±7,52 bulundu ve öğrenim durumu ve gelir durumunun yüksek olması sağlık algısı puanının yüksek olması ile ilişkilidir. Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada da araştırmacılar sağlık algısı puan ortalamasının 50,48±7,009 olduğunu ve benzer şekilde gebelerin eğitim ve gelir düzeyleri arttıkça sağlık algısının iyileştiğini bildirdiler.³⁰ Anne ölüm oranı tüm dünya verilerine göre yüzde 211, bebek ölüm oranı binde 28'dir. Türkiye'de bu oran anne ölüm hızında yüzde 13, bebek ölüm hızı binde 6'dır.³¹ Tüm dünyadaki oranlar incelendiğinde anne ve çocuk ölümlerinin neredeyse tamamına yakını orta ve düşük gelirli ülkelerde meydana gelmekte olup, %75'i iyi bir antenatal bakımla

önlenebilir niteliktedir.³² Bu çalışmada gelir durumunu düşük bildiren katılımcıların sağlık algısı puan ortalamasının düşük olması bu veriyi kanıtlar niteliktedir. Bu çalışmada katılımcıların gebelik sayısı arttıkça sağlık algısı toplam puan ortalamasının azaldığı gözlemlendi. Özellikle kontrol merkezi alt boyut puan ortalaması gravida ve parite değişkeni üzerinde negatif yönde daha fazla etkiliydi. Benzer şekilde Türkiye’de yapılmış başka çalışmalar da benzer verilere ulaşmışlardır.^{30,33} Elde edilen veriler kadınların ideal gebelik sayısı ve aralığına karar vermelerinde sağlık algılarının etkili olduğunu ve çocuk sayısı azaldıkça kendilerine daha fazla vakit ayırabildiklerini düşündürmektedir. Bu çalışmada sağlık algısı sağlığın önemi ve öz farkındalık alt boyut puan ortalamaları ile ilk izlem haftası arasında negatif yönde ilişki vardı. Yapılan araştırmalar ilk ziyaretin erken olmasının anemi ve gestasyonel diyabet gibi riskli gebelik durumlarının tespiti ve önlenmesi adına önemli olduğunu bildirmektedir.^{14,34,35} Doğum öncesi bakımın geç başlatılması, daha yüksek anne ölümü riskiyle bağlantılıdır. Etiyopya’da yapılan bir araştırma eğitim düzeyi, plansız gebelikler, sağlık kurumlarına ulaşım engelleri ve doğum öncesi bakım hizmetleri hakkında bilgi eksikliği ilk ziyaretin gecikmesinde önemli değişkenler olarak bulunmuştur.³⁶ Elde edilen bütün veriler incelendiğinde eğitimin kadınların daha iyi seçimler yapma ve çocuklarının yanı sıra kendi sağlıkları ile ilgili kararlar alma konusunda daha fazla güven geliştirmelerini sağladığı göstermektedir. Ayrıca eğitilmiş kadınların sağlık algıları çerçevesinde daha kaliteli hizmet almayı istemeleri

ve kendileri için sağlıklarına daha fazla özen göstermeleri de olasıdır.

Bu çalışmada bazı sınırlılıklar mevcuttur. Bu sınırlılıklardan ilki, çalışma verilerinin sadece bir hastaneden elde edilmesi olup, tüm Türkiye popülasyonuna genellenemez. İkincisi ise elde edilen verilerin öz-bildirime dayalı toplanmasıdır.

Sonuç ve Öneriler

Evde idrarda gebelik testi kadınlar arasında yaygın bir uygulamadır. Ortama altıncı haftada gebe oldukları öğrenilmekte olup, katılımcıların büyük bir çoğunluğu ilk izlem için sekizinci haftadan önce bir sağlık kuruluşuna başvurmaktadır. Eğitim ve gelir durumu düşük, gebelik ve doğum sayısı yüksek olan katılımcıların sağlık algıları olumsuz etkilenmektedir. Bu da ilk izlemin daha geç olmasına ve erken dönem risklerinin tespitinde gecikmelere sebep olabilir. Evde idrarda gebelik testi uygulamasının etkinliği ve antenatal bakımı nasıl etkilediği konusunda çalışmalar yapılması önerilir. Bunun yanında birinci basamak sağlık kurumlarında çalışan sağlık çalışanları, gebelik planlayan ya da gebe kalma riski olan kadınlara gebeliğin erken dönem belirtileri hakkında bilgilendirmeler yapabilir. Bu kapsamda ayrıca erken dönemde fetüs sağlığını olumsuz etkileyecek uygulamalar hakkında da eğitimler planlanabilir.

Bu çalışmanın sonuçları, gebelerin sağlık algılarını ortaya koymakta olup, sağlık profesyonellerinin gebelerin sağlık algılarına göre gebelik süreçlerini ve perinatal dönemi değerlendirilmesine yardımcı olacaktır.

Tablo 5. Katılımcılara ait bazı değişkenler ile ölçek puanının ilişkisi (n: 256)

Değişken	SAÖ toplam puan		SAÖ Kontrol merkezi alt boyutu		SAÖ Kesinlik alt boyutu		SAÖ Sağlığın önemi alt boyutu		SAÖ Öz farkındalık alt boyutu	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Maternal yaş	-0,087	0,165	-0,086	0,169	-0,067	0,285	-0,029	0,644	-0,002	0,978
Gravida	-0,245	<0,001	-0,269	<0,001	-0,168	0,007	-0,033	0,603	-0,032	0,610
Parite	-0,209	<0,001	-2,64	<0,001	-1,51	0,016	-0,44	0,486	0,065	0,298
Gestational hafta	-0,066	0,291	0,019	0,758	-0,106	0,091	-0,018	0,768	-0,083	0,188
Son gebelikten geçen süre	-0,080	0,204	-0,156	0,013	-0,127	0,061	0,127	0,043	0,091	0,147
Gebeliğini öğrendiği hafta	-0,010	0,876	-0,090	0,153	-0,065	0,576	0,014	0,818	0,071	0,261
İlk izlem haftası	-0,116	0,064	-0,094	0,133	-0,067	0,288	-0,194	0,002	-0,140	0,026

Kalın değerler: p<0,05 ve p<0,001 düzeyinde sonuçlar anlamlıdır, Spearman’s Rho Korelasyon Testi

Etik Standartlara Uygunluk

Araştırmanın etik ilkelere uygunluğu Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından değerlendirilmek üzere başvuru yapılarak etik onay alınmıştır (GOKAEK-2022/20.04. Proje No: 2022/325). Gölçük Necati Çelik Devlet Hastanesi Başhekimliği’nden yazılı kurum izni alınmıştır. Araştırmaya dahil edilen gebeler sözel olarak bilgilendirilip onamları alınmıştır. Çalışmada Helsinki Kurallarına bağlı kalınmıştır.

Yazar Katkısı

RÖ, SDA: Çalışma fikri, hipotez, çalışma tasarımı; SDA: Veri toplama; RÖ, SDA, ND: Verilerin analizi; RÖ, SDA: Makalenin ilk taslağının hazırlanması ve eleştirile

incelemesi; SDA: Makalenin sonuçlandırması ve yayın süreci.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek

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

Teşekkür

Yazarlar, çalışmanın yapılması için izin veren kurumlara ve çalışmaya katılan katılımcılara teşekkürlerini sunarlar.

Kaynaklar

1. Bravo K, González-Ortiz M, Beltrán-Castillo S, Cáceres D, Eugenín J. Development of the placenta and brain are affected by selective serotonin reuptake inhibitor exposure during critical periods. *Adv Exp Med Biol.* 2023;1428:179-198. doi:10.1007/978-3-031-32554-0_8
2. Drife JO. The history of labour induction: How did we get here? *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2021;77:3-14. doi:10.1016/j.bpobgyn.2021.07.004
3. Mazibuko NE, Saruchera M, Okonji EF. A qualitative exploration of factors influencing non-use of sexual reproductive health services among university students in South Africa. *Int J Environ Res Public Health.* 2023;20(3):2418. doi:10.3390/ijerph20032418
4. Ayoola AB, Nettleman MD, Stommel M, Canady RB. Time of pregnancy recognition and prenatal care use: A population-based study in the United States. *Birth.* 2010;37(1):37-43. doi:10.1111/j.1523-536X.2009.00376.x
5. Ayoola AB, Zandee GL. Low-income women's recommendations for promoting early pregnancy recognition. *J Midwifery Womens Health.* 2013;58(4):416-422. doi:10.1111/jmwh.12078
6. Hadrill R, Jones GL, Mitchell CA, Anumba DO. Understanding delayed access to antenatal care: a qualitative interview study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2014;14(1):207. doi:10.1186/1471-2393-14-207
7. Ferrer RA, Klein WM. Risk perceptions and health behavior. *Curr Opin Psychol.* 2015;5:85-89. doi:10.1016/j.copsyc.2015.03.012
8. Huang X, Dai S, Xu H. Predicting tourists' health risk preventative behaviour and travelling satisfaction in Tibet: Combining the theory of planned behaviour and health belief model. *Tour Manag Perspect.* 2020;33:100589. doi:10.1016/j.tmp.2019.100589
9. World Health Organization. *WHO Recommendations on Antenatal Care for a Positive Pregnancy Experience: Summary Highlights and Key Messages from the World Health Organization's 2016 Global Recommendations for Routine Antenatal Care.* Vol 10; 2018. doi:10.1186/1742-4755-10-19.5
10. Counseling P. ACOG Committee Opinion No. 762: Prepregnancy Counseling. *Obstet Gynecol.* 2019;133(1):e78-e89. doi:10.1097/AOG.0000000000003013
11. Toivonen KI, Lacroix E, Flynn M, et al. Folic acid supplementation during the preconception period: A systematic review and meta-analysis. *Prev Med (Baltim).* 2018;114:1-17. doi:10.1016/j.ypmed.2018.05.023
12. Centers for Disease Control and Prevention. Planning for pregnancy. Published 2020. Accessed June 30, 2021. <https://www.cdc.gov/preconception/planning.html>
13. Mirahmadizadeh A, Semati A, Eshrati B, Moradi F, Asadi N. Root-cause analysis of maternal mortality in Fars Province, Southern Iran 2014: Negligence is the prime suspect. *J Fam Reprod Heal.* Published online November 18, 2020. doi:10.18502/jfrh.v14i3.4669
14. Adulo LA, Hassen SS. Magnitude and factors associated with late initiation of antenatal care booking on first visit among women in rural parts of Ethiopia. *J Racial Ethn Heal Disparities.* 2023;10(4):1693-1702. doi:10.1007/s40615-022-01354-y
15. Bolnga JW, Lufele E, Teno M, et al. Incidence of self-induced abortion with misoprostol, admitted to a provincial hospital in Papua New Guinea: A prospective observational study. *Aust New Zeal J Obstet Gynaecol.* 2021;61(6):955-960. doi:10.1111/ajo.13413
16. Rizvi F, Williams J, Hoban E. Factors influencing unintended pregnancies amongst adolescent girls and young women in Cambodia. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16(20):4006. doi:10.3390/ijerph16204006
17. Ayoola AB. Late Recognition of Unintended Pregnancies. *Public Health Nurs.* 2015;32(5):462-470. doi:10.1111/phn.12182
18. Diamond JJ, Becker JA, Arenson CA, Chambers C V., Rosenthal MP. Development of a scale to measure adults' perceptions of health: Preliminary findings. *J Community Psychol.* 2007;35(5):557-561. doi:10.1002/jcop.20164
19. Kadioglu H, Yildiz A. Validity and reliability of Turkish version of perception of health scale. *Türkiye Klin J Med Sci.* 2012;32(1):47-53. doi:10.5336/medsci.2010-21761
20. Sarğın G, Demir C. Doğum yapmış kadınlar ile hiç doğum yapmamış kadınların antropometrik ölçümlerinin karşılaştırılması. *Van Sağlık Bilim Derg.* 2022;15(Özel Sayı):174-180. doi:10.52976/vansaglik.1096162
21. TNSA. *Hacettepe Üniversitesi Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması;* 2018. http://www.sck.gov.tr/wp-content/uploads/2020/08/TNSA2018_ana_Rapor.pdf
22. Saral N, Cambaz Ulas S. The effect of short pregnancy interval on perinatal outcomes in Turkey: A retrospective study. *Pakistan J Med Sci.* 2019;35(5). doi:10.12669/pjms.35.5.837
23. Özdilek R, Aba YA, Aksoy SD, Şık BA, Akpak YK. The relationship between body mass index before pregnancy and the amount of weight that should be gained during pregnancy: A cross-sectional study. *Pakistan J Med Sci.* 2019;35(5). doi:10.12669/pjms.35.5.133
24. Bazirete O, Nzayirambaho M, Umubyeyi A, Uwimana MC, Evans M. Influencing factors for prevention of postpartum hemorrhage and early detection of childbearing women at risk in Northern Province of Rwanda: beneficiary and health worker perspectives. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2020;20(1):678. doi:10.1186/s12884-020-03389-7
25. Kabalcıoğlu Bucak F, Kartal M. Gebe kadınlarda demir ilacı ve folik asit kullanım durumu ve etkileyen faktörler. *Soc Ment Res Thinkers J.* 2019;5(18):635-642. doi:10.31576/smryj.259
26. Ralph LJ, Foster DG, Barar R, Rocca CH. Home pregnancy test use and timing of pregnancy confirmation among people seeking health care. *Contraception.* 2022;107:10-16. doi:10.1016/j.contraception.2021.10.006
27. Branum AM, Ahrens KA. Trends in timing of pregnancy awareness among US women. *Matern Child Health J.* 2017;21(4):715-726. doi:10.1007/s10995-016-2155-1
28. Leavitt SA. "A private little revolution": The home pregnancy test in American culture. *Bull Hist Med.* 2006;80(2):317-345.
29. Sandström A, Snowden JM, Höijer J, Bottai M, Wikström AK. Clinical risk assessment in early pregnancy for preeclampsia in nulliparous women: A population based cohort study. *PLoS One.* 2019;14(11):e0225716. doi:10.1371/journal.pone.0225716
30. Akça E, Gökyıldız Sürücü Ş, Akbaş M. Gebelerde sağlık algısı, sağlık okuryazarlığı ve ilişkili faktörler. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Mesl Yüksek Okulu Derg.* 2020;8(3):630-642. doi:10.33715/inonusaglik.735467
31. Soysal G, Ozcan C, Akin A. The current state of women's, maternal, and child health in the world and Turkey. *Heal Soc.* 2022;32(1):3-13.
32. Calik KY, Yilmaz AD, Gunal NT. Dünya sağlık örgütünün pozitif bir gebelik deneyimi için antenatal bakıma yönelik önerileri. *J Ankara Heal Sci.* 2023;12(1):99-113.




doi:10.46971/ausbid.1188344

33. Yağmur Y, Keskin F. Doğum sonu dönemdeki kadınların aile planlaması yöntemi kullanımı ve sağlık algısının incelenmesi. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Mesli Yüksek Okulu Derg.* 2019;7(2):137-146. doi:10.33715/inonusaglik.567849
34. Rashidi H, Kalantari K, Shahbazian H, Nouhjah S. The relationship between fasting plasma glucose in the first trimester of pregnancy and the incidence of gestational diabetes in Iran. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev.* 2021;15(4):102193. doi:10.1016/j.dsx.2021.102193
35. Sedigheh N, Hajieh S, Javad Z, Mehrdad S. Hemoglobin at the first visit of pregnancy and developing gestational diabetes mellitus: results of a prospective registry cohort study. *Clin Nutr ESPEN.* Published online July 2023. doi:10.1016/j.clnesp.2023.07.084
36. Tadele F, Getachew N, Fentie K, Amdisa D. Late initiation of antenatal care and associated factors among pregnant women in Jimma Zone Public Hospitals, Southwest Ethiopia, 2020. *BMC Health Serv Res.* 2022;22(1):632. doi:10.1186/s12913-022-08055-6

Research Article / Araştırma Makalesi

INVESTIGATING GENE EXPRESSION CHANGES AND HUB GENES PLAYING A ROLE IN THE PROGRESSION OF GLIAL BRAIN TUMORS

GLIAL BEYİN TÜMÖRLERİNİN İLERLEMESİNDE ROL OYNAYAN GEN İFADE DEĞİŞİKLİKLERİ VE MERKEZİ GENLERİN İNCELENMESİ

  Nurhan Külcü Sarıkaya^{1*},  Deniz Sünnetçi Akkoyunlu¹

¹Kocaeli University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Kocaeli, Türkiye.



ABSTRACT

Objective: Glioblastoma, a highly aggressive form of glioma, is the most common malignant brain tumor, accounting for 80% of all malignant brain tumors and 55% of all gliomas. The median survival for patients with glioblastoma is just over one year, despite treatment. This study aims to understand impact of gene expression differences and pathways in the glioma development and progression.

Methods: 150 glioma samples and 15 normal brain tissues were included in the study from the Gene Expression Omnibus (GEO) database. GeneSpring Software was used to obtain the differentially expressed genes (DEGs) comparing tumor and normal. The DEGs were analyzed using the DAVID interface for GO and KEGG pathway analysis. Most connected 15 genes were selected as hub genes for each grade using the STRING application in Cytoscape software.

Results: DEGs were found associated with neuroactive ligand-receptor interaction, systemic lupus erythematosus, complement and coagulation cascades, and GABAergic synapse. A total of 21 genes (ALB, CXCL8, EGF, EGFR, FN1, GAPDH, GNG13, GNG7, GNGT1, IL10, IL6, INS, KNG1, MAPK1, MYC, NOTCH1, SRC, STAT3, TNF, TP53, VEGFA) were identified as hub genes. Among them, INS was found having the highest level of connections in all grades. IL6, were found associated with poor survival and is implicated in high-grade gliomas. STAT3 and poor survival-related EGF were detected at grade IV. The human cytomegalovirus (HCMV) infection was revealed to be the most significant pathway in high-grade gliomas according to KEGG analysis of hub genes.

Conclusion: Sonuç 8p, CalibriFindings of the current study suggest potential prognostic and therapeutic targets for the gliomas.

Keywords: Glioma, gene expression, hub genes, integrated analysis.

Öz

Amaç: Gliomanın oldukça agresif bir formu olan glioblastoma, tüm malign beyin tümörlerinin %80'ini ve tüm gliomaların %55'ini oluşturan en yaygın malign beyin tümördür. Tedaviye rağmen glioblastomalı hastalar için medyan sağkalm bir yıldan biraz fazladır. Bu çalışma, gen ekspresyon farklılıklarının ve yollarının glioma gelişimi ve ilerlemesindeki etkisini anlamayı amaçlamaktadır.

Yöntem: Çalışmaya Gene Expression Omnibus (GEO) veritabanından 150 glioma örneği ve 15 normal beyin doku örneği dahil edildi. Normal doku ile derece II, III ve IV glioma dokuları arasında diferansiyel olarak eksprese edilen genleri (DEG'ler) elde etmek için GeneSpring yazılımı kullanıldı. DEG'ler, GO ve KEGG yolak analizi için DAVID arayüzü kullanılarak analiz edildi. Cytoscape yazılımındaki STRING uygulaması kullanılarak her derecede en çok bağlantıya sahip 15 gen merkez gen olarak seçildi.

Bulgular: DEG'ler nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi, sistemik lupus eritematozus, komplement ve pıhtılaşma kaskadları ve GABAerjik sinaps ile ilişkilendirildi. Toplam 21 gen (ALB, CXCL8, EGF, EGFR, FN1, GAPDH, GNG13, GNG7, GNGT1, IL10, IL6, INS, KNG1, MAPK1, MYC, NOTCH1, SRC, STAT3, TNF, TP53 ve VEGFA) merkezi gen olarak belirlendi. Merkezi genler arasında INS geni, bütün derecelerde en yüksek bağlantı düzeyine sahip olduğu bulundu. IL6, düşük sağkalm ile ilişkilendirildi ve yüksek dereceli gliomalarda rol oynadığı düşünüldü. STAT3 ve düşük sağkalmı ilişkili EGF, derece IV'de tespit edildi. İnsan sitomegalovirüsü (HCMV) enfeksiyonu, merkez genlerin KEGG analizine göre yüksek dereceli gliomalarda en anlamlı yol olarak ortaya çıktı.

Sonuç: Bu çalışmanın bulguları, gliomalar için potansiyel prognostik ve terapötik hedefleri işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Glioma, gen ekspresyonu, merkezi genler, entegre analiz

Introduction

Glial cells are Central Nervous System supporting cells. When these supportive glial cells (or neuronal stem cells) become malignant, they form gliomas, or, in other words, glial brain tumors. Gliomas comprise approximately 30% of all brain tumors and 80% of all malignant brain tumors.¹ In approximately 55% of cases, glioma presents as the highly aggressive tumor known as grade IV astrocytoma (also known as glioblastoma or GBM).² Despite advances in treatments that include surgical resection, chemotherapy, and radiation therapy, median survival and prognosis, particularly for GBM patients, continue to be poor. The median overall survival time for GBM is approximately 1.25 years, and for Low-grade glioma (LGG), it is 6.5-8 years.³ As a result, it is critical to shed light on glioma survival events that may aid in the diagnosis and prognosis of glioma patients.

In several studies, it has been found that genes such as *PDGF*, *EGFR*, *GFAP*, *MDM2*, *PTPRN*, *RGS14*, *G6PC3*, *IGFBP2*, and *TIMP4* are differentially expressed in glioma tissues compared to normal brain tissues.⁴⁻⁹ Illuminating genetic expression differences in glial brain tumors using the microarray method can be used for diagnostic, prognostic, or therapeutic purposes.

The aim of this study is to analyze genetic expression differences and hub genes in gliomas and investigate the effect of related genes and pathways on the formation and/or progression of gliomas using microarray data from grade II, III, and IV glioma patients.

Methods

Microarray Data

Gene expression profiles from GSE52009, GSE109857, GSE83300 and GSE52604 were selected from the GEO (Gene Expression Omnibus) database. All gene expression data sets were based on the Agilent GPL6480 (014850 Whole Human Genome Microarray 4x44K G4112F) platform.

In total, 150 patient samples and 15 control samples were included in the study by downloading them from GEO database, which consists of 58 glioma samples (25 astrocytomas, 23 anaplastic oligodendrogliomas, 10 glioblastomas) from GSE66354 dataset, 72 glioma samples (25 astrocytomas, 10 anaplastic oligodendrogliomas, 8 anaplastic astrocytomas, 9 anaplastic oligoastrocytomas, 20 glioblastomas) and 5 normal brain tissue samples from GSE109857 dataset, 20 glioma samples (20 glioblastomas) from GSE83300 dataset, and 10 normal brain tissue samples from GSE52604 dataset. The samples consist of 75 patients (50%) female, 75 patients (50%) male. The age of the patients varied between 18 and 66, with an average age of 40.2.

Differential Gene Expression Analysis

GeneSpring Software version 14.9_gx_pa (GeneSpring GX software, Agilent, Santa Clara, United States) was used to

obtain the differentially expressed genes (DEGs) between tumor tissues and normal tissues, and between different grades of tumor tissues. The DEGs were identified using one-way ANOVA statistical analysis between tumor tissues and normal tissues, and with a threshold of P-value <0.05 and a fold change of expression >2.0. The Benjamini-Hochberg correction method was used to reduce the false positive rate.

Enrichment Analysis of DEGs

In this study, the online tool of DAVID was used to perform Gene Ontology enrichment and KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) pathway analysis of DEGs. The GO analysis included biological process (BP), cellular component (CC) and molecular function (MF) categories. Pathway analysis involves a functional examination that charts the relationships between genes and KEGG pathways. The cutoff criterion was set as $p < 0.05$.

Protein-Protein Interaction Network Analysis

To explore the potential relationship between DEGs at different grades, the Cytoscape 8.3.2 software (Cytoscape, University of California, San Diego, California, United States) was used with the STRING application. The first 15 genes with high connections were selected as hub genes based on Protein-protein interaction (PPI) information. The hub genes were added to STRING, and KEGG pathway analyses were performed on DAVID to determine potential information.

Comparison of Hub Gene Expression Levels

The expression levels of hub genes in glioma tissues and normal tissues were revealed on GEPIA (Gene expression profiling and interactive analyses). Box plots were generated using GEPIA based on TCGA (The Cancer Genome Atlas) and GTEx (Genotype-Tissue Expression) gene expression data, utilizing disease status (tumor or normal) as a variable for calculating differential expression. This was performed using a one-tailed, unpaired Student's t-test.

The expression of these hub genes was confirmed by obtaining immunohistochemical data from patients with or without gliomas based on Human Protein Atlas (HPA). Additionally, survival percentages were obtained from the Pathology section of the HPA, which includes Kaplan-Meier plots showing the correlation between mRNA expression of each human protein gene and cancer patient survival.

Analysis of Hub Gene Survival

Recurrent and overall survival information was analyzed using GEPIA, a web-based tool based on TCGA and GTEx data.¹⁰ The 95% confidence interval hazard ratio (HR) and log rank p-value were calculated and displayed on the graph.

Results

Identifying DEGs

Differentially expressed genes were identified by comparing the expression ratio change of samples from tumor tissues with normal tissues in GeneSpring (GeneSpring GX software, Agilent, Santa Clara, United States), using a threshold of > 2.0. In grades II, III, and IV, the number of increasing genes was 6970, 6143, and 6107, respectively, while the number of decreasing genes was 2179, 1823, and 1460, respectively.

The DEG's pathway analysis

The most significant molecular pathways that were identified through the pathway analysis of DEGs in tumor tissues were the neuroactive ligand-receptor interaction for increased DEGs in grades II, III, and IV, and the systemic lupus erythematosus, complement, and coagulation cascades, and GABAergic synapse for decreased DEGs in grades II, III, and IV, respectively. The top 5 enriched KEGG pathways for the increased and decreased DEGs according to grades are shown in Table 1.

Table 1. The KEGG pathway analysis of differentially expressed genes associated with glioma according to grades.

		Pathways
Grade II	Up'd (6970 DEG)	Neuroactive ligand-receptor interaction Cytokine-cytokine receptor interaction Cell adhesion molecules (CAMs) Inflammatory bowel disease (IBD) Taste transduction
	Down'd (2179 DEG)	Systemic lupus erythematosus Alcoholism Cardiac muscle contraction Biosynthesis of antibiotics Biosynthesis of amino acids
Grade III	Up'd (6143 DEG)	Neuroactive ligand-receptor interaction Cytokine-cytokine receptor interaction Allograft rejection Cell adhesion molecules (CAMs) Staphylococcus aureus infection
	Down'd (1823 DEG)	Complement and coagulation cascades Focal adhesion Proteoglycans in cancer Thyroid hormone synthesis Aldosterone-regulated sodium reabsorption
Grade IV	Up'd (6107 DEG)	Neuroactive ligand-receptor interaction Cytokine-cytokine receptor interaction Inflammatory bowel disease (IBD) Staphylococcus aureus enfeksiyonu Graft-versus-host hastalığı
	Down'd (1460 DEG)	GABAergic synapse Morphine addiction Alcoholism Carbon metabolism Glycolysis / Gluconeogenesis

The GO analysis of DEGs

As a result of the GO analysis, the biological processes, cell components, and molecular functions of genes that are over- and under-expressed in different grades of glioma were determined. In all grades, DEGs with increased expression were most closely associated with the G protein-coupled receptor signaling pathway, cell-to-cell signaling, and inflammatory response in terms of biological process; the plasma membrane integral component, cell membrane, cell outer region, and extracellular space in terms of cell component; and G protein-coupled receptor activity, cytokine activity, and calcium ion binding in terms of molecular function. DEGs with decreased expression in all grades were most closely associated with response to drugs in terms of biological process; and extracellular space and extracellular exosomes in terms of cell component (Table 1, Table 2).

Protein-Protein Interaction Network Analysis

Based on information from publicly available databases such as STRING, protein-protein interaction networks were constructed for DEGs in each grade, and the first 15 genes with the highest level of connectivity were identified as hub genes. The distributions of these hub genes according to grades, their degrees of association with other genes, and the differential gene expression levels compared to normal tissues (upregulated-downregulated) are shown in Table 3.

KEGG Analysis of Hub Genes

The KEGG pathway analysis of the hub genes for each grade have been performed. The hub genes were associated with the breast cancer pathway in Grade II and with the Human cytomegalovirus infection pathway in Grades III and IV, according to the KEGG pathway analysis results (Table 4).

Survival Analysis of Hub Genes

The prognostic information of 15 hub genes was analyzed on the GEPIA web server among genes with increased and decreased expression in all grades (<http://gepia.cancer-pku.cn/detail.php>).

In LGG, among the hub genes, expression of *VEGFA* (HR 2.4) was found to be associated with worse overall survival for LGG patients, and this was followed by *GAPDH* (HR 2.2), *FN1* (HR 1.8), *TP53* (HR 1.6), and *IL10* (HR 1.6). Additionally, *ALB* (HR 0.61) was found to be associated with better overall survival for LGG patients (Table 5, Figure 1).

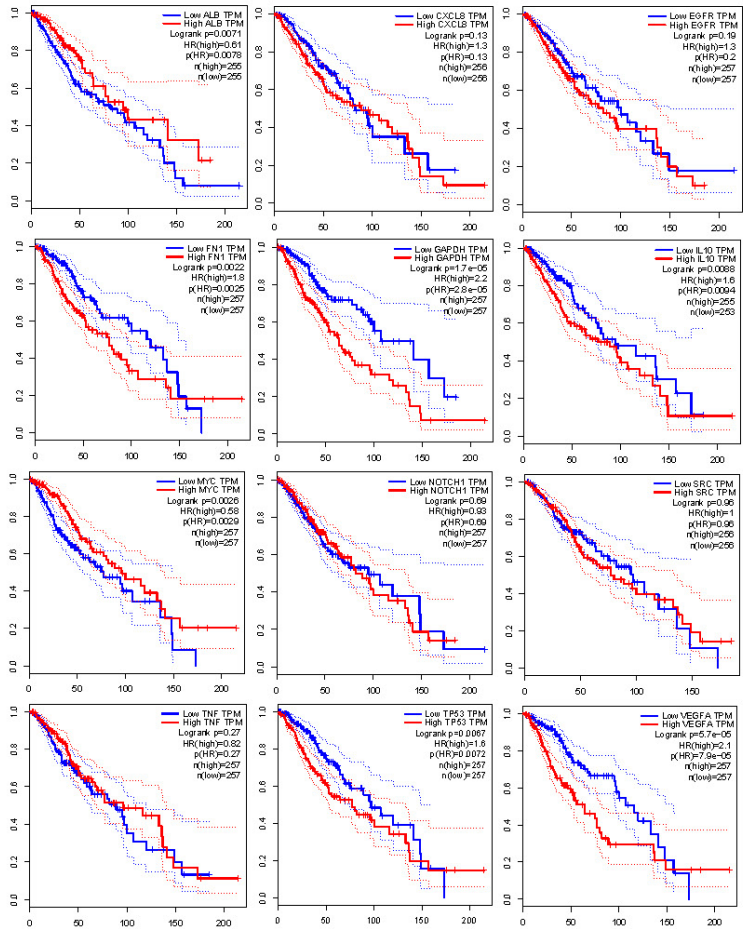
In GBM, among the hub genes, the expression of *IL6* (HR 1.4) and *VEGFA* (HR 1.4) was found to be associated with worse overall survival for GBM patients, followed by *ALB* (HR 1.2, $p = 0.41$), *EGF* (HR 1.2), *SRC* (HR 1.2), *IL10* (HR 1.2), and *STAT3* (HR 1.2); also, *NOTCH1* (HR 0.91) was found to be associated with better overall survival for GBM patients (Table 5, Figure 1).

Table 2. The Gene Ontology analysis of differentially expressed genes associated with glioma according to grades.

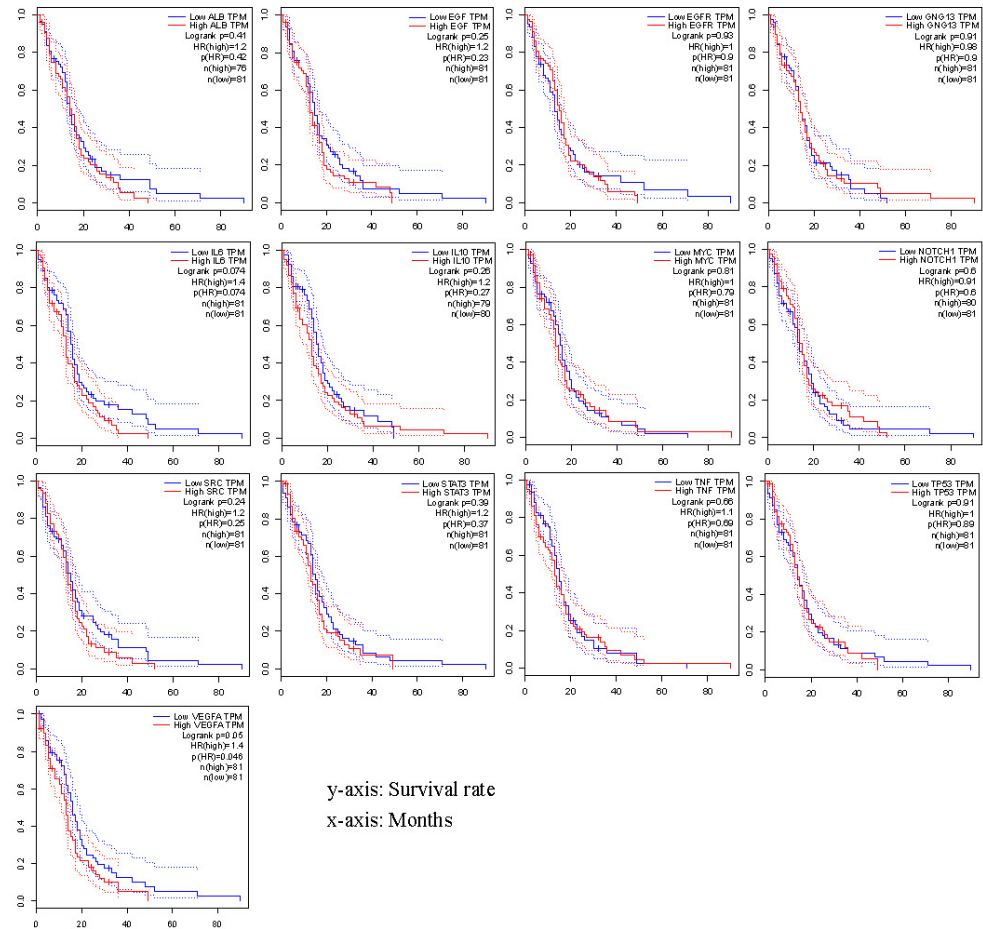
		Biological Process	Cellular Component	Molecular Function
Grade II	Up'd (6970 DEG)	G-protein coupled receptor signaling pathway Chemical synaptic transmission Cell-cell signaling Cell surface receptor signaling pathway Inflammatory response	Integral component of plasma membrane Plasma membrane Integral component of membrane Extracellular region Extracellular space	G-protein coupled receptor activity Cytokine activity Bitter taste receptor activity Calcium ion binding Voltage-gated potassium channel activity
	Down'd (2179 DEG)	Response to drug Cell-cell adhesion Sister chromatid cohesion. Cell division Mitotic sister chromatid segregation	Extracellular exosome Cytosol Extracellular space Cytoplasm Nucleosome	Protein binding Cadherin binding involved in cell-cell adhesion Protein heterodimerization activity Integrin binding Cuprous ion binding
Grade III	Up'd (6143 DEG)	G-protein coupled receptor signaling pathway Cell-cell signaling Immune response Inflammatory response Chemical synaptic transmission	Integral component of plasma membrane Plasma membrane Integral component of membrane Extracellular region Extracellular space	G-protein coupled receptor activity Calcium ion binding Cytokine activity Hormone activity Bitter taste receptor activity
	Down'd (1823 DEG)	Response to drug Negative regulation of endopeptidase activity Triglyceride catabolic process Response to estrogen Retinoid metabolic process	Extracellular space Extracellular exosome Cytoplasm Endoplasmic reticulum lumen Basolateral plasma membrane	Protein binding Endopeptidase inhibitor activity Serine-type endopeptidase inhibitor activity ATP binding Cuprous ion binding
Grade IV	Up'd (6107 DEG)	Immune response G-protein coupled receptor signaling pathway Cell-cell signaling Inflammatory response Cytokine-mediated signaling pathway	Integral component of plasma membrane Plasma membrane Extracellular region Integral component of membrane Extracellular space	G-protein coupled receptor activity Cytokine activity Receptor activity Calcium ion binding Growth factor activity
	Down'd (1460 DEG)	Response to drug Retinoid metabolic process Triglyceride catabolic process Long-term synaptic potentiation Gluconeogenesis	Extracellular exosome Extracellular space Integral component of plasma membrane Plasma membrane Cell junction	Serine-type endopeptidase inhibitor activity GABA-gated chloride ion channel activity GABA-A receptor activity Structural constituent of myelin sheath Protein heterodimerization activity

Up'd: Up-regulated, Down'd: Down-regulated

Survival graphs of hub genes in LGG will be added.



Survival graphs of hub genes in GBM will be added.



y-axis: Survival rate
x-axis: Months

Figure 1. Survival graphs of hub genes in LGG and GBM

Table 3. List of hub genes according to grades.

Grade II			Grade III			Grade IV		
Gene	CD	EL	Gene	CD	EL	Gene	CD	EL
<i>INS</i>	761	↑	<i>INS</i>	791	↑	<i>INS</i>	759	↑
<i>ALB</i>	678	↓	<i>IL6</i>	704	↑	<i>IL6</i>	683	↑
<i>TP53</i>	677	↑	<i>ALB</i>	696	↓	<i>ALB</i>	675	↓
<i>GAPDH</i>	629	↓	<i>TP53</i>	678	↑	<i>TP53</i>	610	↑
<i>TNF</i>	568	↑	<i>TNF</i>	597	↑	<i>TNF</i>	579	↑
<i>EGFR</i>	526	↑	<i>EGFR</i>	536	↑	<i>EGFR</i>	513	↑
<i>VEGFA</i>	503	↓	<i>FN1</i>	512	↓	<i>EGF</i>	503	↑
<i>MYC</i>	501	↑	<i>VEGFA</i>	511	↓	<i>VEGFA</i>	492	↑
<i>FN1</i>	485	↓	<i>SRC</i>	497	↑	<i>SRC</i>	484	↑
<i>SRC</i>	480	↑	<i>MYC</i>	492	↑	<i>GNGT1</i>	463	↓
<i>CXCL8</i>	474	↓	<i>CXCL8</i>	476	↓	<i>MYC</i>	453	↑
<i>GNGT1</i>	470	↓	<i>GNGT1</i>	470	↓	<i>STAT3</i>	444	↑
<i>NOTCH1</i>	437	↑	<i>NOTCH1</i>	456	↑	<i>GNG13</i>	439	↑
<i>IL10</i>	409	↑	<i>MAPK1</i>	446	↓	<i>NOTCH1</i>	439	↑
<i>KNG1</i>	387	↑	<i>GNG7</i>	444	↑	<i>IL10</i>	425	↑

CD: Connection degree, EL: Gene expression level, ↑: Up-regulated, ↓: Down-regulated

Table 4. KEGG pathway analysis of hub genes according to grades

Grade	Pathways	P-Value
Grade II	Bladder cancer	4,00E-09
	Human cytomegalovirus infection	2,50E-08
	Proteoglycans in cancer	4,80E-07
	Pathways in cancer	4,90E-07
	Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection	1,00E-05
Grade III	Human cytomegalovirus infection	1,30E-13
	Bladder cancer	2,60E-11
	Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection	1,80E-10
	PI3K-Akt signaling pathway	5,90E-10
Grade IV	Pathways in cancer	6,90E-10
	Human cytomegalovirus infection	1,00E-11
	Bladder cancer	4,00E-09
	Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection	8,90E-09
Grade IV	PI3K-Akt signaling pathway	2,10E-08
	Pathways in cancer	2,10E-08

Comparison of Hub Gene Expression Levels

Box plots were made using GEPIA to reveal the expression levels of hub genes in glioma tissues and normal tissues, and to visualize the associations. In LGG, it was found that the expression levels of *EGFR*, *IL10*, *MYC*, *NOTCH1*, *SRC*, *TNF*, and *TP53* were significantly increased in cancer tissue when compared to normal brain tissue, and that the expression level of *ALB* was significantly decreased (Figure 2).

In GBM, it was found that the expression levels of *EGF*, *EGFR*, *IL6*, *IL10*, *MYC*, *NOTCH1*, *SRC*, *STAT3*, *TNF*, *TP53*, and *VEGFA* were significantly increased in cancer tissue compared to normal brain tissue when correlated with the results obtained, and that the expression level of *ALB* was significantly decreased (Figure 2).

The expression levels of other hub genes in LGG (*CXCL8*, *FN1*, *GAPDH*, *GNGT1*, *IL6*, *INS*, *KNG1*, and *VEGFA*) and in GBM (*INS*, *GNG13*, and *GNGT1*) did not correlate with the results obtained from GEPIA.

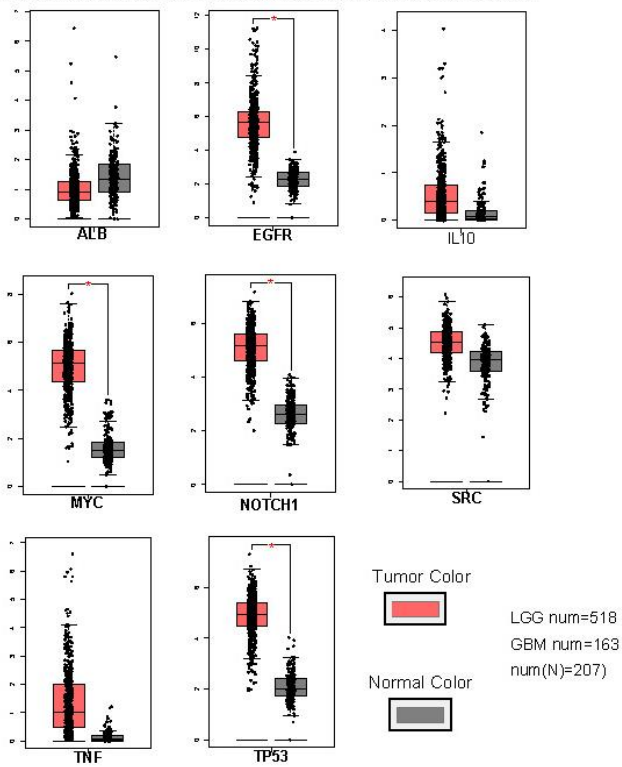
The expression of these hub genes was confirmed using immunohistochemical data from glioma or non-glioma patients based on the Human Protein Atlas, and 3-year survival percentages were found based on the expression differences in glioma (Figure.3).

Table 5. The survival rates of the hub genes in LGG and GBM

Gene	LGG-HR	Gene	GBM-HR
<i>INS</i>	*	<i>INS</i>	*
<i>ALB</i>	0,61	<i>IL6</i>	1,4
<i>TP53</i>	1,6	<i>ALB</i>	1,2
<i>GAPDH</i>	2,2	<i>TP53</i>	1
<i>TNF</i>	0,82	<i>TNF</i>	1,1
<i>EGFR</i>	1,3	<i>EGFR</i>	1
<i>VEGFA</i>	2,4	<i>EGF</i>	1,2
<i>MYC</i>	0,58	<i>VEGFA</i>	1,4
<i>FN1</i>	1,8	<i>SRC</i>	1,2
<i>SRC</i>	1	<i>GNGT1</i>	*
<i>CXCL8</i>	1,3	<i>MYC</i>	1
<i>GNGT1</i>	*	<i>STAT3</i>	1,2
<i>NOTCH1</i>	0,93	<i>GNG13</i>	0,98
<i>IL10</i>	1,6	<i>NOTCH1</i>	0,91
<i>KNG1</i>	*	<i>IL10</i>	1,2
<i>IL6</i>	1,9		

HR: Hazard ratio, *: There is not enough research available.

Association of genes with the results obtained by comparing the expression levels of hub genes in LGG with normal brain tissue.



Association of genes with the results obtained by comparing the expression levels of hub genes in GBM with normal brain tissue.

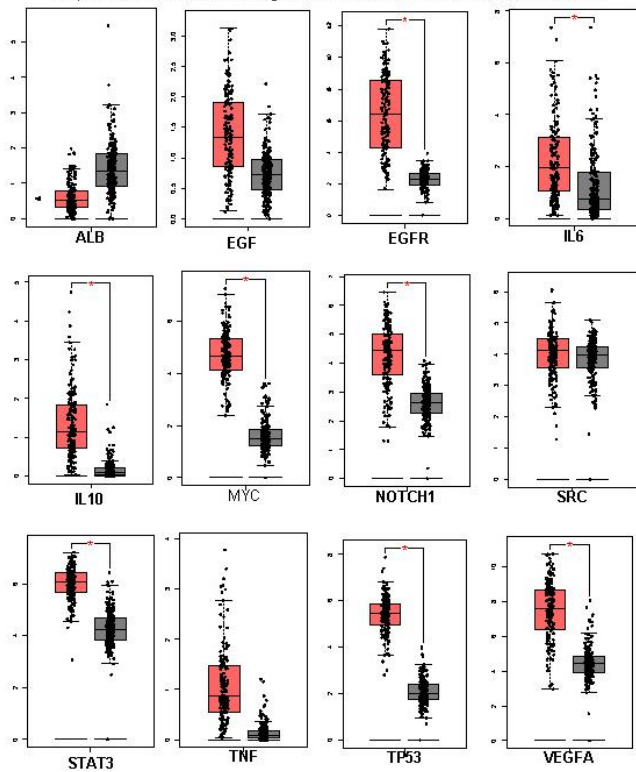


Figure 2. Association of genes with the results obtained by comparing the expression levels of hub genes in LGG and GBM with normal brain tissue.

Discussion

Patients with gliomas still have a poor prognosis despite therapies such as extensive surgery, radiation, and chemotherapy. Determining potential molecular targets and actively investigating the pathophysiology of gliomas are so crucial. Despite the fact that many of these targets have already been found, DEGs from various research often contradict. For the purpose of this study, we obtained datasets from the GEO database to evaluate hub genes in 150 glioma samples in comparison to 15 normal tissues.

In this study, DEGs were analyzed using the DAVID Bioinformatics Database for KEGG pathways. It was found that DEGs with increased expression were mainly associated with neuroactive ligand-receptor interaction, while DEGs with decreased expression were most associated with systemic lupus erythematosus, complement and coagulation cascades, and GABAergic synapse at different grades of brain cancer. Recently, it has been reported that patients with GBM with a damaged neuroactive ligand-receptor interaction pathway had a poor prognosis.¹¹ These results suggest that abnormalities in the neuroactive ligand-receptor interaction pathway may play a role in the development and progression of brain cancer. The complement and coagulation cascades pathway, which is associated with protumorigenic phenotypes of immune cells, protection of tumor cells from immune attack,

development and metastasis of the tumor, has been reported in gliomas before.¹²⁻¹⁴ Involvement of disruption in this pathway in glioma is consistent with the low immunity of the disease nature. Malignant and invasive gliomas have been shown to have defects in the GABAergic synapse pathway, which is particularly apparent in grade 4 in our study, with decreased expressions.¹⁵ This demonstrates the significance of this route for the CNS and suggests a potential target for slowing tumor growth. Further research is needed to understand the mechanisms involved and potential therapeutic interventions.

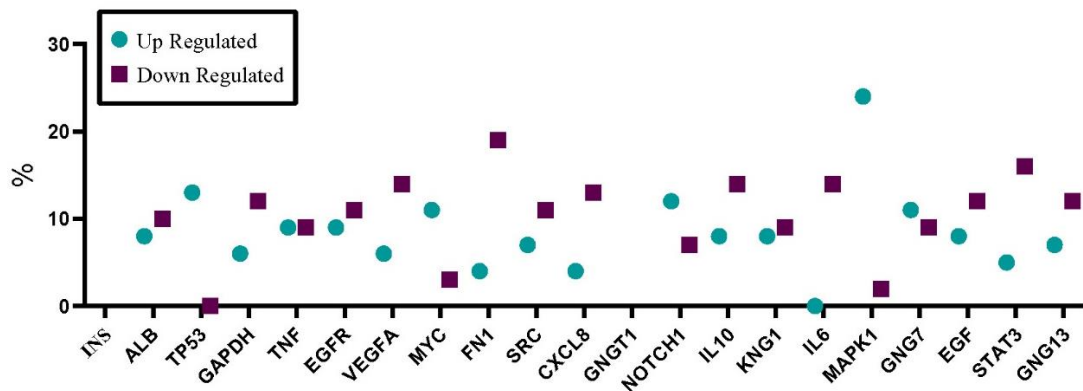
In our study, a total of 21 genes (*ALB*, *CXCL8*, *EGF*, *EGFR*, *FN1*, *GAPDH*, *GNG13*, *GNG7*, *GNGT1*, *IL10*, *IL6*, *INS*, *KNG1*, *MAPK1*, *MYC*, *NOTCH1*, *SRC*, *STAT3*, *TNF*, *TP53*, and *VEGFA*) were identified as hub genes, with the top 15 genes having the most connections at each grade. *INS* (Insulin) has been found to have the highest connection degree in each grade. *IL6* is implicated in high-grade gliomas, and this gene was found associated with poor survival. *STAT3* and poor survival-related *EGF* were detected with *IL6* at grade IV.

Insulin (*INS*) is known to promote cell growth in both healthy and cancerous cells. At physiological amounts, insulin interacts with its own receptor (IR) and triggers a number of intracellular signaling pathways, promoting both metabolic and mitogenic effects.¹⁶ IR plays a key role in metabolic regulation of glucose homeostasis.¹⁷ This homeostasis plays a critical role in the development and progression of GBM. Detection of the insulin gene as the

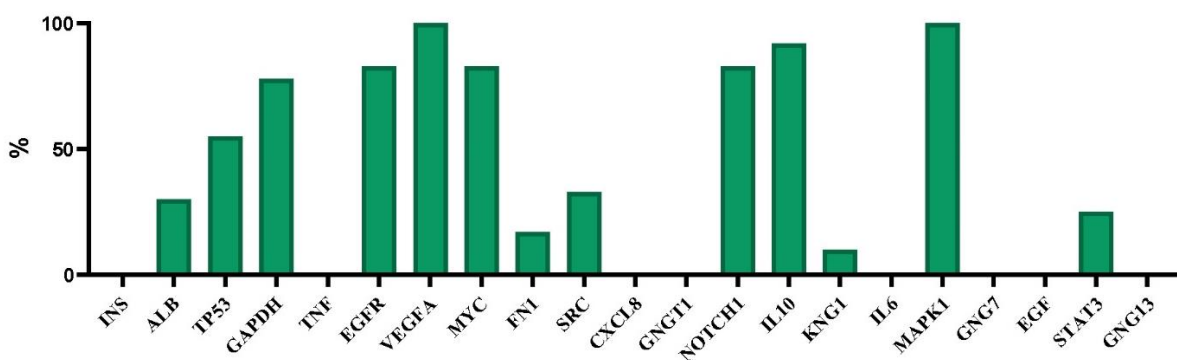
hub gene in our study correlates with the observation of increased expression of insulin and insulin growth-like factor receptors in GBM tumor tissues in previous studies. This suggests that insulin and the insulin pathway are very important for glioma development and progression.

IL6 is a multifunctional cytokine that regulates cell growth, differentiation, and cellular functions in many cell lineages.¹⁸ Recent evidence suggests that *IL-6* plays a crucial role in linking chronic inflammation to cancer by driving tumor initiation and subsequent growth and metastasis.¹⁹ GBM samples were found to contain significantly higher *IL6* protein levels compared to control brains, and higher *IL6* mRNA was linked to poor GBM patient survival.²⁰ The increased *IL6* expression detected in high-grade gliomas (grade III and IV) in our study is correlated with information in the literature. *STAT3* (signal transducer and activator of transcription 3), is an oncogenic transcription factor, is involved in various biological

processes, including angiogenesis, cell proliferation, survival, differentiation and metastasis. *STAT3* activation has been reported in breast, melanoma, and thyroid cancers, as well as GBM before.^{21,22} *STAT3* activation occurs through growth factor receptors including epidermal growth factor receptor (*EGFR*) and platelet-derived growth factor receptors (*PDGFR*), and interleukin-6 receptor (*IL-6R/gp130*), Janus family kinases (*JAK*), Abl family kinases, and Src family kinases.²³ The epidermal growth factor (*EGF*) plays a critical role in the processes of brain tissue healing and regeneration.²⁴ *EGF* and *EGFR* play critical roles in the GBM in a matrix metalloproteinase-9 (*MMP-9*)–dependent manner. The stimulatory effects of *EGF* on the expression and activity of *MMP-9* in GBM are mediated by *EGFR*.²⁵ *EGFR* is crucial for Human Cytomegalovirus (HCMV) binding, signaling, and host cell entry, also.²⁶



Survival rates based on expression changes of hub genes over a 3-year period.



Expression frequency of hub genes in glioma patients based on immunohistochemical data in HPA.

Figure 3. The protein levels of Hub genes in HPA data.

The human cytomegalovirus (HCMV) infection was revealed to be the most significant pathway in high-grade gliomas according to our KEGG analysis of hub genes. Human cytomegalovirus (HCMV) has been reported in medullablastoma, neuroblastoma, prostate, breast, colorectal and ovarian malignancies, as well as glioblastoma. More than 90d of malignant gliomas has

been linked to HCMV infection, according to recent clinical epidemiological data.²⁷ But, it remains unclear how the HCMV leads to the development of glioblastoma. Studies conducted in vitro indicate that HCMV may influence the etiology of glioblastoma by onco-modulation of host cellular pathways.²⁸ Culturing studies has shown that long-term infection of glioma cells with HCMV upregulate

key signaling mediators such *SOX2*, *STAT3*, *BMX*, and *IL-6*.²⁹ Price and Chiocca developed a malignant glioma mouse model via CMV-infection using mut3 mice to study the role of virus in cancer development and progression. Their results showed that CMV-infected mut3 mice developed grade III and IV astrocytomas spontaneously. Also, they demonstrated that MCV-infected mut3 mice had decreased overall survival compared to mock-infected Mut3 mice as a control.³⁰ In line with all these data, we can say that the HCMV infection pathway detected significantly in high-grade gliomas (grade III and grade IV) in our study is compatible with the literature. The results of our study emphasizes that the HCMV can cause high-grade glioma and can be potential immunotherapeutic target for further treatment strategies developing for the malignant gliomas.

In conclusion, this study identified DEGs between glial brain tumors and normal brain tissues by analyzing four microarray datasets. A total of 21 genes (*ALB*, *CXCL8*, *EGF*, *EGFR*, *FN1*, *GAPDH*, *GNG13*, *GNG7*, *GNGT1*, *IL10*, *IL6*, *INS*, *KNG1*, *MAPK1*, *MYC*, *NOTCH1*, *SRC*, *STAT3*, *TNF*, *TP53*, and *VEGFA*) were identified as hub genes, with the top 15 genes having the most connections at each stage. The development of gliomas may be influenced by these genes. The identification of new biomarkers may improve the clinical outcomes of Glial brain tumor patients and provide a comprehensive approach. These hub genes are potentially considered new biomarkers for prognosis in Glial brain tumors. They may contribute to the identification of Glial brain tumor patients and potentially facilitate monitoring of patient outcomes. The human cytomegalovirus (HCMV) infection was revealed to be the most significant pathway in high-grade gliomas in this study. The findings are expected to shed light on the progression and differentiation of glial brain tumors and provide insight for new clinical, epidemiological, and experimental studies to develop new therapeutic approaches. However, this study has limitations due to the limited sample size derived from microarray datasets and the lack of survival analysis on sufficient clinical samples. In future prospective studies including large sample size are essential to evaluate the clinical significance of the identified hub genes as biomarkers for Glial brain tumors.

Acknowledgements

This article was taken from the master's thesis entitled "investigation of gene expression changes and pathways that play a role in the progression of glial brain tumors" (2021).

Our research is based on open-source data and therefore does not require ethics committee approval for the study.

Conflict of Interest

The authors have no conflicts of interest to disclose.

Author contributions

Study idea/Hypothesis: DSA; Data preparation: NKS; Analysis: NKS, DSA; Literature review: NKS, DSA;

Manuscript writing: NKS, DSA; Critical Review: DSA.

Financial Disclosure

The authors declared that no financial support was received for this paper.

References




- Sharma P, Debinski W. Receptor-targeted glial brain tumor therapies. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11):3326. doi:10.3390/ijms19113326
- Ohgaki H, Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathol.* 2005;109(1):93-108. doi:10.1007/s00401-005-0991-y
- Hsu JB-K, Chang T-H, Lee GA, Lee T-Y, Chen C-Y. Identification of potential biomarkers related to glioma survival by gene expression profile analysis. *BMC Med Genomics.* 2019;11:7. doi:10.1186/s12920-019-0479-6
- Nazarenko I, Hede S-M, He X, et al. PDGF and PDGF receptors in glioma. *Ups. J. Med. Sci.* 2012;117(2):99-112. doi:10.3109/03009734.2012.665097
- Olson JJ, Barnett D, Yang J, Assietti R, Cotsonis G, James CD. Gene amplification as a prognostic factor in primary brain tumors. *Clin Cancer Res.* 1998;4(1):215-222.
- Shinojima N, Tada K, Shiraishi S, et al. Prognostic value of epidermal growth factor receptor in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer Res.* 2003;63(20):6962-6970.
- Sereika M, Urbanaviciute R, Tamasauskas A, Skiriute D, Vaitkiene P. GFAP expression is influenced by astrocytoma grade and rs2070935 polymorphism. *J Cancer.* 2018;9(23):4496-4502. doi:10.7150/jca.26769
- Her N-G, Oh J-W, Oh YJ, et al. Potent effect of the MDM2 inhibitor AMG232 on suppression of glioblastoma stem cells. *Cell Death Dis.* 2018;9(8):792. doi:10.1038/s41419-018-0825-1
- Yin W, Tang G, Zhou Q, et al. Expression profile analysis identifies a novel five-gene signature to improve prognosis prediction of glioblastoma. *Front. Genet.* 2019;10:419. doi:10.3389/fgene.2019.00419
- Tang Z, Li C, Kang B, Gao G, Li C, Zhang Z. Gepia: A web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(W1):W98-W102. doi:10.1093/nar/gkx247
- Pal J, Patil V, Kumar A, Kaur K, Sarkar C, Somasundaram K. Loss-of-function mutations in calcitonin receptor (calcr) identify highly aggressive glioblastoma with poor outcome. *Clin Cancer Res.* 2018;24(6):1448-1458. doi:10.1158/1078-0432.ccr-17-1901
- Guglietta S, Rescigno M. Hypercoagulation and complement: Connected players in tumor development and metastases. *Semin Immunol.* 2016;28(6):578-586. doi:10.1016/j.smim.2016.10.011
- Shi T, Chen J, Li J, Yang B, Zhang Q. Identification of key gene modules and pathways of human glioma through Coexpression Network. *J. Cell. Physiol.* 2018;234(2):1862-1870. doi:10.1002/jcp.27059
- Hu K, Li J, Wu G, et al. The novel roles of virus infection-associated gene CDKN1A in chemoresistance and immune infiltration of glioblastoma. *Aging.* 2021;13(5):6662-6680. doi:10.18632/aging.202519
- Yang Y, Ren L, Li W, et al. GABAergic signaling as a potential therapeutic target in cancers. *Biomed Pharmacother.* 2023;161:114410. doi:10.1016/j.biopha.2023.114410

16. Vigneri R, Sciacca L, Vigneri P. Rethinking the relationship between insulin and cancer. *Trends Endocrinol Metab.* 2020;31(8):551-560. doi:10.1016/j.tem.2020.05.004
17. Vigneri R, Goldfine ID, Frittitta L. Insulin, insulin receptors, and cancer. *J Endocrinol Invest.* 2016;39(12):1365-1376. doi:10.1007/s40618-016-0508-7
18. Menziani MC, Fanelli F, De Benedetti PG. Theoretical investigation of IL-6 multiprotein receptor assembly. *Proteins: Structure, Function, and Genetics.* 1997;29(4):528-548.
19. Fisher DT, Appenheimer MM, Evans SS. 'The two faces of IL-6 in the tumor microenvironment', *Seminars in Immunology.* 2014;26(1):38-47. doi:10.1016/j.smim.2014.01.008.
20. Wang H, et al. Targeting interleukin 6 signaling suppresses glioma stem cell survival and tumor growth. *Stem Cells.* 2009;27(10):2393-2404. doi:10.1002/stem.188.
21. Wang M, Zhang Y, Liu M, et al. Inhibition of STAT3 signaling as critical molecular event in HUC-MSCs suppressed Glioblastoma Cells. *J Cancer.* 2023;14(4):611-627. doi:10.7150/jca.77905
22. Chen Z, Yuan SJ, Li K, et al. Doxorubicin-polyglycerol-nanodiamond conjugates disrupt STAT3/IL-6-mediated reciprocal activation loop between glioblastoma cells and astrocytes. *J Control Release.* 2020;320:469-483. doi:10.1016/j.jconrel.2020.01.044
23. Kim JE, Patel M, Ruzevick J, Jackson CM, Lim M. STAT3 activation in glioblastoma: Biochemical and therapeutic implications. *Cancers.* 2014;6(1):376-395. doi:10.3390/cancers6010376
24. Pudełek M, Król K, Catapano J, Wróbel T, Czyż J, Ryszawy D. Epidermal growth factor (EGF) augments the invasive potential of human glioblastoma multiforme cells via the activation of collaborative EGFR/ROS-dependent signaling. *Int J Mol Sci.* 2020;21(10):3605. doi:10.3390/ijms21103605.
25. Chen XC, Wei XT, Guan JH, Shu H, Chen D. EGF stimulates glioblastoma metastasis by induction of matrix metalloproteinase-9 in an EGFR-dependent mechanism. *Oncotarget.* 2017;8(39):65969-65982. doi:10.18632/oncotarget.19622
26. Falcão, A.S. et al. Mechanisms of human cytomegalovirus infection with a focus on epidermal growth factor receptor interactions. *Rev Med. Virol.* 2017;27:6. doi:10.1002/rmv.1955.
27. Zhu X, Hu B, Hu M, Qian D, Wang B. Human cytomegalovirus infection enhances invasiveness and migration of glioblastoma cells by epithelial-to-mesenchymal transition. *Int J Clin Exp Pathol.* 2020;13(10):2637-2647.
28. Hochhalter CB, Carr, C, O'Neil B, Ware ML, Strong MJ. The association between human cytomegalovirus and Glioblastomas: A Review. *Neuroimmunol Neuroinflammation* 2017;4(6):96. doi:10.20517/2347-8659.2017.10.
29. Fiallos E, Judkins J, Matlaf L, et al. Human cytomegalovirus gene expression in long-term infected glioma stem cells. *PLoS One.* 2014;9(12):e166178. doi:10.1371/journal.pone.0116178.
30. Price RL, Chiocca EA. Modeling cytomegalovirus infection in mouse tumor models. *Front Oncol.* 2015;5:61. doi:10.3389/fonc.2015.00061.

Research Article | Araştırma Makalesi

CYTOCHEMICAL EVALUATION OF SPERM DNA INTEGRITY AND RELATION TO CONVENTIONAL SEMEN PARAMETERS IN IDIOPATHIC INFERTILE MEN

SPERM DNA BÜTÜNLÜĞÜNÜN SİTOKİMYASAL DEĞERLENDİRİLMESİ VE İDİOPATİK İNFERTİL ERKEKLERDE KONVANSİYONEL SEMEN PARAMETRELERİ İLE İLİŞKİSİ

  Sevilay Erimsah^{1*},  Yusufhan Yazir²

¹Istanbul Nisantasi University, Medical Faculty, Histology and Embryology Department, Istanbul, Türkiye. ²Kocaeli University, Faculty of Medicine, Histology and Embryology Department, Kocaeli, Türkiye.



ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to investigate the relationship between sperm DNA integrity and conventional semen parameters in idiopathic infertile men using cytochemical methods.

Methods: Sperm DNA integrity was evaluated by using acidic aniline blue staining specifies nuclear chromatin condensation and TUNEL method identifies sperm DNA breaks in 40 idiopathic infertile men. Stained sperm heads on smears were counted as TUNEL+ and aniline blue+, showing sperm DNA damage. The findings were used to determine the correlation between rutin semen parameters and sperm DNA integrity tests results.

Results: There was a significant negative correlation between the percentage of aniline blue+ staining and sperm morphology and progressive motility. And a negative correlation was observed between the percentage of TUNEL+ staining and normal morphology and progressive motility ($p<0.01$), where no correlation was found regarding sperm concentration and sperm total motility.

Conclusion: Methods such as acidic aniline blue and TUNEL can show structural defects of sperm independent of conventional semen parameters. Although these methods are associated with some semen parameters, their using especially for the idiopathic infertile patient group may contribute positively to the success of assisted reproductive techniques.

Keywords: Sperm, chromatin condensation, DNA fragmentation, TUNEL, aniline Blue

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı idiyopatik infertil erkeklerde sperm DNA bütünlüğü ile konvansiyonel semen parametreleri arasındaki ilişkinin sitokimyasal yöntemlerle araştırılmasıdır.

Yöntem: 40 idiyopatik infertilitesi olan bireyde, nükleer kromatin yoğunlaşmasını belirten asidik anilin mavisi boyama yöntemi ve sperm DNA kırıklarını belirten TUNEL yöntemi kullanılarak sperm DNA bütünlüğü değerlendirildi. Yayma preparatlarında, sperm DNA hasarı gösteren TUNEL+ ve anilin blue+ boyalı sperm başları sayıldı. Bulgular, rutin semen parametreleri ile sperm DNA bütünlük testleri sonuçları arasındaki ilişkiyi belirlemek için kullanıldı.

Bulgular: Anilin mavisi+ boyanma oranı ile sperm morfolojisi ve progresif hareketliliği arasında anlamlı bir negatif korelasyon izlendi. TUNEL+ boyanma oranı ile normal morfoloji ve ilerleyici hareketlilik arasında negatif bir korelasyon gözlemlendi ($p<0,01$), ancak sperm konsantrasyonu ve sperm toplam hareketliliği ile ilgili herhangi bir korelasyon bulunamadı.

Sonuç: Asidik anilin mavisi ve TUNEL gibi yöntemler, geleneksel semen parametrelerinden bağımsız olarak spermin yapısal kusurlarını gösterebilmektedir. Bu yöntemler bazı semen parametreleri ile ilişkili olsa da özellikle idiyopatik infertil hasta grubu için kullanılması yardımcı üreme tekniklerinde başarıya olumlu katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Sperm, kromatin yoğunlaşması, DNA fragmentasyonu, TUNEL, anilin mavisi

*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Sevilay Erimsah; Istanbul Nisantasi University, Medical Faculty, Histology and Embryology Department, Istanbul, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (505) 629 85 60 e-mail/e-posta: sevilayerimsah@yahoo.com

Submitted/Başvuru: 14.08.2023

Accepted/Kabul: 18.09.2023

Published Online/Online Yayın: 21.10.2023

Introduction

Worldwide, moreover 70 million couples experience infertility and need assisted reproductive technology (ART).¹ Current data suggests that the male factor is one-third of these infertility disorders.² Conventional semen analysis including seminal volume, pH, sperm count, sperm motility, and morphology is still the most essential initial step in male factor infertility.³ However, these parameters provide information on the penetration ability of the sperm and embryo development but have limited capacity to determine the underlying changes to molecular and cellular processes that play a crucial role in reproductive functions.^{4,5} Some determinant sperm parameters such as apoptosis and chromatin condensation are overlooked in routine semen analysis.^{6,7}

According to the results of some studies, sperm DNA damage is observed in men classified as idiopathic infertility with normal semen parameters.⁸ Therefore, routine semen analysis in male infertility is not sufficient to make a definitive diagnosis.^{9,10} For the patient group with idiopathic infertility, comprehensive sperm evaluation is a priority for successful treatment. Sperm chromatin condensation is decisive for the fertilization ability of sperm. In addition, increased sperm DNA fragmentation (SDF) reduces fertilization rates.¹¹ Acidic aniline blue is a widely used method in studies to determine sperm chromatin condensation.^{12,13} Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) is also used as a method based on detecting the breaks in sperm DNA structure.¹⁴ In some studies, the relationship between sperm chromatin condensation and sperm parameters has been investigated.^{15,16,17}

The aim of this study is to evaluate sperm DNA integrity with cytochemical methods and investigate the relation to semen parameters in semen samples of idiopathic infertile men.

Methods

Subjects and Evaluation of Standard Sperm Parameters

This study was performed on semen samples of men with idiopathic infertility (n=40, aged 29-55 years) attending Bolu Abant İzzet Baysal University Hospital for semen analysis. After giving detailed information about the study, informed consent forms were signed. The study was approved by the Ethics Committee of Clinical Research (2019/13) of Bolu Abant İzzet Baysal University, Medical Faculty, Bolu, Turkey. The semen samples were obtained by masturbation, after 2-7 days of sexual abstinence and allowed to liquefy for 30 minutes at room temperature. Each liquefied semen sample was divided into three fractions, for analyzing standard sperm parameters and assessment of sperm chromatin condensation and DNA fragmentation.

Standard sperm parameters were evaluated according to the World Health Organization (WHO) Criteria including sperm concentration, motility, and morphology.¹⁸

Morphology assessments were done according to strict criteria.¹⁹ Semen smears were made on slides for Papanicolaou staining and considered morphologically with immersion objective.

Assessment of Chromatin Condensation by Aniline Blue

Aniline blue staining was used to evaluate sperm chromatin condensation on semen samples as described by Hammadeh et al.²⁰ Raw semen samples were washed with PBS followed by centrifugation at 300 g for 10 min. Then, the washed samples were smeared and dried. Then, each smear was fixed in %3 glutaraldehyde in PBS for 30 minutes and stained with 5% aqueous acidic aniline blue (pH 3.5) solution for 5 min. After the smears were washed with distilled water, mounted slides were evaluated for sperm chromatin condensation, and a total of 200 spermatozoa were counted with immersion objective (100x magnification) and scored. The spermatozoa unstained or stained light blue scored as AB-negative (normal chromatin) and stained blue scored as AB-positive (abnormal chromatin). The percentage of AB-positive staining at 200 spermatozoa was calculated for each smear.

Assessment of Sperm DNA Fragmentation by TUNEL Assay

In this study, sperm DNA fragmentation (SDF) was evaluated by TUNEL assay using the In Situ Cell Death Detection Kit (Merck Millipore, Darmstadt, Germany). Raw semen samples were washed with Pbs followed by centrifugation at 300 g for 10 min. Then, the washed samples were smeared and dried. Then each smear was fixed with methanol for 30 minutes following the TUNEL (Millipore) staining protocol. The mounted slides were evaluated for sperm chromatin condensation, and a total of 200 spermatozoa were counted with immersion objectives and scored. The spermatozoa stained brown scored as TUNEL-positive and, unstained as TUNEL-negative. The percentage of TUNEL-positive sperm was calculated by counting 200 spermatozoa for each smear. For each smear, the percentage of TUNEL-positive staining at 200 spermatozoa was calculated.

Statistical Analysis

The data of sperm DNA integrity and parameters were evaluated with the Kolmogorov-Smirnov test in terms of homogeneity and normal distribution, and the results were expressed as mean \pm standard deviation, median, minimum, and maximum values. The Pearson correlation between semen parameters and DNA integrity was analyzed. Statistical analysis was performed by using the SPSS 21 version (IBM, Armonk, New York, United States), and a $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

The findings of conventional semen parameters, acidic aniline blue+, and TUNEL+ staining, in which the DNA structure of idiopathic infertile patients is evaluated, are

shown in Table 1. TUNEL test ($46\pm 23.91\%$) detected the rates of sperm with DNA breaks and sperm with defects in chromatin condensation ($47\pm 24.76\%$) with acidic aniline blue staining (Figure 1). When the relationship between sperm DNA integrity and conventional sperm parameters was investigated; a significant negative correlation between aniline blue staining and sperm morphology and progressive motility was observed

($p<0.01$). Similarly, a negative correlation was observed between TUNEL+ staining and sperm morphology and progressive motility ($p<0.01$). However, there was a nonsignificant correlation between sperm DNA integrity, concentration, and total motility. In addition, a significant positive correlation was observed between the results of AB+ and TUNEL+ staining ($p<0.01$).

Table 1. Descriptive statistical values of semen parameters and sperm DNA integrity tests

Parameters	Idiopathic infertile Mean \pm SD	men (n=40) Median (min-max)
Age	37.48 \pm 6.05	35 (29-55)
Sperm Concentration (x10 ⁶ ml)	49.67 \pm 14.39	45 (39-90)
Normal Morphology (%)	14 \pm 6.9	12 (4-27)
Total Motility (%)	67.27 \pm 16	60 (40-95)
Progressive motility (%)	42 \pm 58	39 (29-71)
Asidic aniline blue + (%)	47 \pm 24.76	42,5 (7-98)
TUNEL+ (%)	46 \pm 23.91	37 (13-95)

SD: Standart Deviation, Min: Minimum, Max: Maximum

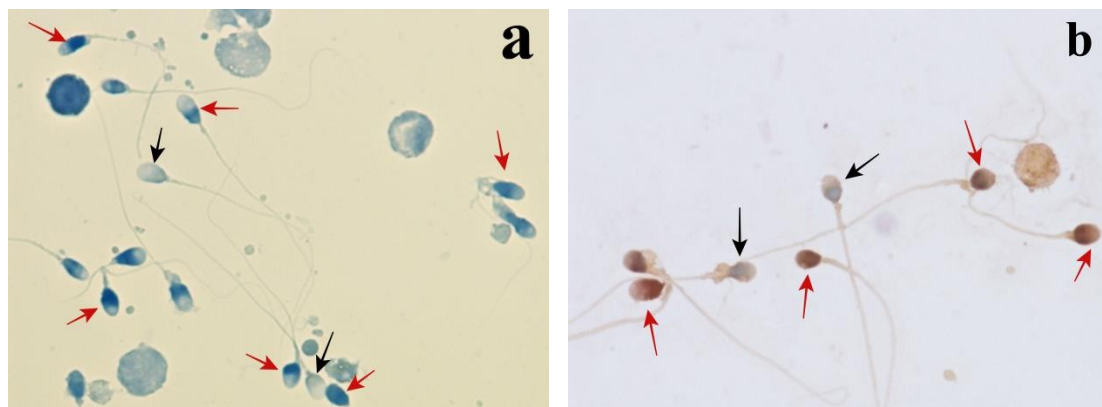


Figure 1. Sperm cells stained with acidic aniline blue and TUNEL method; **a.** AB-negative spermatozoa (condense chromatin) marked with black arrow and AB-positive spermatozoa marked with red arrow, **b.** TUNEL-negative spermatozoa stained brown marked with black arrow and TUNEL-positive spermatozoa marked with red arrow.

Discussion

Idiopathic male infertility is a condition that can not be determined exactly. Some studies in recent years have suggested that there are significant defects in sperm DNA integrity in men with idiopathic male infertility.²¹ This suggests that one of the potential underlying causes of male infertility may be damage to sperm DNA integrity. Sperm DNA integrity refers to whether the genetic material of the sperm cell is preserved and any damage that occurs in the genetic material.

In our study, we detected sperm DNA integrity in patients with normal semen parameters with male infertility according to the results of routine spermiogram analysis. Although semen parameters such as concentration, motility, and morphology were normal values, a high percentage of sperm with abnormal chromatin

condensation was observed. In many studies, male infertility can be seen with chromatin condensation over 30%.^{6,22} A higher percentage of the smears from idiopathic infertile men was stained by aniline blue ($47\pm 24,76\%$). It is very difficult to obtain sufficient information about sperm structure with standard sperm parameters. Acidic aniline blue staining is a method that provides information about sperm chromatin condensation during the development of sperm. It is widely used in studies due to easy and quick access to information.^{10,12,13} Insufficient packaging of the paternal genome during the maturation process of the sperm also reduces the fertilization ability of the sperm and also embryo development and health in the future.²³ The high rate of aniline blue+ staining in this patient group actually reports the scarcity of sperm with fertilization ability. This information allows us to make the selection of sperm in the clinic by considering this information.

In addition, the TUNEL+ sperm percentage was high in the semen samples. This information informs us that there are high rates of DNA breaks in patients with idiopathic infertility. With these methods, which are frequently used to determine sperm DNA integrity in studies, we were able to determine the proportion of sperm with normal standard semen parameters but with impaired DNA structure (Table 1). On the other hand, our results showed a negative correlation between normal morphology and TUNEL+ staining and AB+ staining, similar to some studies.^{12,24} However, unlike some studies, a high negative correlation was observed between the rate of progressively motile sperm and positive staining rates in our study.²⁴ We found that the concentration and total motile sperm ratio used in standard semen analysis were not related to DNA integrity. Similarly, some studies show a correlation between morphology and sperm chromatin structure.^{8,17} In this study, we evaluated sperm chromatin condensation and DNA fragmentation, considered as an independent measure of sperm quality, which can provide new approaches to diagnosis and treatment better than conventional sperm parameters (concentration, morphology, and motility). A negative correlation has been found between some semen parameters and sperm DNA integrity as well as, there was no relationship between other semen parameters. These relationships contributed to new information about the source of DNA damage.

Finally, our study shows that standard semen parameters alone are not sufficient for the idiopathic infertile patient group, and detailed analyzes including sperm DNA structure are needed to determine a successful treatment in the clinical approach.

Compliance with Ethical Standards

Bolu Abant Izzet Baysal University Faculty of Medicine Ethics Committee approved this study (decision number 2019/13; date: February 12, 2019). Informed consent was obtained from all participants.

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Author Contribution

Authors contributed equally to this work.

Financial Disclosure

Financial disclosure none.

References

- Ombelet W. Global access to infertility care in developing countries: a case of human rights, equity and social justice. *Facts Views Vis Obgyn.* 2011;3(4):257-266.
- Kumar N, Singh AK. Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. *J Hum Reprod Sci.* 2015;8(4):191-196. doi:10.4103/0974-1208.170370
- Cooper TG, Noonan E, von Eckardstein S, et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update.* 2010;16(3):231-245. doi:10.1093/humupd/dmp048
- Wang C, Swerdloff RS. Limitations of semen analysis as a test of male fertility and anticipated needs from newer tests. *Fertil Steril.* 2014;102(6):1502-1507. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.10.021
- Oehninger S, Ombelet W. Limits of current male fertility testing. *Fertil Steril.* 2019;111(5):835-841. doi:10.1016/j.fertnstert.2019.03.005
- Hammadeh ME, Zeginiadev T, Rosenbaum P, Georg T, Schmidt W, Strehler E. Predictive value of sperm chromatin condensation (aniline blue staining) in the assessment of male fertility. *Arch Androl.* 2001;46(2):99-104.
- Khalili MA, Nazari S, Dehghani-Firouzabadi R, et al. Comparing the roles of sperm chromatin integrity and apoptosis in intrauterine insemination outcomes of couples with mild male and female factor infertility. *J Reprod Infertil.* 2014;15(1):35-40.
- Saleh RA, Agarwal A, Nelson DR, et al. Increased sperm nuclear DNA damage in normozoospermic infertile men: a prospective study. *Fertil Steril.* 2002;78(2):313-318. doi:10.1016/s0015-0282(02)03219-3
- Agarwal A, Allamaneni SS. Sperm DNA damage assessment: a test whose time has come. *Fertil Steril.* 2005;84(4):850-853. doi:10.1016/j.fertnstert.2005.03.080
- Softness KA, Trussler JT, Carrasquillo RJ. Advanced sperm testing. *Curr Opin Urol.* 2020;30(3):290-295. doi:10.1097/MOU.0000000000000761
- Aitken RJ, De Iulius GN. On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa. *Mol Hum Reprod.* 2010;16(1):3-13. doi:10.1093/molehr/gap059
- Franken DR, Franken CJ, de la Guerre H, de Villiers A. Normal sperm morphology and chromatin packaging: comparison between aniline blue and chromomycin A3 staining. *Andrologia.* 1999;31(6):361-366. doi:10.1046/j.1439-0272.1999.00290.x
- Irez T, Sahmay S, Ocal P, et al. Investigation of the association between the outcomes of sperm chromatin condensation and decondensation tests, and assisted reproduction techniques. *Andrologia.* 2015;47(4):438-447. doi:10.1111/and.12286
- Ribas-Maynou J, García-Peiró A, Fernández-Encinas A, et al. Comprehensive analysis of sperm DNA fragmentation by five different assays: TUNEL assay, SCSA, SCD test and alkaline and neutral Comet assay. *Andrology.* 2013;1(5):715-722. doi:10.1111/j.2047-2927.2013.00111.x
- Atshan M, Kakavand K, Hosseini SH, Sadighi Gilani MA, Mohseni Meybodi A, Sabbaghian M. Evaluation of sperm DNA fragmentation and chromatin structure in infertile men with immotile short-tail sperm defect. *Andrologia.* 2020;52(1). doi:10.1111/and.13445
- Hologlu D, Gunes S, Asci R, Henkel R, Guvenc T. Association among sperm chromatin condensation, sperm DNA fragmentation and 8-OHdG in seminal plasma and semen parameters in infertile men with oligoasthenoteratozoospermia. *Andrologia.* 2022;54(1):e14268. doi:10.1111/and.14268
- Salsabili N, Mehrsai A, Jalalizadeh B, Pourmand G, Jalaie S. Correlation of sperm nuclear chromatin condensation staining method with semen parameters and sperm functional tests in patients with spinal cord injury,

- varicocele, and idiopathic infertility. *Urol J.* 2006;3(1):32-37.
18. Sánchez-Álvarez J, Cano-Corres R, Fuentes-Arderiu X. A Complement for the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen (First Edition, 2010). *EJIFCC.* 2012;23(3):103-106.
 19. Menkveld R, Stander FS, Kotze TJ, Kruger TF, van Zyl JA. The evaluation of morphological characteristics of human spermatozoa according to stricter criteria. *Hum Reprod.* 1990;5(5):586-592.
doi:10.1093/oxfordjournals.humrep.a137150
 20. Hammadeh ME, al-Hasani S, Stieber M, et al. The effect of chromatin condensation (aniline blue staining) and morphology (strict criteria) of human spermatozoa on fertilization, cleavage and pregnancy rates in an intracytoplasmic sperm injection programme. *Hum Reprod.* 1996;11(11):2468-2471.
doi:10.1093/oxfordjournals.humrep.a019139
 21. Aitken RJ, Baker MA, Sawyer D. Oxidative stress in the male germ line and its role in the aetiology of male infertility and genetic disease. *Reprod Biomed Online.* 2003;7(1):65-70.
doi:10.1016/s1472-6483(10)61730-0
 22. Agarwal A, Said TM. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Hum Reprod Update.* 2003;9(4):331-345.
doi:10.1093/humupd/dmg027
 23. Muriel L, Garrido N, Fernández JL, et al. Value of the sperm deoxyribonucleic acid fragmentation level, as measured by the sperm chromatin dispersion test, in the outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2006;85(2):371-383.
doi:10.1016/j.fertnstert.2005.07.1327
 24. Sadek A, Almohamdy AS, Zaki A, Aref M, Ibrahim SM, Mostafa T. Sperm chromatin condensation in infertile men with varicocele before and after surgical repair. *Fertil Steril.* 2011;95(5):1705-1708.
doi:10.1016/j.fertnstert.2011.01.008

Research Article | Araştırma Makalesi

PREGNANT WOMEN'S BACKGROUND KNOWLEDGE, EXPECTATIONS AND ATTITUDE ABOUT SECOND TRIMESTER DETAILED ULTRASOUND

GEBELERİN İKİNCİ TRİMESTER AYRINTILI ULTRASONOGRAFİ MUAYENESİ ÖNCESİ BİLGİ DÜZEYLERİ, BEKLENTİ VE TUTUMLARI

✉  Yasemin Doğan^{1*},  Ercan Koçkaya²,  Müzeyyen Dilşad Eser²,  Ayşe Seda Daryal²

¹Kocaeli University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Perinatology Unit, Kocaeli, Türkiye. ²Kocaeli University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Perinatology Unit, Kocaeli, Türkiye.



ABSTRACT

Objective: Our objective is to investigate the pregnant women's background knowledge, expectations, emotional status and attitudes about detailed ultrasonography performed between 18-24 weeks of gestation.

Methods: A cross-sectional survey study with a consecutive sampling method was conducted with the pregnant women between 18-24 weeks of gestation admitted to the perinatology unit at a tertiary referral center. Questionnaire was designed for the study and it was mainly composed of closed questions investigating pregnant women's sociodemographic data, obstetric history, background information about ultrasound, purpose&expectations, opinion about invasive diagnostic testing and termination of pregnancy in fetal anomalies and emotional status. Data was analyzed using descriptive statistics.

Results: Two hundred fifty seven pregnant women were enrolled to the study. Confirmation of health of the baby was the main motive for having an ultrasound scan at second trimester. One hundred twenty-five (48.6%) and 77 (30%) women believed that all congenital anomalies and all genetic diseases are detectable by second trimester ultrasound respectively. Ultrasonography was regarded as a safe imaging method for the fetus by 162 (63%) women. Multiparous women did not have a better background knowledge about ultrasound scan than nulliparous. In the case of a severe fetal anomaly, 193 (75.1%) women said they would continue pregnancy. Overall number of women that felt anxious prior to the ultrasound scan decreased and their feelings changed in a positive way following ultrasound examination ($p < 0.001$).

Conclusion: Adequate knowledge of pregnant women about what exactly second trimester ultrasound involves in addition to false positives and false negatives is of paramount importance. More efficient strategies for patient education has to be developed in order to enhance awareness about second trimester ultrasound's purpose, safety and limitations.

Keywords: Second trimester ultrasound, congenital anomaly, genetic disease, safety of ultrasound

ÖZ

Amaç: Amacımız gebe kadınların 18-24. gebelik haftaları arasında yapılan ikinci trimester ayrıntılı ultrasonografi ile ilgili temel bilgi düzeylerini, beklentilerini, tutumlarını ve duygularını araştırmaktır.

Yöntem: Ardışık örnekleme yöntemi ile 18-24. gebelik haftaları arasında tersiyer merkez perinatoloji ünitesine başvuran gebelerde kesitsel bir anket çalışması gerçekleştirildi. Anket çalışma için tasarlandı ve gebe kadınların sosyodemografik verileri, obstetrik öyküleri, ultrason ile ilgili temel bilgileri, amaç ve beklentileri, fetal anomali varlığında invazif tanı testi ve gebeliğin sonlandırılması ile ilgili görüşleri ve duygularını araştıran çoğu çoktan seçmeli sorulardan oluşuyordu. Verilerin analizi tanımlayıcı istatistik kullanılarak yapıldı.

Bulgular: Çalışmaya ikiyüz elli yedi gebe katıldı. Bebeğin sağlığının doğrulanması ikinci trimester ultrason taraması yaptırmak istemelerinin ana sebebi idi. Sırasıyla 125 (%48,6) ve 77 (%30) gebe tüm konjenital anomalilerin ve tüm genetik hastalıkların ikinci trimester ultrason tarafından tespit edilebileceğini düşünüyordu. Yüz altmış iki gebe (%63) ultrasonografiyi fetus açısından zararsız bir görüntüleme metodu olarak kabul etmekteydi. Multipar gebelerin ultrasonla ilgili temel bilgi düzeyi nulliparlardan daha iyi değildi. Yüz doksan üç kadın (%75,1) ağır fetal anomali varlığında gebeliğine devam edeceğini söyledi. Ultrason taraması öncesi endişeli olan gebe sayısı ultrasonografi muayenesi sonrası azaldı ($p < 0,001$) ve duyguları olumlu yönde değişti.

Sonuç: Gebelerin ikinci trimester ultrasonografinin tam olarak neyi kapsadığı, yanlış pozitif ve yanlış negatiflikleri ile ilgili yeterli bilgi sahibi olması oldukça önemlidir. İkinci trimester ultrasonun amacı, güvenilirliği ve kısıtlılıkları ile ilgili farkındalığı artırmak için daha etkili eğitim stratejileri geliştirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: İkinci trimester ultrason, konjenital anomali, genetik hastalık, ultrasonun güvenilirliği

*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Yasemin Doğan; Kocaeli University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Kocaeli, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (262) 303 75 75 e-mail/e-posta: perinatolojidr@gmail.com

Submitted/Başvuru: 15.08.2023

Accepted/Kabul: 24.09.2023

Published Online/Online Yayın: 21.10.2023

Introduction

Second trimester detailed ultrasound scan has become an essential part of routine obstetric care in the current era. It involves assessment of fetal biometric measurements, fetal cardiac activity, number of fetuses and chorionicity in multiple pregnancies, fetal anatomy, gestational age, placental localization and amniotic fluid volume.¹

The prevalence of major congenital anomalies which is a major contributor to neonatal morbidity and mortality is approximately 2%.²⁻⁴ The detection rate of major structural anomalies in second trimester is 44-61% in various studies.⁵⁻⁷ However, pregnant women may have unrealistic expectations and demands unless they are well informed about ultrasound examination. The technical factors responsible for the sensitivity of ultrasound are image quality of the device and experience of the sonographer, patient factors are, body mass index, fetal position and gestational age.⁸ Nonvisualisation of anomalies during scanning may lead to erroneous assumption of guarantee of a healthy baby without a birth defect. Previous studies emphasize that the background knowledge of the parents is insufficient frequently.⁹⁻¹¹ In this context, explanation of diagnostic capabilities and limitations of ultrasound comprehensively to the family before the examination is an important point.

On the other hand, despite visualisation of unborn baby leads to positive emotions and increase attachment, prospective parents may encounter unexpected findings and consequently have to give tough decisions such as invasive genetic testing or termination of pregnancy. Studies have shown some women may feel stressed and anxious prior to the ultrasound scan owing to the possibility of detecting or missing malformations and safety concerns.^{10, 11} But after a normal scan result anxiety decreases.¹²

Our goal is to investigate the pregnant women's background knowledge, expectations, emotional status and attitudes about detailed ultrasonography performed between 18-24 weeks of gestation in our clinic.

Methods

A cross-sectional survey study with a consecutive sampling method was conducted in Kocaeli University Hospital Perinatology Unit between December 2022 and February 2023. On arrival for their scheduled second trimester ultrasound scan between 18- 24 weeks of gestation, all eligible women were given written information on the study and a consent form prior to examination. Women willing to participate completed a self-administered questionnaire in the unit immediately before and after the scan. The questionnaire was designed specifically for the study, based on the statements of pregnant women in previous ultrasonographic examinations. It was pretested on ten pregnant women to verify the questions were clear and

apprehensible. It consisted of 23 questions and most of them were closed questions (Appendix). Covered topics were sociodemographic data, obstetric history, opinion about invasive testing and termination of pregnancy, background information about ultrasound, purpose&expectations and emotional status. All of the questions were asked before, but after ultrasound scan just the question about their feeling was asked again. It was completed anonymously without presence of a researcher before the verbal and written counseling about second trimester ultrasonography in the unit. However, if they fail to understand, participants could raise any questions to the staff. Authorization for the study was granted by the Kocaeli University Ethics Committee.

Pregnant women followed up in our unit for a known fetal anomaly or maternal complication, who were out of 18–24 weeks of gestation, who did not understand Turkish, and who did not accept to participate were excluded.

Sociodemographic data and obstetric data included; age, educational attainment, employment, gravidity, parity, spontaneous abortion, dilatation& curettage, live birth history, previous stillbirth, mode of delivery, gestational age, smoking habit, presence of consanguineous marriage, previous baby with congenital anomaly, second trimester ultrasound in previous pregnancy. The screening tests for Down syndrome in the current pregnancy was noted. The purpose and expectations of women about the ultrasound scan was evaluated with one question; 'Why do you want to have a second trimester ultrasonographic scan?', more than one choice could be selected from several statements. In two hypothetical questions, their opinion about invasive testing and termination of pregnancy if severe fetal anomaly was detected in ultrasound were asked, there were three alternative answers; "Yes", "No" and "Unsure". Nulliparous and multiparous women were compared for each topic.

Participants were also asked about how they had received information on the second trimester ultrasound, duration of examination, at what gestational ages and by whom it is performed, whether it has the ability to detect all congenital anomalies and all genetic diseases of the baby, whether it is hazardous to the baby and if they knew which organs were scanned.

Emotional status of the women were questioned immediately before and after the examination, alternative responses were; "Excited" "Anxious" "Happy" and "Comfortable".

Power analysis showed a sample size of 208 participants to achieve an effect size (w) of 0,25 using a 1 degree of freedom Chi-square test with a significance level of 0.05. Considering the possibility of data loss of 20%, it was planned to recruit minimum 250 women.

Statistical Analysis

Data were analysed using IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) program. Normality is evaluated using Kolmogorov Smirnov test. Continuous variables with

normal distribution were presented as mean±standard deviation, for nonnormally distributed data median (Interquartile range-IQR) was presented. *Categorical* variables were represented by *frequency* and percentage. Differences between groups with normal distribution were calculated by independent t test. Chi square test was used for categorical variable group comparison, Mc Nemar test was used for before after emotional comparison. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results

The study consisted of 257 women that accepted to participate at the time of second trimester ultrasound in Kocaeli University Hospital Perinatology Unit. Mean maternal age was 29.8 ± 5.4 years. Consanguinity was found in 18 couples.

Table 1 displays the sociodemographic and obstetric data of the patients. The number of multiparous patients were 132 (51.4%). Six women had a history of stillbirth, nineteen patients had a history of congenital anomaly in the prior pregnancy. Second trimester ultrasound was performed in 92 patients in the previous pregnancy, resulting in an overall rate of 35.8%. Nulliparous women were younger ($p < 0.001$), had been employed more ($p = 0.004$) and had bachelor’s degree more ($p < 0.001$) than multiparous women.

Table 1. Demographic and obstetric data of the participants

	Median (IQR)/n (%)
Gestational age (median, weeks)	21 (20- 22)
Nulliparous	125 (48.6%)
Multiparous	132 (51.4%)
Fetal anomaly in previous pregnancy	
Yes	19 (7.4%)
No*	238 (92.6%)
Consanguineous marriage	
Yes	18 (7%)
No	239 (93%)
Screening tests for Down syndrome	168 (65.4%)
First trimester combined test	135 (52.5%)
Triple test	6 (2.4%)
Quadruple test	18 (7%)
Cell free fetal DNA	9 (3.5%)
Smoker	
Yes	26 (10.1%)
No	231 (89.9%)
Education	
≤High school	122 (47.5%)
≥University	135 (52.5%)
Working status	
Employee	89 (34.6%)
Unemployed	169 (65.4%)

IQR:Interquartile range, *Includes nulliparous women

Eightynine women (34.6%) did not have screening tests for Down syndrome in the current pregnancy, 135 (52.5%) had first trimester screen, 18 (7%) had quadruple, six (2.4%) had triple test, nine (3.5%) had cell free fetal DNA test. The results of the screening tests showed high risk for Down syndrome in 19 patients. Nulliparous women preferred to have screening tests

more ($p < 0.001$), but multiparous women had increased risk for Down syndrome more ($p = 0.0034$).

For pregnant women, confirmation of health of the baby was the main motive for having an ultrasound scan at second trimester. The reasons why pregnant women consider fetal ultrasound are displayed in detail in Figure 1. Except for evaluation of increased risk for Down syndrome, the purposes of the nulliparous and multiparous women considering second trimester ultrasound scan were not different statistically.

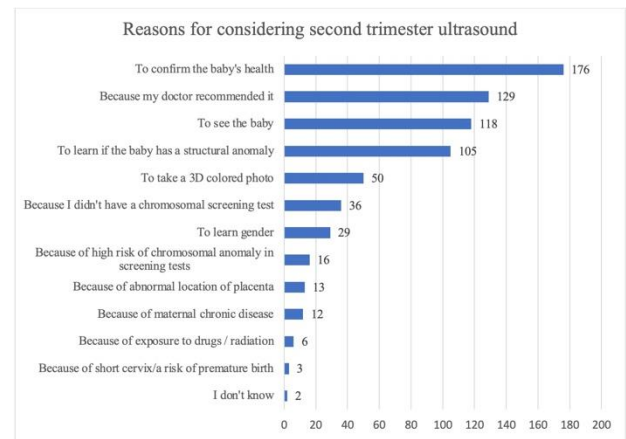


Figure 1. Reasons of pregnant women for considering second trimester ultrasound. (x axis shows absolute number of women)

The most common source of information on second trimester ultrasound was their obstetrician (79.8%), previous experience (14%), social media (2.3%), friends, relatives and neighbours (3.9%). Eighty five percent said second trimester ultrasound is performed between 18-24 gestational weeks, 75% thought it would take approximately 30 minutes, 71% said it is performed by maternal fetal medicine specialists. Thirty eight women (14.7%) stated that they did not know specifically which organs and systems are scanned.

One hundred twenty-five (48.6%) patients thought that all congenital anomalies can be detected by second trimester ultrasound, 34 (13.2%) had the opposite idea and the remaining 98 did not have any idea (Table 2). Thirty percent of the patients (n=77) believed that the ultrasound can detect all genetic diseases, 18.3% thought vice versa, 51.7% did not know. Of the 257 participants, 162 (63%) thought ultrasound does not cause any harm to the baby, 11 (4.3%) said its harmful. At least one of the latter three questions about background knowledge were correctly answered by 224 (87.1%) women. About limitations and safety of ultrasound, all answers were true in 14 (5.4%), on the contrary, none of the responses were accurate in 33 (12.8%). Background knowledge of nulliparous and multiparous women was not different except more multiparous women stated that they knew which organs are scanned by ultrasound ($p = 0.041$).

Table 3 shows opinion of pregnant women about invasive genetic testing and termination of pregnancy if fetal anomaly is detected.

Table 2. Background knowledge about ultrasound’s limitations and safety

	Yes	No	Unsure
Do you think second trimester detailed ultrasonography can detect all structural anomalies?	125 (48.6%)	34 (13.2%)	98 (38.1%)
Do you think second trimester detailed ultrasonography can detect all genetic diseases?	77 (30.0%)	47 (18.3%)	133 (51.7%)
Do you think ultrasonography can cause any harm to the baby?	11 (4.3%)	162 (63.0%)	84 (32.7%)

Sixty-seven patients (26.1%) stated that they would opt for an invasive genetic testing if major anomaly is detected, 72 (28%) would decline, 118 (45.9%) were unsure. In case of a severe anomaly, eleven (4.3%) women would select termination of pregnancy, 193 (75.1%) would continue and 53 (20.6%) were unsure. Sixty-nine patients (26.8%) would accept neither invasive testing nor termination in the probable fetal anomaly. Multiparous women tend to decline invasive genetic testing more (p=0.009) but their opinion about interruption of pregnancy was not statistically different from nulliparous women (p=0.231).

Table 3. Opinion about invasive genetic testing and termination of pregnancy if fetal anomaly is detected.

	Yes	No	Unsure
If a fetal anomaly is found in the ultrasound examination, would you consider having a genetic examination?	67 (26.1%)	72 (28%)	118 (45.9%)
If a severe fetal anomaly is found in the ultrasound examination, would you consider termination of pregnancy?	11 (4.3%)	193 (75.1%)	53 (20.6%)

Answers about patients’ emotional status are shown in Figure 2. After ultrasound the number of women that had chosen the option ‘excited’ decreased (p< 0.001), consequently participants expressing themselves as ‘happy’ increased (p< 0.001). Sixty patients (23%) felt anxious prior to the examination. When these patients were evaluated further; 15 were referred for fetal anomaly or placental abnormalities, nine had high risk for Down syndrome in screening tests, eight had a history of congenital anomaly in a previous child, 20 patients did not have a screening test. Following the sonographic evaluation of the baby, a significant change in emotions was observed among 78% of women who experienced anxiety (p< 0.001). Emotional status of nulliparous and

multiparous women were similar before and after ultrasound (p=0.139 and p=0.723).

Discussion

In the present study, majority of women attending second trimester ultrasound had a purpose of confirmation of health of the baby. We found that 33 (12.8%) of the pregnant women had a poor background knowledge about ultrasound. Multiparous women does not seem to have better knowledge. In addition to that, pregnant women may feel anxious prior to ultrasound examination particularly in high risk situations, however, their feelings change in a positive way following ultrasound examination provided that major anomaly or obstetric complication is not detected.

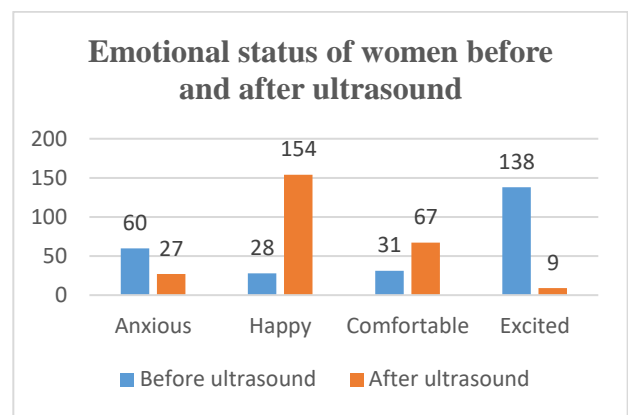


Figure 2. Figure 2 Emotional status of pregnant women before and after second trimester ultrasound. (y axis shows absolute number of women)

Ultrasonography has become an important modality in the assessment of fetal wellbeing. Technological innovations as well as accumulation of scientific knowledge and experience in years has led improved detection of fetal anomalies, however it does not approach to a hundred percent even in the best hands. One of the major concerns about negative ultrasound screening in second trimester is that it might cause false reassurance in parents. Those without anomaly in sonographic scan wrongly interpret their result as indicating the baby is devoid of a genetic disease or anomaly at birth. Hence, birth of an unhealthy baby might lead to disappointment in families. Main reason underlying beneath these irrational beliefs is the lack of information about ultrasound. In a study, only 57% of the women said they had received information before the scan¹³, on the contrary Larsen et al.¹⁴ reported a ratio of 90%.

In our study, at least one of the questions about knowledge were correctly answered by 87% indicating participants had some degree of background information regarding second trimester ultrasound. Nevertheless, only 14 (5.4%) women responded correctly to all questions about basic information suggesting overall inadequate knowledge about ultrasound in our cohort. It is a striking implication considering one third of the

participants had experienced ultrasound examination in the previous pregnancy. In our study, background knowledge of multiparous women did not differ much from nulliparous women. Lalor et al pointed out the same finding in their investigation.¹¹ Therefore, it is clear that a more efficient way of patient education has to be developed and more comprehensive counseling is required. Wong et al postulated that half of the women had a misconception about ultrasound's detection rate and safety and it is associated with education and income.¹⁵ In a study from UK, the aim of scan and detectable anomalies were well known by the pregnant women attending second trimester ultrasound but the limitations were not.¹⁶ Smith et al.¹⁷ found that 22% of women were unaware of the false negatives of the sonographic scan but this rate was higher in our study (48.6%). The former study showed that it is possible to provide a better insight about ultrasound after education of medical staff and midwives in addition to written information sheet given to women.¹⁷ A study from China revealed 65.9%, 50% and 43.1% of the women understood that ultrasonography cannot diagnose all anomalies, genetic diseases and Down syndrome respectively.⁹ Only 18.3% of the participants attending to our clinic were sure about the fact that genetic diseases are not detectable by ultrasound, on the other hand, a rate of one in four was found in a previous research conducted in our country.¹⁸

Sixty three percent of women believed ultrasound was not harmful to the fetus in our study, this percentage correlates fairly well with Kohut et al's finding of 68%.¹⁹ However, higher rates are reported in various investigations.^{13, 15} These numbers are not surprising because in contemporary practice ultrasound is so widely used for fetal imaging, most of the women presume it is safe.

The foremost expectation of our patients is in line with the previous papers; confirmation of health of the baby.^{11,13,14,19-21} Actually, families' goal is quite straightforward, they would like to hear about general fetal wellbeing that also helps attaining reassurance. Interestingly, most of the women choosed the statements that express the purpose in a positive way, such as "confirmation of health" rather than "detection of anomalies". This indicates optimistic expectations about the prenatal ultrasound. Various nonmedical aspects also exist to a lesser extent, women desire to see the baby and get a 3D picture or learn gender. Expectations and purposes of both multiparous and nulliparous women were similar in our study. But Gudex et al. mentioned that nulliparous women more likely desire to have ultrasound to view the baby while multiparous wish reassurance.²² Expecting nothing wrong found with the baby was correlated with being parous, older and higher level of education in another study.²¹

One of the most important findings in our study is that 75.1% of the women would continue pregnancy after diagnosis of a severe anomaly. On the contrary, in the survey study of Turkish pregnant women mentioned

previously, 55% said they would choose termination.¹⁸ The educational attainment of the participants were similar in both studies so local factors and cultural beliefs might have caused this difference. However this result should be interpreted cautiously since it is a theoretical question, families may approach from a different standpoint if the probability of an anomalous fetus comes true. In our sample, parity did not seem to cause difference in mothers' decision of abortion in fetal anomalies. The frequency of intention for termination of pregnancy amongst pregnant women in the case of an anomaly was reported as 75% by Athasaniadis et al.²³ If fetal malformation is detected, multiparous women would prefer to terminate pregnancy more common than nulliparous participants in their study. They underlined that gestational age, maternal age and severity of fetal anomalies are significant factors influencing decision of interruption of pregnancy. Soukas et al. mentioned that 86% of women would opt for termination of pregnancy in lethal anomalies and factors effecting this decision were religious beliefs and frequency of practicing religious duties.²⁴ Unconditional acceptance of child is based primarily on religious and sociocultural grounds which might explain the discrepancy between the studies. We also evaluated women's opinion about genetic testing, 28% stated that they would decline invasive procedures. This might also be linked to unconditional acceptance of the baby in addition to the risk of invasive procedures.

Most predominant emotion before ultrasound was excitement and after ultrasound was happiness in our patients. Approximately one in four women were anxious before sonographic examination. Fear of detecting as well as missing anomalies may cause psychological strain on women.¹² Eurenus et al mentioned that women with a history of complicated pregnancy had more anxiety before ultrasound scan.¹³ Our study implies that most of the anxious women prior to the examination has a high risk pregnancy for either fetal anomaly or genetic disease. Aside from that, ensuring fetal health in high risk situations may ease negative feelings. A study from Sweden with a large sample size pointed out that after a normal sonographic scan result women show reduction in worried state.²⁵ The authors of the latter study developed a scoring system for worried state of mind. Despite we did not use a scale, we found overall number of women feeling anxious decreased after a normal scan. In other words, a negative ultrasound result for anomalies provides relief from emotional tension. Experience in ultrasound was very positive in 49% of women with a previous child while 66% of women in first pregnancy in a previous study.²¹ However, we did not find any difference of emotional status between nulliparous and multiparous women.

Both high risk and low risk pregnancies are recruited during this study to bring a broader perspective. This might reflect the initial emotional response of high risk patients and how it changes after ultrasound scan. Only the women at gestational ages between 18 and 24 weeks are investigated, information about ultrasound may be

insufficient and detection rate of anomalies are lower in first trimester that might have influenced the answers of the participants if they had been recruited. Apart from questions designed to elicit how enrolled women perceived ultrasound, their views on genetic diagnosis and termination of pregnancy were also explored distinct from several studies.

Whether the selected population for the survey is representative of the whole country is obscure because it involves women examined at a tertiary referral clinic that were scheduled for second trimester ultrasound. Questionnaire was composed of closed questions mainly, hence respondents had to choose between confined answers, which can compromise the actual results regarding viewpoints and attitudes of the entire group. Also, the level of anxiety was not measured using psychiatric inventories and responses about emotional status are subjective. Similarly, the level of information about ultrasound was not quantified since a standardized way of measuring it is not described in the literature.

Adequate knowledge about what exactly second trimester ultrasound involves in addition to false positives and false negatives is of paramount importance since increasing number of women demand for this scan. More efficient strategies for patient education has to be developed in order to enhance awareness about second trimester ultrasound's purpose, safety and limitations.

Compliance with Ethical Standards

Kocaeli University Ethics Committee approved this study (GOKAEK-2022/21.18). Informed consent was obtained from all participants.

Conflict of Interest

The author declares no conflicts of interest.

Author Contribution

All the authors equally contributed to this work.

Financial Disclosure

None

References

- Salomon LJ, Alfirevic Z, Berghella V, et al. ISUOG Practice Guidelines (updated): performance of the routine mid-trimester fetal ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2022;59:840-856. doi:10.1002/uog.24888.
- Van Regemorter N, Dodion J, Druart C, et al. Congenital malformations in 10,000 consecutive births in a university hospital: need for genetic counseling and prenatal diagnosis. *J Pediatr.* 1984;104:386-390. doi:10.1016/s0022-3476(84)81100-2.
- Dolk H, Loane M, Garne E. The prevalence of congenital anomalies in Europe. *Adv Exp Med Biol.* 2010;686:349-364. doi:10.1007/978-90-481-9485-8_20.
- Feldkamp ML, Carey JC, Byrne JLB, et al. Etiology and clinical presentation of birth defects: population based study. *BMJ.* 2017;357:j2249. doi:10.1136/bmj.j2249.
- Grandjean H, Larroque D, Levi S. The performance of routine ultrasonographic screening of pregnancies in the Eurofetus Study. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181:446-454. doi:10.1016/s0002-9378(99)70577-6.
- Fadda GM, Capobianco G, Balata A, et al. Routine second trimester ultrasound screening for prenatal detection of fetal malformations in Sassari University Hospital, Italy: 23 years of experience in 42,256 pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009;144:110-114. doi:10.1016/j.ejogrb.2009.02.045.
- Rydberg C, Tunon K. Detection of fetal abnormalities by second-trimester ultrasound screening in a non-selected population. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2017;96:176-182. doi:10.1111/aogs.13037.
- Crane JP, LeFevre ML, Winborn RC, et al. A randomized trial of prenatal ultrasonographic screening: impact on the detection, management, and outcome of anomalous fetuses. The RADIUS Study Group. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;171:392-399. doi:10.1016/s0002-9378(94)70040-0.
- Chan LW, Chan OK, Chau MC, et al. Expectation and knowledge of pregnant women undergoing first and second trimester ultrasound examination in a Chinese population. *Prenat Diagn.* 2008;28:739-744. doi:10.1002/pd.2050.
- Garcia J, Bricker L, Henderson J, et al. Women's views of pregnancy ultrasound: a systematic review. *Birth.* 2002;29:225-250. doi: 10.1046/j.1523-536x.2002.00198.x.
- Lalor JG, Devane D. Information, knowledge and expectations of the routine ultrasound scan. *Midwifery.* 2007;23:13-22. doi:10.1016/j.midw.2006.02.001.
- Kowalcek I, Huber G, Lammers C, et al. Anxiety scores before and after prenatal testing for congenital anomalies. *Arch Gynecol Obstet.* 2003;267:126-129. doi:10.1007/s00404-002-0295-6.
- Eurenius K, Axelsson O, Gallstedt-Fransson I, et al. Perception of information, expectations and experiences among women and their partners attending a second-trimester routine ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1997;9:86-90. doi:10.1046/j.1469-0705.1997.09020086.x.
- Larsen T, Nguyen TH, Munk M, et al. Ultrasound screening in the 2nd trimester. The pregnant woman's background knowledge, expectations, and acceptances. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000;15:383-386. doi:10.1046/j.1469-0705.2000.00112.x.
- Wong AE, Collingham JP, Koszut SP, et al. Maternal factors associated with misperceptions of the second-trimester sonogram. *Prenat Diagn.* 2012;32:1029-1034. doi:10.1002/pd.3950.
- Basama FM, Leonard B, Leighton M. Audit: women's perception and knowledge of the 20 weeks anomaly scan. *J Obstet Gynaecol.* 2004;24:44-46. doi:10.1080/01443610310001620288.
- Smith RP, Titmarsh S, Overton TG. Improving patients' knowledge of the fetal anomaly scan. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004;24:740-744. doi:10.1002/uog.1727.
- Buyukbayrak EE, Soysal S, Anik Ilhan G, et al. What do expectant parents know about antenatal ultrasound screening? *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020;33:1811-1817. doi:10.1080/14767058.2018.1530209.
- Kohut RJ, Dewey D, Love EJ. Women's knowledge of prenatal ultrasound and informed choice. *J Genet Couns.* 2002;11:265-276. doi: 10.1023/a:1016378415514.
- Salmoukas C, Kundu S, Soergel P, et al. Background Knowledge and Attitude of Pregnant Women towards Ultrasound Screening at 20-23 Weeks Gestation. *Z Geburtshilfe Neonatol.* 2016;220:16-20. doi:10.1055/s-0035-1545287.

21. Georgsson Ohman S, Waldenstrom U. Second-trimester routine ultrasound screening: expectations and experiences in a nationwide Swedish sample. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;32:15-22. doi:10.1002/uog.5273.
22. Gudex C, Nielsen BL, Madsen M. Why women want prenatal ultrasound in normal pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006;27:145-150. doi:10.1002/uog.2646.
23. Athanasiadis AP, Polychronou P, Mikos T, et al. Women's expectations and intention to terminate pregnancy in case of abnormal findings at the second trimester level II ultrasound scan. A prospective, questionnaire-based, cross-sectional survey. *Fetal Diagn Ther.* 2009;25:255-263. doi:10.1159/000223682.
24. Souka AP, Michalitsi VD, Skentou H, et al. Attitudes of pregnant women regarding termination of pregnancy for fetal abnormality. *Prenat Diagn.* 2010;30:977-980. doi:10.1002/pd.2600.
25. Ekelin M, Crang Svalenius E, Larsson AK, et al. Parental expectations, experiences and reactions, sense of coherence and grade of anxiety related to routine ultrasound examination with normal findings during pregnancy. *Prenat Diagn.* 2009;29:952-959. doi:10.1002/pd.2324.

Questionnaire

1. Your age?

2. Your education status?

1. I am illiterate 2. Primary school 3. Secondary school 4. High school 5. University 6. Postgraduate

3. Do you work?

1. Yes 2. No

4. Previous pregnancies? What is your gestational age?

G: P: A: D/C: Alive: Stillbirth: NVB/CS:

Pregnancy Period: weeks / days

5. Do you smoke?:

1. Yes 2. No

6. Do you have a consanguineous marriage?

1. Yes 2. No

7. Did you have a screening test in this pregnancy?

1. Yes (double-triple- quadruple- nipt) 2. No

8. Does the screening test result show high risk for chromosomal anomalies?

1. Yes 2. No

9. Did you have a history of fetal anomaly in your previous pregnancy?

1. Yes 2. No 3. It's my first pregnancy

10. Did you have a detailed second trimester sonographic scan in your previous pregnancy?

1. Yes 2. No 3. It's my first pregnancy

11. If a fetal anomaly is found in the ultrasound examination, would you consider having a genetic examination?

1. Yes 2. No 3. Unsure

12. If a severe fetal anomaly is found in the ultrasound examination, would you consider termination of pregnancy?

1. Yes 2. No 3. Unsure

13. Why do you want to have a second trimester detailed ultrasound scan?

1. To see the baby
2. To take a 3D colored photo
3. To learn gender
4. Because I was taking drugs / exposed to radiation
5. Because of a previous history of fetal anomaly
6. Because I have a chronic disease
7. Because the chromosomal anomaly risk is high in the screening test
8. Because I didn't have a chromosomal screening test
9. To confirm the baby's health (fetal growth, amniotic fluid volume)
10. To learn if the baby has a structural anomaly (disability)
11. Because my doctor recommended it
12. Because I have a short cervix/a risk of premature birth
13. Due to the abnormal location of placenta on to the cervix
14. I don't know

14. From whom did you hear about second trimester detailed ultrasound scan?

1. My doctor 2. Social media 3. Neighbour/relative/friend 4. From my previous pregnancy

15. How do you feel before the examination?

1. I am happy
2. I am excited
3. I am anxious
4. I am comfortable

16. Do you think second trimester detailed ultrasonography can detect all structural anomalies?

1. Yes 2. No 3. I have no idea

17. Do you think second trimester detailed ultrasonography can detect all genetic diseases?

1. Yes 2. No 3. I have no idea

18. Do you think ultrasonography can cause any harm to the baby?

1. Yes 2. No 3. I have no idea

19. Do you know when the second trimester detailed ultrasonography is performed?

1. Certain weeks (18-24 weeks)

2. Always

3. I don't know

20. Do you know which organs and what is examined in the second trimester detailed ultrasonography?

1. Yes 2. No 3. Partially

21. Do you know who performs detailed ultrasonography?

1. Gynecology and obstetrics specialist

2. Radiology specialist

3. Maternal fetal medicine specialist

22. How long does a routine second trimester detailed ultrasonography examination take approximately?

1. 0-10 min 2. 20-30 min 3. 1-1.5 hours

23. How do you feel after the detailed ultrasonography examination?

1. I am happy

2. I am excited





3. I am anxious

4. I am comfortable

Araştırma Makalesi | Research Article

PEDİATRİ HEKİMLERİNİN BAĞIMLI HASTALARI DAMGALAMA DÜZEYLERİNE BAĞIMLILIK EĞİTİMİNİN ETKİSİ

THE EFFECT OF ADDICTION EDUCATION ON PEDIATRICIANS' STIGMATIZATION LEVELS OF ADDICTED PATIENTS

 Ömer Kardeş^{1*},  Ahmet Sefa Gümüşsoy¹,  Muhammed Furkan Tanır¹,  Ayşe Hilal Başkan¹

¹Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye.



Öz

Amaç: Ruhsal hastalıklara sahip bireyler arasında en sık damgalananlar bağımlı bireylerdir. Bağımlılıkta damgalama; daha kötü prognosis, daha sık relaps, daha az tedavi başvurusuyla ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle bu çalışmada pediatri hekimlerinin bağımlılık ile ilgili damgalama düzeyinin ölçülmesi, bu hekimlere verilecek eğitimin damgalama düzeyine etkisi araştırıldı.

Yöntem: Pediatri anabilim dalında çalışan hekimlere "Bağımlı Ergene Yaklaşım" adlı seminer verildi. Katılımcılara, sosyodemografik bilgiler ile "Yedam Madde Bağımlılığı Stigmatizasyon Ölçeği (YMSÖ)" maddelerinin yer aldığı form tek sayfa halinde eğitim öncesinde ve sonrasında verilerek analiz edildi.

Bulgular: Örneklem 18 (%69,2)'i kadın, 8 (%30,8)'i erkek, yaş ortalaması 37,8±11,6'di. Tüm örneklem YMSÖ ortalama puanı eğitim öncesi 17,7±5,1, eğitim sonrası 16±5,3 olarak saptandı. Bu değişim istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,034). Daha önce bağımlı hasta ile karşılaşan (p=0,015), ailesinde bağımlı birey olan (p=0,037), alkol kullanımı olan (p=0,030) ve uzman olan (p=0,045) hekimlerin YMSÖ ortalamalarındaki değişim istatistiksel anlamlı bulundu.

Sonuç: Bağımlılıkta damgalanma eğitim ile düzeltilebilir. Damgalanmanın önlenmesi alkol-madde kullanımı olan ergenleri tedavin hizmetlerine ulaşımını kolaylaştırılabilir. Bağımlılık ve diğer ruhsal bozukluklar ile ilgili damgalamayı önleyici eğitimlerin tıp ve uzmanlık eğitimi müfredatlarına dahil edilmesini önermekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Bağımlılık, damgalama, bağımlılık eğitimi, sağlık çalışanlarında damgalama

ABSTRACT

Objective: Addicted individuals are the most frequently stigmatized patients among mental disorders. Stigmatization in addiction has been associated with poorer prognosis, more relapses, and fewer treatment applications. Therefore, in this study, we aimed to measure the stigmatization level of pediatric physicians regarding addiction and to investigate the effect of the education to be given to these physicians on the stigmatization level.

Methods: A workshop titled "Approach to the Addicted Adolescent" was given to physicians working in the Department of Pediatrics. A questionnaire including sociodemographic information and the items of the "Yedam Drug Dependence Stigmatization Scale (YDSS)" was administered to the participants as a single page before and after the course and analyzed.

Results: The sample consisted of 18 (69.2%) females and 8 (30.8%) males, with a mean age of 37.8±11.6 years. The mean score of the whole sample was 17.7±5.1 before the training and 16±5.3 after the training. This change was statistically significant (p=0.034). The change in the mean scores of physicians who had previously experienced an addicted patient (p=0.015), had a family member with addiction (p=0.037), used alcohol (p=0.030) and were specialists (p=0.045) was statistically significant.

Conclusion: Stigmatization in addiction can be improved with education. Prevention of stigmatization may facilitate access to treatment services for adolescents with alcohol and substance use. We recommend that anti-stigmatization trainings on addiction and other mental disorders should be included in medical and specialty education programs.

Keywords: Addiction, stigmatization, addiction education, stigmatization in healthcare professionals

*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Ömer Kardeş;Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı,Umuttepe, 41001, Kocaeli, Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (262) 303 75 75 e-posta/e-mail:kardasomer@gmail.com

Başvuru/Submitted: 16.08.2023

Kabul/Accepted: 15.09.2023

Online Yayın/Published Online: 21.10.2023



Giriş

Bağımlılık bir beyin hastalığıdır. Bu hastalıkta bireyler alkol, madde ya da davranışsal (oyun, kumar, alışveriş, egzersiz, seks ve pornografi) bir duruma bağımlılık geliştirebilirler. Bağımlılık geliştikten sonra kişi bağımlı olduğu madde karşısında kontrolünü kaybeder, zamanının büyük bölümünü madde aramak ve kullanmakla geçirir, maddi ve manevi kayıplarına rağmen madde kullanımını sürdürür.¹

Sözcük anlamı olarak stigma; leke, iz, utanç verici şey anlamına gelmektedir. Günümüzde damgalama; bir kişinin diğerlerinden ayrılacak şekilde gözden düşürülmesi, diğer insanlardan aşağı görülmesi, genel anlamda kötülenmesi olarak tanımlanmaktadır. Stigma sosyal (grup düzeyinde), bireysel (içselleştirilmiş), yapısal (sistemsel) türde olabilir. Stigmatizasyonun yıkıcı sonucu olarak bireyler toplumda engellenir ve statü kaybeder.^{2,3}

Ruhsal hastalıklara sahip bireyler arasında en sık damgalananlar bağımlı bireylerdir.² Buna neden olarak; madde kullanım bozukluğunun diğer psikiyatrik hastalıklara göre daha olumsuz görülmesi⁴, ahlaki bir bozukluk olduğunun düşünülmesi, kriminal olaylarla ilişkilendirilmesi⁵, eşlik eden HIV (Human Immunodeficiency Virus), hepatit gibi bulaşıcı hastalıkların bulunması⁶ sayılabilir. Damgalama üzerinde yapılan çalışmalar; sosyoekonomik düzeyi düşük olanların, yasa dışı madde kullananların (alkol dışı), kadınların, ergenlerin, yaşlıların ve damar içi madde kullanımı olanların daha sık damgalandıklarını göstermiştir. Bağımlılıkta damgalanma; daha kötü prognoz, daha sık relaps, daha az tedavi başvurusuyla ilişkilendirilmiştir.² Alkol bağımlılarında suçluluk ve utanç duygularını araştıran bir çalışmaya göre, en az 6 ay remisyonda olan hastaların kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha fazla suçluluk ve utanç duygularını hissettikleri gösterilmiştir.⁷ Suçluluk ve utanç hisseden kişiler başa çıkma yolu olarak tekrar alkol kullanmakta ve yaşanan bu olumsuz duygular da yinelenmektedir. Bu kısır döngü hastaların tedavisini olumsuz etkilemekte ve hastalığın tekrarlamasını artırmaktadır.⁸ Çok sayıda çalışma damgalanmanın, sağlık hizmetleri ve madde kullanım tedavisi hizmetlerine ulaşmada büyük bir engel olduğunu göstermektedir.⁹ Barry ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada toplumun %90'ının ailesinden birinin madde kullanan biriyle evlenmesini, %78'inin bu kişilerle yakın çalışmayı istemediği, %59'unun madde kullanım bozukluğunda tedavinin etkisiz olduğunu düşündüğünü, %43'ünün ev-sigorta yardımına karşı olduğunu saptamışlardır. Bu toplumda madde kullanım bozukluğu olanlara karşı da önemli ölçüde negatif tutum olarak değerlendirilmiştir.¹⁰ Ülkemizde sağlık çalışanlarının dahil edildiği bir çalışmada katılımcıların büyük çoğunluğunun, alkol bağımlılığını ruhsal zayıflık olarak gördüğü, bu bireylerin toplum içinde serbest dolaşmamaları ve evlenmemeleri gerektiğini düşündükleri bildirilmiştir.¹¹ Başka çalışmada sağlık çalışanlarının alkol bağımlısı bireyler ile çalışmayı diyabet ve depresyon gibi diğer hastalıklara sahip bireylere kıyasla daha az tercih ettikleri gösterilmiştir.¹²

Bağımlılık, organik ve diğer psikiyatrik hastalıklar

karşılaştırıldığında alkol madde bağımlılığıyla çalışma daha az tercih edilmektedir. Bu durum bağımlılık sorununu daha karmaşık hale getirmektedir.^{13,14} Sağlık çalışanlarının bağımlılığa karşı tutumunu etkileyebilecek çeşitli faktörler öne sürülmüştür. Deneyim, yaş, eğitim durumu, alkol madde kullanımı, ailede kullanım öyküsü bu faktörlerden bazılarıdır.^{15,16} Bağımlılığın bir beyin hastalığı olduğu bilinmesine rağmen sağlık çalışanları arasında bağımlılığı; ahlaki problem, irade zayıflığı, kişilik bozukluğu ve davranış sorunu olarak görme eğilimi sıktır. Acil servislerde görev yapan hemşirelerin alkol madde bağımlısı bireylere hizmet vermede çekinceli davrandıkları ve bu bireyleri daha çok sorun çıkaran bireyler olarak gördükleri gösterilmiştir.¹⁷

Bağımlı hastalar ile karşılaşan hekimlerin damgalama düzeylerinin düşük olmadığını ve eğitim ile değiştirilebileceğini düşünmekteyiz. Bu nedenle bu çalışmada Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda çalışan hekimlerin bağımlılık ile ilgili damgalama düzeyinin ölçülmesi, bu hekimlere verilecek eğitimin damgalama düzeyine etkisi araştırılmak istenmiştir.

Yöntem

Örneklem

Bu çalışmanın örneklemini Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda çalışan, eğitime ve çalışmaya katılmaya gönüllü 26 pediatri hekimi oluşturmaktadır. Eğitime ilgili klinikte çalışan tüm hekimlerin katılması beklenmiş ancak katılım 30 ile sınırlı kalmıştır. Araştırmanın öncesinde ilgili anabilim dalı ve dekanlıktan alınan gerekli izinler sonrası, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2023/209 tarih ve sayı numarasıyla onay alındı. Araştırmaya katılmayı kabul etmemek, formları eksik doldurmak, eğitimin tamamına katılmamak dışlama kriterleri olarak belirlendi.

Uygulama

Kocaeli Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD 2022-2023 eğitim programında yer alan "Bağımlı Ergene Yaklaşım" adlı seminer sorumlu araştırmacı tarafından anlatıldı. Bu eğitime anabilim dalında çalışan öğretim üyeleri ile araştırma görevleri katıldı. Katılımcılara, sosyodemografik bilgiler ile kullanılması planlanan "Yedam Madde Bağımlılığı Stigmatizasyon Ölçeği (YMSÖ)" maddelerinin yer aldığı form tek sayfa halinde eğitim öncesinde ve sonrasında uygulandı (YEDAM: Yeşilay Danışmanlık Merkezi). Eğitim öncesi katılımcılara çalışma hakkında bilgi verilerek yazılı onamları (Helsinki Bildirgesine uygun) alındı. Çalışmaya dahil edilen 30 katılımcıdan 1'i ön test, 1'i son testi eksik doldurduğu, 2'si de eğitimi tamamlamadığı için çalışmadan çıkarılarak 26 katılımcı ile çalışma tamamlandı.

Değerlendirme Araçları

Sosyodemografik veri formu: Bu form araştırmacılar tarafından oluşturulan ve katılımcılara ait yaş, cinsiyet, çocuk sağlığı ve hastalıkları anabilim dalında çalışma

süresi, unvan (uzman hekim-araştırma görevlisi), sigara-alkol kullanımı, bağımlı bireyle karşılaşma, ailede bağımlı birey bulunma gibi bilgilerin alındığı bir formdur.

Yedam Madde Bağımlılığı Stigmatizasyon Ölçeği (YMSÖ):

Bu ölçek 2019 yılında Dinç ve ark. tarafından geliştirilen, madde kullanımı ile ilgili damgalama düzeyinin ölçüldüğü 4'lü likert tipi bir ölçektir. Ölçek 12 maddeden oluşmaktadır. Maddeler 0 ile 3 arasında puanlanmaktadır. Ölçekten alınan puan en az 0 en fazla 36'dır. Ölçeğin kesim puanı bulunmamaktadır.¹⁸

Bağımlılık eğitimi: Bu eğitim sorumlu araştırmacı tarafından hazırlanan yapılandırılmış ancak standart olmayan 45 dk'lık bir eğitimidir.

Eğitimin içeriği şu şekildedir:

1. Ergenlik döneminin özellikleri: Bu bölüm ergenlik döneminin gelişimsel özelliklerini, beyin gelişimini, bu dönemin bağımlılık ve diğer psikiyatrik hastalıklar ile ilgili risk faktörü olduğu ile ilgili bilgiler içermektedir.
2. Bağımlılık tanımı, sıklığı, etiolojisi: Bu bölüm bağımlılığın bir beyin hastalığı olduğunu, damgalamayı, etiolojisini ve sıklığını içermektedir.
3. Bağımlılığa ait risk faktörleri: Bu bölüm ergenlik döneminde bağımlılık ile ilişkili risk faktörlerini içermektedir.
4. Bağımlılık nörobiyolojisi: Bu bölüm beyin ve bağımlılık ilişkisini içermektedir.
5. Sigara, alkol ve diğer psikoaktif maddelerin özellikleri: Bu bölüm maddelerin etkileri, intoksikasyonu ve yoksunluğu ile ilgili bilgiler içermektedir.

İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 22.0 adlı paket programına kaydedilerek analiz edildi. Ölçek ortalamalarının normallik varsayımı için, Shapiro-Wilk normallik testi yapıldı. Kategorik veriler sayı (n), yüzde (%), normal dağılıma uyan numerik veriler ortalama (Ort.) ve standart sapma (SS), normal dağılıma uymayan numerik veriler median, %25-%75 şeklinde verildi. Örneklem tamamı için ölçek skorunun eğitim öncesi-sonrası değişiminin analizi "Bağımlı Örneklem T-testi" ile alt grupların analizi "Mc Nemar testi" yapıldı. $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Örneklem 18 (%69,2)'i kadın, 8 (%30,8)'i erkek, yaş ortalaması $37,8 \pm 11,6$ 'dır. 12 (%46,2)'si araştırma görevlisi, 14 (%53,8)'ü uzman hekimdi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları alanındaki çalışma süreleri ortalama $163,4 \pm 143,8$ aydı. Katılımcıların 3 (%11,5)'ünün sigara kullandığı; 13 (%50)'ünün sosyal içici olarak, 2 (%7,7)'sinin ise düzenli olarak alkol kullandığı görüldü. Katılımcıların 9 (%34,6)'unun ailesinde bağımlı (tütün bağımlılığı dışında) birey olduğu saptandı. Katılımcıların 14 (%53,8)'ünün daha önce bağımlı hasta ile karşılaşma öyküsü mevcut olup karşılaşmayanların oranı %46,2'ydi (Tablo 1).

Tüm örneklem YMSÖ ortalama puanı eğitim öncesi $17,7 \pm 5,1$, eğitim sonrası $16 \pm 5,3$ olarak saptandı. Bu değişim istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,034$).

Tablo 1. Örneklem Sosyodemografik Özellikleri

Değişkenler	n (%)	Ort±SS
Yaş		37,8±11,6
Çalışma süresi (ay)		163,4±143,8
Cinsiyet	Kadın	18 (%69,2)
	Erkek	8 (%30,8)
Unvan	Asistan hekim	12 (%46,2)
	Uzman hekim	14 (%53,8)
Sigara kullanımı	Var	3 (%11,5)
	Yok	23 (%88,5)
Alkol kullanımı	Düzenli	2 (%7,7)
	Sosyal içici	13 (%50)
	Yok	11 (%42,3)
Ailede bağımlı birey	Var	9 (%34,6)
	Yok	17 (65,4)
Bağımlı hasta ile karşılaşma	Var	14 (%53,8)
	Yok	12 (%46,2)

n: Sayı, Ort: Ortalama, %: Yüzde, SS: Standart Sapma

Daha önce bağımlı hasta ile karşılaşan hekimlerin YMSÖ ortalamalarındaki değişim anlamlı iken karşılaşmayanların anlamlı değildi ($p=0,015$, $p=0,721$). Ailesinde bağımlı birey (tütün bağımlılığı dışında) olan hekimlerin YMSÖ ortalamalarındaki değişim anlamlı iken olmayanların anlamlı değildi ($p=0,037$, $p=0,312$). Alkol kullanımı (sosyal içici+düzenli) olan hekimlerin YMSÖ ortalamalarındaki değişim anlamlı iken olmayanların anlamlı değildi ($p=0,030$, $p=0,397$). Uzman hekimlerin YMSÖ ortalamalarındaki değişim anlamlı iken uzmanlık öğrencisi hekimlerin anlamlı değildi ($p=0,045$, $p=0,270$) (Tablo 2).

Tartışma

Bu çalışmada pediatri hekimlerinin bağımlılık ile ilgili damgalama düzeyinin ölçülmesi, bu hekimlere verilecek eğitimin damgalama düzeyine etkisi araştırıldı. Çalışmanın sonucunda tüm örneklem eğitim sonrası YMSÖ ölçeğinde anlamlı düşüş olduğu gösterildi. Alkol kullanımı olan, uzman hekim olan, ailesinde bağımlı birey olan, bağımlı hasta ile karşılaşma öyküsü olanların YMSÖ puanları eğitimle düşerken olmayanlarda anlamlı düşüş görülmedi.

Literatürde damgalama ile mücadele için önerilen yöntemlerden biri eğitimidir.² Eğitim tıp öğrencileri, sağlık profesyonelleri başta olmak üzere tüm topluma yönelik olmalıdır. Yapılan çalışmalar hastalarla doğrudan temasın sadece teorik eğitimlere göre daha etkili olduğunu göstermiştir.¹⁹ Damgalama ile ilişkili olumsuz tutum ve davranışları engellemek için müfredat düzenlemeleri önerilmektedir.²⁰ Ruhsal hastalıklara yönelik eğitimin etkisini inceleyen çalışmalar, kişilerin ruhsal hastalıklara yönelik tutumlarını olumlu yönde değiştirdiğini

göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, ruhsal hastalıklar ile ilgili teorik ve uygulamalı eğitim sonrasında sağlık alanında eğitim gören üniversite öğrencilerinin ruhsal hastalıklara yönelik damgalayıcı tutumlarının azaldığı gösterilmiştir.²¹

Ülkemizde madde kullanım bozukluğu olan bireylere karşı yapılan toplumsal damgalamayı azaltmaya yönelik bir müdahale programı geliştirilmiştir. Bu programın pilot uygulamasının sonuçlarına göre; bağımlılığa yönelik tutum ve ruhsal hastalığa inanç puanlarında deney grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düşüş olduğu bildirilmiştir.²² Boekel ve ark. sağlık çalışanlarında madde kullanım bozukluğu olan hastalara yönelik damgalayıcı tutumları değerlendiren çalışmaları inceledikleri gözden geçirme yayınlamışlardır. Sağlık çalışanlarının madde kullanım

bozukluğu olan hastalara yönelik olumsuz tutum sergiledikleri, bu durumun hastaların sağlık hizmetine erişimini engellediği sonucuna varılmıştır. Gözden geçirmede sağlık profesyonellerinin bu hasta grubuyla çalışırken yeterli eğitim, öğretim ve destek yapılarından yoksun oldukları özellikle belirtilmiştir.²³ Boston Sağlık Sistemi Psikiyatri Eğitim Programı'nda verilen bağımlılık eğitiminin damgalamayı azalttığı ve olumlu klinik yanıt sağladığı belirtilmiştir.²⁴ Cezaevinde çalışan psikoloji öğrencilerine verilen 3 saatlik bağımlılık ve nalokson kullanımı eğitimi sonrası katılımcıların damgalama anket puanlarında düşüş olduğu gösterilmiştir.²⁵ Çalışmamız bağımlılık eğitiminin damgalamayı azalttığını göstermesi ve sağlık çalışanlarında damgalayıcı tutumların gösterilmesi bakımından literatür ile uyumludur.

Tablo 2. Yedam Madde Bağımlılığı Stigmatizasyon Ölçeği, madde bağımlılığı ölçeği ortalama skorlarının değişimi

		Eğitim öncesi	Eğitim sonrası	p
		Median (%25-%75)/Ort±SS	Median (%25-%75) /Ort±SS	
Bağımlı hasta ile karşılaşma	Evet (n=14)	17,5 (13-19)	13 (9-17)	0,015^a
	Hayır (n=12)	17,5 (14,5-23,5)	19 (15-22,5)	0,721 ^a
Ailede bağımlı birey	Var (n=9)	18 (14-22)	14 (13-19)	0,037^a
	Yok (n=17)	17 (13-19)	16 (12-21)	0,312 ^a
Ünvan	Araştırmagörevlisi (n=12)	18,5 (13-21,5)	16 (12-20)	0,270 ^a
	Uzman Hekim (n=14)	16,5 (14-22)	15 (12-21)	0,045^a
Alkol kullanımı	Var (n=15)	16 (13,5-18,5)	14 (11,5-19,5)	0,030^a
	Yok (n=11)	19 (13,5-22)	18 (13,5-20,5)	0,397 ^a
Tüm örneklem (n=26)		17,7±5,1	16±5,3	0,034^b

Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, McNemar Testi ^a, Bağımlı Örneklem T-testi ^b, p<0,05

Damgalamanın etkisi sadece alkol madde kullanımı olan birey ile sınırlı kalmaz. Damgalama bağımlı bireyin ailesini ve yakın sosyal çevresini de olumsuz yönde etkiler. Literatürde bu durum "bağlı stigma" olarak geçmektedir.^{2,26} Alkol madde kullanım bozukluğu olan bireylerin yakınları ile yapılan bir çalışmada, bağlı stigma düzeyi arttıkça benlik saygısı ve yaşam doyumunun azaldığı gösterilmiştir.²⁷ İzlanda'da yapılan bir çalışmada aile üyeleri arasında madde kullanımı olan katılımcıların daha fazla depresyon, aksiyete ve stres yaşadıklarını ortaya koymuştur.²⁸ Damgalama aile üyelerini üç ayrı mekanizma ile etkiler. Bunlardan ilki "yakınlık"tır. Goffman damgalamanın "damgalanmış kişiden yakın çevrelere yayılma" eğiliminde olduğunu gözlemiştir.²⁹ Bir diğer mekanizma "olağandışılık"tır. Madde kullanım bozukluklarıyla mücadele eden aileler başkaları tarafından "farklı", "sorunlu" ve "öngörülemez olarak" algılanırlar.³⁰ Üçüncü mekanizma ise "suçlama"dır. Bir şekilde suç ortağı veya suçlu olarak algılanırlar.³¹ Sevdikleri birinin şizofreni gibi bir ruhsal hastalığı olan ailelerle karşılaştırıldığında, MKB'si olan bir bireyin aile üyeleri, bozukluktan daha sık sorumlu tutulmaktadır. Soruna neden olmakla suçlanırlar ve sorunu yeterince hızlı çözememekten sorumlu tutulurlar.³² Çalışmamızda ailesinde bağımlı birey bulunanlar eğitimden fayda görürken, ailesinde bağımlı birey bulunmayanların eğitimden fayda görmemesi, bu aile üyelerinin daha fazla damgalanmaları ile açıklanabilir.

Meslek gruplarına göre madde kullanımı olan hastalarla çalışma isteğinin değerlendirildiği çok merkezli bir çalışmada; meslekte 10 yılın altında olanların bağımlı hastalarla çalışırken daha az saygı gösterdikleri bildirilmiştir. Aynı çalışmada birinci basamak, genel psikiyatri ve bağımlılık uzmanları da karşılaştırılmış, birinci basamakta çalışanların diğer gruplara göre bağımlı hastalara daha az saygı duydukları gösterilmiştir. Bağımlı hastalara en yüksek saygıyı bağımlılık uzmanı hekimlerin gösterdiği sonucuna varılmıştır.¹⁵ Hemşirelerin alkolizm ile ilgili tutumlarının değerlendirildiği bir çalışmada; katılımcıların tamamının alkolizm hastaları ile çalıştığı, bu konuda özel eğitim almadıkları ve eğitim programlarının gerekli olduğu bildirilmiştir. Hemşirelerin bağımlı hastalar ile ilgili tutumlarının yaş ve kişisel deneyimlerden etkilendiği gösterilmiştir. Alkol tüketimi olanların ve daha yaşlı hemşirelerin alkolizm hastalarına daha olumlu tutum gösterdikleri sonucuna varılmıştır.¹⁶ Konu ile ilgili yapılmış önceki araştırmalar, hemşirelerin eğitim, din ve kişisel deneyimler gibi kişisel özelliklerinin alkol sorunlarına yönelik tutumlarını etkilediğini öne sürmüştür.^{33,34} Çalışmamız yaş, mesleki tecrübe ve kişisel deneyimler açısından literatürle uyumludur. Alkol kullanımı olanların eğitimden fayda görmeleri "empati" kavramıyla da açıklanabilir. Literatürde empati ve stigma arasındaki ilişkinin incelendiği çalışmalar mevcuttur. İran'da hemşirelik öğrencilerinin psikiyatrik bozuklukları damgalama düzeylerinin empati ile ilişkisinin incelendiği bir çalışmada; damgalama ile empati ölçekleri arasında

negatif yönde anlamlı korelasyon bildirilmiştir.³⁵ Başka bir çalışmada pozitif empati müdahalelerinin kullanıldığı eğitim yönteminin, geleneksel yöntemlere göre damgalamayı daha fazla azalttığı gösterilmiştir.³⁶ Tıp öğrencilerine yönelik empati, tutum ve damgalama eğitimi sonucunda katılımcıların psikiyatrik hastalıklara karşı olumsuz, damgalayıcı tutumlarının azaldığı bildirilmiştir.³⁷ Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Örneklem sayısının düşük olması, toplum veya ruh sağlığı hizmeti veren profesyoneller ile karşılaştırma yapılmaması, eğitimde sadece teorik yöntemin uygulanmış olması, eğitimin tek oturumluk olması, eğitim öncesi ölçek skorlarının karşılaştırılmaması, üniversitenin spesifik bir bölümünde yapılmış olması, ölçeğin kesim puanının olmaması çalışmanın kısıtlılıkları arasında sayılabilir. Sonuç olarak, bağımlı hastalar hekimler tarafından da damgalanabilir. Bağımlılıkta damgalanma eğitim ile düzeltilebilir. Damgalanmanın önlenmesi alkol madde kullanımı olan ergenlerin tedavi hizmetlerine ulaşımını kolaylaştırılabilir. Bağımlılık ve diğer ruhsal bozukluklar ile ilgili damgalamayı önleyici eğitimlerin tıp ve uzmanlık eğitimi müfredatlarına dahil edilmesini önermekteyiz. Bu alanda verilecek eğitimlerin ya da çocuk ergen psikiyatrisi/erişkin psikiyatrisi rotasyonlarının deneyimin arttığı son dönemlerde yapılması etkinliği arttırabilir. Diğer klinikler ile işbirliği içerisinde olunarak eğitimin farklı birimlerde uygulanması planlanmaktadır.

Açıklama

Bu çalışma 9-12 Mayıs 2023 tarihinde İstanbul'da düzenlenen 32. Ulusal Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Etik Standartlara Uygunluk

Kocaeli Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (2023/209).

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Yazar Katkısı

Fikir ve tasarım: ÖK; Veri toplama-işleme: ÖK; Analiz ve Yorum: ÖK; Literatür taraması: ÖK, MFT, ASG, AHB; Makale Yazımı: ÖK, MFT, ASG, AHB; Eleştirel İnceleme: ÖK, MFT, ASG, AHB.

Kaynaklar

1. Öztürk M, Ögel K, Evren C, Bilici R. Bağımlılık tanısı, tedavisi, önleme. 1. Baskı. Yeşilay Yayınları: İstanbul. 2019.
2. Çarkçı ÖH. Alkol ve Madde Kullanımı ve Stigmatizasyon. In: Evren C, ed. Alkol ve Madde Kullanım Bozukluklarında Komorbidite ve Özel Durumlar. 1. Baskı. Yer Küre Tanıtım ve Yayıncılık AŞ; 2019:241-250.
3. Park SG, Bennett ME, Couture SM, Blanchard JJ. Internalized stigma in schizophrenia: Relations with dysfunctional


- attitudes, symptoms, and quality of life. *Psychiatry Res.* 2013;205(1-2):43-47. doi:10.1016/j.psychres.2012.08.040
4. Rasinski KA, Woll P, Cooke A. Stigma and Substance Use Disorders. In P. W. Corrigan (Ed.), On the stigma of mental illness: Practical strategies for research and social change. *American Psychological Association.* 2005;219-236. doi:10.1037/10887-010
5. Radcliffe P, Stevens A. Are drug treatment services only for 'thieving junkie scumbags'? Drug users and the management of stigmatised identities. *Soc Sci Med.* 2008;67(7):1065-1073. doi:10.1016/j.socscimed.2008.06.004
6. Wiechelt SA. The specter of shame in substance misuse. *Subst Use Misuse.* 2007;42(2-3):399-409. doi:10.1080/10826080601142196
7. Kalyoncu ÖA, Mırsal H, Pektaş Ö, Gümüş Ö, Tan D, Beyazyürek M. Alkol bağımlılarında suçluluk ve utanç duyguları. *Bağımlılık Dergisi.* 2002; 3(3): 160-164
8. Olcay ÇAM, Dağlı DA. Alkol bağımlılarında içselleştirilmiş damgalama, suçluluk ve utanç duyguları. *Bağımlılık Dergisi.* 2017;18(4):145-151.
9. Clement S, Schauman O, Graham T, et al. What is the impact of mental health-related stigma on help-seeking? A systematic review of quantitative and qualitative studies. *Psychol Med.* 2015;45(1):11-27. doi:10.1017/S0033291714000129
10. Barry CL, McGinty EE, Pescosolido BA, Goldman HH. Stigma, discrimination, treatment effectiveness, and policy: public views about drug addiction and mental illness. *Psychiatric Services.* 2014;65(10):1269-1272. doi:10.1176/appi.ps.201400140
11. Mutlu E, Bilici R, Çetin K. Sağlık çalışanlarının bağımlılık hakkında tutumları. *Bağımlılık Dergisi.* 2014;15(3):118-123.
12. Gilchrist G, Moskalewicz J, Slezakova S, et al. Staff regard towards working with substance users: a European multi-centre study. *Addiction.* 2011;106(6):1114-1125. doi:10.1111/j.1360-0443.2011.03407.x
13. Ford R. Interpersonal challenges as a constraint on care: The experience of nurses' care of patients who use illicit drugs. *Contemp Nurse.* 2011;37(2):241-252. doi:10.5172/conu.2011.37.2.241
14. Van Boekel LC, Brouwers EPM, Van Weeghel J, Garretsen HFL. Stigma among health professionals towards patients with substance use disorders and its consequences for healthcare delivery: systematic review. *Drug Alcohol Depend.* 2013;131(1-2):23-35. doi:10.1016/j.drugalcdep.2013.02.018
15. Gilchrist G, Moskalewicz J, Slezakova S, et al. Staff regard towards working with substance users: A European multi-centre study. *Addiction.* 2011;106(6):1114-1125. doi:10.1111/j.1360-0443.2011.03407.x
16. Crothers CE, Dorrian J. Determinants of nurses' attitudes toward the care of patients with alcohol problems. *Int Sch Res Notices.* 2011;1-11. doi:10.5402/2011/821514
17. Ögel K. Alkol ve madde kullanım bozukluklarında damgalama. *3P dergisi.* 2004;12:25.
18. Dinç M, Şimşek GM, Işık A, Ögel K. Yedem Madde Bağımlılığı Stigmatizasyon Ölçeği. *Kıbrıs Türk Psikiyatrisi ve Psikolojisi Dergisi.* 2019;1(Özel Sayı 1):9-11.
19. Saillard EK. Psychiatrist Views on Stigmatization Toward People with Mental Illness and Recommendations. *Turkish Journal Of Psychiatry.* 2010;21(1):1-10.
20. Arkan B, Bademli K, Duman ZÇ. Sağlık Çalışanlarının Ruhsal Hastalıklara Yönelik Tutumları: Son 10 Yılda Türkiye'de Yapılan Çalışmalar. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar.* 2011;3(2):214-231.

21. Markström U, Gyllensten AL, Bejerholm U, et al. Attitudes towards mental illness among health care students at Swedish universities—A follow-up study after completed clinical placement. *Nurse Educ Today*. 2009;29(6):660-665. doi:10.1016/j.nedt.2009.02.006
22. Atlam Havaçeliği D, Coşkunol H. Madde Kullanım Bozukluğu Olanlara Yapılan Toplumsal Damgalamayı Azaltmada Bir Müdahale Programının Sonuçları. *Cyprus Turkish Journal of Psychiatry and Psychology*. 2019;1(özel sayı 1):43-46.
23. van Boekel LC, Brouwers EPM, van Weeghel J, Garretsen HFL. [Stigma among health professionals towards patients with substance use disorders and its consequences for healthcare delivery: systematic review]. *Tijdschr Psychiatr*. 2015;57(7):489-497.
24. Renner JA. Counteracting the Effect of Stigma on Education for Substance Use Disorders. *Focus (Madison)*. 2019;17(2):134-140. doi:10.1176/appi.focus.20180039
25. Murphy J, Russell B. Stigma Reduction through Addiction and Naloxone Education. *Journal of Criminal Justice Education*. 2023;34(2):185-198. doi:10.1080/10511253.2022.2068632
26. Mak WWS, Cheung RYM. Affiliate stigma among caregivers of people with intellectual disability or mental illness. *J Appl Res Intellect Disabil*. 2008;21(6):532-545. doi:10.1111/j.1468-3148.2008.00426.x
27. Çarkçı ÖH, Akbıyık M, Evren C. Alkol Madde Kullanım Bozukluğunda Bağıl Damgalama. In: *12. Ulusal Alkol ve Madde Bağımlılığı Kongresi*; 2018.
28. Ólafsdóttir J, Hrafnadóttir S, Orjasniemi T. Depression, anxiety, and stress from substance-use disorder among family members in Iceland. *Nordic Studies on Alcohol and Drugs*. 2018;35(3):165-178. doi:10.1177/1455072518766129
29. Goffman E. *Stigma: Notes on the Management of Spoiled Identity*. First Edition. New York, USA: Simon and schuster; 2009.
30. Park S, Park KS. Family stigma: A concept analysis. *Asian Nurs Res (Korean Soc Nurs Sci)*. 2014;8(3):165-171. doi:10.1016/j.anr.2014.02.006
31. Francis A. Stigma in an era of medicalisation and anxious parenting: how proximity and culpability shape middle-class parents' experiences of disgrace. *Social Health Illn*. 2012;34(6):927-942. doi:10.1111/j.1467-9566.2011.01445.x
32. Corrigan PW, Watson AC, Miller FE. Blame, shame, and contamination: the impact of mental illness and drug dependence stigma on family members. *Journal of family psychology*. 2006;20(2):239. doi:10.1037/0893-3200.20.2.239
33. Howard MO, Chung SS. Nurses' attitudes toward substance misusers. I. Surveys. *Subst Use Misuse*. 2000;35(3):347-365. doi:10.3109/10826080009147701
34. Howard MO, Chung SS. Nurses' attitudes toward substance misusers. II. Experiments and studies comparing nurses to other groups. *Subst Use Misuse*. 2000;35(4):503-532. doi:10.3109/10826080009147470
35. Vaghee S, Hashemi BM, Lotfabadi MK, Salarhaji A, Vaghei N, Feizi M. The Relationship between Empathy and Stigma towards Psychiatric Disorders among Nursing Students. *Future of Medical Education Journal*. 2018;8(2):38-43.
36. Clinton AJ, Pollini RA. Using Positive Empathy Interventions to Reduce Stigma Toward People Who Inject Drugs. *Front Psychol*. 2021;12. doi:10.3389/fpsyg.2021.616729
37. Praharaş SK, Salagre S, Sharma PSVN. Stigma, Empathy, and Attitude (SEA) educational module for medical students to improve the knowledge and attitude towards persons with mental illness. *Asian J Psychiatr*. 2021;65:102834. doi:10.1016/j.ajp.2021.102834

Research Article | Araştırma Makalesi

EVALUATION OF FORENSIC CASES ADMITTED TO THE HOSPITAL IN AMASYA

AMASYA'DA HASTANEYE BAŞVURAN ADLİ VAKALARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

 Bedirhan Sezer Öner

Amasya University, Faculty of Medicine, Department of Forensic Medicine, Amasya, Türkiye.



ABSTRACT

Objective: In this study, it was aimed to determine the demographic characteristics of the forensic cases who applied to Amasya University Sabuncuoğlu Şerefeddin Training and Research Hospital, to reveal the types of cases and to observe the changes in the cases according to the years. It will be examined whether it causes any problems in terms of criminal and compensation law.

Methods: Forensic cases who applied to the Amasya University Sabuncuoğlu Şerefeddin Training and Research Hospital between 01.01.2018 and 31.12.2022 were examined. 53314 forensic case entries were evaluated.

Results: In the 5-year analysis, 53314 cases were evaluated and the mean age was found to be 33.7. 76.2% of the cases were male (n=40618) and 23.8% were female (n=12696). Among all cases, occupational accidents were determined as 6.8%, traffic accidents as 9.7%, and other cases as 83.5%.

Conclusion: In our study, it's noteworthy that occupational accident cases are higher than what is reported in the literature. In order to mitigate preventable health issues like occupational accidents, it is essential to organize necessary training sessions and implement precautionary measures. In the context of criminal and compensation law, it is recognized that individuals might experience loss of rights if the types of cases are not accurately identified. To prevent this situation, maintaining records accurately and comprehensively is of paramount importance.

Keywords: Forensic case, Traffic accident; Occupational accident

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada Amasya Üniversitesi Sabuncuoğlu Şerefeddin Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvuran adli olguların demografik özelliklerinin belirlenmesi, olgu tiplerinin ortaya konulması ve olguların yıllara göre değişiminin gözlemlenmesi amaçlanmıştır. Sonuçlar ceza ve tazminat hukuku açısından değerlendirilecektir.

Yöntem: 01.01.2018-31.12.2022 tarihleri arasında Amasya University Sabuncuoğlu Şerefeddin Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran adli vakalar incelendi. 53314 adli vaka değerlendirildi.

Bulgular: Beş yıllık analizde 53314 vaka değerlendirildi ve yaş ortalaması 33.7 bulundu. Olguların %76,2'si erkek (n=40618) ve %23,8'i kadındı (n=12696). Tüm vakalar arasında iş kazası %6,8, trafik kazası %9,7 ve diğer vakalar %83,5 olarak belirlendi.

Sonuç: Çalışmamızda iş kazası vakalarının literatürde bildirilenden daha yüksek olması dikkat çekicidir. İş kazaları gibi önlenabilir sağlık sorunlarının en aza indirilmesi için gerekli eğitimlerin düzenlenmesi ve önleyici tedbirlerin uygulanması esastır. Ceza ve tazminat hukuku bağlamında, vaka türlerinin doğru bir şekilde belirlenmemesi durumunda bireylerin hak kaybına uğrayabilecekleri bilinmektedir. Bu durumu önlemek için kayıtların doğru ve kapsamlı bir şekilde tutulması büyük önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Adli vaka, Trafik kazası, İş kazası

Introduction

All cases that result from traffic accidents, assaults, force, explosive and firearm injuries, injuries involving various tools, and similar actions of individuals, or reasons for which they are responsible, fall within the realm of forensic cases.^{1,2}

The movements and attitudes of people, animals and vehicles on the road constitute road traffic. A traffic accident is a situation involving one or more vehicles, causing injury or death, or resulting in property damage.³ Occupational accident is defined as follows in clause A of article 11 of the Social Insurance Law; "An occupational accident is defined as an incident that transpires while the insured individual is engaged in work-related activities. This can include tasks assigned by the employer, the insured being relocated to another location for work-related purposes at the instruction of the employer, occurrences during designated breaks for a lactating insured woman to nurse her child, or situations where the insured uses a vehicle provided by the employer to travel to the work site. Additionally, an occupational accident encompasses incidents that arise during bulk transportation of the insured, resulting in immediate or subsequent physical or psychological impairment.⁴ Within the framework of this definition, the "connection of causation" between the accident and the job ensures that the insured receives the appropriate compensation according to the law.⁵

In Article 280 of the Turkish Penal Code (TPC), it is mandatory for physicians and health personnel to report encountered forensic events. Physicians report these situations to the appropriate authorities using a forensic report, which indicates the severity of the trauma experienced by the affected individual as a result of the forensic event.⁶ In addition, the cases injured in occupational and traffic accidents are requested to be evaluated by the judicial authorities during the criminal cases and later in the compensation cases.

In this study, it was aimed to determine the demographic characteristics of the forensic cases who applied to Amasya University Sabuncuoğlu Şerefeddin Training and Research Hospital, to reveal the types of cases and to observe the changes in the cases according to the years. It will be examined whether it causes any problems in terms of criminal and compensation law.

Methods

The study was carried out with the permission of Tokat Gaziosmanpaşa University Clinical Research Ethics Committee. All procedures were carried out in accordance with the ethical rules and the principles of the Declaration of Helsinki.

This study is a retrospective cohort study using data from our hospital's automation and archive system. The requirement for written informed consent was waived. In this study, which was planned as a single center, forensic cases who applied to the Amasya University Sabuncuoğlu

Şerefeddin Training and Research Hospital between 01.01.2018 and 31.12.2022 were examined. 53,314 forensic case entries were evaluated. In our study, we focused on two pivotal areas, namely occupational accidents and traffic accidents. These areas hold paramount significance within the domains of compensation and criminal law. We organized these accidents into groups and meticulously assessed their distribution across various years.

Statistical Analysis

Categorical variables were presented with counts and percentages.

Results

In the 5-year analysis, 53314 cases were evaluated, and the mean age was found to be 33.7. 76.2% of the cases were male (n=40618) and 23.8% were female (n=12696) (Figure 1).

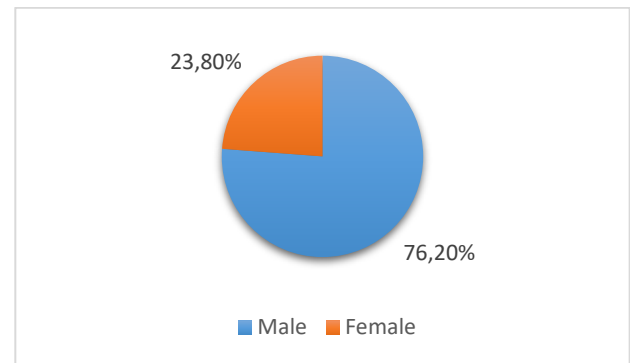


Figure 1. Gender distribution of cases

Among all cases, occupational accidents were determined as 6.8%, traffic accidents as 9.7%, and other cases as 83.5% (Figure 2).

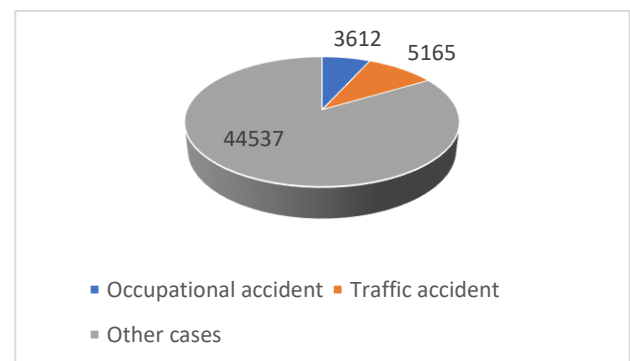


Figure 2. Types and numbers of cases

When we analyze the distribution of cases across different years, the following patterns emerge: In the year 2018, out of a total of 9640 judicial case applications, 661 were related to occupational accidents, 1021 were linked to traffic accidents, and 7958 pertained to various other cases.

For the subsequent year, 2019, there were a total of 12087 applications. Among these, 675 cases were attributed to occupational accidents, 1,074 cases were associated with traffic accidents, and a significant majority of 10338 cases fell under the category of other miscellaneous cases.

In the year 2020, among the 9,495 judicial cases reported, 708 were classified as occupational accidents, 782 were related to traffic accidents, and 8,005 were categorized as other cases.

In the subsequent year, 2021, a total of 10,365 applications were recorded. Out of these, 681 cases were identified as occupational accidents, 1,009 cases were attributed to traffic accidents, and 8685 cases fell into the broader category of other cases.

Looking at the year 2022, a total of 11,717 cases were submitted. Among these, 887 cases were linked to occupational accidents, 1,279 cases were associated with traffic accidents, and 9,551 cases were categorized as other types of cases (Figure 3).

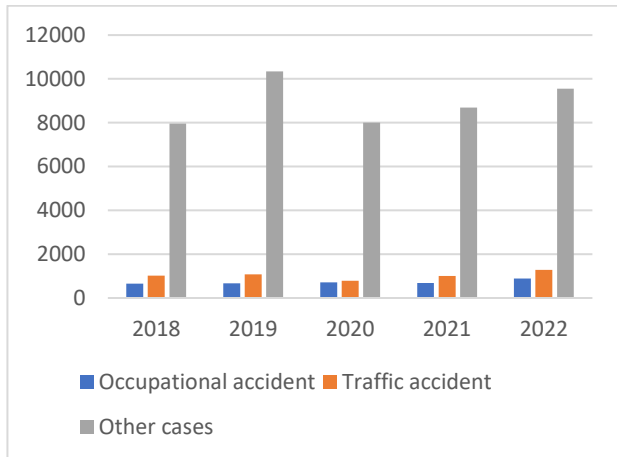


Figure 3. Distribution of case types and case numbers by years.

Discussion

76% of the cases were male and 24% were female. This rate was observed to align with findings from other studies in the existing literature.^{7,8} This circumstance can be attributed to the heightened susceptibility of men to trauma due to their greater involvement in social activities compared to women.

In a study by Yemenici et al.; It was determined that 34.8% of the cases were traffic accidents.⁹ In another study conducted at Cumhuriyet University; traffic accidents were found to be 30.9% in all cases.¹⁰ In another study conducted in Eskişehir, the rate of traffic accident cases is 42.9%.⁷ In the study of Çakır and Şenol, traffic accidents constitute 27.4% of all cases.⁸ In the study, traffic accident cases were detected at a rate of 9.6%, which is quite low compared to the examples in the literature. Amasya province is characterized by a significant volume of highway traffic, primarily due to its strategic location along a route that accommodates numerous inter-provincial roads. The low number of

cases is thought to be due to deficiencies in keeping records.

In the study of Güven et al. occupational accidents were found to be 3.1% in all cases.¹⁰ In the study conducted at Karşıyaka State Hospital, it was determined that the rate of w accident cases was 1.7%.⁸ In a study conducted in Istanbul, it was stated that 0.79% of the total cases were occupational accidents.¹¹ It is worth highlighting that the incidence of occupational accident cases, as identified in our study, was notably higher at 6.8% compared to what has been reported in the literature.

The notion of causality holds particular significance within the realms of criminal and compensation law concerning both traffic and occupational accidents. Establishing a causal link also depends on accurately specifying the type of event in the documents with the event date. The only document that shows whether people have had a occupational accident or traffic accident is mostly forensic examination documents with the date of the incident. Individuals may not be able to prove their claims and lose their rights due to reasons such as incomplete information or incorrect records at the time of the incident.

When the distribution of cases by years is examined; It can be said that there is a general increase except for 2020. According to TUIK statistics, traffic accident cases have decreased in 2020.¹² Given that 2020 was a year marked by reduced social interaction due to Covid-related quarantines, the overall decrease in forensic cases can be attributed to this circumstance.

In conclusions, in this study, which sought to unveil the profile of forensic cases in our region, the demographic findings we acquired were generally in line with the existing literature and the outcomes of comparable studies.

In our study, it's noteworthy that occupational accident cases are higher than what is reported in the literature. In order to mitigate preventable health issues like occupational accidents, it is essential to organize necessary training sessions and implement precautionary measures.

In the context of criminal and compensation law, it is recognized that individuals might experience loss of rights if the types of cases are not accurately identified. To prevent this situation, maintaining records accurately and comprehensively is of paramount importance.

Compliance with Ethical Standards

The study protocol was approved by the Tokat Gaziosmanpaşa University Ethics Committee (Date: 31.08.2023, No: 23-KAEK-206).

Conflict of Interest

The author declares no conflicts of interest.

Financial Disclosure

None

References

1. Fincancı SK. Adli Olguya Yaklaşım. Yeni Yasalar Çerçevesinde Hekimlerin Hukuki Ve Cezai Sorumluluğu. Tıbbi Malpraktis ve Adli Raporların Düzenlenmesi Sempozyum Dizisi. 2006;48:92-103. <http://194.27.141.99/dosyadepo/stek/pdfs/48/4808.pdf>
2. Sever M, Ulaş ES and Koşargelir M. Bir Üçüncü Basamak Hastane Acil Servisine Başvuran Adli Nitelikli Çocuk Hastaların Değerlendirilmesi. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2010;16:260-267.
3. Dilek AT, Cander B, Dikmetaş C, Bulut B, Eren SE, Hilmi KA, Güven R and Bayramoğlu A. Trafik Kazası İle Gelen Pediatrik Hastalarda, Kaza Oluş Şekilleri İle Travma Skorlarının Değerlendirilmesi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 2020;46:47-52. doi:10.32708/uutfd.655843
4. Akbulut T. İşçi Sağlığı Prensipleri ve Uygulamaları. İstanbul: Sistem Yayıncılık; 1994. p75.
5. Ayhan ÖB and İnce H. Adli Tıp Bakış Açısından İ Kazalarının Durumu. *Journal of Istanbul Faculty of Medicine.* 2005;68(2):56-59.
6. Koç S. Adli Tıpta Rapor Hazırlama Tekniği Ve Rapor Örnekleri. In: Soysal Z, Çakalır C, editörs. 1st ed., Vol. 3. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi; 1999. p.1573-633.
7. Koylu S and Karbeyaz K. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı'na Başvuran Adli Nitelikli Olgular ve Alkol İlişkisinin Değerlendirilmesi. *Osmangazi Tıp Dergisi.* 2019;41(3):216-225. doi:10.20515/otd.477275
8. Çakır G and Şenol E. Assessing The Forensic Reports Documented By Forensic Medicine Polyclinic of Karşıyaka State Hospital in 2015. *Tepecik Eğitim Hast Derg.* 2017;27(2):114-120. doi:10.5222/terh.2017.114
9. Yemenici S, Sayhan MB, Salt Ö and Yılmaz A. Acil Serviste Düzenlenen Adli Raporların Değerlendirilmesi. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 2017;14(3):179-186.
10. Güven FMK, Bütün C, Beyaztaş FY, Eren ŞH and Korkmaz İ. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine Başvuran Adli Olguların Değerlendirilmesi. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi.* 2009;10(3):23-28.
11. Orhan Ç, Çakmak F, Akdeniz YS, İpekci A and İkizceli İ. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalına Başvuran İş Kazası Olgularının Analizi. *Adli Tıp Dergisi.* 2022;36(3):139-144.
12. TÜİK, Karayolu Trafik Kaza İstatistikleri, Available from: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Karayolu-Trafik-Kaza-Istatistikleri-2022-49513>.

Research Article | Araştırma Makalesi

SLIDING SIGN: COULD IT BE A NEW MARKER FOR PREDICTING PERINATAL OUTCOMES?

ULTRASONOGRAFİK SLIDING (KAYMA) BULGUSU : PERİNATAL SONUÇLARIN ÖNGÖRÜLMESİ İÇİN YENİ BİR BELİRTEÇ OLABİLİR Mİ?

 Mine Daggez^{1*},  Simge Sezer²,  Şeyma Banu Arslanca³,  Cem Yener⁴

¹Tekirdag City Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology, Division of Gynecologic Oncology, Tekirdag, Türkiye. ²Tekirdag City Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology, Tekirdag, Türkiye. ³University of Health Sciences Etlik City Training and Research Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology, Division of Perinatology, Ankara, Türkiye. ⁴University of Health Sciences Bağcılar Training and Research Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology, Division of Perinatology, Istanbul, Türkiye.



ABSTRACT

Objective: Adhesions following cesarean section has an important role in the course of subsequent cesarean deliveries and perinatal outcomes. Sliding sign can be proposed as a third trimester transabdominal sonographic marker for the predicting intra-abdominal adhesions in consecutive cesarean sections, skin-to-delivery time and APGAR scores.

Methods: A prospective study was conducted on women with a history of at least one cesarean section. All patients were evaluated at last trimester by real time ultrasonography in terms of sliding sign. The presence and absence of sliding sign, the degree of adhesions, skin-to-delivery time and APGAR scores were recorded.

Results: 200 patients were examined. Sensitivity and specificity of sliding sign in the prediction of intra-abdominal adhesions were 75.5% and 88.2%, respectively. More severe adhesions were observed in sliding sign negative group whereas the rate of no-adhesion was higher in the sliding sign positive group. Skin-to-delivery time and 1-5 minutes APGAR scores were significantly different between 2 groups. Visceral injury was observed in 6% and bleeding over 1000 ml was seen in 30% of the patients.

Conclusion: Ultrasonographic evaluation of sliding sign may be a reliable method as a predictor tool for presence of intraperitoneal adhesions in repeat cesarean sections.

Keywords: Pregnancy, cesarean section, perinatology, intraabdominal adhesions

ÖZ

Amaç: Sezaryen sonrası yapışıklıklar, sonraki sezaryen doğumların seyirinde ve perinatal sonuçlarda önemli bir role sahiptir. Sliding (Kayma) işareti, ardışık sezaryenlerde karın içi adezyonları, ciltten doğuma kadar geçen süreyi ve APGAR skorlarını öngörmek için üçüncü trimester transabdominal sonografik belirteç olarak önerilebilir.

Yöntem: En az bir sezaryen doğum öyküsü olan kadınlar üzerinde prospektif bir çalışma yapılmıştır. Tüm hastalar son trimesterde gerçek zamanlı ultrasonografi ile kayma işareti açısından değerlendirildi. Kayma işaretinin varlığı ve yokluğu, adezyonların derecesi, kesiden bebeğin doğumuna kadar geçen süre ve APGAR skorları kaydedildi.

Bulgular: 200 hasta çalışmaya dahil edildi. Karın içi adezyonları öngörmede kayma işaretinin duyarlılığı %75.5, özgüllüğü ise %88.2 idi. Kayma işareti negatif grupta daha şiddetli adezyonlar gözlenirken, hiç adezyon olmama oranı kayma işareti pozitif grupta daha yüksekti. İlk kesiden bebek doğumuna kadar geçen süre ve 1-5 dakika APGAR skorları 2 grup arasında anlamlı olarak farklıydı. Hastaların %6'sında visceral yaralanma ve %30'unda 1000 ml'nin üzerinde kanama görüldü.

Sonuç: Tekrarlayan sezaryenlerde intra-abdominal yapışıklıkların varlığını öngörmek için kayma işaretinin ultrasonografik olarak değerlendirilmesi güvenilir bir yöntem olabilir.

Anahtar Kelimeler: Gebelik, sezaryen doğum, perinatoloji, karın içi yapışıklıklar

*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Mine Daggez; Tekirdag City Hospital, Department of Gynecologic Oncology, Yemen St. 13, 59030 Suleymanpasa/Tekirdag, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (533) 483 82 37 e-mail/e-posta: minedaggez@gmail.com

Submitted/Başvuru: 23.08.2023

Accepted/Kabul: 13.09.2023

Published Online/Online Yayın: 21.10.2023

Introduction

Cesarean section is increasing all over the world and one of the most common reasons for this increase is previous cesarean sections.¹ Adhesions after cesarean section are important for the course of subsequent cesarean deliveries and perinatal outcomes.² In patients with extensive adhesions, the possibility of injury to surrounding organs and bleeding increases in the next cesarean section.³ As a result, skin-to-delivery time is prolonged and lower APGAR scores are observed.² It is vital to be informed on the adhesions prior to the surgery for the wellness of both the mother and the fetus.

‘Sliding sign’ was first used in obstetrics and gynecology to predict adhesions secondary to endometriosis.⁴ Then it was suggested as a transabdominal sonographic marker in obstetrics useful for foreseeing intra-abdominal adhesions in repeat cesarean sections with acceptable sensitivity and specificity.⁵

In this study we present data on the effectiveness of the ‘sliding sign’ for the prediction of intraabdominal adhesions in repeat cesarean sections and its relationship with skin-to-delivery time and APGAR scores.

Methods

Herein, we present a prospective study including women with a history of at least one cesarean section undertaking transabdominal ultrasonographic evaluation in the last trimester of pregnancy, between April and August 2023. The study was approved by the institutional ethical review board of XXX (approval number 2023/40). All participants were informed and informed consents were taken before participation.

Inclusion and Exclusion Criteria

Inclusion criteria were to have a third trimester pregnancy with previous cesarean section(s) and to have a plan of cesarean delivery in the current pregnancy. Patients with previous abdominal entry with any cause, history of pelvic inflammatory disease and soft tissue disease were excluded.

Study Design

At last trimester all patients were evaluated by real time ultrasonography by the same study collaborator (SS) 3 days prior to their planned cesarean section. Emergency procedures were evaluated before they were taken to operation room. Hitachi ARIETTA 65 (Aloka Medical, Ltd. Tokyo, Japan) was employed for all sonographic evaluations. The patient with empty bladder was asked to breathe deeply and hold for a few seconds during the abdominal ultrasonography. Recordings of positive and negative sliding sign was taken (Figure 1, Figure 2). Cesarean section procedures were performed by MD who was fully blinded on the ultrasonographic findings. The degree of adhesions was determined by MD and grouped in three as none- mild and severe adhesions. Filmy adhesions which were easy to dissect between the

uterus and the surrounding tissue were defined as mild adhesions whereas firm ones making the dissection rigid between the uterus and the bladder, and the bowels were defined as severe adhesions. The cases in which neither firm nor filmy adhesions observed were grouped as no adhesion group. Chronometric data was recorded in all procedures measuring the time from the start of laparotomy to the delivery of the fetus. Visceral injury, total estimated blood loss and type of anesthesia (regional/ general) were recorded for each procedure. APGAR scores at 1 and 5 minutes were recorded.

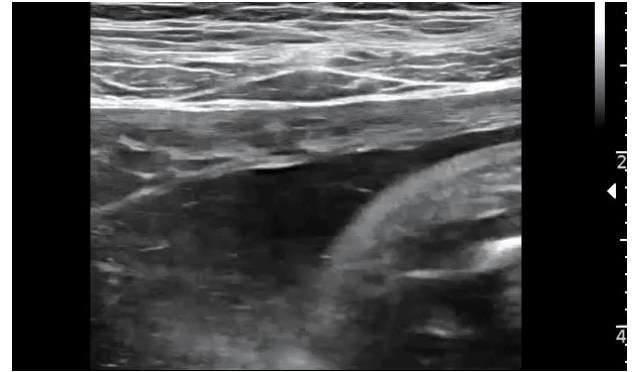


Figure 1. Positive sliding sign

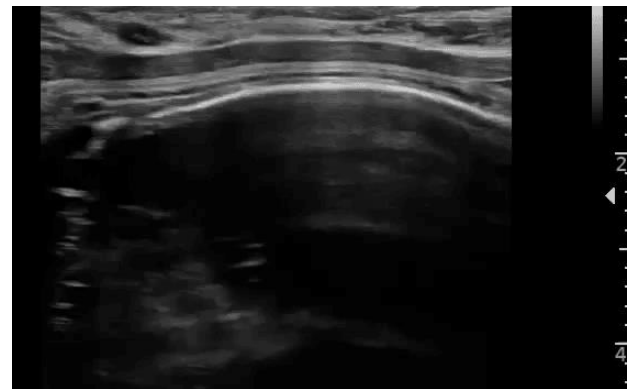


Figure 2. Negative sliding sign

Statistical Methods

Mean Standard Deviation, Median, minimum and maximum values were stated in descriptive statistics for continuous data, and number and percentage values were set in discrete data. Kolmogorov Smirnov test was applied to investigate the conformity of the data to the normal distribution. Mann-Whitney U test was used to compare skin-to-delivery times and APGAR scores. Chi-square test was used to compare degree of adhesions. IBM SPSS for Windows 20.0 (SPSS Inc. Chicago, IL) program was used. $P < 0.05$ was accepted as the statistical significance.

Results

We examined 200 patients with at least one previous cesarean section. Sliding sign was detected in 60% of them and no adhesion was observed in 44%. Sliding sign was absent in 40% of the patients and mild to severe

adhesions were observed in 56%. Mean skin-to-delivery time was 4.20±1.87 minutes, with a range of 1-8 minutes. Median 1st minute APGAR score was 9 and 5th minute APGAR score was 10. Visceral injury was observed in 6% and bleeding over 1000 ml was seen in 30% of the patients. 74% had regional anesthesia and 26% had general anesthesia. Patient characteristics are summarized in (Table 1).

Table 1. Patient characteristics

n=200	Mean ± SD	Median (Min-Max)
Skin-to-delivery time (min)	4.20±1.87 4	(1-8)
APGAR 1.min	7.97±1.44 9	(5-90)
APGAR 5.min	9.10±1.36 10	(6-10)
	n	%
Sliding sign		
Negative	80	40.0
Positive	120	60.0
Adhesions		
None	88	44.0
Mild	56	28.0
Severe	56	28.0
Visceral Injury		
No	188	94.0
Yes	12	6.0
Bleeding over 1000 ml		
No	140	70.0
Yes	60	30.0

There was a significant difference between sliding sign positive and negative groups in terms of skin-to-delivery time and 1-5 minutes APGAR scores. Skin-to-delivery time was significantly low in sliding sign positive group. Likewise, 1st and 5th minute APGAR scores were significantly high in those with a sliding sign ($p < 0.001$). There was no significant difference between the general and regional anesthesia groups in terms of skin-to-delivery time and APGAR scores. Median skin-to-delivery times and APGAR scores of sliding sign positive and negative groups are given in (Table 2).

Table 2. Skin-to-delivery times and APGAR scores of sliding sign positive and negative groups

	Sliding sign negative	Sliding sign positive	p
	Mean ± SD Median (Min-Max)	Mean ± SD Median (Min-Max)	
Skin-to-delivery time	6.00±1.42 6 (3-8)	3.00±0.93 3 (1-5)	<0.001*
APGAR 1.min	6.72±1.55 6 (5-9)	8.80±0.40 9 (8-9)	<0.001*
APGAR 5.min	7.95±1.50 8 (6-10)	9.87±0.34 10 (9-10)	<0.001*

* Mann Whitney U test

Sensitivity and specificity of sliding sign for predicting intra-abdominal adhesions were 75.5% and 88.2%, respectively. Significant difference was found in terms of adhesion rates in sliding sign negative and positive groups ($p < 0.001$). More severe adhesions were observed in sliding sign negative group whereas the rate of no-adhesion is higher in the sliding sign positive group. Comparison of adhesion degrees of sliding sign positive and negative groups is given in (Table 3).

Table 3. Adhesion degrees of sliding sign positive and negative groups

	Sliding sign negative		Sliding sign positive		p
	n	%	n	%	
Adhesion					
None	0	0	88	73.3	<0.001**
Mild	24	30.0	32	26.7	
Severe	56	70.0	0	0	

**Chi-Square Tests

Discussion

In this study we observed statistically significant correlation between sliding sign and intraabdominal adhesions in women with consecutive cesarean sections. The absence of sliding sign was associated with the presence of mild to severe intraabdominal adhesions, extended skin-to-delivery timeframe and worse APGAR scores.

Uterine sliding sign was first used in gynecology, especially in predicting uterorectal adhesions in deep infiltrating endometriosis.⁶ Sonographic demonstration of a negative uterine sliding sign reflected dense uterorectal adhesions and was accepted as a straightforward and convenient method for the estimation of deep infiltrating endometriosis and a valuable marker for triaging patients. Over time, it has been shown to be beneficial for obstetricians too, especially for predicting the adhesions preoperatively in consecutive cesarean sections and has begun to be used in this area.⁵ The sensitivity and specificity for predicting intra-abdominal adhesions in women with previous cesarean sections were 76.2% and 92.1%, respectively. Compatible with previous research, in our study we detected that sensitivity and specificity of the sliding sign in the prediction of intra-abdominal adhesions were 75.5% and 88.2%, respectively. Other ultrasonographic markers as an outstretched cervix, overdistended bladder and retroflexed uterus forming an angle with the distended urinary bladder were also evaluated in some studies.⁷

Extra parameters as skin scar features and the severity of striae gravidarum were also evaluated alone or in combination with sliding sign in recent studies, reporting the highest sensitivity with scar features and negative sliding sign (65%) and maximum specificity with negative sign and its several combinations (97% - 99%).⁸ They also reported highest positive predictive value with negative sign sliding and its combinations. The value of all three parameters and their combinations were reported to be the same in this study in terms of estimating the negativity.

Adhesion formation is common after cesarean sections and is reported to be around 7% after first and 68% after third cesarean section.⁹ In our cohort more severe adhesions were observed in patients with higher number of cesarean sections. Severe intraabdominal adhesions were associated with higher risk of damage to surrounding organ systems like urinary and

gastrointestinal tract, longer surgical duration, severe blood loss and poorer perinatal outcomes.^{5,10} Knowing the degree of adhesions prior to the surgery may help surgeons in getting well-prepared preoperatively.

Neonatal outcomes are also affected by the presence of intraabdominal adhesions. Since fetal delivery may be delayed in the presence of severe adhesions, and also if the adhesions are known preoperatively, the preparation of the neonatal specialists constitutes the main reasons for its effect on neonatal outcomes. Absence of sliding sign was significantly associated with extended skin-to-delivery time and worse 5-min APGAR scores.¹¹ Extensively long delivery time was observed with each repeat cesarean section due to intraabdominal adhesions, reporting a retardation of 5.6 minutes in the second and 18.1 minutes in the fourth cesarean section, which is a relatively long delay that could lead to neonatal compromise in some circumstances.² Umbilical artery blood pH ≤ 7.1 and lower 5-minutes APGAR scores were seen in patients with dense adhesions.¹²

The use of technique was safe in obese patients. Performers did not report technical difficulties in evaluating the sliding sign in patients with high body mass index.⁵ In our cohort, 26 (13%) patients had BMI over 30 however the sonographer (SS) did not report any difficulties compared to patients with normal BMI.

Limitations of this study, the major strength of our study is its prospective design. Besides, to our knowledge it is the research with the highest number participants in the literature about this subject. Our study limitation is that it was conducted in a single center.

In conclusion, ultrasonographic evaluation of sliding sign which is an easy and reliable method may be used as a tool for foreseeing presence of intraperitoneal adhesions in repeat cesarean sections with reliable results.

Compliance with Ethical Standards

The study protocol was approved by the Tekirdag Dr Ismail Cemil Cumalioglu City Hospital Clinical Research Ethics Committee (Date: 12.05.2023, No: 40).

Conflict of Interest

The authors declare there are no conflicts of interest—financial or otherwise—related to the material presented herein.

Author Contribution

MD, CY, SBA: The concept and design of the study and manuscript preparation, editing, and review; SS: Ultrasonographic evaluations; MD: Surgical procedures; MD, SS: Data acquisition. Data analysis and interpretation were performed by all the authors. Statistical analysis was performed by all authors.

Financial Disclosure

None

References

1. Shinar S, Walsh L, Roberts N, et al. Timing of cesarean delivery in women with ≥ 2 previous cesarean deliveries. *Am J Obstet Gynecol*. 2022;226(1):110.e1-110.e10. doi:10.1016/j.ajog.2021.07.018
2. Morales KJ, Gordon MC, Bates GW Jr. Postcesarean delivery adhesions associated with delayed delivery of infant. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196: 461.e1–461.e6.
3. Visconti F, Quaresima P, Rania E, et al. Difficult caesarean section: A literature review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2020;246:72-78. doi:10.1016/j.ejogrb.2019.12.026
4. Young SW, Dahiya N, Yi J, et al. Impact of Uterine Sliding Sign in Routine United States Ultrasound Practice. *J Ultrasound Med*. 2021;40(6):1091-1096. doi:10.1002/jum.15484
5. Baron J, Tirosh D, Mastrolia SA, et al. Sliding sign in third-trimester sonographic evaluation of intra-abdominal adhesions in women undergoing repeat Cesarean section: a novel technique. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018;52(5):662-665. doi:10.1002/uog.19057
6. Hudelist G, Fritzer N, Staettner S, et al. Uterine sliding sign: a simple sonographic predictor for presence of deep infiltrating endometriosis of the rectum. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013;41(6):692-695. doi:10.1002/uog.12431
7. Sheth SS, Shah NM, Varaiya D. A sonographic and clinical sign to detect specific adhesions following cesarean section. *J Gynecol Surg* 2008; 24: 27–36.
8. Mokhtari M, Yaghmaei M, Akbari Jami N, et al. Prediction of Intraperitoneal Adhesions in Repeated Cesarean Section Using Sliding Sign, Striae Gravidarum, and Cesarean Scar. *Med J Islam Repub Iran*. 2022;36:44. Published 2022 May 2. doi:10.47176/mjiri.36.44
9. Abd-Elaal NK, Kelani OA, Saif-Elnasr IA, et al. The Relationship Between Striae Gravidarum and Intra-abdominal Adhesions In Pregnant Women With Previous Cesarean Section. *J Curr Res*. 2018;10(1):64521-64527
10. Ayachi A, Bouchahda R, Derouich S, et al. Accuracy of preoperative real-time dynamic transvaginal ultrasound sliding sign in prediction of pelvic adhesions in women with previous abdominopelvic surgery: prospective, multicenter, double-blind study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018;51(2):253-258. doi:10.1002/uog.17465
11. Charernjiratragul K, Suntharasaj T, Pranpanan S, et al. Preoperative sonographic sliding sign for prediction of intra-abdominal adhesions before repeat cesarean delivery. *Int J Gynaecol Obstet*. 2023;161(1):250-254. doi:10.1002/ijgo.14512
12. Doherty DA, Magann EF, Chauhan SP, et al. Factors affecting caesarean operative time and the effect of operative time on pregnancy outcomes. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2008; 48: 286–291. doi:10.1111/j.1479-828X.2008.00862.x

Araştırma Makalesi | Research Article

RİTUKSİMAB DIŞI BİYOLOJİK İLAÇ KULLANAN HASTALARDA HEPATİT B SEROPREVALANSI VE REAKTİVASYON SIKLIĞI; TEK MERKEZ SONUÇLARI

HEPATITIS B SEROPREVALENCE AND REACTIVATION FREQUENCY IN PATIENTS USING BIOLOGICAL DRUGS OTHER THAN RITUXIMAB; SINGLE CENTER RESULTS

Özlem Özdemir Işık¹, Enes Başaran¹, Neslihan Gökçen¹, Duygu Temiz Karadağ¹, Ayten Yazıcı¹, Ayşe Cefle¹

¹Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Romatoloji Bilim Dalı, Kocaeli, Türkiye.



Öz

Amaç: Biyolojik ilaçlar, romatolojide önemli tedavi alternatifleridir. Bu ilaçların kullanımı sırasında hepatit B reaktivasyonu gelişebilmektedir. Rituksimab (RTX) dışı biyolojik ilaçlarla hepatit B reaktivasyon sıklığı net değildir. Çalışmada, RTX dışı biyolojik ilaç tedavisi alan hastalarda hepatit B seroprevalansı ve reaktivasyon sıklığını değerlendirmek amaçlanmıştır.

Yöntem: 2010-2022 yılları arasında farklı endikasyonlarla RTX dışı biyolojik ilaç tedavisi alan 170 hastanın HBsAg, anti-HBs, anti-HBcIgG verileri retrospektif olarak incelendi. Reaktivasyon açısından viral yük, karaciğer enzim yüksekliği ve HBeAg reversionu değerlendirildi.

Bulgular: Hastaların %53,5'i erkek, yaş ortalamaları 47,4±10,6 yıl idi. Tüm grupta hastaların %80'i anti-tümör nekroz faktör (TNF), %20'si TNF dışı biyolojik ilaç tedavisi kullanılmaktaydı. HBsAg (+) olanlar grup 1 (%2,9), HBsAg (-), anti-HBs (+) ve anti-HBcIgG (+) olanlar grup 2 (%7,6), anti-HBcIgG (+) olanlar grup 3 (%8,2), viral serolojisi negatif olanlar grup 4 (%67,1) ve aşı ile bağışıklanmış anti-HBs (+) olanlar ise grup 5 (%14,1) olarak sınıflandırıldı. Grup 1'deki hastalar antiviral tedavi almaktaydı. Diğer gruplarda antiviral profilaksi tedavisi alan yoktu. Grup 3'te ankilozan spondilit tanısı ile takip edilen ve infliximab tedavisi alan bir hastada reaktivasyon gözlemlendi.

Sonuç: RTX dışı biyolojik ilaç kullanan hastalarda reaktivasyon orta riskli gösterilmektedir. Çalışmamızda reaktivasyon oldukça düşük bir oranda gözlemlenmiştir. Bununla birlikte hastalar biyolojik ilaç kullanımı öncesi tarama ve tedavi sırasında reaktivasyon açısından dikkatle takip edilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Hepatit B, Biyolojik İlaç, Hepatit B reaktivasyonu

ABSTRACT

Objective: Biological drugs are important treatment alternatives in rheumatology. Hepatitis B reactivation may develop during the use of these drugs. The frequency of hepatitis B reactivation with non-rituximab (RTX) biological drugs is not clear. In this study, we aimed to evaluate hepatitis B seroprevalence and reactivation frequency in patients receiving non-RTX biological drug treatment.

Methods: HBsAg, anti-HBs, anti-HBcIgG data of 170 patients who received non-RTX biological drug therapy for different indications between 2010 and 2022 were retrospectively analysed. Viral load, liver enzyme elevation and HBeAg reversion were evaluated in terms of reactivation.

Results: 53.5% of the patients were male and the mean age was 47.4±10.6 years. In the whole group, 80% anti-tumour necrosis factor (TNF) and 20% non-TNF biological drugs were used. Patients with HBsAg (+) were classified as group 1 (2.9%), those with HBsAg (-), anti-HBs (+) and anti-HBcIgG (+) as group 2 (7.6%), those with anti-HBcIgG (+) as group 3 (8.2%), viral serology negative patients as group 4 (67.1%) and vaccine immunised anti-HBs (+) patients as group 5 (14.1%). In group 1, patients were receiving antiviral treatment.

Antiviral prophylaxis treatment was not used in the other groups. In group 3, reactivation was observed in a patient who was followed up with a diagnosis of ankylosing spondylitis and receiving infliximab treatment.

Conclusion: Reactivation in patients using non-RTX biologic drugs is considered to be of intermediate risk. In our study, reactivation was observed at a very low rate. However, patients should be carefully monitored for reactivation during screening and treatment prior to the use of biologics.

Keywords: Hepatitis B, Biological Drug, Hepatitis B reactivation

*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Özlem Özdemir Işık; Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Romatoloji Bilim Dalı, Umuttepe, 41380, Kocaeli, Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (262) 303 75 75 e-posta/e-mail: luska80@hotmail.com

Başvuru/Submitted: 25.08.2023

Kabul/Accepted: 27.10.2023

Online Yayın/Published Online: 21.10.2023



Giriş

Biyolojik ilaçlar, genetik veya immün araçları hedef alan ilaçlardır.¹ Tümör nekroz faktörünün (TNF) tanımlanması ve bu sitokine karşı geliştirilen tedavi ajanları ile “biyolojik ilaç” kavramı gündeme gelmiştir.² Bunu diğer etki mekanizmalarına sahip biyolojik tedaviler {İnterlökin(IL)-1, IL-6, IL-17'ye karşı, B-hücre hedefli, ko-stimülasyon moleküllerine veya kinaz inhibitörleri gibi hücre içi sinyalizasyona müdahale eden ajanlar} izlemiştir.³ Günümüzde bu ajanlar romatoid artrit (RA), ankilozan spondilit (AS), psoriatik artrit (PsA) gibi pek çok hastalıkta kullanılmaktadır. Bununla birlikte bu ilaçların kullanımı sırasında hepatit B reaktivasyonu gibi yan etkiler gözlenebilmektedir.⁴ Hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonu, tedavi edilmediği durumlarda, hastaların 1/4'ünün siroz, karaciğer yetmezliği ve hepatoselüler karsinom gibi komplikasyonlarla karşılaşacağı bir tablo olarak toplum sağlığını tehdit etmektedir. Bir çalışmaya göre ülkemizde HBs Ag pozitifliği %4, anti-HBcIgG pozitifliği %30,6 saptanmıştır.⁵

İnaktif HBsAg taşıyıcısı veya iyileşmiş HBV enfeksiyonlu birinde HBV DNA'da $>1 \log_{10}$ IU/mL artış ya da HBV DNA'nın negatifken pozitif hale gelmesi ve HBeAg reversiyonu ile alanin aminotransferazda (ALT) 5 kat artış olması, HBsAg negatif ve anti-HBcIgG pozitif olan hastalarda ise serokonversiyon gelişmesi ile HBsAg'nin pozitifleşmesi ve HBV DNA'nın tespit edilebilir düzeyde olmasına “HBV reaktivasyonu” denir.⁶ Biyolojik tedavi planlanan hastalara HBV reaktivasyon riski açısından tarama önerilmektedir. Kullanılacak biyolojik ilaç ve HBV serolojisine göre bu risk dört gruba ayrılmaktadır; çok yüksek, yüksek, orta ve düşük riskli grup. Özellikle B hücre hedefli ilaçlar ile HBV reaktivasyonu riski oldukça yüksek gözükmektedir. B hücre dışı biyolojik tedaviler ile orta dereceli bir risk söz konusudur.^{7,8} Yapılan çalışmalarda anti-TNF tedaviler altında farklı oranlarda HBV reaktivasyonu gözlenmiştir.⁹⁻¹²

Çalışmadaki amacımız romatoloji polikliniğinde takip edilen ve RTX dışı biyolojik ilaç tedavisi alan hastalarda hepatit B seroprevalansı ve reaktivasyon sıklığını değerlendirmektir.

Yöntem

2010-2022 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi romatoloji polikliniğinde farklı endikasyonlarla en az 1 yıl süre ile, RTX dışı biyolojik ilaç tedavisi alan, 18-75 yaş arası, 170 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların klinik, demografik, laboratuvar verileri kendilerine ait dosyalardan ve hastane veri sistemi üzerinden retrospektif olarak incelendi. Hastaların biyolojik ilaç tedavisi öncesi ve son 1 yıllık dönemdeki HBsAg, anti-HBs, anti-HBcIgG verileri değerlendirildi. Özellikle HBsAg ve anti-HBcIgG pozitif hastaların takiplerinde reaktivasyon açısından bakılan HBV DNA ile viral yük, karaciğer enzim yüksekliği ve HBeAg reversiyonu kaydedildi. Biyoloji tedavi öncesi ve tedavi başladıktan sonraki takiplerde hepatit serolojisi eksik olan hastaların verileri çalışmaya dışarıda bırakıldı.

Mevcut takip süresince antiviral ilaç alımı sorgulandı ve kaydedildi. Hastalar HBV serolojisine göre 5 alt grupta değerlendirildi. Buna göre; grup 1 HBsAg (+) hastalar, grup 2 doğal bağışıklığı olan HBsAg (-), anti-HBs (+) ve anti-HBcIgG (+) hastalar, grup 3 HBsAg (-), anti-HBs (-), anti-HBcIgG (+) hastalar, grup 4 viral göstergeleri negatif olan hastalar ve grup 5 aşı ile bağışıklanmış anti-HBs (+) hastalar olarak sınıflandırıldı.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel değerlendirme IBM SPSS 20.0 paket programı ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile değerlendirilmiştir. Sayısal değişkenler ortalama \pm standart sapma ve medyan (IQR), kategorik değişkenler ise yüzde olarak verilmiştir.

Bulgular

Hastaların %53,5'i erkek olup yaş ortalamaları $47,4 \pm 10,6$ yıl idi. Hastalık tanı yaşı ortalama $30,8 \pm 10,9$, tedavi başlangıç yaşı ortalama $39,7 \pm 10,7$ yıl, tanı konulduktan sonra biyolojik tedavi başlanana kadar geçen süre median 4 (1-8) yıl, poliklinik takip süresi median 7 (4-10,5) yıl idi. Hastaların %57,6'sı AS, %24,1'i RA, %8,8'i PsA, %3,5'i Behçet hastalığı, %2,4'ü Takayasu arteriti, %3,5'i diğer hastalıklar (Ailevi Akdeniz Ateşi-juvenil RA, dev hücreli arterit, erişkin Still hastalığı) tanısı ile izlenmekteydi. Tüm grupta, %80 anti-TNF, %20 TNF dışı biyolojik ilaç (%11,8 tosilizumab, %5,9 sekukinumab, %2,4 abatacept,) kullanılmaktaydı. Biyolojik ilaç kullanım süresi 8 (5-12) yıl idi. Hastalar median 1 (1-2) biyolojik ilaç kullanmıştı; %58,8'i bir biyolojik ilaç, %20'si 2 biyolojik ilaç, %21,2'si 3 ve üzerinde biyolojik ilaç kullanmıştı.

Hastaların %2,9'u HBsAg (+) grup 1, %7,6'sı HBsAg (-), anti-HBs (+) ve anti-HBcIgG (+) grup 2, %8,2'si anti-HBcIgG (+) grup 3, %67,1'i grup 4 ve %14,1'i anti-HBs (+) grup 5 olarak sınıflandırıldı.

Grup 1'deki hastalar HBsAg pozitif, HBV DNA <2000 IU/ml ve karaciğer enzimleri normal olan inaktif taşıyıcılardı. Bu hastalar antiviral tedavi almaktaydı ve bu gruptaki hastalara belirli periyotlarla HBV DNA ile viral yük takibi yapılmıştı. Bu grupta reaktivasyon gözlenmedi.

Grup 2 ve 3'teki hastalar antiviral profilaksi tedavisi almamaktaydı. Bu gruplardaki tüm hastaların HBV DNA testi negatifti. Hastalar HBsAg serokonversiyonu açısından takip edilmekteydi.

Grup 3'te AS tanısı ile takip edilen ve infliksimab tedavisi alan bir hastanın takiplerinde HBsAg pozitifliği saptanmış, HBV DNA pozitifleşen hastaya reaktivasyon nedeniyle antiviral tedavi başlanmıştı. Hastaların verileri tablo-1 de sunulmuştur.

Grup 1'de antiviral tedavi almakta olan bir hastada viral yük artışına rağmen ($<1 \log_{10}$ IU/mL), karaciğer enzim yüksekliği, HBeAg reversiyonu olmaması nedeniyle reaktivasyon olarak değerlendirilmedi. Hastanın takiplerinde reaktivasyon gözlenmedi. Grup 4'te takip edilen tüm hastalar HBV'ye karşı aşılandı.

Tablo 1. Rituksimab dışı biyolojik tedavi alan hastaların verileri

	N (%)
Cinsiyet	
Kadın	79 (46,5)
Erkek	91 (53,5)
Tanıya Göre Biyolojik Ajan Kullanımı	
Romatoid Artrit	
İnfliksımab	5 (12,2)
Adalimumab	1 (2,4)
Etanercept	6 (14,6)
Sertolizumab	7 (17,1)
Golimumab	3 (7,3)
Tosilizumab	15 (36,6)
Abatacept	4 (9,8)
Ankilozan Spondilit	
İnfliksımab	35 (35,7)
Adalimumab	23 (23,5)
Etanercept	17 (17,3)
Sertolizumab	7 (7,1)
Golimumab	10 (10,2)
Sekukinumab	6 (6,1)
Psoriatik Artrit	
İnfliksımab	2 (13,3)
Adalimumab	6 (40)
Etanercept	2 (13,3)
Sekukinumab	4 (26,7)
Golimumab	1 (6,7)
Behçet Hastalığı	
İnfliksımab	6 (100)
Takayasu Arteriti	
İnfliksımab	3 (75)
Tosilizumab	1 (25)
Diğer (AAA-JRA /DHA/Erşkin Başlangıçlı Still Hastalığı)	
Tosilizumab	6 (100)
Viral Belirteçlere Göre Gruplar	
Grup 1	5 (2,9)
Grup 2	13 (7,6)
Grup 3	14 (8,2)
Grup 4	114 (67,1)
Grup 5	24 (14,1)
Profilaktik Antiviral Tedavi Alanlar	
Grup 1	5 (2,9)
Grup 2	0
Grup 3	0
Hepatit B Reaktivasyon Oranı	
Grup 1	0
Grup 2	0
Grup 3	1 (7,1)

AAA:Ailevi Akdeniz Ateşi, JRA:Juvenil Romatoid Artrit, DHA:Dev Hücreli Arterit

Tartışma

Çalışmamızda RTX dışı biyolojik ilaç kullanan hastalarımızın büyük oranda (%67,1) HBV serolojisi negatif olan aşısız hastalar oldukları gözlemlendi. Bu hastalar aşılama programı için takip edildikleri aile sağlığı merkezlerine yönlendirildi.

Hastalarımızda HBsAg pozitiflik oranı %2,9 saptandı ve bu hastalar inaktif taşıyıcı durumundaydı. Ülkemizde yapılan çalışmalarda HBsAg pozitifliği %2,5-4 aralığındadır¹³⁻¹⁵ ve bu sonuçlar çalışmamız ile uyumludur. Bununla birlikte anti-HBcIgG pozitifliği çalışmamızda, ülkemizde yapılan çok merkezli çalışma⁵ sonuçlarına göre oldukça düşük gözlemlendi (sırasıyla %15,8 ve %30,6). Ülkemizde HBV prevalansının batıdan doğuya doğru giderek arttığı bilinmektedir, çalışmanın yapıldığı bölge göz önüne alındığında, HBcIgG'nin daha düşük saptanmış olması bununla açıklanabilir. Hastalarımızın büyük çoğunluğunun (%67,1) HBV serolojisi negatif hastalardan oluşması da bu bölgede daha az HBV enfeksiyonu olduğunu destekler gibi görünmektedir.

Romatoloji hastalarının takiplerinde biyolojik ilaç başlanmadan önce bazı hastalıklar için tarama ve gerektiğinde profilaktik tedavi önerilmektedir.¹⁶ Bu nedenle tüm hastalarımıza biyolojik tedaviler öncesinde HBV açısından tarama yapılmaktadır. Hastalarımızın büyük çoğunluğu (%80) biyolojik ilaç olarak anti-TNF ilaçlar kullanmaktadır.

TNF- α , enfeksiyöz ajanlara karşı proinflamatuvar bir sitokin olarak konakçının savunma mekanizmasında önemli bir rol oynar. TNF- α , HBV'ye özgü sitotoksik T lenfositleri aracılığıyla HBV replikasyonunun inhibisyonunda görev alır.¹⁷ TNF- α 'nın baskılanması, HBV ile enfekte hepatosit klirensini azaltarak HBV reaktivasyonun yol açabilir.¹⁸

Hastalarımızın sadece birinde HBV reaktivasyonu gözlenmiş olup bu hasta anti-TNF tedavi almaktaydı. Antiviral tedavi sadece inaktif taşıyıcı hastalarımız tarafından kullanılmaktaydı; grup 2 ve 3'te profilaksi tedavisi verilmemiş olmasına rağmen reaktivasyon sıklığı oldukça düşük saptanmıştır.

Ayar ve ark.⁹'nın çalışmasında 275 hasta verisi incelenmiş, 41 hastada uygulanan 53 biyolojik ilaç (%52 anti-TNF geri kalan TNF dışı biyolojikler) tedavi kürü değerlendirilmiş ve sadece bir hastada reaktivasyon saptanmıştır. Bu hastanın tosilizumab tedavisi aldığı, tedavi başlangıcında anti-HBcIgG ve HBV DNA testlerinin pozitif olduğu ve antiviral tedavisini düzensiz kullandığı belirtilmiştir.

Bozkurt ve ark.¹⁰'nın çalışmasında anti-TNF ilaç öncesi HBV serolojisi bilinen 410 hasta değerlendirilmiş, 61 hasta reaktivasyon açısından takip edilmiş ve bir hastada reaktivasyon gözlenmiştir. Hasta AS nedeniyle anti-TNF ilaç kullanan ve kronik HBV enfeksiyonu nedeniyle düzensiz antiviral tedavi almakta olan bir hasta olarak sunulmuştur.

Sayar ve ark.¹⁹'nın çalışmasında da anti-TNF kullanan 653 hastadan geçmişte HBV enfeksiyonu geçiren (HBsAg negatif, anti-HBcIgG pozitif, anti-HBs negatif veya pozitif) ve antiviral tedavi almayan 90 hasta, karaciğer fonksiyon testi ve viral yük takibi ile reaktivasyon açısından değerlendirilmiş ve hiçbir hastada reaktivasyon gözlenmemiştir. Ülkemize ait bu veriler çalışmamızla uyumlu bulunmuştur ve sonuçlar anti-TNF tedavi alanlarda profilaktik tedavi verilmeden de düşük bir reaktivasyon oranı olduğunu göstermektedir.

Bununla birlikte Lee ve ark.¹¹'nin yaptığı bir metaanalizde, romatolojik hastalık nedeniyle anti-TNF tedavi alan, HBsAg negatif ve anti-HBc pozitif 468 hastanın verileri 9

çalışma üzerinden değerlendirilmiş ve 8 (%1,7) hastada HBV reaktivasyonu gözlenmiştir. Bu oran çalışmamıza göre yüksektir.

TNF dışı ilaçlardan tosilizumab ile yapılan çalışmalarda HBV reaktivasyonu açısından farklı sonuçlar elde edilmiştir. Ahn ve ark.'nın²⁰ çalışmasında 39 RA hastasından 15'i HBsAg negatif ve anti-HBc pozitif seroloji ile izlenmiş ve tosilizumab tedavisi altında reaktivasyon gözlenmemiştir. Kuo MH ve ark.'nın²¹ çalışmasında ise 7'si HbsAg pozitif 64 hasta, HBsAg negatif ve anti-HBc pozitif olan 97 RA hastası 9 yıl boyunca izlenmiş ve HbsAg pozitif grupta 3, diğer grupta ise 1 hastada reaktivasyon gözlenmiştir. Bu nedenle tosilizumab altında HBV reaktivasyonu olabileceği göz önünde bulundurulmalı sonucuna varılmıştır.

Diğer bir TNF dışı ilaç olan abatacept kullanımı ile HBV reaktivasyonu sıklığına dair uluslararası farmakovijilans veritabanı kullanılarak retrospektif bir çalışma yapılmıştır. Wang ve ark.'nın²² bu çalışmasına göre 1 Ocak 2006 ve 30 Haziran 2021 tarihleri arasında 2886 ilaç ilişkili HBV reaktivasyonu gözlenmiş ve bunların 55 tanesi abatacept ile ilişkili bulunmuştur. Abatacept maruziyeti ile HBV reaktivasyonu arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir.

Megna ve ark.²³ sekukinumab ile tedavi edilen 60 psoriasis hastasını ortalama bir yıllık tedavi sonrasında, HBV ve HCV reaktivasyonu açısından değerlendirmişlerdir. Bu hastaların 13'ünde HbsAg pozitif, 19'unda anti-HbcIgG pozitif ve 30'unda anti-HCV pozitif olduğu belirtilmiş ve takip sonrasında, sadece bir hastada hem HBV hem HCV reaktivasyonu gözlemlendiği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda TNF dışı biyolojik ilaçlar ile reaktivasyon gözlenmemiştir.

Çalışmamızın az sayıda olgu içermesi ve retrospektif dizaynı kısıtlı yanlarıdır; bununla birlikte uzun takip süresine sahip hastaların çalışmaya dahil edilmesi ve hastaların hem tedavi başlangıcında hem de takiplerde HBV serolojisi, karaciğer enzimleri ile ve gerekli durumlarda HBV DNA ile izlemi güçlü bir yönüdür.

Sonuç olarak, RTX dışı biyolojik ilaçların HBV reaktivasyonu açısından orta risk taşıdığı bilinmekle birlikte, çalışmamız ve diğer çalışma verileri göz önüne alındığında gerçek yaşamda özellikle anti-TNF ilaçlarla reaktivasyonun oldukça düşük olduğu görülmektedir. Bununla birlikte TNF dışı biyolojik ajanlar ile ilgili destekleyici daha fazla yayına ihtiyaç vardır. Hastaların biyolojik ilaç başlanmadan önce rehberler eşliğinde viral hepatit taramasının yapılması ve gerekli durumlarda ilaç kullanımı önem taşımaktadır.

Açıklamalar

EULAR 2023'te poster olarak yayınlanmıştır (AB0016).

Etik Standartlara Uygunluk

Kocaeli Üniversitesi etik kurulu çalışma protokolünü onaylamıştır (Tarih:10-Nisan-2023, Onay Numarası: 2023/90).

Çıkar Çatışması

Bu çalışmada herhangi bir kişi/kurum ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Yazar Katkısı

OOI, EB ve DTK: Çalışma fikri, hipotez, çalışma tasarımı; OOI, EB ve NG: Materyal hazırlama, veri toplama ve analizi; DTK : İstatistik, OOI: Makalenin ilk taslağının yazılması; OOI, AY ve AC: Makalenin son haline getirilmesi ve yayın sürecinin eleştirel incelemesi.

Finansal Destek

Bu çalışma hiçbir kuruluş tarafından desteklenmemiştir.

Kaynaklar

1. Staren ED, Essner R, Economou JS. Overview of biological response modifiers. *Semin Surg Oncol.* 1989;5(6):379–384. doi: 10.1002/ssu.2980050603.
2. Maini R, St Clair EW, Breedveld F et al. Infliximab (chimeric anti-tumour necrosis factor alpha monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomitant methotrexate: a randomised phase III trial. ATTRACT Study Group. *Lancet.* 1999 4;354(9194):1932-1939. doi: 10.1016/s0140-6736(99)05246-0.
3. Siebert S, Tsoukas A, Robertson J, McInnes I. Cytokines as therapeutic targets in rheumatoid arthritis and other inflammatory diseases. *Rheumatol Rev.* 2015;67(2):280-309. doi: 10.1124/pr.114.009639).
4. Ramiro S, Gaujoux-Viala C, Nam JL et al. Safety of synthetic and biological DMARDs: a systematic literature review informing the 2013 update of the EULAR recommendations for management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2014 ;73(3):529-535.doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204575.
5. Tozun N, Ozdogan O, Cakaloglu Y, et al. Seroprevalence of hepatitis B and C virus infections and risk factors in Turkey: A fieldwork TURHEP study. *Clin Microbiol Infect.* 2015 ;21(11):1020-1026.doi: 10.1016/j.cmi.2015.06.028.
6. Pattullo V. Prevention of Hepatitis B reactivation in the setting of immunosuppression. *Clin Mol Hepatol.* 2016 ;22(2):219-237.doi: 10.3350/cmh.2016.0024.
7. Reddy KR, Beavers KL, Hammond SP, Lim JK, Falck-Ytter YT ;American Gastroenterological Association Institute. American gastroenterological association institute guideline on the prevention and treatment of hepatitis B virus reactivation during immunosuppressive drug therapy. *Gastroenterology.* 2015 ;148(1):215-219; quiz e16-7.doi: 10.1053/j.gastro.2014.10.039.
8. Raimondo G, Filomia R, Maimone S. Therapy of occult hepatitis B virus infection and prevention of reactivation. *Intervirolgy.* 2014;57(3-4):189-95. doi:10.1159/000360943
9. Ayar K, Asan A, Hattatoğlu DT. Evaluation of Hepatitis B Seroprevalence and Hepatitis B Reactivation Frequency in Rheumatology Patients Using Biological Drug Therapy. *Klimik Journal.* 2021; 34(1): 42-49.doi: 10.36519/kd.2021.08
10. Bozkurt İ, Bektaş A. Anti-TNF alfa kullanan hastalarda hepatit B reaktivasyonunun değerlendirilmesi. *Dicle Med J.* 2019; 46(3): 553 – 557
11. Lee YH, Bae SC, Song GG. Hepatitis B virus (HBV) reactivation in rheumatic patients with hepatitis core antigen (HBV occult carriers) undergoing anti-tumor necrosis factor therapy. *Clin Exp Rheumatol.* 2013 ;31(1):118-121.
12. Lee JM, Wei SC, Lee KM et al. Clinical Course of Hepatitis B Viral Infection in Patients Undergoing Anti-Tumor Necrosis

- Factor α Therapy for Inflammatory Bowel Disease. *Gut Liver*. 2022;16(3):396-403.doi: 10.5009/gnl210081.
13. Igde FA, Taskin H, Igde M, Yazici Z, Atilla A. Where we are in the fight against hepatitis B infection: Trends in hepatitis B virus seroprevalence in Black Sea Region of Turkey. *Niger J Clin Pract*. 2018; 21(1): 87-92. doi: 10.4103/njcp.njcp_368_16.
 14. Akcam FZ, Uskun E, Avsar K, Songur Y. Hepatitis B virus and hepatitis C virus seroprevalence in rural areas of the southwestern region of Turkey. *Int J Infect Dis*. 2009; 13(2): 274-284. doi: 10.1016/j.ijid.2008.07.005.
 15. Altay T, Uskun E, Akcam FZ. Seroprevalence of hepatitis B surface antigen and its correlation with risk factors among new recruits in Turkey. *Braz J Infect Dis*. 2012; 16(4): 339-344. doi: 10.1016/j.bjid.2012.06.003.
 16. Karadağ Ö, Kaşifoğlu T, Özer B, et al. Romatolojik hastalarda biyolojik ilaç kullanımı öncesi (viral) hepatit tarama kılavuzu. *RAED Derg*. 2015; 7(1):28-32. doi:10.2399/raed.15.40085
 17. Guidotti LG, Ishikawa T, Hobbs MV, Matzke B, Schreiber R, Chisari FV. Intracellular inactivation of the hepatitis B virus by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity*. 1996; 4(1): 25-36 doi: 10.1016/s1074-7613(00)80295-2.
 18. Peng G, Li S, Wu W, Tan X, Chen Y, Chen Z. PD-1 upregulation is associated with HBV-specific T cell dysfunction in chronic hepatitis B patients. *Mol Immunol*. 2008; 45(4): 963-970. doi: 10.1016/j.molimm.2007.07.038
 19. Sayar S, Kürbüz K, Kahraman R et al. Risk of hepatitis B reactivation during anti-TNF therapy; evaluation of patients with past hepatitis B infection. *Turk J Gastroenterol*. 2020;31(7):522-528. doi: 10.5152/tjg.2020.19295.
 20. Ahn SS, Jung SM, Song JJ, Park YB, Park JY, Lee SW. Safety of tocilizumab in rheumatoid arthritis patients with resolved hepatitis B virus infection: Data from real-world experience. *Yonsei Med J*. 2018; 59(3): 452-456. doi: 10.3349/ymj.2018.59.3.452.
 21. Kuo MH, Tseng CW, Lu MC et al. Risk of Hepatitis B Virus Reactivation in Rheumatoid Arthritis Patients Undergoing Tocilizumab-Containing Treatment. *Dig Dis Sci*. 2021;66(11):4026-4034. doi: 10.1007/s10620-020-06725-1.
 22. Wang J, Zhang X, Geng X et al. Risk of hepatitis B virus reactivation following treatment with abatacept: A retrospective study of international pharmacovigilance databases. *EClinicalMedicine*. 2022 5;48:101425. doi: 10.1016/j.eclinm.2022.101425.
 23. Megna M, Patruno C, Bongiorno MR et al. Hepatitis Virus Reactivation in Patients with Psoriasis Treated with Secukinumab in a Real-World Setting of Hepatitis B or Hepatitis C Infection. *Clin Drug Investig*. 2022 ;42(6):525-531. doi: 10.1007/s40261-022-01163-5.



Araştırma Makalesi | Research Article

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ HASTALARINDA PRO-ATEROJENİK LİPİD PROFİLİ VE ATEROJENİK İNDEKSİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ASSESSMENT OF PRO-ATHEROGENIC LIPID PROFILE AND ATHEROGENIC INDEX IN PATIENTS WITH FAMILIAL MEDITERRANEAN FEVER

Aysel Gürkan Toçoğlu^{1*}, Ahmed Cihad Genç¹

¹ Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Sakarya, Türkiye.



Öz

Amaç: Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) kronik inflamasyon ile karakterize bir hastalıktır. Bu hastalarında artmış sitokin maruziyeti ile birlikte kardiyovasküler hastalık (KVH) riskinde artış olması beklenir. Çalışmamızda FMF hastalarında KVH riskini belirlemek için serum lipid parametrelerini ve aterojenik indeksleri değerlendirmeyi amaçladık.

Yöntem: Çalışmada ataksız dönemdeki 102 FMF hastası ile 94 sağlıklı kontrol retrospektif olarak değerlendirildi. Katılımcıların verileri poliklinik verileri incelenerek hastane bilgi sistemi üzerinden kayıt edildi. Aterojenik indeksler lipid değerleri kullanılarak hesaplandı. FMF hastaları subklinik inflamasyonun varlığına göre iki gruba ayrıldı.

Bulgular: Total kolesterol (TK), düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL), aterojenik katsayı (AK), Castelli risk indeksi I ve II (CRI-I ve II) düzeylerinin FMF grubunda sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha düşük olduğu tespit edildi ($p < 0,001$). FMF hastaları subklinik inflamasyon varlığına göre iki gruba ayrıldığında yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL) düzeyinin subklinik inflamasyonu olan grupta olmayana göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha düşük olduğu ($p = 0,002$), AK, CRI-I ve II düzeylerinin ise daha yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0,05$). FMF hastalarında aterojenik indekslerle diğer parametreler arasındaki ilişkiyi tespit etmek amacıyla yapılan korelasyon analizinde plazma aterojenik indeksi, AK, CRI-I ve II düzeyleriyle sedimentasyon, trigliserid, LDL ve TK arasında istatistiksel olarak anlamlı oranda pozitif korelasyon, HDL ile negatif korelasyon olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Sonuç: Bu çalışmada düzenli kolşisin tedavisi alan FMF hastalarında erken ateroskleroz belirteçlerinin bozulmadığı, ataksız dönemde özellikle subklinik inflamasyonu olan FMF hastalarında ise artmış ateroskleroz riski olduğu görüldü. FMF hastalarında aterosklerotik KVH'nin öngörülmesinde ek belirteçler olarak AK, CRI-I ve II indekslerinin kullanılabilceği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Ailevi Akdeniz Ateşi, plazma aterojenik indeksi, aterojenik katsayı, Castelli Risk İndeksi I, Castelli Risk İndeksi II

ABSTRACT

Objective: Familial Mediterranean Fever (FMF) is a disease characterized by chronic inflammation. FMF patients are expected to have an elevated risk of cardiovascular disease (CVD) associated with increased cytokine exposure. In this study we aimed to assess serum lipid parameters and atherogenic indices in order to determine the CVD risk in FMF patients.

Methods: A retrospective analysis of 102 FMF patients during the attack free period, and 94 healthy controls was performed. Patient data were retrieved from the charts and recorded to the hospital information system. Atherogenic indices were calculated by using lipid values. FMF patients were separated into two groups according to the presence or absence of subclinical inflammation.

Results: Total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL), atherogenic coefficient (AC), Castelli risk index I and II (CRI-I and II) were statistically significantly lower in the FMF group compared to the healthy controls ($p < 0.001$). When FMF patients were separated into two groups based on the presence of subclinical inflammation, high density lipoprotein cholesterol (HDL) level was lower in the group with subclinical inflammation compared to the one without ($p = 0.002$), whereas AC, CRI-I and II levels were higher ($p < 0.05$). A correlation analysis made to determine the relationship between atherogenic indices and other parameters in FMF patients revealed that there was a statistically significant positive correlation between AC, CRI-I and II versus sedimentation, triglyceride, LDL and TC, and a negative correlation with HDL ($p < 0.05$).

Conclusion: This study showed that FMF patients under regular colchicine treatment did not have a deterioration in early atherosclerosis markers. On the other hand, FMF patients between the attacks, especially those who have subclinical inflammation, had increased risk of atherosclerosis. It was seen that AC, CRI-I and II indices could be used as additional markers to predict atherosclerotic CVD in FMF patients.

Keywords: Familial Mediterranean Fever, plasma atherogenic index, atherogenic coefficient, Castelli Risk Index I, Castelli Risk Index II,

*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Aysel Gürkan Toçoğlu; Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Adnan Menderes caddesi No:195, Adapazarı, Sakarya Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (544) 442 16 89 e-posta/e-mail: agurkan@sakarya.edu.tr

Başvuru/Submitted: 25.08.2023

Kabul/Accepted: 15.10.2023

Online Yayın/Published Online: 21.10.2023



Giriş

Ailevi Akdeniz Ateği (Familial Mediterranean Fever, FMF) tekrarlayan ateş atakları ve serozal yüzeylerin inflamasyonu ile karakterize, otozomal resesif geçişli otoinflamatuvar bir hastalıktır. Prevelansı binde 0,1-1 arasında değişir.^{1,2} Ataklar kendini genellikle 24-72 saat içerisinde sınırlar. FMF gelişimden sorumlu gen 16. kromozomun kısa kolunda yer alan MEFV (Mediterranean fever) genidir ve anti-inflamatuvar aktivitesi olan pirini kodlar.³ MEFV genindeki anormal mutasyonlar pirin proteinin anormal sentezine neden olarak inflamasyonun baskılanmasına engel olur. Mutasyon sonucu FMF'in kardiyometabolik komplikasyonlarının patogenezinde başlıca rol alan, önemli bir inflamatuvar sitokin olan IL-1 β salınımı spontan olarak artar.⁴ Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında remisyon döneminde olan FMF hastalarında dahi proinflamatuvar sitokinlerin düzeyi yüksek olarak tespit edilmiştir.⁵ Kronik inflamasyonun varlığı erken aterom plak oluşumu da dahil plak instabilitesi, trombüs oluşumu ve kardiyovasküler olay gelişimi gibi aterosklerozun tüm evrelerine katkıda bulunur.⁶ Sistemik inflamasyon ile seyreden Sistemik Lupus Eritamatozus, Antifosfolipid Sendromu ve Romatoid Artrit'li hastalarda erken ateroskleroz ile ilişkili mortalite oranlarının arttığı bildirilmiştir.⁷ FMF'de erken aterosklerozu araştıran çalışmalar sınırlıdır ve sonuçları tartışmalıdır.^{8,9}

Serum lipid seviyesindeki anormallikler koroner arter hastalığının (KAH) gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. Geleneksel olarak aterojenik lipid profili artmış total kolesterol (TK), trigliserid (TG), düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL) ve azalmış yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolden (HDL) oluşur. Son yıllarda erken ateroskleroz belirteçlerini belirlemeye yönelik önemli çalışmalar yapılmıştır. Plazma aterojenik indeksi (PAI), TG'nin HDL'ye oranının logaritmik dönüşümüdür ve aterosklerotik kalp hastalığı ve kardiyak risk için kullanılan iyi bir belirteç olarak önem kazanmıştır.¹⁰ PAI'nın hastalık aktivitesi ile minimum seviyede değişkenlik gösterebileceği bildirilmiş ve EULAR tarafından romatizmal hastalıklarda aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkların (KVH) risk tahmininde kullanılması önerilmiştir.¹¹ Yeni yapılan çalışmalarda PAI dışında serum lipid seviyeleri kullanılarak aterojenik katsayı (AK), Castelli risk indeksleri I ve II (CRI-I ve II) gibi yeni pro-aterojenik parametreler elde edilmiş ve aterosklerotik vakalarda daha iyi prognoz göstergeleri olarak kullanılmışlardır.¹²⁻¹⁴

Literatürde FMF hastalarında kardiyak riski değerlendirmek için lipid seviyelerinin ve aterojenik risk indekslerinin kullanıldığı sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmanın amacı FMF hastalarında KVH riskini belirlemek için bir bütün olarak serum lipid parametrelerini ve aterojenik indeksleri değerlendirmektir.

Yöntem

Sakarya Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi Dahiliye ve/veya Romatoloji Polikliniği'ne 1 Ocak-30 Haziran 2023 tarihlerinde arasında başvuran, Tel Hashomer Kriterlerine göre FMF tanısı konulup takip edilen, ataksız dönemdeki 18-65 yaş arası 102 FMF hastası ile dahiliye polikliniğine rutin kontrol amaçlı başvuran, yaş ve cinsiyet olarak benzer özelliklere sahip 94 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi. Bilinen sigara, alkol kullanan, ek komorbiditesi, gebelik öyküsü, son 3 ay içerisinde enfeksiyöz hastalık geçirme öyküsü olan ve FMF atak dönemindeki hastalar çalışma dışı bırakıldı. Bu çalışma Helsinki Deklorasyonu'na uygun olarak yapıldı. Çalışmada yer alan tüm uygulamalar, Sakarya Üniversitesi Yerel Etik Kurulu tarafından 25.08.2023 tarihinde onaylandı (Etik kurul numarası: E-71522473-050.01.04-275956-265). Çalışmanın retrospektif olması nedeniyle bilgilendirilmiş onam formu alınmadı.

Demografik ve Laboratuvar Verileri

Katılımcıların yaş, cinsiyet, laboratuvar tetkikleri, hastalık süresi, aile öyküsü, kolşisin kullanımı ve dozu gibi verileri poliklinik dosyaları incelenerek hastane bilgi sistemi üzerinden retrospektif olarak kayıt edildi. Boy-kilo ölçümü poliklinik kayıtlarından elde edilip vücut kitle indeksi (VKİ) (kg/m²) hesaplandı. En az 8 saat süren açlıktan sonra alınan kan örneklerinden elde edilen hemogram parametreleri, glukoz, TG, TK, LDL, HDL, C-reaktive protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), fibrinojen, amiloid-A değerleri çalışmaya dahil edildi. PAI (log₁₀ TG/HDL), AK (HDL dışı kolesteroller/HDL), CRI-I (TK/HDL) ve CRI-II (LDL/HDL) serum lipid değerleri kullanılarak hesaplandı. FMF hastaları subklinik inflamasyonun varlığına göre 2 gruba ayrıldı. Ataksız dönemdeki hastada en az bir akut faz reaktanı yüksekliği (lökosit>10 K/uL; ESH>20 mm/h; CRP>6 mg/L; fibrinojen>4 g/dL) subklinik inflamasyon olarak tanımlandı.^{15,16}

İstatistiksel Analiz

Çalışma popülasyonunun temel özelliklerini kapsayacak şekilde bir anlam sağlamak amacıyla tanımlayıcı analizler uygulandı. Olasılık ve histogram grafikleri ile Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri kullanılarak verilerin dağılım özellikleri belirlendi. Parametrik dağılım özelliği taşıyan değerşkenlerin iki grup arasındaki karşılaştırılmasında Bağımsız Örneklem T-Testi kullanıldı ve ortalama değer beraberinde standart sapma ile ifade edildi. İki farklı grup arasındaki kategorik değerşkenlerin karşılaştırması için Ki-kare testi kullanıldı. Kategorik değerşkenler sayı ve yüzde şeklinde sunuldu. Her iki değerşkenin de normal dağılıma sahip olduğu göz önüne alındığında, Pearson korelasyon katsayısı ile buna eşlik eden anlamlılık düzeyleri hesaplandı. İstatistiksel anlamlılığı belirtmek için p<0,05 anlamlılık eğiği kabul edildi. Tüm istatistiksel analizler IBM SPSS yazılımı (Sürüm 22.0) kullanılarak gerçekleştirildi.

Bulgular

Çalışmaya 102 (%52,04) FMF hastası ve 94 (%47,96) sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 196 kişi dahil edildi. FMF ve sağlıklı gruptaki katılımcıların demografik, antropometrik ve laboratuvar parametreleri Tablo 1'de özetlendi. FMF grubunun yaş ortalaması 36,51±9,80, sağlıklı grubun 37,63±8,06 yılı (p=0,383). FMF hastalarının şikayet süresi ortalama 15,34±9,40, tanı süresi ortalama 7,90±6,41 yılı. Hastaların 28 (%27,5)

tanesinde apendektomi öyküsü, 58 (%56,9) tanesinde FMF pozitif aile öyküsü mevcuttu. 93 (%92,2) hasta kolşisin kullanıyordu ve ortalama kolşisin dozu 1,09±0,51 mg'dı. Biyokimyasal parametreler ve aterosjenik indeksler değerlendirildiğinde CRP ve ESH değerlerinin FMF grubunda sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek olduğu (p=0,002), TC, LDL, CRI-I, CRI-II ve AC değerlerinin ise daha düşük olduğu tespit edildi (p<0,001). AIP düzeyleri bakımından 2 grup arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,128).

Tablo 1. FMF hastalarının ve kontrol grubunun demografik verileri, laboratuvar özellikleri ve aterosjenik indeksleri

	Total (n=196)	Sağlıklı grup (n=94)	FMF grubu (n=102)	p
Cinsiyet, kadın, n(%)	130 (66,3)	61 (64,9)	69 (67,6)	0,644
Yaş, yıl	37,05±9,00	37,63±8,06	36,51±9,80	0,383
VKİ, kg/m ²	25,63±4,52	25,85±3,63	25,43±5,22	0,521
Sistol, mmHg	104,47±13,50	105,23±14,12	103,82±13,00	0,481
Diastol, mmHg	65,88±8,74	66,88±8,81	65,10±8,65	0,184
Şikayet süresi, yıl	-	-	15,34±9,40	-
Tanı süresi, yıl	-	-	7,90±6,41	-
Apendektomi, var, n(%)	-	-	28 (27,5)	-
Aile öyküsü, var, n(%)	-	-	58 (56,9)	-
Kolşisin kullanımı, var, n(%)	-	-	93 (92,2)	-
Kolşisin dozu, mg	-	-	1,09±0,51	-
1 yıldaki atak sayısı	-	-	2,67±4,98	-
Glukoz, mg/dL	89,52±11,73	90,93±8,93	88,22±13,74	0,101
CRP, mg/L	6,60±23,45	1,35±3,42	11,39±31,58	0,002
ESH, mm/h	13,36±13,28	10,39±8,58	16,08±16,00	0,002
Lökosit, K/uL	7,11±1,98	7,11±1,90	7,11±2,06	0,990
Fibrinojen, g/dL	-	-	2,59±0,57	-
Amiloid A, mg/L	-	-	1,49±4,03	-
TK, mg/dL	207,11±46,56	224,18±46,18	191,39±41,24	<0,001
LDL, mg/dL	131,14±36,85	146,87±37,92	116,65±29,24	<0,001
HDL, mg/dL	50,34±12,77	49,96±13,91	50,70±11,69	0,687
TG, mg/dL	128,13±89,97	136,74±96,72	120,20±82,95	0,202
PAI	0,35±0,30	0,38±0,30	0,32±0,29	0,128
CRI-I	4,34±1,16	4,79±1,47	3,94±1,12	<0,001
CRI-II	2,77±1,01	3,16±1,11	2,41±0,75	<0,001
AK	3,34±1,36	3,79±1,47	2,94±1,12	<0,001

FMF: Ailevi Akdeniz Ateşı, VKİ: vücut kitle indeksi, CRP: C-reaktif protein, ESH: eritrosit sedimentasyon hızı, TK: total kolesterol, LDL: düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol, HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolden, TG: trigliserid, PAI: Plazma aterosjenik indeksi, CRI I ve II: Castelli risk indeksleri I ve II, AK: Aterosjenik katsayı

FMF hastaları subklinik inflamasyonun varlığına göre 2 gruba ayrıldı. Ataksız dönemde olan 45 (%44,1) FMF hastasında subklinik inflamasyon varlığı tespit edilirken, 57 (%55,9) hastanın akut faz reaktanları normal sınırlar içerisindeydi (Tablo 2). Beklenenin tersine subklinik

inflamasyon olmayan grupta son bir yılda geçirilen atak sayısının subklinik inflamasyon olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha fazla olduğu görüldü (p=0,030). Hastalar akut faz reaktanları açısından değerlendirildiğinde CRP, ESH, lökosit ve fibrinojen

düzeylerinin subklinik inflamasyon olan grupta olmayana göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla $p=0,003$; $p<0,001$; $p=0,003$; $p<0,001$). Lipid parametreleri ve aterojenik indeksler karşılaştırıldığında HDL düzeyinin subklinik inflamasyonu

olan grupta olmayana göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha düşük olduğu ($p=0,002$), CRI-I, CRI-II ve AK indekslerinin ise daha yüksek olduğu belirlendi ($p<0,05$).

Tablo 2. FMF hastalarının subklinik inflamasyon varlığına ve yokluğuna göre demografik verileri, laboratuvar parametreleri ve aterojenik indeksleri

	Subklinik İnflamasyon		p
	Yok (n=57)	Var (n=45)	
Cinsiyet, erkek, n(%)	20 (35,1)	32 (71,1)	0,327
Yaş, yıl	36,18±9,68	36,93±10,05	0,700
VKİ, kg/m ²	24,47±4,56	26,61±5,77	0,049
Sistol, mmHg	104,12±13,30	103,44±12,74	0,794
Diastol, mmHg	63,35±13,30	64,78±8,66	0,741
Şikayet süresi, yıl	14,14±9,00	16,87±9,77	0,151
Tanı süresi, yıl	83,54±70,54	103,3±82,99	0,102
Apendektomi, var, n(%)	13 (22,8)	15 (33,3)	0,169
Ailede öyküsü, var, n(%)	28 (49,1)	30 (66,7)	0,057
Kolşisin kılınımı, var, n(%)	52 (91,2)	41 (91,1)	0,627
Kolşisin dozu, mg	1,10±0,50	1,07±0,52	0,737
1 yıldaki atak sayısı	3,61±6,29	1,47±2,02	0,030
Glukoz, mg/dL	86,26±7,43	90,69±18,75	0,141
CRP, mg/L	3,13±0,39	21,80±45,73	0,003
ESH, mm/h	7,65±4,32	26,76±18,85	<0,001
Lökosit, K/uL	6,54±1,41	7,83±2,50	0,003
Fibrinojen, g/dL	2,35±0,41	2,89±0,60	<0,001
Amiloid A, mg/L	0,91±4,19	2,16±3,80	0,194
TK, mg/dL	195,31±39,34	186,41±43,47	0,288
LDL, mg/dL	118,12±29,74	114,78±28,82	0,636
HDL, mg/dL	53,88±10,83	46,67±11,60	0,002
TG, mg/dL	116,53±64,52	124,84±102,25	0,636
PAI	0,29±0,27	0,36±0,30	0,211
CRI-I	3,74±0,94	4,19±1,28	0,045
CRI-II	2,27±0,66	2,58±0,82	0,033
AK	2,74±0,94	3,19±1,28	0,045

FMF: Ailevi Akdeniz Ateşı, VKİ: vücut kitle indeksi, CRP: C-reaktif protein, ESH: eritrosit sedimentasyon hızı, TK: total kolesterol, LDL: düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol, HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolden, TG: trigliserid, PAI: Plazma aterojenik indeksi, CRI I ve II: Castelli risk indeksleri I ve II, AK: Aterojenik katsayı

FMF hastalarında aterojenik indekslerle lipid profili ve diğer parametreleri arasındaki ilişkiyi tespit etmek amacıyla yapılan korelasyon analizi Tablo 3'te özetlendi. PAI, AK, CRI-I ve II düzeyleriyle ESH, TG, LDL ve TK arasında istatistiksel olarak anlamlı oranda pozitif korelasyon, HDL ile negatif korelasyon olduğu tespit edildi ($p<0,05$) (Şekil 1).

Tartışma

Sistemik inflamasyonun endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz gelişimde önemli bir rolü olduğu bilinmektedir.⁶ FMF hastalarında artmış sitokin maruziyeti ile birlikte aterosklerotik sürecin hızlanması ve KVVH riskinde artış olması beklenir.¹⁷ Bu hızlanmış aterosklerotik sürecin patogeneğinde lipid profili değişikliklerinin ve aterojenik indekslerin rolünü araştıran

az sayıda çalışma mevcuttur. Bu nedenle çalışmamızda FMF hastalarında KVH riskini belirlemek için bir bütün

olarak serum lipid parametrelerini ve aterojenik indeksleri değerlendirmeyi amaçladık.

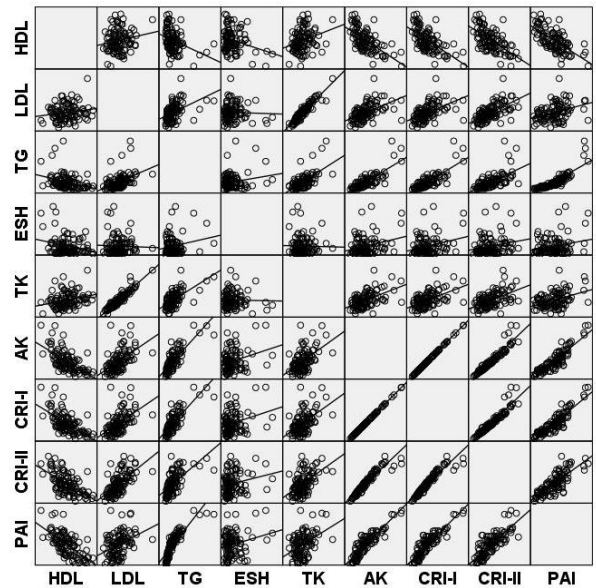
Tablo 3. FMF hastalarında aterojenik indeksler ile lipid düzeyleri ve diğer parametreler arasındaki korelasyon analizi

N=102	AK		CRI-I		CRI-II		PAI	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Şikayet süresi	0,010	0,922	0,010	0,922	-0,008	0,937	0,004	0,969
Tanı süresi	0,029	0,769	0,029	0,769	-0,058	0,565	0,066	0,508
Kolşisin dozu, mg	0,044	0,662	0,044	0,662	-0,026	0,797	0,094	0,349
Bir yıldaki atak sayısı	-0,062	0,538	-0,062	0,538	-0,073	0,468	-0,037	0,713
Fibrinojen, g/dL	0,170	0,095	0,170	0,095	0,175	0,084	0,140	0,168
ESH, mm/h	0,281	0,004	0,281	0,004	0,216	0,029	0,232	0,019
CRP, mg/L	0,130	0,194	0,130	0,194	0,118	0,238	0,145	0,145
Lökosit, K/uL	0,048	0,634	0,048	0,634	0,058	0,563	0,065	0,519
Amiloid A, mg/L	0,152	0,205	0,152	0,205	0,146	0,225	0,206	0,084
HDL, mg/dL	-0,629	0,000	-0,629	0,000	-0,614	0,000	-0,668	0,000
LDL, mg/dL	0,530	0,000	0,530	0,000	0,629	0,000	0,368	0,000
TG, mg/dL	0,815	0,000	0,815	0,000	0,635	0,000	0,858	0,000
TK, mg/dL	0,525	0,000	0,525	0,000	0,528	0,000	0,417	0,000

N: toplam sayı, AK: Aterojenik katsayı, CRI I ve II: Castelli risk indeksleri I ve II, PAI: Plazma aterojenik indeksi, ESH: eritrosit sedimentasyon hızı, CRP: C-reaktif protein, HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, LDL: düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol, TK: total kolesterol

Aynı zamanda geleneksel aterojenik lipid profili ile uyumlu olan düşük HDL ve yüksek TG seviyeleri inflamatuvar hastalıklarda görülen karakteristik lipid değişiklikleridir.^{14,18} Literatürde FMF hastalarında lipid seviyelerinin değerlendirildiği çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. 2014 yılında yayınlanan iki çalışmada FMF hastalarında sağlıklı kontrollere göre HDL düzeylerinin anlamlı oranda daha düşük olduğu tespit edilse de diğer küçük örneklem büyüklüğüne sahip çalışmalarda FMF hastalarını ile sağlıklı kontroller arasında lipid profilleri bakımından fark bulunamamıştır.^{1,19-21} 2022 yılında yayınlanan 164 FMF hastası ve 160 sağlıklı kontrolün dahil edildiği başka bir çalışmada ise TK, TG ve LDL seviyelerinin FMF grubunda anlamlı oranda daha yüksek olduğu tespit edilmiş fakat HDL düzeyleri iki grupta da benzer bulunmuştur.²² Çalışmamızda TK ve LDL düzeylerinin beklenenin aksine sağlıklı grupta FMF grubuna göre istatistiksel olarak anlamda oranda daha yüksek olduğu tespit edilirken, TG ve HDL düzeyleri açısından iki grup arasında fark bulunamadı. Ataksız dönemde olan FMF hastaları subklinik inflamasyon varlığına göre 2 gruba ayrıldığında ise literatürle uyumlu şekilde subklinik inflamasyonu olan grupta HDL seviyelerinin daha düşük olduğu görüldü (p=0,002). Sarı ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada da FMF ile kontrol grubu karşılaştırıldığında lipid düzeylerinin benzer olduğu bulunmuş ve düzenli kolşisin tedavisi alan hastalarda erken ateroskleroz belirteçlerinin bozulmadığı vurgulanmıştır.²⁰ FMF hastalarında iskemik kalp hastalığı (İKH) prevalansının ilk değerlendirildiği çalışmalardan biri olan Langevitz ve ark. yapmış olduğu çalışmada FMF

hastalarındaki İKH prevalansını %15,5 oranı ile beklenenden daha düşük olduğunu tespit edilmiştir.⁹ Daha sonra FMF'li hastalarda İKH riskinin arttığı gösteren, bilinen ilk çalışma 2020 yılında yayınlanmış ve Langevitz'in çalışmasında prevalansın düşük bulunmasının sebebi kolşisin koruyucu rolüne bağlanmıştır.²³



Şekil 1. FMF hastalarında aterojenik indekslerle HDL, LDL, TG, ESH ve TK arasındaki korelasyon analizi

Çalışmamızda da 93 (%92,2) hastada düzenli kolşisin kullanımı mevcuttu; beklenenin aksine lipid seviyelerinin sağlıklı kontrollerde FMF grubuna göre yüksek

bulunmasının nedeni FMF grubunda kullanılan kolşisinin anti aterojenik ve lipid düşürücü etkilerine bağlandı.^{24,25}

Dislipidemi olarak tanımlanan yüksek TG, TK, LDL ve azalmış HDL değerlerinin kardiyovasküler riski tanımlamada yetersiz olduğu düşünölmüş ve klinikte bu riski daha iyi öngörebilmek için lipid profillerinin kullanıldığı yeni indeksler araştırılmaya başlanmıştır. Genel olarak CRI, PAI ve AK'nın ateroskleroz gelişimini öngörmeye lipid parametrelerinden daha güçlü göstergeler olarak kullanılabilecekleri bildirilmiştir.^{26,27} Son zamanda yapılan çalışmalarda romatolojik hastalıklarda da özellikle PAI'nın KVH riskini öngörmeye iyi bir belirteç olabileceği tespit edilmiştir.^{14,28} İçli ve ark. yaptığı bir çalışmada FMF hastalarında PAI değerleri ile prelinik aterosklerozu tanımlamada kullanılan karotis intima media kalınlığı arasında pozitif bir korelasyon olduğunu saptanmıştır.²⁹ 63 FMF hastasının dahil edildiği başka bir çalışmada da hem PAI hem de AK, CRI-I ve II düzeylerinin FMF'li hastalarda sağlıklı kontrollere göre anlamlı oranda daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve bu indekslerin FMF hastalarında aterosklerotik risk değerlendirmesinde ek göstergeler olarak kullanılabilecekleri belirtilmiştir.³⁰ Çalışmamızda aterojenik indeksler değerlendirildiğinde beklenenin aksine FMF grubunda sağlıklı kontrollere göre CRI-I, CRI-II ve AK değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı oranda daha düşük olduğu tespit edildi ($p < 0,001$). PAI düzeyleri bakımından 2 grup arasında anlamlı fark saptanamadı ($p = 0,128$). FMF hastaları sublinik inflamasyon varlığına göre kendi içerisinde iki gruba ayrıldığındaysa literatür ile uyumlu şekilde sublinik inflamasyon olan grupta olmayana göre CRI-I, CRI-II ve AK düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek olduğu saptandı ($p < 0,005$), fakat PAI düzeylerinin iki grupta da yine benzer olduğu göröldü ($p = 0,211$).

FMF hastalarında aterojenik indekslerle lipid profili ve diğer parametreler arasındaki ilişkiyi tespit etmek amacıyla yapılan korelasyon analizinde PAI, AK, CRI-I ve II düzeyleriyle ESH, trigliserid, LDL ve TK arasında istatistiksel olarak anlamlı oranda pozitif korelasyon, HDL ile negatif korelasyon olduğu tespit edildi ($p < 0,05$). İçli ve ark. yaptığı çalışmada da çalışmamıza benzer şekilde AIP ile TK, TG ve LDL arasında pozitif, HDL arasında negatif korelasyon olduğu tespit edilmiştir.²⁹

Çalışmamızın bazı sınırlamaları vardı. Çalışmanın retrospektif ve tek merkezli yapılması, FMF hasta sayısının nispeten az olması en önemli sınırlamalardı. Kolşisin kullanmayan hasta sayısının az olmasından dolayı bu gruptaki hastalarla alt grup analizi yapılamadı. Çalışmaya dahil edilen katılımcılarda sigara kullanımı, diyabetes mellitus gibi diğer geleneksel aterosklerotik risk faktörlerinin dışlanmış olması ve ataksız dönemdeki FMF hastalarının sublinik inflamasyon varlığına göre iki gruba ayrılıp alt grup analizi yapılması çalışmamızın avantajlarındandı.

Literatürde FMF hastalığı ile sublinik ateroskleroz arasındaki ilişkinin değerlendirildiği çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmamızda da beklenenin aksine TK, TG, LDL, AK, CRI-I ve II düzeylerinin sağlıklı grupta FMF grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edildi

ve bu sonuç kolşisinin koruyucu rolüne bağlandı. Özellikle ataksız dönemde sublinik inflamasyonu olan FMF hastalarında ise olmayanlara göre literatürle uyumlu şekilde HDL değerinin düşük, AK, CRI-I ve II düzeylerinin ise yüksek olduğu saptandı.

Sonuç olarak çalışmamızda düzenli kolşisin tedavisi alan FMF hastalarında erken ateroskleroz belirteçlerinin bozulmadığı, ataksız dönemde özellikle sublinik inflamasyonu olan FMF hastalarında ise artmış ateroskleroz riski olduğu göröldü. FMF hastalarında aterosklerotik KVH'nın öngörülmesinde ek belirteçler olarak AK, CRI-I ve II indekslerinin kullanılabileceği tespit edildi.

Etik Standartlara Uygunluk

Bu çalışma Helsinki Deklorasyonu'na uygun olarak yapıldı. Çalışmada yer alan tüm uygulamalar, Sakarya Üniversitesi Yerel Etik Kurulu tarafından 25.08.2023 tarihinde onaylandı (Etik kurul numarası: E-71522473-050.01.04-275956-265). Çalışmanın retrospektif olması nedeniyle bilgilendirilmiş onam formu alınmadı.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Yazar Katkısı

Yazarlar bu çalışmaya eşit katkıda bulunmuşlardır.

Teşekkür

Klinik ve akademik bilgilerini bizimle paylaştığı için Prof. Dr. Emel Gönüllü'ye teşekkürlerimizi sunuyoruz.

Kaynaklar




1. Acay A, Ulu MS, Ahsen A, et al. Atherogenic index as a predictor of atherosclerosis in subjects with familial Mediterranean fever. *Medicina (Kaunas)*. 2014;50(6):329-333. doi:10.1016/j.medici.2014.11.009
2. Tunca M, Ozdogan H, Kasapcopur O, et al. Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine (Baltimore)*. 2005;84(1):1-11. doi:10.1097/01.md.0000152370.84628.0c.
3. Yilmaz S, Cinar M, Simsek I, Erdem H, Pay S. Tocilizumab in the treatment of patients with AA amyloidosis secondary to familial Mediterranean fever. *Rheumatology*. 2015;54(3):564-565. doi:10.1093/rheumatology/keu474
4. Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*. 2011;117(14):3720-3732. doi:10.1182/blood-2010-07-273417
5. Yildirim K, Uzkeser H, Keles M, et al. Relationship between serum interleukin-1 β levels and acute phase response proteins in patients with familial Mediterranean fever. *Biochem Med*. 2012;22(1):109-113. doi: 10.11613/bm.2012.012
6. Allahverdian S, Pannu PS, Francis GA. Contribution of monocyte-derived macrophages and smooth muscle cells

- to arterial foam cell formation. *Cardiovasc res.* 2012;95(2):165-172. doi: 10.1093/cvr/cvs094
7. Meyer O. Atherosclerosis and connective tissue diseases. *Joint Bone Spine.* 2001;68(6):564-575. doi:10.1016/s1297-319x(01)00330-x
 8. Bilginer Y, Basaran C, Ozaltin F, et al. Long term implications of inflammation in Familial Mediterranean Fever assessed by intima media thickness: a predictor for atherosclerosis?. Paper presented at: Annual European Congress of Rheumatology (EULAR 2006); June 21-24, 2006; Amsterdam, NL.
 9. Langevitz P, Livneh A, Neumann L, et al. Prevalence of ischemic heart disease in patients with familial Mediterranean fever. *Isr Med Assoc J.* 2001;3(1):9-12.
 10. Onat A, Can G, Kaya H, Hergenç G. "Atherogenic index of plasma"(log10 triglyceride/high-density lipoprotein-cholesterol) predicts high blood pressure, diabetes, and vascular events. *J Clin Lipidol.* 2010;4(2):89-98. doi:10.1016/j.jacl.2010.02.005
 11. Peters MJL, Symmons DPM, McCarey D, et al. EULAR evidence-based recommendations for cardiovascular risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(2):325-331. doi:10.1136/ard.2009.113696
 12. Bhardwaj S, Bhattacharjee J, Bhatnagar MK, Tyagi S, Delhi N. Atherogenic index of plasma, castelli risk index and atherogenic coefficient-new parameters in assessing cardiovascular risk. *Int J Pharm Biol Sci.* 2013;3(3):359-64.
 13. Sujatha R, Kavitha S. Atherogenic indices in stroke patients: A retrospective study. *Iran J Neurol.* 2017;16(2):78.
 14. Acar O, Sarac GA, Rota DD, Aksoy H. Evaluation of pro-atherogenic lipid profile and high atherogenic indexes in patients with Behçet's disease: A case-control study. *J Cosmet Dermatol.* 2023;22(6):1887-1892. doi:10.1111/jocd.15647
 15. Bayram MT, Çankaya T, Bora E, et al. Risk factors for subclinical inflammation in children with Familial Mediterranean fever. *Rheumatol Int.* 2015;35(8):1393-1398. doi:10.1007/s00296-015-3227-z
 16. Onder EN, Cam FS, Ertan P. Relationship between C-reactive protein/albumin ratio and subclinical inflammation in patients with familial Mediterranean fever. *Akt Rheumatol.* 2021;46(05):479-484. doi:10.1055/a-1403-2309
 17. Vampertzi O, Papadopoulou-Legbelou K, Triantafyllou A, Douma S, Papadopoulou-Alataki E. Familial Mediterranean fever and atherosclerosis in childhood and adolescence. *Rheumatol Int.* 2020;40(1):1-8. doi:10.1007/s00296-019-04457-8
 18. Aksoy H, Aksoy Sarac G, Dinçer Rota D, Acar O, Nayır T. Do patients with psoriasis are at higher risk for atherogenicity? A case-control study. *J Cosmet Dermatol.* 2022;21(8):3598-3602. doi:10.1111/jocd.14969
 19. Candan Z, Akdoğan A, Karadağ Ö, et al. Serum lipid changes and insulin resistance in familial Mediterranean fever. *Eur J Rheumatol.* 2014;1(4):140-143. doi:10.5152/eurjrheumatol.2014.140045
 20. Sari I, Karaoglu O, Can G, et al. Early ultrasonographic markers of atherosclerosis in patients with familial Mediterranean fever. *Clin Rheumatol.* 2007;26(9):1467-1473. doi:10.1007/s10067-006-0529-2
 21. Peru H, Altun B, Doğan M, Kara F, Elmaci AM, Oran B. The evaluation of carotid intima-media thickness in children with familial Mediterranean fever. *Clin Rheumatol.* 2008;27(6):689-694. doi:10.1007/s10067-007-0764-1
 22. Göğebakan H, Kaşalı K. The correlation of plasma atherogenic index and obesity in patients with familial Mediterranean fever. *Clin Rheumatol.* 2022;41(11):3471-3477. doi:10.1007/s10067-022-06312-x
 23. Gendelman O, Shapira R, Tiosano S, et al. Familial Mediterranean fever is associated with increased risk for ischaemic heart disease and mortality-Perspective derived from a large database. *Int J Clin Pract.* 2020;74(5):e13473. doi:10.1111/ijcp.13473
 24. Stein O, Sanger L, Stein Y. Colchicine-induced inhibition of lipoprotein and protein secretion into the serum and lack of interference with secretion of biliary phospholipids and cholesterol by rat liver in vivo. *J Cell Biol.* 1974;62(1):90-103. doi:10.1083/jcb.62.1.90
 25. Lagrue G, Wegrowski J, Rhabar K, et al. Effect of colchicine on atherosclerosis. I. Clinical and biological studies. *Clin Physiol Biochem.* 1985;3(5):221-225.
 26. Abid H, Abid Z, Abid S. Atherogenic indices in clinical practice and biomedical research: a short review. *Baghdad J Biochem Appl Biol Sci.* 2021;2(02):60-70. doi:10.47419/bjbabs.v2i02.52
 27. Kannel WB. Risk stratification of dyslipidemia: insights from the Framingham Study. *Curr Med Chem Cardiovas Hematol Agents.* 2005;3(3):187-193. doi:10.2174/1568016054368250
 28. Cure E, Icli A, Ugur Uslu A, Aydoğan Baykara R, Sakiz D, Ozucan M. Atherogenic index of plasma may be strong predictor of subclinical atherosclerosis in patients with Behçet disease. *Z Rheumatol.* 2017;76(3):259-66. doi:10.1007/s00393-016-0141-z
 29. Icli A, Cure E, Uslu AU, et al. The relationship between atherogenic index and carotid artery atherosclerosis in familial mediterranean fever: A pilot study. *Angiology.* 2017;68(4):315-321. doi:10.1177/0003319716659220
 30. Çakırca G, Çelik MM. Lipid profile and atherogenic indices and their association with platelet indices in familial Mediterranean fever. *Turk Kardiyol Dern Ars.* 2018;46(3):184-190. doi:10.5543/tkda.2018.93762

Araştırma Makalesi | Research Article

TİP 2 DİYABETES MELLİTUS HASTALARININ İN VİVO KORNEAL KONFOKAL MİKROSKOPİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS BY IN VIVO CONFOCAL MICROSCOPY

 Müge Toprak¹,  Özgül Altıntaş²,  Büşra Yılmaz Tuğan^{3*}

¹Özel Pendik Dünya Göz Tıp Merkezi, Göz Hastalıkları Kliniği, İstanbul, Türkiye. ²Acıbadem Maslak Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, İstanbul, Türkiye. ³Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye.



Öz

Amaç: İn vivo konfokal mikroskopi (İVKM), periferik sinir sisteminin küçük lifleri olan subbasal kornea sinir liflerini değerlendirmek için hızlı, invaziv olmayan bir yöntemdir. Kornea sinir lifi değişiklikleri diyabetik periferik nöropatinin bir belirteci olabilir. Bu çalışmanın amacı İVKM yöntemini kullanarak diyabetes mellitus (DM) tanısı olan hastalardaki olası korneal sinir lifi değişikliklerini incelemektir.

Yöntem: Tip 2 DM tanılı hastaların kornea innervasyon paternini İVKM kullanarak inceledik. DM hastaları ile kontrol grubunun korneal parametreleri karşılaştırıldı. DM hastalarının hemogloblin A1c (HbA1c) değerleri ve hastalık süreleri kaydedildi ve korneal parametreler ile korelasyonuna bakıldı.

Bulgular: Yaş ortalaması 54,2±10,6 olan toplam 31 DM hastası ve yaşları eşleştirilmiş (51,1±10,0 yıl) 30 kontrol grubu değerlendirildi. Korneal epitel sayısı DM grubu ile kontrol grubunda benzerdi. Korneal subbasal plexus (SBP) yoğunluğu DM grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı düşüktü (p=0,001). SBP gövde yoğunluğu DM grubunda istatistiksel anlamlı azdı (p=0,038). SBP dal yoğunluğu DM grubunda, kontrol grubuna kıyasla düşüktü (p=0,095).

Sonuç: Konfokal mikroskopi, in vivo olarak kornea sinir liflerindeki değişiklikleri göstermek için değerli bir araçtır. Bu teknik, diyabetik sinir lifi hasarını daha erken gösterme yeteneğine sahip olabilir.

Anahtar Kelimeler: İn vivo korneal konfokal mikroskopi, diyabetes mellitus, korneal subbasal plexus

ABSTRACT

Objective: In vivo confocal microscopy (IVCM) is a rapid, noninvasive method to evaluate subbasal corneal nerve fibers, which are small fibers of the peripheral nervous system. Corneal nerve fiber changes may be a marker of diabetic peripheral neuropathy. The aim of this study is to examine possible corneal nerve fiber changes in patients with diabetes mellitus (DM) using IVCM method.

Methods: We examined the corneal innervation pattern of patients with type 2 DM using IVCM. Corneal parameters of DM patients and control groups were compared. Hemoglobin A1c (HbA1c) values and disease duration of DM patients were recorded and their correlation with corneal parameters was evaluated.

Results: A total of 31 DM patients aged 54.2±10.6 years and 30 age-matched (51.1±10.0 years) control groups were evaluated. The number of corneal epithelium was similar in the DM group and control group. Corneal subbasal plexus (SBP) density was significantly lower in the DM group compared to the control group (p=0.001). SBP trunk density was significantly decreased in the DM group (p=0.038). SBP branch density was lower in the DM group compared to the control group (p=0.095).

Conclusion: Confocal microscopy is a valuable tool for demonstrating changes in corneal nerve fibers in vivo. This technique may have the ability to show diabetic nerve fiber damage earlier.

Keywords: In vivo corneal confocal microscopy, diabetes mellitus, corneal subbasal plexus

*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Büşra Yılmaz Tuğan; Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Umuttepe, Kocaeli, Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (262) 303 75 75 e-posta/e-mail: busrayilmaz87@hotmail.com

Başvuru/Submitted: 27.08.2023

Kabul/Accepted: 20.09.2023

Online Yayın/Published Online: 21.10.2023



Giriş

Uluslararası Diyabet Federasyonu, şu anda dünya çapında 463 milyon insanın diyabetes mellitus (DM) ile yaşadığını tahmin ediyor ve bu sayının 2030'a kadar 575 milyonu aşacağını öngörüyor.¹ Diyabetik periferik nöropati (DPN), DM'li hastaların en az %50'sini etkileyen, diyabetin en sık görülen uzun vadeli komplikasyonlarından biridir ve tip 2 diyabet tanısı alan hastalarda diyabetle ilişkili mortalite için bağımsız bir belirteçtir.^{2,3}

Başlangıçta küçük miyelinsiz C liflerini etkileyen duysal kayıp ve ağrı, ardından büyük, miyelinli sinir lifi tutulumu ile karakterizedir. Diyabetik nöropati esas olarak periferik sinir duyarlılığının kaybı ile ilişkilidir.⁴ Küçük sinirler en sık etkilenen liflerdir ve bunların kaybı ayak ülserasyonuna, Charcot nöroartropatisine ve alt ekstremitte amputasyonuna yol açar.^{5,6} Periferik sinir sisteminin bir bileşeni olarak kabul edilen korneanın subbazal sinir pleksusu da benzer şekilde etkilenebilir ve hasar, somatik sinir bozukluğunun ciddiyeti ile doğrudan ilişkilidir.^{4,7}

İn vivo konfokal mikroskopi (İVKM) araştırmacıların kornea katmanlarını doğru bir şekilde incelemesine izin veren invaziv olmayan bir tekniktir ve nöropatinin erken teşhisi için geçerli bir yöntem olarak kabul edilmektedir.⁶ Küçük lif nöropatisinin tanısında standart metot deri punch biyopsisidir, ancak bu yöntemin invaziv olması ve profesyonel laboratuvarında değerlendirme gerektirmesi yeni yöntemlerin araştırılmasını teşvik etmektedir. Yapılan çalışmalar İVKM'nin korneal subbazal sinir pleksusunu ölçerek diyabetik periferik nöropatisi olan ve olmayan hastaları noninvaziv ve hızlı bir şekilde ayırt edebildiğini ortaya koymuştur.⁶⁻⁸ Ayrıca, birkaç çalışma, korneal konfokal mikroskopinin, deri punch biyopsisi ile ilişkili bozulmuş glukoz toleransı olan vakalarda küçük lif hasarını tespit edebildiğini göstermiştir. Diyabetli hastalarda intra-epidermal sinir lifi yoğunluğunda (IENFD) ve akson refleks aracılı vazodilatör yanıtta erken bir azalma vardır ve bu da subklinik patolojiyi gösterir.⁹

Diyabetik periferik nöropatinin tanısı, nöropatinin semptomlarına ve/veya bulgularına ve yalnızca büyük lif fonksiyonunu yansıtan sinir iletim çalışmalarına (NCS) dayanmaktadır, ancak önceki çalışmalar, diyabette periferik sinirlerde en erken hasarın küçük lif sinirlerini içerdiğini öne sürmüşlerdir.¹⁰⁻¹² Bu çalışmanın amacı İVKM yöntemini kullanarak DM tanısı olan ancak diyabetik retinopati gelişmemiş hastalardaki olası korneal sinir lifi değişikliklerini incelemektir.

Yöntem

Hastalar

Çalışma Helsinki Deklarasyonu ilkelerine uygun olarak yapıldı ve Kocaeli Üniversitesi Etik Kurulu çalışma planını onayladı. Çalışmaya yazılı bilgilendirilmiş onam veren katılımcılar dahil edildi. 40 ila 60 yaş arası ve ADA (Amerikan Diyabet Derneği)'ya göre tip 2 DM ve diyabetik retinopati bulgusu olmayan 31 hastanın 31 gözü ve 30 sağlıklı kontrolün 30 gözü çalışmaya dahil

edildi. Katılımcıların çalışmaya yalnızca sağ gözleri dahil edilmiştir.

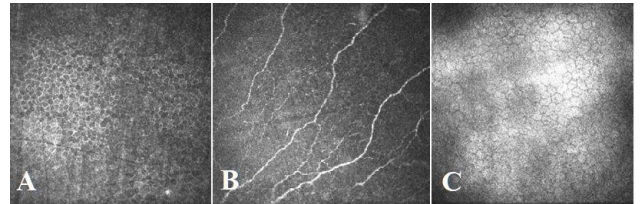
Tüm katılımcılara görme keskinliği testi, ön segment biyomikroskopisi, göz içi basıncı değerlendirmesi ve fundus muayenesi dahil olmak üzere tam bir oftalmolojik değerlendirme yapıldı. Diyabetli hastalara nöropati semptom profili (NSP) değerlendirme yapıldı. Nöropatisi olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca diyabetik popülasyonun sıklıkla eşlik eden hastalıkları olmasına rağmen, yalnızca hipergliseminin insan gözü üzerindeki etkilerini incelemek için hipertansiyon, hiperlipidemi veya diğer kardiyovasküler hastalıklardan etkilenmiş olan bireyleri çalışma dışında tuttuk.

Kontakt lens kullanma veya refraktif cerrahi, malignite, B12 vitamini eksikliği, ailesel kalıtsal periferik nöropati, korneayı etkilediği bilinen sistemik hastalık, aktif diyabetik ayak ülserasyonu, kronik kornea patolojileri, oküler travma veya önceki oküler cerrahi öyküsü olanlar çalışma dışı bırakıldı.

Kornea Konfokal Mikroskopisi

Kornea görüntüleri bir Heidelberg Retina Tomografisi (HRT III, Rostock Cornea Module, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Almanya) kullanılarak alınmıştır. Kornea bütünlüğü yarık lamba muayenesi ile doğrulandı. Lokal anestezi olarak %0,4 benoksinat hidroklorür kullanıldı ve lens ile tek kullanımlık lens kapağı arasına bir damla Viscotears® Sıvı Jel kullanıldı.

İVKM ile merkezi korneanın tüm derinliği boyunca, özellikle alt bazal sinir tabakası boyunca dört tarama döngüsü gerçekleştirildi. Derinlik, odak konumu ve kontrast kriterleri izlenerek göz başına 3 görüntü seçildi. Görüntü başına piksel sayısı 300 dpi idi. ImageJ yazılımı (sürüm 1.41, Ulusal Sağlık Enstitüleri, ABD) kullanılarak hasta teşhisi bilgisi olmadan korneal sinir ölçümü kör bir şekilde gerçekleştirildi. Çalışılan parametreler, $\mu\text{m}/\text{mm}^2$ cinsinden ifade edilen korneal sinir uzunluğu ve kalınlığını içermektedir. Görüntü bölümünün her bir lifi ölçülerek sinir kalınlığı ve uzunluğu değerlendirildi ve tüm uzunluk boyunca sinirleri ölçerek sinir kalınlık değerleri elde edildi. Korneal epitel sayısı (no./ mm^2), kornea sinir lifi yoğunluğu (no./ mm^2), korneal endotel sayısı (no./ mm^2) ve kornea sinir gövdesi yoğunluğu (majör no./ mm^2) değerlendirildi (Şekil 1). DM hastalarının HbA1c değerleri ve hastalık süreleri kaydedildi ve korneal parametreler ile korelasyonuna bakıldı.



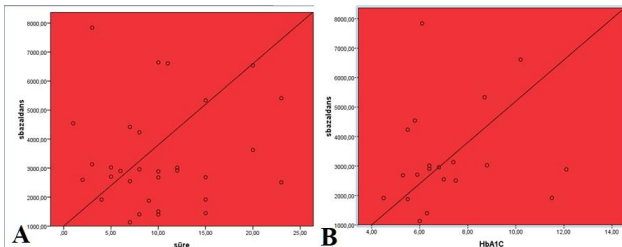
Şekil 1. İn vivo korneal konfokal mikroskopide (İVKM) korneal epitel (A), subbazal sinir pleksusu (B) ve korneal endotelin (C) değerlendirilmesi

İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler IBM SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, ABD) ve MedCalc 14.0 kullanılarak yapıldı. Normallik varsayımını değerlendirmek için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Sayısal değişkenler, ortalama±standart sapma veya (normal dağılım olmaması durumunda) medyan (25.-75. yüzdeler) ile normal dağılıma bağlı olarak sunuldu. Kategorik değişkenler sayı (yüzde) olarak özetlendi. Gruplar arasındaki sayısal değişkenlerin karşılaştırılması, hangisi uygunsa, bağımsız örneklem t-testi/Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analizi ile ve iki kategorik değişken arasındaki ilişki Ki-kare testi ile incelendi. İstatistiksel anlamlılık için p değeri $<0,05$ yeterli kabul edildi.

Bulgular

Yaş ortalaması $54,2\pm 10,6$ olan toplam 31 DM hastası ve yaşları eşleştirilmiş ($51,1\pm 10,0$ yıl) 30 kontrol grubu değerlendirildi. DM olgularında hastalık süresi ortalama $9,7\pm 3,5$ yıldır ve olguların HbA1c değerleri ortalama $7,76\pm 0,82$ idi (Tablo 1). DM ve kontrol grubuna ait korneal değerler Tablo 2'de gösterilmiştir. Korneal epitel sayısı diyabetik grupta $5863,9\pm 700,0$; kontrol grubunda $5875,8\pm 1146,0$ / mm^2 idi ($p=0,961$). Korneal subbazal pleksus (SBP) yoğunluğu diyabetik grupta ($3366,1\pm 1764,8$ / mm^2) kontrol grubuna ($9369,1\pm 2838,37$ / mm^2) göre anlamlı düşüktü ($p<0,001$). SBP gövde yoğunluğu diyabetik grupta $30,7\pm 8,5$ / mm^2 ; kontrol grubunda $36,8\pm 9,8$ / mm^2 olup diyabetik grupta istatistiksel anlamlı azdı ($p=0,011$). SBP dal yoğunluğu diyabetik grupta $50,7\pm 26,0$ / mm^2 ; kontrol grubunda $63,2\pm 15,3$ / mm^2 ($p=0,025$) idi. Korneal endotel sayısı diyabetik grupta ($2883,4\pm 508,6$ no./ mm^2) kontrol grubuyla ($2987,0\pm 543,5$ no./ mm^2) benzerdi ($p=0,441$). HbA1c ve hastalık süresi ile tüm korneal konfokal mikroskopi parametreleri arasında korelasyon olmadığı görüldü ($p>0,05$) (Şekil 2). İVKM, kornea yaralanması veya keratit riski çok düşük olan bir kornea temas tekniğidir; ancak hastalarımızda bu komplikasyonlardan herhangi biri gelişmedi.



Şekil 2. Korneal subbazal sinir pleksusu yoğunluğunun hastalık süresi (A) ve HbA1C değerleri (B) ile korelasyonu

Tablo 1. DM ve kontrol grubunun demografik ve klinik verileri

	DM grubu	Kontrol grubu	p
Yaş (yıl)	$54,2\pm 10,6$	$51,1\pm 10,0$	0,241*
Cinsiyet (n)			1,0**
Kadın	14	15	
Erkek	17	16	
Hastalık süresi (yıl)	$9,7\pm 3,5$	-	-
HbA1C (%)	$7,76\pm 1,3$	$4,31\pm 1,6$	$<0,001^*$

DM: Diyabetes Mellitus, SBP: Subbazal Pleksus

*Bağımsız örneklem t-testi

**Ki-kare testi

Tablo 2. DM ve kontrol grubunun korneal konfokal mikroskopi parametreleri

	DM grubu	Kontrol grubu	p*
Epitel	$5863,9\pm 700,0$	$5875,8\pm 1146,0$	0,961
SBP Yoğunluğu	$3366,1\pm 1764,8$	$9369,1\pm 2838,3$	$<0,001$
SBP Gövde	$30,7\pm 8,5$	$36,8\pm 9,8$	0,011
SBP Dal	$50,7\pm 26,0$	$63,2\pm 15,3$	0,025
Endotel	$2883,4\pm 508,6$	$2987,0\pm 543,5$	0,441

DM: Diyabetes Mellitus, SBP: Subbazal Pleksus

*Bağımsız örneklem t-testi

Tartışma

Çalışmamızda diyabetik retinopati bulgusu olmayan tip 2 DM hastalarında korneal konfokal mikroskopi bulgularını inceledik. DM grubunun subbazal sinir lifi yoğunluğunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu görüldü. Ana sinir gövdeleri ve dal yoğunluğu incelendiğinde DM olan hastalarda azalma olduğu görüldü. Aradaki fark istatistiksel anlamlılığa oldukça yakındı. Zayıf glisemik kontrol, DM'de daha yüksek komplikasyon prevalansı ile ilişkili olmasına rağmen, HbA1c ile konfokal mikroskobik değişkenler arasında herhangi bir korelasyon bulamadık.

Diyabetli hastalarda intra-epidermal sinir lifi yoğunluğunda (IENFD)⁷ ve akson refleksi aracılı vazodilatör yanıtta⁸ erken bir azalma vardır ve bu da subklinik patolojiyi gösterir. Diyabetik periferik nöropati, diyabetin en sık görülen uzun vadeli komplikasyonlarından biridir² ve tip 2 DM tanısı alan hastalarda diyabetle ilişkili mortalite için bağımsız bir belirteçtir.³ İntraepidermal sinir liflerinin (IENF) ölçümü, küçük lif nöropatisinin mevcut altın standart ölçüsüdür.¹³ Ancak bu, cilt biyopsisi gerektiren minimal invaziv bir prosedürdür. Giderek artan sayıda veri, korneal konfokal mikroskopinin hem yerleşik hem de erken diyabetik nöropatiyi teşhis etmek için kullanılabileceğini düşündürmektedir.¹⁴⁻¹⁸ IENFD ile İVKM kullanılarak elde edilen korneal sinir morfolojisi arasında bir korelasyon gösterilmiştir.¹⁵

Tip 2 DM'de sudomotor fonksiyon ve kornea sinir lifi patolojisi arasındaki ilişkisinin incelendiği bir çalışmada Korneal sinir liflerinin morfolojik parametreleri, sudomotor fonksiyonu normalden, diyabetik nöropati gelişmesinden önce (evre I) bozulduğu gösterilmiştir; bu nedenle, C lifi hasarının, sudomotor disfonksiyonun gelişiminde hiyerarşik bir rol oynayabileceği düşünülmüştür.¹⁹ Erken kornea sinir lifi hasarı, sinir iletimindeki değişikliklerden önce bozulmuş glikoz toleransı olan kişilerde gösterilmiştir.^{17,18} Benzer şekilde bu çalışmada klinik nöropatisi olmayan Tip 2 DM'li

katılımcılarda korneal sinir ölçümlerinde anlamlı bir azalma gözlemedik. Bu, diyabette nöronal hasarı gösteren erken değişiklikleri tespit etmede in vivo korneal konfokal mikroskopi kullanımını destekler. Yapılan başka bir çalışmada Nöropatisi olmayan Tip 2 DM'li katılımcılarda kornea sinir lifi yoğunluğundaki değişikliklerin belirgin olduğu gösterilmiş.²⁰ İVKM'nin bir sınırlaması, herhangi bir zamanda toplam subbazal sinir pleksusunun yalnızca bir kısmının taranmasına izin veren nispeten küçük görüş alanına sahip olmasıdır. Çalışmamızda benzer şekilde diyabetik nöropati gelişmemiş diyabetik hastalarda korneal sinir liflerinde değişiklikler olduğunu gösterdik. Bitirgen ve ark. DM hastalarında yaptıkları korneal konfokal çalışmasında HbA1c ile korneal mikroskopik değişikliklerde bir korelasyon saptamamış.²¹ Farklılığın olmamasının olası bir açıklaması, HbA1c değerlerinin in vivo korneal konfokal mikroskopi incelemesi sırasında ölçülmesi ve bu nedenle komplikasyonlarla daha yakından ilişkili olabilecek önceki glisemik durumu doğru şekilde yansıtmaması olabileceği ileri sürülmüştür. Biz de çalışmamızda, önceki çalışmalara benzer şekilde HbA1c değerleri ile korneal konfokal mikroskopi parametreleri arasında ilişki saptamadık.

Mevcut çalışmanın en büyük kısıtlaması, çalışmanın küçük boyutu ve aynı zamanda randomizasyon ve plasebo kontrolünün olmamasıdır. Bu nedenle bulgularımızı doğrulamak için aktif müdahalenin yapıldığı daha büyük, randomize bir çalışmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, bu çalışma diyabetik nöropatili ve diyabetik nöropati gelişmemiş tip 2 DM hastalarında, korneal sinir lifi tabakasında değişiklikler olduğunu göstermiştir. İENFD'nin belirlenmesi için invaziv bir deri biyopsisi gerektiğinden, İENFD, küçük C liflerinin morfolojisini değerlendirmek için rutin bir klinik prosedür olarak kullanılamaz. Bununla birlikte, özellikle korneal sinir anormallikleri, diyabetik retinopati gelişmeden önce ortaya çıkıyor gibi görünmektedir. DM hastalarında diyabetik nöropati ile ilgili korneal konfokal mikroskopisi yeni bir yöntem olarak kullanılabilir ki bu yöntemle henüz büyük sinir lifleri etkilenmeden küçük sinir lifi hasarının tespit edilebiliyor olması bir avantaj da sağlayabilir. Diyabetik retinopati ile İVKM bulguları arasındaki ilişkiyi tam olarak anlamak için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etik Standartlara Uygunluk

Kocaeli Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alınmıştır (KÜ GOKAEK 14.01). Tüm prosedürler, kurumsal ve/veya ulusal araştırma komitesinin etik standartlarına ve 1964 Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Yazar Katkısı

MT, ÖA, BYT: Çalışmanın tasarımı, veri toplanması ve analizi, kaynak taraması ve makale yazımı

Kaynaklar

1. Petropoulos IN, Ponirakis G, Ferdousi M, et al. Corneal confocal microscopy: a biomarker for diabetic peripheral neuropathy. *Clin Ther.* 2021;43(9):1457-1475. doi:10.1016/j.clinthera.2021.04.003
2. Celiker H, Ereku G, Turhan SA, et al. Early detection of neuropathy in patients with type 2 diabetes with or without microalbuminuria in the absence of peripheral neuropathy and retinopathy. *J Fr Ophtalmol.* 2021;44(4):485-493. doi:10.1016/j.jfo.2020.09.027
3. Liao YJ, Lin SF, Lee IT. Scores of peripheral neuropathic pain predicting long-term mortality in patients with type 2 diabetes: A retrospective cohort study. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:969149. doi:10.3389/fendo.2022.969149
4. Tavakoli M, Kallinikos PA, Efron N, Boulton AJ, Malik RA. Corneal sensitivity is reduced and relates to the severity of neuropathy in patients with diabetes. *Diabetes Care.* 2007;30(7):1895-1897. doi:10.2337/dc07-0175
5. Sumner CJ, Sheth S, Griffin JW, Cornblath DR, Polydefkis M. The spectrum of neuropathy in diabetes and impaired glucose tolerance. *Neurology.* 2003;60(1):108-111. doi:10.1212/wnl.60.1.108
6. Tavakoli M, Petropoulos IN, Malik RA. Assessing corneal nerve structure and function in diabetic neuropathy. *Clin Exp Optom.* 2012;95(3):338-347. doi:10.1111/j.1444-0938.2012.00743.x
7. Ziegler D, Papanas N, Zhivov A, et al. Early detection of nerve fiber loss by corneal confocal microscopy and skin biopsy in recently diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes.* 2014;63(7):2454-2463. doi:10.2337/db13-1819
8. Smith AG, Kim G, Porzio M, et al. Corneal confocal microscopy is efficient, well-tolerated, and reproducible. *J Peripher Nerv Syst.* 2013;18(1):54-58. doi:10.1111/jns5.12008
9. Alam U, Ponirakis G, Asghar O, et al. Corneal confocal microscopy identifies people with type 1 diabetes with more rapid corneal nerve fibre loss and progression of neuropathy. *J Clin Med.* 2022;11(8):2249. doi:10.3390/jcm11082249
10. Breiner A, Lovblom LE, Perkins BA, Bril V. Does the prevailing hypothesis that small-fiber dysfunction precedes large-fiber dysfunction apply to type 1 diabetic patients? *Diabetes Care.* 2014;37(5):1418-1424. doi:10.2337/dc13-2005
11. Divisova S, Vlckova E, Hnojčikova M, et al. Prediabetes/early diabetes-associated neuropathy predominantly involves sensory small fibres. *J Peripher Nerv Syst.* 2012;17(3):341-350. doi:10.1111/j.1529-8027.2012.00420.x
12. Løseth S, Stålberg E, Jorde R, Mellgren SI. Early diabetic neuropathy: thermal thresholds and intraepidermal nerve fibre density in patients with normal nerve conduction studies. *J Neurol.* 2008;255(8):1197-1202. doi:10.1007/s00415-008-0872-0
13. Lauria G, Hsieh ST, Johansson O, et al. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on the use of skin biopsy in the diagnosis of small fiber neuropathy. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the

- Peripheral Nerve Society. *Eur J Neurol*. 2010;17(7):903-e49. doi:10.1111/j.1468-1331.2010.03023.x
14. Petropoulos IN, Ponirakis G, Ferdousi M, et al. Corneal confocal microscopy: a biomarker for diabetic peripheral neuropathy. *Clin Ther*. 2021;43(9):1457-1475. doi:10.1016/j.clinthera.2021.04.003
 15. Alam U, Jeziorska M, Petropoulos IN, et al. Diagnostic utility of corneal confocal microscopy and intra-epidermal nerve fibre density in diabetic neuropathy. *PLoS One*. 2017;12(7):e0180175. doi:10.1371/journal.pone.0180175
 16. Gad H, Al-Jarrah B, Saraswathi S, et al. Corneal confocal microscopy identifies a reduction in corneal keratocyte density and sub-basal nerves in children with type 1 diabetes mellitus. *Br J Ophthalmol*. 2022;106(10):1368-1372. doi:10.1136/bjophthalmol-2021-319057
 17. Ferdousi M, Romanchuk K, Mah JK, Virtanen H, Millar C, Malik RA, Pacaud D. Early corneal nerve fibre damage and increased Langerhans cell density in children with type 1 diabetes mellitus. *Sci Rep*. 2019;9(1):8758. doi: 10.1038/s41598-019-45116-z
 18. Tavakoli M, Quattrini C, Abbott C, et al. Corneal confocal microscopy: a novel noninvasive test to diagnose and stratify the severity of human diabetic neuropathy. *Diabetes Care*. 2010;33(8):1792-1797. doi:10.2337/dc10-0253
 19. Arcilla CK, Tadi P. Neuroanatomy, Unmyelinated Nerve Fibers. [Updated 2023 Jan 2]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554461/>
 20. Wang M, Zhang C, Zuo A, Li L, Chen L, Hou X. Diagnostic utility of corneal confocal microscopy in type 2 diabetic peripheral neuropathy. *J Diabetes Investig*. 2021;12(4):574-582. doi: 10.1111/jdi.13381
 21. Bitirgen G, Ozkagnici A, Malik RA, Kerimoglu H. Corneal nerve fibre damage precedes diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2014;31(4):431-438. doi:10.1111/dme.12324



Araştırma Makalesi | Research Article

MINİMAL İNVAZİV PARATİROİDEKTOMİ: TEK MERKEZ DENEYİMİ.

MINIMAL INVASIVE PARATHYROIDECTOMY: SINGLE-CENTER EXPERIENCE

Fuldem Mutlu^{1*}, Bahaeddin Umur Aka²

¹Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye. ²Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye.



Öz

Amaç: Endokrin hastalıkları arasında, primer hiperparatiroidizm, diabetes mellitus ve tiroid hastalıklarından sonra sıklık sıralamasında üçüncü sıradadır. Bu çalışmanın amacı, paratiroid adenoma cerrahisinin sonuçlarını sunmak ve paratiroid cerrahisinin sıkça gerçekleştirildiği üçüncü basamak cerrahi kliniğimizde paratiroid adenomalarını tespit etmede görüntüleme yöntemlerinin etkinliğini değerlendirmektir.

Yöntem: Ocak 2019 ile Mart 2023 tarihleri arasında, paratiroid adenomu nedeniyle kliniğimizde ameliyat olan hastaların kayıtları retrospektif olarak tarandı. Hasta demografileri, kan parametreleri, preoperatif görüntüleme sonuçları, cerrahi bulgular ve postoperatif patolojik inceleme sonuçları kaydedildi.

Bulgular: Toplamda 98 hasta çalışmaya dahil edildi. Cerrahi sırasında, paratiroid adenomalarının en sık sağ alt bölgede bulunduğu gözlemlendi (48 hasta, %49) ve ikincil olarak sol alt bölgede bulunduğu tespit edildi (30 hasta, %30.6). Patolojik paratiroid bezlerinin lokalizasyonunu değerlendiren preoperatif görüntüleme çalışmalarının tanınal doğruluk oranlarını incelediğimizde, sağ alt paratiroid adenomalarının lokalizasyonunun hem ultrason incelemesi hem de sintigrafik görüntüleme sonuçları ile en doğru şekilde tespit edildiği bulundu (%30.6 ve %36.7 sırasıyla). İsthmusa komşu bulunan paratiroid adenomalarının ise hem ultrason incelemesi hem de sintigrafik görüntüleme sonuçları ile en az doğru şekilde tespit edildiği saptandı (%1 ve %0 sırasıyla).

Sonuç: Paratiroid adenoma cerrahisi şu anda minimal invaziv yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Deneyimli bir radyolog tarafından yapılan preoperatif ultrason görüntülemesi, minimal invaziv cerrahinin başarısını etkileyen en önemli faktörlerden biridir.

Anahtar Kelimeler: Radyoloji; görüntüleme; ultrason; sintigrafi; cerrahi; paratiroid

ABSTRACT

Objective: Among endocrine diseases, primary hyperparathyroidism ranks third in frequency after diabetes mellitus and thyroid diseases. The aim of this study is to present the results of parathyroid adenoma surgery and the effectiveness of imaging methods in detecting parathyroid adenomas in our tertiary surgical clinic, where parathyroid surgery is frequently performed.

Methods: Between January 2019 and March 2023, records of patients who underwent surgery in our clinic due to parathyroid adenoma were retrospectively scanned. Patient demographics, blood parameters, preoperative imaging results, surgical findings, and postoperative pathological examination results were recorded.

Results: A total of 98 patients were included in the study. During surgery, it was observed that parathyroid adenomas were most commonly located in the right inferior position (48 patients, 49%) and secondarily in the left inferior position (30 patients, 30.6%). When examining the diagnostic accuracy rates of preoperative imaging studies in the localization of pathological parathyroid glands, it was found that the location of right inferior parathyroid adenomas was most accurately detected both in ultrasound examination and scintigraphic imaging results (30.6% and 36.7%, respectively). Parathyroid adenomas located adjacent to the isthmus were found to be least accurately detected both in ultrasound examination and scintigraphic imaging results (1% and 0%, respectively).

Conclusion: Parathyroid adenoma surgery is currently performed using minimally invasive methods. Preoperative ultrasonographic imaging performed by an experienced radiologist is one of the most important factors affecting the success of minimally invasive surgery.

Keywords: Radiology, imaging, ultrasound, scintigraphy, surgery, parathyroid

*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Fuldem Mutlu; Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Sakarya Türkiye.

Telefon/Phone:+90 (264) 888 40 00 e-posta/e-mail: destansena@gmail.com

Başvuru/Submitted: 08.09.2023

Kabul/Accepted: 17.10.2023

Online Yayın/Published Online: 21.10.2023



Giriş

Primer hiperparatiroidizm (PHPT) bir veya daha fazla paratiroid bezi tarafından parathormon (PTH) otolog olarak salgılanması ile ortaya çıkmaktadır.¹ PHPT toplumda 10.000 bireyin yaklaşık 2-4'ünde görülmektedir.² PHPT endokrin hastalıklar içinde diabetes mellitus ve tiroid hastalıklarından üçüncü sıklıkta görülmektedir.³ Paratiroid bezlerinin en sık saptanan benign tümörlerinden birisi olan paratiroid adenomları PHPT %80'inden daha fazlasından sorumludur.⁴ PHPT tedavisi, görüntüleme yöntemlerindeki gelişmeler ve prospektif çalışmaların sonuçlarının ortaya konması ile son 20-30 yılda kapsamlı bir değişim geçirmiştir. Güncel kılavuzlar serum PTH düzeyleri yüksek olan ve hiperkalsemiye bağlı komplikasyonların ortaya çıktığı hastalarda paratiroidektomi yapılmasını önermektedir.⁵ Hiperparatiroidizm saptanan ve ameliyat planlanan hastalarda paratiroid adenomları çok sayıda olabilmekle birlikte en sık soliter adenom olarak tespit edilmektedirler.⁶ Paratiroid cerrahisinin ilk dönemlerinde, bilateral boyun eksplorasyonu ve büyümüş olan paratiroid bezlerinin çıkarılması, PHPT için standart cerrahi tedavi iken günümüzde minimal invaziv cerrahi uygulanmaktadır.⁷ Minimal invaziv paratiroidektomi işleminde, ameliyat öncesi görüntüleme yöntemleri kullanılarak büyümüş olan paratiroid bezininin lokalizasyonu saptanır ve cerrahi olarak çıkarılır.⁷ Cerrahi işlem öncesi radyoloji görüntülemenin deneyimli bir radyolog tarafından yapılmış olması, işlemin başarısını en çok etkileyen ve maliyeti azaltan en önemli faktörlerden biridir.⁸⁻¹⁰ Bu çalışmada, ultrason ve sintigrafi görüntüleme yöntemlerinin paratiroid adenomu tespitindeki etkinliğinin ve bu verilerle uygulanan minimal invaziv paratiroidektomi hastalarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem

Ocak 2019-Mart 2023 tarihleri arasındaki zaman dilimini kapsayan çalışma için Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındı (E-71522473-050.01.04-241713-160). Paratiroid adenomu nedeni ile genel cerrahi kliniğinde ameliyat edilen hastaların kayıtları retrospektif olarak taranarak hastaların demografik bilgileri, kan parametreleri, ameliyat öncesi görüntüleme sonuçları, ameliyat bulguları, ameliyat sonrası patolojik inceleme sonuçları kayıt edildi. Ultrason ve sintigrafik incelemeye göre en az bir görüntüleme yöntemi ile adenom tespit edilen hastalar operasyona alınmıştır. Ultrason incelemeleri hastanede görevli yapan radyoloji uzmanlarınca yapıldı (Toshiba SSA-774-80 Applio cihazı, 12 mhz linear elektronik fokuslu transducer). Sintigrafi ise speptsiz 99mTc-sestamibi (MIBI) yöntemi ile yapıldı. Görüntüleme yöntemlerinin tanısal doğruluğunun irdelenmesinde her hastanın ultrason ve sintigrafik

raporları, intraoperatif bulgular ve patolojik inceleme sonuçları ile ayrı ayrı eşleştirilerek görüntüleme yöntemlerinin tanısal değeri değerlendirildi. Ameliyat öncesi ve sonrası PTH düzeyleri hastaların tedavi takiplerinde kullanıldı.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme için SPSS (*Statistical Package for Social Sciences Inc., Chicago, USA ver:25,0 for MAC*) programı kullanıldı. Araştırmada bağımsız değişkenlere verilen yanıtların dağılımına ilişkin tanımlayıcı istatistikler kategorik değişkenler için sayı ve yüzde, sayısal değişkenler için ise ortalama, standart sapma ve medyan olarak sunuldu. Sürekli değişkenlerin normal dağılım varsayımına uygunluğu *Kolmogorov-Smirnow* testi ile değerlendirildi. İkili ve çoklu karşılaştırılmalarda kategorik değişkenlerde *Ki-kare* testi, *Fisher exact* testi, niceliksel değişkenler için *One Way Anova* testi kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında, $p < 0,05$ anlamlı olarak değerlendirildi.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 98 hastanın yaş ortalaması $54,96 \pm 11,86$ (min-max:23 yaş-80 yaş) yılıdır. Hastaların 31'i (%31,6) 18-50 yaş aralığında yer alırken, 67'si (%68,4) 51 yaş ve üzerinde yer almaktaydı. Bu hastaların 83'ü (%84,7) kadın ve 15'i (%15,3) erkekti. Yorgunluk, güçsüzlük, mental durum değişiklikleri (hafıza kaybı, depresyon, sinirlilik, vb), kemik ve eklem ağrıları, hipertansiyon, gastrointestinal şikayetler (kabızlık, şişkinlik, mide bulantısı, vb), sık idrara çıkma ve böbrek taşına bağlı üreter şikayetlere ait semptomların en az birinin bulunmasına göre, hastaların 82'si (%83,7) semptomatik ve 16'sı (%16,3) asemptomatik olarak sınıflandırıldı. Hastaların 52'sinde (%53,1) her iki görüntüleme yöntemi ile adenom varlığı gösterilmiş iken, 24 (%24,5) hastada ultrason, 22 (%22,5) hastada ise sintigrafi ile her hangi bir patoloji saptanmıştır. Patoloji sonucuna göre hastaların 31'inde (%31,6) hiperplastik paratiroid bezi tanımlanırken, 67'sinde (%68,4) paratiroid adenomu tanımlanmıştır (Tablo 1). Hiperplastik paratiroid bezi olarak tanımlanan dokuların tamamı için patoloji raporunda, klinik bulgular ve laboratuvar verileri ile birlikte değerlendirilmesi önerilmiş ve değerlendirme sonucunda hiperplazi olarak raporlanan hastalarda nihai patolojik durum, adenom mevcudiyeti şeklinde edilmiştir.

Minimal invaziv paratiroidektomi operasyonu uygulanan hastaların hiçbirinde komplikasyon gelişmemiştir. Hastaların biyokimya parametreleri incelendiğinde; hastaların ameliyat öncesi total kalsiyum ortalaması $11,28 \pm 0,84$ mg/dl olurken, postoperatif 10.dk kalsiyum

ortalaması 9,77±0,75 mg/dl ve 1 hafta kalsiyum ortalamasının 9,06±0,66 olduğu görüldü. Ayrıca ortalama fosfor değerinin 2,61±0,54 mg/dl, ortalama kreatin değerinin 0,87±2,08 mg/dl, ortalama alkalin fosfataz değerinin 104,32±47,44 IU/L olduğu saptandı. 24 saatlik idrar kalsiyum ortalama değerinin ise 349,32±181,04 mg/dl olduğu görüldü.

Tablo 1. Hastalara ait demografik veriler, ameliyat öncesi klinik bulgu ve biyokimyasal parametreler ile ameliyat sonrası komplikasyon gelişimi ve patoloji sonuçları (n: 98)

	Ort±SS (min-maks) / n(%)
Yaş (yıl)	54,96±11,86 (23-80)
Kadın	83 (%84,7)
Erkek	15 (%15,3)
Fosfor (mg/dl)	2,61±0,54 (1,5-3,7)
Kreatin(mg/dl)	0,87±2,08 (0,25-21)
Alkalin fosfataz (iu/l)	104,32±47,44 (42-267)
24 saatlik idrarda kalsiyum (mg/ gün)	349,32±181,04 (53-774)
Paratiroid çap (mm),	19,22±10,69 (1,5-85)
Osteoporoz	
Yok	91 (%92,9)
Var	7 (%7,1)
Osteopeni	
Yok	84 (%85,7)
Var	14 (%14,3)
Semptomatik phpt durumu	
Semptomatik phpt	82 (%83,7)
Asemtomatik phpt	16 (%16,3)
Patoloji	
Hiperplastik paratiroid bezi	31 (%31,6)
Paratiroid adenomu	67 (%68,4)
Komplikasyon	
Var	0 (0)
Yok	98 (%100)

Min: Minimum, Maks: Maksimum

Hastaların ameliyat öncesi ortalama PTH değeri 373,83±710,28 olurken, ortalama STAT PTH değerleri 263,93±180,27 olarak tespit edildi. Hastaların ameliyat sonrası PTH 10.dk değeri ortalama 75,86±81,79 olurken,

Tablo 2. Hastaların ameliyat öncesi, ameliyat sonrası 10 dk ve 1. hafta PTH ortalama değerlerinin ve preoperatif dönem, ameliyat sonrası 1. hafta Ca karşılaştırılması

	Ameliyat öncesi		Ameliyat sonrası 10. dk		Ameliyat sonrası 1. hafta		p
	Ort±SS	Min-Maks	Ort±SS	Min-Maks	Ort±SS	Min-Maks	
Ca	11,28±0,84	9,5-13,3	-	-	9,06±0,66	4,22-9,76	0,042*
PTH	373,83±710,28	32,2-836	75,86±81,79	2,01-482,2	55,87±54,95	4,06-255,7	0,001*

One way anova testi, P<0,05 anlamlılık

ameliyat sonrası PTH 1.hafta ortalama değerinin ise 55,87±54,95 olduğu saptandı. Hastaların paratiroid çapları ise 19,22±10,69 mm olarak ölçüldü (Tablo 2).

Ameliyat sırasındaki eksplorasyonda, paratiroid adenomunun en sık sağ inferiorda (%49) ve ikinci sıklıkta sol inferiorda (%30.6) yerleşim gösterdiği görüldü. Paratiroid adenomunun diğer yerleşim yerlerinin sıklık sırasıyla sağ superior (%7.1), sol superior (%5.1), intratiroidal (%5.1), isthmus komşuluğunda (%1) olduğu saptandı. İki hastada (%2) ise ameliyatta paratiroid adenomu olduğu düşünülerek eksize edilen dokunun patolojik inceleme sonucunda paratiroid bez dokusu içermediği saptandı. Paratiroidektomi yapıldığı halde paratiroid bez dokusu içermediği anlaşılan iki hastanın takibinde boyun eksplorasyonu planlanarak yeniden ameliyat edildi. Bu hastalarda timusa yakın bölgede ektopik yerleşimli paratiroid adenomu eksize edildi. Tüm hastalar PTH düzeyleri ile tedavi takibine alındı. Ektopik yerleşimli adenomları olan ve ilk ameliyatlarında adenomları tespit edilemeyen iki hasta dışında tüm hastaların PTH takipleri remisyon ile uyumlu saptandı. Bu iki hastada ise reoperasyon sonrasında remisyon sağlandı. Ameliyat öncesi yapılan ultrason ve sintigrafik incelemelerdeki bulgular ile intraoperatif bulgulara ve patolojik inceleme sonuçlarına göre adenom yerleşimlerinin kıyaslanması ve görüntüleme yöntemlerinin intraoperatif bulgular ve patolojik inceleme sonuçları ile uyumu Tablo 3'de verilmektedir.

Patolojik paratiroid bezlerinin lokalizasyonunda preoperatif görüntüleme çalışmalarının tanısallık doğruluk oranları incelendiğinde; sağ inferior yerleşimli paratiroid adenomlarının yerleşim yerinin hem ultrason hem de sintigrafik görüntüleme ile tespiti en yüksek oranda saptandı (sırasıyla %30.6, %36.7). İsthmus komşuluğunda yerleşim gösteren paratiroid adenomlarının ise hem ultrason hem de sintigrafik görüntüleme ile tespiti ise en düşük oranda olduğu saptandı (sırasıyla %1, %0) (Tablo 3).

Tartışma

Paratiroid adenomlarının görülme sıklığı yaşla birlikte artmakta olup kadınlarda erkeklere oranla iki-üç kat daha fazladır.¹¹ Hasta grubumuzda da literatürle uyumlu olarak kadın hastaların sayısı erkek hastalara göre yüksek olarak saptandı.

Tablo 3. Intraoperatif adeneom yerleşimi bulguları ve patoloji sonuçları temel alınarak ultrason, sintigrafi ve ultrason/sintigrafi birlikte adenom yerleşimlerinin doğru saptanma oranları

İntraoperatif Bulgu ve Patoloji	Ultrason			Sintigrafi			Ultrason ve Sintigrafi			
	n	n	(%)	p	n	(%)	p	n	(%)	p
Sol İ inferior	30	22	73,3		17	56,7		25	83,3	
Sağ İ inferior	48	27	56,3		34	70,8		42	87,5	
Sol Superior	5	5	100		3	60,0		5	100	
Sağ Superior	7	3	42,9		3	42,9		4	57,1	
İsthmus Komşuluğu	1	1	100	>0,05	0	0	>0,05	1	100	<0,05
İntratiroidal	5	1	20		3	60,0		3	60	
Yok	2	1	50		1	50,0		2	100	
Toplam	98	60	61,2		61	62,2		82	83,7	

Ki kare testi, $p < 0,05$ anlamlılık

Paratiroid bezleri paratiroid hormonu (PTH) salgılayarak kalsiyumu düzenler. Serum kalsiyum düzeyi düştüğünde paratiroiddeki ana hücreler PTH salgılar. Primer hiperparatiroidizmde hiperkalsemi sıklıkla saptanmakla birlikte hastaların normal total ve/veya iyonize kalsiyum seviyelerine sahip olabileceği bilinmektedir¹². Hasta grubumuzda da ameliyat öncesi ölçülen kalsiyum değerlerinin ortalamasının referans değerinin hemen üzerinde olduğunu saptadık. Ameliyat öncesi PTH değerleri ortalaması literatürle uyumlu olarak yüksek saptanırken ameliyat sonrası kontrol PTH ortalama değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüş saptandı.

Paratiroidektomi, semptomatik primer hiperparatiroidizmi olan tüm hastalar için endikedir.¹³ Primer hiperparatiroidizmde hiperkalsemi sıklıkla saptanmaktadır. Kalıcı hiperkalsemi kas-iskelet sistemi üzerinde zararlı etkiler yaratır. Spesifik olarak, hiperkalsemi hem kortikal hem de trabeküler kemik gelişimini ve korunmasını zararlı bir şekilde etkiler, böylece kemik sağlığını tehlikeye atar ve kırık riskini artırır.^{14,15} PTH kemikteki osteoklast aktivitesini uyarır, kalsiyumun kana salınmasını sağlar ve serum kalsiyum düzeylerini yükseltir. Birçok çalışma, hafif pHPT'li ve klasik pHPT'li hastalarda benzer oranlarda kırık ve osteoporoz geliştiğini bildirmiştir.¹⁶⁻¹⁸ Hasta grubumuzun 7'sinde (%7,1) osteoporoz gözlenirken 14'ünde (%14,3) osteopeni bulunduğunu saptadık.

Sporadik PHPT tedavisi için uygulanan iki taraflı boyun eksplorasyonu, deneyimli cerrahlar tarafından gerçekleştirildiğinde %90'ın üzerinde başarı oranına sahiptir.^{19,20} Bununla birlikte daha küçük bir insizyonla

gerçekleştirilen minimal invaziv paratiroid cerrahisi daha az morbidite, daha az maliyet ve günbirlik cerrahi ile gerçekleştirilebilmesi gibi avantajları ile geleneksel cerrahinin önüne geçmektedir.⁸ Ancak bu yöntemde paratiroid adenomunun ameliyat öncesi dönemde görüntüleme yöntemleri ile deneyimli bir radyolog tarafından saptanması ameliyat süresini ve başarısını belirleyen en önemli etkenlerden biridir.

Paratiroid adenomlarının ameliyat öncesi dönemde saptanması için Ultrasonografi (USG), MIBI-SPECT, Dört boyutlu bilgisayarlı tomografi yöntemleri tek başlarına veya birlikte kullanılabilir.¹⁰ Ancak USG bu yöntemler içinde ilk tercih edilmesi gereken ve en düşük maliyetli yöntemdir.⁸⁻¹⁰

Ultrasonografide, paratiroid bezlerinin görüntülenmesi için yüksek frekanslı lineer dizilimli bir transdüser kullanılır. Hasta sırt üstü pozisyonda ve hafif boyun ekstansiyonu (üst sırt altına bir yastık kullanarak) ile taranır ve boyun, tiroid bezinin arkasındaki bölgeye odaklanarak hem çapraz hem de uzunlamasına düzlemlerde taranır. Paratiroid bezlerinin normal konumu, trakea ve yemek borusunun yanında ve karotis arteri ile juguler venin iç kısmında bulunur. Normal paratiroid bezi küçük boyutu ve derin konumu nedeniyle ultrasonda tanımlanamaz. 1 cm'den büyük olan paratiroid adenomları ultrasonda kolayca görülebilir. Ultrason ile küçük paratiroid adenomlarının, özellikle 1 cm'den küçük olanların, tespiti, dereceli basınç tekniği kullanılarak artırılabilir.²¹ Paratiroid adenomları oval/fasulye şeklinde, iyi sınırlı lezyonlardır ve çevresindeki tiroid bezi ile karşılaştırıldığında homojen hipoeoiktirler. Renkli Doppler ultrasonografi, paratiroid adenomu besleyici

arterin kökeni ve seyrine ilişkin bilgi sağlar.^{22,23} Besleyici damar belirtisi, paratiroid adenomlarının yüksek vaskülariteye sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. Bu polar vaskülarite belirtisi, genellikle Doppler üzerinde merkezi hilum vaskülaritesi gösteren lenf nodundan ayırımında yardımcı olur.

Paratiroid adenomları, ektopik yerleşim, tamamen intratiroidal yerleşim, veya homojen hipoeoik ekotekstür yerine kistik dejenerasyon içeriğine bağlı heterojen iç ekotekstür gibi atipik özellikler nadiren gösterebilirler, bu da olası ultrasonografik tanıyı zorlaştırır.²⁴⁻²⁷

Yüksek çözünürlüklü ultrason, radyasyon içermemesi, düşük maliyeti ve kolayca ulaşılabilir olması gibi avantajlara sahiptir. Ultrason, paratiroid adenomlarının tespitinde büyük ölçüde operatör bağımlı olmasına rağmen, deneyimli bir radyologun gerçekleştirmesinde %84 duyarlılığa sahiptir.²⁸ Paratiroid adenomlarının iki en önemli farklılık noktası, tiroid nodülleri ve lenf nodlarıdır ve ultrason, bunların ayırımı için kullanışlı bir yöntemdir. Yemek borusu ve longus colli kası bazen paratiroid adenomlarını taklit edebilir.²⁹ Cheung ve arkadaşlarının yayınladıkları bir metaanalizde paratiroid adenomlarını ameliyat öncesi saptamada kullanılan USG duyarlılığı ve pozitif prediktif değeri sırasıyla %76,1 (%57-%89) ve %93,2 (%85-%100) olarak belirtilmektedir.³⁰ Ruda ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise USG'nin sensitivitesi %79 olarak belirtilmektedir.³¹ Ancak USG'nin başarısının radyologa bağlı olması bu yöntemin en önemli dezavantajıdır.³² Eşzamanlı bir tiroid nodülü varlığında, yüksek vücut kitle endeksi olan hastalarda, multiglandüler/ektopik paratiroid hastalığı olanlarda ve küçük paratiroid varlığında USG'nin başarı oranı düşmektedir.⁸

Paratiroid bezlerini görüntülemek için en yaygın kullanılan radyotraser, ^{99m}Tc ile sestamibi olan bir maddedir. Hem tiroid hem de paratiroid bezleri sestamibiye alır, ancak ayırt edici nokta, hiperplastik veya adenomatoz paratiroid dokusu tarafından alınanın daha yoğun olduğu ve tiroid dokusundan daha hızlı temizlendiğidir.³³ Bu nedenle, radyotraserin artmış alım noktaları, gecikmiş bir taramada (radyo-traser uygulamasından sonra değişken olarak 60-180 dakika alınır) paratiroid dokuyu temsil eder. Hem tiroid hem de paratiroid dokusu tarafından alınan ilk radyo-traser ajanı ile sadece tiroid dokusu tarafından alınan ikinci bir radyo-traser ajanının kullanılmasıyla elde edilen görüntüleri çıkarmak (sestamibi gibi) paratiroidi görüntülemeye yardımcı olabilir.

Çalışmamızda radyasyon içermemesi ve kolay ulaşılabilir olması nedeni ile ultrasonografi bulguları ve ek olarak değerlendirme ve karşılaştırma için sintigrafi bulguları dahil edilmiştir. Ultrason ve sintigrafi bulgularının arasındaki lokalizasyonlara göre saptama yüzdeleri

bulgular kısmında belirtilmiştir. Ancak lokalizasyon yapılmasının güç olduğu vakalarda ve bu modalitelerde tipik olmayan şekilde görünen paratiroid lezyonlarında 4D BT ve/veya MR kullanılması gerekmektedir.³⁴ Bizim çalışmamızda tomografi ve MR görüntüleme bulguları dahil edilmemiş olup bu bulguların da dahil edildiği daha geniş çalışmaların yapılması bundan sonraki çalışmalar için faydalı olacaktır.

Sonuç olarak, Klinik olarak hiperparatiroidizm teşhis edilen bir olguda görüntülemenin temel amacı, paratiroid lezyonlarının kesin lokalizasyonunu sağlayarak doğru cerrahi planlamadır. İlk basamak görüntüleme yöntemleri boyun ultrasonu ve sintigrafidir. Ultrason ile görüntüleme, radyasyondan korunma ve böbrekler için güvenli yöntem olması nedeni ile büyük bir öneme sahiptir. Bu modalitelerde lokalizasyon yapılamaması veya bu modalitelerde uyumsuz bulguların bulunması, 4D BT ve/veya MR kullanılmasını gerektirir.

Etik Standartlara Uygunluk

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındı (E-71522473-050.01.04-241713-160). Tüm prosedürler, kurumsal ve/veya ulusal araştırma komitesinin etik standartlarına ve 1964 Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Yazar Katkısı

Çalışmanın tasarımı, veri toplanması ve analizi, kaynak taraması ve makale yazımına yazarlar eşit oranda katkıda bulunmuştur.

Kaynaklar

1. Madkhali T, Alhefdhi A, Chen H, Eifenbein D. Primary hyperparathyroidism. *Ulus Cerrahi Derg.* 2016;32(1):58-66. doi:10.5152/UCD.2015.3032
2. Khan S, Choe CC, Shabaik A, Bouvet M. Parathyroid adenoma presenting with spontaneous cervical and anterior mediastinal hemorrhage: A case report. *Medicine.* 2019;98(5):e14347. doi: 10.1097/MD.00000000000014347.
3. Vaira V, Verdelli C, Forno I, Corbetta S. MicroRNAs in parathyroid physiopathology. *Mol Cell Endocrinol.* 2017;456:9-15. doi:10.1016/j.mce.2016.10.035
4. Fu CH, Chen HF. Parathyroid adenoma presenting as chronic pancreatitis: A case report and literature review. *Medicine.* 2022;101(46):e31750. doi:10.1097/MD.00000000000031750
5. Wilhelm SM, Wang TS, Ruan DT, et al. The American Association of Endocrine Surgeons Guidelines for Definitive





- Management of Primary Hyperparathyroidism. *JAMA Surg.* 2016;151(10):959-968. doi:10.1001/jamasurg.2016.2310.
6. Al-Hassan MS, Mekhaimar M, El Ansari W, Darweesh A, Abdelaal A. Giant parathyroid adenoma: a case report and review of the literature. *J Med Case Rep.* 2019;13(1):332. doi:10.1186/s13256-019-2257-7.
 7. Noureldine SI, Gooi Z, Tufano RP. Minimally invasive parathyroid surgery. *Gland Surg.* 2015;4(5):410-419. doi:10.3978/j.issn.2227-684X.2015.03.07.
 8. Solorzano CC, Carneiro-Pla D. Minimizing cost and maximizing success in the preoperative localization strategy for primary hyperparathyroidism. *Surg Clin North Am.* 2014;94(3):587-605. doi:10.1016/j.suc.2014.02.006.
 9. Lubitz CC, Hunter GJ, Hamberg LM, et al. Accuracy of 4-dimensional computed tomography in poorly localized patients with primary hyperparathyroidism. *Surgery.* 2010;148(6):1129-1137; discussion 1137-1138. doi:10.1016/j.surg.2010.09.002.
 10. Wang TS, Cheung K, Farrokhyar F, Roman SA, Sosa JA. Would scan, but which scan? A cost-utility analysis to optimize preoperative imaging for primary hyperparathyroidism. *Surgery.* 2011;150(6):1286-1294. doi:10.1016/j.surg.2011.09.016
 11. Yavropoulou MP, Anastasilakis AD, Panagiotakou A, Kassi E, Makras P. Gender Predilection in Sporadic Parathyroid Adenomas. *Int J Mol Sci.* 2020;21(8). doi:10.3390/ijms21082964
 12. Sekine O, Hozumi Y, Takemoto N, et al. Parathyroid adenoma without hyperparathyroidism. *Jpn J Clin Oncol.* 2004;34(3):155-158. doi:10.1093/jjco/hyh028
 13. Wilhelm SM, Wang TS, Ruan DT, et al. The American Association of Endocrine Surgeons Guidelines for Definitive Management of Primary Hyperparathyroidism. *JAMA Surg.* 2016;151(10):959-968. doi: 10.1001/jamasurg.2016.2310.
 14. Wang Y, Ladie DE. Parathyroidectomy. [Updated 2022 Sep 26]. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563274/>
 15. Amaral LM, Queiroz DC, Marques TF, Mendes M, Bandeira F. Normocalcemic versus hypercalcemic primary hyperparathyroidism: More stone than bone? *J Osteoporos.* 2012;2012:128352. doi:10.1155/2012/128352.
 16. Amin AL, Wang TS, Wade TJ, Yen TW. Normal PTH levels in primary hyperparathyroidism: Still the same disease? *Ann Surg Oncol.* 2011;18:3437-3742. doi:10.1245/s10434-011-1744-x. doi: 10.3390/cancers15123085.
 17. Adler JT, Sippel RS, Schaefer S, Chen H. Surgery improves quality of life in patients with "mild" hyperparathyroidism. *Am J Surg.* 2009;197:284-290. doi:10.1177/11795514187851
 18. Cironi KA, Issa PP, Albuck AL, et al. Comparison of Medical Management versus Parathyroidectomy in Patients with Mild Primary Hyperparathyroidism: A Meta-Analysis. *Cancers (Basel).* 2023;15(12):3085. doi:10.3390/cancers15123085.
 19. Bergenfelz A, Jansson S, Mårtensson H, et al. Scandinavian Quality Register for Thyroid and Parathyroid Surgery: audit of surgery for primary hyperparathyroidism. *Langenbecks Arch Surg.* 2007;392(4):445-451. doi:10.1007/s00423-006-0097-6.
 20. Irvin GL 3rd, Carneiro DM, Solorzano CC. Progress in the operative management of sporadic primary hyperparathyroidism over 34 years. *Ann Surg.* 2004;239(5):704-708; discussion 708-711. doi:10.1097/01.sla.0000124448.49794.74.
 21. Reeder SB, Desser TS, Weigel RJ, Jeffrey RB. Sonography in primary hyperparathyroidism: review with emphasis on scanning technique. *J Ultrasound Med.* 2002;21:539-552. doi:10.7863/jum.2002.21.5.539.
 22. Wolf RJ, Cronan JJ, Monchik JM. Color Doppler sonography: an adjunctive technique in assessment of parathyroid adenomas. *J Ultrasound Med.* 1994;13:303-308. doi:10.7863/jum.1994.13.4.303.
 23. Lane MJ, Desser TS, Weigel RJ, Jeffrey RB Jr. Use of color and power Doppler sonography to identify feeding arteries associated with parathyroid adenomas. *AJR Am J Roentgenol.* 1998;171:819-823. doi:10.2214/ajr.171.3.9725323.
 24. Johnson NA, Yip L, Tublin ME. Cystic parathyroid adenoma: sonographic features and correlation with 99mTc-sestamibi SPECT findings. *AJR Am J Roentgenol.* 2010;195:1385-1390. doi:10.2214/AJR.10.4472.
 25. Chandramohan A, Sathyakumar K, John RA, et al. Atypical ultrasound features of parathyroid tumors may bear a relationship to their clinical and biochemical presentation. *Insights Imaging.* 2014;5:103-111. doi:10.1007/s13244-013-0297-x.
 26. Polga JP, Balikian JP. Partially calcified functioning parathyroid adenoma. Casedemonstrated roentgenographically. *Radiology.* 1971;99:55-56. doi:10.1148/99.1.55.
 27. Randel SB, Gooding GA, Clark OH, Stein RM, Winkler B. Parathyroid variants: US evaluation. *Radiology.* 1987;165:191-194. doi:10.1148/radiology.165.1.3306784.
 28. Vitetta GM, Neri P, Chiecchio A, et al. Role of ultrasonography in the management of patients with primary hyperparathyroidism: retrospective comparison with technetium-99m sestamibi scintigraphy. *J Ultrasound.* 2014;17:1-12. doi:10.1007/s40477-014-0067-8.
 29. Kamaya A, Quon A, Jeffrey RB. Sonography of the abnormal parathyroid gland. *Ultrasound Q.* 2006;22:253-262. doi:10.1097/01.ruq.0000237260.33509.4f.
 30. Cheung K, Wang TS, Farrokhyar F, Roman SA, Sosa JA. A meta-analysis of preoperative localization techniques for patients with primary hyperparathyroidism. *Ann Surg Oncol.* 2012;19:577-583. doi:10.1245/s10434-011-1870-5.
 31. Ruda JM, Hollenbeak CS, Stack BC Jr. A systematic review of the diagnosis and treatment of primary hyperparathyroidism from 1995 to 2003. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005;132:359-372. doi:10.1016/j.otohns.2004.10.005.
 32. Berber E, Parikh RT, Ballem N, Garner CN, Milas M, Siperstein AE. Factors contributing to negative parathyroid localization: an analysis of 1000 patients. *Surgery.* 2008;144:74-79. doi:10.1016/j.surg.2008.03.019.

33. Johnson NA, Tublin ME, Ogilvie JB. Parathyroid imaging: technique and role in the preoperative evaluation of primary hyperparathyroidism. *AJR Am J Roentgenol.* 2007;188:1706-1715. doi:10.2214/AJR.06.0938.
34. Gulati S, Chumber S, Puri G, et al. Multi-modality parathyroid imaging: A shifting paradigm. *World J Radiol.* 2023;15(3):69-82. doi:10.4329/wjr.v15.i3.69.

Araştırma Makalesi | Research Article

SAĞ VENTRİKÜL ÇIKIŞ YOLU REKONSTRÜKSİYONU UYGULANAN FALLOT TETRALOJİLİ OLGULARDA VENTRİKÜL FONKSİYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

ASSESSMENT OF VENTRICULAR FUNCTIONS AFTER RIGHT VENTRICULAR OUTFLOW TRACT RECONSTRUCTION IN PATIENTS WITH TETRALOGY OF FALLOT

 Murat Deveci^{1*},  Reşit Ertürk Levent²,  Mustafa Orhan Bulut³,  Yüksel Atay⁴

¹Tirakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Kardiyoloji Bilim Dalı, Edirne, Türkiye. ²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Kardiyoloji Bilim Dalı, İzmir, Türkiye. ³İstanbul Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Kardiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye. ⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.



Öz

Amaç: Bu çalışmada, Fallot tetralojisi tam onarımı için transanüler yama (TAP) kullanılan olgular ile heterogreft kapaklı kondüit (Contegra®) kullanılan olgularda ventrikül fonksiyonlarının ekokardiyografik parametreler kullanılarak karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya aynı merkezde opere olmuş ve izlemde olan 1-18 yaş arası çocuklar dâhil edildi. Transanüler yama (TAP) uygulanan 41 olgu ve Contegra® kullanılan 23 olgu ile sağlıklı 40 çocukta, konvansiyonel ekokardiyografinin yanında doku Doppler ekokardiyografik yöntem kullanıldı.

Bulgular: Transanüler yama (6,26±3,35 yıl) ve Contegra® (6,19±3,81 yıl) grupları arasında yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, ortalama operasyon yaşı ve postoperatif izlem süreleri açısından farklılık yoktu. Triküspit anüler düzlem sistolik hareketi (TAPSE) z skoru TAP grubunda -1,97±1,36, Contegra® grubunda -2,07±0,88 bulundu (p=0,728). Kontrol grubunda ise TAPSE z skoru -0,39±1,13 ölçüldü ve 3 grup arasında fark anlamlı idi (p<0,001). Pulmoner yetersizlik (PY) derecesi ve sıklığı TAP grubunda daha fazla bulundu (p=0,040). Triküspit lateralinden gerçekleştirilen DDE incelemesinde; TAP ve Contegra® grubunda, izovolemik velosite (IVV) dışındaki değişkenler açısından istatistiksel anlamlı fark yoktu (p=0,009). Her iki hasta grubunda da PY derecesi ile izovolemik akselerasyon (IVA) ve miyokardiyal performans indeksi (MPI') arasında anlamlı ilişki saptandı. Ayrıca TAPSE z skoru ile sağ ventrikül (RV) IVA ve MPI' arasında anlamlı korelasyon vardı.

Sonuç: Fallot tetralojili hastaların ventrikül fonksiyonlarının değerlendirilmesinde TAPSE, MPI' ve IVA oldukça yararlı ölçümlerdir. Contegra® kullanılan hastalarda PY derecesi ve sıklığı, transanüler yama uygulananlara göre daha düşük olsa da iki grup arasında ventrikül fonksiyonları açısından belirgin farklılık saptanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Contegra®, doku Doppler ekokardiyografi, Fallot tetralojisi, transanüler yama

ABSTRACT

Objective: We aimed to evaluate the ventricular functions of patients with tetralogy of Fallot (TOF) who underwent complete repair with transannular patch (TAP) or Contegra® as a valved conduit using echocardiographic methods.

Methods: Children between 1 and 18 years old who operated for TOF at a single center were enrolled in the study. Conventional and tissue Doppler echocardiography (TDE) were used to evaluate healthy subjects (n=40), patients with TAP (n=41), and Contegra® (n=23).

Results: There was no difference between TAP (6.26±3.35 years) and Contegra® (6.19±3.81 years) groups concerning age, gender, body mass index, mean age at operation and postoperative follow-up periods. Tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) z score was -1.97±1.36 in patients with TAP and -2.07±0.88 in patients with Contegra® (p=0.728). Controls had a TAPSE z score of -0.39±1.13, and the difference between the three groups was significant (p<0.001). The degree of pulmonary regurgitation (PR) was higher in patients with TAP (p=0.040). On evaluation with TDE of the tricuspid lateral annulus, the only difference between TAP and Contegra® groups was in isovolumic velocity (IVV) (p=0.009). Both groups had a significant correlation between the degree of PR, myocardial performance index (MPI'), and isovolumic acceleration (IVA). Furthermore, there were significant correlations between right ventricular (RV) IVA, MPI', and TAPSE z scores.

Conclusion: TAPSE, MPI' and IVA are useful measurements for assessing ventricular function in patients with TOF. Although the degree of PR is lower in patients with Contegra®, there is no overt difference between the two groups regarding ventricular functions.

Keywords: Contegra®, tetralogy of Fallot, tissue Doppler echocardiography, transannular patch

Giriş

Fallot Tetralojisi (FT) tüm doğumsal kalp hastalıklarının %7-10'unu oluşturur ve siyanotik kalp hastalıkları içinde en sık görülenlerden birisidir. Operasyon yaşının erkene kayması ve çoğu olguda pulmoner anülüs hipoplazisi varlığı, transanüler yama (TAP) uygulamasını gerektirmektedir ve bu durum da opere FT'li olgularda değişen derecelerde pulmoner kapak yetersizliği (PY)'nin sık görülmesine yol açmaktadır.

Günümüzde FT tam onarımında pulmoner kapak koruyucu teknikler önem kazanmıştır.¹ Ancak seçilmiş olgularda TAP uygulamasının yanı sıra kapaklı kondüit kullanımı da gerekebilmektedir. Sığır juguler veninden elde edilmiş kapaklı bir heterogreft olan Contegra®'nın, sağ ventrikül çıkış yolu (RVOT) rekonstrüksiyonunda kullanımına ilişkin sonuçlar, homogreftlere iyi bir alternatif olduğunu göstermektedir.²

Doku Doppler ekokardiyografi (DDE) ile elde edilen triküspit lateral anülüs hızları, ölçülen sistolik-diastolik zaman intervalleri, hesaplanan miyokardiyal performans indeksi (MPI') sağ ventrikül fonksiyonları hakkında güvenilir bilgiler vermektedir.³ Son dönemde ön ve art yükten bağımsız güvenilir bir parametre olarak geliştirilen izovolemik akselerasyon (IVA)'nın, sağ ventrikül hakkında oldukça güvenilir ve pratik bilgiler verdiğini bildiren çalışmalar mevcuttur.⁴

Bu çalışmada amacımız; FT tam onarımı için transanüler yama (TAP) kullanılan olgular ile kapaklı kondüit heterogreft (Contegra®) kullanılan olguların ventrikül fonksiyonlarının ekokardiyografik parametreler kullanılarak karşılaştırılması ve pulmoner yetersizlik derecesi ile ventrikül fonksiyonları arasındaki ilişkinin belirlenmesidir.

Yöntem

Bu çalışma Ocak 2003 - Aralık 2010 tarihleri arasında FT nedeniyle transanüler yama veya kapaklı heterogreft (Contegra®) kullanarak tam düzeltme ameliyatı olmuş ve takipleri devam etmekte olan çocuklarda yapıldı. Yaşları 18 ay – 18 yıl arasında olan ve operasyonun üzerinden en az 6 ay geçmiş toplam 64 çocukta vaka kontrollü izlem çalışması şeklinde gerçekleştirildi. Çalışma grubu RVOT genişletilmesi için uygulanan tekniğe göre 2 gruba ayrıldı: 1. Transanüler yama (TAP) kullanılanlar (n=41) 2. Kapaklı heterogreft (Contegra®) kullanılanlar (n=23).

Kontrol grubu olarak; Şubat-Mayıs 2011 tarihleri arasında üfürüm, presenkop, göğüs ağrısı gibi nedenlerle pediatrik kardioloji polikliniği'ne yönlendirilen ve fizik muayene, EKG ve ekokardiyografik değerlendirmelerinde patolojik bulgu saptanmayan, çalışma grubu ile benzer yaş ve cinsiyetlerdeki sağlıklı 40 çocuk alındı.

Çalışma Düzeni

Çalışma ve kontrol grubunda bulunan tüm olguların ayrıntılı anamnezleri alınarak boy, vücut ağırlığı, arterial kan basıncı ölçümleriyle birlikte detaylı fizik bakıları yapıldı. İzlem dosyalarından; operasyon tarihi, cerrahi

teknik ve kullanılan heterogreft çapının bulunduğu ameliyat notu, öncesinde modifiye Blalock-Taussig (MBT) şant yapılıp yapılmadığı, intraoperatif hesaplanan pulmoner kapak z skoru değeri, post-op ilk EKO'daki ölçümler gibi bulgulara ulaşıldı. Düzenli kontrole gelen olgular ve son kontrol üzerinden 6 aydan fazla süre geçmiş olanlar çalışma viziti kapsamında kontrole çağırılarak son EKO bulguları kaydedildi.

Tüm olguların, arteriyel kan basıncı ölçümü, elektrokardiyografi, standart ekokardiyografi ve doku Doppler ekokardiyografi değerlendirmeleri aynı pediatrik kardiolog tarafından yapıldı. Çalışmaya alınan tüm çocuklar ve aileleri çalışma hakkında bilgilendirildikten sonra ebeveynlerinden izin alınarak onam formu imzalatıldı. Yerel etik kurulundan ilaç dışı araştırma onayı alındı (Tarih 28.06.2011, Karar No: 11-6/3).

Ekokardiyografik Değerlendirme

Ekokardiyografik çalışmalar GE Vingmed Vivid Pro 7 (GE Vingmed Ultrason, Horten, Norway) Eko cihazı ile 3 MHz ve 7 MHz prob kullanılarak yapıldı. İnceleme esnasında hastaların sırtı üstü yatar veya sol lateral pozisyonda ve sakin olmaları sağlandı. Ekokardiyografik değerlendirme Amerikan Ekokardiyografi Derneği'nin son kılavuz ve önerileri dikkate alınarak gerçekleştirildi.^{3,5,6}

Modifiye apikal 4 boşluk görüntüsünden elde edilen sağ ventrikül diastol sonu ve sistol sonu alanı kullanılarak sağ ventrikül fraksiyonel alan değişimi (RVFAC) hesaplandı. M-mode ekokardiyografik yöntem kullanılarak apikal 4 boşluk görüntüden "Triküspitin Anüler Planda Sistolik Hareketi" (TAPSE) ölçümü yapıldı.

Aynı cihazın doku Doppler fonksiyonu aktive edilerek sistol süresince kaydedilen en yüksek miyokardiyal hız S', erken diastol süresince kaydedilen en yüksek miyokardiyal hız E' ve geç diastol süresince kaydedilen en yüksek miyokardiyal hız A' olarak kaydedildi. Pulsed dalga DDE'de izovolemik kasılma zamanı (IVCT), izovolemik relaksasyon zamanı (IVRT) ve ejeksiyon zamanı (ET) ölçümleri yapıldı ve bu ölçümler kullanılarak, miyokard performans indeksi (MPI) hesaplandı $[MPI=(IVCT+IVRT)/ET]$. EKG'deki R dalgasının pikinden hemen önce ortaya çıkan ve doku Doppler trasesindeki sistolik dalganın önünde yer alan dalga olan izovolemik kasılma sırasındaki zirve miyokard hızının (IVV), zirve hızına ulaşma zamanına (akselerasyon zamanı - AT) bölünmesiyle her 3 miyokardiyal segment için izovolemik akselerasyon (IVA) hesaplandı.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde "Statistical Package for Social Sciences" (SPSS 15.0) paket programından yararlanıldı. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (ort ± SD) olarak verildi. İki hasta grubuna ait sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Student t testi kullanılırken kontrol grubuyla birlikte 3 gruba ait sürekli değişkenler Oneway ANOVA testi ile analiz edildi. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni testi kullanıldı. Aynı değişkene ait zaman içindeki verilerin karşılaştırılmasında paired t testi kullanıldı. Pulmoner yetersizlik derecesi ile diğer değişkenler arasındaki ilişki için Spearman korelasyon analizi kullanılırken, iki nümerik değişken

arasındaki ilişki için Pearson korelasyon analizinden faydalanıldı. Kategorik veya kesikli değişkenlerin değerlendirilmesi için Ki-kare testine başvuruldu. Bağımlı bir değişkenle korelasyonda diğer değişkenlerin etkileşiminin değerlendirilmesinde genel lineer model kullanıldı. Tüm istatistiksel analizlerde $p=0,05$ değeri anlamlılık sınırı kabul edildi.

Bulgular

Kontrol grubunda yer alan 40 olgunun 19'u (%47,5) kız, 21'i (%52,5) erkek iken, TAP grubunda 18 (%44) kız, 23 (%56) erkek, Contegra® grubunda ise 12 (%52) kız ve 11 (%23) erkek yer almıştı. Kontrol grubunun yaş ortalaması $6,11\pm 3,46$ yıl, TAP ve Contegra gruplarının ise sırasıyla $6,26\pm 3,35$ yıl ve $6,19\pm 3,81$ yıl idi. Tüm gruplar yaş, cinsiyet, ağırlık, boy, kan basıncı (TA) ve kalp hızı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklılık bulunmadı. İki hasta grubu arasında cinsiyet ve yaş açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla $p=0,815$ ve $p=0,980$). TAP ve Contegra® grubundaki olgular ile ilgili diğer klinik özellikler açısından da anlamlı fark yoktu. (Tablo 1).

Tablo 1. Hasta gruplarının klinik özellikleri (ort \pm SS)

	TAP (n=41)	Contegra (n=23)	p
Operasyon yaşı (Ay)	31,24 \pm 20,1	40,70 \pm 30,4	0,147
Operasyon ağırlığı (Kg)	11,52 \pm 3,0	12,87 \pm 3,8	0,490
Post-op izlem süresi (Ay)	43,98 \pm 30,2	33,70 \pm 20,4	0,112
Mc Goon indeksi	1,85 \pm 0,18	1,77 \pm 0,17	0,834
Pulmoner z değeri	-2,92 \pm 1,21	-3,34 \pm 1,49	0,893
Mbt şant (yok/var)	30/11	14/9	0,308
Postop ilk PS (mmhg)	8,10 \pm 3,73	11,15 \pm 4,51	0,174
Postop ilk PY	16 (39,0)	13 (56,5)	0,396
Derecesi [n(%)]			
0	23 (56,1)	9 (39,1)	
1	2 (4,9)	1 (4,3)	
2	0 (0)	0 (0)	
3	0 (0)	0 (0)	

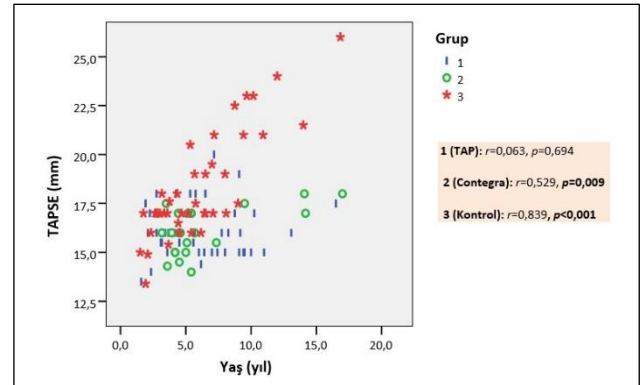
MBT: Modifiye Blalock Taussig, PS: Pulmoner stenoz, PY: Pulmoner yetersizlik

İki boyutlu (2D) incelemedeki çap, alan ve hacim ölçümleri, hasta gruplarında kontrollere göre anlamlı yüksek tespit edildi. (Tablo 2). TAP ve Contegra® grupları arasında, tüm değişkenler için yapılan karşılaştırmaların sonucunda anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Yaşa göre hesaplanan TAPSE z skoru TAP grubunda $-1,97\pm 1,36$, Contegra® grubunda ise $-2,07\pm 0,88$ bulundu ($p=0,728$). Kontrol grubunda ise TAPSE $18,29\pm 2,75$ mm ve TAPSE z skoru ise $-0,39\pm 1,13$ ölçüldü ve istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($p<0,001$). TAPSE, sağlıklı çocuklarda yaş ile kuvvetli pozitif korelasyon gösterirken ($r=0,836$), Contegra® grubunda orta düzeyde korelasyon ($r=0,529$) vardı. TAP grubunda ise anlamlı ilişki yoktu ($r=0,063$) (Şekil 1).

Pulmoner yetersizlik derecesi (son PY) açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı farklılık bulundu ($p=0,040$). Post-op izlem süresi ile PY derecesi arasında TAP grubunda ($r=0,352$, $p=0,024$) anlamlı pozitif korelasyon mevcut iken Contegra® grubunda ($r=0,291$, $p=0,178$) istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı. Post-op

izlem süresi ile PS değişkenleri arasındaki ilişki açısından ise TAP grubunda korelasyon saptanmazken ($r=0,017$, $p=0,914$), Contegra® grubunda pozitif bir ilişki vardı ($r=0,425$, $p=0,043$).



Şekil 1. Üç grupta triküsptin anüler planda sistolik hareketi (TAPSE) ile yaş arasındaki ilişki (TAP: Transanüler yama)

Triküspit lateralinden gerçekleştirilen DDE incelemesinde; TAP ve Contegra® grubunda, IVV ($p=0,009$) dışındaki değişkenler açısından istatistiksel anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). Kontrol grubu ile birlikte yapılan analizde istatistiksel anlamlı fark bulundu (Tablo 3). Hasta gruplarında TAPSE z skoru ile diğer değişkenler arasındaki ilişki incelendiğinde hem TAP hem de Contegra® grubunda RVFAC (sırasıyla $r=0,643$, $p<0,001$; $r=0,794$, $p<0,001$), MPI' (sırasıyla $r=-0,439$, $p=0,004$; $r=-0,599$, $p=0,003$) ve IVA (sırasıyla $r=0,325$, $p=0,038$; $r=0,448$, $p=0,032$) arasında anlamlı korelasyon saptandı.

Triküspit MPI' ile RV fonksiyonlarını gösteren diğer değişkenlerin ilişkisi araştırıldığında TAP, Contegra® ve kontrol gruplarının hepsinde IVA ile istatistiksel anlamlı negatif korelasyon saptandı (sırasıyla $r=-0,626$, $p<0,001$; $r=-0,670$, $p<0,001$; $r=-0,534$, $p<0,001$).

Tartışma

Siğir juguler veninden elde edilen kapaklı bir heterogreft olan Contegra®, RVOT rekonstrüksiyonunda altın standart olan kriyoprezerve homogreftlere alternatif olarak geliştirilmiştir.⁷ Genellikle erken ve orta dönem cerrahi sonuçlara ilişkin olgu serilerinden oluşan mevcut çalışmaların önemli bir kısmında; daha önce herhangi bir nedenle RVOT rekonstrüksiyonu uygulanmış ve izlemde pulmoner kapak replasmanı (PVR) gereksinimi ortaya çıkan tekrar cerrahi gereksinimi olmuş vakalar ile FT'nin primer tam düzeltme operasyonu yapılan olgular, Contegra kullanılan hasta gruplarının çoğunluğunu oluşturmaktadır.^{8,9}

FT'li olguların primer tam düzeltme operasyonu sırasında kapaklı kondüit kullanımı kadar olmasa bile, transanüler yamanın da ne zaman kullanılacağına ilişkin fikir birliği yoktur. TAP yapılacaklarda pulmoner anülüs çapı dikkate alınmakla birlikte kriterler net değildir. Stewart ve arkadaşları, anülüs z değeri -4 ve üzerinde ise kapak-koruyucu teknik kullanmışlarken, Uebing ve arkadaşları z değeri -2 olduğunda uygun RV sistolik basıncı elde edildiğini bildirmişlerdir.^{10,11}

Tablo 2. Hasta ve kontrol gruplarında iki boyutlu (2D) ekokardiyografik ölçümler (ort±SD)

	TAP (n=41)	Contegra (n=23)	Kontrol (n=40)	p
RVFAC (%)	41,1±7,1	41,8±8,3	46,8±7,5	0,002
RVEDVI (ml/m ²)	69,4±22,9	68,4±23,4	42,8±8,1	<0,001
RVESVI (ml/m ²)	35,2±18,5	34,9±17,4	17,2±5,1	<0,001
RVEF (%)	50,8±11,8	48,3±9,1	64,1±6,2	<0,001
RAA (cm ²)	8,9±3,7	8,7±5,2	6,0±1,8	0,001
RVOT (mm)	26,2±7,4	25,1±7,2	19,7±3,6	<0,001

RVFAC: Sağ ventrikül fraksiyonel alan değişimi, RVEDVI: Sağ ventrikül diastol sonu hacim indeksi, RVESVI: Sağ ventrikül sistol sonu hacim indeksi, RVEF: Sağ ventrikül ejeksiyon fraksiyonu, RAA: Sağ atriyum alanı, RVOT: Sağ ventrikül çıkış yolu

Tablo 3. Hasta ve kontrol gruplarında sağ ventrikülden doku Doppler ekokardiyografi ile elde edilen veriler (ort±SD)

	TAP (n=41)	Contegra (n=23)	Kontrol (n=40)	p
S' (cm/sn)	9,44±1,70	9,91±2,86	13,08±2,13	<0,001
E' (cm/sn)	14,37±2,48	14,09±2,39	17,10±3,69	<0,001
A' (cm/sn)	7,90±1,77	8,00±1,73	10,15±2,94	<0,001
IVRT (msn)	66,83±23,64	66,96±21,93	42,54±5,55	<0,001
IVCT (msn)	84,85±23,21	76,39±29,33	40,76±5,44	<0,001
ET (msn)	218,54±44,04	221,83±44,79	255,39±17,36	<0,001
MPI'	0,72±0,24	0,68±0,30	0,32±0,02	<0,001
IVV (cm/sn)	8,15±2,02	6,96±1,46	10,90±1,48	<0,001
AT (msn)	35,24±9,70	30,74±13,13	25,80±6,01	<0,001
IVA (m/sn ²)	2,49±1,01	2,60±0,99	4,38±0,91	<0,001

TAP: Transanüler yama, S': Sistolik velosite, E': Erken diastolic velosite, A': Geç diastolic velosite, IVRT: İzovolemik relaksasyon zamanı, IVCT: İzovolemik kontraksiyon zamanı, ET: Ejeksiyon zamanı, MPI': Miyokardiyal performans indeksi, IVV: İzovolemik velosite, AT: Akselerasyon zamanı, IVA: İzovolemik akselerasyon

Bizim çalışmamızdaki z değerleri; TAP grubunda -2,92±1,21, Contegra® grubunda -3,34±1,49 saptanmış olup fark istatistiksel anlamlı bulunmamıştır (p=0,893).

Opere FT'li hastalarda PY'nin derecesi ve süresi arttıkça, sağ ventrikülden dilatasyon ve disfonksiyon ortaya çıkmakta; aritmi, ani ölüm, konjestif kalp yetersizliği gibi nedenlerle morbidite ve mortalite artmaktadır.¹² Çalışmamızda, iki hasta grubunda da postop ilk PY derecesi bakımından fark olmamakla birlikte her iki grupta da zaman içerisinde PY derecesi artış göstermekte idi. TAP grubu ile Contegra kullanılanlar arasında, son PY derecesi açısından TAP grubu aleyhine anlamlı farklılık saptandı (p=0,040).

Hastalarımızın ortalama operasyon yaşları, TAP grubunda 31,24±20,1 yıl ve Contegra® grubunda 40,70±30,4 yıl olup iki grup arasında fark istatistiksel anlamlı olmasa da (p=0,147) kondüit gerekenlerin biraz daha geç opere oldukları ortaya çıkmaktadır. Olguların operasyon amacıyla farklı merkezlerden ve diğer illerden gönderilmeleri, öncesinde şant gibi palyatif işlem yapılmış olması gibi nedenlerin ortalama operasyon yaşını yükselttiği kanısındayız.

Anavekar ve arkadaşlarının miyokard enfarktüsü 522 olguyu irdelediği çok merkezli prospektif çalışmada, RVFAC'nin prognostik önemi olduğu bildirilmiştir.¹³ Bizim çalışmamızda hem RVFAC hem de RVEF değerleri açısından TAP ve Contegra® gruplarında, kontrollere göre belirgin azalma saptandı (Tablo 2). Ayrıca iki hasta

grubunda da PY derecesi ile her iki parametre arasında negatif korelasyon saptandı.

Koestenberger ve arkadaşları, TAP uygulanarak opere edilmiş FT'li olgularda RV sistolik fonksiyonlarının, EKO ile TAPSE ölçülerek ve MRI ile RVEF ve sağ ventrikül diastol sonu hacim indeksi (RVEDVI) hesaplanarak karşılaştırıldığı çalışmalarını yayınlamışlar ve TAPSE ile RVEF arasında pozitif bir korelasyon varlığını, RVEDVI ile TAPSE arasında ise negatif bir korelasyon varlığını ortaya koymuşlardır.¹⁴ TAPSE değeri opere FT'li sütçocukları ve küçük çocuklarda kontrollere göre düşük olmamakla birlikte, düzeltme operasyonundan sonra zaman geçtikçe belirgin olarak azalmakta, cerrahiden 7 yıl sonra -2 SD'nin altına düşmekte idi. Bizim çalışmamızda hem TAP hem de Contegra® grubunda, TAPSE ve hesaplanan TAPSE z skoru kontrol grubuna göre daha düşük bulundu. TAPSE, sağlıklı çocuklarda yaş ile kuvvetli pozitif korelasyon gösterirken Contegra® grubunda orta düzeyde korelasyon vardı. TAP grubunda ise anlamlı ilişki yoktu (Şekil 1). TAP grubunda saptanan bu bulgu, Koestenberger ve ark.'nın çalışması ile uyumlu idi. Ayrıca her iki grupta da PY derecesi arttıkça TAPSE z skoru anlamlı şekilde azalmakta idi.

Opere FT'li hastaların izlemlerinde; triküspit lateral anülüsünden erken diastolde (E'), atrial kontraksiyonda (A') ve sistolik harekette (S') kaydedilen velositelere azalma ve ejeksiyon zamanında (ET) kısalma ile birlikte izovolemik relaksasyon zamanı (IVRT) ve izovolemik kontraksiyon zamanında (IVCT) uzama gösterilmiştir.¹⁵ Uzamış IVRT ve azalmış E', RV relaksasyonunda

gecikmenin göstergesidir. A' velositesinde azalma, restriktif sağ ventrikül fizyolojisinin işaretidir. IVCT'de uzama, sistolik aktivasyonda gecikmenin belirtisidir. S' velositesinde azalma ise anüler sistolik harekette deselerasyona işaret etmektedir.¹⁶ Bizim çalışmamızda da benzer bulgular mevcut idi (Tablo 3). Bunun yanında, bahsedilen tüm değişkenler bakımından, TAP ve Contegra® grupları arasında fark yoktu.

Ülkemizden Çetin ve arkadaşlarının opere FT'li 25 çocuğu (13,1±2,8 yaş) inceledikleri çalışmalarında, hasta grubundan hesaplanan MPI' kontrollere göre yüksek bulunmuş ve PY derecesi ile MPI' arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır.¹⁷ Bizim çalışmamızda; DDE ile hesaplanan MPI, hasta gruplarında kontrollere göre anlamlı yüksek saptandı ve bu ölçümler açısından TAP ve Contegra® grupları arasında fark bulunmadı (Tablo 3). Pulmoner yetersizlik derecesi ile korelasyon irdelendiğinde, iki grupta da hesaplanan MPI' ile PY derecesi arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

Schuuring ve arkadaşları, konjenital kalp hastalığı nedeniyle opere edilen erişkin olgularda preop ve postop RV fonksiyonlarını değerlendirmiş ve operasyon sonrasında TAPSE ve sistolik velositenin (S') düşük olduğunu ve MPI'nın artmış olduğunu bildirmişlerdir. Ancak değişkenler arasında korelasyon analizi yapmamışlardır.¹⁸ Çalışmamızda, hem TAP hem de Contegra® gruplarında, MPI'nın TAPSE z skoru ve S' değişkenlerinin ikisiyle de arasında anlamlı negatif korelasyon vardı. Ayrıca her iki hasta grubunda da RVFAC arttıkça MPI' anlamlı şekilde azalmakta idi. Her iki hasta grubumuzda hesaplanan MPI'nın, kontrollere göre daha yüksek olmasına rağmen, hastaların asemptomatik ve fonksiyonel kapasitelerinin iyi olması, ventrikül disfonksiyonunu subklinik dönemde tanınması açısından MPI'nın önemini ortaya koymaktadır.

İzovolemik akselerasyon (IVA), DDE ile hesaplanan bir indeks olup önyük ve artyükten etkilenmemesi nedeniyle global RV sistolik fonksiyonunu göstermede ümit vermektedir.^{5,19-21} İzovolemik kontraksiyon sırasında zirve hızın (IVV), zirve hıza ulaşma zamanına (AT) bölünmesiyle elde edilen bu indeksin, MRI ile ölçülen RVEF ile iyi korele olduğu gösterilmiştir.²² Frigiola ve arkadaşları opere FT'li 124 olguda (21±11,4 yaş) IVA'yı kontrollere göre düşük bulmuşlar ve PY derecesi arttıkça IVA'nın azaldığını göstermişler; kapak replasmanı için erken dönem hastaların seçiminde, duyarlı bir indeks olabileceğini bildirmişlerdir.²³ Çalışmamızda da IVA; hem TAP hem de Contegra® grubunda, kontrol grubuna göre düşüktü ve PY derecesi ile negatif korelasyon göstermekte idi. Her iki grupta da hem TAPSE hem de MPI' ile IVA arasında anlamlı ilişki saptandı. IVA ile S' arasında ise TAP grubunda korelasyon bulunurken, Contegra® grubunda ilişki yoktu. Sonuç olarak bu çalışma ile FT'li hastaların tam düzeltme operasyonu sonrası erken-orta dönemde ventrikül fonksiyonlarının değerlendirmesinde, MPI ve özellikle IVA DDE ölçümlerin ve TAPSE gibi pratik yöntemlerin faydalı olduğu gösterildi. Contegra® kullanılan hastalarda PY derecesi ve sıklığının TAP uygulananlara göre daha düşük olması, erken dönemde reoperasyon gereksiniminin de çok seyrek olduğu dikkate alındığında, avantaj gibi

gözükse de; çalışmamızın genelinde iki grup arasında ventrikül fonksiyonları açısından belirgin farklılıklar saptanmaması önemlidir. Sonuçlarımız değerlendirilirken, ortalama operasyon yaşının geç ve izlem sürelerinin kısa olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Uzun süre dayanıklı, büyüme potansiyeli olan ve düşük maliyetli ideal bir kondüit henüz geliştirilemediğinden, zorunlu kalmadıkça kapaklı konduit kullanmamak ve gereğinden geniş transanüler yamadan kaçınarak pulmoner kapak yapısının korunmasına ve rezidüel patolojinin kalmamasına özen göstermek gereklidir. FT'li bir hastada, sağ ventrikül üzerindeki hemodinamik yük ile yaşam boyu gereken girişimsel/cerrahi müdahale sayısını en aza indirmek arasındaki denge çok iyi gözetilmelidir.

Açıklamalar

Bu çalışma "9. International Trakya Family Medicine Congress, 05 - 08 March 2020 Edirne" kongresinde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Etik Standartlara Uygunluk

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alınmıştır (Tarih 28.06.2011, Karar No: 11-6/3). Tüm prosedürler, kurumsal ve/veya ulusal araştırma komitesinin etik standartlarına ve 1964 Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Yazar Katkısı

MD, REL: Çalışma fikri, hipotez, çalışmanın tasarımı; MD, MOB: Verilerin toplanması ve kaynak taraması; MD, REL, MOB, YA: Analiz ve yorumlama; MD, REL, YA: Eleştirel inceleme; MD, REL: Makale yazımı

Kaynaklar

1. Bacha E. Valve-sparing or valve reconstruction options in tetralogy of fallot surgery. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu.* 2017;20:79-83. doi:10.1053/j.pcsu.2016.09.001.
2. Patel PM, Tan C, Srivastava N, et al. Bovine jugular vein conduit: a mid- to long-term institutional review. *World J Pediatr Congenit Heart Surg.* 2018;9(5):489-495. doi:10.1177/2150135118779356.
3. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2015;16(3):233-270. doi:10.1093/ehjci/jev014.
4. DiLorenzo MP, Bhatt SM, Mercer-Rosa L. How best to assess right ventricular function by echocardiography. *Cardiol Young.* 2015;25(8):1473-1481. doi:10.1017/S1047951115002255.
5. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, et al. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography:

- endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2010;23(7):685-713. doi:10.1016/j.echo.2010.05.010.
6. Lai WW, Geva T, Shirali GS, et al. Guidelines and standards for performance of a pediatric echocardiogram: a report from the Task Force of the Pediatric Council of the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2006;19(12):1413-1430. doi:10.1016/j.echo.2006.09.001.
 7. Brown JW, Ruzmetov M, Rodefeld MD, Vijay P, Darragh RK. Valved bovine jugular vein conduits for right ventricular outflow tract reconstruction in children: an attractive alternative to pulmonary homograft. *Ann Thorac Surg.* 2006;82(3):909-916. doi:10.1016/j.athoracsur.2006.03.008.
 8. Chiappini B, Barrea C, Rubay J. Right ventricular outflow tract reconstruction with contegra monocuspid transannular patch in tetralogy of Fallot. *Ann Thorac Surg.* 2007;83(1):185-187. doi: 10.1016/j.athoracsur.2006.07.071.
 9. Christenson JT, Sierra J, Manzano NEC, Jolou J, Beghetti M, Kalangos A. Homografts and xenografts for right ventricular outflow tract reconstruction: long-term results. *Ann Thorac Surg.* 2010;90(4):1287-1293. doi:10.1016/j.athoracsur.2010.06.078.
 10. Stewart RD, Backer CL, Young L, Mavroudis C. Tetralogy of Fallot: results of a pulmonary valve-sparing strategy. *Ann Thorac Surg.* 2005;80(4):1431-1439. doi:10.1016/j.athoracsur.2005.04.016.
 11. Uebing A, Fischer G, Bethge M, et al. Influence of the pulmonary annulus diameter on pulmonary regurgitation and right ventricular pressure load after repair of tetralogy of Fallot. *Heart.* 2002;88(5):510-514. doi:10.1136/heart.88.5.510.
 12. Geva T. Indications and timing of pulmonary valve replacement after tetralogy of Fallot repair. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu.* 2006;9(1):11-22. doi:10.1053/j.pcsu.2006.02.009.
 13. Anavekar NS, Skali H, Bourgoun M, et al. Usefulness of right ventricular fractional area change to predict death, heart failure, and stroke following myocardial infarction (from the VALIANT ECHO Study). *Am J Cardiol.* 2008;101(5):607-612. doi:10.1016/j.amjcard.2007.09.115.
 14. Koestenberger M, Nagel B, Ravekes W, et al. Systolic right ventricular function in pediatric and adolescent patients with tetralogy of Fallot: echocardiography versus magnetic resonance imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2011;24(1):45-52. doi:10.1016/j.echo.2010.10.001.
 15. Frommelt PC. Echocardiographic measures of diastolic function in pediatric heart disease. *Curr Opin Cardiol.* 2006;21(3):194-199. doi:10.1097/01.hco.0000221580.63996.93.
 16. Yasuoka K, Harada K, Toyono M, Tamura M, Yamamoto F. Tei index determined by tissue Doppler imaging in patients with pulmonary regurgitation after repair of tetralogy of Fallot. *Pediatr Cardiol.* 2004;25(2):131-136. doi:10.1007/s00246-003-0514-3.
 17. Çetin İ, Tokel K, Varan B, Örün U, Aşlamacı S. Evaluation of right ventricular function by using tissue Doppler imaging in patients after repair of tetralogy of Fallot. *Echocardiography.* 2009;26(8):950-957. doi:10.1111/j.1540-8175.2009.00918.x.
 18. Schuurin MJ, Bolmers PP, Mulder BJ, et al. Right ventricular function declines after cardiac surgery in adult patients with congenital heart disease. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2012;28(4):755-762. doi:10.1007/s10554-011-9892-4.
 19. Vogel M, Schmidt MR, Kristiansen SB, et al. Validation of myocardial acceleration during isovolumic contraction as a novel noninvasive index of right ventricular contractility: comparison with ventricular pressure-volume relations in an animal model. *Circulation.* 2002;105(14):1693-1699. doi:10.1161/01.cir.0000013773.67850.ba.
 20. Kjaergaard J, Snyder EM, Hassager C, Oh JK, Johnson BD. Impact of preload and afterload on global and regional right ventricular function and pressure: a quantitative echocardiography study. *J Am Soc Echocardiogr.* 2006;19(5):515-521. doi: 10.1016/j.echo.2005.12.021.
 21. Duan YY, Harada K, Toyono M, Ishii H, Tamura M, Takada G. Effects of acute preload reduction on myocardial velocity during isovolumic contraction and myocardial acceleration in pediatric patients. *Pediatr Cardiol.* 2006;27(1):32-36. doi:10.1007/s00246-005-0877-8.
 22. Jurcut R, Giusca S, La Gerche A, Vasile S, Ghingina C, Voigt J-U. The echocardiographic assessment of the right ventricle: what to do in 2010? *Eur J Echocardiogr.* 2010;11(2):81-96. doi:10.1093/ejehocardi/jep234.
 23. Frigiola A, Redington A, Cullen S, Vogel M. Pulmonary regurgitation is an important determinant of right ventricular contractile dysfunction in patients with surgically repaired tetralogy of Fallot. *Circulation.* 2004;110(11):II-153-II-157. doi:10.1161/01.CIR.0000138397.60956.c2

Research Article | Araştırma Makalesi

EVALUATION OF QUALITY OF LIFE AMONG TURKISH WOMEN WITH HIRSUTISM: A CROSS SECTIONAL STUDY

HİRSUTİZMLİ TÜRK KADINLARDA YAŞAM KALİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ: ÇAPRAZ KESİTSEL ÇALIŞMA

✉  Şükran Sarıgül Güdük¹,  Sadiye Kuş^{2*}

¹Department of Dermatology, School of Medicine, Haliç University, İstanbul, Türkiye. ²Private Practice.



ABSTRACT

Objective: A variety of studies documented impaired quality of life among patients with hirsutism. The perceived normal or acceptable levels of body hair depends on the ethnic origin and woman's perception of familial, cultural and society norms regarding number and distribution of hair. Therefore, the impact of hirsutism on quality of life may be different across societies. The aim of our study is to examine the quality of life in patients with hirsutism among Turkish women using Dermatology Life Quality Index (DLQI) assessment.

Methods: Forty patients (mean age: 21.40±6.98 years, range: 16-40) diagnosed with hirsutism according to modified Ferriman-Gallwey (mFG) scoring system were included in the study. DLQI questionnaire, developed to evaluate the impact of dermatologic diseases on quality of life, was administered to patients. DLQI scores of patients with hirsutism were compared to a control group of 18 patients without hirsutism (mFG score <8).

Results: The average DLQI score was 8.83± 5.66 (median=8, range= 0-25). The mean mFG score in patients with hirsutism was 17.18±7.64 (median 15.5, range= 8-36). There was no significant association between mFG score and DLQI (rs=0.12, p=0.44). There was a statistically significant difference between mean DLQI scores of patients with hirsutism and control group (p<0.01). Eight (20%) patients had a diagnosis of polycystic ovary syndrome. Thirty (75%) patients had at least one of the findings of hyperandrogenemia including acne, androgenetic alopecia, seborrhea, menstrual irregularity and acanthosis nigricans.

Conclusion: Hirsutism is associated with impaired quality of life among Turkish women, independent from mFG scores.

Keywords: Hirsutism, quality of life, quality of life in hirsutism, dermatology life quality index

ÖZ

Amaç: Hirsütizmin yaşam kalitesi üzerine olumsuz etkisine dair literatürde yayınlanmış çeşitli çalışmalar mevcuttur. Tüyenmenin normal veya kabul edilir düzeyde olması; etnik kökene ve kadının kıl sayısı ve dağılımı açısından ailesel, kültürel ve toplumsal normları algılamasına bağlıdır. Bu nedenle hirsütizmin yaşam kalitesi üzerine etkisi toplumlar arasında farklılık gösterebilir. Çalışmamızın amacı, kliniğimize başvuran hirsütizmlili Türk hastalara Dermatolojik Yaşam Kalite İndeksi (DYKİ) anketleri uygulanarak hastaların yaşam kalitelerinin nasıl etkilendiğini araştırmaktır.

Yöntem: Modifiye Ferriman-Gallwey (mFG) skorlamasına göre hirsütizm tanısı alan 40 hasta (ortalama yaş: 21,4±6,98, ranj: 16-40 yaş), çalışmaya dahil edildi. Hastalara dermatolojik hastalıkların yaşam kalitesi üzerine etkisini değerlendirmek için geliştirilen DYKİ anketi uygulandı. Hirsütizmlili hastaların DYKİ skorları, hirsütizmi olmayan (mFG skoru<8) 18 hastadan oluşan kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Ortalama DYKİ skoru 8,83± 5,66 (medyan=8, ranj= 0-25), ortalama mFG skoru 17,18±7,64 (medyan 15,5, ranj=8-36) bulundu. mFG skoru ile DYKİ skoru arasında anlamlı bir ilişki izlenmedi (rs=0,12, p=0,44). Hirsütizmi olan ve olmayan hastaların ortalama DYKİ skorları arasındaki fark anlamlı derecede idi (p<0,01). Sekiz (%20) hasta polikistik over sendromu tanısı almıştı. Hastaların 30' unda (%75) akne, androjenetik alopesi, sebore, menstrüel düzensizlik ve akantoz nigrikans gibi hiperandrojenemi bulgularından en az bir tanesi mevcuttu.

Sonuç: Hirsütizm, Türk kadınlarında mFG skorlarından bağımsız olarak hastaların yaşam kalitesini etkileyen önemli bir sorundur.

Anahtar Kelimeler: Hirsütizm, yaşam kalitesi, hirsütizmlili hastalarda yaşam kalitesi, dermatolojik yaşam kalite indeksi

*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Şükran Sarıgül Güdük; Fahrettin Kerim Gökay Cad Eksioğlu Apt No:165/7 Goztepe, Kadıkoy, İstanbul Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (216) 565 00 23

e-mail/e-posta: sukran_sarigul@yahoo.com

Submitted/Başvuru: 16.09.2023

Accepted/Kabul: 16.10.2023

Published Online/Online Yayın: 21.10.2023



Introduction

Hirsutism is defined as excessive and male pattern growth of terminal hairs in females in androgen sensitive areas including upper lip, chin, chest and back.¹ It affects 5%–15% of women of reproductive age and associated with hyperandrogenemia in 70-80% of cases.² Modified Ferriman-Gallwey (mFG) scale is used for the evaluation of hirsutism. Patients with a total score of 8 or more are diagnosed with hirsutism accordingly.^{3,4}

Hirsutism is associated with psychological distress, difficulties in social life and psychological morbidities such as anxiety and depression.^{5,6} A variety of studies on quality of life in patients with hirsutism are available in the literature.⁶⁻¹⁹ However, only one study was published among Turkish population.⁷

Perceived normal or acceptable levels of body hair depends on the ethnic origin and woman's perception of familial, cultural and society norms regarding number and distribution of hair.²⁰ Therefore, impact of hirsutism on quality of life may be different across societies.

The aim of our study is to examine the quality of life in patients with hirsutism among Turkish women using Dermatology Life Quality Index (DLQI) assessment.

Methods

From January 2021 to July 2021 a total of 58 female patients, aged between 16 and 64 years (mean: 24.97 ± 10.68) consulted our clinic for the evaluation to undergo laser hair removal. Forty patients (mean age: 21.4 ± 6.98 years, range: 16-40) diagnosed with hirsutism according to mFG scoring were included in the study. Patients with hypertrichosis, receiving any medication to control the hair growth, younger than 16 years of age, performed hair removal procedures (laser, waxing, shaving, etc.) within the last month, failed to complete the questionnaire, reluctant to participate the study, and diagnosed with other dermatological diseases which might interfere with the quality of life were excluded.

mFG scoring system is a visual scoring method for the assessment of androgen sensitive hair growth in 9 body areas (upper lip, chin, chest, upper and lower back, upper and lower abdomen, thighs, and upper arms).³ Each area is visually graded from 0 to 4 and the total score is calculated as a sum of all areas. A total score of 8 or more is considered hirsutism. The severity of hirsutism is classified as follows: mFG scores of 8-16 are considered as mild, 17-24 are considered as moderate and 26-36 are considered as severe.³ To eliminate inter-observer variability, one dermatologist (SSG) performed the evaluation and quantification of hirsutism.

DLQI questionnaire, developed by Finlay and Khan to evaluate the impact of dermatologic diseases on quality of life, was administered to patients. DLQI consists of 6 domains (symptoms and feelings, daily activities, leisure, work and school, personal relationships and treatment) and 10 questions that assess patients' perception of the impact of a dermatologic condition on their quality of life

over the last week.²¹ DLQI is a 4-point Likert scale, and each question is scored as: 0 (not at all), 1 (a little), 2 (a lot) and 3 (very much) to yield a total score of 0–30. Higher scores indicate greater impairment of the quality of life. The average DLQI score is 0-0.5 in normal population. DLQI scores are interpreted as follows: 0-1: no effect at all, 2-5: small effect, 6-10: moderate effect, 11-20: very large effect, and 21-30: extremely large effect on patient's life.²²

Demographic data (age, marital status), accompanying signs of hyperandrogenemia (menstrual irregularities, acne, seborrhea, acanthosis nigricans, androgenetic alopecia), consultation notes (endocrinology and gynecology), laboratory tests, medications and diagnoses were recorded.

Additionally, DLQI scores of patients with hirsutism were compared to a control group of 18 patients without hirsutism (mFG score <8).

Our study was conducted in accordance with the medical ethics of the Declaration of Helsinki and approved by Haliç University Ethical Committee (Date: 27/5/2021, Approval number: 113).

Statistical Analysis

Descriptive statistics, including mean, SD, lowest, highest, frequency, and percentage values, were used to analyze the data. The association between hirsutism and quality of life was evaluated by Spearman correlation test. Independent t-test was used to compare DLQI scores of patients and control group.

Statistical significance was set at $P < 0.05$. Data were analyzed using SPSS version 20.0; (IBM Corp., Armonk, New York, US).

Results

The mean age of the 40 patients enrolled to the study was 21.4 ± 6.98 years (range= 16-40). Eight patients (20%) had a diagnosis of polycystic ovary syndrome. Thirty (75%) patients had at least one of the findings of hyperandrogenemia including acne, androgenetic alopecia, seborrhea, menstrual irregularity and acanthosis nigricans.

The average DLQI score was 8.83 ± 5.66 (median=8, range= 0-25). The impact of hirsutism on quality of life was extremely large (DLQI: 21-30) in 1 (2.5%) patient, very large (DLQI: 11-20) in 13 (32.5%) patients, moderate (DLQI: 6-10) in 13 (32.5%) patients and small (DLQI: 2-5) in 9 (22.5%) patients. Life quality was not affected in four (10%) patients.

The mean mFG score in patients with hirsutism was 17.18 ± 7.64 (median 15,5, range= 8-36). Mild, moderate and severe hirsutism were diagnosed in 22 (55%), 10 (25%) and 8 (20%) patients, respectively. There was no significant association between mFG score and DLQI ($r = 0.12$, $p = 0.44$).

When the contribution of subdomains to total DLQI score was examined in detail, daily activities (31%) and symptoms and feelings (29%) were the mostly affected

life quality sections followed by leisure (16%), work and school (7%), personal relationships (9%), and treatment (8%).

Patients with hirsutism were compared to 18 patients who consulted for eligibility for laser removal and were not diagnosed with hirsutism according to mFG scoring system as a control group. The mean age was 32.89±13.22 years (range=16-64), the mean DLQI score was 5±5.30 (median 4, range= 0-19) and the mean mFG score was 4,33±1,78 (median=4, range= 2-7) in this

group. Very large effect, moderate effect, small effect, and no effect were observed in 4 (22%), 2 (11%), 5 (28%), and 7 (39%) of patients. There was a statistically significant difference between mean DLQI scores of patients with hirsutism and control group ($p<0.01$). Characteristics of study and control group are summarized in Table 1.

Table 1. Characteristics of patients and control group

	Patient Group (mFG≥8)	Control Group (mFG<8)
Number of patients	40	18
Mean age (years)	21.4±6.98 (16-40)	32.89±13.22 (16-64)
Mean mFG score	17.18±7.64 (median 15.5, r: 8-36)	4.33±1.78; (median:4, range: 2-7)
Mean DLQI score	8.83± 5.66 (median:8, ranj: 0-25)	5±5.30; (median 4, range: 0-19)
Impact of DLQI on QOL		
Extremely large effect	1 (%2.5)	0
Very large effect	13 (%32.5)	4 (%22)
Moderate effect	13 (%32.5)	2 (%11)
Small effect	9 (%22.5)	5 (%28)
No effect at all	4 (%10)	7 (%39)

DLQI: Dermatology life quality index, QOL: Quality of life

Discussion

Hirsutism is the excess growth of dark or coarse hairs in females in a male pattern distribution and seen in 5-15% of reproductive age females across all ethnic groups.^{2,23} It is a symptom rather than a disease and has a negative impact on patient's psychological condition as well as on quality of life.²⁴ Normal or acceptable level of hairiness, perceived by women, is related to ethnical background, cultural and societal norms. Hence, the influence of hirsutism on quality of life may show variability between communities.²⁰

To the best of our knowledge, there is only one study about impact of hirsutism on quality of life among Turkish women.⁷ In this study, involving 57 patients, mean DYKi was 9,80 ± 6,50 and median mFG score was 25. Although theoretically a diminished quality of life is expected as severity of hirsutism increases, the author did not observe an association between DLQI and hirsutism grade.⁷ This finding was similar to our patients. In other words, we couldn't find a correlation between quality of life and severity of hirsutism. When the studies on this subject were examined, we can see that while some studies have found an association between mFG score and quality of life^{15,17,25}, others reported no correlation.^{16,18} Additionally, some studies even did not look at if there is any association.^{9,10,26,27} The lack of relation between the degree of hirsutism and quality of life may be explained by the higher level of hirsutism perceived by the patient. Besides, the QOL may be affected more when certain areas of excessive hair are involved that lead to stigmatization such as face.⁷

The mean DLQI score was 8,83± 5,66 (median=8) in our study. This result was significantly higher compared to

control group and implicates that hirsutism has generally a moderate impact on QOL [22]. The average DLQI scores reported in the literature vary between 5.5 and 17.4.^{10, 15, 25, 26, 28} While mean DLQI score in our patients is similar to some studies,^{7, 17,18,26,28,29} it is lower than some of the DLQI scores in previous studies.^{15,25,27} The differences in DLQI scores in previous studies, including ours, were suggested to result from differences in the mean mFG scores.¹⁸

When DLQI scores were examined in detail, hirsutism had a very large or extremely large effect in 35% (n=14) of patients, moderate effect in 32.5% (n=13) of patients and minimal or no effect in 32.5% (n=13) of patients. Some studies described detailed DLQI scores with corresponding number of patients. According to these studies minimal or small effect was seen in 3-97% of patients, moderate effect was seen in 9-45% of patients and very large or extremely large effect was seen in 0-91% of patients.^{15,17,18,25,27,29}

The most important domains contributed to the DLQI scores, i.e. mostly affected subdivisions of life quality were found to be daily activities (such as shopping, choice of clothes or housekeeping) and symptoms and feelings (such as itchy and sore skin, embarrassment) in the literature.^{15,17,25,27,29} Our results were in concordance with these literature reports with the highest score in daily activities (31%) followed by symptoms and feelings (29%).

Self-rated hirsutism scores were found to be higher than physician rated scores in previous studies¹⁴. Patient rated mFG scores were more strongly associated with QOL compared to physician rated mFG scores. Therefore, it was suggested that the impact of hirsutism on QOL, rather than the physician rated severity of hirsutism,

should be the factor that should be considered while planning the treatment.²

Our study has some limitations which must be acknowledged. First, patient data were gathered in Covid pandemic during which socialization was extremely limited, remote work has become more common and curfews were ordered at times to limit virus spreading. Even though the daily activities section was the most important domain contributed to the total DLQI scores, this condition could have caused scores to be lower in subdomains and total scores of the scale compared to regular times. Nevertheless, considering that our results are similar to some of the previous studies in literature, this point might be ignored. Second, the number of patients included may be considered insufficient to generalize the results. Therefore, studies with larger patient groups will be valuable for the verification of our results. Lastly, our study was conducted in a single center which makes it difficult to generalize the results to the whole population.

In conclusion, hirsutism is an important issue among Turkish women causing significant impairment on QOL, independent from mFG scores. As a dermatologist, awareness on this subject will influence our approach to patients, type of treatment we recommend, patients' referral to other specialties, and increase in QOL of our patients.

Compliance with Ethical Standards

The study protocol was approved by the Haliç University Ethical Committee (Date: 27/5/2021, Approval number: 113).

Conflict of Interest

The author declares no conflicts of interest.

Author Contribution

All the authors equally contributed to this work.

Financial Disclosure

None

References







- Martin KA, Anderson RR, Chang RJ et al. Evaluation and treatment of hirsutism in premenopausal women: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018;103(4):1233-1257.
- Escobar-Morreale HF, Carmina E, Dewailly D et al. Epidemiology, diagnosis and management of hirsutism: a consensus statement by the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society. *Hum Reprod Update.* 2012;18 (2):146-170.
- Ferriman D, Gallwey J. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1961;21:1440-1447.
- Hatch R, Rosenfield RL, Kim MH, Tredway D. Hirsutism: implications, etiology, and management. *Am J Obstet Gynecol.* 1981; 140 (7):815-830.
- Barth JH, Catalan J, Cherry CA, Day A. Psychological morbidity in women referred for treatment of hirsutism. *J Psychosom Res.* 1993 (6); 37: 615–619.
- Sonino N, Fava GA, Mani E, Belluardo P, Boscaro M. Quality of life of hirsute women. *Postgrad Med J.* 1993 (809);69: 186-189.
- Kutlu Ö. Evaluation of quality of life of patients with hirsutism among Turkish women: A single-center cross-sectional study. *J Cosmet Dermatol.* 2020;19 (11):3053-3057.
- Blume-Peytavi U, Gieler U, Hoffmann R, Lavery S, Shapiro J. Unwanted facial hair: affects, effects and solutions. *Dermatology.* 2007;215 (2):139-146.
- Lipton MG, Sherr L, Elford J, Rustin MH, Clayton WJ. Women living with facial hair: the psychological and behavioral burden. *J Psychosom Res.* 2006; 61 (2):161-168.
- Loo WJ, Lanigan SW. Laser treatment improves quality of life of hirsute females. *Clin Exp Dermatol.* 2002;27 (6):439-441.
- Khomami MB, Tehrani FR, Hashemi S, Farahmand M, Azizi F. Of PCOS symptoms, hirsutism has the most significant impact on the quality of life of Iranian women. *PLoS One* 2015;10 (4): e0123608. doi: 10.1371/journal.pone.0123608
- Ekbäck MP, Lindberg M, Benzein E, Årestedt K. Social support: an important factor for quality of life in women with hirsutism. *Health Qual Life Outcomes.* 2014; 12:183. doi:10.1186/s12955-014-0183-3
- Alizadeh N, Ayyoubi S, Naghipour M et al. Can laser treatment improve quality of life of hirsute women? *Int J Womens Health.* 2017; 19:777-80. doi:10.2147/IJWH.S137910
- Pasch L, He SY, Huddleston H et al. Clinician vs Self-ratings of Hirsutism in Patients With Polycystic Ovarian Syndrome: Associations With Quality of Life and Depression. *JAMA Dermatol.* 2016;152 (7):783-788.
- Ekbäck MP, Lindberg M, Benzein E, Årestedt K. Health-related quality of life, depression and anxiety correlate with the degree of hirsutism. *Dermatology.* 2013; 227 (3):278-284.
- Drosdzol A, Skrzypulec V, Plinta R. Quality of life, mental health and self-esteem in hirsute adolescent females. *J Psychosom Obstet Gynaecol.* 2010; 31 (3):168-175.
- Maharjan J, Agrawal S, Marahatta S. Hirsutism and Quality of Life of Women in Tertiary Care Center in Eastern Nepal. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ).* 2022; 20 (79):268-272.
- Agrawal KH, Belgaumkar VA, Chavan RB, Deshmukh NS. Impact of hirsutism on the quality of life: A cross-sectional pilot study using Dermatology Life Quality Index from western India. *Journal of Skin and Stem Cell.* 2022; 9(2): e123857. <https://doi.org/10.5812/jssc-123857>
- Dorgham NA, Dorgham DA. Effect of hirsutism on sexual function and quality of life in Egyptian women. *Nat. Volatiles and Essent. Oils.* 2021;8(4): 2625-2632.
- Mofid A, Seyyed Alinaghi SA, Zandieh S, Yazdani T. Hirsutism. *Int J Clin Pract.* 2008; 62 (3):433-443.
- Finlay AY, Khan GK. Dermatology Life Quality Index (DLQI)-a simple practical measure for routine clinical use. *Clin Exp Dermatol.* 1994;19 (3):210-216.
- Hongbo Y, Thomas CL, Harrison MA, Salek MS, Finlay AY. Translating the science of quality of life into practice: What do dermatology life quality index scores mean? *J Invest Dermatol.* 2005;125 (4):659-664.
- Azziz, R. The evaluation and management of hirsutism. *Obstetrics and Gynecology.* 2003; 101 (5 Pt1): 995–1007.

24. Pate C. Issues Faced by Women With Hirsutism: State of the Science. *Health Care Women Int* 2016;37 (6):636-645.
25. Hodeeb YM, Dinary AMA, Hassan HM, Sammy DA. Hirsutism and health-related quality of life. *Modern Chemistry & Applications*. 2015;3:4. doi:10.4172/2329-6798.1000170
26. Wong, SYC, Rivers, JK. Does laser and or electro-optical synergy technology for removal of unwanted facial hair improves women's quality of life. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*. 2009; 1(6): 338–342.
27. Baig T, Aman S, Nadeem M, Kazmi AH. Quality of life in patients of hirsutism. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*. 2014;24 (3):217–223.
28. Maziar A, Farsi N, Mandegarfar M et al. Unwanted facial hair removal with laser treatment improves quality of life of patients. *J Cosmet Laser Ther*. 2010; 12 (1):7-9.
29. Kiran K, Gupta A, Gupta M. The effect of hirsutism on the quality of life of Indian women. *International Journal of Research in Dermatology*. 2018;4 (1):62-65. doi: <https://doi.org/10.18203/issn.2455-4529.IntJResDermatol20180142>

Research Article | Araştırma Makalesi

OPTIMIZATION OF PROTEIN QUANTIFICATION IN WHARTON JELLY-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELL EXOSOMES

WHARTON JELİ MEZENKİMAL KÖK HÜCRE EKZOZOMLARINDA PROTEİN MİKTARININ OPTİMİZASYONU

 Zehra Seda Halbutoğulları^{1,2,3*},  Zeynep Ece Utkan Korun^{3,4},  Cansu Subaşı Demir⁵,  Kamil Can Kılıç^{2,3,6},  Büşra Alper⁵,
 Yusufhan Yazır^{2,3,6}

¹Kocaeli University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Kocaeli, Türkiye. ²Kocaeli University, Center for Stem Cell and Gene Therapies Research and Practice, Kocaeli, Türkiye. ³Kocaeli University, Institute of Health Sciences, Department of Stem Cell, Kocaeli, Türkiye. ⁴Acibadem Maslak Hospital, Department of Obstetrics and Gynaecology, IVF Unit, Istanbul, Türkiye. ⁵STEMBIO-Cord Blood, Cell and Tissue Centre-TÜBİTAK Martek, Gebze, Türkiye. ⁶Kocaeli University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Kocaeli, Türkiye.



ABSTRACT

Objective: Exosomes are small intracellular membrane-based vesicles of different compositions that are involved in various biological and pathological processes. They are secreted by all cell types and can be found in most body fluids, including the blood, saliva, and urine. Exosomes are nanometer-sized microvesicles, approximately 30-200 nm in diameter, containing DNA, mRNAs, non-coding RNAs, membrane proteins, and cytosolic proteins. stem cells exert paracrine effects through exosomes. Recent studies have shown that exosomes have important potential as new alternatives to cellular therapies. In this study, we isolated and characterized exosomes from Wharton-Jelly derived mesenchymal stem cells (WJ-MSCs). It was aimed to determine the most effective exosome lysis solution using different lysis chemicals over a certain number of nanoparticles and to optimize protein quantification in these exosomes.

Methods: WJ-MSC exosomes were isolated and characterized, and changes in protein levels were determined after treatment with 1 billion/ml particle exosomes with commonly used chemicals such as RIPA buffer, Mammalian Protein Extraction Reagent (M-PER), Tris-TritonX, and Tris-SDS.

Results: As a result, approximately 2.5 µg/ml of 1 billion/ml particulate exosomes were detected with the bicinchoninic acid (BCA) kit. The protein concentration in these exosomes increased 3-4 times as a result of disintegration of the bilayer membranes in the cell membrane structure of these exosomes with RIPA buffer.

Conclusion: These data can be used in future studies, particularly for the quantification of mesenchymal stem cell exosomes.

Keywords: Wharton-Jelly, mesenchymal stem cells, exosomes, lysis buffer, protein quantification

Öz

Amaç: Eksozomlar, çeşitli biyolojik ve patolojik süreçlerde yer alan farklı bileşimlere sahip küçük hücre içi membran bazlı veziküllerdir. Tüm hücre tipleri tarafından salgılanırlar ve kan, tükürük ve idrar dahil olmak üzere çoğu vücut sıvısında bulunabilirler. Eksozomlar, yaklaşık 30-200 nm çapında, DNA, mRNA'lar, kodlamayan RNA'lar, membran proteinleri ve sitozolik proteinler içeren nanometre boyutunda mikroveziküllerdir. Kök hücreler eksozomlar aracılığıyla parakrin etkiler gösterir. Son çalışmalar, eksozomların hücresele tedavilere yeni alternatifler olarak önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, Wharton-Jeli kaynaklı mezenkimal kök hücrelerden (WJ-MSCs) eksozom izolasyonu ve karakterizasyonu yapılmıştır. Belirli bir nanopartikül sayısı üzerinden farklı lizis kimyasalları kullanılarak en etkin eksozom lizis solüsyonunun tespiti ve bu eksozomlarda protein miktar tayini optimizasyonu amaçlanmıştır.

Yöntem: WJ-MKH eksozomları izole edilip karakterize edilmiş ve 1 milyar/ml partiküllü eksozomların RIPA tamponu, Mammalian Protein Ekstraksiyon Reaktifi (M-PER), Tris-TritonX ve Tris-SDS gibi yaygın olarak kullanılan kimyasallarla muamelesinden sonra protein seviyelerindeki değişiklikler belirlenmiştir.

Bulgular: Bicinchoninic asit (BCA) kiti ile yaklaşık 2,5 µg/ml 1 milyar/ml partikül eksozom tespit edilmiştir. Bu eksozomların hücre zarı yapısındaki çift tabakalı membranların RIPA tamponu ile parçalanması sonucunda bu eksozomlardaki protein konsantrasyonu 3-4 kat artmıştır.

Sonuç: Bu veriler gelecek çalışmalarda, özellikle mezenkimal kök hücre eksozomlarının kantifikasyonu için kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Wharton-Jeli, mezenkimal kök hücre, eksozom, lizis tamponu, protein miktar tayini

*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Zehra Seda Halbutoğulları; Kocaeli University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Kocaeli, Türkiye

Phone/Telefon: +90 (262) 303 75 75- (4940) e-mail/e-posta: sedahalbutogullari@kocaeli.edu.tr

Submitted/Başvuru: 22.09.2023

Accepted/Kabul: 08.10.2023

Published Online/Online Yayın: 21.10.2023

Introduction

Mesenchymal stromal/stem cells (MSCs) can be isolated from different tissues or organs such as bone marrow, adipose tissue, placenta, umbilical cord, amniotic fluid, liver, teeth, and peripheral blood. The most commonly used sources of MSCs are bone marrow, adipose tissue, and, more recently, MSCs derived from the umbilical cord Wharton's Jelly region with high proliferation capacity. Isolations from adult tissues such as perinatal organs, bone marrow, and adipose tissue have several risks such as invasiveness, high risk of infectious diseases, and limited proliferation potential due to the advanced age of the donor.^{1,2}

The umbilical cord (UC) is a perinatal organ that connects the placenta and fetus to facilitate nutrition and the exchange of gases (oxygen and carbon dioxide). The UC is composed of two layers: the umbilical cord membrane, which is epithelial and mesenchymal; the perivascular region (PVB), which surrounds and protects the blood vessels; and the central part of the UC, the Wharton's Jelly (WJ) region, which is rich in glycosaminoglycans such as hyaluronic acid and chondroitin sulfate and has a gelatinous structure that provides elasticity to the cord.^{3,4} The collection of UC is noninvasive, ethically treated as waste material, and does not pose ethical issues. Furthermore, UC is a good source for obtaining a significant number of MSCs. Recently, it has become the preferred source of MSCs for therapeutic purposes compared to bone marrow and adipose tissue.

Similar to other multipotent stromal cells, these cells were positive for CD73, CD90, and CD105 and negative for CD45, CD14, CD34, CD19, and HLA-DR surface antigens. They are characterized by their ability to adhere to plastic surfaces and differentiate into other cell types such as adipocytes, chondrocytes and osteoblasts.⁵ Due to the low expression of HLA class II proteins, immunogenicity is almost non-existent; therefore, allogeneic use in cellular therapies is not considered a problem.^{6,7} Another reason why these cells are preferred in the clinic is that they secrete various growth factors and cytokines, such as G-CSF, HGF, PDGFAA, TGF- β , IL-6, and IL-8, which play important roles not only in immunomodulation, but also in cell proliferation, differentiation, growth, and tissue repair.^{8,9}

Distant intercellular communication is facilitated by molecules, such as hormones, that signal to other parts of the body through the circulatory system. Another type of remote intracellular communication occurs via extracellular vesicles (EVs), which are membrane-based structures. These EVs act as vehicles to transport different types of cellular cargo such as lipids, proteins, receptors, and effector molecules to recipient cells.¹⁰ These include apoptotic bodies, microvesicles and exosomes.¹¹ Apoptotic bodies range in size from 50 to 5000 nm and contain cellular contents such as deoxyribonucleic acid (DNA), ribonucleic acid (RNA), and histone proteins. During apoptosis, apoptotic bodies present these contents to macrophages, resulting in cell engulfment.¹² Microvesicles are formed by outward

budding and fission from plasma membranes, with sizes ranging from 50 nm to 1000 nm. Once microvesicles are formed, they carry specific proteins and lipids and deliver their cargo to the designated recipient cell.¹¹ The final category of EVs is exosomes, which differ from microvesicles mainly in their intracellular origin and size. Exosomes are small intracellular membrane-based vesicles with different compositions that are involved in various biological and pathological processes. The use of exosomes as drug delivery vehicles offers significant advantages over drug delivery systems such as liposomes and polymeric nanoparticles. Exosomes are non-immunogenic in nature because of their similar composition and size as their own cells.¹³

Exosomes are small endosome-derived vesicles ranging in size from approximately 30 to 200 nm.^{10,14,15} They are secreted by all cell types and can be found in most body fluids, including the blood, saliva, and urine. The exosome is a "nanosphere" with a bilayer membrane containing various types of lipids and proteins derived from the host cell. Some of these include transport proteins, heat shock proteins, and multivesicular body-associated proteins. In addition to proteins, exosomes are composed of different types of lipids, such as cholesterol, sphingolipids, phosphoglycerides, ceramides, and saturated fatty acid chains.¹¹ The composition of exosomes is important, as they serve as biomarkers and provide an indication of their function in biological processes. Recent studies have also shown that exosomes have significant potential as novel alternatives to cellular therapies.¹⁶

After exosome isolation, various characterization procedures are required.^{15,17} In addition, protein quantification was performed for standardization. This is a critical step because it forms the basis of subsequent *in vitro* and *in vivo* studies. In the original articles, it is stated that *in-vitro* and *in-vivo* experimental studies were performed at concentrations of "10-50 μg ", but there is no mention of the use of any chemicals related to the amount of protein contained in the exosomes in bicinchoninic acid BCA¹⁸⁻²⁰ and in recent studies and treatment applications, quantification is made based on particle number. Nanoparticle measuring devices are used for this purpose, but this process is available in very few laboratories. After prolonged culture and multi-stage centrifugation, the amount of protein obtained from the exosomes was small. In our study, we aimed to establish a protocol for the isolation and characterization of exosomes from mesenchymal stem cell culture by ultracentrifugation, and to determine the amount of protein contained in the exosomes obtained in the most accurate way. For this purpose, after nanoparticle tracking analysis (NTA) of Wharton Jelly Derived Mesenchymal Stem Cell (WJ-MSC) exosomes obtained by ultracentrifugation, the protein quantification efficiency of one billion particles diluted in one milliliter (ml) isotonic solution was investigated after treatment with four different lysis solutions.

Methods

Exosome Isolation from WJ-MSCs

The cells used in the experimental phase were WJ-MSCs donated with patient consent and cultured and propagated in the laboratories of “STEMBIO Cord Blood, Cell and Tissue Center-MARTEK/Gebze” approved by the Ministry of Health of the Republic of Turkey under Good Manufacturing and Practice (GMP) conditions. Exosome isolation was also performed in this center.

In this study, differential ultracentrifugation was used for exosome isolation, which provided exosome isolation with high efficiency and purity. It is based on the separation of exosomes from non-vesicular particles, such as large bioparticles, proteins, and protein/RNA aggregates, by centrifugation at high speed and centrifugation of the medium taken from the MSC culture with different densities, shapes, and sizes.

After the WJ-MSC culture dishes reached 80-90% confluency, the media were poured and washed twice with PBS, and exosomes and microvesicles from Fetal Bovine Serum (FBS) were removed. After MSCs were cultured for 48 h in DMEM/F12 medium with 1% Pen/Strep antibiotic supplement without FBS for 48 h, the media were collected into 50 ml falcon tubes²¹. In the first stage of exosome isolation, WJ-MSC culture media was centrifuged at 300 × g for 10 min at 4°C, and dead cells were removed. In the 2nd stage, the medium was centrifuged at 15,000 g for 20 min at 4°C and the supernatant was transferred to new tubes. The supernatant was passed through a 0.22 µm pore size filter (BIOFIL, China) to remove microvesicles larger than 220 nm. The pre-purified cell media were centrifuged 2 times at 110,000 g for 70 min at 4°C for 70 min using a CS150FNX (Hitachi Himac, Japan) ultracentrifuge and S50A model rotor, and the pelleted exosomes remaining after supernatant removal were homogenized with a small amount (~100-600 µl) of PBS or saline. After centrifugation in the isolation phase, washing procedures were carried out in a cold environment on ice. All the centrifugation steps were performed at 4 °C.

Exosomes maintained their protein structure for one week at 4°C during the experimental stages. Exosomes were stored at -20°C and/or -80°C if the experiment was planned for a later period for long-term storage.

Characterization of WJ-MSC Exosomes

For exosome characterization, exosome surface markers were determined by flow cytometry, size and shape analysis by electron microscopy, and size and quantity determination by NTA.

Immunophenotypic Characterization by Flow Cytometry

For exosome characterization, exosome surface markers were labeled with the appropriate antibodies. The ExoStep™ Kit (Immunostep, Salamanca, Spain) was used for this purpose. Exosomes labeled on a flow cytometer (Beckman Coulter, California, US) were analyzed for marker positivity. CD63 capture antibodies,

consisting of 6 µm diameter magnetic beads coated with a specific antibody that can be detected by the device, are used as secondary antibodies with CD9 secondary/detector antibodies labeled in red fluorescence, allowing them to be detected by the flow cytometry fluorescence detector (Figure 1).

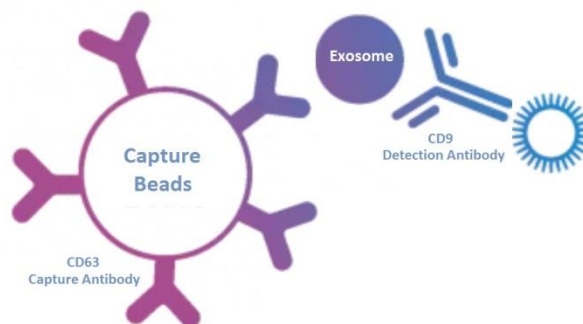


Figure 1. Working principle of exosome characterization by immunophenotyping²¹

Morphological images of exosomes obtained by electron microscopy (Quadro, Thermo Scientific, USA) were captured at the Boğaziçi University, Center for Life Science. A 5µl sample was dropped onto the grid, and the instrument was switched to the environmental SEM (ESEM) mode. The instrument mode was visualized at 30 kV, and a spot size of 1. The device was set to 160,000 × magnification under high vacuum to visualize the sample in aqueous form.

Nanoparticle Tracking Analysis (NTA)

Size and quantity analyses of exosomes were performed using a NanoSight NTA 3.4 instrument (Malvern Panalytical, UK) at Yeditepe University.

Exosomes were lysed with radioimmunoprecipitation assay (RIPA) buffer, mammalian protein extraction reagent (M-PER), Tris-Triton, and Tris-SDS, and protein quantification was performed using bicinchoninic acid (BCA) chemical. The protein content of each lysis solution was evaluated as a blank, without any treatment.

Lysis with RIPA Buffer

RIPA buffer (Thermo Fisher Scientific, Illinois, USA) is a lysis solution containing 25 mM Tris.HCl pH 7.6, 150 mM NaCl, 1% NP-40, 1% sodium deoxycholate, and 0.1% SDS. After incubation for 30 minutes, equal amount of RIPA buffer was added to the exosomes and placed in a cold sonication bath for 30 seconds. After this step, the samples were gently mixed on ice for 15 minutes.²²

Lysis with M-PER Buffer

Equal amount of M-PER Buffer (Thermo Fisher Scientific, Illinois, USA) was added to the exosomes and gently mixed for 1-2 min for protein quantification.

Lysis with Tris-SDS

EVs were added to equal amount Tris-SDS buffer [2% (w/w) sodium dodecyl sulfate-SDS, 20 mM, Tris-HCl pH 8] and kept at 95°C for 5 min. EVs were placed in a cold sonication bath and vortexed six times for 30 s at 30-second intervals on ice to reduce heating.²³

Lysis with Tris-Triton

Exosomes were treated with equal amount of Tris-Triton buffer [120 mM NaCl pH 7.5, 1% Triton-X 100 to lysate with 25 mM Tris-HCl], mixed, incubated on ice for 3 h, and vortexed every hour.²⁴

Exosome Quantification by Micro-BCA Assay

Protein quantification was performed using a micro-BCA protein assay kit (Booster, Pleasanton, CA, USA). The bicinchoninic acid (BCA) method is a calorimetric assay based on the reduction of proteins in alkaline solution from Cu⁺² to Cu⁺¹ with 'Biuret' reagent and spectral measurement of the color change from green to purple in proportion to the amount of protein. According to the kit protocol, standard solutions prepared with bovine serum albumin (BSA) and exosome samples were read at 562 nm wavelength using a microplate reader (Versamax, USA), and the chromogenic reaction was measured. Protein concentrations of the samples were evaluated by comparing the measured absorbance values with the standard curve. All experiments were repeated thrice.

Results

Characterization of WJ-MSC Exosomes

CD63 and CD9 surface markers were positive over 96,64±1,20% (Figure 2).

Electron microscopy images showed that the exosome size was approximately 163,34±10,72 nm (Figure 3).

NTA results also showed the size of the exosomes was 116.4±46.6 and the number of particles per ml of exosomes was also determined by this analysis (Figure 4). The experiments carried out for characterization all confirm that the EVs obtained are exosomes.

Protein Quantification with Micro-BCA Kit

For BCA quantification, the absorbance values of the isotonic solution (saline) in which the isolated exosomes were reconstituted and stored and the absorbance values of each lysis chemical after treatment with BCA solution alone were evaluated according to the standards during the treatment with exosomes. Each chemical contained a blank. When we subtracted the blank values of all lysis chemicals from their mixtures with exosomes, the highest amount of protein was observed in the RIPA buffer. The results showed that the RIPA buffer was approximately 3.3 times more effective than the other lysis solutions (Figure 5).

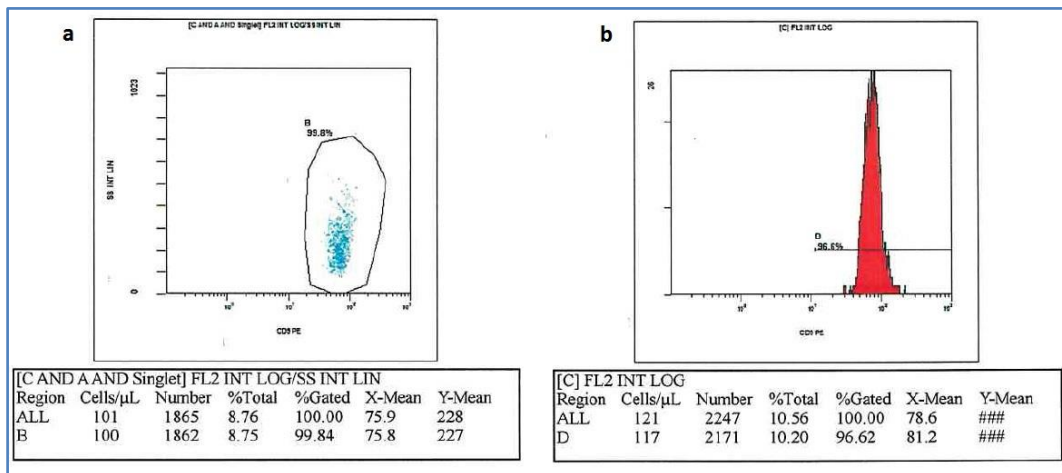


Figure 2. Flow cytometry analysis of exosomes. a. Graph showing the gating of the target cell cluster. b. Graphical display of positive cells within the cell cluster.

Discussion

Mesenchymal stem cells (MSCs) are a cell population with a remarkable ability to differentiate in multiple ways. MSCs can differentiate into several lineages and are important for physiological systems. In addition to their capacity for differentiation and self-renewal, mesenchymal stem cells (MSCs) emit a variety of substances that affect the immune system. It is thought that EV secretion may have many physiological effects on MSCs. The fact that EVs are involved in important processes and events, such as cancer, fibrosis, and

inflammation, suggests that they may contribute to the onset of disease²⁵. Additionally, it has been demonstrated that EVs produced from stem cells are helpful in a variety of therapeutic procedures. Exosomes derived from MSCs are small vesicles that play important roles in extracellular communication. The therapeutic use of exosomes has important advantages over that of MSCs: ²⁵ (i) they can be stored at low temperatures (e.g. -80°C) until required for cellular therapy; (ii) their contents such as cytokines, growth factors, transcription factors, and RNA are encapsulated, that is, covered by a lipid double membrane, which avoids some of the problems associated with rapidly degrading small soluble

molecules and provides protection against degradation *in vivo*; (iii) they are highly stable and long-lasting; (iv) they can be injected intravenously, reaching remote locations because the vesicles are small and circulate easily, whereas MSC are very large and therefore may have difficulty circulating through thin capillaries; (v) they can cross the blood-brain barrier; and (vi) they are hypoinmunogenic, with no risk of unwanted side effects such as rejection by the immune system.²⁶ Several studies have shown that the immunosuppressive, immunoregulatory and regenerative effects of exosomes produced by MSCs preconditioned with cytokines, hypoxia and chemicals are enhanced.^{27,28} In addition, it has been reported that the amount of exosomes and the lipid and protein compositions of exosomes obtained from mesenchymal stem cells cultured in serum-deprived media change.²⁹

Exosomes contain a lipid bilayer and protein content within the membrane. They transfer the proteins they contain to the host cell by fusion and demonstrate their effects.²⁵ Therefore, protein quantification should be performed by bursting the membranes. This is the reason why NTA analysis is often preferred for exosome characterization and quantification, but this analysis is expensive and not always accessible. Subedi et al. evaluated the effectiveness of different chemical treatments for detecting protein content using spectrometric (MS) analysis of a head-and-neck cancer cell line and concluded that RIPA was the best lysis buffer. The study noted that RIPA contains a combination of both ionic and non-ionic detergents, resulting in the highest number of EV peptides and proteins identified by MS-based identification.²²

In this study, hWJ-MSC exosomes were isolated and characterized, and protein amounts were determined from these exosomes after treatment with different chemicals. The results showed that the RIPA buffer was approximately 3.3 times more effective than the other lysis solutions.

In conclusion, accurate and reliable protein quantification from exosomes derived from mesenchymal stem cells is important for understanding the biological properties of these nanovesicles and developing their potential therapeutic applications. Further studies should evaluate the efficacy of different chemicals in exosome analysis, and comparatively investigate the accuracy and sensitivity of the detection methods used.

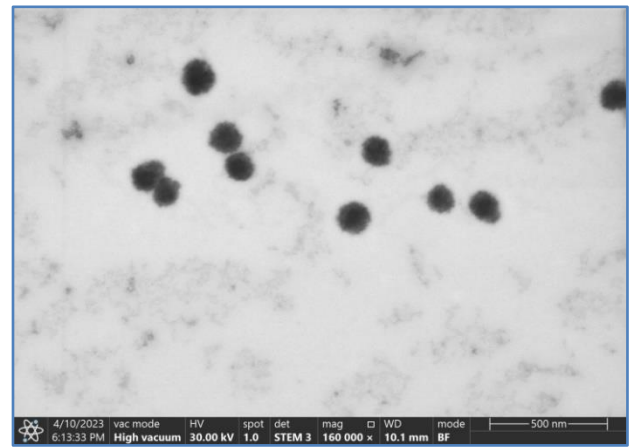


Figure 3. Electron microscopy analysis of exosomes. Exosome clusters are similar in size and spherical in shape.

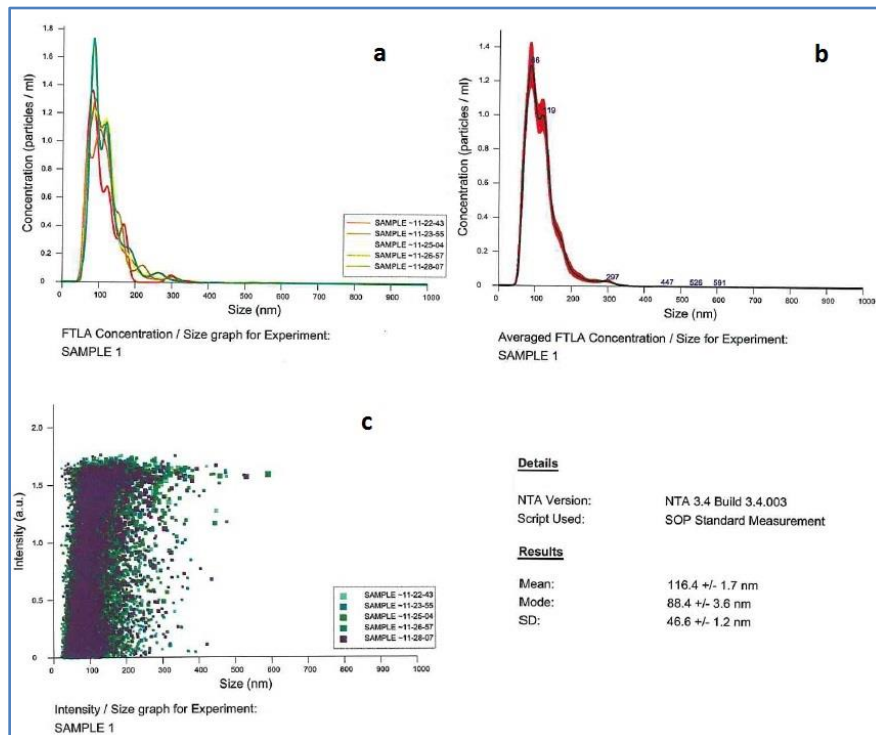


Figure 4. NTA analysis result. a. Graph showing the size and concentration per ml in five different readings of the exosome sample by the instrument. b. graph showing the average concentration. c. Dot plot of density and size of exosome particles.

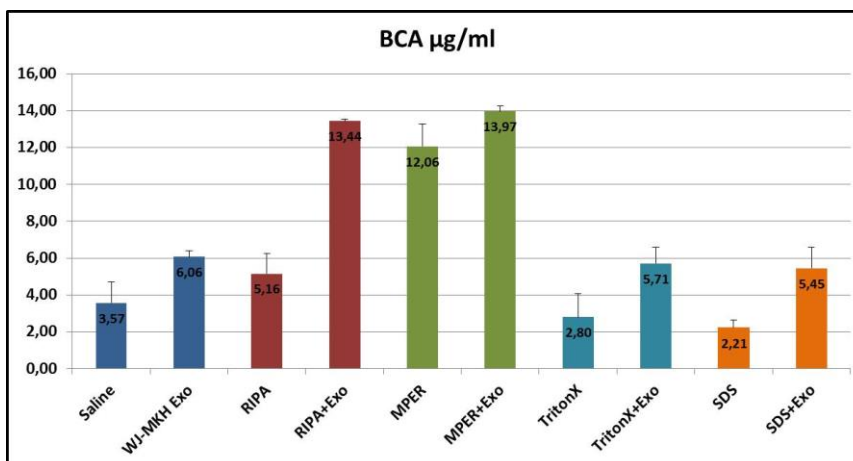


Figure 5. Protein quantification with micro BCA kit. Each lysis buffer was grouped into different colors.

Compliance with Ethical Standards

Exosomes obtained from STEM BIO Cord Blood, Cell, and Tissue Center were produced after obtaining production and release authorization for cells and cell-derived products issued by the Ministry of Health and patient consent. Ethical approval was not required for the experimental procedures.

Conflict of Interest

The author declares no conflicts of interest.

Author Contribution

ZSH: Conceived the ideas; ZSH, ZEUK, CDS, KCK, BA: Designed the experiments; ZSH, ZEUK, CDS, KCK, BA, YY: Performed the experiments, analyzed the data; ZSH, ZEUK, KCK: Wrote the manuscript. All authors have read and approved the final version for publication.

Financial Disclosure

This study was supported by the Kocaeli University Scientific Research Projects Unit within the scope of the R&D Center Research Projects, numbered TMP-2022-2352.

References



- Baksh D, Yao R, Tuan RS. Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow. *Stem Cells*. 2007;25(6):1384-1392. doi:10.1634/stemcells.2006-0709
- Hass R, Kasper C, Böhm S, Jacobs R. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun Signal*. 2011;9:1-14. doi:10.1186/1478-811X-9-12
- Mennan C, Wright K, Bhattacharjee A, Balain B, Richardson J, Roberts S. Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells from different regions of the human umbilical cord. *Biomed Res Int*. 2013;2013:916136. doi:10.1155/2013/916136
- Semenova E, Grudniak MP, Machaj EK, et al. Mesenchymal stromal cells from different parts of umbilical cord: approach to comparison & characteristics. *Stem Cell Rev Reports*. 2021;17(5):1780-1795. doi:10.1007/s12015-021-10157-3
- Weiss ML, Troyer DL. Stem cells in the umbilical cord. *Stem Cell Rev*. 2006;2(2):155-162. doi:10.1007/s12015-006-0022-y
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-317. doi:10.1080/14653240600855905
- Krampera M, Galipeau J, Shi Y, Tarte K, Sensebe L. Immunological characterization of multipotent mesenchymal stromal cells-The international society for cellular therapy (ISCT) working proposal. *Cytotherapy*. 2013;15(9):1054-1061. doi:10.1016/j.jcyt.2013.02.010
- Batsali AK, Kastrinaki M, Papadaki HA, Pontikoglou C. Mesenchymal stem cells derived from Wharton's Jelly of the umbilical cord: biological properties and emerging clinical applications. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2013;8(2):144-55. doi:10.2174/1574888x11308020005
- Kim DW, Staples M, Shinozuka K, Pantcheva P, Kang SD, Borlongan C V. Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells: Phenotypic characterization and optimizing their therapeutic potential for clinical applications. *Int J Mol Sci*. 2013;14(6):11692-11712. doi:10.3390/ijms140611692
- Lai RC, Yeo RWY, Tan KH, Lim SK. Exosomes for drug delivery - A novel application for the mesenchymal stem cell. *Biotechnol Adv*. 2013;31(5):543-551. doi:10.1016/j.biotechadv.2012.08.008
- Kooijmans SAA, Vader P, van Dommelen SM, van Solinge WW, Schiffelers RM. Exosome mimetics: A novel class of drug delivery systems. *Int J Nanomedicine*. 2012;7:1525-1541. doi:10.2147/IJN.S29661
- Schiller M, Bekeredjian-Ding I, Heyder P, Blank N, Ho AD, Lorenz HM. Autoantigens are translocated into small apoptotic bodies during early stages of apoptosis. *Cell Death Differ*. 2008;15(1):183-191. doi:10.1038/sj.cdd.4402239
- Ha D, Yang N, Nadithe V. Exosomes as therapeutic drug carriers and delivery vehicles across biological membranes: current perspectives and future challenges. *Acta Pharm Sin B*. 2016;6(4):287-296. doi:10.1016/j.apsb.2016.02.001
- Pegtel DM, Gould SJ. Exosomes. *Annu Rev Biochem*. 2019;88:487-514. doi:10.1146/annurev-biochem-013118-111902
- Théry C, Witwer KW, Aikawa E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a

- position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018;7(1). doi:10.1080/20013078.2018.1535750
16. Bian D, Wu Y, Song G, Azizi R, Zamani A. The application of mesenchymal stromal cells (MSCs) and their derivative exosome in skin wound healing: a comprehensive review. *Stem Cell Res Ther*. 2022;13(1):24. doi:10.1186/s13287-021-02697-9
 17. Zhang Y, Bi J, Huang J, Tang Y, Du S, Li P. Exosome: A review of its classification, isolation techniques, storage, diagnostic and targeted therapy applications. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:6917-6934. doi:10.2147/IJN.S264498
 18. Zhou W, Silva M, Feng C, et al. Exosomes derived from human placental mesenchymal stem cells enhanced the recovery of spinal cord injury by activating endogenous neurogenesis. *Stem Cell Res Ther*. 2021;12(1):1-14. doi:10.1186/s13287-021-02248-2
 19. Mobarak H, Heidarpour M, Rahbarghazi R, Nouri M, Mahdipour M. Amniotic fluid-derived exosomes improved spermatogenesis in a rat model of azoospermia. *Life Sci*. 2021;274:119336. doi:10.1016/j.lfs.2021.119336
 20. Zhuang X, Xiang X, Grizzle W, et al. Treatment of brain inflammatory diseases by delivering exosome encapsulated anti-inflammatory drugs from the nasal region to the brain. *Mol Ther*. 2011;19(10):1769-1779. doi:10.1038/mt.2011.164
 21. Lässer C, Eldh M, Lötvall J. Isolation and characterization of RNA-containing exosomes. *J Vis Exp*. 2012;(59):1-6. doi:10.3791/3037
 22. Subedi P, Schneider M, Philipp J, et al. Comparison of methods to isolate proteins from extracellular vesicles for mass spectrometry-based proteomic analyses. *Anal Biochem*. 2019;584:113390. doi:10.1016/j.ab.2019.113390
 23. Hernandez-Valladares M, Aasebø E, Mjåavatten O, et al. Reliable FASP-based procedures for optimal quantitative proteomic and phosphoproteomic analysis on samples from acute myeloid leukemia patients. *Biol Proced Online*. 2016;18:13. doi:10.1186/s12575-016-0043-0
 24. Mutschelknaus L, Azimzadeh O, Heider T, et al. Radiation alters the cargo of exosomes released from squamous head and neck cancer cells to promote migration of recipient cells. *Sci Rep*. 2017;7(1):12423. doi:10.1038/s41598-017-12403-6
 25. Keshtkar S, Azarpira N, Ghahremani MH. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: novel frontiers in regenerative medicine. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9(1):63. doi:10.1186/s13287-018-0791-7
 26. Casado-Díaz A, Quesada-Gómez JM, Dorado G. Extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells (MSC) in regenerative medicine: applications in skin wound healing. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8:146. doi:10.3389/fbioe.2020.00146
 27. Noronha NC, Mizukami A, Caliári-Oliveira C, et al. Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies. *Stem Cell Res Ther*. 2019 May 2;10(1):131. doi: 10.1186/s13287-019-1224-y.
 28. Joo HS, Suh JH, Lee HJ, Bang ES, Lee JM. Current Knowledge and Future Perspectives on Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes as a New Therapeutic Agent. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(3):727. <https://doi.org/10.3390/ijms21030727>
 29. Haraszti RA, Miller R, Dubuke ML, et al. Serum Deprivation of Mesenchymal Stem Cells Improves Exosome Activity and Alters Lipid and Protein Composition. *iScience*. 2019 Jun 28;16:230-241. doi: 10.1016/j.isci.2019.05.029.

Araştırma Makalesi | Research Article

OBEZ ÇOCUKLARDA KİLO KAYBININ SERUM D VİTAMİNİ DÜZEYİNE ETKİSİ

THE EFFECT OF WEIGHT LOSS ON SERUM VITAMIN D LEVEL IN OBESE CHILDREN

 Gökmen Akgün^{1*},  Hasan Öney²

¹Kocaeli Şehir Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Kardiyoloji Bilim Dalı, Kocaeli, Türkiye. ²Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Metabolizma Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.



Öz

Amaç: Çalışmanın amacı obezlerde 25(OH)D₃'ün yağ dokusunda akümüle olup olmadığını incelemek ve böylece obez bireylerde genel popülasyona göre daha sık olan D vitamini eksikliğinin sebebine ışık tutmaya çalışmaktır
Yöntem: Çalışmaya çocuk endokrinoloji polikliniğine obezite nedeni ile aralık ayında başvuran 67 çocuk dahil edildi. Üç aylık diyet-egzersiz sonrası hastalarda ağırlık, VKİ ve serum 25(OH)D₃ düzeylerindeki değişim incelendi. Hastalar anlamlı kilo kaybı olanlar (Grup 1) ve olmayanlar (Grup 2) şeklinde iki gruba ayrıldı.

Bulgular: Kilo kaybı olan (Grup 1) hastalarda başlangıçtaki serum 25(OH)D₃ değeri (12,59 ± 5,69 ng/ml) ile 3 ay sonrasındaki 25(OH)D₃ değeri (16,87 ± 10,08 ng/ml) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (P=0,004). Kilo kaybı olmayan (Grup 2) hastalarda diyet-egzersiz öncesi ortalama 25(OH)D₃ değeri (14,58 ± 6,6 ng/ml) ile sonrasındaki 25(OH)D₃ değeri (13,99 ± 6,69 ng/ml) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Her iki grupta insülin ve HOMA-IR değişimleri arasında anlamlı fark yoktu.

Sonuç: Obez hastalarda serum D vitamini düzeyinde eksiklik ve yetersizlik siktir ve bu hastalar gelişebilecek metabolik komplikasyonlar açısından risk altındadır. Çalışmamızda obez hastalarda kilo kaybı sonrasında serum D vitamini düzeyinde artış görülmüştür. Sonuçlarımız obezlerde D vitamini yağda toplandığı ve dolaşımdaki efektif miktarın düşük olduğu görüşünü desteklemektedir. Bu hastalara diyet ve egzersiz ile birlikte vitamin D takviyesi sağlamanın yerinde olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Obezite, 25(OH)D₃ vitamini, kilo kaybı

ABSTRACT

Objective: The aim of the study is to evaluate in obese children whether 25(OH)D₃ is accumulated in adipose tissue, and to try to shed light on the cause of vitamin D deficiency in obese individuals

Methods: 67 children who applied to the pediatric endocrinology outpatient clinic in december due to obesity were included in the study. Changes in weight, BMI and serum 25(OH)D₃ levels were examined after 3 months of diet and exercise. The patients were divided into two groups: those with significant weight loss (Group1) and those without (Group2).

Results: In patients with weight loss (Group 1), there was a statistically significant difference between the initial serum 25(OH)D₃ value (12.59 ± 5.69 ng/ml) and the 25(OH)D₃ value after 3 months of diet and exercise (16.87 ± 10.08 ng/ml). Whereas, in Group 2, there was no significant difference between the initial 25(OH)D₃ value (14.58 ± 6.6 ng/ml) and the value after 3 months of diet and exercise (13.99 ± 6.69 ng/ml). There was no significant difference in both groups in terms of insulin and HOMA-IR changes.

Conclusion: Low serum vitamin D level is common in obese children. In our study, an increase in serum vitamin D levels was observed in obese patients after weight loss. Our results support the thesis that vitamin D accumulates in fat tissue and the effective amount in circulation is low in obese individuals. We think that providing these patients with vitamin D supplements along with diet and exercise may be an appropriate approach.

Keywords: Obesity, 25(OH)D₃ vitamin, weight loss

Giriş

D vitamini eksikliği tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de önemli bir sağlık problemidir.^{1,2} Günümüzde fiziksel aktivitenin azalmış olması ve beslenme alışkanlıklarının değişimi nedeniyle, obezite çocukluk çağında sıklığı giderek artan diğer önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir.^{3,4} Klinik çalışmalar obezlerde D vitamini eksikliğinin normal popülasyondan daha fazla olduğunu göstermektedir.⁵⁻⁷ Obezite vücudumuzdaki her sistemi olumsuz etkilemektedir. Psikolojik bozukluklar, hiperlipidemi, hipertansiyon, insülin direnci, metabolik sendrom, tip 2 diabetes mellitus (DM), puberte prekoks, hirsutizm, oligomenore veya amenore, infertilité, kolelitiazis, hepatik steatoz, psödötümör serebri, ortopedik sorunlar obezite ile ilişkili olduğu bilinen durumlardır.⁸⁻¹⁰

D vitamini temel olarak güneş ışığı aracılığıyla sentezlenen ve kolesterol türevi olmasından ötürü yağda eriyebilen bir moleküldür.¹¹ Bu bilgiler temel alınarak obezlerdeki D vitamini eksikliği için bazı teoriler ileri sürülebilir. D vitamininin yağ dokusunda toplanarak dolaşımdan çekildiği ve aslında vücuttaki total düzeyi yeterli olmasına rağmen dolaşımda yetersiz olduğu düşünülebilir.¹² Obez bireylerin sedanter yaşamları, güneş ışığıyla daha az etkileşime girmeleri ve D vitamini yönünden fakir gıdalarla daha fazla beslenmeleri bu bireylerdeki D vitamini eksikliğinin diğer sebepleri olarak öne sürülebilir.

D vitamini eksikliğinin obezite gelişimini kolaylaştırdığı şeklinde bir görüş de mevcuttur. 5-12 yaş çocukların vücut kitle indeksi (VKİ), cilt altı kalınlığı ve bel çevresi ölçümleri temel alınarak yapılan 3 yıllık izlemde, başlangıçta D vitamini düzeyi düşük olanların ilerleyen yıllarda yağ dokusunda artış olduğu gösterilmiştir.¹³

D vitamini ihtiyacının büyük çoğunluğu deriden güneş ışığı aracılığıyla karşılanır.¹⁴ Dolaşımdaki D vitamininin büyük kısmı 25(OH)D şeklindedir ve vücuttaki D vitamin düzeyini de en iyi yansıtan bu formdur. Yarılanma ömrü 2-3 hafta kadardır.¹⁵

Bu çalışmamızda obezlerde serum D vitamin düzeyinin tespitini ve eğer düşüklük var ise yağ dokusunda akümüle olup olmadığını değerlendirmeyi amaçladık. Bu amaçla obez hastalarda kliniğe ilk başvuru anında ve 3 aylık süre sonunda kilo kaybının ardından ölçülen serum 25(OH)D3 düzeyindeki değişimi inceleyerek mevcut hipotezimizi test etmeye çalıştık.

Yöntem

25(OH)D3 sentezindeki major faktörün -yani güneş ışığının- etkisiz kılınması için çalışma 2011 Aralık ve 2012 Mart arası dönemde yapılmıştır. Bu dönemde güneş ışığının azalan etkisi sonucunda D vitamin sentezi en düşük seviyelerine inmektedir. Çalışmaya aralık ayının ilk 12 iş gününde (1 Aralık-16 Aralık) Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Endokrinoloji Polikliniği’ne aşırı kilo şikayeti ile başvuran, VKİ \geq 95p. olan ve aşağıda bahsedilmiş şartları sağlayan toplam 137 obez çocuk dahil edildi. Tüm hastalardan başvuru gününde veya

sonraki günde açlık serum 25(OH)D3, insülin, glukoz ve lipid düzeylerinin tespiti için kan örnekleri alındı. Hastalara diyet, egzersiz ve yaşam şeklinde yapılması gereken değişiklikler ile ilgili uyulması gerekli kurallar yazılı olarak verildi. Mart ayının ilk 12 iş günü (1 Mart-16 Mart) VKİ, serum 25(OH)D3, insülin, glukoz ve lipid düzeyleri tekrar ölçülerek iki ayrı döneme ait veriler karşılaştırıldı. Kilo kaybı ve VKİ azalması olan hastalar Grup 1, olmayan hastalar Grup 2 olarak sınıflandırıldı.

Son 3 ayda D vitamini kullanma öyküsü olanlar, tesettürlü olanlar, cilt hastalığı olanlar, sendrom veya endokrin bozukluk düşündürülen klinik muayene bulgusu olanlar, D vitamini ve kalsiyum metabolizmasını etkilediği bilinen antikonvülzan ilaç, steroid ve oral vitamin preparatları kullananlar, akne tedavisi için isotretionin kullananlar, lipit ve insülin düzeyini etkileyebilecek ilaç kullananlar çalışmaya dahil edilmedi. Başlangıçta çalışmaya dahil edilmiş fakat sonradan istenilen zamanda kontrole gelemeyenler ve çalışma dönemi içinde Marmara Bölgesi dışına seyahat edenlerden oluşan toplam 70 obez hasta daha sonra çalışma kapsamından çıkartıldı. 25(OH) D3 düzeyi için $< 12\text{ng/ml}$ (30 nmol/L) eksiklik, $12\text{-}20\text{ng/ml}$ (30-50 nmol/L) arası yetersizlik ve $>20\text{ng/ml}$ (50 mmol/L) normal kabul edildi.¹⁴

İnsülin direncini ölçmek amacıyla HOMA-IR (Homeostasis Model Assesment of Insulin Resistance) yöntemi kullanıldı. HOMA-IR; Açlık Plazma İnsulini ($\mu\text{U/ml}$) X Açlık Plazma Glukozu(mg/dl) / 405 formülü ile hesaplanmaktadır. Bu yöntem hem basit ve uygulanabilir hem de güvenilirdir.

İstatiksel Yöntemler

Verilerin analizinde Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 19 ve Medcalc 9 (Mariakerke, Belçika) programları kullanıldı. Kantitatif verilerin analizi için normal dağılıma uygunluğu Kolmogrov Simirnov testi, Shapiro-Wilk testi ve değişkenlik katsayıları dikkate alınarak incelenmiş olup; normal dağılıma sahip değişkenlerin analizinde parametrik yöntemler, normal dağılıma sahip olmayan değişkenlerin analizinde nonparametrik yöntemler kullanıldı. Kantitatif veriler tablolarda ortalama \pm SS (standart sapma) değerleri şeklinde ifade edildi. Kategorik veriler ise sayı (n) ve yüzdelere (%) ifade edildi. Bağımsız 2 grubun karşılaştırılmasında Independent T testi kullanıldı. Bağımlı 2 grubun karşılaştırılmasında Paired T testi kullanıldı. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson Chi-square ve Fisher exact testleri kullanıldı. Kantitatif verilerin, ana faktör kontrol altına alındıktan sonra değişkenlerin birbiriyle olan korelasyonlarını incelemek için ise Partial Correlation testi kullanıldı. Veriler %95 güven düzeyinde incelenmiş olup, p değeri 0,05’ten küçük ise anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya toplam 137 obez çocuk ile başlandı ve belirtilen şartları sağlayan kalan 67 obez çocuk ile çalışma tamamlandı. 67 olgunun tamamı ilk başvuru

değerlendirmesinde obez tanımlamasına uymaktaydı. Hastalar 5 ile 17 yaş arasındaydı. VKİ azalması olan Grup 1'de 49 (%73,1), VKİ azalması olmayan Grup 2'de 18 (%26,9) hasta vardı. Grup 1'deki olguların yaş ortalaması $11,24 \pm 3,05$ yıl, Grup 2'deki olguların ise $10,61 \pm 3,13$ yıl şeklindeydi. Diyet-egzersiz öncesi tüm olguların D vitamini düzeyi dağılımları; 35 (% 52)'inde eksiklik, 22 (%33)'sinde yetersizlik, 10 (%15)'unda normal şeklindeydi. Diyet-egzersiz sonrası dağılımları ise; 27 (%40)'sinde eksiklik, 21 (%31)'inde yetersizlik, 19 (% 28)'unda normal şeklindeydi (Tablo 1). Grup 1'in diyet-egzersiz öncesi ortalama tartı değeri ($69,69 \pm 22,71$ kg) ile sonrasındaki değeri ($64,05 \pm 21,29$ kg) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,001$). Grup 2'nin diyet-egzersiz öncesi ortalama tartı

değeri ($69,23 \pm 27,83$ kg) ile sonrasındaki değeri ($69,56 \pm 28,08$ kg) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,163$) (Tablo 1).

Grup 1'in diyet-egzersiz öncesi ve sonrası ortalama VKİ farkı (kg/m^2) ($2,83 \pm 1,22$) Grup 2'nin ortalama VKİ farkından ($0,18 \pm 0,43$) büyüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$) (Tablo 1). Grup 1'de diyet-egzersiz öncesi ortalama VKİ değeri ($29,5 \pm 4,12$) ile 3 aylık diyet-egzersiz sonrası ortalama VKİ değeri ($26,68 \pm 3,95$) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$). Grup 2'nin diyet-egzersiz öncesi ortalama VKİ değeri ($29,06 \pm 5,8$) ile sonrasındaki VKİ değeri ($28,88 \pm 5,86$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0,112$) (Tablo 1).

Tablo 1. Diyet öncesi (DÖ) ve sonrası (DS) tartı, vücut kitle indeksi (VKİ), HOMA-IR ve D vitamini düzeyi dağılımları

	Grup 1 (n=49)			Grup 2 (n=18)		
	DÖ	DS	p değeri	DÖ	DS	p değeri
Yaş, ortalama \pm SS	11,24 \pm 3,05			10,61 \pm 3,13		
Cinsiyet, Kız/Erkek	31/18			17/1		
Tartı (kg), ortalama \pm SS	69,69 \pm 22,71	64,05 \pm 21,29	<0,001	69,23 \pm 27,83	69,56 \pm 28,08	0,163
VKİ (kg/m^2), ortalama \pm SS	29,5 \pm 4,12	26,68 \pm 3,95	<0,001	29,06 \pm 5,8	28,88 \pm 5,86	0,112
HOMA-IR, ortalama \pm SS	2,7 \pm 3,5	2,2 \pm 2,5	0,106	2,4 \pm 2,4	2,95 \pm 2	0,138
25(OH)D3 düzeyi, (ng/mL), ortalama \pm SS	12,59 \pm 5,69	16,87 \pm 10,08	0,004	14,58 \pm 6,6	13,99 \pm 6,69	0,570

VKİ: Vücut kitle indeksi; SS: Standart sapma

Grup 1'in diyet-egzersiz öncesi ortalama serum 25(OH)D3 değeri ($12,59 \pm 5,69$ ng/ml) ile 3 ay sonrasındaki ortalama 25(OH)D3 değeri ($16,87 \pm 10,08$ ng/ml) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($P=0,004$). Grup 2'nin diyet-egzersiz öncesi ortalama 25(OH)D3 değeri ($14,58 \pm 6,6$ ng/ml) ile sonrasındaki 25(OH)D3 değeri ($13,99 \pm 6,69$ ng/ml) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. ($p=0,570$). Grup 1'in diyet-egzersiz öncesi ve sonrası ortalama 25(OH)D3 değişimi ($4,28 \pm 10,04$ ng/ml) ile Grup 2'deki 25(OH)D3 değişimi ($0,59 \pm 4,31$ ng/ml) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,007$).

Grup 1'in diyet-egzersiz öncesi insülin ortalama değeri ($12 \pm 15,1$ mIU/ml) ile 3 ay sonrasındaki insülin ortalama değeri ($11 \pm 10,1$ mIU/ml) istatistiksel olarak benzerdi ($p=0,234$). Grup 2'nin diyet-egzersiz öncesi insülin ortalama değeri ($10,65 \pm 9,6$ mIU/ml) ile sonrasındaki insülin ortalama değeri ($14,9 \pm 8,7$ mIU/ml) istatistiksel olarak benzerdi ($p=0,122$). Grup 1'in diyet-egzersiz öncesi ve sonrası HOMA-IR ortalama değerleri arasındaki fark ($0,30 \pm 1,9$) Grup 2'nin HOMA-IR ortalama değerleri arasındaki ($-0,45 \pm 1,85$) farktan daha büyüktü ($p=0,036$). Grup 1'in diyet-egzersiz öncesi HOMA-IR ortalama değeri ($2,7 \pm 3,5$), sonrasındaki HOMA-IR ortalama değeri ($2,2 \pm 2,5$) ile istatistiksel olarak benzerdi

($p=0,106$). Grup 2'nin diyet-egzersiz öncesi HOMA-IR ortalama değeri ($2,4 \pm 2,4$) ile 3 ay sonrası HOMA-IR ortalama değeri ($2,95 \pm 2$) istatistiksel olarak benzerdi ($p=0,138$) (Tablo 1).

Yaş ve cinsiyet değişkenleri kontrol altına alınarak diğer değişkenler arasındaki ilişki değerlendirildi (Tablo 2). Olguların VKİ'sindeki değişim; serum 25(OH)D3 düzeyinin değişimi ile negatif yönlü orta düzeyde ilişki ($r = -0,381$), ve HOMA-IR değişimi ile pozitif yönlü orta düzeyde ilişki ($r=0,346$) gösterdi.

Tartışma

D vitamini yetersizliği Türkiye'de Ölmez ve ark.'nın sağlıklı çocuklarda yaptığı çalışmaya göre, yaz ve kış döneminde sırasıyla %20 ve %59 olarak saptanmıştır.¹⁶ Gordon ve ark.'nın çalışmasında, sağlıklı adolesanlarda 25(OH)D3 vitamini yetersizliği %14-54 arasında sonuçlanmıştır.¹⁷ Buna karşın obezlerde D vitamini yetersizliği normal popülasyondan daha sık görülmektedir.⁵⁻⁷ Bizim kış döneminde ve obez çocuklarda yaptığımız çalışmamızda D vitamini eksikliği ve yetersizliği %85 olarak sonuçlanmıştır.

Tablo 2. Yaş ve cinsiyet değişkenleri kontrol altına alınarak diğer değişkenler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

	Vücut kitle indeksindeki değişim	
	r	p
25(OH)D3 düzeyindeki değişim	-0,381	0,002
İnsülin düzeyindeki değişim	0,377	0,002
HOMA-IR düzeyindeki değişim	0,346	0,005

Wortsmann ve ark.'nın yaptığı çalışmada obezlerde D vitamini yetersizliği sağlıklı popülasyondan anlamlı derecede fazla (%57) bulunmuş ve obezler ile obez olmayanlar arasında ciltte sentezlenen D vitamini farklı olmadığı belirtilmiştir. Obezlerde D vitamini cilt altı yağ dokusunda toplandığını ileri sürmüşlerdir.¹⁸ Bizim çalışmamızda obezlerde başlangıçta %85 olan D vitamini eksiliği ve yetersizliği oranı 3 ay sonrasında anlamlı tartı kaybı ve VKİ azalması ile birlikte %71'e gerilemiştir. Diyet ve egzersiz sonucu kilo kaybı ve VKİ azalması olan Grup 1'de serum 25(OH)D3 seviyelerinde anlamlı artış görülürken, kilo kaybı ve VKİ düşüşü olmayan Grup 2'de ise artış olmamış hatta azalma devam etmiştir. Vitamin D düzeyinin ana belirleyicisi olan güneş ışığının kış mevsiminde etkisinin oldukça zayıf olduğu düşünülürse, buradaki artıştan yağ dokusu kaybını ve yağ dokuda akümüle olmuş 25(OH)D3'ün kana salınımını sorumlu tutmak yerinde olacaktır.

Obezler insülin direnci ve bununla ilişkili metabolik sendrom riskiyle karşı karşıyadır.⁹ Tartı kaybı ve VKİ azalması olan Grup 1'de HOMA-IR ortalama değeri düşüş göstermişken, tartı kaybı ve VKİ azalması olmayan Grup 2'de HOMA-IR ortalama değerinde artış devam etmiştir. Diyet-egzersiz sonucu gerçekleşen kilo kaybının insülin direnci üzerindeki olumlu etkilerini gösteren bu sonuçlar, diğer taraftan artmış olan serum 25(OH)D3 düzeyinin de insülin direncinin kırılmasında olumlu etkisi olduğu fikrini doğrular. Obeziteyle sıkı ilişkisi olan tip 2 diyabet ile D vitamini düzeyi arasındaki bağlantıyı inceleyen çalışmalar yüksek serum D vitamini düzeyinin insülin direncine karşı olumlu etkisi olduğunu göstermektedir.¹⁸⁻²⁰ Vitamin D takviyesinin pankreas beta hücre fonksiyonlarını iyileştirdiği insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir.^{19,22}

Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı tek merkez olması ve sınırlı sayıda hasta içermesidir. Ancak vitamin D düzeyinin ana belirleyicisi olan güneş ışığı etkisinin en az olduğu kış mevsiminde çalışmanın yapılmış olması çalışmanın güçlü yanlarından. Yetersizlik veya eksiklik olarak tanımlanan serum D vitamini düzeyi ırklar, bireyler ve farklı yaş grupları arasında değişkenlik gösterebilmektedir. Bunun için D vitamini düzeyi ile serum parathormon düzeyinin birlikte değerlendirilmesi bireysel farklılıkları ayırtmak için gereklidir. Parathormon düzeyinin incelenmemiş olması çalışmamızın zayıf yönüdür.

Sonuç olarak; Obez hastalarda serum D vitamini düzeyinde yetersizlik siktir ve bu hastalar gelişebilecek metabolik komplikasyonlar açısından risk altındadır. Tek başına vitamin D takviyesi elbette obeziteye, insülin direncine veya bozulmuş glukoz homeostazisine karşı yeterli

değildir. Ancak obez çocuklarda D vitamini yağda toplandığı ve dolaşımdaki efektif miktarının yetersiz olduğu düşünüldüğünde, bu hastalara diyet ve egzersiz ile birlikte D vitamini takviyesi sağlamanın metabolik komplikasyonların önlenmesi açısından yerinde bir yaklaşım olduğunu düşünmekteyiz.

Açıklamalar

Özgün araştırma Gökmen Akgün'ün tezinden üretilmiş olup, 4-7 Mart 2020 tarihleri arasında düzenlenen 2. Uluslar Arası Behçet Uz Kongresinde sözlü sunum olmuştur.

Etik Standartlara Uygunluk

Çalışma için Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu'ndan 05.01.2012 tarih ve 317 sayılı kararı ile etik kurul onayı alınmıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışmada herhangi bir kişi/kurum ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Yazar Katkısı

GA: Fikir, Tasarım, Veri Toplama, İstatistiksel Analiz, Yazım, HÖ: Fikir, Tasarım, Yazım

Finansal Destek

Bu çalışmada herhangi bir fon veya destekten yararlanılmamıştır.

Kaynaklar

- Hatun S, Ozkan B, Bereket A. Vitamin D deficiency and prevention: Turkish experience. *Acta Paediatr.* 2011;100(9):1195-1199.
- El-Radhi AS, Majeed M, Mansor N, Ibranim M. High incidence of rickets in children with wheezy bronchitis in a developing country. *J Royal Soc Med.* 1982;75:884-887.
- Gürel FS, İnan G. Çocukluk çağı obezitesi tanı yöntemleri prevalansı ve etyolojisi. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi.* 2001;2(3):39-46.
- Alemzadeh R, Rising R, Lifshitz. Obesity in children. In: Lifshitz F(ed): *Obesity, diabetes mellitus insülin resistance and hipoglisemia.* Informa healthcare USA, inc., New York:2007; 1-37.
- Mai XM, Chen Y, Camargo CA Jr, Langhammer A. Cross-sectional and prospective cohort study of serum 25-hydroxyvitamin D level and obesity in adults: the HUNT study. *Am J Epidemiol.* 2012;175(10):1029-1036. doi:10.1093/aje/kwr456
- Reinehr T, de Sousa G, Alexy U, Kersting M, Andler W. Vitamin D status and parathyroid hormone in obese

- children before and after weight loss. *Eur J Endocrinol*. 2007;157(2):225-232. doi:10.1530/EJE-07-0188
7. Jorde R, Sneve M, Emaus N, Figenschau Y, Grimnes G. Cross-sectional and longitudinal relation between serum 25-hydroxyvitamin D and body mass index: the Tromsø study. *Eur J Nutr*. 2010;49(7):401-407. doi:10.1007/s00394-010-0098-7
 8. Altuncu ME, Kör Y; Insulin resistant and metabolic syndrome frequency in childhood obesity. *Gaziantep Tıp Derg*. 2011;17(1):15-19.
 9. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med*. 2004;350(23):2362-2374. doi:10.1056/NEJMoa031049
 10. Burgert TS, Taksali SE, Dziura J, et al. Alanine aminotransferase levels and fatty liver in childhood obesity: associations with insulin resistance, adiponectin, and visceral fat. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(11):4287-4294. doi:10.1210/jc.2006-1010
 11. Lucock M, Jones P, Martin C, et al. Vitamin D: Beyond Metabolism. *J Evid Based Complementary Altern Med*. 2015;20(4):310-22. doi: 10.1177/2156587215580491
 12. Karampela I, Sakelliou A, Vallianou N, Christodoulatos GS, Magkos F, Dalamaga M. Vitamin D and obesity: Current evidence and controversies. *Curr Obes Rep*. 2021;10(2):162-180. doi:10.1007/s13679-021-00433-1
 13. Gilbert-Diamond D, Baylin A, Mora-Plazas M, et al. Vitamin D deficiency and anthropometric indicators of adiposity in school-age children: a prospective study. *Am J Clin Nutr*. 2010;92(6):1446-1451. doi:10.3945/ajcn.2010.29746
 14. Munns CF, Shaw N, Kiely M, et al. Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(2):394-415. doi:10.1210/jc.2015-2175
 15. Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann Epidemiol*. 2009;19(2):73-78. doi:10.1016/j.annepidem.2007.12.001
 16. Olmez D, Bober E, Buyukgebiz A, Cimrin D. The frequency of vitamin D insufficiency in healthy female adolescents. *Acta Paediatr*. 2006;95(10):1266-1269. doi:10.1080/08035250600580495.
 17. Gordon CM, DePeter KC, Feldman HA, Grace E, Emans SJ. Prevalence of vitamin D deficiency among healthy adolescents. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2004;158(6):531-537. doi:10.1001/archpedi.158.6.531
 18. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr*. 2000;72(3):690-693. doi:10.1093/ajcn/72.3.690
 19. Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr*. 2004;79(5):820-825. doi:10.1093/ajcn/79.5.820
 20. Scragg R, Sowers M, Bell C. Serum 25-hydroxyvitamin D, diabetes, and ethnicity in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care*. 2004;27(12):2813-2818. doi:10.2337/diacare.27.12.2813
 21. Knekt P, Laaksonen M, Mattila C, et al. Serum vitamin D and subsequent occurrence of type 2 diabetes. *Epidemiology*. 2008;19(5):666-671. doi:10.1097/EDE.0b013e318176b8ad
 22. Kadowaki S, Norman AW. Dietary vitamin D is essential for normal insulin secretion from the perfused rat pancreas. *J Clin Invest*. 1984;73(3):759-766. doi:10.1172/JCI111269



Araştırma Makalesi | Research Article

TIP FAKÜLTESİ ÖĞRENCİLERİNDE GEBELİK İLE İLGİLİ BİLGİ DÜZEYİ YETERLİ Mİ?

IS THE LEVEL OF KNOWLEDGE ABOUT PREGNANCY IN MEDICAL FACULTY STUDENTS SUFFICIENT?

Sibel Balcı¹, Görker Sel^{2*}

¹Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye. ²Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi, Jinekolojik Onkoloji Cerrahisi Bilim Dalı, Antalya, Türkiye.



Öz

Amaç: Tıp öğrencileri kadın hastalıkları ve gebelik ile ilgili derslere üçüncü yılda başlamakta, dördüncü yılda ve son olarak da altıncı yıllarındaki staj ve intörlük dönemlerinde karşılaşmaktadırlar. Bu çalışmada gebeler tarafından sıkça merak edilen konulardan derleme şeklinde 29 madde oluşturularak tıp fakültesi dönem 4 ve 6 öğrencilerinin genel obstetrik bilgilerinin gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu araştırma tanımlayıcı ve kesitsel tipte yapılmıştır. Çalışmamızın örneklemini Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi dönem 4 ve 6 öğrencileri oluşturmaktadır. Araştırmaya 144'ü dönem 4, 100'ü dönem 6 öğrencisi olmak üzere 244 öğrenci katılmıştır. Dönem 4 ve dönem 6 öğrencilerinin maddeleri doğru cevaplama durumları Ki-kare analizi ve Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Katılımcıların %63,5'i kadın, %36,5'i erkekti. Demografik özellikler bakımından (gelir durumu, medeni hal, üniversiteyi kazanmadan önce yaşadığı şehrin özelliği) iki grup birbirine benzerdi ($p>0,05$). Dönem 6 öğrencilerinin 29 maddeye verdikleri toplam doğru cevap sayısı dönem 4 öğrencilerinden anlamlı bir şekilde yüksekti ($p=0,005$).

Sonuç: Çalışmamızda tıp fakültesi dönem 4 ve 6 öğrencilerinin eksik olan noktaların ortaya çıkarılması ve bu konuların kadın doğum stajlarında daha detaylıca ele alınması açısından bize ön fikir oluşturması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tıp, kadın hastalıkları, doğum, staj

ABSTRACT

Objective: Medical students start taking courses on gynecology and pregnancy in the third year, meet them in the fourth year and finally during their internship and internship periods in their sixth year. In this study, it was aimed to created 29 questions from the topics frequently asked by pregnant women, to examine the general obstetric knowledge of the 4th and 6th semester medical faculty students.

Methods: This research was conducted in descriptive and cross-sectional type. The sample of our study consists of the students of Zonguldak Bülent Ecevit University Faculty of Medicine, semesters 4 and 6. 244 students, 144 of whom were in term 4 and 100 of whom were in term 6, participated in the research. Semester 4 and semester students were compared with respected to correct answering to questions by Chi-square analysis and Mann-Whitney U test.

Results: 63.5% of the participants were women and 36.5% were men. The two groups were similar to each other in terms of demographic characteristics (income status, marital status, characteristics of the city they lived in before entering university) ($p>0.05$). The total number of correct answers given by semester 6 students was significantly higher than that of semester 4 students ($p=0.005$).

Conclusion: In our study, it was aimed to give us a preliminary idea in terms of discussing these issues in more detail in obstetrics internships by determining the missing points of the 4th and 6th semester medical faculty students.

Keywords: Medicine, gynecology, obstetrics, internship

*iletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Görker Sel; Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi, Jinekolojik Onkoloji Cerrahisi Bilim Dalı, Antalya, Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (533) 465 61 84 e-posta/e-mail: gorkersel@gmail.com

Başvuru/Submitted: 02.10.2023

Kabul/Accepted: 13.10.2023

Online Yayın/Published Online: 21.10.2023



Giriş

Gebelik 280 gün süren, fizyolojik, psikolojik ve sosyal değişimlere uyum süreci gerektiren doğal ama zor bir dönemdir.¹ Gebelik, ovumun fertilizasyonu ve daha sonra uterus duvarına implantasyonu ile başlar. Gebelik, pozitif serum veya idrar hCG testleri ve embriyonun ultrasonda saptanması ile kesin olarak doğrulanabilir. Sonrasında ultrason gebelik yaşını ve tahmini doğum tarihini belirlemek için kullanılır. Gebelik ile ilgili akla gelen soruların yöneltilebileceği merci olarak hekimler önemli bir yer tutmaktadırlar. Bu sebeple de gebelerin ya da gebelik planlayan danışanların sıkça merak ettikleri sorulara aşına olmak ve onları güncel literatüre uygun bir şekilde yanıtlamak önem arz etmektedir.

Tıp öğrencileri kadın hastalıkları ve gebelik ile ilgili derslere üçüncü yılda başlamakta, dördüncü yılda ve son olarak da altıncı yıllarındaki staj ve intörnlik dönemlerinde karşılaşmaktadırlar. Dönem üçte gebeliğin genel fizyolojik değişimlerini, histoloji ve embriyolojisini öğrenmekte, dönem dörtte ise gebelik ile ilgili genel bilgi yanında sık görülen hastalıkları ve komplikasyonları hakkında bilgi sahibi olmaları beklenmektedir. Dönem altıda ise önceki yıllarda öğrendikleri bilgileri tekrar etme ve pratik ağırlıklı bir eğitim görmektedirler.

Gebelere verilecek öneriler hakkında genel bilgi sahibi olmayı yoklayan herhangi bir ölçek veya anket literatürde mevcut değildir. Bunun üzerine tarafımızca gebeler tarafından sıkça merak edilen konulardan derleme şeklinde 29 madde oluşturulmuştur. Literatürde genellikle doğum korkusunu ölçen ölçeklerle yapılan çalışmalar bulunmaktadır.²⁻⁵ Bununla birlikte obstetrik açıdan tehlike işaretlerini (vajinal kanama, şiddetli baş ağrısı, erken doğum tehdidi, erken membran rüptürü, şiddetli karın ağrısı, görmede bozulma, uzamış doğum (>12 saat), konvülsiyonlar, rest plasenta, kötü kokulu vajinal akıntı ve ateş gibi) bilme ile ilgili çalışmalar da mevcuttur.⁶⁻⁹ Bu çalışmalar genellikle gebelere uygulanmış ve maternal mortalite ve morbidite açısından önem arz eden çalışmalardır.

Gebelik ile genel bilgiler, gebelik süreci ve izlemi ile ilgili yaklaşımlar dördüncü sınıfta kadın hastalıkları ve doğum stajında öğretilmektedir. Bu çalışmada staj eğitimi aldıkları dönemde ve altıncı sınıfta öğrendikleri genel bilgilerin kalıcılığının ölçülmesi amaçlanmıştır. Anket formu bir sınav formu gibi değil, genel yaklaşımlar hakkında gündelik yaşam ile ilgilidir. Ayrıca bu yönüyle de tıp öğrencilerinin gebelik süreci ile ilgili fakültede öğrendikleri bilginin ne düzeyde gündelik hayata yansıtılabildiğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem

Bu araştırma tanımlayıcı ve kesitsel tipte yapılmıştır. Çalışmamızın örneklemini Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi dönem 4 ve 6 öğrencileri oluşturmaktadır. Bu çalışma 10.08.2020 ve 10.08.2021 tarihleri arasında; dönem 4 ve 6 tıp öğrencilerinin gebelik

ile ilgili genel bilgi düzeylerinin araştırılması amaçlanarak yapılmıştır.

Anket Formu

Sosyodemografik özellikleri (yaş, cinsiyet, tıp fakültesi kaçınıcı sınıfta olduğu, gelir durumu, medeni durumu, üniversiteye gelmeden önceki yaşadığı şehir özelliği) içeren sorular ile birlikte gebelikte ilaç kullanımı, beslenmede dikkat edilmesi gereken noktaları, gebenin günlük hayatında dikkat etmesi gereken hususları, gebelikte aşılama, gebelik izlemine, gebelikte tarama testlerini ve gebelikte diğer hastalıklarda ne yapılması gerektiğini yoklayan, cevapları "Evet: 1" ve "Hayır: 0" olarak düzenlenen 29 maddeden oluşmaktadır. Ankette yer alan maddeler Tablo 3'te verilmiştir.

Araştırmanın yürütülebilmesi için Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan (05.08.2020 tarihli 2020/22-5 sayılı) etik kurul izni alınmıştır.

İstatistiksel Yöntemler

İstatistiksel değerlendirme IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) programı ile yapılmıştır. Normal dağılıma uygunluk Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Sayısal değişkenler medyan (25.-75. yüzdeler) olarak verilmiştir. Kategorik değişkenler frekans (yüzde) olarak verilmiştir. Güvenirlik analizinde, iç tutarlılık için Kuder-Richardson (KR-20) güvenirlik katsayısı, test-tekrar test ile güvenirlik analizi için Wilcoxon signed rank testi ve sınıf içi korelasyon katsayısı (ICC) hesaplanmıştır. Maddelerin zorluk düzeyleri ve her bir madde için öğrencilerin doğru cevap verme olasılıkları Rasch analizi ile hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki farklılık Mann-Whitney U testi ile belirlenmiştir. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare analizi ile belirlenmiştir. Hipotez testlerinde $p < 0,05$ istatistiksel önemlilik için yeterli kabul edilmiştir.

Bulgular

Araştırmaya 144'ü dönem 4, 100'ü dönem 6 öğrencisi olmak üzere toplam 244 öğrenci katıldı. Katılımcıların %63,5'i kadın, %36,5'i erkekti. Demografik özellikler bakımından (gelir durumu, medeni hal, üniversiteyi kazanmadan önce yaşadığı şehrin özelliği) iki grup birbirine benzerdi ($p > 0,05$) (Tablo 1).

Güvenirlik

Ölçeğin güvenirlik analizinde iç tutarlılık düzeyini belirlemek amacıyla Kuder-Richardson katsayısı hesaplandı. Örneklemin tamamı için hesaplanan KR-20 katsayısı 0,808 olarak bulundu ve yüksek bir güvenirlik katsayısı elde edildi.

Test-tekrar test güvenirliliği için öğrencilere 2 hafta arayla aynı anket uygulandı ve tekrarlanan anketlerden elde edilen toplam puanlar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p = 0,065$). Ayrıca sınıf içi korelasyon katsayısı 0,70 olarak hesaplandı ve test-tekrar test güvenirliliği sağlandı ($p < 0,001$).

Rasch Analizi

Maddelerin zorluk düzeylerini ve her bir maddeye doğru cevap verme olasılıklarını hesaplayabilmek için Rasch analizi kullanıldı. Rasch analizi herhangi bir kişinin herhangi bir maddedeki bir seçeneği seçme olasılığını kişi yetenek düzeyi ve madde zorluk düzeyi ile ilişkilendirir. Verilerin Rasch modeline uygun olmaları için uyum içi (infit) ve uyum dışı (outfit) değerlerinin 0,6 ile 1,4 aralığında olması gerekir.¹⁰ Çalışmamızda bu kısıta uymayan maddeler çıkarılarak Rasch analizi tekrarlanmıştır. Madde zorluk düzeyleri, maddelere doğru cevap verme olasılıkları, uyum içi ve uyum dışı değerleri Tablo 2’de verilmiştir. Rasch analizi sonucuna göre 1, 13, 14, 18 ve 24. maddelerin sırasıyla öğrenciler tarafından cevaplanması en zor maddeler olduğu; 9, 15, 19, 20 ve 23. maddelerin ise en kolay maddeler olduğu görüldü.

Dönem 4 ve Dönem 6 Öğrencilerinin Karşılaştırılması

Dönem 4 ve dönem 6 öğrencilerinin madde bazında doğru cevap oranları Tablo 3’te verilmiştir. Dönem 6 öğrencilerinin dönem 4 öğrencilerine göre daha yüksek oranda bilgi düzeyine sahip olduğu maddeler aşağıda sıralanmıştır:

- Gebe iken (tansiyon hastası ise) tansiyon ilacı kullanılamaz, ilaçlarını bırakması gerekir (p=0,046).
- Gebe iken (guatr ise) guatr için ilaç kullanılamaz, ilaçlarını bırakması gerekir (p=0,003).
- Gebe iken antibiyotik kullanılamaz (p=0,001).
- Folik asit desteğine gebe kalmadan önce başlanması önerilir (p=0,041).
- Gebelikte diş ile ilgili herhangi bir tedavi yapılamaz (p=0,037).

29 madde genelinde ortalama doğru cevap verme oranı dönem 4 öğrencileri için yüzde %74, dönem 6 öğrencileri %79’tur. Genel olarak tıp fakültesi öğrencilerinin, Dönem 4 kadın hastalıkları ve doğum stajı ile birlikte gebelere gebelik ile ilgili durumlarda bir tavsiye verebilecek düzeye gelmeleri beklenmektedir. Ancak gebelikte ilaç kullanılacak durumlar ile ilgili olan 5. ve 6. maddelerde dönem 4 öğrencilerinin doğru yanıt verme oranları anlamlı bir şekilde dönem 6 öğrencilerinin altındadır (sırasıyla p=0.003, p=0.001). Bu da dönem 6 öğrencilerinin daha çok hasta görmüş olmaları ve tecrübe edinmiş olmalarına bağlı olarak açıklanabilir. Çünkü dönem 6’da poliklinik ve yataklı servislerde aktif olarak görev almakta, daha çok hasta görebilmekte ve hastaların kullandıkları ilaçları bilmektedirler. Ayrıca beklendiği gibi; Dönem 6 öğrencilerinin 29 maddeye verdikleri toplam doğru cevap sayısı Tablo 4’te görüldüğü üzere dönem 4 öğrencilerinden anlamlı bir şekilde fazladır (p=0.005).

Tablo 1. Dönem 4 ve 6 öğrencilerine ait Demografik veriler

	Dönem 4 n (%)	Dönem 6 n (%)	p*
Cinsiyet			0,687
Erkek	51 (35,4)	38 (38,0)	
Kadın	93 (64,6)	62 (62,0)	
Gelir durumu			0,515
<2000	5 (3,5)	2 (2,0)	
2000-5000	45 (31,3)	39 (39,0)	
5000-10000	72 (50,0)	42 (42,0)	
>10000	22 (15,3)	17 (17,0)	
Medeni Hal			0,275
Bekar ve birlikteliği yok	94 (66,2)	57 (58,8)	
Bekar ve birlikteliği var	48 (33,8)	40 (41,2)	
Üniversite öncesinde yaşadığı şehir durumu			0,592
Köy	9 (6,3)	4 (4,0)	
İlçe	30 (20,8)	23 (23,0)	
İl	33 (22,9)	29 (29,0)	
Büyükşehir	72 (50,0)	44 (44,0)	

*Ki-kare testi

Tablo 2. Rasch analizi sonuçları

	Doğru cevap verme oranı	Zorluk	Standart hata	Uyum içi	Uyum dışı
Madde 24	0,197	1,7548	0,176	1,079	1,102
Madde 18	0,492	0,0539	0,144	1,069	1,141
Madde 13	0,566	-0,3225	0,146	1,087	1,13
Madde 1	0,602	-0,5152	0,147	1,069	1,108
Madde 14	0,619	-0,6026	0,148	1,052	1,047
Madde 16	0,684	-0,968	0,154	0,928	0,900
Madde 25	0,705	-1,0894	0,157	1,122	1,136
Madde 7	0,725	-1,2152	0,16	0,995	1,058
Madde 5	0,746	-1,3466	0,164	0,908	0,800
Madde 27	0,75	-1,3736	0,165	0,967	0,967
Madde 17	0,762	-1,4562	0,167	0,877	0,845
Madde 6	0,779	-1,5707	0,171	0,941	0,913
Madde 4	0,816	-1,8505	0,182	0,932	0,761
Madde 21	0,828	-1,9523	0,186	0,987	0,989
Madde 11	0,832	-1,9873	0,188	0,938	0,87
Madde 26	0,861	-2,2523	0,202	0,847	0,662
Madde 10	0,885	-2,5147	0,217	1,047	1,362
Madde 8	0,889	-2,5627	0,221	0,987	1,071
Madde 19	0,902	-2,7155	0,231	1,052	1,013
Madde 20	0,922	-3,0093	0,255	0,935	0,666
Madde 23	0,926	-3,0757	0,261	1,009	1,117
Madde 9	0,947	-3,4645	0,3	1,128	1,182
Madde 15	0,955	-3,658	0,323	0,986	0,749

Tablo 3. Dönem 4 ve Dönem 6 öğrencilerinin anket maddeleri bakımından karşılaştırılması

		Dönem 4 n (%)	Dönem 6 n (%)	p*
1	Gebe iken hiç kahve içilemez, zararlıdır.			0,507
	Doğru	84 (58,3)	63 (63)	
	Yanlış	60 (41,7)	37 (37)	
2	Gebe iken hiç sigara içilemez, zararlıdır.			NA
	Doğru	144 (100)	100 (100)	
3	Gebe iken hiç alkol içilemez, zararlıdır.			NA
	Doğru	142 (98,6)	99 (99)	
	Yanlış	2 (1,4)	1 (1)	
4	Gebe iken (tansiyon hastası ise) tansiyon ilacı kullanılamaz, ilaçlarını bırakması gerekir.			0,046
	Doğru	111 (77,1)	88 (88)	
	Yanlış	33 (22,9)	12 (12)	
5	Gebe iken (guatr ise) guatr için ilaç kullanılamaz, ilaçlarını bırakması gerekir.			0,003
	Doğru	97 (67,4)	85 (85)	
	Yanlış	47 (32,6)	15 (2)	
6	Gebe iken antibiyotik kullanılamaz.			0,001
	Doğru	101 (70,1)	89 (89)	
	Yanlış	43 (29,9)	11 (11)	
7	Folik asit desteğine gebe kalmadan önce başlanması önerilir.			0,041
	Doğru	97 (67,4)	80 (80)	
	Yanlış	47 (32,6)	20 (20)	
8	Gebelerde kansızlık (anemi) beklenen bir durumdur, demir desteği verilmelidir.			0,139
	Doğru	124 (86,1)	93 (93)	
	Yanlış	23 (13,9)	7 (7)	
9	Gebelikte aile hekimine kontrole gitmeye gerek yoktur.			0,289
	Doğru	134 (93,1)	97 (97)	
	Yanlış	10 (6,9)	3 (3)	
10	Gebelere D vitamini desteği verilmelidir.			0,42
	Doğru	125 (86,8)	91 (91)	
	Yanlış	19 (13,2)	9 (9)	
11	Gebelikte cinsel ilişki gebelik için zararlıdır.			0,348
	Doğru	123 (85,4)	80 (80)	
	Yanlış	21 (14,6)	20 (20)	
12	Gebelerin uzun süre aç susuz kalması (oruç) önerilmez.			0,42
	Doğru	125 (86,8)	91 (91)	
	Yanlış	19 (13,2)	9 (9)	
13	Gebelere bahar aylarında (grip mevsimi öncesi) grip aşısı yapılmalıdır.			1.0
	Doğru	81 (56,3)	57 (57)	
	Yanlış	63 (43,7)	43 (43)	
14	Gebelere tetanoz aşısı yapılır.			0,286
	Doğru	85 (59,0)	66 (66)	
	Yanlış	59 (41,0)	34 (34)	
15	Gebelikte yürüyüş, denizde yüzme gibi sporlar yapılabilir.			0,763
	Doğru	138 (95,8)	95 (95)	
	Yanlış	6 (4,2)	5 (5)	
16	Gebelikte diş ile ilgili herhangi bir tedavi yapılamaz.			0,037
	Doğru	91 (63,2)	76 (76)	
	Yanlış	53 (36,8)	24 (24)	
17	Gebelikte yapılan ikili-üçlü test gibi tarama testleri normal ise bebekte genetik sorun yoktur.			0,055
	Doğru	103 (71,5)	83 (83)	
	Yanlış	41 (28,5)	17 (17)	
18	Gebelikte yapılan ikili-üçlü test gibi tarama testlerinde risk saptanırsa bebekte genetik			0,363
	Doğru	67 (46,5)	53 (53)	
	Yanlış	77 (53,5)	47 (47)	

Tablo 3 (Devam)

19	Gebelikte bakılan ultrason ile bebekte olan tüm fiziksel sorunlar (anomaliler) görülür.			0,467
	Doğru	132 (91,7)	88 (88)	
	Yanlış	12 (8,3)	12 (12)	
20	Gebelikte şeker testi yapılmalıdır.			0,267
	Doğru	130 (90,3)	95 (95)	
	Yanlış	14 (9,7)	5 (5)	
21	Gebelikte şeker testi yapılması bebek açısından zararlıdır.			0,104
	Doğru	114 (79,2)	88 (88)	
	Yanlış	30 (20,8)	12 (12)	
22	Bebek açısından en sağlıklı doğum biçimi sezaryendir.			1
	Doğru	135 (93,8)	93 (93)	
	Yanlış	9 (6,3)	7 (7)	
23	Anne açısından en sağlıklı doğum biçimi sezaryendir.			0,576
	Doğru	135 (93,8)	91 (91)	
	Yanlış	9 (6,3)	9 (9)	
24	Doğumda Omuz takılması öngörülüp önlenemeyen bir durumdur.			0,21
	Doğru	24 (16,7)	24 (24)	
	Yanlış	120 (83,3)	76 (76)	
25	Anne ve bebeğin yaşamını tehlikeye sokan durumları öngörmek ya da tedavi ile ortadan kaldırmak her zaman için mümkündür.			0,672
	Doğru	100 (69,4)	72 (72)	
	Yanlış	44 (30,6)	28 (28)	
26	Doğum öncesi herhangi bir zamanda normal saptanan bir ultrasonografik inceleme doğumda normal bir bebeğin ve hamileliğin garantisidir.			0,59
	Doğru	122 (84,7)	88 (88)	
	Yanlış	22 (15,3)	12 (12)	
27	Ultrason ile bebeğin doğum kilosu birebir aynı tahmin edilir.			0,453
	Doğru	105 (72,9)	78 (78)	
	Yanlış	39 (27,1)	22 (22)	
28	Gebelerin haftada 2-3 kezden fazla balık yemesi önerilmez.			0,096
	Doğru	13 (9,0)	17 (17)	
	Yanlış	131 (91,0)	83 (83)	
29	Doğuma hazırlık sınıfına katılmak benim doğum deneyimimi olumlu yönde etkileyecektir.			0,749
	Doğru	113 (78,5)	81 (81)	
	Yanlış	31 (21,5)	19 (19)	

Tablo 4. Dönem 4 ve Dönem 6 öğrencilerinin toplam doğru cevap sayıları bakımından karşılaştırılması

	Dönem 4 Medyan (IQR)	Dönem 6 Medyan (IQR)	p*
Toplam doğru cevap sayısı	22 (19-25)	24 (21-25,75)	0,005

IQR: Interquartile range (25.-75. yüzdilik)

*Mann-Whitney U testi

Tartışma

Çalışmamızda tıp fakültesi dönem 4 ve 6 öğrencilerinin genel obstetrik bilgilerinin gözden geçirilmesi, eksik olan noktaların ortaya çıkarılması ve bu konuların kadın doğum stajlarında daha detaylıca ele alınması açısından bize ön fikir oluşturması amaçlanmıştır.

Uyguladığımız anketin 5. maddesi "Gebe iken (guatr ise) guatr için ilaç kullanılmaz, ilaçlarını bırakması gerekir" idi. Bu maddeyi dönem 4 öğrencilerinin %67,4'ü doğru yanıtlamış, dönem 6 öğrencilerinin ise %85'i doğru yanıtlamıştır. Dönem 6 öğrencilerinin doğru cevap oranı

diğer gruptan yüksektir. Tiroid bozuklukları, özellikle otoimmün kaynaklı olanlar, üreme çağındaki kadınlarda sık görülmektedir.¹¹ Belirgin hipotiroidili gebe kadınlarda levotiroksin tedavisinin kanıtlanmış yararlı etkisine rağmen, subklinik hipotiroidizm tanılı gebelerde levotiroksin tedavisinin maternal, fetal ve neonatal sonuçlar üzerindeki etkilerini netleştirmek için yeterli kanıt olmamakla birlikte son yıllarda yapılan metaanalize göre Levotiroksin ile tedavi edilen subklinik hipotiroidizm tanılı hamile kadınların, plasebo grubuna göre gebelik kaybı daha az ve canlı doğum oranı şansı daha yüksek olduğu gösterilmiştir.¹² Subklinik hipotiroidizm gebelikte en sık görülen tiroid fonksiyon bozukluğudur ve prevalansı

Tiroid stimulan hormon (TSH) için farklı eşik değerleri, çeşitli etnik kökenler, iyot tüketimi ve beslenme yaşam tarzı ve çalışma tasarımlarına bağlı olarak %4 ila 13 arasında değişmektedir.¹²

Anketin 6. maddesi “Gebe iken antibiyotik kullanılmaz” idi. Bu maddeyi dönem 4 öğrencilerinin %70,1’i, dönem 6 öğrencilerinin %89’u doğru cevaplamıştır ve dönem 6 öğrencilerinin doğru cevap verme oranı anlamlı olarak yüksektir. Gebelikte ilaç kullanımı genel olarak teratojenite korkusundan ötürü diğer branş doktorlar tarafından dahi pek istenmeyen bir durumdur. Ancak tabii ki bu her ilaç için geçerli değildir. Anne sağlığı ön planda düşünülmesi gerektiğinden uygun koşullarda uygun antibiyoterapi kullanılabilir. Beta-laktamlar, vankomisin, nitrofurantoin, metronidazol, klindamisin ve fosfomisin gibi antibiyotikler genellikle gebelikte güvenli ve etkili kabul edilir.¹³ Ayrıca gebelikte antibiyotik kullanımı azımsanmayacak rakamlara ulaşmaktadır. Literatüre göre, antibiyotiklerin hamilelik sırasında tüm reçeteli ilaçların yaklaşık %80’ini oluşturmakta ve kadınların yaklaşık %20-25’inin hamilelik sırasında antibiyotik aldığını göstermektedir.¹⁴⁻¹⁶

Anketin 7. maddesi “Folik asit desteğine gebe kalmadan önce başlanması önerilir” idi. Bu maddeyi dönem 4 öğrencilerinin %67,4’ü, dönem 6 öğrencilerinin ise %80’i doğru cevaplamıştır. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Dönem 4 öğrencilerinin bu konuda daha detaylıca bilgilendirilmesi gerektiği anlaşılmaktadır. Nöral tüp defektlerinin (NTD’ler) prevalansı, doğum kusurları riskini azaltmada etkili olan perikonsepsiyonel folik asit takviyesi ile son yirmi yılda azalma göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü gebelik öncesi folik asit takviyesini hamile kalmayı planladıkları andan gebeliğin 12. haftasına kadar günlük 400 µg olarak almalarını önermektedir.¹⁷ Türkiye’deki gebelerin prekonsepsiyonel folik asit kullanılması hakkındaki bilgi seviyesini ölçmek için yapılan Köken ve ark.’nın çalışmasının sonuçları gayet önemli ve sonuçları açısından dikkate alınmalıdır. 817 kadın arasında yapılan çalışmada gebe katılımcılar arasında, gebeliklerin %88,2’si planlı olmasına rağmen sadece %14,2’si prekonsepsiyonel dönemden başlayarak folik asit kullanmış; daha da önemlisi sağlık çalışanlarının yalnızca %28,3’ünün gebelik öncesinde folik asit kullandıkları saptanmıştır.¹⁸

Anketin 13. maddesi “Gebelere bahar aylarında (grip mevsimi öncesi) grip aşısı yapılmalıdır” idi. Bu maddeyi dönem 4 öğrencilerinin %56,3’ü doğru yanıtlamıştır. Aynı maddeye dönem 6 öğrencilerinin %57’si doğru yanıtlamıştır. İki öğrenci grubu arasında anlamlı bir fark olmamakla birlikte influenzaya karşı gebelerin aşılmasının önemi konusunda tıp öğrencilerine daha kapsamlı bilgi verilmesi gerektiği anlaşılmaktadır. İnfluenza özellikle gebeler gibi risk gruplarında yaratabileceği ölümcül komplikasyonların yanı sıra sosyal ve ekonomik açılardan da kayıplara neden olabilir. Tarafımızca daha önce yapılan bir çalışmada gebelerin yalnızca %2,2’si grip aşısı olmuş, grip aşısı olmayanlara neden aşı olmadıkları sorulduğunda ise %62,8’inin aşı olması gerektiğini bilmedi ortaya çıkmıştır.¹⁹ Yani gebelerin büyük kısmı aslında grip aşısı yaptırmaları

gerektiği konusunda hekimler tarafından bilgilendirilmemiştir. Tıp öğrencilerinin de bu konuda eksiği olduğu anlaşılmakta olup, bu konuda daha kapsamlı bilgilendirme yapılması gerekliliği anlaşılmaktadır.

Anketin 14. maddesi “Gebelere tetanoz aşısı yapılır” idi. Bu maddeyi dönem 4 öğrencilerinin %59’u, dönem 6 öğrencilerinin %66’sı doğru yanıtlamıştır. İki öğrenci grubu arasında anlamlı bir fark olmamakla birlikte yenidoğan tetanozuna karşı gebelerin aşılmasının önemi konusunda tıp öğrencilerine daha kapsamlı bilgi verilmesi gerektiği anlaşılmaktadır. Tetanoz, Clostridium tetani sporlarının cilt bütünlüğünü ve mukoz membranları bozarak yaralara bulaşması sonucu oluşur. Neonatal tetanoz, yenidoğanların kötü hijyen koşullarında doğum yapması nedeniyle ortaya çıkan bir hastalıktır. Neonatal tetanoz, anne bağışıklamasının yetersiz olduğu, özellikle doğumun steril koşullar altında yapılmadığı gelişmekte olan ülkelerde yaygındır. Tedavi edilmeyen vakaların %100’e kadarı ölümlerle sonuçlanmakta olduğundan gebelerin aşılmasının ne derece önem arz ettiği yadsınmaz. Türkiye’de Dağdeviren ve ark.’nın yaptığı çalışmaya göre gebelerin %51,1’i tetanoz aşısı olmamıştır.²⁰ Bu konuda da yeterli bilgilendirme eksikliği olduğu aşıkardır.

Anketin 16. maddesi “Gebelikte diş ile ilgili herhangi bir tedavi yapılamaz” idi. Bu maddeyi dönem 4 öğrencilerinin %63,2’si, dönem 6 öğrencilerinin %76’sı doğru cevaplamıştır. İki öğrenci grubu arasında anlamlı bir fark saptanmıştır. Gebe iken ağız sağlığının kötü olduğu durumlarda; erken doğum, düşük doğum ağırlıklı bebek, preeklampsi, diş eti dokusu ülserasyonları, gebelik granülomu, diş eti iltihabı, epulis gravidarum ve diş aşınmaları görülebilir.²¹ Gebelikte değişen hormon seviyeleri diş eti problemlerini doğrudan, dolaylı olarak da diş çürümelerini etkilemektedir. Birinci ve üçüncü trimesterde ağrının olduğu veya müdahale edilmemesinin daha fazla zarar vereceği durumlarda diş açısından acilen tedavi edilmesi gerekmektedir. Bu durumlarda diş çekimi ve kanal tedavisi yapılabilir. Diş çekimi, dolgu, kanal tedavisi gibi gebeliğin sonuna ertelenmesi tehlikeli olabilecek pek çok tedavi için ikinci trimester en uygun dönemdir.²²

Anketin 17. maddesi “Gebelikte yapılan ikili-üçlü test gibi tarama testleri normal ise bebekte genetik sorun yoktur” idi. Bu maddeyi dönem 4 öğrencilerinin %71,5’i doğru, dönem 6 öğrencileri ise ortalamanın üstünde yani %83’ü doğru cevaplamıştır. Ancak iki öğrenci grubu arasında istatistiki bir fark oluşmamıştır.

Anketin 18. maddesi “Gebelikte yapılan ikili-üçlü test gibi tarama testlerinde risk saptanırsa bebekte genetik sorun vardır” idi. Bu maddeyi dönem 4 öğrencilerinin %46,5’i, dönem 6 öğrencilerinin %53’ü doğru cevaplamıştır. İki öğrenci grubu arasında anlamlı bir fark yoktur. Ancak 17. ve 18. maddelere verilen yanlış yanıt yüksekliği tarama ve tanı testleri arasındaki farkın yeteri kadar kavranmadığını bize göstermektedir.

Anketin 24. maddesi “Doğumda omuz takılmasının öngörülüp önlenemeyen bir durum” olup olmadığının sorgulandığı madde idi. Bu maddeyi dönem 4 öğrencilerinin sadece %16,7’si, dönem 6 öğrencilerinin ise

sadece %24'ü doğru cevaplamıştır. İki öğrenci grubu arasında anlamlı bir fark olmamakla birlikte bu temel bilginin öğrenciler arasında net bilinmediği anlaşılmaktadır. Omuz distosisi öngörülemeden ve önlenemeyen bir obstetrik acil durumdur.²³ Amerikan Obstetrisyenler ve Jinekologlar Cemiyeti (American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG)), "omuz distosisini", omuzların doğumunu sağlamak için fetal baş üzerinde hafifçe aşağı doğru traksiyonun başarısız olmasını takiben ek obstetrik manevralar gerektiren bir doğum olarak tanımlamaktadır.²⁴

Anketin 27. maddesi "Ultrason ile bebeğin doğum kilosu birebir aynı tahmin edilir" idi. Bu maddeyi dönem 4 öğrencilerinin %72,9'u, dönem 6 öğrencilerinin %78'i yanıtlamıştır. İki öğrenci grubu arasında anlamlı bir fark yoktur. Doğum ağırlığı, perinatal morbidite ve mortalitenin önemli bir belirleyicisidir, ancak doğum sonrasında kadar ölçülemeyip yalnızca ultrason ile tahmini bir ölçüm yapılabilmektedir. Biparietal çap (BPD), baş çevresi (HC), karın çevresi (AC) ve femur uzunluğunun (FL) sonografik olarak elde edilen fetal ölçümlerinin bir kombinasyonunun kullanılmasıyla, doğum ağırlığını tahmin etmek için kullanılmaktadır. Fetal ağırlığın tahmini için çeşitli formüller geliştirilmiştir, ancak hiçbirinin doğum ağırlığının kabul edilebilir doğru tahminlerini sağladığı bulunmamıştır ve hiçbir formülün diğerlerinden üstün olduğu ortaya çıkmamıştır.²⁵

Anketin 28. maddesi "Gebelerin haftada 2-3 kezden fazla balık yemesi önerilmez" idi. Bu maddeyi dönem 4 öğrencilerinin sadece %9'u, dönem 6 öğrencilerinin sadece %17'si doğru yanıtlamıştır. İki öğrenci grubu arasında anlamlı bir fark yoktur. Ağır metal birikimi nedeniyle yapılan bu öneriyi öğrencilerin bilmediği anlaşılmaktadır. Bu tavsiye özellikle gebelerin cıva maruziyetini azaltmak ve fetüsün nörogelişimi üzerindeki olumsuz etkilerden kaçınmak amacıyla verilmektedir. Balık tüketimi, annenin mesleki olmayan metil cıva maruziyetinin birincil kaynağıdır. Balıklar, metil cıva gibi çevresel kirleticiler tarafından kontamine olabilir. Metil cıva maruz kalma, öncelikle kontamine balıkların yenmesi yoluyla, ciddi fetal merkezi sinir sistemi hasarının yanı sıra daha hafif zihinsel, motor ve psikososyal bozulmaya neden olabilir. Bu nedenle, FDA ve Çevre Koruma Ajansı (EPA), hamilelerin (veya hamile kalma olasılığı olan veya emziren kişilerin) haftada iki ila üç porsiyon cıva veya diğer kirletici maddeler açısından çok düşük olan deniz ürünleri veya cıva veya diğer kirletici maddeler açısından düşük olan bir porsiyon deniz ürünü yemesini önermektedir.^{26,27} Yine de bu tavsiye, tartışmalı bir konu olduğundan öğrencilerin kararsız kalmış olması beklenmeyen bir durum değildir.

Gebelik ile ilgili bilgileri yoklamaya yönelik herhangi bir anket ya da ölçek mevcut literatür tarandığında saptanmamıştır. Bizim çalışmamız bu konuda bir ilk olma özelliğindedir. Literatürde daha çok tıp dışı bölümler için uygulanmış doğum korkusunu ölçmeye yönelik anketlerle yapılmış çalışmalar mevcuttur. Bunlardan bir tanesi bir tez çalışmasına konu olmuştur. Stoll'ün 2012 yılında yazdığı doğum korkusu üzerine olan doktora tezinde hamilelik ve doğum sırasındaki fiziksel değişikliklerle ilgili endişelerin,

erkek ve kız öğrenciler arasında sezaryen tercihiyle güçlü bir şekilde ilişkili olduğu ifade edilmiş, medya aracılığıyla hamilelik ve doğum hakkında bilgi sahibi olmak, diğer bilgi kaynaklarına kıyasla daha yüksek korku puanları ile ilişkilendirilmiştir. Tezde sonuç olarak doğum korkusunu azaltan iki faktör bulunmuş: öğrencilerin hamilelik ve doğum bilgisinin artması ve bir doğuma ilk elden şahitlik etmeleri.²⁸ Stoll'ün çalışmasının da işaret ettiği gibi gebelik bilgisinin artması, doğum korkusunun da azalmasına etkide bulunacaktır.

Çalışmamızın kısıtlılıkları olarak; örneklem sayısının azlığı, tek merkezli olması, geçerlilik çalışması yapılmamış bir anket olması sayılabilir. Bunun yanında bu konuyu esas alan ilk çalışma olması, diğer benzer çalışmalara örnek olabilecek olması, hekim adaylarının gebelik ile ilgili hangisi konularda bilgi eksikliklerinin olduğunu ortaya koyması açısından önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Etik Standartlara Uygunluk

Araştırmanın yürütülebilmesi için Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan (05.08.2020 tarihli 2020/22-5 sayılı) etik kurul izni alınmıştır.

Yazarların Katkıları

Yazarlar çalışmaya eşit katkı sağlamıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynaklar

1. Duncan LG, Bardacke N. Mindfulness-based childbirth and parenting education: promoting family mindfulness during the perinatal period. *J Child Fam Stud.* 2010;19(2):190-202. doi:10.1007/s10826-009-9313-7
2. Thomson G, Stoll K, Downe S, Hall WA. Negative impressions of childbirth in a North-West England student population. *Journal of Psychosomatic Obstetrics & Gynecology.* 2017;38(1):37-44. doi:10.1080/0167482X.2016.1216960
3. Çankaya S, Şimşek B. Effects of antenatal education on fear of birth, depression, anxiety, childbirth self-efficacy, and mode of delivery in primiparous pregnant women: A prospective randomized controlled study. *Clin Nurs Res.* 2021;30(6):818-829. doi:10.1177/1054773820916984
4. Hildingsson I, Rubertsson C, Karlström A, Haines H. A known midwife can make a difference for women with fear of childbirth-birth outcome and women's experiences of intrapartum care. *Sex Reprod Healthc.* 2019;21:33-38. doi:10.1016/j.srhc.2019.06.004
5. den Boer I, Hendrix YM, Knoop H, van Pampus MG. Identifying women with fear of childbirth with the Dutch Fear of Birth Scale and its added value for consultations. *J Psychosom Obstet Gynaecol.* 2022;3(4):419-425. doi:10.1080/0167482X.2021.2013797
6. Amenu G, Mulaw Z, Seyoum T, Bayu H. Knowledge about danger signs of obstetric complications and associated factors among postnatal mothers of Mechekel District Health Centers, East Gojjam Zone, Northwest Ethiopia,

2014. *Scientifica*. 2016;2016:3495416. doi:10.1155/2016/3495416
7. Ahmad D, Mohanty I, Hazra A, Niyonsenga T. The knowledge of danger signs of obstetric complications among women in rural India: evaluating an integrated microfinance and health literacy program. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2021;21(1):79. doi:10.1186/s12884-021-03563-5
 8. Mohammed AR. Assessment of nurses' knowledge about management of pregnancy with danger Signs. *Mosul Journal of Nursing*. 2022;10(2):319-26. doi:10.33899/MJN.2022.175764
 9. Subaşı HE, Öner C, Cetin H, Temiz HE, Şimşek EE. Gebelikteki riskli durumlara ilişkin farkındalık ve bilgi düzeyi üzerine bir çalışma: Gebe okulları etkin bir yol olabilir mi? *Turkish Journal of Family Medicine and Primary Care*. 2021;15(3):434-442. doi:10.21763/tjfm.825374
 10. Wright BD, Linacre JM. Reasonable mean-square fit values. *Rasch Measurement Transactions*. 1994;8(3):370.
 11. Chen L, Hu R. Thyroid autoimmunity and miscarriage: a meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;74(4):513-519. doi:10.1111/j.1365-2265.2010.03974.x
 12. Nazarpour S, Ramezani Tehrani F, Amiri M, Bidhendi Yarandi R, Azizi F. Levothyroxine treatment and pregnancy outcomes in women with subclinical hypothyroidism: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2019;300(4):805-819. doi:10.1007/s00404-019-05245-2
 13. Bookstaver PB, Bland CM, Griffin B, Stover KR, Eiland LS, McLaughlin M. A review of antibiotic use in pregnancy. *Pharmacotherapy*. 2015;35(11):1052-1062. doi:10.1002/phar.1649
 14. Heikkilä AM. Antibiotics in pregnancy—a prospective cohort study on the policy of antibiotic prescription. *Ann Med*. 1993;5:467-471. doi:10.3109/07853899309147314
 15. Santos F, Oraichi D, Berard A. Prevalence and predictors of anti-infective use during pregnancy. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2010;4:418-427. doi:10.1002/pds.1915
 16. de Jonge L, Bos HJ, van Langen IM, de Jong-van den Berg LT, Bakker MK. Antibiotics prescribed before, during and after pregnancy in the Netherlands: a drug utilization study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2014;1:60-68. doi:10.1002/pds.3492
 17. World Health Organisation. Periconceptional Folic Acid Supplementation to Prevent Neural Tube Defects; e-Library of Evidence for Nutrition Actions (eLENA): Geneva, Switzerland. https://www.who.int/elena/titles/folate_periconceptional/en/.
 18. Köken GN, Derbent AU, Erol O, Saygın N, Ayık H, Karaca M. Awareness and use of folic acid among reproductive age and pregnant women. *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2013;14(2):87-91. doi:10.5152/jtgga.2013.81594
 19. Sel G, Balcı S, Aynalı B, ve ark. Gebelerin grip aşısı yaptırmama nedenleri üzerine kesitsel çalışma. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*. 2020; 29(4):281-286. doi:10.17942/sted.746876
 20. Dağdeviren G, Örgül G, Yücel A, Şahin D. Tetanus vaccine during pregnancy: data of a tertiary hospital in Turkey. *Turk J Med Sci*. 2020;50(8):1903-1908. doi:10.3906/sag-2001-77
 21. Yousefi M, Parvaie P, Riahi SM. Salivary factors related to caries in pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of the American Dental Association*. 2020;151(8):576-88. doi:10.1016/j.aime.2020.04.021
 22. Yenen Z, Ataçağ T. Oral care in pregnancy. *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2019; 20(4):264-268. doi:10.4274/jtgga.galenos.2018.2018.0139
 23. Ouzounian JG. Shoulder dystocia: incidence and risk factors. *Clin Obstet Gynecol*. 2016;59(4):791-794. doi:10.1097/GRF.0000000000000227
 24. American College of Obstetricians and Gynecologists : Shoulder dystocia. ACOG practice bulletin clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. Number 40, November 2002. *Obstet Gynecol* 2002; 100: pp. 1045-1050.
 25. Cohen JM, Hutcheon JA, Kramer MS, Joseph KS, Abenhaim H, Platt RW. Influence of ultrasound-to-delivery interval and maternal–fetal characteristics on validity of estimated fetal weight. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010;35(4):434-441. doi:10.1002/uog.7506
 26. US Food and Drug Administration. Eating Fish: What Pregnant Women and Parents Should Know <http://www.fda.gov/Food/FoodbornellnessContaminants/Metals/ucm393070.htm>.
 27. Greenberg JA, Bell SJ, Van Ausdal W. Omega-3 fatty acid supplementation during pregnancy. *Rev Obstet Gynecol*. 2008;1(4):162-169
 28. Stoll K. Fear of childbirth among young Canadians [tez çalışması]. The Vancouver: University of British Columbia; 2012.

Araştırma Makalesi | Research Article

NÖROMYELITİS OPTİKA SPEKTRUM HASTALIĞI VE MULTIPL SKLEROZ HASTALARINDA İLK DEMİYELİNİZAN ATAKTA İNFLAMASYON BELİRTEÇLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

COMPARISON OF INFLAMMATION MARKERS AT THE FIRST DEMYELINATING ATTACK IN NEUROMYELITIS OPTICA SPECTRUM DISEASE AND MULTIPLE SCLEROSIS PATIENTS

 Sena Destan Bünül^{1*},  Beyza Canik¹,  Hüsnü Efendi¹

¹Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye.



Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı, nöromyelitis spektrum hastalıkları (NMOSH) ve multipl skleroz (MS) hastalarında ilk akut atak döneminde periferik kan inflamasyon belirteçlerini değerlendirmek ve bu belirteçlerin hastalıklar arasındaki farklılıklarını ortaya koymaktır.

Yöntem: Çalışmaya Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Ana Bilim Dalı MS polikliniği tarafından izlenen hastalara ait veriler retrospektif olarak dahil edildi. NMOSH ve MS tanıları 2015 ve 2017 kriterlerine göre konuldu. İlk akut atak döneminde, nötrofil-lenfosit oranı (NLR), trombosit-lenfosit oranı (PLR), monosit-lenfosit oranı (MLR), sistemik immün inflamasyon indeksi (SII), sistemik inflamatuvar yanıt indeksi (SIRI), sistemik inflamasyon agregat indeksi (AISI) gibi inflamatuvar parametreler, periferik kan örneklerinden hesaplandı. Hastaların demografik özellikleri ve "Genişletilmiş Engellilik Durumu Ölçeği-Expanded Disability Status Scale (EDSS)" skorları hastane veri tabanından alındı.

Bulgular: Toplam 44 hasta çalışmaya dahil edildi. NMO tanılı hastaların NLR, PLR, SII ve SIRI değerleri, MS hastalarına göre anlamlı derecede yüksekti.

Sonuç: NMO tanılı hastalarda saptanan NLR, PLR, SII ve SIRI değerlerindeki göreceli yükseklik, NMOSH ve MS immün patogeneziindeki farklılıkları yansıtabilir. NLR, PLR, SII ve SIRI gibi inflamatuvar belirteçlerin NMOSH ve MS ayırıcı tanısında kullanılabileceği ve hastalığın başlangıç dönemindeki inflamatuvar aktiviteyi değerlendirmede önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, daha büyük ve çok merkezli çalışmalarla doğrulanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Multipl skleroz, nöromyelitis optika spektrum hastalıkları, inflamatuvar belirteç, inflamasyon

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to evaluate peripheral blood inflammation markers in patients with neuromyelitis spectrum diseases (NMOSH) and multiple sclerosis (MS) during the first acute attack period and to reveal the differences in these markers between diseases.

Methods: Data of patients followed up by the MS outpatient clinic of the Department of Neurology, Faculty of Medicine, Kocaeli University Medical Faculty were retrospectively included in the study. NMOSH and MS diagnoses were made according to 2015 and 2017 criteria. Inflammatory parameters such as neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR), monocyte-to-lymphocyte ratio (MLR), systemic immune inflammation index (SII), systemic inflammatory response index (SIRI), systemic inflammation aggregate index (AISI) were calculated from peripheral blood samples during the first acute attack. Demographic characteristics and Expanded Disability Status Scale (EDSS) scores were obtained from the hospital database.

Results: A total of 44 patients were included in the study. NLR, PLR, SII and SIRI values of patients with NMO were significantly higher than those of MS patients.

Conclusion: The relatively higher NLR, PLR, SII and SIRI values in patients with NMO may reflect differences in the immune pathogenesis of NMO and MS. Inflammatory markers such as NLR, PLR, SII and SIRI may be used in the differential diagnosis of NMOSH and MS and may play an important role in assessing inflammatory activity at the onset of the disease. These findings should be confirmed by larger and multicenter studies.

Keywords: Multiple sclerosis, neuromyelitis optica spectrum diseases, inflammatory marker, inflammation

*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Sena Destan Bünül; Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Umuttepe, 41001, Kocaeli, Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (262) 303 75 75 e-posta/e-mail: destansena@gmail.com

Başvuru/Submitted: 03.10.2023

Kabul/Accepted: 18.10.2023

Online Yayın/Published Online: 21.10.2023



Giriş

Nöromiyelitis optika spektrum hastalıkları (NMOSH) ve multipl skleroz (MS) her ikisi de inflamasyon ve demiyelinizasyon ile seyreden demiyelinizan hastalıklar grubu içinde yer alan iki hastalıktır. Her iki hastalık da temel olarak santral sinir sisteminde özüllülüğe yol açacak şekilde inflamatuvar ataklar, miyelin ve akson kaybı semptomları ile seyreder.^{1,2} NMOSH ve MS patofizyolojik olarak birbirlerinden farklı iki antite olmasına karşın özellikle başlangıç aşamasında birbirine benzer klinik, paraklinik ve radyolojik bulgular oluşturabilirler. Sonuçta bu iki hastalığın kesin ayırımı tedavi yaklaşımının farklı olmasından, uygun olmayan tedavilerin özüllülüğe yol açabileceğinden ve prognostik açıdan önemlidir.^{3,4}

Hem perifer hem de santral sinir sisteminde immün hücrelerin aktivasyonu ve yüksek oranda proinflamatuvar sitokin salınımı NMOSH ve MS patogenezinde önemli bir rol oynar.^{3,4} MS ve NMOSH'de hastalık aktivitesi ve inflamasyon kanıtı olarak klinik aktivite, özüllülük artışı, manyetik rezonans görüntüleme (MRG)'de radyolojik aktivite veya beyin omurilik sıvısı (BOS) bulguları belirteç olarak kullanılabilir.⁵ Bunun yanında son yıllarda birçok hastalıkta periferik kan bulgularının inflamasyon belirteci olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. Periferik kanda farklı beyaz hücre grupları sistemik enfeksiyonun belirteci olarak kullanılmasına karşın, nötrofil-lenfosit oranı (NLR), monosit-lenfosit oranı (MLR), trombosit-lenfosit oranı (PLR) gibi oranların kullanılmasının inflamasyon açısından duyarlılığı arttırdığı belirtilmektedir. Güncel çalışmalarda sistemik immün inflamasyon indeksi (SII), sistemik inflamatuvar yanıt indeksi (SIRI), daha duyarlı belirteçler olarak tanımlanmıştır.⁶

Bu çalışmanın amacı MS ve NMOSH hastalarında akut atak döneminde tam kan sayımından elde edilen NLR, MLR, PLR, SII, AISI ve SIRI gibi inflamatuvar parametreleri değerlendirerek anlamlı farklılıkları saptamak ve ucuz, uygulaması kolay ve yaygın kullanılabilecek bir belirteç olabileceğini değerlendirmektir.

Yöntem

Çalışmaya Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Ana Bilim Dalı MS polikliniği tarafından izlenen hastalara ait hastane elektronik yazılımından elde edilen veriler retrospektif olarak dahil edildi. Çalışma Kocaeli Üniversitesi Etik kurulundan onay alınarak yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastaların NMOSH tanısı için 2015 tanı kriterlerini karşılamış olması, MS tanısı için 2017 McDonald revize kriterlerini karşılamış olması istendi.^{7,8} İki deneyimli nörolog tarafından bağımsız olarak değerlendirilen bir hastada, ateş veya enfeksiyon olmadan en az 24 saat boyunca devam eden yeni nörolojik bulguların saptanması, bir atak olarak kabul edildi.⁷ Çalışmaya alınan 18-55 yaş, EDSS skoru 0-5,5 arasında olan hastalardan, atak tedavisi olarak pulse steroid, oral steroid, intravenöz immunglobulin (IVIG) veya plazmaferez tedavisi başlanmadan önce periferik kan örnekleri alındı.

Sistemik hastalığı olan, enfeksiyon öyküsü veya bulgusu olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

İlk akut ataktan sonra Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Ana Bilim Dalına başvuran NMOSH veya MS hastalarının klinik ve demografik bilgileri hastane veri tabanından retrospektif olarak değerlendirildi. NMOSH tanısı için uluslararası 2015 revize tanı kriterleri, MS tanısı için Mc Donald 2017 kriterleri kullanıldı.^{7,8} Tüm hastalarda bu çalışmada değerlendirilen tam kan sayımları pulse metilprednizolon, oral steroid, plazmaferez veya IVIG gibi akut atak tedavilerinden önce, başvurudan en geç 24 saat sonra alınmıştır. Tam kan sayımında lenfosit alt grupları ve trombosit sayısı değerlendirilmiştir. NLR değeri nötrofil sayısı lenfosit sayısına bölünerek, PLR değeri trombosit ve lenfosit sayısının oranından hesaplanmıştır. MLR değeri monosit ve lenfosit oranından hesaplanmıştır. NLR, PLR ve MLR değerleri tam kan sayımından elde edilen değerlerden hesaplandı. AISI; [(nötrofil x platelet x monosit/lenfosit)] formülü, SII değeri ise trombosit x nötrofil/ lenfosit formülü ile hesaplandı. Hastaların demografik özellikleri, klinik özellikleri ve EDSS skorları hastane elektronik hasta kayıt programından alınmıştır. İnflamatuvar belirteçler değişik tıbbi durumlardan etkilenebileceği için 18 yaş altı ve 65 yaş üstü hastalar, aktif enfeksiyon bulgusu olan hastalar, herhangi bir otoimmün hastalık öyküsü olan hastalar (romatoid artrit, sjögren sendromu, sistemik lupus eritematozis [SLE], inflamatuvar bağırsak hastalığı olan hastalar), malignite tanısı olan, hematolojik hastalığı olan, son 6 ayda kan transfüzyonu olan hastalar, antitrombositler ilaç alan hastalar (salisilik asit veya klopidogrel), gebelik, diabetes mellitus tanılı hastalar, kronik karaciğer veya böbrek hastalığı olan hastalar, sistemik hastalık öyküsü olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

İstatistiksel Yöntemler

İstatistiksel değerlendirme IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren değişkenler ortalama \pm standart sapma, normal dağılım göstermeyen değişkenler medyan (25.-75. yüzdeler) olarak verildi. Kategorik değişkenler frekans (yüzde) olarak verildi. Gruplar arasındaki farklılık bağımsız örneklem t testi ve Mann-Whitney U testi ile belirlendi. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare analizi ile belirlendi. Hipotez testlerinde $p < 0,05$ istatistiksel önemlilik için yeterli kabul edildi.

Bulgular

Toplam 44 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların demografik, klinik özellikleri Tablo 1'de ayrıntılı olarak verilmiştir. Çalışmaya alınan hastaların 19'u (%43,2) AQP4-IgG seropozitif NMOSH, 25 hastada (%56,8) MS tanısı mevcuttu. NMOSH tanılı hastaların 16'sı kadın (%84,2), MS tanılı hastaların ise 17'si kadındı (%68,0). NMOSH tanılı hastaların yaş ortalaması $43,95 \pm 13,31$ iken MS tanılı hastaların yaş ortalaması $37,16 \pm 8,84$ saptandı. NMOSH tanılı hastaların ortanca EDSS değeri 3,5 (1,00-5,00), MS

tanılı hastaların ortanca EDSS değeri 2,5 (1,00-2,50) bulundu.

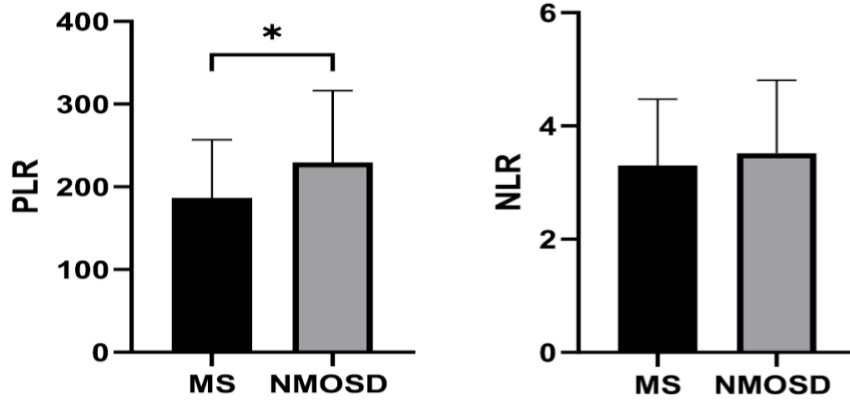
Hastalığın başlangıcındaki ilk atakta ölçülen NLR, NMOSH hastalarında MS hastalarına göre daha yüksek saptandı [1,98 (1,73-3,66) vs. 1,23 (0,84-1,79), p=0,01]. PLR benzer şekilde, NMOSH hastalarında MS hastalarına göre daha yüksek saptandı (138,26 (89,42-199,37) vs. 46,26 (38,49-79,39), p<0,001] (Şekil 1).

Sistemik immün-inflamasyon indeksi, NMOSH hastalarında, MS hastaları ile kıyaslandığında daha yüksek saptandı [638,00 (331,74-1144,68) vs. 338,61 (242,47-562,95), p<0,05]. SIRI, NMOSH hastalarında MS hastalarına göre daha yüksek saptandı [1,045 (0,78-2,20) vs. 0,66 (0,52-1,07), p<0,05].

Tablo 1. NMOSH ve MS hastalarının demografik ve klinik bulguları

	NMOSH (N=19)	MS (N=25)	p değeri
Yaş (Ortalama ± SS)	43,95 ± 13,31	37,16 ± 8,84	
Cinsiyet, N (%)			
Kadın	16 (84,2)	17 (68)	
Erkek	3 (15,8)	8 (32)	
EDSS (Medyan [Q1-Q3])	3,5 (1,00-5,00)	2,5 (1,00-2,50)	0,058
Nötrofil (Medyan [Q1-Q3])	4,2 (3,28-6,19)	7,08 (5,28-9,36)	0,012
Platelet (Medyan [Q1-Q3])	288 (203-412)	271 (251-390)	0,427
Lenfosit (Medyan [Q1-Q3])	1,91 (1,55-2,75)	6,23 (4,69-7,20)	
Monosit (Ortalama ± SS)	0,61 ± 0,24	0,59 ± 0,13	
NLR (Medyan [Q1-Q3])	1,98 (1,73-3,66)	1,23 (0,84-1,79)	0,001
PLR (Medyan [Q1-Q3])	138,26 (89,43-199,38)	46,26 (38,49-79,39)	<0,001
SII (Medyan [Q1-Q3])	638,00 (331,74-1144,68)	338,61 (242,47-562,95)	0,018
AISI (Medyan [Q1-Q3])	293,48 (190,12-1086,30)	200,85 (157,82-350,68)	0,082
SIRI (Medyan [Q1-Q3])	1,045 (0,78-2,20)	0,66 (0,52-1,07)	0,016

SS: Standart sapma, Q1-Q3: 25.-75. yüzdeler



Şekil 1. NMOSH ve MS tanıli hastaların NLR ve PLR değerleri

Tartışma

MS immunopatogenezi genel olarak kabul edilen görüşe göre otoreaktif CD4+ T hücrelerin periferde aktive olduktan sonra kan beyin bariyerini geçerek santral sinir sistemine geçmesi ile başlar. Deneysel MS modelleri, patolojik çalışmalar ve ilaç çalışmaları santral sinir sistemine geçen aktive lenfositlerin antijen sunan hücreler, T ve B hücreler, makrofajları aktive ederek myelin hasarını başlattığını göstermektedir. T ve B hücreler, mikroglia, makrofaj, antikorlar, çoğunlukla nötrofiller aracılığı ile proinflamatuvar sitokinler (nitrik oksit, matriks

metalloproteinler, tümör nekroz faktör, IL-1 β bu hasarda rol oynar.¹

Son yıllarda MS ve MS deneysel hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda hastalık patogenezinde nötrofillerin rolünü vurgulayan sonuçlar gösterilmiştir. Deneysel modellerde hastalığın başlangıç aşamasından ve ataktan önce önemli oranda nötrofilin santral sinir sistemine geçen hücreler arasında yer aldığı saptanmıştır. Bu durum hastalığın ilerleyen döneminde gözlenmemiştir. Bu bulgular başlangıçtaki lezyon formasyonunda bu hücrelerin önemini desteklemektedir. Normal deneklerle yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda MS hastalarında nötrofil oranlarında ve atak sırasında anlamlı farklılıklar

gösterilmiştir. Yüksek nötrofil-lenfosit oranı atak sıklığında ve özürllükte artış ile birliktedir.⁹⁻¹³

MS hasta grubunda erken hastalık döneminde bile hastalık seyrini değiştirecek tedaviler başlanmadan önce yapılan çalışmada sağlıklı kontrol grubuna göre artmış NLR değerleri tanımlanmıştır. Başka bir çalışmada NLR, PLR, MLR ve SII gibi inflamatuvar belirteçler kontrast tutan lezyon saptanan ve saptanmayan MS hasta gruplarında değerlendirilmiş, aktif MRG lezyonu olan hastalarda MLR değerinde artış saptanmıştır.¹⁰⁻¹²

NMOSH hastalarında yapılan çalışmalar da daha ilk atakta periferik inflamatuvar indekslerin hastalık aktivitesi ile ilişkili olabileceğini, radyolojik bulgular ile korele olabileceğini ve prognostik bir belirteç olabileceğini göstermiştir.^{14,15} Bazı çalışmalar ise NLR değerinin seropozitif NMOSH hastalarında prognostik bir belirteç olarak anlamlı olmadığını saptamıştır.¹⁶ Bu çalışmada ilk atakta çalışılan inflamatuvar belirteçlerden NLR ve PLR değeri NMOSH grubunda MS hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Bu durum her iki demyelinizan hastalığın farklı immunopatogenetik mekanizmalar ile ortaya çıkması ile açıklanabilir. MS'de inflamatuvar aktivite yanında aksonal kesi, akson, nöron kaybı ve atrofi ile seyreden dejeneratif mekanizmalar da rol oynamaktadır.¹ NMOSH ise temel olarak farklı inflamatuvar süreçler sonucu ortaya çıkan demyelinizasyon söz konusudur.² NMOSH'de inflamatuvar belirteçlerden NLR ve PLR değerinin MS grubuna göre yüksek olması bu olası immunopatogenezdeki farklılık ile açıklanabilir.

Yapılan bir meta analizde SLE hastalarında sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında NLR ve PLR oranlarında SLE inflamasyon indeksi ile pozitif olarak korele olacak şekilde anlamlı yükseklik saptanmıştır. Bu durum NLR ve PLR'nin SLE izleminde yararlı bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir.¹⁷ Diğer romatolojik hastalıklarda da inflamatuvar indekslerin diğer inflamatuvar bulgular ve hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.¹⁸

Behçet hastalığında yapılan bir meta analiz çalışmasında aktif hastalarda inaktif hastalara ve sağlıklı kontrollere göre NLR değerinin daha yüksek saptandığı ve Behçet hastalığında inflamasyon ve hastalık aktivitesi belirteci olarak NLR değerinin kullanılabileceği belirtilmiştir.¹⁹ İnflamatuvar indeksler ile ilgili çalışmalar birçok başka nörolojik hastalıkta çalışılmıştır. Güncel çalışmalarda yeni bir inflamasyon belirteci olarak sistemik immun inflamasyon indeksi (SII) tanımlanmış, bu indeksin NLR ve PLR'den daha duyarlı olduğu ileri sürülmüştür. Yüksek SII değerinin değişik kanser türlerinde, inflamatuvar bağırsak hastalıklarında, kardiyovasküler hastalıklarda, pulmoner embolide artmış değerlerin daha güçlü inflamatuvar yanıt ile ilişkili olduğu belirtilmektedir.²⁰⁻²³ SII indeksi beyin cerrahisi veya kardiyak cerrahi geçiren hastalarda değerlendirilmiş ve yüksek SII indeksinin post operatif deliryum gelişiminin öngörülmesi açısından bir belirteç olabileceği gösterilmiştir.²⁴

Çalışmanın Sınırlılıkları

Bu çalışmada bazı sınırlılıklar bulunmaktadır. Öncelikle çalışma dizaynı retrospektiftir. Çalışmada inflamasyon belirteci olarak kullanılan tam kan sayımı dışında diğer

belirteçler çalışmaya dahil edilmemiştir. Diğer bir sınırlılık hastalık aktivitesi göstergesi olarak kabul edilen MRG incelemesi bulgularının dahil edilmemesidir. Ek olarak BOS incelemesi bu çalışmada yer almamıştır. Göreceli olarak hasta sayısının az olması ve tek merkez verisinin değerlendirilmesi çalışmanın diğer sınırlılıklarıdır. Daha çok hasta içeren çok merkezli çalışmalar daha ayrıntılı bilgiler verebilir.

Sonuç

Bu çalışmada NLR ve PLR değerleri yanında güncel çalışmalarda inflamasyon belirteci olarak kullanılabileceği belirtilen SII ve AISI indeksleri de çalışılmış ve NMOSH hasta grubunda MS grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu bulguların NLR ve PLR gibi NMOSH grubunda inflamasyon göstergesi olarak kabul edilebileceğini düşündürmektedir. Bu belirteçler NMOSH ve MS ayırıcı tanısında klinik, radyolojik, BOS bulguları ve antikor pozitifliği yanında inflamatuvar belirteçlerin de yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

Etik Standartlara Uygunluk

Kocaeli Üniversitesi girişimsel olmayan etik kurul komitesinden 08.09.2023 tarihinde GOKAEK-2023/14.38 koduyla etik kurul onayı alınmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Yazar Katkısı

SDB: Veri toplanması ve analizi, kaynak taraması ve makale yazımı; BC: Veri toplanması ve analizi; HE: Çalışmanın tasarımı

Finansal Destek

Bu çalışma için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Kaynaklar

- Peterson LK, Fujinami RS. Inflammation, demyelination, neurodegeneration and neuroprotection in the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2007;184(1-2):37-44. doi:10.1016/j.jneuroim.2006.11.015
- Dos Passos GR, Sato DK, Becker J, Fujihara K. Th17 cells pathways in multiple sclerosis and neuromyelitis optica spectrum disorders: pathophysiological and therapeutic implications. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:5314541. doi:10.1155/2016/5314541
- Dendrou CA, Fugger L, Friese MA. Immunopathology of multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(9):545-558. doi:10.1038/nri3871
- Cree B. Neuromyelitis optica: diagnosis, pathogenesis, and treatment. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2008;8(5):427-433. doi:10.1007/s11910-008-0066-2
- Gokce SF, Bolayır A, Cigdem B, Yildiz B. The role of systemic immune inflammatory index in showing active lesion in patients with multiple sclerosis: SII and other inflamatuvar biomarker in radiological active multiple sclerosis patients. *BMC Neurol.* 2023;23(1):64. doi:10.1186/s12883-023-03101-0
- Fest J, Ruiters R, Ikram MA, Voortman T, van Eijck CHJ, Stricker BH. Reference values for white blood-cell-based

- inflammatory markers in the Rotterdam Study: a population-based prospective cohort study. *Sci Rep*. 2018;8(1):10566. doi:10.1038/s41598-018-28646-w
7. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol*. 2018;17(2):162-173. doi:10.1016/S1474-4422(17)30470-2
 8. Wingerchuk DM, Banwell B, Bennett JL, et al. International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders. *Neurology*. 2015;85(2):177-189. doi:10.1212/WNL.0000000000001729
 9. Woodberry T, Bouffler SE, Wilson AS, Buckland RL, Brüstle A. The emerging role of neutrophil granulocytes in multiple sclerosis. *J Clin Med*. 2018;7(12):511. doi:10.3390/jcm7120511
 10. D'Amico E, Zanghi A, Romano A, Sciandra M, Palumbo GAM, Patti F. The Neutrophil-to-lymphocyte ratio is related to disease activity in relapsing remitting multiple sclerosis. *Cells*. 2019;8(10):1114. doi:10.3390/cells8101114
 11. Guzel I, Mungan S, Oztekin ZN, Ak F. Is there an association between the Expanded Disability Status Scale and inflammatory markers in multiple sclerosis? *J Chin Med Assoc*. 2016;79(2):54-57. doi:10.1016/j.jcma.2015.08.010
 12. Hasselbalch IC, Søndergaard HB, Koch-Henriksen N, et al. The neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with multiple sclerosis. *Mult Scler J Exp Transl Clin*. 2018;4(4):2055217318813183. doi:10.1177/2055217318813183
 13. Miller JM, Beales JT, Montierth MD, Briggs FB, Frodsham SF, Davis MF. The Impact of multiple sclerosis disease status and subtype on hematological profile. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(6):3318. doi:10.3390/ijerph18063318
 14. Zhou Y, Xie H, Zhao Y, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio on admission is an independent risk factor for the severity of neurological impairment at disease onset in patients with a first episode of neuromyelitis optica spectrum disorder. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2021;17:1493-1503. doi:10.2147/NDT.S311942
 15. Lin J, Xue B, Li J, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio may be a helpful marker to evaluate disease activity in NMOSH. *Neurol Sci*. 2017;38(10):1859-1863. doi:10.1007/s10072-017-3068-5
 16. Carnero Contentti E, Delgado-García G, Criniti J, et al. An abnormally high neutrophil-to-lymphocyte ratio is not an independent outcome predictor in AQP4-IgG-Positive NMOSH. *Front Immunol*. 2021;12:628024. doi:10.3389/fimmu.2021.628024
 17. Ma L, Zeng A, Chen B, Chen Y, Zhou R. Neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio in patients with systemic lupus erythematosus and their correlation with activity: A meta-analysis. *Int Immunopharmacol*. 2019;76:105949. doi:10.1016/j.intimp.2019.105949
 18. Gasparyan AY, Ayzvazyan L, Mukanova U, Yessirkepov M, Kitas GD. The Platelet-to-lymphocyte ratio as an inflammatory marker in rheumatic diseases. *Ann Lab Med*. 2019;39(4):345-357. doi:10.3343/alm.2019.39.4.345
 19. Lee YH, Song GG. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, mean platelet volume and platelet-to-lymphocyte ratio in Behçet's disease and their correlation with disease activity: A meta-analysis. *Int J Rheum Dis*. 2018;21(12):2180-2187. doi:10.1111/1756-185X.13404
 20. Yang YL, Wu CH, Hsu PF, et al. Systemic immune-inflammation index (SII) predicted clinical outcome in patients with coronary artery disease. *Eur J Clin Invest*. 2020;50(5):e13230. doi:10.1111/eci.13230
 21. Yan SL, Russell J, Granger DN. Platelet activation and platelet-leukocyte aggregation elicited in experimental colitis are mediated by interleukin-6. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20(2):353-362. doi:10.1097/O1.MIB.0000440614.83703.84
 22. Güçlü M, Ağan AF. Relationship of peripheral blood neutrophil to lymphocyte ratio and irritable bowel syndrome. *Turk J Med Sci*. 2017;47(4):1067-1071. doi:10.3906/sag-1509-44
 23. Yıldız G, Selvi F, Bedel C, Zortuk Ö, Yavuz YF. Systemic inflammatory response index (Siri) and systemic immune-inflammation index (SII) to show thrombus localization in patients with acute pulmonary embolism. *Osmangazi Journal of Medicine*. doi:10.20515/otd.1276480
 24. Song Y, Luo Y, Zhang F, et al. Systemic immune-inflammation index predicts postoperative delirium in elderly patients after surgery: a retrospective cohort study. *BMC Geriatr*. 2022;22(1):730. doi:10.1186/s12877-022-03418-4

Araştırma Makalesi | Research Article

DIYABETİK HASTALARDA A-DALGALARININ GÖRÜNME ORANI VE KARAKTERİSTİKLERİ: RETROSPEKTİF ÇALIŞMA

APPEARANCE AND CHARACTERISTICS OF A-WAVES IN DIABETIC PATIENTS: A RETROSPECTIVE STUDY

 Celal Şalçini^{1*}

¹NPİstanbul Beyin Hastanesi, Üsküdar Üniversitesi, Nöroloji Kliniği, Ümraniye, İstanbul, Türkiye.



Öz

Amaç: Sinir iletim çalışmasındaki (SİÇ) geç yanıtlardan biri olan A-Dalgaları, birçok periferik sinir hastalığında izlenebildiği gibi normal bireylerde de görülmektedir. Henüz klinik olarak anlamı net olmasa da demiyelinizan nöropatiler başta olmak üzere diğer nöropatilerde görülme sıklığı artmaktadır. Bu çalışmanın amacı diyabetik nöropatide A-dalgalarının görülme sıklığı ile çeşitlerinin incelenmesidir.

Yöntem: Araştırmaya motor sinir iletimleri normal ve duysal aksonal polinöropatisi olan 50 diyabetik hasta (DH) ve 40 sağlıklı birey alınarak rutin SİÇ protokolü uygulandı. F-dalgası kayıtlaması sırasında görülen A-dalgaları kayıtladı, elektrofizyolojik olarak sınıflandırıldı ve analiz edildi.

Bulgular: DH grubunda A-dalgalarının görülme oranı kontrol grubuna göre tibial sinirde artmış olarak izlenirken, median ve peroneal sinirde anlamlı fark izlenmedi. DH'de erken A-dalgaları ve çoklu A-dalgaları alt gruplarının daha yoğun olduğu saptanırken, diğer alt gruplardan geç A-dalgaları, F-dalgası ile iç içe geçmiş A-dalgaları ve F-yanıtsız A-dalgaları nadir olarak izlendi. Ayrıca hem DH hem de kontrol grubunda alt ekstremitede A-dalgalarının görülme oranının üst ekstremiteye kıyasla daha yüksek olduğu görüldü.

Sonuç: Bu çalışmada motor nöropatisi olmayan duysal aksonal polinöropatili DH'lerin distal sinirlerinde A-dalgalarının ortaya çıkabileceği ve bu A-dalgalarının çoğunlukla erken A-dalgası ve de çoklu A-dalgası karakterinde olduğu gösterilmiştir. A-dalgalarının saptanmasının, uzunluk bağımlı motor nöropati açısından erken dönem belirteci olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Diyabetik nöropati, A-dalgası, çoklu A-dalgaları, erken A-dalgaları

ABSTRACT

Objective: A-Waves, one of the late responses in nerve conduction study (NCS), can be observed in many peripheral nerve diseases as well as in normal individuals. Although their clinical significance remains unclear, their frequency is increasing in demyelinating neuropathies and other neuropathies. The aim of this study was to investigate the frequency and types of A-waves in diabetic neuropathy.

Method: Fifty diabetic patients (DP) with sensory axonal polyneuropathy and 40 healthy subjects were enrolled in the study and underwent the routine NCS protocol. During F-wave recording, A-waves were recorded, electrophysiologically classified and analyzed.

Results: In the DP group, the rate of appearance of A-waves was increased in the tibial nerve compared to the control group, while no significant difference was observed in the median and peroneal nerves. In DP, early A-wave and multiple A-wave subtypes were more common, whereas late A-waves, A-waves intermixing with F-waves and F-unresponsive A-waves were rarely observed. In addition, in both DH and control groups, the incidence of A-waves in the lower extremity nerves was more frequent than in the upper extremity.

Conclusion: Our study demonstrate that A-waves can occur in the distal nerves of patients with sensory axonal polyneuropathy without motor neuropathy and that these A-waves are mostly early A-waves and multiple A-waves. These findings suggest that the detection of A-waves may be a marker of early length-dependent motor neuropathy.

Keywords: Diabetic neuropathy, A-wave, multiple A-waves, early A-waves

Giriş

A-dalgaları, rutin sinir iletim çalışması (SiÇ) esnasında, bileşik kas aksiyon potansiyeli (BKAP, M-yanıtı) sonrası izlenen, tutarlı, düşük amplitüdü, latansı ve konfigürasyonu sabit geç yanıtlardan biridir. Diğer fizyolojik geç yanıtlar olan F-dalgası ve H-refleksinin aksine altta yatan patolojilere bağlı nonspesifik olarak ortaya çıkmaktadır ve oluşumlarının sinirlerdeki ekstra deşarjlara, efüptik iletiye veya aksonal dallanmaya bağlı olduğu düşünülmektedir.¹⁻⁵ A-dalgaları nonspesifik olarak kabul edilse de varlıkları bir anormalliğe işaret etmektedir.⁶ Özellikle demiyelinizan polinöropatiler başta olmak üzere aksonal polinöropatilerde, fokal mononöropatilerde, motor nöron hastalıklarında de izlenebilen bu dalgalar, sağlıklı bireylerde de izlenebilmektedir.^{1,3,7} Sağlıklı bireylerde genellikle alt ekstremitelerde nadiren üst ekstremitelerde de saptanabilmektedir ve görülme sıklığı yaşla artmaktadır.^{1,8} Araştırmacılar normal bireylerde A-dalgalarının görülmesini henüz hastalık seviyesinde olmayan alfa motor nöronla ilişkili nöropati başlangıcı olabileceğini ve ilerde nöropati, nöronopati veya radikulopati gelişiminin prognostik faktörü olabileceğini bildirmektedirler.⁹ A dalgaları kendi içinde F-dalgası öncesi A-dalgaları, F-dalgası ile iç içe girmiş A-dalgaları, F-dalgası sonrası A-dalgaları, çoklu A-dalgaları olarak dörde bazen de beşinci alt grup olarak F-yanıtsız A-dalgaları eklenerek beş gruba sınıflandırılmaktadır.^{8,10} Çoklu A-dalgaları kriterleri ayrıntılı olmakla beraber basitçe en az 3 A-dalgası görülmesi durumudur.¹¹ Bu çalışmanın amacı sağlıklı bireylerde ve diyabetik hastalarda rutin sinir iletim çalışmasında A-dalgalarının görülme sıklığı ve karakteristiklerinin incelenmesidir.

Yöntem

Araştırmada Diyabetes Mellitus tanısı nedeniyle yapılan sinir iletim çalışmasında duysal aksonal polinöropatisi saptanmış olan 50 hasta ile nöropatisi olmayan 45 sağlıklı kontrol grubu verileri retrospektif olarak incelenmiştir. Bütün hastalar ADA (American Diabetes Association) kriterlerini karşılamış olup sinir iletim çalışması NP İstanbul Beyin Hastanesinde Medelec Synergy electromiyografi (Oxford Instruments Medical, UK) cihazı ile yapılmıştır.¹² Tüm katılımcılarda tek taraflı median, peroneal ve tibial motor sinir iletimleri ile tek taraflı median, ulnar, medial plantar ile superfisyel peroneal duysal sinir incelemeleri yapılmıştır.¹³ Ayrıca motor sinir iletimlerine ek olarak en az yirmi F yanıtı incelenmiştir. A-dalgaları tanımı ve kabul kriterleri Bichoff ve arkadaşlarının tanımladığı kriterler olarak stabil konfigürasyon ve amplitüde olması, başlangıç latansının değişkenliğinin 1.5 ms'nin altında olması ve 20 uyarının en az sekizinde A-dalgasının izlenmiş olması olarak kabul edilmiştir.¹⁴ Ayrıca A-dalgaları F-dalgası ile ilişkili olarak F-dalgası öncesi A-dalgaları, F-dalgası ile iç içe girmiş A-dalgaları, F-dalgası sonrası A-dalgaları, çoklu A-dalgaları ve F-yanıtsız A-dalgaları olarak beş gruba sınıflandırılmıştır. Çoklu A-dalgası kriterleri olarak aynı sinirde en az üç adet A-dalgası izlenmesi olarak kabul

edilmiştir. Kontrol grubu çalışmaya dahil sinirler haricindeki olası patolojiler sebebiyle (ulnar tuzak, radial tuzak vs.) sinir iletim çalışması yapılan bireylerden oluşturulmuştur. Kontrol ve diyabetik hastalarda alkol, üremi veya herhangi bir madde kullanımı olmamasına dikkat edilmiştir. Çalışma Helsinki İnsan Hakları Bildirgesine uyumlu olup, Üsküdar Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Bulgular

Hasta ve kontrol grubunun ortalama yaşları sırasıyla 60,05 ± 9,50 ve 55,54 ± 13,33 olarak saptandı (Tablo 1). Hastalarda ve kontrol grubunda farklı A-dalgalarının görülme oranları Tablo 2'de gösterilmektedir. Kontrol grubunda 12 hastanın 10 sinirinde A-dalgası izlenirken diyabetik hasta grubundaki 24 hastanın 35 sinirinde A-dalgaları izlenmiştir (p = 0,001). Her iki grupta yaş arttıkça A-dalgaları izlenme oranları artmaktaydı ve üst ekstremitelerde A-dalgası izlenme oranları alt ekstremitelere göre artmış olarak izlendi (p = 0,001). DH grubunda, A-dalgalarının görünme oranları tibial sinirde 22/50, peroneal sinirde 10/50 ve median sinirde 3/50 olarak bulundu. Sağlıklı bireylerde bu oranlar sırasıyla tibial sinirde 7/45, peroneal sinirde 3/45 ve median sinirde 0/45 olarak saptandı (Tablo 3). Bu sonuçlar doğrultusunda diyabetik hastalarda tibial sinirde A-dalgalarının anlamlı olarak daha sık görüldüğü izlendi (p = 0,003). Ayrıca, diyabetik hastalarda görülen A-dalgalarının gruplanmasında erken A-dalgalarının ve çoklu A-dalgalarının görülme sıklığının anlamlı yüksek olduğu görüldü (p = 0,001).

Tablo 1. Diyabetik Hasta ve kontrol grubu demografik verileri

	DH*	Kontrol
Sayı	50	45
Yaş (ortalama ± **SD)	60,05 ± 9,50	55,54 ± 13,33
Cinsiyet		
Erkek	23	23
Kadın	27	22

*DH: Diyabetik Hastalar

**SD: Standart deviyasyon

Tablo 2. A-dalga çeşitlerinin Diyabetik Hasta ve kontrol grubunda görünme oranları

	DH*	Kontrol
A-dalgası izlenen sinir sayısı	35	10
Erken A-dalgası	25/35	7/10
Geç A-dalgası	1/35	2/10
F-dalgası ile iç içe geçmiş A-dalgası	2/35	1/10
Çoklu A-dalgası	7/35	0/10
F-yanıtsız A-dalgası	0/35	0/10

*DH: Diyabetik Hastalar

Tablo 3. A-dalgalarının Diyabetik Hastalar ve kontrol grubundaki sinir tutulumu dağılımı

	DH*	Kontrol	P-değeri
A-dalgası izlenen sinir sıklığı			
Median sinir	3/50	0/45	0,244
Peroneal sinir	10/50	3/45	0,759
Tibial sinir	22/50	7/45	0,003

*DH: Diyabetik Hastalar

Tartışma

A-dalgaları çoğu zaman süregelen nöropatide ortaya çıkan, nonspesifik geç yanıtlardan biridir. Oluşum mekanizmalarında genelde demiyelinizan süreçler, proksimal sinir segmentlerindeki aşırı uyarılabilirlik, aksondan aksone efaptik transmisyon veya miyoaksonal transmisyon suçlanmaktadır.¹⁵ Aynı zamanda normal bireylerde de saptanabilen A-dalgalarının, altta yatan ve rutin sinir iletim çalışmasında henüz ortaya çıkmamış patolojilerin öncü elektrofizyolojik bulgusu olabileceği öne sürülmüştür.¹⁶ Patofizyolojik özellikler demiyelinizan hastalık süreçlerine işaret etse de demiyelinizan özellikte olmayan, ALS gibi hastalıklarda da proksimal yeniden uyarılabilirlik gibi süreçler sonucunda A-dalgaları izlenebilmektedir. Bu süreçte izlenen A-dalgalarının özelliği F-dalgalarından sonra ortaya çıkmalarıdır.

Bu çalışmada, literatürdeki çalışmalara benzer olarak, diyabete bağlı nöropatilerde A-dalgalarının F-dalgalarından önce çıkma özelliğini saptadık.^{10,17} Buradaki süreçler, miyoaksonal yapıya daha yakın, distal mesafedeki ince liflerin patolojilerini düşündürmektedir.^{15,17} Bizim çalışmamızda median ve peroneal motor sinirlerdeki A-dalgaları oranlarının normal bireylerle anlamlı bir fark bulamazken, tibial motor sinir incelemesinde A-dalgalarının sıklığında anlamlı bir artış saptadık. Bu bulgunun olası nedeni diyabetik nöropatinin distal başlangıçlı ve proksimale progresyon gösteren bir polinöropati yani uzunluk bağımlı nöropati özelliğini taşıyor olması ve tibial sinirlerin anatomik yerleşimidir.^{6,18} A-dalgalarının saptanmasının, erken dönem uzunluk bağımlı motor nöropati açısından erken dönme belirtici olabileceği düşünülmüştür; hastaların seri elektrofizyolojik çalışmaları ile bu ilişkinin araştırılması planlanabilir. Çalışmamız birçok kısıtlılık göstermektedir. Hasta sayısının az olması, diyabet süresinin ve de glikoz kontrolünün homojen dağılmamış olması, nöropatisi olanlar ve olmayanlar alt gruplarının olmayışı, sublinik lomber radikulopati açısından görüntülemelerin olmaması, teknik açıdan F-dalgaları ile A-dalgalarının iç içe geçebilmesi kayıtlama sorunları doğurmaktadır.

Etik Standartlara Uygunluk

Çalışma için Üsküdar Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 23.08.2023 tarih ve E-99102440-2023-18 sayılı kararı ile etik kurul onayı alınmıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışmada herhangi bir kişi/kurum ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek

Bu çalışmada herhangi bir fon veya destekten yararlanılmamıştır.

Yazar Katkısı

CŞ: Fikir, tasarım, veri toplama, istatistiksel analiz, yazım.

Kaynaklar

1. Bischoff C. Neurography: late responses. *Muscle Nerve Suppl.* 2002;11:S59-65. doi:10.1002/mus.10149
2. Jerath N, Kimura J. F wave, A wave, H reflex, and blink reflex. *Handb Clin Neurol.* 2019;160:225-239. doi:10.1016/B978-0-444-64032-1.00015-1
3. Kawakami S, Sonoo M, Kadoya A, Chiba A, Shimizu T. A-waves in Guillain-Barre syndrome: correlation with electrophysiological subtypes and antiganglioside antibodies. *Clin Neurophysiol.* Jun 2012;123(6):1234-41. doi:10.1016/j.clinph.2011.10.005
4. Havton LA, Hotson JR, Kellerth JO. Partial peripheral motor nerve lesions induce changes in the conduction properties of remaining intact motoneurons. *Muscle Nerve.* May 2001;24(5):662-6. doi:10.1002/mus.1052
5. Khodulev V, Kabyłka A, Klimko A. Significance of A-waves in Isolated Calf Pain as a Manifestation of Radicular Pain During F-wave Studies: A Case Report. *Cureus.* Feb 2023;15(2):e35254. doi:10.7759/cureus.35254
6. Rowin J, Meriggioli MN. Electrodiagnostic significance of supramaximally stimulated A-waves. *Muscle Nerve.* Jul 2000;23(7):1117-20. doi:10.1002/1097-4598(200007)23:7<1117::aid-mus16>3.0.co;2-#
7. Sartucci F, Bocci T, Borghetti D, et al. Further insight on A-wave in acute and chronic demyelinating neuropathies. *Neurol Sci.* Oct 2010;31(5):609-16. doi:10.1007/s10072-010-0354-x
8. Puksa L, Stalberg E, Falck B. Occurrence of A-waves in F-wave studies of healthy nerves. *Muscle Nerve.* Nov 2003;28(5):626-9. doi:10.1002/mus.10448
9. Srotova I, Vlckova E, Dusek L, Bednarik J. A-waves increase the risk of developing neuropathy. *Brain Behav.* Aug 2017;7(8):e00760. doi:10.1002/brb3.760
10. Fang J, Cui L, Liu M, et al. A Retrospective Study of the Characteristics and Clinical Significance of A-Waves in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Front Neurol.* 2017;8:515. doi:10.3389/fneur.2017.00515
11. Kornhuber ME, Bischoff C, Mentrup H, Conrad B. Multiple A waves in Guillain-Barre syndrome. *Muscle Nerve.* Mar 1999;22(3):394-9. doi:10.1002/(sici)1097-4598(199903)22:3<394::aid-mus13>3.0.co;2-v
12. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, et al. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2023. *Diabetes Care.* Jan 1 2023;46(Suppl 1):S19-S40. doi:10.2337/dc23-S002
13. Stalberg E, van Dijk H, Falck B, et al. Standards for quantification of EMG and neurography. *Clin Neurophysiol.* Sep 2019;130(9):1688-1729. doi:10.1016/j.clinph.2019.05.008
14. Bischoff C, Stalberg E, Falck B, Puksa L. Significance of A-waves recorded in routine motor nerve conduction studies. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* Dec 1996;101(6):528-33. doi:10.1016/s0013-4694(96)96553-4

15. Rampello L, Rampello L, Arcidiacono A, Patti F. A waves in electroneurography: differential diagnosis with other late responses. *Neurol Sci.* Dec 2020;41(12):3537-3545. doi:10.1007/s10072-020-04649-2
16. Cai Q, Aimair G, Xu WX, et al. The Physiological Significance of A-Waves in Early Diabetic Neuropathy: Assessment of Motor Nerve Fibers by Neurophysiological Techniques. *Front Syst Neurosci.* 2021;15:633915. doi:10.3389/fnsys.2021.633915
17. Rampello L, Rampello L, Arcidiacono A. A Waves in Diabetic Neuropathy: Pathophysiology and Neurographic Images. *J Clin Neurophysiol.* Mar 2019;36(2):93-96. doi:10.1097/WNP.0000000000000515
18. Feldman EL, Callaghan BC, Pop-Busui R, et al. Diabetic neuropathy. *Nat Rev Dis Primers.* Jun 13 2019;5(1):42. doi:10.1038/s41572-019-0097-9



Olgu Sunumu | Case Report

EVEROLIMUS TREATMENT IN REFRACTORY EPILEPSY DUE TO TUBEROUS SCLEROSIS COMPLEX: A SINGLE -CENTER CASE SERIES

TUBEROSKLEROZ KOMPLEKSİNE BAĞLI DİRENÇLİ EPİLEPSİDE EVEROLİMUS TEDAVİSİ: TEK MERKEZ OLGU SERİSİ

Halil Ural Aksoy^{1*}, Celil Yılmaz¹, Senem Ayça¹, Aslı Kübra Atasever¹, Çisil Çerçi Kubur¹, Sibgatullah Ali Orak¹, Muzaffer Polat¹

¹Celal Bayar University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Neurology, Manisa, Türkiye.



ABSTRACT

Feokromasitoma sempatik sinir sisteminin kromaffin hücrelerinden gelişen Tuberous sclerosis complex is an autosomal dominant-inherited multisystem neurocutaneous genetic disorder manifesting hamartomas and skin lesions involving all systems of the body. The inactivation of the inhibition in the mTOR pathway due to mutations in *TSC1* and *TSC2* causes the clinical and pathological manifestations of this disease. Epilepsy is the most common clinical feature in the course of the disease and is generally resistant to conventional antiepileptics. Everolimus is an mTOR inhibitory agent formerly used in the treatment of hamartoma and used in resistant epilepsy owing to the tuberous sclerosis complex with its disease-modifying effect. In recent years, everolimus has been used increasingly in the treatment of resistant epilepsy due to tuberous sclerosis complex. In this study, we retrospectively evaluated the response of 3 patients suffering from tuberous sclerosis and resistant epilepsy treated with everolimus.

Keywords: Tuberous sclerosis complex, epilepsy, everolimus, mTOR inhibitors.

Öz

Tüberoskleroz kompleksi, vücudun tüm sistemlerinde görülebilen hamartomlar ve deri lezyonları ile kendini gösteren, otozomal dominant geçişli, multisistemik bir nörokutanöz hastalıktır. TSC1 ve TSC2 genlerindeki mutasyonlar nedeniyle mTOR yolğunun inhibisyonun inaktivasyonu, hastalığın klinik ve patolojik bulgularına neden olmaktadır. Epilepsi, tüberoskleroz kompleksi seyrinde en sık görülen klinik bulgudur ve genellikle konvansiyonel antiepileptiklere dirençli nöbetler ile seyretmektedir. Everolimus, daha önce tüberoskleroz kompleksindeki hamartomların ve nöbetlerin tedavisinde kullanılan hastalık modifiye edici etkisi olan bir mTOR inhibitör ajanıdır ve son yıllarda tüberoskleroz kompleksine bağlı dirençli epilepsi tedavisinde giderek artan bir şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, kliniğimizde tüberoskleroz kompleksi ve dirençli epilepsi tanıları ile izlenen ve everolimus tedavisi verdiğimiz 3 hastanın tedavi yanıtını ve klinik bulgularını değerlendirdik.

Anahtar Kelimeler: Tüberoskleroz kompleksi, epilepsi, everolimus, mTOR .

Introduction

Tuberous sclerosis complex (TSC) is an autosomal dominant disorder, inherited and multisystem neurocutaneous, with an occurrence rate of 1 per 6,000 to 10,000 live births.¹ TSC classically involves the brain, skin, kidneys, heart, eyes, and lungs, but can affect any system. However, the hallmark of the disease is tumors consisting of glial-neuronal and retinal hamartomas, subependymal giant cell tumors (SEGA), cardiac rhabdomyomas, renal and extra-renal angiomyolipoma's (AML), and pulmonary lymphangiomyomatosis (LAM).² Mutations in either *TSC1* or *TSC2* lead to TSC. *TSC1* and *TSC2* are located on chromosome 9q34, and chromosome 16p13 respectively, where *TSC1* encodes hamartin and *TSC2* encodes tuberin proteins.^{2,3} Hamartin and tuberin are widely expressed throughout the normal tissues; together, these proteins are involved in the mammalian target of the rapamycin (mTOR) pathway. This pathway functions to regulate cell growth, size, and proliferation. Deregulation of the mTOR signaling pathway can result in tissue overgrowth as the TSC2:TSC1 complex stops the mTOR activation.^{2,4} Overactivation of mTOR leads to a giant, dysplastic neurons, abnormal axonogenesis, dendrite formation, increased excitatory synaptic currents, reduced myelination, and disruption of the cortical laminar structure, resulting in hamartomas, neuropsychiatric disorders, and epilepsy associated with TSC.⁵

Epilepsy is the most common neurological symptom in TSC. Although epileptic seizures are observable at any stage of the disease, two-thirds of them start in early infancy.^{5,6} Although all types of seizures can be seen, 10–25% of all patients have rapid, symmetrical, clustered flexion, or extension spasms of the extremities or neck.^{2,6} Vigabatrin is the drug of the first choice for the treatment of infantile spasms associated with TSC. In unresponsive cases, conventional antiepileptics such as adrenocorticosteroids (ACTH), ketogenic diet, vagal nerve stimulation (VNS), or epileptic surgery treatments may reduce the seizure frequency.^{2,6} Unfortunately, >60% of all patients are resistant to these therapies.⁵ Autism spectrum disorder (ASD), attention deficit and hyperactivity disorder (ADHD), and intellectual disability are neuropsychiatric disorders that have been reported in 90% of all patients and are called TSC-related neuropsychiatric disorders (TAND).⁷

Everolimus is an mTOR inhibitor that has been approved for the treatment of subependymal giant cell astrocytoma and renal angiomyolipoma in patients with TSC.⁸⁻¹⁰ It was first used to treat hamartomas, anjiofibromas, and SEGAs in TSC.⁸ It has been approved for use in the treatment of renal AMLs and intractable epilepsy in TSC based on the results of subsequent studies.^{5,10,11} We evaluated the responses to everolimus treatments of 3 patients who long-term followed up with diagnosis of TSC, and had resistant seizures despite two or more conventional antiepileptic treatments, and varying degrees of cognitive and mental developmental retardation. Before the treatment, the parents of the

patients were informed about the everolimus treatment and its possible side effects, verbal and written consents were obtained from the parents.

Cases

Case1

The first case was a 16-year-old girl diagnosed with TSC and resistant epilepsy since her infancy, along with heart rhabdomyoma and renal AMLs. On physical examination, she had a large angiofibroma on her face, multiple hypopigmented macules on her body, mostly on the trunk, and ash leaf sign on her sacral area. Her school success was low and had low borderline intelligence (WISC-R 80). Imaging findings showed cortical tubers (Figure 1), cardiac rhabdomyoma and bilateral renal AMLs. Genetic examination revealed p.Arg147Serfs*49 heterozygous mutation in *TSC2* gene. At the start of the therapy, she was taking vigabatrin (1gr/day), levetiracetam (2gr/day), and sodium valproate (2gr/day). Other than these, there was no known history of antiepileptic use. Despite medication, she continued to have seizures of varying severity, most of which were generalized tonic and gelastic seizures which episodes of inappropriate laughing and crying. Everolimus treatment was started to the patient at a dose of 10 mg/day. In the first and sixth months of therapy, seizure frequency was reduced by more than 50%. Gelastic seizures disappeared completely and a significant shortening was observed in the duration of the other seizures. No clinical or laboratory adverse effects were observed during treatment.

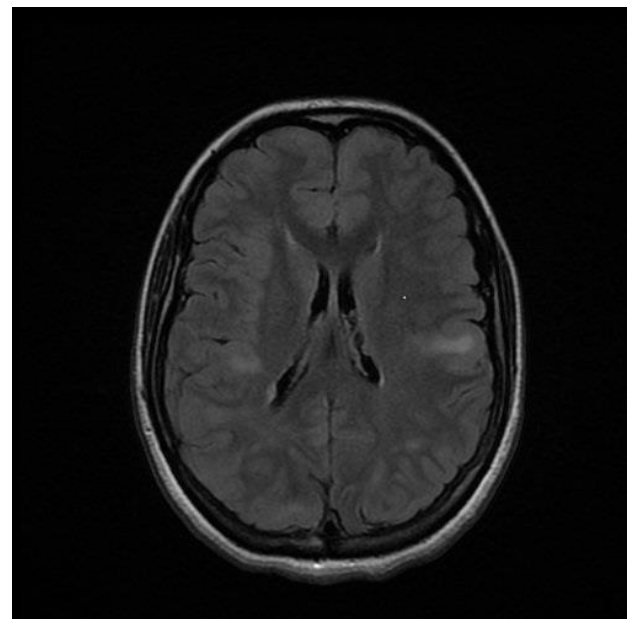


Figure 1. Bilateral cortical tubers on T1-weighted imaging

However, no significant changes were observed in the dimensions of cerebral tubers, cardiac rhabdomyoma and renal AMLs in the results of cranial magnetic resonance imaging (MRI) and renal ultrasonography (USG) imaging evaluated at the 6th month of treatment.

As a result of the positive treatment response, sodium valproate treatment was tapered and discontinued.

Case 2

The second case was an 11 year old male diagnosed with AMLs and cortical tubers in antenatal follow-up. He was followed up with the suspicion of metabolic disease in the neonatal period and was diagnosed with congenital adrenal hyperplasia. On physical examination, there are hypopigmented macules on the face and trunk. The patient had a normal motor neurologic examination but had a moderate mental retardation (WISC-R 55). Imaging findings showed cortical tubers (Figure 2) and bilateral renal AMLs. Genetic examination revealed c.1832G>A heterozygous mutation in TSC2 gene. There were previous history of using different combinations of vigabatrin, sodium valproate, levetiracetam, and topiramate. Despite these antiepileptic treatments, he had a history of intensive care admissions with the diagnosis of status epilepticus twice. At the start of his therapy, he was taking levetiracetam (40mg/kg/day), sodium valproate (40mg/kg/day), and topiramate (5mg/kg/day). After initiation of 10mg/day everolimus treatment the patient's seizure frequency reduced by more than 50% in the first month of therapy, and he was seizure-free in 6th month. No clinical or laboratory adverse effects were observed during treatment. But similar to the first case no significant changes were observed in the dimensions of cerebral tubers, and renal AMLs in the results of cranial MR and USG imaging evaluated at the 6th month of treatment.

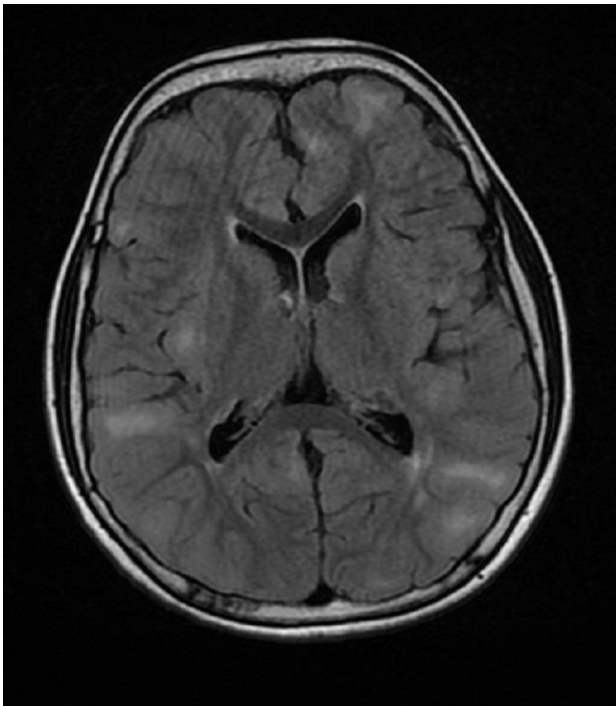


Figure 2. Bilateral diffuse cortical tubers on T1 weighted imaging

Case 3

Third case is a 6-year-old girl was followed up with the diagnosis of TSC, renal AML, ASD, and resistant epilepsy. She was diagnosed with cardiac rhabdomyoma in the antenatal period and had persistent spasms and generalized tonic seizures since the neonatal period. On physical examination, there are scarce hypopigmented macules on her body, and was followed up with the diagnosis of ASD. Imaging findings showed cortical tubers (Figure 3), cardiac rhabdomyoma and bilateral renal AMLs. Genetic examination revealed p.H1746.R1751del heterozygous mutation in TSC2 gene. Her antiepileptic treatment were levetiracetam (40mg/kg/day), and sodium valproate (30mg/kg/day) at the beginning of everolimus treatment. Severe stomatitis and related nutrition difficulties developed in the first week after everolimus 5mg/day treatment was started. Despite interrupting treatment for 2 weeks and initiation of treatment with dose titration (2.5mg/day) stomatitis repeated and her oral nutrition deteriorated therefore patient's everolimus treatment discontinued. The demographic and clinical findings of the case patients are summarized in Table 1.

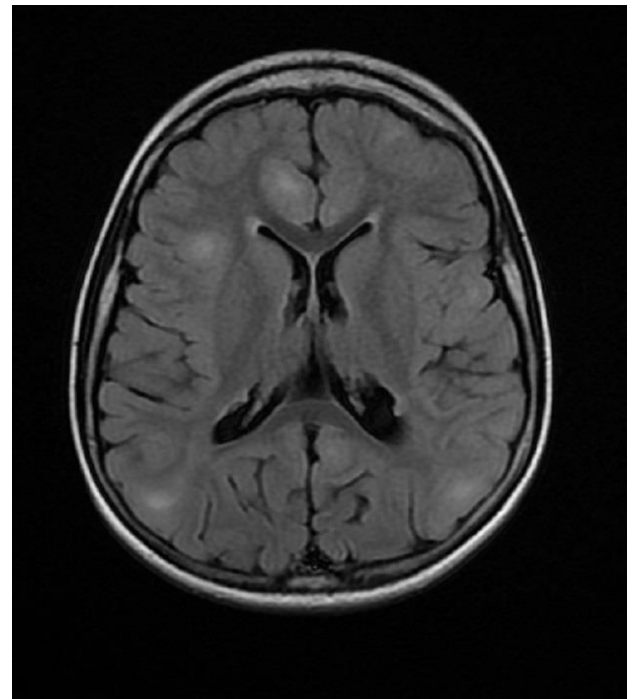


Figure 3. Bilateral diffuse cortical tubers on T1 weighted imaging

Discussion

There is still no consensus on the optimal treatment of epilepsy in individuals with TSC. Antiepileptics used in the treatment of TSC are usually effects by the regulation of gamma-aminobutyric acid (GABA), glutamate, or ion channels without any disease-modifying effects. After demonstrating the role of uncontrolled activation of the m-TOR pathway in the pathogenesis of TSC, m-TOR

inhibitors have been increasingly used to treat components of the disease. In the EXIST-1 multicenter controlled double-blind study, first published in 2013, everolimus treatment was reported to reduce >50% the size of subependymal giant cell tumors in TSC. In conclusion, everolimus may be considered in disease-modifying therapy for the treatment of other components of TSC.¹¹ In a subsequent study conducted on 118 adult patients (EXIST-2), a significant reduction

was detected in the size of angiomyolipoma after everolimus treatment.¹⁰ The first prospective study of everolimus therapy in the treatment of epilepsy in TSC was conducted by Krueger et al.⁹ A significant decrease ($p < 0.0001$) in seizure frequency was recorded at the end of the 4th and 12th week of the start of everolimus treatment in pediatric and adult TSC patients, and the response to treatment was found to be dose-dependent.

Table 1. Demographic and clinical features of patients

	Case 1	Case 2	Case 3
Gender	Female	Male	Female
Age	16	11	6
Gen mutation	TSC2 p.Arg147Serfs*49 heterozygous	TSC2 c.1832G>A heterozygous	TSC2 p.H1746.R1751del heterozygous
Cardiac RM	+	-	+
Renal AML	+	+	+
Concomitant disorders	Mild MR	KAH + moderate MR	ASD
Concomitant AE's	LEV, VPA, VGB	LEV, VPA, TPA	LEV, VPA
Everolimus dosage	10mg/day	10mg/day	5mg/day,(subsequently 2.5mg/day)
Response to treatment (1th Month)	>%50 seizure frequency decrease	>%50 seizure frequency decrease	N/A
Response To Treatment (6th Month)	>%50 seizure frequency decrease + absence of gelastic seizures	Seizure free	N/A
Adverse effects	None	None	Severe stomatitis

LEV: Levetiracetam, Valproic acid, TPA: Topiramate, VGB: Vigabatrin, MR: Mental Retardation

A higher rate of seizure control was achieved at the dose of 10 mg/day compared to that at the dose of 5 mg/day. In this study, one of the 3 patients was completely seizure-free, while the other had a >50% decrease in seizure frequency and shortened seizure durations. In our patient who had OSD together with TSC, because of the side effects, the medicine was not administered at the optimal dose and duration; therefore, the effect of seizure frequency could not be assessed.

Along with epilepsy, cognitive disorders such as learning difficulties, ADHD, and OSD often accompany TSC.¹² Neurobiochemical processes induced by epilepsy or antiepileptic drug side effects appear to play a role in the formation of this process. There may also be psychiatric problems caused by the psychology of chronic illness. However, mTOR hyperactivation has been implicated not only in cell proliferation and epileptogenesis but also in the etiology of neuropsychiatric pathologies.¹³ There are no prospective studies, however, on everolimus therapy of neurocognitive function in TSC patients. However, no statistical improvement in the quality of life scales of patients with TSC and SEGA was observed in a study with everolimus treatment in patients with TSC and SEGA⁸, but a significant increase in the quality of life scale was observed in a study with sirolimus, another mTOR inhibitor, in patients with TSC and renal AMLs.¹⁴ While a significant improvement was observed in the psychiatric evaluation and quality of life scale of the adolescent girl in our study, there was no improvement in ADHD and mental developmental delay in the patient followed up with the diagnoses of CAD and TSC. Because the medicine

could not be used promptly, the patient we followed up with ASD was not examined.

No significant changes were observed in echocardiography, cranial MR, and abdominal USG imaging of our patients at the 6th month. Studies with the effect of mTOR inhibitors on hamartoma sizes in TSC were of longer duration.^{10,11} We, therefore, believe that this result can be attributed to the fact that we could not reach sufficient treatment time for a reduction in mass sizes in our patients.

Around 15% of people have negative side effects. The most prevalent adverse effects during therapy include upper respiratory tract infection and stomatitis. Other typical adverse effects include diarrhea, fever, anorexia, and rash, which may easily be managed with the medication dosage titration.⁹ Pneumonia, worsening seizures, and status epilepticus are all serious side effects. Although the specific cause of these adverse effects is unknown, it has been reported that they are more prevalent in children under the age of 6 years and that fatalities due to sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP) and pneumonia have occurred during therapy.^{9,15,16}

In recent studies and reviews, in which the efficacy and side effects of everolimus treatment were evaluated, similarly in our cases, decrease in seizure frequency and the number of seizure-free days was observed after everolimus treatment, while the adverse effect profile increased as the age range decreased, especially under the age of 3.^{17,18} Although there is no consensus for the appropriate dose for the age range, it is stated that serum

levels in the range of 5-15 ng/mL are appropriate in terms of treatment efficacy and safety of adverse effects.¹⁷⁻²⁰ It is thought that early treatment with everolimus can prevent seizures and cognitive decline and neuropsychiatric comorbidities due to TSC complex.¹⁷ Experimental studies for new mTOR pathway modifier agents such as cannabidiol are ongoing for their effects and adverse effects.¹⁸

Since everolimus was provided with special permission for TSC patients and considering that the treatment is costly, the number of our patients was restricted, and whereat we do not have possibility, for not to follow serum everolimus levels during the treatment process. which forms a limitation of our research.

In conclusion, TSC associated refractor seizures depends on the pathology in the mTOR pathway. Everolimus appears to be an effective and safe treatment option with its disease-modifying mechanism of action in the treatment of resistant seizures in TSC. Other favorable benefits include a decrease in the size of hamartomas and an increase in neurocognitive function. We thus believe that long-term studies should be conducted with large patient groups to evaluate the long-term side effects.

Compliance with Ethical Standards

Verbal and written consent was obtained from the legal parents and guardians of the subjects.

Conflict of Interest

There is no conflict of interest between the authors.

Author Contribution

Authors contributed equally to this work.

Financial Disclosure

The authors declare no financial support.

References

1. Northrup H, Krueger DA. International Tuberous Sclerosis Complex Consensus Group. Tuberous sclerosis complex diagnostic criteria update: recommendations of the 2012 international tuberous sclerosis Complex Consensus Conference. *Pediatr Neurol.* 2013;49(4):243-254. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2013.08.001.
2. Randle SC. Tuberous sclerosis complex: A Review. *Pediatr Ann.* 2017;46(4):e166-e171. doi:10.3928/19382359-20170320-01.
3. Roach ES. Applying the lessons of tuberous sclerosis: the 2015 Hower award lecture. *Pediatr Neurol.* 2016;63:6-22. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2016.07.003.
4. Caban C, Khan N, Hasbani DM, Crino PB. Genetics of tuberous sclerosis complex: implications for clinical practice. *Appl Clin Genet.* 2017;10:1-8. doi:10.2147/TACG.S90262.
5. French JA, Lawson JA, Yapici Z, Ikeda H, Polster T, Nabbout R, et al. Adjunctive everolimus therapy for treatment-resistant focal-onset seizures associated with tuberous sclerosis (EXIST-3): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet.* 2016;388(10056):2153-2163. doi:10.1016/S0140-6736(16)31419-2.
6. Curatolo P, Nabbout R, Lagae L, Aronica E, Ferreira JC, Feucht M, et al. Management of epilepsy associated with tuberous sclerosis complex: Updated clinical recommendations. *Eur J Paediatr Neurol.* 2018;22(5):738-748. doi:10.1016/j.ejpn.2018.05.006.
7. Ess KC, Franz DN. Everolimus for cognition/autism in children with tuberous sclerosis complex: Definitive outcomes deferred. *Neurology.* 2019;93(2):51-52. doi:10.1212/WNL.0000000000007744.
8. Krueger DA, Care MM, Holland K, Agricola K, Tudor C, Mangeshkar P, et al. Everolimus for subependymal giant-cell astrocytomas in tuberous sclerosis. *N Engl J Med.* 2010;363(19):1801-11. doi:10.1056/NEJMoa1001671.
9. Krueger DA, Wilfong AA, Holland-Bouley K, Anderson AE, Agricola K, Tudor C, et al. Everolimus treatment of refractory epilepsy in tuberous sclerosis complex. *Ann Neurol.* 2013;74(5):679-87. doi:10.1002/ana.23960.
10. Bissler JJ, Kingswood JC, Radzikowska E, Zonnenberg BA, Frost M, Belousova E, et al. Everolimus for angiomylipoma associated with tuberous sclerosis complex or sporadic lymphangioleiomyomatosis (EXIST-2): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2013;381(9869):817-24. doi:10.1016/S0140-6736(12)61767-X.
11. Fukutomi E, Kimura Y, Wada T, Okumiya K, Matsubayashi K. Long-term care prevention project in Japan. *Lancet.* 2013;381(9861):116. doi:10.1016/S0140-6736(12)61134-9.
12. de Vries PJ, Wilde L, de Vries MC, Moavero R, Pearson DA, Curatolo P. A clinical update on tuberous sclerosis complex-associated neuropsychiatric disorders (TAND). *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2018;178(3):309-320. doi:10.1002/ajmg.c.31637.
13. Ryskalin L, Limanaqi F, Frati A, Busceti CL, Fornai F. mTOR-related brain dysfunctions in neuropsychiatric disorders. *Int J Mol Sci.* 2018;19(8):2226. doi:10.3390/ijms19082226.
14. McCormack FX, Inoue Y, Moss J, Singer LG, Strange C, Nakata K, et al. National Institutes of Health Rare Lung Diseases Consortium; MILES Trial Group. Efficacy and safety of sirolimus in lymphangioleiomyomatosis. *N Engl J Med.* 2011;364(17):1595-606. doi:10.1056/NEJMoa1100391.
15. Lechuga L, Franz DN. Everolimus as adjunctive therapy for tuberous sclerosis complex-associated partial-onset seizures. *Expert Rev Neurother.* 2019;19(10):913-925. doi:10.1080/14737175.2019.1635457.
16. Uysal SP, Şahin M. Tuberous sclerosis: a review of the past, present, and future. *Turk J Med Sci.* 2020;50(SI-2):1665-1676. doi:10.3906/sag-2002-133.
17. Moavero R, Mühlebner A, Luinenburg MJ, Craiu D, Aronica E, Curatolo P. Genetic pathogenesis of the epileptogenic lesions in Tuberous Sclerosis Complex: Therapeutic targeting of the mTOR pathway. *Epilepsy Behav.* 2022;131(PtB):107713. doi:10.1016/j.yebeh.2020.107713.
18. Schubert-Bast S, Strzelczyk A. Review of the treatment options for epilepsy in tuberous sclerosis complex: towards precision medicine. *Ther Adv Neurol Disord.* 2021;14:17562864211031100. doi:10.1177/17562864211031100.
19. Kingswood JC, Belousova E, Benedik MP, Budde K, Carter T, Cottin V, et al. TOSCA Consortium and TOSCA Investigators. Tuberous Sclerosis registry to increase disease awareness (TOSCA) Post-Authorisation Safety Study of Everolimus in Patients with Tuberous Sclerosis

- Complex. *Front Neurol.* 2021;12:630378. doi:10.3389/fneur.2021.630378.
20. Combes FP, Baneyx G, Coello N, Zhu P, Sallas W, Yin H, et al. Population pharmacokinetics-pharmacodynamics of oral everolimus in patients with seizures associated with tuberous sclerosis complex. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2018;45(5):707-719. doi:10.1007/s10928-018-9600-2.



Olgu Sunumu | Case Report

YENİDOĞAN DÖNEMİ TEKRARLAYAN KAN TRANSFÜZYONUNUN NADİR SEBEPLERİNDEN OSTEOPETROZİS: BİR OLGU SUNUMU

OSTEOPETROSIS, A RARE CAUSE OF RECURRENT BLOOD TRANSFUSION IN THE NEONATAL PERIOD: A CASE REPORT

Muharrem Çiçek^{1*}, Özlem Kalaycık Şengül², Merve Küçükberber¹, Sümeyra Doğan³, Emel Karaoğlan¹

¹Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul, Türkiye. ²Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Gastroenteroloji Kliniği, İstanbul, Türkiye. ³Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Pediatrik Radyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye.



Öz

Kemiklerde yaygın osteoskleroz ile karakterize genetik bir hastalık olan osteopetroziste, osteoklastların yıkım işlevindeki bozukluk klinik tabloya neden olmaktadır. Anormal kemik yapımı sonucunda kemik boşluğu daralır, kemik iliği yetersizliği gelişir ve ağır anemi, trombositopeni, lökopeni görülebilir. Ekstramedüller hematopoez nedeniyle hepatomegali ve splenomegali görülebilir. Bu çalışmada, pansitopeni ve hepatosplenomegali kliniğe ile başvuran 1,5 aylık osteopetrozis tanılı bir olgu sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Kan transfüzyonu, osteopetrozis, yenidoğan

ABSTRACT

Osteopetrosis, which is a genetic disease characterized by extensive osteosclerosis in the bones, causes the clinical picture due to the defect in the destruction function of osteoclasts. As a result of abnormal bone formation, the bone space narrows, bone marrow failure develops, and severe anemia, thrombocytopenia, leukopenia can be seen. Hepatomegaly and splenomegaly may be seen due to extramedullary hematopoiesis. In this study, a 1.5-month-old patient with a diagnosis of osteopetrosis who applied to the clinic with pancytopenia and hepatosplenomegaly is presented.

Keywords: Blood transfusion, osteopetrosis, newborn.

*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Muharrem Çiçek; Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği İstanbul, Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (212) 404 15 00 e-posta/e-mail: dr_mcicek@hotmail.com

Başvuru/Submitted: 02.11.2022

Kabul/Accepted: 27.08.2023

Online Yayın/Published Online: 21.10.2023

Bu eser, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır. Telif Hakkı © 2020 Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı



Giriş

Kemiklerde yaygın osteoskeroz ile karakterize genetik bir hastalık olan osteopetroziste, osteoklastların kemik yıkım işlevindeki bozukluk klinik tabloya neden olmaktadır. Anormal kemik yapımı sonucunda kemik boşluğu daralır, kemik iliği yetersizliği gelişir ve ağır anemi, trombositopeni, lökopeni görülebilir. Ekstramedüller hematopoez nedeniyle hepatomegali ve splenomegali gelişebilir. Otozomal resesif (OR) geçişli formu şiddetli klinik tabloya neden olur. Malign infantil osteopetroz (insidans 1:250.000 doğum), doğumdan hemen sonra ortaya çıkar ve tedavi edilmezse ölüme yol açabilir. Hastalar sıklıkla pansitopeniye bağlı enfeksiyon, kanama veya kalp yetmezliği nedeniyle kaybedilirler. Hastalığın tek kesin tedavisi kemik iliği transplantasyonudur. Diğer bir tipi ise otozomal dominant (OD) osteopetrozis (insidans 1:20.000 doğum) tipik olarak geç çocukluk veya ergenlik döneminde başlar ve hafif klinik tablo ile kendini göstermektedir.¹⁻⁴ Bu çalışmada, dış merkez yenidoğan yoğunbakım ünitesinde tekrarlayan kan transfüzyon öyküsü olan ve pansitopeni açısından tetkik amaçlı çocuk kliniğimize sevk edilen 1,5 aylık çocuk olgu üzerinden malign infantil osteopetrozise dikkat çekilmesi amaçlanmıştır.

Olgu Sunumu

Kırk beş günlük erkek bebek, pansitopeni nedeniyle tanısıyla tetkik ve tedavi amacıyla dış merkez yenidoğan yoğunbakım ünitesinden (YDYBÜ) çocuk kliniğimize kabul edildi. Prenatal dönem takiplerine gitmeyen 22 yaşındaki anneden sezaryen ile 38. gestasyonel haftasında, 2920 g doğduğu öğrenildi. Anne ve baba arasında birinci derece akrabalık mevcuttu. Postnatal ilk 24 saatinde hipoglisemi, yenidoğan erken sepsis ve trombositopeni (30.000/μL) ön tanıları ile dış merkez YDYBÜ'ye yatışı gerçekleştiği ve yatışı boyunca farklı zamanlarda anemi ve trombositopeniye yönelik üç kez intravenöz immunglobulin (IVIG), üç kez trombosit süspansiyonu (TS) ve bir kez eritrosit süspansiyonu (ES) verildiği öğrenildi. Fizik incelemede genel durumu orta, yenidoğan refleksleri canlıydı. Vücut sıcaklığı 36,4°C, solunum sayısı 36/dk, kalp hızı 131/dk idi. Frontal bölge çıkık ve geniş, bitemporal çapta belirgin artışın olduğu yüz görünümü mevcuttu. Karaciğer kosta altında üç cm, dalak kosta altında beş cm ele geliyordu ve diğer sistem muayenelerinde özellik yoktu. Laboratuvar incelemelerinde hemoglobin 9 g/dL, hematokrit %26,1, lökosit sayısı 1531/μL, nötrofil 565/μL, trombosit sayısı 11000/μL idi. Periferik yaymasında trombosit kümesi görülmeyp, iri trombositler, kemik iliği öncü hücreleri, myelositler izlendi. Biyokimyasal incelemelerinde aspartat aminotransferaz (AST) 139 U/L,

alanin aminotransferaz (ALT) 25 U/L, total bilirubin 1,3 mg/dL, direkt bilirubin 0,33 mg/dL, kalsiyum 8,7 mg/dL, fosfor 3,8 mg/dL, alkalin fosfataz 630 U/L bulundu. Kan gazları, böbrek fonksiyon testleri, total protein, albümin, PT, aPTT, tiroid fonksiyon testleri ve diğer elektrolitleri normal sınırlar içindeydi. Parathormon düzeyi 36,6 pg/ml (normal değeri: 5-52 pg/ml) ile normal bulundu. Anemi açısından yapılan tetkiklerinden direkt coombs testi negatif, vitamin B12, folik asit ve ferritin düzeyleri normal sınırlarda saptandı. Hepatosplenomegali ayırıcı tanısı açısından yapılan *Toxoplasma gondii*, rubella, sitomegalovirüs, *Herpes simplex*, hepatit serolojisi, Epstein-Barr ve Parvo virüslere yönelik incelemeler negatif saptandı.

Hastamızın servise yatışının ikinci gününde gaitada kanama olması üzerine bakılan kan sayımında trombosit değeri 17.000/μL ve hemoglobin 6,6 g/dL olması üzerine TS ve ES replasmanı yapıldı. Yenidoğan döneminden itibaren bu klinik tabloya neden olan hastalıklardan osteopetrozis ön tanısıyla çekilen tüm vücut radyografi sonrası yaygın osteoskleroz bulguları saptandı (Resim-1). Göz hastalıkları konsültasyonu ile değerlendirilen hastanın, ön segment doğal, bilateral optik disk soluk saptandı. Görsel uyarılmış potansiyel (VEP) testinin yapılabileceği bir merkeze yönlendirilmesi önerildi. Hastamız işitme muayenesi için yapılan BERA testini geçemedi ve işitme testi için ileri bir merkezde tekrardan değerlendirilmesi planlandı. Genetik uzmanı tarafından osteopetrozis ön tanısı ile uyumlu görünen hastadan, mutasyon analizi testleri gönderilmesi önerildi. Kurumumuzda ilgili genetik testler çalışılmadığı için ilgili genetik testler çalışılmadı.

Aile hastalıklı ilgili bilgilendirilip, hastamıza işitme, görme ve genetik testleri ile beraber kemik iliği nakli planlanarak, üst basamak merkeze başvurması önerilerek taburcu edildi. Yabancı ülke vatandaşı olan hasta, kurumumuz takibinden çıktığı için genetik sonucu ve akıbeti hakkında bilgi edinilemedi.

Tartışma

Hastalığın ağır şekli olan OR tipi, genellikle erken dönemde ağır trombositopeni, anemi, hepatosplenomegali, işitme ve görme kaybı ile seyretmektedir. Büyüme ve gelişme geriliği, tekrarlayan enfeksiyonlar, hipokalsemik konvülsiyon ve anormal yüz görünümü tabloya eşlik edebilir. Bu bulgularla başlangıçta doğru tanı koyabilmek sıklıkla güç olabilmektedir. Kemik dansitesinin artışına bağlı olarak medüller kavitenin daralmasıyla gelişen kemik iliği yetersizliği nedeniyle kan transfüzyonu gereksinimi osteopetrozisi hastaların en önemli sorunlarından biridir.



Şekil 1. Tüm vücut radyografide yaygın osteoskleroz

Üç ayın altındaki çocuklarda transfüzyon gereksinimi, hastalığın ağır ve prognozunu kötü olacağını göstermektedir. Anemi, trombositopeni, hepatosplenomegali ile beraber olası görme veya işitme kaybı olan vakaların direkt grafilerinde sklerotik kemik değişikliklerinin olması osteopetrozis tanısına yaklaşıdır.⁵ Hastamızda anemi, trombositopeni, hepatosplenomegaliye ek olarak kan transfüzyon öyküsü ve pediatrik radyolog tarafından yorumlanan radyografilerde kemik dansitesinde artış olması (Şekil 1) malign infantil osteopetrozisi düşündürdü. Olgumuzda genetik inceleme test sonuçlarına erişilememiş olsa da yaşamın ilk iki ayında olgumuzun bu şekilde ağır bir tabloyla karşımıza gelmesi ve soy geçmişinde son üç kuşakta başka olgunun görülmemesi OR osteopetrozisi desteklemektedir.

Sklerotik kemiklerin santral sinir sisteminde yaptıkları baskıya bağlı olarak körlük, sağırılık, hidrosefali, beyin sapı basısı bulguları gibi çok farklı tablolar görülebilir. Akustik ve optik sinirin geçtiği kanalların daralmasına bağlı görmede ve işitmede bozulma bu hastalıkta sık görülebilen bir bulgudur.⁵⁻⁸ Hastamız ilgili uzmanlar tarafından değerlendirildi. Hastamız ileri tetkik ve tanı amacıyla üst basamak merkezlere yönlendirildi.

Osteopetrozisin infantil malign formundaki hastalar genellikle erken dönemde kemik iliği yetersizliği ve ciddi enfeksiyon nedeniyle yaşamın ilk 10 yılında hayatlarını kaybetmektedirler. Bu hastalarda kanıtlanmış tek tedavi yöntemi kemik iliği naklidir.^{3,6,7} Olgumuzda aile hastalıkla ilgili bilgilendirilerek, olgumuza kemik iliği nakli yapılabilecek merkeze yönlendirilmiştir.

Sonuç olarak, malign infantil osteopetrozis nadir bir genetik hastalık olup, ülkemizdeki göçmen topluluk içinde akraba evliliği oranının yüksekliği nedeniyle bilinen insidansından daha fazla görüldüğünü düşünmekteyiz.

Yenidoğan döneminde anemi, trombositopeni, hepatosplenomegali gibi bulgular saptanan bebeklerde ayırıcı tanıda osteopetrozisin düşünülmesi ve nörolojik hasar gelişmeden bu hastalar erken dönemde kemik iliği nakline yönlendirilmelidir.

Açıklamalar

Bu çalışma, 2. Doğu Pediatri Kongresi'nde (29 Eylül-2 Ekim 2022, Diyarbakır, Türkiye) poster bildiri olarak sunulmuştur.

Etik Standartlara Uygunluk

Hasta ve/veya vekilinden yazılı onam alınmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Yazar Katkısı

MÇ, ÖKŞ, MK, SD, EK: Fikir; MÇ, ÖKŞ, SD: Tasarım; MÇ, ÖKŞ, MK, SD, EK: Yazım; MÇ, ÖKŞ, SD: Denetleme

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Kaynaklar



1. Even-Or E, Stepensky P. How we approach malignant infantile osteopetrosis. *Pediatr Blood Cancer*. 2021;68(3):e28841.
2. Akbalık M, Fışgın T, Kılıç M, et al. Osteopetrozis ve raşitizmin paradoksal birlikteliği: olgu sunumu. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2009;21(4):184-187.
3. Stark Z, Savarirayan R. Osteopetrosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2009;4:5.

4. Penna S, Villa A, Capo V. Autosomal recessive osteopetrosis: mechanisms and treatments. *Dis Model Mech.* 2021;14(5).
5. Çelik Y, Özkan BA, Balcı S, et al. Yenidoğan döneminde tanı alan osteopetrozis vakası. *Çocuk Dergisi.* 2008;8(4):257-260.
6. Diniz G, Kayserilioğlu E, Ortaç R, et al. Osteopetrozis: olgu sunumu ve yeni gelişmeler. *Türkiye Ekopatoloji Dergisi.* 2004;10(3-4):137-140.
7. Güleç SG, Ocak S, Çetinçelik Ü, et al. Malign infantil osteopetrozis: olgu sunumu. *JAREM.* 2014;4(3):121-124.
8. Çiftçi B, Çetin N. Osteopetrozis. *Turk J Rheumatol.* 2013;28(3):216-217.

Case Report | Olgu Sunumu

A RARE CASE OF PARANEOPLASTIC LIMBIC ENCEPHALIT: ANTI-YO ANTIBODY POSITIVE COLON ADENOCARCINOMA

NADİR GÖRÜLEN BİR PARANEOPLASTİK LİMBİK ENSEFALİT OLGUSU: ANTİ-YO ANTİKOR POZİTİF KOLON ADENOKARSİNOMU

 Fatma Ebru Algul^{1*},  Mehmet Tecellioglu¹

¹Inonu University, Faculty of Medicine, Department of Neurology, Malatya, Türkiye.



ABSTRACT

Paraneoplastic autoimmune encephalitis (PAE) is a rare clinical condition associated with malignancy, characterized by the development of neuropsychiatric symptoms. In the presence of malignancy, PAE develops without direct neoplastic invasion. Anti-Yo antibody is often associated with ovarian and breast cancers and is more common in women aged 60 and over than in men. We present a rare case of meningoencephalitis who was positive for anti-Yo antibody and had a history of colon cancer. A 77-year-old male patient with a diagnosis of colon adenocarcinoma presented with epileptic seizures and confusion. Biochemical analysis of cerebrospinal fluid was mild increase in protein level. Cranial MR revealed in bilateral cerebral hemispheres, characterized by cortical swelling with a vasogenic edema pattern. Anti-Yo antibody was positive in the serum. He was treated intravenous immunoglobulin at a dose of 0.4 mg/kg for 5 days and improved with no sequelae. Anti-Yo is an autoantibody often causing paraneoplastic cerebellar degeneration (PCD), whereas it is less commonly accompanied by autoimmune encephalitis. Anti-Yo antibody is often associated with ovarian and breast cancers, while its coexistence with colon adenocarcinoma is extremely rare. Accordingly, we found it worth presenting this case.

Keywords: Anti-Yo autoantibody, paraneoplastic cerebellar degeneration, colon adenocarcinoma, autoimmune encephalitis

ÖZ

Paraneoplastik otoimmün ensefalit (POE) nöropsikiyatrik semptomlarla karakterize olan, malignite ile ilişkili nadir görülen bir sendromdur. Malignite varlığında direk neoplastik invazyon olmadan gelişir. Anti-Yo antikoru ile ilişkili paraneoplastik sendromlar genellikle over ve meme kanseri ile ilişkilendirilmiş olup; 60 yaş üstü kadınlarda erkeklerden daha sık gözükmetedir. Biz de literatürde nadir gözükten kolon adenokarsinomuna eşlik eden, anti-Yo pozitif meningoensefalit gelişen erkek bir olgu sunmayı amaçladık. 77 yaşında, kolon adenokarsinom tanısı olan bir erkek hasta epileptik nöbet ve konfüzyon tablosu ile başvurdu. Beyin omurilik sıvısında ılımlı düzeyde protein artışı mevcuttu. Kranial MR'da bilateral serebral hemisferlerde yaygın kortikal vazojenik ödem izlendi. Serumda anti-Yo antikoru pozitif tespit edildi. 5 gün, 0,4 mg/kg dozunda intravenöz immunoglobulin (Ivlg) verilen hastada sekelsiz düzelme izlendi. Anti-Yo antikoru otoimmün ensefalitten ziyade genellikle paraneoplastik serebellar dejenerasyon (PSD) kliniğine sebep olur ve genellikle over ve meme kanseri ile ilişkilendirilmiştir. Literatürde kolon adenokarsinomu birlikteliği oldukça nadir bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Anti-Yo antikoru, paraneoplastik serebellar dejenerasyon, kolon adenokarsinom, otoimmün ensefalit

Introduction

Paraneoplastic syndromes refer to groups of symptoms occurring in patients with malignant neoplasms, often including endocrine and neurological disorders and seen in less than 10% of such patients. Paraneoplastic neurological syndromes (PNS) result in irreversible immune-mediated effects and thus require early diagnosis and treatment.¹

Autoimmune encephalitis (AE) is a rare and potentially reversible neurological disease. There are subtypes of AE characterized by antibodies against intracellular and extracellular proteins and cell surface antigens. These antibodies are closely associated with the underlying malignancy and are 'well-characterized' paraneoplastic or onconeural antibodies. In some forms of AE, evaluation reveals an underlying malignancy, placing this condition in the category of paraneoplastic autoimmune encephalitis (PAE). PAE is associated with the underlying malignancy and develops without direct neoplastic invasion of the malignancy and often presents as behavioral changes, memory and cognitive impairment, seizures, and movement disorders.²

To date, numerous autoantibodies causing PAE have been identified and one of the antibodies against intracellular antigens is known as Purkinje cell cytoplasmic antibody type 1 (PCA-1)-IgG (or anti-Yo antibody). Anti-Yo is an autoantibody responsible for half of the manifestations of paraneoplastic cerebellar degeneration (PCD) except for AE.³ Moreover, this autoantibody is considered to accompany cytotoxic T cells activated against immunodominant peptides produced from intracellular antigens.⁴

In this report, we present a rare case of meningoencephalitis who was positive for anti-Yo antibody and had a history of colon cancer.

Case Report

A 77-year-old male patient presented to the emergency service with a three-day history of staring into space lasted for seconds and confusion for one day. During emergency service admission, the patient had two generalized tonic-clonic seizures. He had a history of operated colon adenocarcinoma (in 2013), coronary artery disease (for the last four years), hypertension, and diabetes. On neurological examination, the patient was awake, cooperative, oriented, cranial nerve examination was normal, nuchal rigidity was absent, dysarthria was present, there was no paresis, cerebellar examination was normal, plantar reflex was bilaterally flexor, and deep tendon reflexes were normoactive in all extremities. Sensory examination was normal and there was no ataxia. Laboratory parameters showed no metabolic disorder except for hyperglycemia. Biochemical analysis of cerebrospinal fluid (CSF) showed protein 47 mg/dl, glucose 171 mg/dl (simultaneous blood sugar 400), and chlorine 130 mmol/L. Additionally, erythrocyte count was 960 and leukocyte count was 10

cell/mm³. (Lumbar puncture was initiated in another center and acyclovir 750 mg/day 3x1 g and ceftriaxone 2x1 g were administered on the third day of the treatment). No atypical cells or specific inflammation findings were detected in CSF cytology. CSF polyomavirus hominis 1 (BK-virus), herpes simplex virus (HSV) ½ polymerase chain reaction (PCR), John Cunningham (JC) virus, brucella PCR, Epstein-Barr virus (EBV) PCR, varicella zoster virus (VZV) PCR, tuberculosis (TBC) real-time PCR were negative. Cranial magnetic resonance imaging (MRI) revealed in both cerebral hemispheres, particularly in the left frontal cortex, left caudate nucleus, right thalamus, right perisylvian cortex, and right parieto-occipital cortex parenchyma areas characterized by cortical swelling with a vasogenic edema pattern (Figure 1). Pachymeningeal (dural) enhancement was observed in the right cerebral hemisphere, which was suggestive of meningoencephalitis and there was a lesion showing heterogeneous enhancement in the right occipital area (Figure 2).

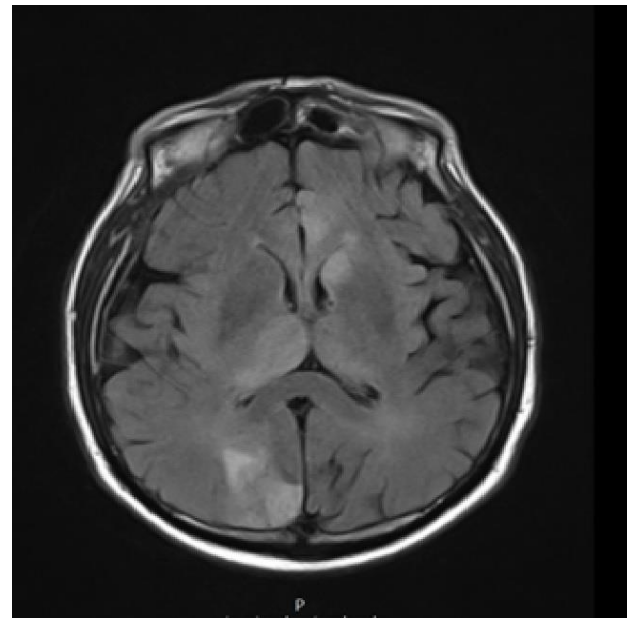


Figure 1. Cranial T2-Flair axial

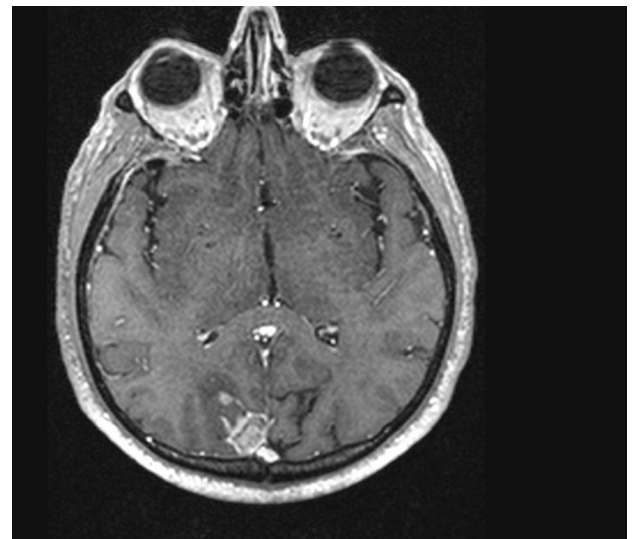


Figure 2. Cranial T1 with contrast

Electroencephalography (EEG) was normal. In contrast-enhanced lower and upper abdominal computed tomography (CT), cecum and the ascending colon were not observed, whereas an appearance indicative of ileocolic anastomosis was observed at the hepatic flexure level. Due to a preliminary diagnosis of paraneoplastic/autoimmune encephalitis, paraneoplastic antibody panel was sent, which showed anti-Yo antibody positivity. Due to the presence of drug-resistant focal motor seizures localized to the right arm and leg, the patient was initiated on valproic acid 3x500 mg and lamotrigine 2x50 mg. Additionally, the patient was given intravenous immunoglobulin (Ivlg) at a dose of 0.4 mg/kg for 5 days. At the end of the treatment, dysarthria improved with no sequelae and the patient was discharged with the recommendation of medical oncology and neurology outpatient clinic control. Approximately three months later, the patient presented to the emergency department with headache complaint and was detected with a new lesion in the left frontal region approximately 6x4 cm in size with irregular borders, showing contrast enhancement and causing vasogenic edema on cranial CT (Figure 3,4) and diffusion MR (Figure 5), thought to be metastasis. This lesion was not observed in previous imaging studies 3 months ago. The patient is still being followed up by neurology since surgical intervention is not recommended by the neurosurgery department. A written informed consent form was obtained from the patient.



Figure 3. Computerized brain tomography



Figure 4. Computerized brain tomography

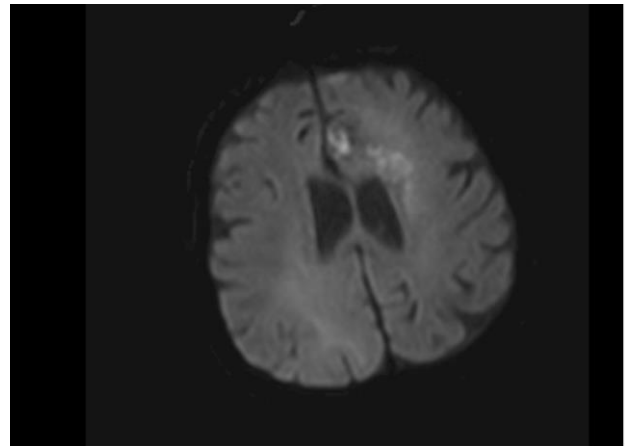


Figure 5. Diffusion MRI

Discussion

Paraneoplastic limbic encephalitis is a classic paraneoplastic neurological symptom, commonly accompanied by subacute sensory neuropathy, PCD, paraneoplastic opsoclonus-myoclonus (POM), Lambert-Eaton myasthenic syndrome (LEMS), and paraneoplastic peripheral nerve hyperexcitability.²

Anti-Yo is an autoantibody often causing PCD, with its main target being CDR2 protein which is mainly expressed in brain and testicular tissue. Anti-Yo antibody positivity is a potential marker of malignancy.¹

The symptoms of PCD often occur secondary to brain metastasis, direct invasion of the central nervous system by the tumor, infection, and metabolic disorder. PCD affects the midline of the vermis and cerebellum in the early period and often manifests with more severe findings than cerebellar hemisphere involvement. Moreover, it is often accompanied by acute or subacute truncal or limb ataxia, nystagmus, vertigo, dysarthria, and less commonly by diplopia and oscillopsia. The deficit is always bilateral but may sometimes be asymmetric. PCD usually occurs years before the onset of malignancy. Ovarian and breast cancer is seen in approximately 50% of patients with cerebellar ataxia who have anti-Yo positivity.⁵ In the literature, only one female⁶ and one male patient⁷ who were diagnosed with cholangiocarcinoma and developed anti-Yo-associated paraneoplastic cerebellar degeneration have been reported. Additionally, although there are few publications reporting on lung cancer in male patients with PCD and anti-Yo positivity, most of these patients have been detected with prostate and gastrointestinal adenocarcinomas.⁸

Cerebellar cognitive affective syndrome (CAS), which is characterized by impaired executive functions, visual-spatial memory, mild-to-moderate language disfunctions, and disinhibited or inappropriate behavior, can be observed in approximately 20% of patients with PCD. Moreover, paraneoplastic limbic encephalitis is often accompanied by PCD and CAS. In the literature, only two cases of anti-Yo-associated PCD associated with CAS secondary to breast cancer and ovarian cancer

without paraneoplastic limbic encephalitis have been reported.⁵

In the literature, 90 cases with autoimmune encephalitis associated with intracellular autoantibodies have been reported, and in these patients antibodies including anti-Ma, anti-Hu, anti-Yo, anti-Ri, anti-CV2, and anti-amphiphysin have been detected. Although seizures (69.1%) and cognitive impairment (79.1%) have been frequently reported in such patients, psychotic symptoms have been shown to be less prevalent. In the group of patients who developed autoimmune encephalitis associated with intracellular autoantibodies are mostly diagnosed with tumors. Immunotherapy treatment usually provides good outcomes, 45.6% of these patients have a good clinical course.⁵ Similarly, our patient also presented with seizures and he had a poor prognosis and developed brain metastasis during the follow-up period.

In the literature, limbic encephalitis has been rarely associated with colon adenocarcinoma.^{9,10} Tsukamoto et al. described an anti-Hu-positive female patient with colon adenocarcinoma who developed PCD and limbic encephalitis.⁹ Adam et al. reported on a female patient with anti-Yo-associated colon adenocarcinoma who had no cerebellar degeneration and developed limbic encephalitis.¹⁰ Our patient was a male patient diagnosed with colon adenocarcinoma and he was also positive for anti-Yo antibody and developed meningoencephalitis without cerebellar degeneration. Anti-Yo positivity in serum or CSF is a very strong indicator of PCD, but neurologic symptoms do not develop in 2% of cancer patients.¹⁰ These notions may explain the reason as to why our patient and the other patient in the literature had anti-Yo antibody positivity and had no neurological findings of cerebellar degeneration.

To the best of our knowledge, this case is the first male patient in the literature with a diagnosis of anti-Yo-associated colon adenocarcinoma who manifested with meningoencephalitis before the development of PCD.

The case presented in this report showed that paraneoplastic syndromes can have a diverse course and that it is not always correct to associate known paraneoplastic autoimmune antibodies with a specific syndrome. Paraneoplastic syndromes should be considered in patients with malignancy and unexplained neurological symptoms, and treatment should be planned accordingly.

Compliance with Ethical Standards

Written consent form was obtained from the patient.

Conflict of Interest

The author declares no conflicts of interest.

Author Contribution

MT: Conceived the ideas FEA, MT: Designed the experiments FEA: writing, literature review

Financial Disclosure

No financial support has been received for this article.

References

1. Pelosof LC, Gerber DE. Paraneoplastic syndromes: an approach to diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc.* 2010;85:838-854. doi:10.4065/mcp.2010.0099.
2. Honnorat J, Didelot A, Karantoni E, et al. Autoimmune limbic encephalopathy and anti-Hu antibodies in children without cancer. *Neurology* 2013;80:2226-2232. doi:10.1212/wnl.0b013e318296e9c3.
3. Broadley J, Seneriratne U, Beech P, et al. Prognosticating autoimmune encephalitis: A systematic review. *Journal of Autoimmunity* 2019;96:24-34. doi:10.1016/j.jaut.2018.10.014.
4. Dalmau J, Graus F, Villarejo A, et al. Clinical analysis of anti-Ma2-associated encephalitis. *Brain* 2004;127:1831-1844. doi:10.1093/brain/awh203.
5. De Beukelaar JW, Sillevs Smitt PA. Managing paraneoplastic neurological disorders. *Oncologist* 2006;11:292-305. doi:10.1634/theoncologist.11-3-292.
6. Lou Y, Xu S, Zhang S, Shu Q, Liu X. Anti-Yo antibody-positive paraneoplastic cerebellar degeneration in a patient with possible cholangiocarcinoma: A case report and review of the literature. *World Journal of Clinical Cases.* 2021;9(17);4423-4432. doi:10.12998/wjcc.v9.i17.4423.
7. Hasadsri L, Lee J, Wang BH, Yekkirala L, Wang M. Anti-yo associated paraneoplastic cerebellar degeneration in a man with large cell cancer of the lung. *Case Rep Neurol Med.* 2013;2013:725936. doi:10.1155/2013/725936.
8. Meglic B, Graus F, Grad A. Anti-Yo associated paraneoplastic cerebellar degeneration in a man with gastric adenocarcinoma. *J Neurol Sci* 2001;185:135-138. doi:10.1016/s0022-510x(01)00467-1.
9. Tsukamoto T, Mochizuki R, Mochizuki H, et al. Paraneoplastic cerebellar degeneration and limbic encephalitis in a patient with adenocarcinoma of the colon. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 1993;56:713-716. doi:10.1136/jnnp.56.6.713.
10. Adam VN, Budinčević H, Mršić V, Stojčić E, Matolić M, Markić A. Paraneoplastic limbic encephalitis in a patient with adenocarcinoma of the colon: a case report. *Journal of Clinical Anesthesia* 2013;25:491-495. doi:10.1016/j.jclinane.2013.03.014.

Case Report | Olgu Sunumu

PREVIOUSLY MISSED DIAGNOSIS OF HERLYN-WERNER-WUNDERLICH SYNDROME (OHVIRA SYNDROME) AND VAGINOSCOPIC SURGERY ACCOMPANIED BY FLUOROSCOPY

HERLYN-WERNER-WUNDERLICH SENDROMU (OHVIRA SENDROMU) VE FLOROSKOPI EŞLİĞİNDE VAJİNOSKOPİK AMELİYATI ÖNCE DEN ATLANAN TANI

 İlknur Benli Cesur¹,  Zerrin Ozcelik¹,  Dilek Kaplanoglu²,   Mustafa Kaplanoglu^{3*}

¹University of Health Sciences, Adana City Training and Research Hospital, Department of Pediatric Surgery, Adana, Türkiye. ²Yuregir Government Hospital, Department of Obstetric and Gynecology, Adana, Türkiye. ³Cukurova University, School of Medicine, Department of Obstetric and Gynecology, Adana, Türkiye.



ABSTRACT

Herlyn-Werner-Wunderlich (HWW) syndrome is a rare congenital malformation of the female urogenital tract characterized by uterus didelphys and occluded hemi-vagina and ipsilateral renal agenesis (OHVIRA) syndrome. We present a 16-year-old girl with abdominal pain, a rare and unusual treatment for this syndrome. The patient who underwent laparotomy with the preliminary diagnosis of a mass of approximately 15 cm in the left uterine segment, was diagnosed with USG and MRI after reocclusion of the existing vaginal segment and recovered after fluoroscopy and vaginoscopic segmental resection by us. The diagnosis of WWH syndrome was confirmed by ultrasonography and MRI. The case presented is the first vaginoscopic hymen-sparing surgery performed with fluoroscopy in the literature for rare HWW Syndrome.

Keywords: Pelvic pain, dysmenorrhea, mullerian anomaly, fluoroscopy, vaginotomy

ÖZ

Herlyn-Werner-Wunderlich (HWW) sendromu, uterus didelfisi ve tıkalı hemi-vajina ve ipsilateral renal agenezis (OHVIRA) sendromu ile karakterize, kadın ürogenital yolunun nadir görülen bir konjenital malformasyonudur. Bu sendromun nadir ve sıra dışı bir tedavisi olan karın ağrısı şikayeti olan 16 yaşında bir kız çocuğu sunuyoruz. Sol uterin segmentte yaklaşık 15 cm'lik kitle ön tanısı ile laparotomi uygulanan hasta USG ve MR ile mevcut vajinal segmentin reoklüzyonu yapılarak tarafımızca floroskopi ve vajinoskopik segmental rezeksiyon sonrası iyileşti. WWH sendromu tanısı ultrasonografi ve MRG ile doğrulandı. Sunulan olgu literatürde nadir görülen HWW Sendromu için floroskopi ile yapılan ilk vajinoskopik kızlık zarı koruyucu cerrahidir.

Anahtar Kelimeler: Pelvik ağrı, dismenore, mülleryan anomali, floroskopi, vajinoskopi

*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Mustafa Kaplanoglu; Cukurova University, School of Medicine, Department of Obstetric and Gynecology, Adana, Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (322) 338 60 60 e-posta/e-mail: mkaplanoglu@cu.edu.tr

Başvuru/Submitted: 26.12.2022

Kabul/Accepted: 06.09.2023

Online Yayın/Published Online: 21.10.2023

Introduction

Obstructed hemivagina and ipsilateral renal anomaly syndrome (OHVIRA Syndrome (OS)), also known as Herlyn Werner Wunderlich Syndrome, is a rare pathology that accounts for 0.16-10% of mullerian system anomalies. It was first reported by Purslow in 1922. Wunderlich in 1976, and Herlyn and Werner in 1983 reported similar cases and the name of this pathology began to be called "Herlyn-Werner-Wunderlich Syndrome".¹ In 2007, Smith and Laufer suggested that the name of this syndrome should be OHVIRA Syndrome as an abbreviation of existing pathologies.²

It has different variants that include uterine didelphis or complete uterine septum and renal anomalies (agenesis, dysgenesis).

OS is a pathology of the development of the female urogenital system. Here, the theory that the lower part of the vagina develops from the urogenital sinus, and the upper part of the vagina, uterus and tubae develops from the paramesonephric duct is insufficient to explain the development of OS. Acién's theory tried to explain this. According to Acién, the female genital tract consists of synovaginal bulbs that emerge from the distal mesonephric ducts connected to the urogenital sinus.

Therefore, pathology of mesonephric duct development may also disrupt bilateral paramesonephric duct development and cause an obstructed hemivagina and renal agenesis/dysgenesis.³

In our presented case, a 16-year-old patient with a regular menstrual cycle applied to the emergency department with acute abdomen. After the evaluation, an adnexal mass was detected and laparotomy was performed. In the laparotomy, uterine and possible vaginal anomalies were detected, abdominal hysterotomy was performed and hemivaginal patency was achieved. The patient applied to the pediatric surgery polyclinic again due to the recurrence of symptoms in the 4th postoperative month, and the patient was consulted to the Gynecology and Obstetrics Clinic, where it was found that the hemivaginal opening was closed. Then, vaginoscopic hymen-sparing segmental vaginal septum resection was performed using a hysteroscopy equipment. OS diagnosis, clinical treatment and especially minimally invasive treatment are presented through this case.

Case Report

A 16-year-old female adolescent patient with a gynecological age of 4 applied to the pediatric surgery clinic in an external center with acute abdomen symptoms. After the evaluation, laparotomy was performed with the preliminary diagnosis of adnexal mass. A uterine anomaly (uterus didelphis?) was detected at laparotomy. While the right uterine segment was in normal size, the left uterine segment was found to be approximately 15 cm in diameter. A hysterotomy was performed on the patient and the hemivaginal side of the

abdomen was perforated, blood flow was ensured vaginally, and the operation of the patient was terminated when a Foley drain exiting the vagina was placed. The patient, whose drain was removed 1 week later, applied to the same clinic again 4 months later due to inguinal pain. In the ultrasonography and MRI evaluation, uterus didelphis, two uterine cavities, cervix, left renal agenesis and partial vaginal atresia were detected, and the diagnosis was appeared to be OS. According to the OS classification made by Zhu et al in 2015, Class 1.1 anomaly (Completely obstructed hemivagina, no communication between the two hemiuteri, hemivagina containing a blind end) was detected.⁴ In the MRI evaluation, the right uterus was 41x22 mm and the endometrium was 5 mm. Left corpus uteri and cervix was full with blood and was 10x5 cm in size (hematometra), and blind vagina was full with blood (hematocolpos) and was 8x4 cm. Both ovaries were normal. Right kidney was observed in normal location and size, left kidney was not observed (agenesis) (Figure 1). The mass was thought to be due to the closure of the vaginal opening and was referred to an upper center Pediatric Surgery clinic. Due to the exacerbation of the patient's pain, who was followed up, an emergency operation was decided, but the operation could not be performed due to the Covid-19 pandemic conditions. For this reason, a drain from the abdominal wall to the uterine cavity was placed to gain time for the patient to relax and for proper surgical planning. The patient was then consulted to us. First, vaginoscopy was performed in order to plan the surgical treatment method. There, a single cervix was seen and the scar tissue of the previous vaginal septum incision was observed in the lower left part of the cervix.

It was decided to perform hemivaginal septum resection with hysteroscopy, since the patient's family particularly wanted the hymen to be preserved. Signed informed consent form was obtained from her family members. A hemivaginal septal resection was planned and performed by vaginoscopy for the patient whose full cavity (endometrial and vaginal) size and septum localization were determined in X-Ray scopy by giving radiopaque material preoperatively through the drain (Figure 2; Figure 3). During the procedure, the mass was filled with a radiopaque material, and the hemivaginal septum was resected directly, without damaging other tissues, accompanied by X-Ray scopy. (Figure 4). The operation was terminated with the placement of the drain coming out of the vaginal route (inflated with 80 cc of fluid) and the removal of the abdominal drain. During these procedures, the hymen was preserved. The patient was discharged on the 1st postoperative day, and the vaginal drain was removed 20 days later and the patient is being followed up by our clinic without any problems. (Figure 5).

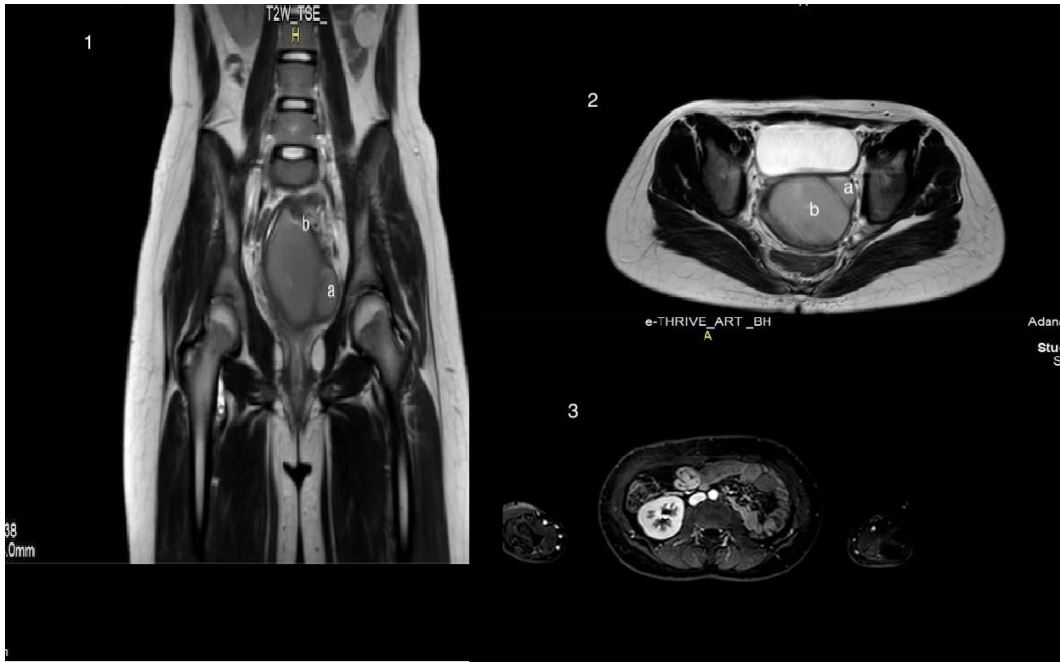


Figure 1. Longitudinal (1) and sagittal (2) MRI view of drained (a) and non-drained (b) uterine cavity and MRI view of unilateral renal agenesis (3)



Figure 2. Radiopaque passage from dilated uterine cavity, hemivagina and single tube is observed with X-Ray Scopy)



Figure 3. The segment to be dissected was determined with the help of scopy during hysteroscopy



Figure 4. With hysteroscopy, the hemivaginal septum can be opened and the upper vagina can be seen. Since the coagulum was emptied with the help of a drain before, there was no coagulum discharge.



Figure 5. Post-surgical follow-up MRI evaluation. The uterine cavity is emptied, but the cavity volume tension continues

Discussion

The theoretical and widely accepted view is that the development of the female genital tract occurs by the merging of the mesonephric (Wolf) and Paramesonephric (Muller) ducts and then their canalization. According to this theory, while the paramesonephric ducts on both sides merge in the midline and form the uterus, cervix and upper part of the vagina, the lower part of the vagina is formed from the urogenital sinus.¹ However, this hypothesis falls short of explaining some vaginal and uterine developmental anomalies (such as OS). Here, all components of OHVIRA can be explained using Acien's hypothesis. Here, the mesonephric duct has a critical role in the development of the paramesonephric duct. Coordination at all stages of development is essential for full urogenital development. The mesonephric duct and paramesonephric duct are in communication with different mediators and hormones at the stage when the mesonephric duct regresses to the cranial and forms the renal system, and at every stage of the formation of the paramesonephric duct. A developmental defect in the mesonephric duct will both adversely affect kidney development and disrupt the correct positioning of the

paramesonephric duct with which it is paired, and this may cause vaginal (septum, incomplete development) and uterus (didelphis) anomalies. The most common defect in the cranial regression of the mesonephric duct is cystic remnants in the vaginal wall (Gardner Cysts).³ Similar pathologies can also be detected in males. Zinner Syndrome is a rare congenital anomaly seen in males. This syndrome is characterized by male infertility, unilateral agenesis, seminal vesicle cysts, and ipsilateral ejaculatory duct obstruction. The name OSVIRA Syndrome OSVIRA (Obstructed Seminal Vesicle and Ipsilateral Renal Agenesis) is also suggested, based on the abbreviations OHVIRA Syndrome in females. With these findings, it has pathologies that can be explained by Acien's embryological development theory and can be considered as the equivalent of OHVIRA Syndrome in females.⁵

The most common clinical findings in OS are groin/abdominal pain, palpable abdominal mass, and acute abdominal pain with cyclic regular bleeding that begins shortly after menarche. In rare cases, it is encountered with difficulty in urination. The combined evaluation of anamnesis, ultrasonography and MRI findings is often necessary for definitive diagnosis. Laparoscopy is unnecessary for diagnosis. Obstructive hemivagina is the main cause of clinical findings. Hemoperitoneum, hematocolpos, pyocolpos, pelvic adhesion, acute abdomen, tuboovarian abscess, urinary incontinence, long-term endometriosis are possible complications.^{6,7} It is clear that definitive treatment is only possible with surgery. Hemihysterectomy, hemivaginectomy or salpingectomy, which are very aggressive treatment options, should be reserved for particularly complicated cases.⁸ In patients who do not have advanced complications, such as our case, the route of choice should be hymen-sparing surgery, especially if requested by families, and segmental septum resection with the help of hysteroscopy. We also suggest that in cases where a drain was placed through the abdominal wall, to prevent complications and to make the operation more comfortable, administering a radiopaque material fluoroscopically to ensure that hysteroscopy cuts the entire septum region. In the meantime, if there is no additional pathology, it is unnecessary to perform laparoscopy for the risk of endometriosis that may occur due to retrograde menstruation, especially in this group of patients. Laparoscopic surgery can be planned for patients with ongoing chronic pelvic pain and dysmenorrhea, especially for the diagnosis and/or treatment of endometriosis.

Many patients apply to emergency services with acute abdominal pain more than dysmenorrhea and are taken to surgery with a preliminary diagnosis of a mass before a definitive diagnosis can be made. However, in a limited number of cases, due to the connection between the vaginal or uterine cavities, patients may also apply due to infertility, dyspareunia, and intermittent mucous discharge. In these cases, since we cannot clearly see the semi-blood-filled vaginal cavity, the diagnosis with

ultrasonography is difficult and the diagnosis is often made with MRI.

Our presented case is a patient who had dysmenorrhea, but applied to the emergency department with abdominal pain and was taken to surgery for an adnexal mass. Here, it is aimed to give information about the stages until the final diagnosis and hymen-sparing surgery. Our case is the first case in the literature in terms of the way of diagnosis and especially surgery performed with scopy.

OS is a congenital anomaly of the urogenital system whose treatment is surgical. The diagnosis starts with suspicion, as the symptoms may differ according to the OS variants. Patient evaluation with detailed physical examination, ultrasonography and MRI is essential.⁸ Although the treatment is surgical, vaginoscopic vaginal septum segmental resection should be the method to be recommended because of its low cost, ease, minimal invasiveness, short hospitalization time and effectiveness, especially in cases where hymen preservation is desired by the family, as in our presented case. In addition, if the existing vaginal and uterine cavity can be filled with radiopaque material, segmental resection under scopy will protect against possible adjacent structure injuries, especially in cases where finding a safe area for resection is difficult.

Compliance with Ethical Standards

Consent was obtained from the patient.

Conflict of Interest

The authors report no conflicts of interest.

Author Contribution

Authors contributed equally to this work.

Financial Disclosure

None

References

1. Yang M, Wen S, Liu X, He D, Wei G, Wu S, Huang Y, Ni Y, Shi Y, Hua Y. Obstructed hemivagina and ipsilateral renal anomaly (OHVIRA): Early diagnosis, treatment and outcomes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2021;261:12-16.
2. Smith NA, Laufer MR. Obstructed hemivagina and ipsilateral renal anomaly (OHVIRA) syndrome: management and follow-up. *Fertil Steril.* 2007;87(4):918-922.
3. Acién P. Embryological observations on the female genital tract. *Hum Reprod.* 1992;7(4):437-445.
4. Zhu L, Chen N, Tong JL, Wang W, Zhang L, Lang JH. New classification of Herlyn-Werner-Wunderlich syndrome. *Chin Med J (Engl).* 2015 ;128(2):222-225. doi:10.4103/0366-6999.149208.
5. Aswani Y, Varma R, Choudhary P, Gupta RB. Wolffian Origin of vagina unfolds the embryopathogenesis of OHVIRA (Obstructed Hemivagina and Ipsilateral Renal Anomaly) syndrome and places OHVIRA as a female counterpart of zinner syndrome in males. *Pol J Radiol.* 2016;81:549-556.
6. Cheng C, Subedi J, Zhang A, Johnson G, Zhao X, Xu D, Guan X. Vaginoscopic incision of oblique vaginal septum in adolescents with OHVIRA syndrome. *Sci Rep.* 2019;9(1):20042.
7. Dogan A, Uyar I, Demirtas GS, et al. Urinary incontinence in puberty: a rare clinical presentation of the Herlyn-Werner-Wunderlich Syndrome. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2016;29(6):e101-e103
8. Gungor Ugurlucan F, Dural O, Yasa C, Kirpinar G, Akhan SE. Diagnosis, management, and outcome of obstructed hemivagina and ipsilateral renal agenesis (OHVIRA syndrome): Is there a correlation between MRI findings and outcome? *Clin Imaging.* 2020;59(2):172-178.