





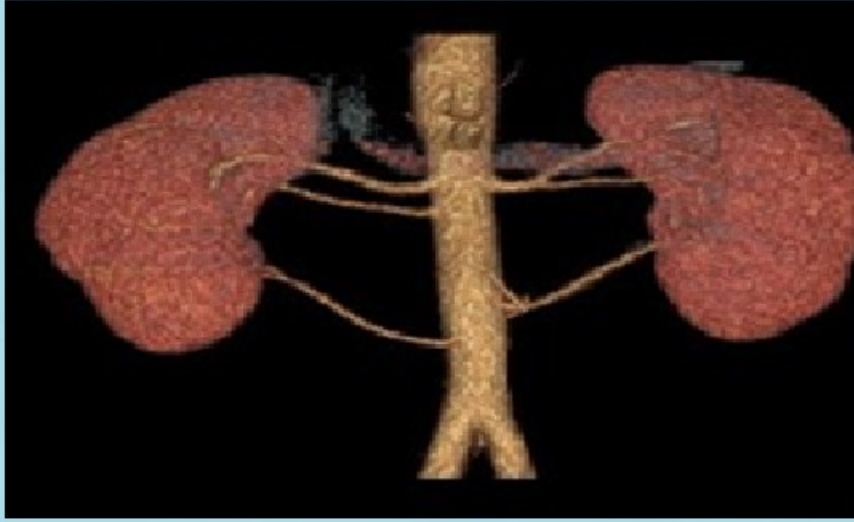
# *Acta Medica Nicomedia*

1996

Cilt: 7 - Sayı: 1 Şubat 2024 / Vol: 7 - Issue: 1 February 2024

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

e-ISSN: 2717-8994



Three-dimensional Volume Rendered Technique (VRT) imaging shows 3 renal arteries on the right and double renal arteries on the left, with variation and early branching



<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. Önder Kara, Kocaeli Üniversitesi

Prof. Dr. Zuhâl Gündoğdu, Kocaeli Üniversitesi

Doç. Dr. Uğur Demirsoy, Kocaeli Üniversitesi

Doç. Dr. Mustafa Ümit Uğurlu, Marmara Üniversitesi

Doç. Dr. Aylin Kanlı, Kocaeli Üniversitesi

Doç. Dr. Eviç Zeynep Akgün, Kocaeli Üniversitesi

Doç. Dr. Sibel Balcı, 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. Öğr. Üyesi 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

Nihal Zorlu, Acıbadem Hastanesi

**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**

29.02.2024

**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](mailto:actamednicomedia@kou.edu.tr)

[nicomediamedj@gmail.com](mailto:nicomediamedj@gmail.com)

Tel: +90 (262) 303 70 04

# ACTA MEDICA NICOMEDIA

## KAPAK SAYFASI

## SAYI KÜNYESİ

i-iii

## İÇİNDEKİLER

iv-v

### A. Araştırma Makalesi

- **The Evaluation of Iodine Levels in Urine and Nutrition in Pregnant Women According to Trimester** 1-10  
Rabiye Akin Isik, Kamile Marakoglu
- **Boyun Lenf Nodlarının Ultrasonografi Bulguları ve Benign-Malign Ayırımında Sonoelastografinin Değeri** 11-17  
Serdar Korkmaz, Esra Soyer Gldođan, Tuba Akdağ, Aydın Kurt
- **Investigation of The Effect of Kinesio Tape Application on Athletes on Performance** 17-22  
Cigdem Cekmece, Murat Son, Ilgin Sade
- **Sağlık Alanlarındaki niversite đrencilerinin Anatomi Dersine Yönelik Tutumlarının Sınav Kaygısı zerine Etkisi** 23-29  
Ayla Tekin Orha, Buket Rende
- **Üniversite đrencilerinin Human Papilloma Virüs ile İlgili Bilgi Düzeylerinin Değerlendirilmesi** 30-37  
Pınar Daylan Koçkaya, Esat Efe Çakır, Berkan ztrk, Serap Cansu Terzi, Muhammed Furkan Soylu, Muhammed Ali Barış, Sibel Çobanoğlu, Abdul Waris Rahmani, Edibe Selen Topaloğlu
- **Isolation of Highly Enriched Nuclear Proteome Using Optimized Methods from Neuroblastoma Cells** 38-51  
Ayimgül Uzunyol, Murat Kasap, Gürler Akpınar
- **Üveit ile Başvuran Hastaların Demografik ve Klinik Verileri: Tek Merkez Deneyimi** 52-56  
Yunus Emre Bayrak, Nihal şahin, Ecem nder Tokuç, Hafize Emine Sönmez, Levent Karabaş
- **Sistemik Lupus Eritematozus Hastalığında C-Reaktif Protein ve Pentraksin-3 Düzeylerinin Araştırılması** 57-62  
şükran Aslantaş, Nurdan Oruçoğlu, Merve Trkegn, Senay Balcı, Lülüfer Tamer
- **Acil Servise Başvuran Hastalarda Venöz Kan Gazı Parametrelerinin Güvenilirliğinin Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi** 63-67  
Enver Özçete, İlhan Uz, Gamze Tüzer, şahin Sağman, Nurali Lomanov

- **Esansiyel Trombositozlu Hastalarda Kalsiyum, Fosfor ve Arsenik Elementlerinin Analizi** 68-73  
Denizhan Karış, Tuba Özkan Tekin, Fatma Ateş, Güven Çetin, Alev Meltem Ercan
- **Postoperative Cognitive Dysfunction After Cardiac Surgery; Incidence and Risk Factors** 74-83  
Tülay Çardaközü, Zeki Talas, Nur Nazire Yucal, Sibel Gür, Huri Yeşildal, Şadan Yavuz
- **The Effects of Selective Courses on Student Satisfaction and Attitudes in Medical Education: The Case of Kocaeli Medical Faculty** 84-91  
Tuncay Çolak, Pınar Daylan Koçkaya, Mehmet Deniz Yener, Emre Kaygın
- **Management of Chest Pain in Pediatric Patients by Physicians at Different Levels** 92-97  
Kahraman Yakut, Umut Durak, Muhammed Talha Karadoğan, Cem Koray Fırat, Selçuk Uzuner, Yılmaz Yozgat
- **Differences in The Classical/Non-Classical Histopathological Findings of Psoriasis Patients According to Psoriasis Subtype, Disease Duration and Severity, Anatomical Region, and Clinical Presentation** 98-111  
Yıldız Gursel Urun, Gülden Karakalem, Nuray Can, Meltem Ayyıldız Mercan
- **Multidimensional Fatigue Inventory-20 Adaptation for Cancerrelated-Fatigue: Validity and Reliability Study into Turkish** 112-119  
Yasemin Özhanlı, Didem Kandemir, Açelya Türkmen, Sena Melike Özdamar, Gülbeyaz Can, Nevin Kanan, Ertuğrul Göksoy
- **Exploring The Role of sFRP-4, TFF-3, NF-κB and Romo1 Levels in Colorectal Cancer: Implications for Pathophysiology and Disease Progression** 120-126  
Sinem Durmus, Berrin Papila Kundaktepe, Cigdem Papila, Remise Gelisgen, Hafize Uzun
- **Evaluation of Donor Candidates Using Multi-Detector Computed Tomography Angiography in Preparation For Renal Transplantation** 127-135  
Demet Dogan, Kagan Gokce, Taner Kivilcim, Alp Gurkan
- B. Derleme**
- **Pankreas Duktal Adenokarsinomunda İlaç Direncinin Moleküler Temelleri, In Vitro, Ex Vivo ve In Vivo Preklinik Modellemeler** 136-147  
Yağmur Kaya, Ezel Bildik, Hilal Koçdor



## Research Article | Araştırma Makalesi

# THE EVALUATION OF IODINE LEVELS IN URINE AND NUTRITION IN PREGNANT WOMEN ACCORDING TO TRIMESTER

## GEBE KADINLARDA TRİMESTERLERE GÖRE İDRARDA İYOT DÜZEYLERİ VE BESLENME DURUMLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Rabiye Akin Isik<sup>1\*</sup>, Kamile Marakoglu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecologic Nursing, Faculty of Nursing, Hacettepe University, Ankara, Türkiye. <sup>2</sup>Department of Family Medicine, Faculty of Medicine, Selcuk University, Konya, Türkiye.



### ABSTRACT

**Objective:** Iodine deficiency is a major health problem globally that seriously affects pregnant women and children. The aim of this study was to evaluate urinary iodine levels in pregnant women living in the province of Konya according to trimester.

**Methods:** A total of 395 pregnant women aged between 15-49, with gestational periods of 1 to 40 weeks were included in the study. A questionnaire prepared by the researchers, with a total of 54 questions, was used to determine the socio-demographic, obstetric, and iodized salt nutritional characteristics of the participants.

**Results:** The overall median urinary iodine levels were 91.90 µg/L. The mean urinary iodine levels of the pregnant women in the first, second, and third trimesters were 104.00 µg/L in the first trimester, 93.00 µg/L in the second trimester, and 71.00 µg/L in the third trimester. The urinary iodine level was lower in the third trimester and this difference was significant ( $p<0.05$ ). The results revealed that 78.70% of the 395 women had iodine deficiency ( $<150\mu\text{g/L}$ ). Severe iodine deficiency ( $0-49\mu\text{g/L}$ ) was detected in 9.90% of pregnant women who were in the first trimester, 15.80% of the women in the second trimester, and in 34.40% of the women in the third trimester.

**Conclusion:** The pregnant women participating in this study had insufficient iodine levels in their urine, and this deficiency became more prominent as the trimesters continued.

**Keywords:** Nutrition, pregnancy, trimester, urinary iodine levels

### ÖZ

**Amaç:** İyot eksikliği, tüm dünyada gebe kadınları ve çocukları ciddi şekilde etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Araştırmada, Konya ilinde yaşayan gebelerde trimesterlere göre idrar iyot düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Araştırmaya, 1-40 hafta arasında gebeliği olan 15-49 yaş aralığındaki 395 gebe kadın dahil edilmiştir. Araştırmacılar tarafından oluşturulan soru formu, katılımcıların sosyo-demografik, obstetrik ve iyotlu tuz kullanma özelliklerini içeren beslenmeye yönelik 54 sorudan oluşmaktadır.

**Bulgular:** Katılımcıların, medyan idrar iyot düzeyleri 91,90 µg/L idi. Gebelerin birinci, ikinci ve üçüncü trimesterlerdeki medyan idrar iyot düzeyleri sırasıyla 104,00µg/L, 93,00µg/L ve 71,00µg/L idi. Üçüncü trimesterdeki idrar iyot düzeyi anlamlı olarak düşüktü ( $p<0,05$ ). 395 gebe kadının %78,70'inde iyot eksikliği ( $<150\mu\text{g/L}$ ) olduğu belirlenmiştir. Gebelerin birinci trimesterde %9,90'ında, ikinci trimesterde %15,80'inde ve üçüncü trimesterde %34,40'ında ciddi iyot eksikliği ( $0-49\mu\text{g/L}$ ) saptandı.

**Sonuç:** Sonuç olarak, bu çalışmaya katılan gebelerin idrar iyot düzeyi yetersizdi ve bu eksiklik trimester ilerledikçe daha belirgin hale gelmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Beslenme, gebelik, trimester, idrar iyot düzeyleri

\*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Rabiye Akin Isik; Department of Obstetrics and Gynecologic Nursing, Faculty of Nursing, Hacettepe University, Sıhhiye Campus, Ankara, 06100, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 507 680 42 27 e-mail/e-posta: akinrabia35@gmail.com

Submitted/Başvuru: 16.09.2022

Accepted/Kabul: 17.01.2024

Published Online/Online Yayın: 29.02.2024



## Introduction

Iodine is a trace element and it is found in the human body in only very small quantities. It plays a part in synthesizing the thyroid hormones required for normal development and growth.<sup>1,2</sup> Iodine constitutes 65% of thyroxine (T4) and 59% of triiodothyronine (T3), which are thyroid hormones that regulate cell activity and growth in all body tissues.<sup>1</sup> The thyroid gland produces these hormones and they control many metabolic events when passed into the blood, such as the regulation of body temperature and energy, mental development, and normal growth.

As a result of the increase in the production of maternal thyroxine production, there is also a greater need for iodine in the early stages of pregnancy. Iodine is critical for maintaining maternal euthyroidism, and is essential for meeting the requirements for thyroid hormones in the fetus before the start of fetal thyroid tissue functions.<sup>3,4</sup> However, increased iodine loss is observed during pregnancy due to the increase in the maternal glomerular filtration rate (GFR).<sup>5</sup> Therefore, pregnant women should consume sufficient iodine to maintain thyroid hormone production and so that the fetus can develop normally.<sup>6,7</sup> When pregnant women are not able to store sufficient quantities of iodine, this adversely affects maternal and fetal health, as the increasing need due to the pregnancy cannot be met.<sup>8-10</sup> It is known that maternal and fetal hypothyroidism can be caused during pregnancy by even mild to moderate iodine deficiency.<sup>11,12</sup> Severe iodine deficiency in this population can lead to growth retardation, cretinism, fetal brain development pathology, abortions, and perinatal infant death.<sup>8,13,14</sup> Iodine deficiency is a serious global health problems, and this is particularly the case in pregnant women and children.<sup>15</sup> Worldwide, 700 million people are affected by goiter, with 100 million of these living in Europe. Of the affected European population, 1 million suffer from mental retardation.<sup>16,17</sup> Therefore, the WHO (World Health Organization), UNICEF (United Nations International Children's Emergency Fund), and the ICCIDD (International Iodine Deficiency Disorders Control Council), have recommended that different groups be given iodine supplements as follows: preschool children (0-59 months): 90 µg daily; school-age children (6-12 years): 120 µg daily; adolescents (>12 years old): 150 µg daily; and pregnant and lactating women: 250 µg daily.<sup>18</sup> The WHO has found inadequate iodine intake globally among women who are pregnant, who have an average urinary iodine concentration (UIC) less than 150 µg/L.<sup>18</sup> Therefore, countries without routine salt iodine or supplementation programs should be concerned about how possible endemic iodine deficiency affects women of reproductive age.<sup>18,19</sup>

According to the results of epidemiological studies, Turkey is classified as an area with a mild to moderate iodine deficiency.<sup>20,21</sup> The Turkish Ministry of Health has launched a mandatory program of national salt iodization in order to increase iodine intake across the country. However, research has found that mild to moderate

iodine deficiency remains a problem in Turkey.<sup>20-22</sup> Therefore, we aimed in this study to determine UIC values in each of the three trimesters of pregnancy in the province of Konya, which is located in the center of Turkey. In addition, we aimed to investigate the relationship between the socio-demographic and obstetric characteristics of pregnant women and UIC.

## Methods

Approval for this prospective study was obtained from the Selcuk University Meram Faculty of Medicine Ethics Committees (2011/054; 24.02.2011). The study was carried out according to the Declaration of Helsinki, and all participants provided their written informed consent. Pregnant women between 15 and 49 years of age, who applied to Konya Faruk Sükan Maternity and Children's Hospital between June 1, 2011 and July 30, 2011 were prospectively included in this study. A total of 395 women, 131 of whom were in the first trimester, 133 of whom were in the second trimester, and 131 of whom were in the third trimester, were included in this study. Excluded were those with a past history of thyroid disease or any other chronic diseases, women who used thyroid drugs, and those who refused to take part.

### Questionnaire Information

The questionnaire was designed to gather information about the socio-demographic and obstetric characteristics of the pregnant woman, their use of iodized salt, salt storage conditions, and iodized eating habits. Socio-demographic data collected included the following: age, education level, employment status, profession, age of spouse, working status of spouse, education level, social security status, average family monthly income, and how the decision to get married was made. Obstetric data included whether or not the woman had previously given birth, the type of previous birth (vaginal or cesarean), whether there was a problem during the current pregnancy, history of thyroid disease in the family or herself, and medication used during the current pregnancy. The women were also questioned as to whether the salt they used at home contained iodine, how it was stored, the amount of daily salt consumption, the characteristics of the salt shaker, how often salt was added to food, source of drinking water, and seafood consumption.

### Determining Urinary Iodine Levels

Midstream urine was collected in deiodinized plastic tubes, and was then transferred into two 2 ml deiodinized Eppendorf tubes. The urine samples were placed in a deep freezer at -80 C prior to analysis, so that the samples could be analyzed simultaneously. Supernatants were taken following urine sample centrifugation (1500 rpm, three minutes, Hettich Mikro 200R centrifuge). Urine iodine levels (µg/L) were measured via a colorimetric method based on the Sandell-Kolthoff reaction with a ceric arsenic acid

solution in the biochemistry laboratory. The lowest level of detection for this method is 20 µg/L. The within run and between run CV values were 6.45% and 9.89%, respectively.

### Reference Ranges

Iodine insufficiency was classified according to the level of urinary iodine excreted. According to criteria determined by the WHO, urine iodine levels of less than 150 µg/L are insufficient, those between 150-249 µg/L are sufficient, those between 250 and 499 µg/L demonstrate an intake more than required, and those >500 µg/L are regarded as high, with no expected health benefits. In assessing the insufficiency, 100-149 µg/L were classified as mild iodine insufficiency, 50-99 µg/L as moderate iodine insufficiency, and <50 µg/L as severe iodine insufficiency.

### Statistical Analysis

The research data were analyzed with the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 18.0 program. Whether the data were normally distributed was determined via the Kolmogorov-Smirnov test with Lilliefors, a Histogram graph and normal distribution curve, Skewness and Kurtosis. Nonparametric tests were used to analyze non-normally distributed data. Descriptive statistics were presented as numbers, percentages, means, and standard deviations. To understand the relationship between dependent and independent variables, a Mann Whitney U test and a Kruskal-Wallis analysis of variance were carried out. A Chi-square test was used to determine differences between groups, and provided frequency distributions of categorical data. A Pearson Correlation analysis was employed to evaluate the relationship between the socio-demographic characteristics of the participants, obstetric characteristics, and urinary iodine levels. Correlation coefficients (r) were classified as follows: "very weak" between 0.000-0.249, "weak" between 0.250-0.499, "medium" between 0.500-0.699, "high" between 0.700-0.899, and "very high" between 0.900-1.000. A 95.0% confidence interval and a significance level of  $p < 0.05$  were used for the results.

### Results

The socio-demographic characteristics of the 395 pregnant women participating are given in Table 1. Their mean age was  $25.65 \pm 5.17$  years, their mean age at marriage was  $20.40 \pm 3.39$  years, and the mean age of their spouses was  $29.73 \pm 5.66$  years. Of those participating in the study, 93.20% were housewives, 61.00% were primary school graduates (or below), 64.80% lived in nuclear families, and 68.60% perceived their income as "bad". Of the spouses, 53.40% were primary school graduates (or below) and the average number of cigarettes their spouses smoked per day was  $16.11 \pm 9.11$ . When the obstetric characteristics of the pregnant women were evaluated, the mean number of

pregnancies was  $2.53 \pm 1.50$ , 34.40% had not given birth before, 18.70% had previously had a miscarriage, and 50.40% had had a prior normal delivery. When the pregnant women were asked whether they had any problems in their previous pregnancy, 17.70% stated that they had problems (5.80% abortion, 3.30% bleeding, and 1.30% stillbirth). Only 12.40% of the pregnant women stated that their thyroid hormones had been checked, and 17.20% stated that there was a family history of thyroid disease.

Ninety-percent of the pregnant women stated that they consumed iodized salt when at home, 48.90% used 1-2 teaspoons of iodized salt daily, and 74.60% had consumed iodized salt for longer than 5 years. Of the participants, 66.60% reported consuming seafood once a month, 61.30% that they had consumed goitrogenic foods in the three months before their pregnancy, while 30.60% had consumed goitrogenic foods in the first three months of pregnancy.

The relationship between UIC levels according to the socio-demographic characteristics and obstetric characteristics of the participants is shown in Table 2. The median UIC level of the 395 pregnant women in this study was 91.90 µg/L (mean:  $104.54 \pm 71.68$  µg/L). The median UIC level of the 131 women who were in the first trimester was 104.00 µg/L (mean  $117.83 \pm 76.71$  µg/L), the median UIC level of the 133 pregnant women in the second trimester was 93.00 µg/L (mean:  $107.59 \pm 63.50$  µg/L), and the median UIC level of the 131 pregnant women in the third trimester was 71.00 µg/L (mean:  $88.13 \pm 71.67$  µg/L). The UIC levels of the women in the third trimester were significantly less than of the women in the first and second trimesters ( $p < 0.05$ ). In addition, the UIC levels of those living in a large family, those who had conceived intentionally, those who were checked for thyroid hormones during pregnancy, those who had used iodized salt for more than five years, and those who consumed goitrogenic foods in the first three months of pregnancy were significantly lower ( $p < 0.05$ ). No significant differences were found in terms of the other parameters studied.

The results indicated that 78.70% of the 395 women participating had insufficient UIC levels (<150 µg/L) (Table 3). It was determined that 77.90% of the women in the first trimester, 75.90% of those in the second trimester, and 82.40% of those in the third trimester had insufficient UIC levels (<150 µg/L). UIC level insufficiency between trimesters was not significantly different ( $p > 0.05$ ) (Table 4). Severe iodine insufficiency (0-49 µg/L) was detected in 9.90% of the 131 women in the first trimester, in 15.80% of the 133 women in the second trimester, and in 34.40% of the 131 women in the third trimesters. Those in the third trimester had significantly higher severe iodine insufficiency than those in the other trimesters ( $p < 0.05$ ).

**Table 1.** Socio-demographic and obstetric characteristics of pregnant women and their use of iodized salt

Variables	n	%	Variables	n	%
<b>Gestational age</b>			<b>Abortion</b>		
1st trimester	131	33.20	No	321	81.30
2nd trimester	133	33.60	Yes	74	18.70
3rd trimester	131	33.20	<b>Form of delivery</b>		
<b>Age</b>			Normal birth	199	50.40
17-19	42	10.60	Cesarean	60	15.20
20-24	137	34.70	<b>Number of children</b>		
25-29	120	30.40	0	136	34.40
30-34	71	18.00	1	130	32.90
35-41	25	6.30	2	83	21.10
<b>Education status</b>			3 or more	46	11.60
Literate	59	14.90	<b>Having problems with a previous pregnancy</b>		
Primary school	182	46.10	No	325	82.30
Middle school	93	23.50	Yes	70	17.70
High school or equivalent	41	10.40	<b>Having problems in current pregnancy</b>		
University and/or post-graduate	20	5.10	No	359	90.90
<b>Profession</b>			Yes	36	9.10
Housewife	368	93.20	<b>Planned pregnancy</b>		
State employee	14	3.50	No	64	16.20
Private employee or self-employed	13	3.30	Yes	331	83.80
<b>Social security</b>			<b>Kinship history between spouses</b>		
No	102	25.80	No	331	83.80
Yes	293	74.20	Yes	64	16.20
<b>Civil marriage</b>			<b>Evaluation of thyroid hormones during pregnancy</b>		
No	24	6.10	No	346	87.60
Yes	371	93.90	Yes	49	12.40
<b>Family type</b>			<b>History of thyroid disease in the husband's family</b>		
Nuclear family	256	64.80	No	327	82.80
Extended family	139	35.20	Yes	68	17.20
<b>Inhabitants of household</b>			<b>Use of iodized salt</b>		
Husband and children	256	64.80	No	37	9.40
Mother-in-law	24	6.10	Yes	358	90.60
Wife's family	106	26.80	<b>Duration of using iodized salt</b>		
Single-person household	9	2.30	>5 years	91	25.40
<b>Place of longest residence</b>			<5 years	267	74.60
Rural area	130	32.90	<b>Daily salt consumption</b>		
City center	265	67.10	1-2 teaspoons	175	48.90
<b>Marriage decision</b>			1-2 dessertspoons	108	30.20
Arranged	237	60.00	1-2 tablespoons	75	20.90
Love	158	40.00	<b>Salt storage container</b>		
<b>Perceived income</b>			Glass jar	283	71.60
Bad	271	68.60	Plastic container	79	20.00
Moderate	118	29.90	Salt bag	33	8.40
Good	6	1.50	<b>Salt-shaker material</b>		
<b>Smoking status during pregnancy</b>			Clear or dark glass	283	71.60
No	336	85.10	Porcelain	26	6.60
Yes	59	14.90	Plastic	86	21.80
<b>Educational status of husband</b>			<b>Time at which salt added to meals</b>		
Illiterate	14	3.50	Before cooking	179	45.40
Literate	23	5.80	Close of cooking	170	43.00
Primary school	174	44.10	During eating	46	11.60
Middle school	91	23.00	<b>Type of drinking water used</b>		
High school or equivalent	65	16.50	Drinking water	166	42.00
University and/or post-graduate	28	7.10	Spring water (ready water)	45	11.40
<b>Husband's profession</b>			Fresh water (without fountain)	184	46.60
Unemployed	27	6.80	<b>Seafood consumption</b>		
State employee	27	6.80	None	103	26.10
Private employee	189	47.80	2-3 times a week	29	7.30
Self-employed	148	37.50	Once a month	263	66.60
Retired	4	1.10	<b>Goitrogenic food consumption 3 months before pregnancy</b>		
<b>Husband's smoking status</b>			Yes	242	61.30
No	175	44.30	No	153	38.70
Yes	220	55.70	<b>Goitrogenic food consumption in the first 3 months of pregnancy</b>		
<b>Parity</b>			Yes	274	69.40
No	136	34.40	No	121	30.60
Yes	259	65.60			
<b>Curettage</b>					
No	322	81.50			
Yes	73	18.50			

**Table 2.** Relationship between UIC levels according to the socio-demographic and obstetric characteristics of the pregnant women

Variables	UIC µg/L	Significance Tests
<b>Gestational age</b>		
1st trimester	104.00	
2nd trimester	93.00	KW:20.106
3rd trimester	<b>71.00***</b>	<b>p:0.000*</b>
<b>Age</b>		
17-19	84.66	
20-24	89.40	
25-29	97.66	
30-34	89.33	KW:3.482
35-41	79.00	p:0.481***
<b>Education status</b>		
Literate	92.00	
Primary school	88.66	
Middle school	98.00	
High school or equivalent	93.00	KW:2.316
University and/or post-graduate	72.00	p:0.678***
<b>Profession</b>		
Housewife	92.10	
State employee	76.33	KW:1.076
Private employee or self-employed	106.00	p:0.584***
<b>Education status of husband</b>		
Illiterate	95.00	
Literate	91.00	
Primary school	86.50	
Middle school	93.00	
High school or equivalent	99.66	KW:4.502
University and graduate	93.00	p:0.480***
<b>Husband's profession</b>		
Unemployed	106.00	
State employee	82.00	
Private employee	91.00	
Self-employed	92.50	KW:2.898
Retired	68.50	p:0.575***
<b>Family type</b>		
Nuclear family	96.00	z:-2.396
Extended family	86.00	<b>p:0.017**</b>
<b>Inhabitants of household</b>		
Husband and children	98.00	
Mother-in-law	77.50	
Wife's family	<b>81.00</b>	<b>KW:12.635</b>
Single-person household	129.00	<b>p:0.005*</b>
<b>Marriage decision</b>		
Arranged	89.40	KW:0.258
Love	95.66	p:0.879***
<b>Perceived income</b>		
Bad	90.60	
Moderate	96.50	KW:0.741
Good	106.50	p:0.691***
<b>Social security</b>		
No	91.25	z:-0.278
Yes	92.00	p:0.781**
<b>Place of longest residence</b>		
City center	94.33	z:-1.037
Rural area	87.33	p:0.300**
<b>Civil marriage</b>		
No	77.00	z:-1.173
Yes	92.60	p:0.241**
<b>Smoking status during pregnancy</b>		
No	91.10	z:-1.634
Yes	98.66	p:0.102**
<b>Husband's smoking status</b>		
No	97.60	z:-1.358
Yes	88.60	p:0.174**
<b>Parity</b>		
No	91.20	z:-0.404
Yes	93.50	p:0.686**
<b>Curettage</b>		
No	91.45	z:-0.488

Variables	UIC µg/L	Significance Tests
Yes	97.00	p:0.625**
<b>Abortion</b>		
No	91.77	z:-0.230
Yes	93.50	p:0.818**
<b>Form of delivery</b>		
Normal birth	96.00	z:-0.892
Cesarean	85.00	p:0.373**
<b>Number of children</b>		
0	91.20	
1	98.60	
2	80.00	KW:2.975
3 or more	97.50	p:0.395***
<b>Having problems with a previous pregnancy</b>		
No	91.50	z:-0.826
Yes	94.25	p:0.409**
<b>Planned pregnancy</b>		
No	104.50	z:-2.073
Yes	90.33	<b>p:0.038***</b>
<b>Kinship history between spouses</b>		
No	91.54	z:-0.419
Yes	96.00	p:0.675
<b>Evaluation of thyroid hormones during pregnancy</b>		
No	93.33	z:-2.488
Yes	71.00	<b>p:0.013**</b>
<b>History of thyroid disease in husband's family</b>		
No	92.22	z:-0.886
Yes	83.50	p:0.376**
<b>Use of iodized salt</b>		
No	77.00	z:-0.817
Yes	92.36	p:0.414**
<b>Duration of using iodized salt</b>		
>5 years	79.50	z:-2.847
<5 years	97.50	<b>p:0.04**</b>
<b>Daily salt consumption</b>		
1-2 teaspoons	91.44	
1-2 dessertspoons	95.50	KW:0.340
1-2 tablespoons	90.66	p:0.844***
<b>Salt storage container</b>		
Glass jar	92.62	
Plastic container	77.66	KW:1.519
Salt bag	93.00	p:0.468***
<b>Salt-shaker material</b>		
Clear or dark glass	92.55	
Porcelain	83.00	KW:0.201
Plastic	91.50	p:0.905***
<b>Time salt added to meals</b>		
Before cooking	89.00	
Close of cooking	97.00	KW:1.646
During eating	96.33	p:0.439***
<b>Type of drinking water used</b>		
Drinking water	83.33	
Spring water (ready water)	99.00	KW:4.525
Fresh water (without fountain)	97.00	p:0.104***
<b>Seafood consumption</b>		
None	84.00	
2-3 times a week	86.00	KW:3.222
Once a month	96.50	p:0.200***
<b>Goitrogenic food consumption 3 months before pregnancy</b>		
Yes	86.50	z:-0.770
No	95.40	p:0.441**
<b>Goitrogenic food consumption in the first 3 months of pregnancy</b>		
Yes	87.40	<b>z:-3.054</b>
No	104.80	<b>p:0.002**</b>

\* The group that made the difference in the examination with the Bonferroni-corrected Mann-Whitney U test

\*\* Mann-Whitney U test

\*\*\* Kruskal-Wallis variance analysis



**Table 3.** Relationship between the socio-demographic data of the pregnant women and urinary iodine insufficiency

Variables	UIC<150 µg/L (n=311)		UIC>150 µg/L (n=84)		All pregnant (n=395)		p
	n	%	n	%	n	%	
<b>Gestational age</b>							
1st trimester	102	77.90	29	22.10	131	33.20	0.416*
2nd trimester	101	75.90	32	24.10	133	33.60	
3rd trimester	108	82.40	23	17.60	131	33.20	
<b>Age</b>							
17-19	35	83.30	7	16.70	42	10.60	0.783*
20-24	111	81.00	26	19.00	137	34.70	
25-29	91	75.80	29	24.20	120	30.40	
30-34	55	77.50	16	22.50	71	18.00	
35-41	19	76.00	6	24.00	25	6.30	
<b>Profession</b>							
Housewife	288	78.30	80	21.70	368	93.20	0.418*
State employee	13	92.90	1	7.10	14	3.50	
Private employee or self-employed	10	76.90	3	23.10	13	3.30	
<b>Education status</b>							
Literate	46	78.00	13	22.00	59	14.90	0.750*
Primary school	148	81.30	34	18.70	182	46.10	
Middle school	69	74.20	24	25.80	93	23.50	
High school or equivalent	32	78.00	9	22.00	41	10.40	
University and/or post-graduate	16	80.00	4	20.00	20	5.10	
<b>Education status of husband</b>							
Illiterate	11	78.60	3	21.40	14	3.50	0.653*
Literate	15	65.20	8	34.80	23	5.80	
Primary school	141	81.00	33	19.00	174	44.10	
Middle school	72	79.10	19	20.90	91	23.00	
High school or equivalent	51	78.50	14	21.50	65	16.50	
University and/or post-graduate	21	75.00	7	25.00	28	7.10	
<b>Husband 's profession</b>							
Unemployed	18	66.70	9	33.30	27	6.80	0.449*
State employee	21	77.80	6	22.20	27	6.80	
Private employee	149	78.80	40	21.20	189	47.80	
Self-employed	119	80.40	29	19.60	148	37.50	
Retired	4	100.00	0	0.00	4	1.00	
<b>Social security</b>							
No	82	80.40	20	19.60	102	25.80	0.635*
Yes	229	78.20	64	21.80	293	74.20	
<b>Civil marriage</b>							
No	20	83.30	4	16.70	24	6.10	0.570*
Yes	291	78.40	80	21.60	371	93.9	
<b>Parity</b>							
No	106	77.90	30	22.10	136	65.60	0.780*
Yes	205	79.20	54	20.80	259	34.40	
<b>Curettage</b>							
No	258	80.10	64	19.90	322	81.50	0.156*
Yes	53	72.60	20	27.40	73	18.50	
<b>Abortion</b>							
No	252	78.50	69	21.50	321	81.30	0.816*
Yes	59	79.70	15	20.30	74	18.70	
<b>Form of delivery</b>							
Normal birth	157	78.90	42	21.10	199	76.80	0.853*
Cesarean	48	80.00	12	20.00	60	23.20	
<b>Number of children</b>							
0	106	77.90	30	22.10	136	34.40	0.202*
1	96	73.80	34	26.20	130	32.90	
2	71	85.50	12	14.50	83	21.00	
3 and more	38	82.60	8	17.40	46	11.60	
<b>Having problems with a previous pregnancy</b>							
No	254	78.20	71	21.80	325	82.30	0.544*
Yes	57	81.40	13	18.60	70	17.70	
<b>Planned pregnancy</b>							
No	47	73.40	17	26.60	64	16.20	0.258*
Yes	264	79.80	67	20.20	331	83.80	
<b>Kinship history between spouses</b>							
No	258	77.90	73	22.10	331	83.80	0.384*
Yes	53	82.80	11	17.20	64	16.20	

Variables	UIC<150 µg/L (n=311)		UIC>150 µg/L (n=84)		All pregnant (n=395)		p
	n	%	n	%	n	%	
<b>Use of iodized salt</b>							
No	29	78.40	8	21.60	37	9.40	0.956*
Yes	282	78.80	76	21.20	358	90.60	
<b>Duration of using iodized salt</b>							
>5 years	79	86.80	12	13.20	91	25.40	<b>0.030*</b>
<5 years	203	76.00	64	24.00	267	74.60	
<b>Daily salt consumption</b>							
1-2 teaspoons	138	78.90	37	21.10	175	48.90	0.866*
1-2 dessertspoons	83	76.90	25	23.10	108	30.20	
1-2 tablespoons	60	80.00	15	20.00	75	20.90	
<b>Salt storage container</b>							
Glass jar	221	78.10	62	21.90	283	71.60	0.854*
Plastic container	64	81.00	15	19.00	79	20.00	
Salt bag	26	78.80	7	21.20	33	8.40	
<b>Salt-shaker material</b>							
Clear or dark glass	223	78.80	60	21.20	283	71.60	0.972*
Porcelain	20	76.90	6	23.10	26	6.60	
Plastic	68	79.10	18	20.90	86	21.80	
<b>Time salt added to meals</b>							
Before cooking	133	80.10	33	19.90	166	42.00	0.614*
Close of cooking	33	73.30	12	26.70	45	11.40	
During eating	145	78.80	39	21.20	184	46.60	
<b>Type of drinking water used</b>							
Drinking water	86	83.50	17	16.50	103	26.10	0.317*
Spring water (ready water)	21	72.40	8	27.60	29	7.30	
Fresh water (without fountain)	204	77.60	59	22.40	263	66.60	
<b>Seafood consumption</b>							
None							0.382*
2-3 times a week	117	76.50	36	23.50	153	38.70	
Once a month	194	80.20	48	19.80	242	61.30	
<b>Salt storage container</b>							
Glass jar							<b>0.050*</b>
Plastic container	223	81.40	51	18.60	274	69.40	
Salt bag	88	72.70	33	27.30	121	30.60	
<b>BMI</b>							
<18.5-24.90	116	80.00	29	20.00	145	37.50	0.497*
25-29.90	160	78.00	45	22.00	205	53.00	
30-44.90	32	86.50	5	13.50	37	9.50	

\*Chi-square test

**Table 4.** Relationship between iodine insufficiency level and trimester

Iodine deficiency level	1st trimester (n=131)		2nd trimester (n=133)		3rd trimester (n=131)		All women (n=395)		χ <sup>2</sup>	p
	n	%	n	%	n	%	n	%		
<50 µg/L	13	9.90	21	15.80	45	34.40*	79	20.00	33.664	<b>0.000*</b>
50-99 µg/L	48	36.60	51	38.30	46	35.10	145	36.70		
100-149 µg/L	41	31.30	29	21.80	17	13.00	87	22.00		
150-249 µg/L	22	16.80	27	20.30	18	13.70	67	17.00		
≥250 µg/L	7	5.40	5	3.80	5	3.80	17	4.30		

\*Chi-square test

A weak and negative correlation was determined between UIC and gestational week ( $r=-0.175$ ,  $p=0.001$ ). No relationship was found between the UIC level and mother's age ( $r=-0.035$ ,  $p=0.577$ ), age at marriage ( $r=-0.132$ ,  $p=0.036$ ), duration of marriage ( $r=-0.030$ ,  $p=0.632$ ), monthly family income ( $r=-0.035$ ,  $p=0.582$ ), number of children ( $r=-0.021$ ,  $p=0.738$ ), and children's ages ( $r=-0.073$ ,  $p=0.245$ ) ( $p>0.05$ ) (Table 5).

**Table 5.** Relationship between some characteristics of the pregnant women and the level of iodine excreted in urine

UIC	Pregnancy week	Age of the pregnant woman	Marriage age	Duration of marriage	Family income	Number of children	Children's ages
R	0.175	-.035	-0.132	-0.030	-.035	-0.021	-0.073
P	<0.005	>0.577	>0.036	>0.632	>0.582	>0.738	>0.245

## Discussion

As a result of an increase in renal iodine clearance, an increase in production of thyroid hormone, and the iodine transplacental passage to the fetus, pregnant women require more iodine than they did prior to conceiving, and are therefore susceptible to iodine deficiency.<sup>23</sup> Women who are pregnant require 250 µg or more iodine/day, which is more than that required for women of reproductive age who are not carrying a child.<sup>18</sup> Pregnant women meet most of this iodine requirement through the foods they eat. More than 90% of the necessary iodine in the human body is consumed in foods, and most of the iodine in the diet is excreted by the kidneys.<sup>24</sup> Therefore, UIC serves as a useful way of measuring iodine intake.<sup>25,26</sup> A median UIC of 150-249 µg/L during pregnancy indicates that the quantity of iodine being taken in is adequate.<sup>18</sup> Iodine deficiency and its related problems continue to be a major health problem for children and pregnant women worldwide. As much as 31% of the global population, especially in South Asia and Europe, is thought to be affected by iodine deficiency.<sup>16-18</sup> Even women living in countries where iodine is sufficient often suffer from iodine deficiency during pregnancy as a result of their increased need for iodine when pregnant.<sup>19,27,28</sup> Mandatory and voluntary programs to supplement food with iodine have been initiated in various locations worldwide in order to prevent the disorders caused by iodine deficiency. Fortifying salt with iodine was made mandatory in Turkey in 1998. The 2008 Turkey Demographic and Health Survey (TDHS) reported that Turkey has an iodized salt consumption rate of 85.3% overall, with 89.9% in city centers and 71.5% in other areas.<sup>29</sup> The results of the current study, indicating that 90.6% of participants used iodized salt, are similar to the results of TDHS 2008. However, other studies have shown that the rate of consumption of iodized salt at home was only 56.5%.<sup>30</sup> Anaforoglu et al.<sup>31</sup> reported that only a quarter of patients were using containers suitable for iodized salt. Despite the mandatory use of iodized salt, iodine deficiency can also be caused by storing or consuming iodized salt in an improper way.

Prior to the iodized salt requirement, the average UIC level in Turkey was 25.5 mg/L.<sup>32</sup> After iodine supplementation was made obligatory, the average UIC level saw an increase to 87 µg/L in 2002, 117 µg/L in 2004, and 130 µg/L in 2009.<sup>30</sup> Despite this improvement, iodine deficiency remains a major problem. Pregnant women's UIC levels in a number of cities in various regions of Turkey have been reported to be 149.7 µg/L<sup>33</sup>, 80.5 µg/L<sup>34</sup>, and 77.4 µg/L.<sup>22</sup> Oğuz Kutlu and Kara<sup>34</sup> reported that 72.8% of women in their second trimester had iodine deficiency in Turkey. In their study, Koyuncu et al.<sup>35</sup> determined the median UIC value of 440 pregnant women in the first trimester as 81.6 µg/L (1-414 µg/L). In that study, UIC was less than 150 µg/L in 373 (86.7%) of the women, 9 (2.04%) women had a UIC above 250 µg/L, and only 58 women (13.24%) had a sufficient intake of iodine. The current study found that the median UIC of

the 395 pregnant women was 91.90 µg/L (104.54±71.68 µg/L). These findings are similar to those of prior studies, and despite the mandatory consumption of iodized salt, iodine deficiency clearly remains an issue in our region. The current study found that the median urinary iodine level of the 131 women in the first trimester was 104.00 µg/L (117.83±76.71 µg/L), the median urinary iodine level of the 133 women in the second trimester was 93.00 µg/L (107.59±63.50 µg/L), while the median urinary iodine level of the 131 women in the third trimester was 71.00 µg/L (88.13±71.67 µg/L). The iodine levels of the women in the third trimester were significantly lower than those of the women in the first and second trimesters.

Azizi et al.<sup>36</sup> also determined that the UIC value at the third trimester was lower than at the first and second trimesters. The median UIC decreased from being sufficient in the first trimester to being insufficient in the third trimester.<sup>37</sup> Similarly, Amouzegar et al.<sup>38</sup> determined that the UIC value of pregnant women was 218 mg/L in the first trimester, 160 mg/L in the second trimester, and 145 mg/L in the third trimester. In the current study, the decreased UIC values in the third trimester were consistent with the abovementioned studies, and reflect how the need for iodine increases as the pregnancy progresses.

In the current study, it was found that 78.70% of the 395 pregnant women participating had insufficient urinary iodine levels (<150 µg/L). Of the women, 77.90% of those in the first trimester, 75.90% of those in the second trimester, and 82.40% of those in the third trimester had insufficient urinary iodine levels (<150 µg/L). It is of the utmost importance to note that the rate of severe iodine insufficiency in the pregnant women in the third trimester was approximately three times greater than the rates of the women in the first and second trimesters. This result indicates that as the pregnancy progresses, the need for iodine increases, and that this need was not being met. No significant difference was found in terms of the use of iodized salt in pregnant women, the amount consumed daily, the location of salt storage, type of salt dispenser, when salt was used in meals, the source of drinking water, seafood consumption, and urinary iodine level ( $p>0.05$ ). These findings demonstrate a consistency with those of previous studies.<sup>22,33,39,40</sup> However, it was observed that those living in extended families and those who consumed goitrogenic foods in the first three months of pregnancy had lower UIC values. Salt consumption tends to decrease in extended families due to elderly family members and the chronic diseases they may have. It was observed that the UIC values were higher in those who had intended to conceive, in those who were checked for thyroid hormones during pregnancy, and in those who had used iodized salt for more than five years.

In conclusion, the results of the current study indicate that the average UIC value of pregnant women in Konya indicates iodine insufficiency, and the average UIC decreased even further in the third trimester. In order to combat this iodine deficiency and achieve the levels recommended, the general population should be

monitored on a regular basis, and the use of iodine supplements should be promoted, especially to pregnant women.

### Compliance with Ethical Standards

This study was approved Selcuk University Meram Faculty of Medicine Ethics Committees (Decision number: 2011/054, Date: 24.02.2011).

### Conflict of Interest

The authors have no conflicts of interest relevant to this article.

### Author Contribution

The authors contributed equally to this work.

### Financial Disclosure

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

### References

- Andersson M, Takkouche B, Egli I, Allen HE, de Benoist B. Current global iodine status and progress over the last decade towards the elimination of iodine deficiency. *Bull World Health Organ.* 2005;83:518-525.
- Wang Y, Zhang Z, Ge P, Wang Y, Wang S. Iodine deficiency disorders after a decade of universal salt iodization in a severe iodine deficiency region in China. *Indian J Med Res.* 2009;130:413-417.
- Glinoe D. Maternal and fetal impact of chronic iodine deficiency. *Clin Obstet Gynecol.* 1997;40:102-116.
- Glinoe D. Iodine nutrition requirements during pregnancy. *Thyroid.* 2006;16:947-948. doi:10.1089/thy.2006.16.947
- Dafnis E, Sabatini S. The effect of pregnancy on renal function: physiology and pathophysiology. *Am J Med Sci.* 1992;303:184-205. doi:10.1097/00000441-199203000-00011
- Glinoe D. The regulation of thyroid function during normal pregnancy: importance of the iodine nutrition status. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2004;18:133-152. doi:10.1016/j.beem.2004.03.001
- Perez-Lopez FR. Iodine and thyroid hormones during pregnancy and postpartum. *Gynecol Endocrinol.* 2007;23:414-428. doi:10.1080/09513590701464092
- Dunn JT, Delange F. Damaged reproduction: the most important consequence of iodine deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:2360-2363. doi:10.1210/jcem.86.6.7611
- Elnagar B, Eltom A, Wide L, Gebre-Medhin M, Karlsson FA. Iodine status, thyroid function and pregnancy: study of Swedish and Sudanese women. *Eur J Clin Nutr.* 1998;52:351-355. doi:10.1038/sj.ejcn.1600563
- Hershman JM. Physiological and pathological aspects of the effect of human chorionic gonadotropin on the thyroid. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2004;18:249-265. doi:10.1016/j.beem.2004.03.010
- Zimmermann MB. Iodine deficiency. *Endocr Rev.* 2009;30:376-408. doi:10.1210/er.2009-0011
- Zimmermann MB, Jooste PL, Pandav CS. Iodine-deficiency disorders. *Lancet.* 2008;372:1251-1262. doi:10.1016/S0140-6736(08)61005-3
- Pearce EN, Hollowell JG, Jr. Iodine nutrition--more is better. *N Engl J Med.* 2006; 355:1500; author reply 1501.
- Zimmermann MB. The effects of iodine deficiency in pregnancy and infancy. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2012; 26(suppl1):108-117. doi:10.1111/j.1365-3016.2012.01275.x
- World Health Organization. Iodine Status Worldwide:WHO Global Database on Iodine Deficiency. Geneva: WHO; 2004. <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43010/1/9241592001.pdf>. Accessed April 07.
- Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Iodine. Belgium: SCF; 2002. [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out146\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out146_en.pdf).
- World Health Organization/UNICEF/International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders. Assessment of Iodine Deficiency Disorders and Monitoring Their Elimination, a Guide for Programme Managers (2nd ed). Geneva: WHO; 2001. [http://www.who.int/nutrition/publications/en/idd\\_assessment\\_monitoring\\_elimination.pdf](http://www.who.int/nutrition/publications/en/idd_assessment_monitoring_elimination.pdf).
- World Health Organization/UNICEF/International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders. Assessment of Iodine Deficiency Disorders and Monitoring Their Elimination: A Guide for Programme Managers, 3rd edn. Geneva: WHO; 2007. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43781/1/9789241595827\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43781/1/9789241595827_eng.pdf).
- Zimmermann MB, Gizak M, Abbott K, Andersson M, Lazarus JH. Iodine deficiency in pregnant women in Europe. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015;3:672-674. doi:10.1016/S2213-8587(15)00263-6
- Erdogan G, Erdogan MF, Delange F, Sav H, Gullu S, Kamel N. Moderate to severe iodine deficiency in three endemic goitre areas from the Black Sea region and the capital of Turkey. *Eur J Epidemiol.* 2000;16:1131-1134. doi:10.1023/A:1010959928862
- Yordam N, Ozon A, Alikasifoglu A, et al. Iodine deficiency in Turkey. *Eur J Pediatr.* 1999;158:501-505. doi:10.1007/s004310051130
- Egri M, Ercan C, Karaoglu L. Iodine deficiency in pregnant women in eastern Turkey (Malatya Province): 7 years after the introduction of mandatory table salt iodization. *Public Health Nutr.* 2009;12:849-852. doi:10.1017/S1368980008003315
- Glinoe D. Pregnancy and iodine. *Thyroid.* 2001;11:471-481.
- Nicola JP, Basquin C, Portulano C, Reyna-Neyra A, Paroder M, Carrasco N. The Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter mediates active iodide uptake in the intestine. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2009;296:C654-662. doi:10.1152/ajpcell.00509.2008
- Mitka M. Even mild iodine deficiency during gestation may impair brain function in children. *JAMA.* 2013;309:2428. doi:10.1001/jama.2013.7239
- Wei Z, Wang W, Zhang J, Zhang X, Jin L, Yu X. Urinary iodine level and its determinants in pregnant women of Shanghai, China. *Br J Nutr.* 2015;113:1427-1432. doi:10.1017/S0007114515000665
- Caldwell KL, Pan Y, Mortensen ME, Makhmudov A, Merrill L, Moya J. Iodine status in pregnant women in the National Children's Study and in U.S. women (15-44 years), National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2010. *Thyroid.* 2013;23:927-937. doi:10.1089/thy.2013.0012
- Gowachirapant S, Winichagoon P, Wyss L, et al. Urinary iodine concentrations indicate iodine deficiency in







- pregnant Thai women but iodine sufficiency in their school-aged children. *J Nutr.* 2009;139:1169-1172. doi:10.3945/jn.108.100438
29. HUIPS. *Turkey Demographic and Health Survey, THDS 2008. Hacettepe University Institute of Population Studies, Ministry of Health General Directorate of Mother and Child Health and Family Planning, T.R. Prime Ministry Undersecretary of State Planning Organization and TÜBİTAK.* Ankara, TURKEY, 2008.
  30. Erdogan MF, Agbaht K, Altunsu T, et al. Current iodine status in Turkey. *J Endocrinol Invest.* 2009;32:617-622. doi:10.1007/BF03346519
  31. Anaforglu I, Algun E, Incecayir O, Topbas M, Erdogan MF. Iodine status among pregnant women after mandatory salt iodisation. *Br J Nutr.* 2016;115:405-410. doi:10.1017/S0007114515004559
  32. Erdogan G, Erdogan MF, Emral R, et al. Iodine status and goiter prevalence in Turkey before mandatory iodization. *J Endocrinol Invest.* 2002;25:224-228. doi:10.1007/BF03343994
  33. Kut A, GURSOY A, Senbayram S, Bayraktar N, Budakoglu, II, Akgun HS. Iodine intake is still inadequate among pregnant women eight years after mandatory iodination of salt in Turkey. *J Endocrinol Invest.* 2010;33:461-464. doi:10.1007/BF03346625
  34. Oguz Kutlu A, Kara C. Iodine deficiency in pregnant women in the apparently iodine-sufficient capital city of Turkey. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012;77:615-620. doi:10.1111/j.1365-2265.2012.04440.x
  35. Koyuncu K, Turgay B, Soylemez F. Iodine deficiency in pregnant women at first trimester in Ankara. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2019;20:37-40. doi:10.4274/jtgga.galenos.2018.2017.0150
  36. Azizi F, Aminorroya A, Hedayati M, Rezvanian H, Amini M, Mirmiran P. Urinary iodine excretion in pregnant women residing in areas with adequate iodine intake. *Public Health Nutr.* 2003;6:95-98. doi:10.1079/PHN2002366
  37. Ainy E, Ordoorkhani A, Hedayati M, Azizi F. Assessment of intertrimester and seasonal variations of urinary iodine concentration during pregnancy in an iodine-replete area. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007;67:577-581. doi:10.1111/j.1365-2265.2007.02928.x
  38. Amouzegar A, Khazan M, Hedayati M, Azizi F. An assessment of the iodine status and the correlation between iodine nutrition and thyroid function during pregnancy in an iodine sufficient area. *Eur J Clin Nutr.* 2014;68:397-400. doi:10.1038/ejcn.2013.273
  39. Alvarez-Pedrerol M, Ribas-Fito N, Garcia-Esteban R, et al. Iodine sources and iodine levels in pregnant women from an area without known iodine deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010;72:81-86. doi:10.1111/j.1365-2265.2009.03588.x
  40. Andersson M, de Benoist B, Rogers L. Epidemiology of iodine deficiency: Salt iodisation and iodine status. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2010;24:1-11. doi:10.1016/j.beem.2009.08.005

## Araştırma Makalesi | Research Article

# BOYUN LENF NODLARININ ULTRASONOGRAFİ BULGULARI VE BENİGN-MALİGN AYRIMINDA SONOELASTOGRAFİNİN DEĞERİ

## ULTRASONOGRAPHY FINDINGS OF CERVICAL LYMPH NODES AND THE VALUE OF SONOELASTOGRAPHY IN DIFFERENTIATING BENIGN-MALIGNANT

 Serdar Korkmaz<sup>1</sup>,  Esra Soyer Göldoğan<sup>2</sup>,  Tuba Akdağ<sup>2\*</sup>,  Aydın Kurt<sup>2</sup>

<sup>1</sup>İzmir Özel Ege Yaşam Hastanesi, İzmir, Türkiye. <sup>2</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara, Türkiye.



### Öz

**Amaç:** Sonoelastografi (USE), servikal lenf nodlarının sertlik derecesini saptayan ve lenf nodunun malignite olasılığı hakkında fikir veren invaziv olmayan bir ultrason (US) tekniğidir. Bu çalışmada USE'nin servikal lenf nodlarının benign-malign ayrımındaki etkinliğini ince işne aspirasyon biyopsisi (İİAB) sonuçları ile karşılaştırılarak araştırıldı.

**Yöntem:** Çalışma Ağustos 2013 – Kasım 2013 tarihleri arasında hastanemiz radyoloji ünitesinde prospektif olarak yapıldı. İİAB uygulanacak lenf nodu işlem öncesinde, B-mod US, renkli doppler US (RDUS) ve USE ile değerlendirildi. Sonrasında elastografik görüntüler sert alan yüzdesine göre 1-5 arasında numaralandırılarak renk skoruna göre değerlendirildi.

**Bulgular:** İİAB sonrası 45 hastadan 27' sinin (%60) biyopsi sonucu reaktif, 18' inin (%40) ise metastatik lenf nodu olarak raporlandı. Çalışmamızda 1.55 gerinim indeksi kesim değerinin benign ve malign lenf nodları arasında en iyi ayrımın yapılmasını sağladığı görüldü. Ayrıca uzun aks/kısa aks oranının ikiden az oluşu, ekojen hilusun görülmemesi ve mikst-periferel kanlanmanın gözlenmesi malign lenf nodlarında istatistiksel olarak anlamlı oranda fazla bulunmuştur.

**Sonuç:** USE servikal lenf nodlarının sertlik derecesini saptayan ve lenf nodunun malignite olasılığı hakkında fikir veren invaziv olmayan bir US tekniğidir. 1.55 üzerindeki gerinim indeksi değerinde USE'nin duyarlılığı %94,4; seçiciliği %91,7 ve pozitif öngörü değeri %92,9 olarak bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** Ultrason, ultrason elastografi, gerinim indeksi, lenf nodu, benign, malign

### ABSTRACT

**Objective:** Sonoelastography (USE) is a non-invasive ultrasound (US) technique that detects the degree of hardness of cervical lymph nodes and gives an idea about the possibility of lymph node malignancy. In this study, we investigated the effectiveness of USE in distinguishing benign-malignant cervical lymph nodes by comparing it with fine needle aspiration biopsy (FNAB) results.

**Method:** The study was conducted prospectively in the radiology unit of our hospital between August 2013 and November 2013. The lymph node where FNAB would be performed was evaluated with B-mode US, color Doppler US (RDUS) and USE before the procedure. Afterwards, the elastographic images were numbered 1-5 according to the hard area percentage and evaluated according to the color score.

**Results:** After FNAB, biopsy results of 27 (60%) of 45 patients were reported as reactive and 18 (40%) were reported as metastatic lymph nodes. In our study, it was observed that a strain index cut-off value of 1.55 provided the best discrimination between benign and malignant lymph nodes. In addition, the long axis/short axis ratio of less than two, the absence of an echogenic hilus, and the observation of mixed-peripheral blood supply were found to be statistically significantly higher in malignant lymph nodes.

**Conclusion:** USE is a non-invasive US technique that detects the degree of hardness of cervical lymph nodes and gives an idea about the possibility of malignancy of the lymph node. At a strain index value above 1.55, the sensitivity of USE is 94.4%; Its selectivity was found to be 91.7% and its positive predictive value was 92.9%.

**Keywords:** Ultrasound, ultrasound elastography, strain index, lymph node, benign, malignant

\*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Tuba Akdağ; Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara, Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (555) 764 62 93 e-posta/e-mail:tubakayi@gmail.com

Başvuru/Submitted: 23.01.2023

Kabul/Accepted: 15.01.2024

Online Yayın/Published Online: 29.02.2024

## Giriş

Anormal servikal lenf nodları basit bir üst solunum yolu enfeksiyonundan baş-boyun malignitelere kadar pek çok hastalıkta görülebilir. Anormal servikal lenf nodu saptanan bir hastada benign-malign ayrımının doğru yapılması tanı ve tedavide oldukça önemli bir yer tutmaktadır.<sup>1</sup> Mevcut radyolojik görüntüleme teknikleri içerisinde benign-malign ayrımını tam olarak yapacak spesifik bir yöntem bulunmamaktadır. Bu yüzden ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) boyun lenf nodlarının ayırıcı tanısında halen altın standart tanı yöntemidir.<sup>2</sup> Özellikle ultrasonografi (US) eşliğinde yapılan İİAB 5 mm'nin üzerindeki tüm şüpheli lenf nodlarına kolaylıkla uygulanabilmekte olup yüksek duyarlılık (%97) ve seçiciliğe (%93) sahiptir.<sup>3</sup> Ancak invaziv bir yöntem olması ve aspirasyonun yeterli olmadığı durumlarda tekrarlanmak zorunda kalınması gibi nedenlerle invaziv olmayan alternatif tanı yöntemleri günümüzde önem kazanmaya başlamıştır. Bu yöntemlerden biri de son yıllarda üzerinde çalışmalar yapılan sonoelastografi (USE)'dir.

USE hızlı ve non-invaziv bir görüntüleme yöntemi olup dokunun belirli bir kuvvete yanıt olarak viskoelastik sertliğini incelemektedir.<sup>4</sup> USE'de kullanılan statik ve dinamik yöntemlerde dokuya uygulanan kuvvet sırası ile manuel kompresyon ve probdan çıkan akustik dalgalar yolu ile elde edilir. Sert dokular, uygulanan kuvvete cevap olarak daha az deforme olurken yumuşak dokular daha fazla yer değiştirir. Bu özelliği ile USE'nin temel prensibi el ile palpasyona benzetilebilir.<sup>5</sup>

USE teknikleri dokulardan sinyal toplama metodlarına göre dokuların strain (gerinim) değerlerinin ölçüldüğü strain elastografi, akustik radyasyon kuvveti impulsu görüntülenmesi (ARFI), shear dalga elastografisi ve transient elastografi olarak sınıflandırılabilir.<sup>6</sup> Metastatik lenf nodlarının, benign lenf nodları ile kıyaslandığında sertliklerinde artış gösterilmiştir.<sup>7</sup> Bu özelliğin klinik kullanımda yaygınlaşması ile biyopsi yapılacak lenf nodunun seçimi, metastatik sürecin erken tespiti ve nüks hastalığın saptanması kolaylaşacaktır.

Bu çalışmada strain USE'nin servikal lenf nodlarının benign-malign ayrımındaki etkinliğini İİAB sonuçları ile karşılaştırılarak araştırıldı.

## Yöntem

### Hasta Seçimi

Çalışma Ağustos 2013 – Kasım 2013 tarihleri arasında hastanemiz radyoloji ünitesinde prospektif olarak yapıldı. Çalışma öncesinde hastanemizin etik kurulundan onay alındı (karar no: 09/41, tarih: 02.04.2013). Radyoloji ünitemizde boyun US incelemede anormal lenf nodu saptanan ve klinisyen tarafından İİAB endikasyonu konularak ünitemize yönlendirilen hastalar çalışmaya dahil edildi. Tüm hastalara çalışmanın içeriği hakkında bilgi verilerek aydınlatılmış onamları alındı. İİAB sonucu tanısal olmayan 3 hasta çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya yaşları 10 ile 88 arası değişen, 20 erkek, 25 kadın toplam 45 hasta dahil edildi.

### Ultrasonografik Değerlendirme

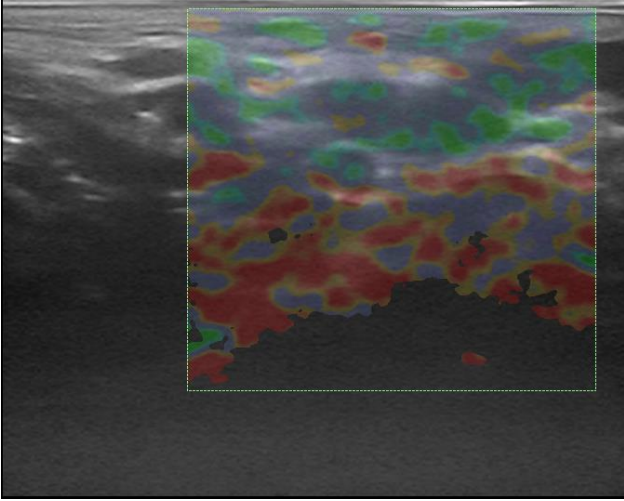
İİAB uygulanacak lenf nodu işlem öncesinde, B-mod US, renkli doppler US (RDUS) ve USE ile değerlendirildi. Tüm hastalar ESAOTE Gold Platform Mylab 60 marka ultrason cihazında 4-13 MHz lineer prob ile değerlendirildi. Sırasıyla B-mod, RDUS, USE değerlendirmeleri yapılarak veriler kaydedildi. Sonrasında tüm hastalara İİAB yapıldı.

**B-mode ve RDUS değerlendirme:** B-mod US incelemede lenf nodlarında uzun/ kısa çap oranı, hiler ekojenitenin varlığı, kontur düzgünlüğü değerlendirildi. Lenf nodları uzun/kısa çap oranına göre iki gruba ayrıldı. Uzunluk/genişlik oranı 2'nin altında olan lenf nodları 1. grup, üstünde olan lenf nodları ise 2. grup olarak kategorize edildi. Aynı şekilde lenf nodları hiler ekojenite (var ya da yok) ve konturları yönünden (konturları düzgün ya da düzensiz şeklinde) kategorize edildi. RDUS incelemede ise lenf nodunun perfüzyon şekli değerlendirildi. Perfüzyon durumu santral, mikst ve periferik perfüzyon olarak sınıflandı.

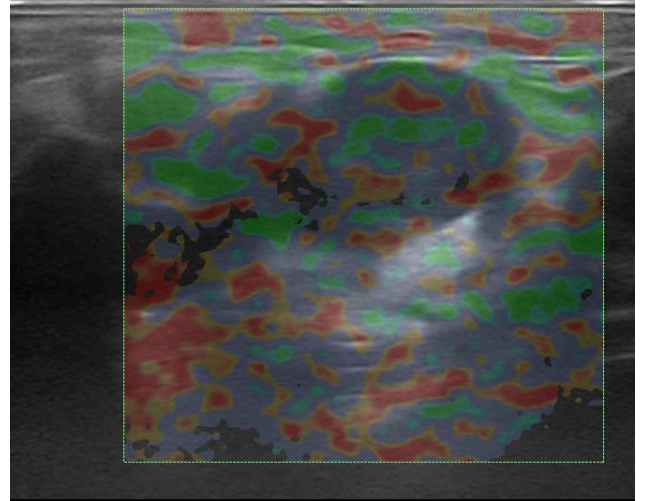
**Sonoelastografik değerlendirme:** SK ve AK (sırasıyla 5 yıl ve 20 yıl deneyime sahip radyologlar) her değerlendirme sırasında hasta başında idi. Her lenf noduna aynı ya da benzer oranda kompresyon yapılabilmesi için USE ve diğer ölçümler SK tarafından yapıldı. Teknik standardizasyonu için, cihaz ayarları sabitlendi. İlk olarak lenf nodlarının gerinim oranı (SR) ölçüldü. Sonrasında elastografik görüntüler alındı. Referans olarak ROI kutusu lenf nodu yanındaki kas dokuya konuldu. Kaliteli bir görüntü alana kadar serbest el tekniği ile hafif vertikal kompresyonu takiben dekompresyon uygulanarak elastografi yapıldı. Elastografi süresi ortalama 3 dakika idi. Patern belirlemede uygulayıcılar arası anlaşma sağlanamayan 3 hastaya USE tekrar yapıldı ve ikinci uygulama sonrasında uyum sağlandı (gözlemciler arası uyum %93,4). Alam ve arkadaşları tarafından tanımlanan sert alan yüzdesine göre 1-5 arasında numaralandırılarak renk skoru belirlendi.<sup>8</sup> Bu skorlamaya göre sert alanların az olması veya hiç olmaması patern 1 (Şekil 1), küçük dağınık sert alanların totalde %45'ten az olması patern 2 (Şekil 2), geniş sert alanların totalde %45' den fazla olması patern 3, ağırlıklı periferik sert alanların ve santralinde noktasal yumuşak alanların olması patern 4, sert alanların lenf nodunun tümünü kaplaması patern 5 (Şekil 3) olarak tanımlanmıştır. Bizim ultrason cihazımızın USE uygulamasında sert alanlar kırmızı ile temsil edilirken, yumuşak alanlar yeşil ile temsil ediliyordu. Patern belirlemede çalışmamızda kullanılan sınıflama kırmızı ve yeşil alanların dağılım yüzdesine göre yapılmıştır (Şekil 4).

### İİAB Prosedürü

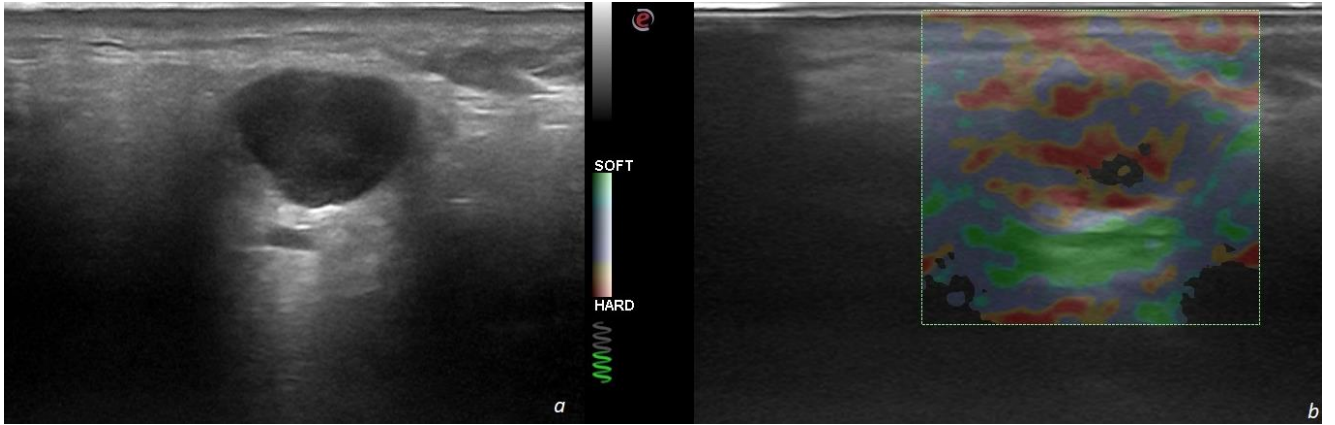
Sonografik incelemeden sonra hastalar Girişimsel Radyoloji ünitesine alındı. Standart olarak 22-24 gauge iğne ve 10-20 ml.lik enjektör kullanılarak US eşliğinde biyopsi yapıldı. Örnekler incelenmek üzere patoloji laboratuvarına gönderildi. İİAB sonuçları malign ve benign olmak üzere iki ana grup altında toplandı.



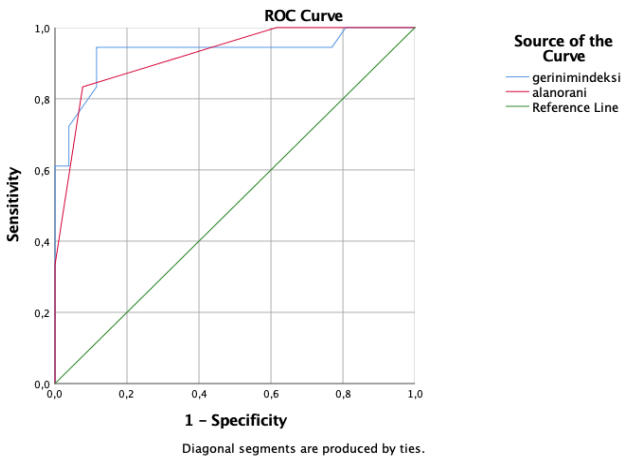
Şekil 1. Patoloji sonucu benign olarak raporlanan lenf noduna ait görüntü. Oval şekilli, hilusu incelmış lenf nodu. Elastografi paterni 1 (sert alan yok ya da minimal) olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 2. Patoloji sonucu benign olarak raporlanan lenf noduna ait görüntü. Oval şekilli, hilusu izlenmeyen lenf nodu. USE incelemede sertlik paterni 2 (sert alanlar %45'ten az ) olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3. Malign melanoma ait metastatik lenf noduna ait görüntü. Lenf nodunun düzensiz sınırlı ovale yakın şekilli ve hilusunun olmadığı görülmektedir (Şekil 2a). USE incelemede Şekil 2b'de sertlik paterninin kırmızı ile kodlandığı görülmektedir. Patern 5 (tümü ile sert alanlar) ile uyumlu.



Şekil 4. Gerinim İndeksi ve Alan Oranı ROC Eğrisi

### İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analiz için verilerin değerlendirilmesi aşamasında SPSS 15 (Statistical Package for Social Sciences) paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı veriler için sayı, yüzde, ortalama ve Standart sapma (SS) değerleri kullanıldı. Grupların karşılaştırılmasında istatistiksel varsayımlara göre uygun olan Student t testi kullanıldı ve  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Elde edilen verilerde (ROC) eğrisi yöntemi kullanılarak, duyarlılık, seçicilik, pozitif öngörü değeri (PPD), negatif

öngörü değeri (NPD) hesaplamaları yapıldı ve her biri yüzde (%) olarak ifade edildi.

### Bulgular

45 hastadan 27'sinin (%60) biyopsi sonucu reaktif yani benign, 18'inin (%40) ise metastatik lenf nodu olarak raporlandı. 18 metastatik lenf nodunun 11'inde (%61,1), 27 benign lenf nodunun 3 tanesinde (%11) uzun/kısa çap oranı 2' den küçük bulundu ( $P < 0,01$ ). Metastatik lenf nodlarının %66,7' sinde ( $n=12$ ), benign lenf nodlarının %14,8' inde ( $n=4$ ) hiperekoik hilus yoktu ( $P < 0,01$ ). Metastatik lenf nodlarının 10 'u (%55,6), benign lenf nodlarının sadece 1'i (%3,7) heterojen ekojeniteye sahipti. Metastatik lenf nodlarının %66,7'sinde periferik ve/veya mikst vaskülarite saptanırken, yalnızca 1 (%3,7) benign lenf nodunda bu özellik izlenmiştir ( $P < 0,01$ ). Tablo 1.

Benign ve metastatik lenf nodlarının ortalama gerinim indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Test edilen pek çok kesim değerinden, 1,55 gerinim indeksi kesim değeri; benign ve metastatik lenf nodları arasında en iyi ayırımı sağladı. 1,55 üzerindeki gerinim indeks değerinin tanısal doğruluğu hesaplandığında, bu kriterin malign lenf nodlarını saptamada %94,4 duyarlılık, %91,7 seçicilik, %92,9 pozitif

öngörü değeri ve en yüksek ortalama tanısal doğruluk değerine (% 89,5) sahip olduğu görüldü (Tablo 2).

Malign lenf nodlarını saptamada; gerinim indeksi için "1,55" değeri %94,4 duyarlılık, %91,7 seçicilik; alan oranı için ise "2,50" değeri %75 duyarlılık, %91,7 seçicilik düzeyine sahip noktadır. Seçilen kesim noktalarının üstünde kalan değerlerde biyopsi sonucunun malign vasıfta olacağı beklenmelidir (Şekil 5), (Tablo 3 ve 4).

Alan oranı için 2,50 kesim değeri malign lenf nodlarını saptamada; %75 duyarlılık, %91,7 seçicilik, %88,2 pozitif öngörü değeri ve % 84,1 tanısal doğruluk değerine sahiptir (Tablo 2). Buna göre genel olarak patern 1 ve 2 reaktif lenf nodlarında, patern 3,4 ve 5 malign lenf nodlarında görülmektedir (Tablo 3 ve 4).

USE incelemesine göre malign olarak değerlendirilen ancak radyopatolojik uyumsuzluk saptanan hastaların patoloji sonucu granülatöz enfeksiyon olarak raporlanmış idi.

**Tablo 1.** Malign ve benign lenf nodlarının, B mod ve doppler ultrasonografi bulguları ve dağılımı

Bmod ve Doppler USG bulguları	Malign	Benign	P değeri
Uzun/kısa çap oranı <2	11(%61,1)	3(%11)	(P<0,01)
Uzun/kısa çap oranı >2	7(%38,9)	24(%89)	(P<0,01)
<b>Toplam</b>	<b>18</b>	<b>27</b>	
Heterojen ekojenite	10(%55,6)	1(%3,7)	(P<0,01)
Homojen ekojenite	8(%44,4)	26(%96,3)	(P<0,01)
<b>Toplam</b>	<b>18</b>	<b>27</b>	
Hiperekoik hilus var	6(%33,3)	23(%85,2)	(P<0,01)
Hiperekoik hilus yok	12(%66,7)	4(%14,8)	(P<0,01)
<b>Toplam</b>	<b>18</b>	<b>27</b>	
Periferik ve/veya mikst vaskülarite	12(%66,7)	1(%3,7)	(P<0,01)
Hiler vaskülarite	6(%33,3)	26(%96,3)	(P<0,01)
<b>Toplam</b>	<b>18</b>	<b>27</b>	

**Tablo 2.** Malign lenf nodlarını saptamada 1,55 üzerindeki gerinim indeksi ve 2,5 alan oranı için duyarlılık, seçicilik, doğruluk yüzdeleri

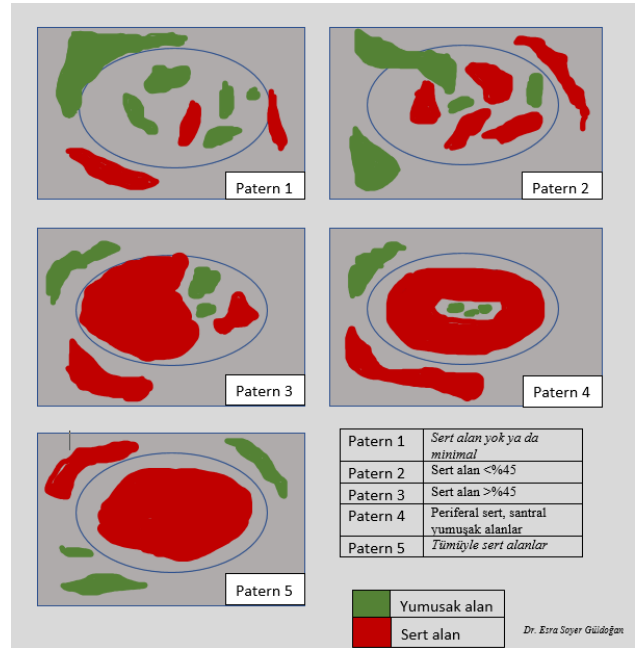
	Gerinim İndeksi	Alan Oranı
Duyarlılık (Sensitivity)	94,4	75,0
Seçicilik (Specificity)	91,7	91,7
Doğruluk (Accuracy)	92,9	84,1
Pozitif prediktif değer	89,5	88,2
Negatif prediktif değer	95,6	81,5

**Tablo 3.** Biyopsi sonucunun belirlenmesinde kesim noktası olabilecek değerler

	Değer	Duyarlılık	Seçicilik
Gerinim İndeksi	1,55	0,944	0,917
Alan Oranı	2,50	0,750	0,917

**Tablo 4.** Biyopsi sonuçlarına göre gerinim indeksi ve alan oranı için kesim değerleri

	Biyopsi Malign	Benign	Toplam
<b>Gerinim İndeksi</b>			
<1,55	1(5,6)	22(91,7)	23(54,8)
>1,55	17(94,4)	2(8,3)	19(45,2)
<b>Alan Oranı</b>			
<2,5	5(25)	22(91,7)	27(61,4)
>2,5	15(75)	2(8,3)	17(38,6)



**Şekil 5.** Elastografi patern sınıflamasına ait diagram

## Tartışma

Radyolojik incelemelerde servikal lenf nodları sık rastlanan bir bulgudur. Malignensi ve reaktif hiperplazi en yaygın servikal lenfadenopati nedenleridir.<sup>9</sup> Baş-boyun kanserlerinde boyun lenfatik metastazı prognozu belirleyen en önemli faktördür. Aynı tarafta metastatik lenf nodu varlığı 5 yıllık yaşam süresini %50 azaltırken, karşı tarafta da metastatik lenf nodu varlığı bu oranı %50 daha düşürür.<sup>10</sup> Bu nedenle tanı, tedavi, takip ve prognoz açısından servikal lenf nodlarının doğru değerlendirilmesi önemlidir. Lenf nodlarını değerlendirmede B-mod US kriterleri; boyut, şekil, hilus varlığı veya yokluğu, sınırları ve iç yapısının homojenitesidir. Ancak benign ve malign lenf nodlarının ayırımında B-mod incelemede kullanılabilecek spesifik bir kriter hala tespit edilememiştir.<sup>11</sup>

Steinkamp ve arkadaşlarının 730 tane servikal lenf nodunu değerlendirdikleri çalışmada bir lenf nodunun uzun aks / kısa aks oranının 2'den daha düşük olması maligniteyi tahmin etmede güçlü bir kriter olarak bildirilmektedir.<sup>12</sup> Bizim çalışmamızda da 17 metastatik lenf nodunun 11'inde uzun/kısa çap oranı 2'den küçük ve benign lenf nodları ile karşılaştırıldığında bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Hiperekojen hilusun görülmesi ise benign lenf nodları için güçlü tanısal bir özellik olarak kabul edilmektedirler.<sup>13</sup> Yapılan çalışmalarda %84-92 oranında benign lenf nodları hiperekojen hilusa sahipken bu oran



metastatik lenf nodlarında %5'ten daha azdır.<sup>14,15</sup> Öte yandan bazı yazarlar hiperekojen hilusun %51,5 e varan oranlarda metastatik lenf nodlarında görülebildiğini belirtmişlerdir.<sup>16</sup> Tanısal değeri düşük olmakla birlikte bizim çalışmamızda da metastatik lenf nodlarının %66,7'sinde hiperekoik hilus izlenmedi.

İnternal nodal kanlanmanın renk modu ve power doppler US ile değerlendirilmesi de metastatik-reaktif lenf nodu ayrımında yardımcı bir kriterdir. Benign lenf nodlarının hiler vaskülarite göstermeye ve avasküler görünümde izlenmeye yatkın olduğu izlenmiştir. Buna ters olarak metastatik lenf nodlarının ise periferel ve/veya mikst (periferel ve hiler beraber) kanlanmaya yatkın olduğu belirtilmiştir.<sup>17</sup> Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak metastatik lenf nodlarının %66,7'sinde inde periferel ve/veya mikst vaskülarite saptanmıştır.

USE potansiyel olarak benign ve malign lenf nodlarının ayırt edilmesini sağlayarak, gereksiz biyopsi sayısını azaltabilecek invaziv olmayan bir görüntüleme yöntemidir.<sup>4</sup> Ayrıca boyun lenf nodlarının USE değerlendirme için yüzeysel ve uygun yerleşimli olması kolay uygulanabilmesini sağlamaktadır.<sup>18</sup> Boyun lenf nodları tanısında ilk basamak görüntüleme yöntemi olan ultrasonografi tetkiki sırasında, USE inceleme de ek bir maliyet oluşturmadan kısa sürede yapılabilir. USE rutin klinik uygulamaya henüz girmemiş olsa da meme, tiroid, prostat ve serviks karsinomlarının ayırıcı tanısında, karaciğer fibrozisinin değerlendirilmesinde yararlı olduğunu vurgulayan yayınlar mevcuttur.<sup>19-23</sup> Ancak henüz hem cihazların gösterdiği farklılıklar, uygulayıcıların yeterli deneyime sahip olmaması ve olası patolojiler için mutlak standart değerler oluşturulmadığı için bu alanda yapılacak araştırmalara ihtiyaç mevcuttur.

Alam ve arkadaşları servikal lenf nodlarında yüksek elastikiyet gösteren alanların dağılım ve yüzdesine dayanan 5 paternli skorlama sistemini kullanmışlardır. Reaktif ve metastatik lenf nodları karşılaştırıldığında kesim değeri 2 ve 3 paternleri arasındadır; 3 ve 5 arasındaki paternler metastatik olarak düşünülmektedir. B-mod tanı için kısa aks çapı, şekil, sınır (regüler-irregüler), ekojenite (homojen-non-homojen) ve hilusun varlığı veya yokluğundan oluşan 5 kriterin toplam puanını değerlendirmişlerdir. Reaktif ve metastatik lenf nodları karşılaştırıldığında kesim değeri 6-7 puan arasındadır. 5-6 puan alanlar reaktif, 7-10 puan alanlar ise metastatik olarak düşünülmüştür. B-mod sonografi için duyarlılık, seçicilik ve doğruluğu sırasıyla %98, %59, %84; sonoelastografi için duyarlılık, seçicilik ve doğruluğu sırasıyla %83, %100, %89; kombine değerlendirildiğinde duyarlılık, seçicilik ve doğruluğu sırasıyla %92, %94, %93 değerleri bulunmuştur.<sup>8</sup>

Lyshchik ve ark.<sup>24</sup>, lenf nodunun sertlik oranını, mutlak lenf nodu sertlik oranı ve mutlak komşu kas doku sertlik oranını karşılaştırarak hesaplamışlardır. 1,5 dan büyük sertlik oranı metastatik lenf nodu sınıflamasında %98 duyarlılık, %85 seçicilik ve %92 doğrulukla en yararlı kriter olarak bulunmuştur. Arda ve ark.<sup>25</sup> benign ve malign lenf nodu ayrımında elastosonografinin %93,8 duyarlılık ve %89,5 seçicilik olduğu sonucuna varmışlardır. Kurt ve ark.<sup>26</sup> ise referans elastosonografik değerin tayini için yaptıkları

çalışmada, 1,5'in üzerindeki gerinim indeksi (SR) oranını; %98 seçicilik %85 duyarlılık ve %92 doğruluk ile malign/benign lenf nodu ayrımında anlamlı olarak bildirmişlerdir.

Benign ve malign yüzeysel lenf nodu ayrımı için gerçek zamanlı elastosonografi meta-analizinde Ying ve ark.<sup>27</sup> gerçek zamanlı elastografinin malign lenf nodu tanımlanmasında iyi bir araç olabileceğini önermektedir. Ayrıca alan oranı ölçümlerinin her ne kadar iyi tanısal doğruluğa sahip olsa da gözlemciler arası belirgin değişkenliği olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Bu nedenle sertlik oranı ölçümü gibi sayısal bir metodun elastikiyet analizinde kullanımı, standardizasyon için gereklidir. Ayıca boyun yapısına bağlı olarak kompresyon sırasında probun kayma olasılığı vardır. Düşük kalitede elastogram alındığında yorumlama problemi olabilir. Komşu büyük damarlardaki pulsasyon kaliteli elastogram alınmasını zorlaştırabilir ve tetkik süresi uzayabilir. Bir diğer engel ise serbest el ile uygulanan kompresyon gücünün standardize olmaması ve dolayısıyla gözlemci içi ve gözlemciler arası değişkenliğe yol açabilmesidir. Biz de bu nedenle çalışmamızda gerinim oranını ölçerek, gözlemciler arası değişkenliği ortadan kaldırmayı amaçladık. Ayrıca çalışmamız sırasında tüm ölçümlerin aynı radyolog tarafından yapılması ve eşlik eden radyolog ile fikir birliği sağlanarak ilerlenmesi çalışmamızı değerli kılmaktadır.

Çalışmamızda güncel literature benzer sonuçlar elde edildi. Benign ve metastatik lenf nodlarının ortalama gerinim indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Test edilen pek çok kesim değerinden, 1,55 gerinim indeksi kesim değeri benign ve metastatik lenf nodları arasında en iyi ayrımın yapılmasını sağladı. 1,55 üzerindeki gerinim indeks değerinin tanısal doğruluğu hesaplandığında, bu kriter %94,4 duyarlılık, %91,7 seçicilik, %92,9 pozitif öngörü değeri ve en yüksek ortalama tanısal doğruluk değerine (%89,5) sahiptir. Alan oranı için 2,50 kesim değeri %75 duyarlılık, %91,7 seçicilik, %88,2 pozitif öngörü değer ve %89,5 tanısal doğruluk değerine sahip olduğu görülmüştür. Buna göre patern 1 ve 2' nin reaktif lenf nodlarında, patern 3, 4 ve 5' in malign lenf nodlarında görüldüğü sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışmamızda bazı kısıtlılıklar da mevcuttur. Elastosonografi tecrübeyle yakın ilgili bir tekniktir. Çalışmamız retrospektif bir çalışma olduğundan doğası gereği örneklem büyüklüğü çok yüksek sayılara ulaşamamıştır. Ayrıca çalışmamızın dizaynı gereği sadece lenf nodu biopsi sonucu malign ve benign olarak kategorize edilmiş ve bu sonuçlar ile USE paternlerinin ilişkisi değerlendirilmiştir. Biopsi sonucu ile metastaz tanısı alan lenf nodlarının hangi tümöre ait olduğu da çalışma verilerimizde mevcut değildir. Hangi tümörün metastazı ile hangi USE paterninin istatistiksel olarak daha çok ilişkisinin olduğunun saptanması, standardizasyon için çok daha faydalı olacaktır.

## Sonuç

Sonoelastografi, servikal lenf nodlarının sertlik derecesini saptayan ve lenf nodunun malignite olasılığı hakkında fikir veren invaziv olmayan bir US tekniğidir. Çalışmamızda 1,55



gerinim indeksi kesim değerinin benign ve malign lenf nodları arasında en iyi ayırımı yapılmasını sağladığı görüldü. 1,55 üzerindeki gerinim indeksi değerinde USE'nin duyarlılığı %94,4; seçiciliği; %91,7 ve pozitif öngörü değeri %92,9 olarak bulundu. Ayrıca B-mode ve renkli doppler uygulamada uzun aks/kısa aks oranının ikiden az oluşu, ekojen hilusun görülmemesi ve mikst-periferel kanlanmanın gözlenmesi malign lenf nodlarında istatistiksel olarak anlamlı oranda fazla bulunmuştur.

### Etik Standartlara Uygunluk

Bu çalışma için Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (Karar tarihi: 02.04.2013; Karar no: 09/41).

### 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

SK: Araştırmanın hipotezi, Çalışma Tasarımı, Proje geliştirme, Literatür taraması, Analiz, Makale yazımı. ESG, TA: Proje geliştirme, Literatür taraması, Analiz, Makale yazımı. AK: Araştırmanın hipotezi, Çalışma Tasarımı, Proje geliştirme, Literatür taraması, Analiz, Eleştirel inceleme.

### Kaynaklar

- Vassallo P, Edel G, Roos N, Naguib A, Peters PE. In-vitro high-resolution ultrasonography of benign and malignant lymph nodes. A sonographic-pathologic correlation. *Invest Radiol.* 1993;28:698-705. DOI: 10.1097/00004424-199308000-00009
- Pusztaszeri MP, Faquin WC. Cytologic evaluation of cervical lymph node metastases from cancers of unknown primary origin. *Semin Diagn Pathol.* 2015;32(1):32-41. DOI: 10.1053/j.semmp.2014.12.002
- Van den Brekel MW, Castelijns JA, Stel HV, et al. Occult metastatic neck disease: detection with US and US-guided fine-needle aspiration cytology. *Radiology* 1997;180:457-61. DOI: 10.1148/radiology.180.2.2068312
- Garra BS. Elastography: current status, future prospects, and making it work for you. *Ultrasound Q.* 2011;27(3):177-86. DOI: 10.1097/RUQ.0b013e31822a2138
- Gritzmann N, Hollerweger A, Macheiner P, Rettenbacher T. Sonography of soft tissue masses of the neck. *J Clin Ultrasound.* 2002;30:356-73. DOI: 10.1002/jcu.10073
- Garra BS. Elastography: history, principles, and technique comparison. *Abdom Imaging.* 2015;40(4):680-97. DOI: 10.1007/s00261-014-0305-8
- Bhatia KS, Lee YY, Yuen EH, Ahuja AT. Ultrasound elastography in the head and neck. Part II. Accuracy for malignancy. *Cancer Imaging.* 2013;13:260-76. doi: 10.1102/1470-7330.2013.0027
- Alam F, Naito K, Horiguchi J, Fukuda H, Tachikake T, Ito K. Accuracy of sonographic elastography in the differential diagnosis of enlarged cervical lymph nodes: comparison with conventional B-mode sonography. *AJR Am J Roentgenol.* 2008;191(2):604-10. DOI: 10.2214/AJR.07.3401
- Ahuja A, Ying M. An overview of neck node sonography. *Invest Radiol.* 2002;37:333-42. DOI: 10.1097/00004424-200206000-00005
- Cerezo L, Millán I, Torre A, et al. Prognostic factors for survival and tumor control in cervical lymph node metastases from head and neck cancer. A multivariate study of 492 cases. *Cancer.* 1992;69:1224-1234. DOI: 10.1002/cncr.2820690526
- Dudea SM, Lenghel M, Botar-Jid C, Vasilescu D, Duma M. Ultrasonography of superficial lymph nodes: benign vs. malignant. *Med Ultrason.* 2012;14(4):294-306.
- Steinkamp HJ, Cornehl M, Hosten N, Pegios W, Vogl T, Felix R. Cervical lymphadenopathy: ratio of long- to short-axis diameter as a predictor of malignancy. *Br J Radiol.* 1995;68(807):266-70. DOI: 10.1259/0007-1285-68-807-266
- Ying M, Ahuja AT, Evans R, King W, Metreweli C. Cervical lymphadenopathy: sonographic differentiation between tuberculous nodes and nodal metastases from non-head and neck carcinomas. *J Clin Ultrasound.* 1998;26:383-389. DOI: 10.1002/(sici)1097-0096(199810)26:8<383::aid-jcu2>3.0.co;2-e
- Leboulleux S, Girard E, Rose M, et al. Ultrasound criteria of malignancy for cervical lymph nodes in patients followed up for differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:3590-4. DOI: 10.1210/jc.2007-0444
- Rubaltelli L, Proto E, Salmaso R, Bortoletto P, Candiani F, Cagol P. Sonography of abnormal lymph nodes in vitro: correlation of sonographic and histologic findings. *AJR Am J Roentgenol.* 1990;155:1241-1244. DOI: 10.2214/ajr.155.6.2122673
- Vassallo P, Wernecke K, Roos N, Peters PE. Differentiation of benign from malignant superficial lymphadenopathy: the role of high resolution US. *Radiology.* 1992;183:215-220. DOI: 10.1148/radiology.183.1.1549675
- Sakaguchi T, Yamashita Y, Katahira K, et al. Differential diagnosis of small round cervical lymph nodes: comparison of power Doppler US with contrast-enhanced CT and pathologic results. *Radiat Med.* 2001;19:119-125.
- Hajek PC, Salomonowitz E, Turk R, Tscholakoff D, Kumpan W, Czemberek H. Lymph nodes of the neck: evaluation with US. *Radiology.* 1986;158:739-742. DOI:10.1148/radiology.158.3.3511503
- Itoh A, Ueno E, Tohno E, et al. Breast disease: clinical application of US elastography for diagnosis. *Radiology.* 2006;239:341-350. DOI: 10.1148/radiol.2391041676
- Lyshchik A, Higashi T, Asato R, et al. Thyroid gland tumor diagnosis at US elastography. *Radiology.* 2005;237:202-211. DOI: 10.1148/radiol.2363041248
- Taylor LS, Rubens DJ, Porter BC, et al. Prostate cancer: three-dimensional sonoelastography for in vitro detection. *Radiology.* 2005;237:981-985. DOI: 10.1148/radiol.2373041573
- Thomas A, Kummel S, Gemeinhardt O, Fischer T. Real-time sonoelastography of the cervix: tissue elasticity of the normal and abnormal cervix. *Acad Radiol.* 2007;14:193-200. DOI: 10.1016/j.acra.2006.11.010
- Friedrich-Rust M, Ong MF, Herrmann E, et al. Real-time elastography for noninvasive assessment of liver fibrosis in chronic viral hepatitis. *AJR.* 2007;188:758-764. DOI: 10.2214/AJR.06.0322

24. Lyshchik A, Higashi T, Asato R, et al. Cervical lymph node metastases: diagnosis at sonoelastography--initial experience. *Radiology*. 2007;243(1):258-67. DOI: 10.1148/radiol.2431052032
25. Arda K, Ciledag N, Aktas E, Aribas BK, Köse K. Quantitative assessment of normal soft-tissue elasticity using shear-wave ultrasound elastography. *AJR Am J Roentgenol*. 2011;197(3):532-6. DOI: 10.2214/AJR.10.5449
26. Kurt A., Tatar İ.G, İpek A, Hekimoğlu B. B-Mode and elastosonographic evaluation to determine the reference Elastosonography values for cervical lymph nodes. *ISRN Radiol*. 2013;7(2013):895287. DOI: 10.5402/2013/895287
27. Ying L, Hou Y, Zheng HM, Lin X, Xie ZL, Hu YP. Real-time elastography for the differentiation of benign and malignant superficial lymph nodes: a meta-analysis. *Eur J Radiol*. 2012;81(10):2576-84. DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.10.026



## Research Article | Araştırma Makalesi

# INVESTIGATION OF THE EFFECT OF KINESIO TAPE APPLICATION ON ATHLETES ON PERFORMANCE

## SPORCULARA UYGULANAN KİNEZYO BANT UYGULAMASININ PERFORMANSA OLAN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Cigdem Cekmece<sup>1\*</sup>, Murat Son<sup>2</sup>, Ilgin Sade<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Section of Occupational Therapy, Department of Therapy and Rehabilitation, Vocational School of Kocaeli Health Services, Kocaeli University, Kocaeli, Türkiye. <sup>2</sup>Sports Science Faculty, Kocaeli University, Kocaeli, Türkiye. <sup>3</sup>Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Faculty of Medicine, Kocaeli University, Kocaeli, Türkiye.



### ABSTRACT

**Objective:** Kinesio taping (KT), helps athletes move more stably and safely by providing support to muscles and joints. Thus, it allows athletes to develop more strength and speed. It also supports athletes to exercise with higher performance and have a faster recovery process.

This study aims to examine the acute effect of KT applied to athletes on balance and vertical jump strength.

**Methods:** Tests including vertical jump/leg-back strength and balance parameters of right and left one foot and two feet were applied to 19 male athletes with a mean age of 20.5±1.6 years. After taping was applied to the gluteus maximus, medius, and quadriceps muscles of the athletes, the tests were repeated.

**Results:** A significant difference was found in all parameters (vertical jump strength  $p<0.001$ , leg-back strength  $p=0.001$ , right single foot balance  $p<0.00$ , left single foot balance  $p<0.001$ , and double foot balance  $p=0.002$ ) in the evaluations.

**Conclusion:** In our study, positive developments were observed in jumping and balance parameters with the KT applied to the athletes.

**Keywords:** Kinesio taping, sports physiotherapy, strength training

### ÖZ

**Amaç:** Kinesiyö bantlama (KB), kaslara ve eklemlere destek sağlayarak, sporcuların daha stabil ve güvenli bir şekilde hareket etmelerine yardımcı olmaktadır. Böylece, sporcuların daha fazla kuvvet ve hız geliştirmelerine olanak tanımaktadır. Ayrıca sporcuların daha yüksek performansla egzersiz yapmalarını ve daha hızlı bir iyileşme sürecine sahip olmalarını desteklemektedir. Bu çalışmanın amacı; sporculara uygulanan KB'nin denge ve dikey sıçrama kuvvetine olan akut etkisini incelemektir.

**Yöntem:** Yaş ortalaması 20,5±1,6 olan 19 erkek sporcuya bantlama öncesi; dikey sıçrama/ bacak-sırt kuvveti ile sağ ve sol tek ayak ve çift ayak denge parametrelerini içeren testler uygulandı. Bantlama, sporcuların gluteus maksimus, medius ve kuadriseps kaslarına yapıldıktan sonra testler tekrarlandı.

**Bulgular:** Değerlendirmelerde bakılan tüm parametrelerde (dikey sıçrama kuvveti  $p<0,001$ , bacak-sırt kuvveti  $p=0,001$ , sağ tek ayak denge  $p<0,001$ , sol tek ayak denge  $p<0,001$  ve çift ayak denge  $p=0,002$ ) anlamlı fark elde edildi.

**Sonuç:** Çalışmamızda sporculara uygulanan KB ile sıçrama ve denge parametrelerinde olumlu gelişmeler olduğu gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kinezyö bantlama, spor fizyoterapisi, kuvvet antrenmanı

\*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Cigdem Cekmece; Section of Occupational Therapy, Department of Therapy and Rehabilitation, Vocational School of Kocaeli Health Services, Kocaeli University, Kocaeli, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (262) 303 47 75 e-mail/e-posta: cigdemcekmece@yahoo.com

Submitted/Başvuru: 12.04.2023

Accepted/Kabul: 17.01.2024

Published Online/Online Yayın: 29.02.2024

## Introduction

Sporting performance can be defined as the sum of efforts put forth for success during the performance of an athletic task.<sup>1,2</sup> In the field of sports sciences, many studies are carried out to increase performance. These studies aim to enable individuals to achieve better results by completing the given tasks with fewer mistakes and more efficiency.<sup>3</sup> Individuals who are interested in professional or amateur sports are in a constant search to improve their performance and to be more agile, strong, fast, and equipped. Technological developments and physical training in the equipment used in the field of sports can largely meet this demand for performance enhancement in modern sports. However, the search for athletes to increase their sportive performance continues.

Kinesio taping (KT), is considered advantageous in mechanical properties compared to other types of taping that lose their structural support within 20 minutes of exercise.<sup>4</sup> Considering the mechanism of action, it is stated that KT improves proprioceptive sensation through muscle tone, reduces pain, corrects inappropriate positions, and stimulates skin receptors.<sup>5</sup> In addition to many functions, its main aim is to support the joint during movement.<sup>6</sup> It has been reported in the literature that tape application helps to increase proprioceptive sensation and thus reduces the occurrence of motion-related injuries.<sup>6-9</sup> For these reasons, KT is widely used in the rehabilitation of athletes due to the prevention of sports-related injuries, the treatment of these injuries, and its positive contribution to sports performance.<sup>6,10,11</sup> In addition, it is stated that the application of KT can improve the explosive power of the muscle by providing increased sensory input to the neuromuscular system and increasing the activation of the sensorimotor reflex pathway.<sup>12</sup>

The ability to perform a vertical jump is more closely related to strength than any other factors. Most activities that require explosive vertical movements involve a counter-movement pattern, where the muscles are initially contracted and then rapidly shortened to generate acceleration in the body or limbs.<sup>13</sup> The gluteus maximus muscle (GMax) is the most basic mover during a vertical jump.<sup>14,15</sup> In gymnastics sport, besides vertical jump strength, the effect of balance parameters is quite large. Balance is defined as the coordinated working process of the neuromuscular system, which includes the preservation of the center of gravity with continuous feedback from the visual, vestibular, and nervous senses.<sup>16</sup> Balance performance is closely related to a person's muscle tone, muscle strength, and muscular endurance.<sup>17</sup> Hip, knee, and ankle joint movements controlled by coordinated movements along the kinetic chain are important in maintaining balance. In terms of muscular activity, it is stated that the stronger the Hamstring, Quadriceps, GMax, and Gluteus minimus muscles, the easier it will be to stay in balance.<sup>18</sup>

When the current literature is examined, it is seen that KT applied to athletes is done to 1. prevent or reduce

sports injuries,<sup>19-21</sup> 2. to contribute to performance.<sup>22-24</sup> When the studies investigating the contribution of KT to performance in athletes are examined, it is seen that publications are related the positive effects of the application.<sup>22-24</sup> In this study, it is aimed to examine the effect of KT applied to the gluteal muscles on the performance (by scanning the recorded data) of volunteer individuals who are students at the Faculty of Sports Sciences of our university and are interested in artistic gymnastics sports to increase their performance in competitions.

## Methods

A total of 19 male gymnasts, who were healthy, actively engaged in sports, with a mean age of  $20.5 \pm 1.6$  years, voluntarily participated in the study. After receiving the demographic information of the athletes before taping: Tests including vertical jump strength, leg-back strength, right, and left single-foot balance, and double-foot balance parameters were applied. All these tests were repeated twenty minutes after taping to the appropriate muscles. Those who were allergic to the KT application and those who refused the application were excluded from the study. Moreover, those who had a musculoskeletal injury in the 6 weeks before the study, those who had a medical condition or pathology (fracture or tendon injury) that could have caused a disability in the previous 6 months, and those who had an allergic reaction to the tape were excluded from this study. In order to understand whether there is a KT allergy, a 5x5 cm wide KT piece was glued to the back area and tested before the study. Two athletes who developed allergic reactions were excluded from the study, and one athlete was excluded since he did not agree to participate in the study.

### Vertical Jump Strength Test

The vertical jump test is a practical test that gives information about the anaerobic power level of the individual. Jump meters were used in the vertical jump test. The belt was tied at the athlete's belly button. Meanwhile, the athlete stands on the exercise mat. When the arms are free and ready to jump, they sit with their legs parallel to the ground by bending their knees, and the free arms are pulled back and then to the body, jumping forward and upwards with acceleration and falling back onto the mat, the value displayed on the screen was recorded in centimeters.<sup>25</sup>

### Back/Leg Strength Measurement

Leg back strength measurement was made using Takei Back and Leg Dynamometer. It was done by asking the athlete to stand on the dynamometer bench with his knees slightly bent and pull the dynamometer bar with maximum force upwards using his legs, with his arms stretched out.<sup>26</sup>

**Balance Measurements (Right and Left Single Foot Balance, Double Foot Balance)**

Balance measurements were made with an Easy-Tech balance measurement board. Measurements were made by repeating the right foot 3 times, the left foot 3 times, and both feet 3 times and each repetition was 30 seconds. Performance values of 30 seconds taken from the right, left and both feet were recorded. In these measurements, an increase in numerical values for balance means a decrease in the level of balance. Because each numerical increase in the measurement shows each balance deviation within 30 seconds. Before the test started, the participants in our study were informed about the evaluation we would make, and they were told to get on the balance board. First, one leg (right, left) and then both legs were tested 3 times for 30 seconds.<sup>27</sup>

This study was approved by the Clinical Research Ethics Committee with the decision numbered KU GOKAEK-2021/09.18.

**KT Application**

Before the application, the area where the tape will be adhered was cleaned by shaving. The GMax, gluteus medius (GMed), and quadriceps muscles to be taped were placed in the longest position and tension was given. While taping the GMax, the hip was positioned at a 90-degree flexion angle (Figure 1). The GMed was placed in the side-lying position and the hyperadduction position was given to provide full stretch and taping was performed (Figure 2). For the quadriceps muscle, the knee flexion angle was brought to 90 degrees and KT was applied (Figure 3). All taping was applied from the origin to the insertion with 50% tension to increase performance. Afterward, the athletes rested for 20 minutes. At the end of this period, the initial tests were performed again. KT application was performed by a certified physiotherapist.



Figure 1. Gluteus Max. KT



Figure 2. Gluteus Med. KT



Figure 3. Quadriceps Femoris KT

**Statistical Analysis**

Statistical analysis was performed with IBM SPSS 20.0 (IBM Corp, Armonk, NY, USA) package program. Descriptive statistics for all variables are shown as Mean ± Standard Deviation. Wilcoxon test was used to determine whether the difference between the evaluation parameters before and after the KT application was significant. In the statistical analysis of the measurements, the level of significance was used as 0.05.

**Results**

Age, height, weight, body mass index, and lower, and upper extremity length averages of the athletes included in the study are given in Table 1. The results of the comparison between the athletes before and after taping are vertical jump strength  $p < 0.001$ , leg-back strength  $p = 0.001$ , right one-foot balance  $p < 0.001$ , left one-foot balance  $p < 0.001$ , and double foot balance  $p = 0.002$ . When the data obtained before and after banding were compared, it was determined that there was a

statistically significant difference in all parameters (Table 2).

**Table 1.** Demographic information of the athletes

Height Average (cm)	169.1±37.5
Weight (kg)	70.0±9.3
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	22.25±4.9
LE Length (cm)	92.1±8.7
UE Length (cm)	77.6±3.3

**Table 2.** Average data before and after taping

	Before taping	After taping	p
Vertical jump (cm)	48.06±7.04	53.68±7.68	<0.001
Leg back strength (kg)	119.78±23.44	135.73±23.06	0.001
Balance right foot average	4.74±1.18	3.31±0.86	<0.001
Balance left foot average	4.30±1.20	3.17±0.88	<0.001
Balance double foot average	6.91±2.64	4.94±3.06	0.002

## Discussion

KT is used by physiotherapists to modulate some physiological processes as a supportive method in rehabilitation. In this study, the acute effect of the KT technique applied to the hip and knee circumference of healthy athletes on the performance values of the athletes was investigated. The results of the study: The acute effect of KT applied to the hip and knee circumference muscles in healthy athletes was examined and it was revealed that the KT technique applied had a significant effect on performance values. The main finding of the study was that KT improves short-term muscle strength of the GMax, GMed, and Quadriceps muscles after administration in athletes. The result obtained from the study suggests that the KT application can provide a significant improvement in performance in certain sports. The findings in the literature regarding the effects of taping such as increasing somatosensory information, providing correct positional input, and increasing muscle activation are in line with our study.<sup>5,6</sup> Since KT was first used in sports, there has been increasing interest due to its wide range of applications. Its creator, Kenzo Kase, believed that the use of tape could relieve pain by stimulating the nervous system, strengthening the muscles, reducing edema, and subcutaneous hemorrhages, and affecting the proper alignment of the joints, thus promoting its use in the field of sports. In recent years, KT, prophylaxis in sports such as swimming, football, handball, volleyball, baseball, or tennis has become an important part of manual therapy and rehabilitation. In sports such as handball and football, speed and muscle strength are considered the basic elements of the game tactic. In the study conducted by Müller and Brandes,<sup>28</sup> which aimed to evaluate the effect of KT application on shooting in football and handball, it has been noted that there is a significant improvement in the ball speed of the players' shots after applying KT. This can be explained by the proprioceptive effect of KT on the athlete's body, which can cause an increase in motor units that contribute to muscle tone.<sup>28</sup> Proprioception, which is defined as position and movement perception, is related to joint position sense, kinesthesia, force sense, and vibration, and has a positive contribution to the performance of athletes. Studies on KT applications in the literature have been applied for different purposes. Conflicting results have been reported in studies investigating the effects of taping techniques applied to different areas on parameters such as muscular activity and strength. When the studies carried out to determine the changes in muscular activity after KT application are examined, Murray<sup>29</sup> found in their study with 2 patients who were treated after anterior cruciate ligament surgery, that there was an increase in the range of motion and EMG activity of the subjects after KT application. When the studies evaluating the changes in the strength parameters after the KT application with different application times are examined, as a result of the study conducted by Slupik et al.<sup>5</sup> on 27 healthy individuals, they

found that there was no significant change in the isokinetic power values after 10 minutes of KT application, but there was a significant increase 24 hours after the application.<sup>5</sup> In another study, Fu et al.<sup>24</sup> in their study on 14 healthy athletes, looked at whether KT application had any effect on quadriceps and hamstring muscle strength. They found no significant difference in muscle strength in the evaluations made without taping, immediately after taping, and 12 hours after taping, and they reported that KT had no effect on the isokinetic quadriceps and hamstring muscle strength of healthy athletes.<sup>24</sup>

Another study similar to our study was conducted by B Pearce et al.<sup>30</sup> In the study, KT applied to the GMed of 29 amateur golf players and showed that KT applied to the GMed successfully improved hip abduction strength. Researchers in the same study stated that it may be beneficial to use the KT application to improve performance in athletes to facilitate muscle movement.<sup>30</sup> In a randomized controlled study examining the effect of KT on the explosive muscle strength of the GMax in male athletes, Karien Mostert-Wentzel et al.<sup>11</sup> taped 60 male athletes, when they compared the data before, immediately after, and after 30 minutes, they achieved a statistically significant improvement. Researchers stated that KT was effective in significantly improving the explosive power of the GMax in male athletes immediately after taping and 30 minutes later<sup>11</sup>.

In our study, the acute effect of KT applied to the muscles around the hip and knee was examined. According to the results obtained from the study, it was observed that KT application in healthy athletes increased performance and participation in training in individuals. The main limitations of this study are, the absence of a control group and the long-term effects of KT were not followed. Although it is not possible to generalize these positive results obtained from the study, larger scaled randomized controlled studies are needed.

### Compliance with Ethical Standards

This study was carried out after obtaining the necessary ethics committee permission and institutional approval of Kocaeli University Non-Interventional Clinical Research Ethics Committee with the decision number KÜ GOKAEK-2021/09.18 dated 29/04/2021.

### Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

### Author Contribution

CC, IS, MS: The hypothesis of the study; CC, IS, MS: The Study desing; CC, IS: Project development; CC, IS, MS: Literature search; CC, IS: Analysis; CC, IS, MS: Manuscript writing; CC, IS: Critical review.

### Financial Disclosure

No funding.





## References

1. Bayraktar B, Kurtoğlu M. Sporda performans ve performans artırma yöntemleri. İçinde: Atasü T, Yücesir İ, ed. *Doping ve futbolda performans artırma yöntemleri*. İstanbul: Türkiye Futbol Federasyonu Yayınları; 2004:269-296.
2. Yücesir, İ. Doping suçu; doping madde ve yöntemleri. İçinde: Atasü T, ed. *Doping ve Futbolda Performans Arttırma Yöntemleri*. İstanbul: Form Reklam Hizmetleri; 2004:41-42.
3. Thompson T, Steffert T, Ros T, Leach J, Gruzelier J. EEG applications for sport and performance. *Methods*. 2008;45(4):279-288. doi:10.1016/j.ymeth.2008.07.006
4. Bragg RW, Macmahon JM, Overom EK, et al. Failure and fatigue characteristics of adhesive athletic tape. *Med Sci Sports Exerc*. 2002;34(3):403-410. doi:10.1097/00005768-200203000-00004
5. Słupik A, Dwornik M, Białoszewski D, Zych E. Effect of Kinesio Taping on bioelectrical activity of vastus medialis muscle. Preliminary report. *Ortop Traumatol Rehabil*. 2007;9(6):644-651.
6. Thelen MD, Dauber JA, Stoneman PD. The clinical efficacy of kinesio tape for shoulder pain: a randomized, double-blinded, clinical trial. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2008;38:389-95. doi:10.2519/jospt.2008.2791
7. Morrissey D. Proprioceptive shoulder taping. *J Bodyw Mov Ther*. 2000;4.3:189-194.
8. Cools AM, Witvrouw EE, Danneels LA, Cambier DC. Does taping influence electromyographic muscle activity in the scapular rotators in healthy shoulders? *Man Ther*. 2002;7(3):154-162. doi:10.1054/math.2002.0464
9. Huang CY, Hsieh TH, Lu SC, Su FC. Effect of the Kinesio tape to muscle activity and vertical jump performance in healthy inactive people. *Biomed Eng Online*. 2011;10(1):1-11. doi:10.1186/1475-925X-10-70
10. Miller J, Westrick R, Diebal A, Marks C, Gerber J.P. Immediate effects of lumbopelvic manipulation and lateral gluteal kinesio taping on unilateral patellofemoral pain syndrome: a pilot study. *Sports Health*. 2013;5(3):214-219. doi:10.1177/1941738112473561
11. Mostert-Wentzel K, Swart JJ, Masenyetse LJ, et al. Effect of kinesio taping on explosive muscle power of gluteus maximus of male athletes. *S Afr J Sports Med*. 2012;24(3):75-80.
12. Kilbreath SL, Perkins S, Crosbie J, McConnell J. Gluteal taping improves hip extension during stance phase of walking following stroke. *Aust J Physiother*. 2006;52(1):53-56. doi:10.1016/s0004-9514(06)70062-9
13. Davis DS, Briscoe DA, Craig T, Savilled SE, Taylor CJ. Physical characteristics that predict vertical jump performance in recreational male athletes. *Phys Ther Sport*. 2003;4:167-174.
14. Spägle T, Kistner A, Gollhofer A. Modelling, simulation and optimisation of a human vertical jump. *J Biomech*. 1999;32(5):521-530. doi:10.1016/s0021-9290(98)00145-6
15. Bobbert MF, Casius LJ. Is the effect of a countermovement on jump height due to active state development. *Med Sci Sports Exerc*. 2005;37(3):440-446. doi:10.1249/01.mss.0000155389.34538.97
16. Hrysomallis C. Balance ability and athletic performance. *Sports Med*. 2011;41:221-232. doi:10.2165/11538560-000000000-00000
17. Winter DA, Patla AE, Frank JS, Walt SE. Biomechanical walking pattern changes in the fit and healthy elderly. *Physical Ther*. 1990;70(6):340-347. doi:10.1093/ptj/70.6.340
18. Menek M Y, Tarakçı D. Kalça çevresi kas kuvveti denge ve fonksiyonu etkiler mi? *Sağlık Akademisi Kastamonu*. 2022;7(1):11-12.
19. Williams S, Whatman C, Hume PA, Sheerin K. Kinesio taping in treatment and prevention of sports injuries: a meta-analysis of the evidence for its effectiveness. *Sports Med*. 2012;42:153-164. doi:10.2165/11594960-000000000-00000
20. Pyšný L, Pyšná J, Petrů D. Kinesio taping use in prevention of sports injuries during teaching of physical education and sport. *Procedia Soc Behav Sci*. 2015;186:618-623.
21. Hsu YH, Chen WY, Lin HC, Wang WT, Shih YF. The effects of taping on scapular kinematics and muscle performance in baseball players with shoulder impingement syndrome. *J Electromyogr Kinesiol*. 2009;19(6):1092-1099. doi:10.1016/j.jelekin.2008.11.003
22. Aktas G, Baltacı G. Does kinesiotaping increase knee muscles strength and functional performance? *Isokinet Exerc Sci*. 2011;19(3):149-155. doi:10.3233/IES-2011-0408
23. Mostert-Wentzel K, Swart JJ, Masenyetse LJ, et al. Effect of kinesio taping on explosive muscle power of gluteus maximus of male athletes. *S Afr J Sports Med*. 2012;24(3):75-80.
24. Fu TC, Wong AM, Pei YC, Wu KP, Chou SW, Lin YC. Effect of kinesio taping on muscle strength in athletes—a pilot study. *J Sci Med Sport*. 2008;11(2):198-201. doi:10.1016/j.jsams.2007.02.011
25. Klavara P. Vertical-jump tests: A critical review. *Strength Cond J*. 2000;22(5):70.
26. Bethards S, Everitt-Smith S, Roberts H, Scarborough G, Tate S, Bandy W.D. Intrarater test-retest reliability of an instrument used to measure back and leg strength. *Isokinet Exerc Sci*. 1995;5(1): 31-35.
27. Tchórzewski D, Brudecki J, Jaworski J, Bujas P. Changes in the Level of Dynamic Balance Among Winter Sports Competitors, Candidates for ZSMS (School of Winter Sports Championship) in Zakopane over the Years 2007-2016. *Journal of Kinesiology and Exercise Sciences*. 2019;29(88):73-84.
28. Müller C, Brandes M. Effect of kinesiotape applications on ball velocity and accuracy in amateur soccer and handball. *J Hum Kinet*. 2015;49(1):119-129. doi:10.1515/hukin-2015-0114
29. Murray H. Effects of kinesio taping on muscle strength after ACL-repair. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2000;30(1):14.
30. Pearce B, Olivier B, Mtshali S, Becker P J. Gluteus medius kinesio-taping: the effect on torso-pelvic separation, ball flight distance and accuracy during the golf swing. *S Afr J Sports Med*. 2015;27(4):97-101.

## Araştırma Makalesi | Research Article

# SAĞLIK ALANLARINDAKİ ÜNİVERSİTE ÖĞRENCİLERİNİN ANATOMİ DERSİNE YÖNELİK TUTUMLARININ SINAV KAYGISI ÜZERİNE ETKİSİ

## THE EFFECTS OF ATTITUDES TOWARDS ANATOMY COURSE ON EXAM ANXIETY OF UNIVERSITY STUDENTS IN HEALTH FIELDS

 Ayla Tekin Orha<sup>1</sup>,  Buket Rende\*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Bölümü, Kocaeli, Türkiye. <sup>2</sup>Kocaeli Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi, Avrupa Meslek Yüksekokulu, Kocaeli, Türkiye.



### ÖZ

**Amaç:** Çalışmamızın amacı anatomi eğitimi ile ilgili öğrencilerin fikirlerini almak, derse karşı oluşturdukları tutumları tespit etmek ve söz konusu tutumlarının sınav kaygıları üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

**Yöntem:** Tanımlayıcı özellikte olan araştırma evreni Kocaeli Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi'nde 2022-2023 Eğitim-Öğretim yılında Diş Hekimliği Fakültesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi ve Meslek Yüksek Okulu'nda öğrenim gören toplam 648 öğrencinin katılımı ile oluşturulmuştur. Öğrencilere Kişisel Veri Formu, Anatomi Dersine İlişkin Tutum Ölçeği ve Sınav Kaygısı Ölçeği olmak üzere 3 farklı değerlendirme unsuru kapsamında toplam 63 çoktan seçmeli soru sorulmuş olup öğrencilerin anatomi dersi ile ilgili görüşlerinin ve tutumlarının ve bunların sınav kaygısı üzerine etkisi belirlenmek istenmiştir.

**Bulgular:** Çalışmamızda Anatomi Dersine İlişkin Tutum Ölçeği ile yaş, sınıf ve bölüme isteyerek gelme gibi değişkenler arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ). Cinsiyet ve eğitim-öğretim durumu değişkenleri ile anatomi dersine yönelik tutum düzeyleri ve sınav kaygısı düzeyleri arasında ise anlamlı bir fark elde edilememiştir ( $p>0,05$ ). Sınav Kaygısı Ölçeği'ndeki kaygı düzeyleri ile sınıf ve bölüme isteyerek gelme değişkeninde anlamlı bir fark çıkmıştır ( $p<0,05$ ).

**Sonuç:** Çalışmamız öğrencilerin anatomi dersine yönelik tutumlarını ve sınav kaygısı düzeylerini etkileyen faktörlerin yaş aralığı, sınıf seviyesi ve bölüme isteyerek gelme durumu gibi değişkenler olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda, anatomi dersine karşı olumlu bir tutum geliştirmek ve sınav kaygısını azaltmak için ders içeriğinin öğrenim seviyelerine uygun şekilde düzenlenmesi, hoca-öğrenci etkileşiminin güçlendirilmesi ve interaktif öğrenme yöntemlerinin kullanılması önerilmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, sağlık çalışanlarının daha yüksek akademik başarıya sahip olmalarını ve daha kalifiye bir şekilde mesleki uygulamalarını sürdürebilmelerini destekleyerek, anatomi eğitiminde verilen bilgilerin etkili bir şekilde tasarlanması ve uygulanmasına katkı sağlayabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Anatomi, sınav kaygısı, tutum ölçeği.

### ABSTRACT

**Objective:** Aim of our study is to get students' opinions about anatomy education, to determine their attitudes towards course, and to investigate these attitudes' effects on exam anxiety.

**Methods:** Descriptive study population was conducted with 648 student participants studying at Faculty of Dentistry and Health Sciences and Vocational School in Kocaeli Health and Technology University, 2022-2023 academic year. 63 multiple-choice questions were asked to students within scope of 3 different evaluation elements, namely Personal Data Form, Attitude Scale Regarding Anatomy Course and Exam Anxiety Scale. It was aimed to determine students' opinions and attitudes about anatomy course and their effect on exam anxiety.

**Results:** In our study, it was observed that there was a significant difference between Attitude Scale Towards Anatomy Course and age, class and preferring to department willingly variables ( $p<0.05$ ). No significant difference was found between gender and education level, and levels of attitude towards anatomy course and exam anxiety ( $p>0.05$ ). There was a significant difference between anxiety levels in the Exam Anxiety Scale and preferring to class and department willingly variable ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** Our study shows that the factors affecting students' attitudes towards the anatomy course and exam anxiety levels are variables such as age range, class level and the status of coming to the department willingly. In this context, in order to develop a positive attitude towards the anatomy course and to reduce exam anxiety, it is recommended to organize the course content in accordance with the learning levels, to strengthen the teacher-student interaction and to use interactive learning methods. The results of this research may contribute to the effective design and implementation of the information given in anatomy education by supporting healthcare professionals to have higher academic success and to continue their professional practice in a more qualified manner.

**Keywords:** Elective Anatomy, exam anxiety, attitude scale.

**İletişim kurulacak yazar/Corresponding author:** Buket Rende, Kocaeli Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi, Avrupa Meslek Yüksek Okulu, A Blok, Başiskele, Kocaeli, Türkiye.

**Telefon/Phone:** +90 (262) 999 80 85

**e-posta/e-mail:** buket.rende@kocaelisaglik.edu.tr

**Başvuru/Submitted:** 31.05.2023

**Kabul/Accepted:** 27.01.2024

**Online Yayın/Published Online:** 29.02.2024

## Giriş

Anatomi, insan vücudunun yapı ve işleyişini inceleyen bilim dalıdır ve Yunancada “ana” “çıkarmak” ve “tome” “kesim” kelimelerinden türetilmiştir.<sup>1</sup> Bu bilim dalı, üniversitelerin sağlık ile ilgili bölümlerinde zorunlu ders kapsamında eğitim-öğretim programına dâhil edilmiştir. Ancak öğrencilerin bu ders hakkındaki tutumlarında farklılıklar gözlenmektedir.<sup>2,3</sup> Anatomi dersinin, tıp ve sağlık bilimleri ile ilgili diğer bölümlerde öğrenciler tarafından en çok zorlanılan derslerden olduğu belirtilmektedir. Öğrenciler ders kapsamında kısa bir süre içinde çok sayıda anatomik terimi öğrenmek zorunda olduklarından, anatomi dersinin zahmetli ve sıkıcı olduğunu düşünmektedirler.<sup>4,5</sup> Ancak anatomi dersinde öğretilen bilgiler tıbbın birçok dalında temel bir öneme sahip olduğundan, öğrencilerin bu dersi öğrenmeye özen göstermeleri gerekmektedir.<sup>6</sup>

Tutum, bir öğrencinin bir konu veya ders hakkında sahip olduğu düşünceler, hisler ve inançlardır. Öğrencilerin tutumlarının; akademik başarıları, derse katılım oranları ve notları üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.<sup>7</sup> Kaygı, fiziksel ve ruhsal sağlık problemlerine bağlı olarak gelişen, gerginlik ve/veya korkunun neticesinde ortaya çıkan ve zamana yayılmış olarak görülen bir durumdur. Sınav kaygısı ise bir öğrencinin sınav sonuçlarını olumsuz etkileyecek düzeyde hissettiği bir gerginlik duygusudur. Anatomi dersine yönelik sınav kaygısı da öğrenciler arasında oldukça yaygın görülen bir problemdir. Bu kaygı tipik olarak sınavın yaklaşmasıyla artar. Sınav kaygısı, öğrencinin özgüvenini, motivasyonunu ve performansını da etkilemektedir. Bunlara ek olarak, öğrencinin yeterliliğine olan inancını ve sınavda başarılı olma ihtimalini düşürebilmektedir. Bunun sonucunda, öğrenci sınavda başarısızlıkla karşılaşabilir.<sup>8</sup>

Bunlara istinaden, bu çalışmanın amacı, sağlık alanındaki farklı bölümlerde eğitim alan üniversite öğrencilerinin anatomi dersine yönelik tutumlarının sınav kaygısı üzerine etkisini incelemek, ayrıca öğrencilerin tutumlarının ve kaygı düzeylerinin yaş, cinsiyet, öğrenim programı, okuduğu bölüm, bölüme isteyerek gelmesi gibi değişkenlere bağlı olarak araştırmaktır.

## Yöntem

Tanımlayıcı özellikte olan araştırma evreni Kocaeli Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi'nde 2022-2023 eğitim-öğretim yılında Diş Hekimliği Fakültesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi ve Meslek Yüksek Okulu'nda öğrenim gören toplam 648 öğrencinin katılımı ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız Kocaeli Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Etik Kurulu tarafından 09/11/2022 tarihli 11/01 sayılı kararı ile onaylanmıştır. Araştırma verileri Aralık 2022–Ocak 2023 tarihleri arasında toplanmıştır. Anketin geribildirimini güvenilirliğini artırmak için, anketi dolduran öğrencilerden isim yazmamaları istenmiştir. Öğrenciler anketi Google form üzerinden cevaplandırmıştır. Tanımlayıcı tipte olan bu çalışmayla

Kocaeli Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi'nden 32 (%4,9), Sağlık Bilimleri Fakültesi Fizyoterapi ve Rehabilitasyon bölümünden 55 (%8,5), Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik bölümünden 20 (%3,1) Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulundan 541 (%83,5) olmak üzere toplam 648 öğrenciye Kişisel Veri Formu, Anatomi Dersine İlişkin Tutum Ölçeği ve Sınav Kaygısı Ölçeği olmak üzere 3 farklı değerlendirme ölçeğinden toplam 63 çoktan seçmeli soru yöneltilmiştir. Öğrencilerin anatomi dersi ile ilgili tutumlarının karşılaştırılması ve sınav kaygısı üzerine etkisini belirlemek hedeflenmiştir.

### Kişisel Veri Formu

Anket; yaş, cinsiyet, okuduğu bölüm, kaçınıcı sınıf, kaçınıcı öğretim olduğu ve öğrenim gördüğü bölüme isteyerek gelip gelmediği gibi tanıtıcı özellikler içeren toplam 6 sorudan oluşmaktadır.

### Anatomi Dersine İlişkin Tutum Ölçeği

Çalışmamızda kullanılan Anatomi Dersine İlişkin Tutum Ölçeği, Eşit Aralıklı Likert tipi beşli derecelendirme ölçeğine dönüştürülmüştür. Bahçeci (2006) tarafından yapılan araştırmada bir madde havuzu oluşturmak amacıyla Hemşirelik, Beden Eğitimi Öğretmenliği ve Fen Bilgisi Öğretmenliği bölümlerinden dördüncü sınıf öğrencisi 23 gönüllü anatomi dersini betimleyen duygu, düşünce ve davranışlar içeren birer kompozisyon yazmıştır. Bu kompozisyonlar analiz edilerek anatomi dersi ile ilgili ve tutumu etkileyebileceği öngörülen 34 cümle belirlenmiş ve bu ifadeler dil ve kapsam geçerliği için 3 uzmana sunulmuştur. Ardından, bu maddeleri temsil etmesi bağlamında puanlamaları için alan eğitimi uzmanlarına sunulmuştur ve Cohen Kappa katsayısı hesaplanmıştır. Araştırmanın sonucunda, 27 maddeli bir ölçek geliştirilmiştir ve bu ölçek, bağımsız bir örneklem grubunda 242 öğrenci ile test edilmiştir. Analiz sonucunda ayrıştırılamayan iki madde ve bir diğer madde yük değeri 0,40'tan düşük olduğu için ölçekten çıkarılmıştır. Geriye kalan 24 madde, Duygusal Tutum, Dersle İlgili Tutum, Başarı Tutumu ve Disiplin Tutumu adındaki dört alt boyuta atanmıştır. Bu alt boyutlardaki 24 madde için madde yük değerleri arasında 0,41 ile 0,79 arasında değişmektedir.<sup>9</sup>

Ölçekteki tutum düzeyleri:

24- 55 puan: Düşük Düzey Tutum

56-88 puan: Orta Düzey Tutum

89-120 puan: Yüksek Düzeyde Tutum olarak puanlanmaktadır.

### Sınav Kaygısı Ölçeği

Ölçekte kullanılan madde havuzu, Baltaş (1999) tarafından geliştirilen 50 adet kaygı ifadesi izin dahilinde alınarak oluşturulmuştur. Ölçeğin güvenilirliği için Hemşirelik, Beden Eğitimi Öğretmenliği ve Fen Bilgisi Öğretmenliği bölümünde okuyan 206 lisans öğrencisi ile çalışılmıştır. Faktör analizi sonrasında, madde yük değeri 0,40'tan düşük olan 12 madde ve ayrılmamış (binişik) 4 madde ölçekten çıkarılmıştır. Kalan 34 madde, 0,41 ile 0,74 arasında değişen beş alt boyuta yüklenmiştir. Ölçeğin iç güvenilirlik katsayısı Cronbach's Alpha ( $\alpha$ )=0,87 olarak

hesaplanmıştır. “Hiçbir zaman”, “Nadiren”, “Bazen”, “Çoğu zaman” ve “Her zaman” seçeneklerinden oluşan beşli Likert soru kalıbı kullanılmıştır.<sup>9</sup>

Ölçeğin kaygı düzeyi:

34- 78 puan: Düşük Düzeyde Kaygı  $<(\sigma\pm\bar{x})$

79-125 puan: Orta Düzeyde Kaygı  $(\sigma\pm\bar{x})$

126-170 puan: Yüksek Düzeyde Kaygı  $>(\sigma\pm\bar{x})$  olarak puanlanmalıdır.

### Veri Analizi

İstatistiksel değerlendirme IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile değerlendirilmiştir. Nümerik değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma ve medyan (25.-75. yüzdeler) olarak verilmiştir. Kategorik değişkenler frekans (yüzde) olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar Mann-Whitney U testi ve Kruskal-Wallis testi ile belirlenmiştir. Çoklu karşılaştırmalar için Dunn testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare analizi belirlendi. Hipotez testlerinde  $p<0,05$  istatistiksel önemlilik için yeterli kabul edilmiştir.

### Bulgular

Çalışmamızda, sağlık alanındaki farklı bölümlerde eğitim alan üniversite öğrencilerinin anatomi dersine yönelik tutumlarının sınav kaygısı üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla toplanan verilerin yöntem bölümünde açıklanan tekniklerle analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen bulgular tablo haline getirilmiştir ve ilgili tablolar dâhilinde yorumlar yapılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen toplam 648 katılımcının; %23,3’ü erkek, %76,7’si kadın, %93,7’si 18-24 yaş aralığında, %6,3’ü 25-30 yaş aralığında, %55,9’u 1.sınıf, %44,1’i 2. sınıf, %68,7’si 1. öğretim, %31,3’ü 2.öğretim, %92,1’i okuduğu bölümü isteyerek tercih eden, %77,9’u ön lisans ve %22,1’i lisans öğrencisidir. Katılımcıların %4,9’u Diş Hekimliği, %8,5’i Fizyoterapi ve Rehabilitasyon, %3,1’i Hemşirelik, %5,6’sı Ameliyathane Hizmetleri, %9,1’i Anestezi, %4,8’i Diyaliz, %16,4’ü Fizyoterapi, %6,8’i İlk ve Acil Yardım, %4,9’u Odyometri, %5,9’u Tıbbi Dokümantasyon ve Sekreterlik, %13,6’sı Tıbbi Görüntüleme Teknikleri ve %16,5’i Tıbbi Laboratuvar Teknikleri öğrencisidir (Tablo 1). Anatomi Dersine İlişkin Tutum Ölçeği’ne göre; 25-30 yaş aralığındakiler, 2. Sınıfta olanlar ve bölüme isteyerek gelenlerde tutum düzeyi yüksek çıkmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Cinsiyet, öğretim ve eğitim durumu değişkenleri ile tutum düzeyleri arasında ise anlamlı bir fark çıkmamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 2). 1. Sınıfta okuyanlarda ve bölüme isteyerek gelmeyenlerde yüksek kaygı düzeyi tespit edilmiştir. 2.sınıfta okuyan ve bölüme isteyerek gelenlerde düşük kaygı düzeyi elde edilmiştir ( $p<0,05$ ). Cinsiyet, yaş aralığı, öğretim ve eğitim durumu değişkenleri ile sınav kaygı düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 3). Katılımcıların okudukları bölümler ile ATÖ-TOP arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Fizyoterapi ve Rehabilitasyon bölümünde okuyanların ATÖ-TOP puanı diğer

bölümlerde okuyanlara göre daha yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). SKÖ-TOP ile katılımcıların okudukları bölümler arasında ise anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 4). Buna ek olarak, okudukları bölümler ile ATÖ-TOP ikili karşılaştırılmasına göre analiz edildiğinde Ön lisans Programları-Fizyoterapi ve Rehabilitasyon bölümü arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ) (Tablo 5).

**Tablo 1.** Katılımcılara Ait Tanımlayıcı İstatistikler

Değişkenler		N	%	
Cinsiyet	Erkek	151	23,3	
	Kadın	497	76,7	
Yaş Aralığı	18-24	607	93,7	
	25-30	41	6,3	
Sınıf	1.sınıf	362	55,9	
	2.sınıf	286	44,1	
Öğretim Şekli	1.öğretim	445	68,7	
	2.öğretim	203	31,3	
Bölümü İsteyerek Gelmesi	Evet	597	92,1	
	Hayır	51	7,9	
Eğitim Düzeyi	Ön lisans	505	77,9	
	Lisans	143	22,1	
Okudukları Bölümler	Diş Hekimliği	Lisans	32	4,9
	Fizyoterapi ve Rehabilitasyon	Lisans	55	8,5
	Hemşirelik	Lisans	20	3,1
	Ameliyathane Hizmetleri	Ön lisans	36	5,6
	Anestezi	Ön lisans	59	9,1
	Diyaliz	Ön lisans	31	4,8
	Fizyoterapi	Ön lisans	106	16,4
	İlk ve Acil Yardım	Ön lisans	44	6,8
	Odyometri	Ön lisans	32	4,9
	Tıbbi Dokümantasyon ve Sekreterlik	Ön lisans	38	5,9
	Tıbbi Görüntüleme Teknikleri	Ön lisans	88	13,6
	Tıbbi Laboratuvar Teknikleri	Ön lisans	107	16,5

### Tartışma

Tutum öğrencilerin ders çalışma, öğrenme ve okula ya da derse olan yaklaşımlarını yansıtan bir kavramdır. Öğrencilerin anatomi dersine karşı tutumları, notlarını ve akademik performanslarını etkileyebilir. Birçok çalışma, öğrencilerin tutumlarının, akademik başarıları, derse katılım oranları ve notları üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir.<sup>7,10</sup> Çalışmamızda kullanılan “Anatomi Dersine İlişkin Tutum Ölçeği”nde öğrencilerin ölçekten aldıkları puan arttıkça tutum düzeyinin yüksek ve anatomi dersine karşı pozitif bir tutuma sahip olduğu ortaya koyulmuştur. Yaş, sınıf ve bölüme isteyerek gelme değişkenlerinde sonuçların anlamlı olduğu bulunurken; cinsiyet, öğrenim durumu değişkenleriyle ilişkili sonuçların ise anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Çalışmamızda 25-30 yaş aralığı ve 2. sınıf olan öğrencilerde anatomi dersine yönelik

yüksek tutum görülmesi, öğrencilerin akademik olarak derslerde daha tecrübeli olabilmesiyle ilişkilendirilmiştir. Yine aynı ölçek ile elde edilen bulgular, bölüme isteyerek gelme değişkenine “evet” yanıtını veren öğrenciler açısından yüksek tutumda olmalarının, öğrencilerin anatomi dersini sevmeleriyle ve derse karşı motivasyonlarının yüksek olduğunu göstermektedir. Kaygı, öğrencilerin sınavlara veya öğrenme değerlendirmelerine karşı yoğun bir stres, endişe ve kaygı yaşadığı bir durumu ifade eder. Sınav kaygısı, öğrencilerin sınavlara veya öğrenme fırsatlarına yönelik deneyimledikleri negatif bir duygu durumudur. Bu kaygı, öğrencilerin ders çalışma yeteneklerini, sınav performansını ve genel öğrenme deneyimlerini de

etkileyebilmektedir. İlgili bu sınav kaygısı anatomi dersinin sınav zamanının yaklaşmasıyla birlikte doğru orantılı olarak artış göstermektedir. Bunlara ek olarak, sınav kaygısı durumu öğrencinin kendine güvenmesi, derse karşı ilgisi ve başarısı üzerinde de oldukça etkili olabilmektedir ve öğrencinin yetersizlik ve başarısızlık gibi düşünceler oluşturmaya yol açabilmektedir. Sınav kaygısı, sınav zamanının yaklaşmasıyla birlikte gittikçe artar. Ayrıca, sınav kaygısı durumu öğrencinin kendine güvenmesi, derse karşı ilgisi ve başarısı üzerinde de oldukça etkili olabilmektedir ve öğrencinin yetersizlik ve başarısızlık gibi düşünceler oluşturmaya yol açabilmektedir. Sınav kaygısının etkisinde kalan bir öğrenci de ise sınavlarda başarısızlık durumu görülebilmektedir.<sup>8</sup>

**Tablo 2.** Katılımcıların Anatomi Dersine Tutum Düzeylerinin Demografik Özelliklerine Göre İlişkisi

Değişkenler	Düşük D.T. N (%)	Orta D.T. N (%)	Yüksek D.T. N (%)	P değeri
<b>Cinsiyet</b>				
Erkek	24 (15,9) <sup>a</sup>	104 (68,9) <sup>a</sup>	23 (15,2) <sup>a</sup>	0,331
Kadın	67 (13,5) <sup>a</sup>	329 (66,2) <sup>a</sup>	101 (20,3) <sup>a</sup>	
<b>Yaş Aralığı</b>				
18-24	87 (14,3) <sup>a</sup>	415 (68,4) <sup>b</sup>	105 (17,3) <sup>a</sup>	<0,001*
25-30	4 (9,8) <sup>a</sup>	18 (43,9) <sup>a</sup>	19 (46,3) <sup>b</sup>	
<b>Sınıf</b>				
1.sınıf	59 (16,3) <sup>a</sup>	248 (68,5) <sup>a</sup>	55 (15,2) <sup>a</sup>	0,006*
2.sınıf	32 (11,2) <sup>a</sup>	185 (64,7) <sup>a</sup>	69 (24,1) <sup>b</sup>	
<b>Öğretim Şekli</b>				
1.öğretim	68 (15,3) <sup>a</sup>	296 (66,5) <sup>a</sup>	81 (18,2) <sup>a</sup>	0,330
2.öğretim	23 (11,3) <sup>a</sup>	137 (67,5) <sup>a</sup>	43 (21,2) <sup>a</sup>	
<b>Bölüme İsteyerek Gelmesi</b>				
Evet	77 (12,9) <sup>a</sup>	400 (67) <sup>a</sup>	120 (20,1) <sup>b</sup>	0,005*
Hayır	14 (27,5) <sup>b</sup>	33 (64,7) <sup>a</sup>	4 (7,8) <sup>a</sup>	
<b>Eğitim Düzeyi</b>				
Ön Lisans	67 (13,3) <sup>a</sup>	345 (68,3) <sup>a</sup>	93 (18,4) <sup>a</sup>	0,304
Lisans	24 (16,8) <sup>a</sup>	88 (61,5) <sup>a</sup>	31 (21,7) <sup>a</sup>	

P<0,05, \*Ki-kare testi, a ve b şeklinde işaretlenen farklı harfler istatistikte anlamlı farklı gösterip “b” harfi farkın olduğu değişkeni göstermektedir.  
D.T: Düzey Tutum

**Tablo 3.** Katılımcıların Sınav Kaygısı Düzeylerinin Demografik Özelliklerine Göre İlişkisi

Değişkenler	Düşük D.T. N (%)	Orta D.T. N (%)	Yüksek D.T. N (%)	P değeri
<b>Cinsiyet</b>				
Erkek	29 (19,2) <sup>a</sup>	78 (51,7) <sup>a</sup>	44 (29,1) <sup>a</sup>	0,378
Kadın	95 (19,1) <sup>a</sup>	228 (45,9) <sup>a</sup>	174 (35) <sup>a</sup>	
<b>Yaş aralığı</b>				
18-24	112 (18,5) <sup>a</sup>	287 (47,3) <sup>a</sup>	208 (34,3) <sup>a</sup>	0,166
25-30	12 (29,3) <sup>a</sup>	19 (46,3) <sup>a</sup>	10 (24,4) <sup>a</sup>	
<b>Sınıf</b>				
1.sınıf	56 (15,5) <sup>a</sup>	166 (45,9) <sup>a</sup>	140 (38,7) <sup>b</sup>	0,002*
2.sınıf	68 (23,8) <sup>b</sup>	140 (49) <sup>a</sup>	78 (27,3) <sup>a</sup>	
<b>Öğretim Şekli</b>				
1.öğretim	84 (18,9) <sup>a</sup>	209 (47) <sup>a</sup>	152 (34,2) <sup>a</sup>	0,925
2.öğretim	40 (19,7) <sup>a</sup>	97 (47,8) <sup>a</sup>	66 (32,5) <sup>a</sup>	
<b>Bölüme İsteyerek Gelmesi</b>				
Evet	121(20,3) <sup>b</sup>	286 (47,9) <sup>a</sup>	190 (31,8) <sup>a</sup>	0,001*
Hayır	3 (5,9) <sup>a</sup>	20 (39,2) <sup>a</sup>	28 (54,9) <sup>b</sup>	
<b>Eğitim Düzeyi</b>				
Önlisans	94 (18,6) <sup>a</sup>	246 (48,7) <sup>a</sup>	165 (32,7) <sup>a</sup>	0,370
Lisans	30 (21) <sup>a</sup>	60 (42) <sup>a</sup>	53 (37,1) <sup>a</sup>	

Öğrencilerin okuduğu bölüm, sınıf, bölümü isteyerek tercih etme değişkenleri sınav kaygısı düzeyleri üzerinde etkili faktörler arasında olurken; cinsiyet, yaş aralığı, öğretim ve eğitim düzeyi değişkenlerinin etkili olmadığı saptanmıştır. 1. Sınıf olup bölüme istemeyerek gelen öğrencilerin yüksek düzeyde sınav kaygısı olduğu tespit edilmiştir. 1. sınıf öğrencilerinin yaşadığı sınav kaygısı; yeni bir ortama uyum sağlama, öğrenme stillerini keşfetme ve akademik becerilerinin yeterliliği üzerine belirsizlikler yaşamalarıyla doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle öğrencilere, yeni bir ortama uyum sağlama, akademik becerilerini geliştirme, kaynaklara erişim ve ders materyalleri için yardım alma konularında destek sağlanması, sınav kaygısı düzeylerinde önemli bir azalma sağlayabilir.<sup>6,8</sup> Yapılan bir araştırmada, çalışmamızdan farklı olarak, tıp fakültesinde okuyan kız öğrencilerin, erkek öğrencilere göre daha yüksek kaygı seviyelerine sahip oldukları bulunmuştur.<sup>11</sup> Kız öğrencilerin kaygı düzeylerinin daha yüksek olma sebepleri arasında; cinsiyet rolleri, toplumsal beklentiler, daha fazla strese maruz kalmak olduğu düşünülmektedir.<sup>10-14</sup> Çalışmamızda cinsiyetler arasında herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir.

**Tablo 4.** Katılımcıların Anatomi Dersine İlişkin Tutum ve Sınav Kaygısı Ölçeğinin Toplam Puanlarının Bölümlere Göre Dağılımı

Bölümler	ATÖ-TOP Medyan (25.-75. Yüzdellik)	SKÖ-TOP Medyan (25.-75. Yüzdellik)
Ön Lisans Programları	73 (62-85)	108 (85-135)
Diş Hekimliği	76,5 (62,5-83)	111 (86,75-133,5)
FTR	82 (68-95)***	110 (88-131)
Hemşirelik	69 (56,75-86)	124,5 (99,75-141,5)
P değeri	0,023***	0,496

\*\*\*Kruskal Wallis Test, ATÖ-TOP: Anatomi Dersine İlişkin Tutum Ölçeği Toplam Puanı, SKÖ-TOP: Sınav Kaygısı Ölçeği Toplam Puanı, FTR: Fizyoterapi ve Rehabilitasyon

**Tablo 5.** Katılımcıların ATÖ-TOP'nın Okudukları Bölümlere Göre İkili Karşılaştırılması

Bölümler	ATÖ-TOP Medyan (25.-75. Yüzdellik)	P değeri
Ö.L Prog.- Hemşirelik	73 (62-85) - 69 (56,75-86)	> 0,05
Diş Hek.-Hemşirelik	76,5 (62,5-83) - 69 (56,75-86)	>0,05
Diş Hek.-FTR	76,5 (62,5-83) - 82 (68-95)	0,465
Hemşirelik-FTR	69 (56,75-86) - 82 (68-95)	0,133
Ön lisans- Diş Hek.	73 (62-85) - 76,5 (62,5-83)	>0,05
Önlisans-FTR	73 (62-85) - 82 (68-95)	0,020***

\*\*\*Kruskal Wallis Test. FTR: Fizyoterapi ve Rehabilitasyon, Diş Hek.: Diş Hekimliği, Ö.L Prog.: Ön Lisans Programları

Üniversite öğrencilerinin anatomi dersindeki tutumlarının, sınav kaygısı üzerindeki etkisine ilişkin yapılan araştırmalar, öğrencilerin başarıları ve ders motivasyonları üzerinde de önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.<sup>12,15-17</sup> Araştırmalara göre, anatomi dersi genellikle stresli bir ders olarak algılanmaktadır. Söz konusu bu stres durumu, öğrencinin öğrenim seviyesi, cinsiyet ve anatomi dersi hakkında ön bilgisinin olması gibi faktörlere göre değişiklik gösterebilmektedir. Bununla beraber anatomi dersinin derinlemesine öğrenilmesinin, öğrencilerin anatomiye yönelik tutumunu olumlu

etkilediği de ortaya koyulmuştur.<sup>12,13,18,19</sup> Yapılan çalışmalarda, tıp fakültesi öğrencilerinin hemşirelik öğrencilerine göre anatomi dersine karşı daha olumlu bir tutum sergiledikleri tespit edilmiştir.<sup>10,15,16</sup> Başka çalışmalarda da Tıp ve Hemşirelik bölümlerinde okuyan öğrencilerin anatomi dersine yönelik yüksek tutuma sahip olduğu ve sınav kaygısını daha düşük düzeyde yaşadıkları tespit edilmiştir.<sup>15,16</sup> Hemşirelik bölümü öğrencilerinde anatomi dersine yönelik orta düzey tutum ve orta düzey sınav kaygısı çıkararak farklı bir sonuç elde edilmiştir. Hemşirelik bölümünden bu çalışmaya katılan öğrenci sayısının az olması nedeniyle elde edilen sonuçların daha büyük bir örneklem ile desteklenmesi gerekmektedir. Hemşirelik bölümündeki öğrencilerden elde edilen veriler ile ulaşılan tutum düzeyinin diğer bahsedilen faktörlere de bağlı olabileceği bilindiğinden, ilgili bölümün öğrencilerinin anatomi dersine karşı sahip oldukları tutumun tüm faktörlerin birlikte değerlendirilmesiyle ortaya koyulabileceği yorumlanmıştır. Ancak, sağlık alanındaki bölümlerde okuyan tüm öğrenciler için, anatomiye karşı tutum düzeylerinin yüksek ve olumlu oluşunun, öğrencilerin iş hayatlarında ve/veya mesleki pratiklerinde başarılı olmaları veya tecrübe kazanmaları noktasında oldukça önemli olacağını düşünmekteyiz. Buna ek olarak, diş hekimliği öğrencilerinin anatomi dersine ilişkin tutum düzeyleri çalışmaya alınan diğer sağlık alanı bölümlerine göre yüksek bulunmuştur. Anatominin önemini öğrenci-lere açıkça gösterilmesi ve diş hekimliği uygulamasında temel bir öneme sahip olması, kariyerleri boyunca anatomi bilgilerini kullanacakları için, anatomiye karşı ilgi duyabilmeleri ve bu alanda başarılı olmak için kendilerini geliştirmeleri olabilmektedir.

Üniversite öğrencilerinin anatomi dersine yönelik genel anlamda olumlu bir tutum sergilediğini ortaya koymuştur.<sup>12,13,20</sup> Ancak çalışmamızda bazı öğrencilerin sınav kaygısı nedeniyle anatomi dersine karşı olumsuz bir tutum geliştirdiği de gözlemlenmiştir. Sınav kaygısının yüksek düzeyde olması durumunda anatomi dersine yönelik düşük düzey tutum gösterilmesi bu sonucu destekler niteliktedir. Katılımcıların okudukları bölümler ile ATÖ-TOP arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir. Fizyoterapi ve Rehabilitasyon bölümünde okuyanların ATÖ-TOP puanı diğer bölümlerde okuyanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Buna ek olarak, okudukları bölümler ile ATÖ-TOP ikili karşılaştırılmasına göre analiz edildiğinde Ön lisans Programları-Fizyoterapi ve Rehabilitasyon bölümü arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür. Fizyoterapi ve Rehabilitasyon bölümü öğrencilerinin anatomi dersine yönelik tutumlarının diğer bölümlere göre pozitif olmasının nedenleri arasında; fizyoterapi uygulamalarında anatomi bilgisinin önemini oldukça fazla olması, anatomi dersinde öğrendikleri bilgileri doğrudan iş hayatlarında kullanacak olmaları, anatomi dersine karşı ilgi beslemeleri ve mesleki pratiklerinde başarılı olabilmek amacıyla kendilerini geliştirme istekleri olabileceğinin kanaatindeyiz.

Ön lisans programlarında anatomi dersine yönelik tutumun ve sınav kaygı düzeyinin göreceli olarak daha düşük elde edilmesinin sebebinin ön lisans düzeyinde

verilen anatomi eğitiminin lisans düzeyine göre daha yüzeysel anlatımına ve öğrencilerin meslek hayatında lisans bölümlerindeki kadar doğrudan anatomiyi kullanacaklarını düşünmemelerine bağlanabilmektedir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar öğrencilerin anatomi dersine yönelik gösterdikleri tutum ve sınav kaygı düzeyleri arasındaki ilişkiyi yansıtmaktadır. Öğrencilerin yaş aralığı, sınıfı, bölüme isteyerek gelme durumu gibi parametreler anatomi dersine yönelik tutumlarını ve sınav kaygısı düzeylerini önemli ölçüde etkilemektedir. Derse karşı tutum düzeyini arttırarak, sınav kaygısı azalmış, daha yüksek akademik başarıya sahip sağlık çalışanlarının yetiştirilmesi sağlanmış olacaktır. Öğrenim seviyesi, yaş, bölüm gibi değişkenlerin anatomi dersine tutumu etkileyen faktörler arasında olması sebebiyle, derse karşı yüksek tutum düzeyi gösterilmesi için, derste anlatılan bilgilerin öğrenim seviyelerine göre düzenlenmesi ve hoca-öğrenci ekseninin üst düzeyde işler halde olduğu interaktif öğrenme yöntemlerinin kullanılarak, öğrencilerin derse aktif katılımlarının teşvik edilmesi önerilmektedir.

#### Açıklamalar

Bu makalenin bir kısmı 14. Uluslararası Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırmaları Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

#### Etik Standartlara Uygunluk

İlgili çalışma Kocaeli Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu'nun 09/11/2022 tarihli ve 11/01 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

#### Çıkar Çatışması

Çalışmada herhangi bir kişi/kurum ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

#### Yazar Katkısı:

ATO: Çalışmanın planlanması, veri analizi, yazım. BR: Çalışmanın planlanması, veri toplama ve işleme, yazım.

#### Finansal Destek

Herhangi bir kişi ya da kuruluştan finansal destek alınmamıştır.

#### References

- Serin E. Relationship between the hip anatomy and sport-ing performance. *European Journal of Physical Education and Sport Science*. 2017;3. doi:10.5281/zenodo.1043342
- Demir M, Atay E, Kılıç M, İpekçi NN. Kilis 7 Aralık Üniversitesi lisans ve ön lisans eğitiminde öğrencilerin anatomi dersi ile ilgili görüşlerinin karşılaştırılması. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)*. 2014 ; 23 (3)
- Serin E, Zambak Ö. Beden Eğitimi, Antrenörlük Eğitimi ve Hemşirelik Eğitimi Öğrencilerinin Anatomi Dersine Yönelik Tutumlarının Karşılaştırılması. *The Journal of Germanica, Physical Education And Sports Science*. 2020; 1(2).
- McLachlan JC, Patten D. Anatomy teaching: Ghosts of the past, present and future. *Med Educ*. 2006;40(3):243-253. doi:10.1111/j.1365-2929.2006.02401.x
- Turney BW. Anatomy in a modern medical curriculum. *Ann R Coll Surg Engl*. 2007;89(2):104-107. doi:10.1308/003588407X168244
- Golenhofen N, Heindl F, Grab-Kroll C, Messerer DAC, Böckers TM, Böckers A. The use of a mobile learning tool by medical students in undergraduate anatomy and its effects on assessment outcomes. *Anat Sci Educ*. 2020;13(1):8-18. doi:10.1002/ase.1878
- Kaplan A, Gheen M, Midgley C. Classroom goal structure and student disruptive behaviour. *British Journal of Educational Psychology*. 2002;72(2):191-211. doi:10.1348/000709902158847.
- Bischofsberger L, Burger PHM, Hammer A, Paulsen F, Scholz M, Hammer CM. Prevalence and characteristics of test anxiety in first year anatomy students. *Annals of Anatomy*. 2021;236. doi:10.1016/j.aanat.2021.151719.
- Bahçeci D. Anatomi dersinde portfolyo kullanmanın öğrencilerin bilişsel ve duyuşsal özelliklerine etkisi. 2006; Yayınlanmamış doktora tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- Zeidner M, Mendel G. *Test Anxiety in Educational Contexts: Concepts, Findings, and Future Directions*. 2007, University of Haifa.
- Cipra C, Müller-Hilke B. Testing anxiety in undergraduate medical students and its correlation with different learning approaches. *PLoS One*. 2019;14(3). doi:10.1371/journal.pone.0210130
- Buru E, Korkmaz ÖFS, Koyun N, Layık ME, Korkmaz D, Keskin S. Öğrencilerin Anatomi Dersine İlişkin Tutumlarının Değerlendirilmesi: *Aydın Tıp Fakültesi Klinikleri Dergisi*. 2018;4(3):143-155. doi:10.17932/iau.tfk.2018.008/tfk\_v04i3005
- Bahşi İ, Topal Z, Çetkin M, Orhan M ve ark. Evaluation of attitudes and opinions of medical faculty students against the use of cadaver in anatomy education and investigation of the factors affecting their emotional responses related thereto. *Surg Radiol Anat*. 2021; 43(4):481-487. doi: 10.1007/s00276-020-02567-8.
- Yılmaz M, Osman ÇD, Karakaya F, et al. Okul öncesi öğretmen adaylarının insan anatomisi ve fizyolojisi dersine yönelik sınav kaygılarına neden olan durumlar ve kaygı durumunu azaltan etkenler. *Anadolu Öğretmen Dergisi*. 2018; 2(1), 1-18.
- Grochowski COC, Cartmill M, Reiter J, et al. Anxiety in first year medical students taking gross anatomy. *Clinical Anatomy*. 2014;27(6):835-838. doi:10.1002/ca.22398
- Bianchi S, Bernardi S, Perilli E, Cipollone C, Di Biasi J, Macchiarelli G. Evaluation of effectiveness of digital technologies during anatomy learning in nursing school. *Applied Sciences (Switzerland)*. 2020;10(7). doi:10.3390/app10072357
- Bischofsberger L, Burger PHM, Hammer A, Paulsen F, Scholz M, Hammer CM. Prevalence and characteristics of test anxiety in first year anatomy students. *Annals of Anatomy*. 2021;236. doi:10.1016/j.aanat.2021.151719
- Bolatlı G. Hemşirelik Bölümü Öğrencilerinin Anatomi Dersi Hakkındaki Düşünceleri. *STED/Süreklili Tıp Eğitimi Dergisi*. Published online July 26, 2021. doi:10.17942/sted.837439
- Önderoğlu S, İlgi NS, Yüksel MT, et al. The attitude of undergraduate students towards anatomy course at Near East University. *Ponte*. 2017;73(10):254-265. doi:10.21506/j.ponte.2017.10.20
- Mutluay ŞD, Açıkgöz AK. Öğrenci Ebe ve Hemşirelerin Anatomi Eğitimi Hakkındaki Görüşlerinin Değerlendirilmesi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi*



*Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*. Published  
online May 22, 2020. doi:10.31020/mutftd.679401



## Araştırma Makalesi | Research Article

# ÜNİVERSİTE ÖĞRENCİLERİNİN HUMAN PAPİLLOMA VİRÜS İLE İLGİLİ BİLGİ DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

## ASSESSMENT OF UNIVERSITY STUDENTS' KNOWLEDGE LEVELS REGARDING HUMAN PAPILLOMA VIRUS

Pınar Daylan Koçkaya<sup>1\*</sup>, Esat Efe Çakır<sup>2</sup>, Berkan Öztürk<sup>2</sup>, Serap Cansu Terzi<sup>2</sup>, Muhammed Furkan Soylu<sup>2</sup>,  
 Muhammed Ali Barışç<sup>2</sup>, Sibel Çobanoğlu<sup>2</sup>, Abdul Waris Rahmani<sup>2</sup>, Edibe Selen Topaloğlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıp Eğitimi Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye. <sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kocaeli, Türkiye.



### Öz

**Amaç:** Human papilloma virüsü (HPV), üreme sisteminin en yaygın viral enfeksiyonudur. Cinsel olarak aktif kadın ve erkeklerin büyük bir kısmı ömürlerinin bir noktasında bu virüsle enfekte olmaktadır. Bu çalışmada Kocaeli Üniversitesi'nde okuyan öğrencilerin HPV enfeksiyonları, aşı ve taramaları üzerine bilgi düzeylerinin ölçülmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Araştırma anketi çevrimiçi ortamda 26.12.2022-6.01.2023 tarihleri arasında Google Formlar üzerinde erişime açılmıştır. Anketinin birinci bölümü araştırmaya katılan öğrencilerin demografik özelliklerini belirlemeye yönelik sorulardan oluşmaktadır. Anketin ikinci bölümünde 2013 yılında Waller ve ark. tarafından geliştirilmiş ve 2019 yılında Demir tarafından yapılan çalışmada Türkçe geçerlik ve güvenilirliği kanıtlanmış Human Papilloma Virüsü Bilgi Ölçeği (HPV-BÖ) kullanılmıştır. Veriler IBM SPSS V23 paket program ile analiz edilmiştir.

**Bulgular:** Araştırmaya toplam 372 öğrenci katılmıştır. Tanımlayıcı istatistik sonuçlarına göre katılımcıların %58'i kadın ve %59'u sağlık alanında (tıp, diş, ilk ve acil yardım, fizyoterapi, hemşirelik vb.) ve %41'i sağlık dışındaki bölümlerde okumaktadır. Katılımcıların %90'ı daha önce HPV hastalığını duyduğunu belirtirken tıp öğrencilerinin %94'ü HPV'yi duyduğunu belirtmiştir. HPV-BÖ daha önce HPV'yi duyduğunu belirten 336 öğrenciye uygulanmıştır. Katılımcıların toplam 33 puan alınabilecek HPV-BÖ genel puan ortalamaları 14,02±7,19 olarak bulunmuştur. Sağlık alanındaki bölümlerde okuyan öğrencilerin HPV bilgi düzeyi sağlık dışı bölümlerde okuyan öğrencilere göre anlamlı derecede yüksektir (p<0,05). Araştırma sonuçlarına göre cinsiyet ve cinsel deneyim HPV bilgi düzeyi üzerinde anlamlı bir etki oluşturmamaktadır (p>0,05).

**Sonuç:** Çalışma sonuçlarına göre aralarında tıp ve sağlık alanındaki diğer bölümlerin bulunduğu katılımcı popülasyonu düşünüldüğünde sonuçların düşük seviyede olduğu görülmektedir. Bu sonuçlardan yola çıkarak genç nüfusu HPV konusunda bilinçlendirilmek ve toplum çapında farkındalık yaratmak amacıyla nitelikli çalışmalara ihtiyaç bulunduğu söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Human papilloma virüsü, bilgi düzeyi, farkındalık, üniversite öğrencileri, HPV

### ABSTRACT

**Objective:** Human papilloma virus (HPV) is the most common viral infection of the reproductive system. Most sexually active men and women are infected with this virus at some point in their lives. In this study, it was aimed to measure the knowledge level of students studying at Kocaeli University on HPV infections, vaccination knowledge and screening.

**Methods:** The research questionnaire was made available online on Google Forms between 26.12.2022 and 6.01.2023. The first part of the questionnaire consists of questions to determine the demographic characteristics of the students participating in the research. In the second part of the questionnaire, the HPV Knowledge Scale (HPV-BÖ), which was developed by Waller et al. in 2013 and proven to be valid and reliable in Turkish in the study conducted by Demir in 2019, was used. Data were analyzed with IBM SPSS V23 package program.

**Results:** A total of 372 students participated in the research. According to the descriptive statistics results, 58% of the participants are women and 59% are studying in the field of health (medicine, dentistry, first and emergency aid, physiotherapy, nursing, etc.) and 41% are studying in departments other than health. While 90% of the participants stated that they had heard of HPV disease before, 94% of the medical students stated that they had heard of HPV. HPV-BÖ was applied to 336 students who stated that they had heard of HPV before. The average total score of HPV-BÖ, from which participants can obtain a total of 33 points, has been found to be 14.02±7.19. According to the results of Mann-Whitney U test, HPV knowledge level of students studying in health departments is significantly higher than students studying in non-health departments (p<0.05). According to the results of the research, gender and sexual experience do not have a significant effect on the HPV knowledge level (p>0.05).

**Conclusion:** According to the results of the study, it is seen that the results are at a low level when the participant population, among which there are other departments in the field of medicine and health, is considered. Based on these results, it can be said that there is a need for qualified studies to raise awareness of the young population about HPV and to carry out community-wide awareness studies.

**Keywords:** Human papilloma virus, level of knowledge, awareness, university students, HPV

\*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Pınar Daylan Koçkaya; Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıp Eğitimi Anabilim Dalı, Umuttepe, 41001, Kocaeli, Türkiye.

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

Başvuru/Submitted: 27.06.2023

Kabul/Accepted: 28.02.2024

Online Yayın/Published Online: 29.02.2024



## Giriş

Human papilloma virüsü (HPV), üreme sisteminin en yaygın viral enfeksiyonudur. Cinsel olarak aktif kadın ve erkeklerin büyük bir kısmı ömürlerinin bir noktasında bu virüsle enfekte olmaktadır.<sup>1</sup> Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) her yıl 14 milyona kadar HPV enfeksiyonu teşhisi konulmaktadır. Bu popülasyondan 40.000'den fazla kişiye her yıl yeni bir HPV ile ilişkili kanser vakası teşhisi konulmuştur.<sup>2</sup>

HPV, dünya çapında tüm kanserlerin yaklaşık %5'inin nedeni olarak tanımlanmıştır. HPV enfeksiyonu hemen hemen tüm serviks kanserleri, anogenital (vulvar, vajina, penil ve anal) ve orofaringeal kanserlerin önemli bir oranı ile ilişkilidir.<sup>3</sup> Rahim ağzı kanseri, her yıl tahmini 500.000'den fazla yeni vaka ve 250.000'den fazla ölümlerle dünya çapında kadınları etkileyen en yaygın kanser türlerinden biridir. Rahim ağzı kanseri riski, belirli HPV genotiplerinin insidansına paralel olarak artmıştır.<sup>4</sup>

HPV enfeksiyonu için risk faktörleri, diğer cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlara benzerdir. En önemli faktörler cinsel partner sayısı, yeni partner, erken cinsel ilişki, önceden cinsel yolla bulaşan enfeksiyona sahip olmak, immün supresyon, diğer HPV aracılı neoplazi öyküsü ve düşük sosyoekonomik durum olarak sıralanmaktadır. Düşük sosyoekonomik duruma sahip popülasyonda sağlık hizmetleri ve taramaya erişim kısıtlı olduğu için HPV için bir risk faktörü olarak görülmektedir.<sup>5</sup>

HPV teşhisi için yaygın olarak kullanılan HPV ve Pap smear testleri HPV'nin erken teşhisi, önlenmesi ve tedavisi için oldukça önemlidir. Erken tanı ve koruma programları ile HPV'nin kritik sonuçlarının önüne geçebilmek mümkünken HPV farkındalığının düşük olması nedeniyle serviks kanseri hala en yüksek insidansa sahip kanser türlerinden birisi olmaya devam etmektedir. Özellikle düşük sosyoekonomik ve eğitim düzeyine sahip bölgelerde HPV farkındalığı oldukça düşüktür. Farkındalık düzeyi ülke çapında bile değişkenlik göstererek bölge bazlı sağlık hizmetlerine erişim, eğitim düzeyi, cinsel ilişkiye başlama yaşı ve bölgenin muhafazakarlık düzeyine göre daha düşük seyretmektedir.<sup>6</sup>

Günümüzde, HPV enfeksiyondan primer korumada, HPV aşılı önemli yer tutmaktadır.<sup>7</sup> 2020 itibarıyla HPV aşısı 110 ülkede HPV ulusal aşı programına dahil edilmiştir.<sup>8</sup> Türkiye'de ise HPV aşısı ruhsatlı olarak belirli bir ücret karşılığında uygulanmakta ancak henüz ulusal aşı programında bulunmamaktadır.<sup>9</sup> Genel olarak gelişmiş ülkelerde HPV aşısının ulusal aşı programına dahil edildiği görülmektedir. Literatürde yapılan birçok çalışmada HPV aşısının ve HPV farkındalığı konusunda etnik, ırksal ve kültürel farklılıkların önemli bir faktör olduğu görülmektedir.<sup>6,10-11</sup> Özellikle bazı popülasyonlarda cinsel eğitim konusundaki eksiklik ve aile ya da toplum içinde cinsel konuları konuşmaktan kaçınmanın bir sonucu olarak cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında bilgi düzeyi oldukça düşüktür.<sup>9</sup>

HPV'yle ilgili Türkiye ve uluslararası literatürde toplum bazlı birçok farkındalık çalışması yapıldığı görülmektedir. Ozan ve ark. tarafından yapılan çalışmada kadın hastalıkları ve doğum polikliniğine başvuran 336 kadın

hastanın sadece %33,6'sının HPV'yi bildiği, %46,1'nin HPV'nin cinsel yolla bulaşan bir hastalık olduğunu dahi bilmediği ve %44,6'sının HPV aşısını bilmediği ortaya çıkmıştır.<sup>12</sup> Amerika Birleşik Devletleri (ABD) (n: 813), Birleşik Krallık (BK) (n: 799) ve Avustralya'da (n: 797) yapılan geniş çaplı bir çalışmada; katılımcıların %61,1'inin daha önce HPV'yi duyduğu tespit edilmiştir. HPV hastalığını duyan katılımcıların oranı diğer ülkelere göre ABD'de daha yüksek bulunmuştur (ABD, BK ve Avustralya için sırasıyla erkekler %63,6, %39,2, %41,4; kadınlar %87,7, %61,6, %71,8). Bunun yanında tüm ülkeler için kadınların bilgi düzeyleri daha yüksek bulunmuştur (ABD, BK ve Avustralya için sırasıyla erkekler 8, 7,74, 8,16; kadınlar 9,22, 8,53, 8,31).<sup>13</sup> Literatürde yayınlanan çalışmalarda da görüldüğü gibi Türkiye'de HPV farkındalığı risk grubu olan cinsel aktif kadınlarda dahi gelişmiş ülkelere göre düşüktür. HPV'den korunmada önemli bir faktör olan HPV farkındalığı açısından sağlık otoritelerine yol göstermesi için Kocaeli Üniversitesi'nde okuyan öğrencilerin HPV enfeksiyonları, aşı bilgisi ve taramaları üzerine bilgi düzeylerinin ölçülmesi amaçlanmıştır.

## Yöntem

### Araştırma Tasarımı

Kocaeli Üniversitesi'nde eğitim gören tüm öğrenciler araştırmanın evrenini oluşturmaktadır. Yapılan Power analizine göre tüm evrenden 330 katılımcıya ulaşılması hedeflenmiştir.

Çalışmada öğrencilerin HPV konusunda bilgi düzeylerini ölçmek için anket yöntemi kullanılmıştır. Araştırma anketi çevrimiçi ortamda 26.12.2022 ile 6.01.2023 tarihleri arasında Google Formlar üzerinde erişime açılmıştır. Anket Kocaeli Üniversitesi'nin belirli bölgelerinde açılan stantlarda araştırmada yer alan öğrenciler veya öğrenci temsilcileri vasıtasıyla karekod görseli gösterilerek ve sosyal ağlarda öğrenci gruplarında paylaşarak farklı fakültelerde okuyan katılımcılara ulaştırılmıştır.

### Çalışma Anketi ve Çalışmada Kullanılan Ölçekler

Araştırma anketi 2 bölümden oluşmaktadır. Birinci bölüm araştırmaya katılan öğrencilerin demografik özelliklerini belirlemeye yönelik sorulardan oluşmaktadır. Anketin ikinci bölümünde 2013 yılında Waller ve ark.<sup>14</sup> tarafından geliştirilmiş ve 2019 yılında Demir<sup>7</sup> tarafından yapılan çalışmada Türkçe geçerlik ve güvenilirliği kanıtlanmış olan Human Papilloma Virüsü Bilgi Ölçeği (HPV-BÖ) kullanılmıştır. HPV-BÖ, HPV, HPV aşısı ve tarama testleri hakkındaki bilgi düzeyini ölçmek amacıyla geliştirilmiş, 33 madde ve 4 alt boyuttan oluşan bir ölçektir. Ölçeğin alt boyutları Genel HPV bilgisi, HPV tarama testi bilgisi, genel HPV aşısı bilgisi ve mevcut HPV aşılama programına yönelik bilgi olarak sıralanmaktadır. Ölçekte her bir doğru cevap, "1", yanlış cevaplar ile "Bilmiyorum" ifadeleri "0" ile puanlanmaktadır. HPV-BÖ'den elde edilen toplam puan 0-33 arasındadır ve puanın yüksek olması, HPV tarama testleri ve HPV aşısı hakkındaki bilgi düzeyinin yüksek olduğunu göstermektedir. Demir (2019) tarafından yapılan geçerlik- güvenilirlik çalışması sonucunda ölçeğin

Cronbach  $\alpha$  değeri (0,901) güvenilirlik katsayısının 0,9629 olduğu ("Genel HPV bilgisi alt boyutu" Cronbach alfa: 0,848; "HPV tarama testi bilgisi alt boyutu" Cronbach alfa: 0,679; "Genel HPV aşı bilgisi alt boyutu" Cronbach alfa: 0,796; "Mevcut HPV aşılama programına yönelik bilgi alt boyutu" Cronbach alfa: 0,609) bulunmuştur.<sup>7</sup>

### Etik ve Yönetmelik İzinler

Araştırmaya başlamadan önce Kocaeli Üniversitesi Rektörlüğü, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı ve Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na gerekli izin başvuruları yapılmış ve GOKAEK-2022/21.07 sayılı izin alınarak çalışma başlatılmıştır. Ölçeğin bu çalışmada kullanımı için ölçek geliştirici araştırmacıdan yazılı onay alınmıştır.

### İstatistiksel Analiz

Veriler Google Forms ile toplandıktan sonra önce Microsoft Office Excel 365 programına aktarılmış, sonrasında da IBM SPSS V23 paket program ile analiz edilmiştir. Normal dağılıma uygunluk Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile değerlendirilmiştir. Verilerin normal dağılıma uymadığı belirlendiği için parametrik olmayan analizlerden yararlanılmıştır. İkili grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney U Testi ve iki üzeri grup karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis H Testi kullanılmıştır. Nümerik değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Kategorik değişkenler frekans (yüzde) şeklinde verilmiştir.

### Bulgular

İstatistiksel anlamlılık açısından G\*Power analizine göre 330 katılımcı hedeflenen araştırmaya toplam 372 öğrenci katılım göstermiştir. Tanımlayıcı istatistik sonuçlarına göre katılımcıların 216'sı (%58) kadın ve 156'sı (%42) erkek öğrencidir. Katılımcıların 235'i (%63) yurtdışı ikamet etmektedir. Katılımcılardan 223'ü (%60) cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında fikir sahibi olduğunu belirtirken 128'i (%34) kısmen fikir sahibi olduğunu, 21'i (%6) fikri olmadığını belirtmiştir. Bunun yanında katılımcılardan 101'i (%27) cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında eğitim aldığını belirtirken 271'i (%73) eğitim almadığını belirtmiştir. Katılımcıların oldukça büyük bir çoğunluğu (n:336, %90,3) daha önce HPV hastalığını duyduğunu belirtirken tıp öğrencilerinin (n:184) %94'ü HPV'yi duyduğunu belirtmiştir. HPV-BÖ daha önce HPV'yi duyduğunu belirten 336 öğrenciye uygulanmıştır. HPV-BÖ uygulanan öğrencilerin %61'i kadın, %62'si yurtdışı ikamet etmekte ve %59'u sağlık alanında bölümlerde (%52 tıp, %7 sağlık alanında) okumaktadır. Katılımcıların %28'i cinsel deneyim yaşadığını belirtmiştir. Katılımcılarla ilgili demografik bilgiler Tablo 1'de yer almaktadır.

Katılımcıların HPV-BÖ genel puan ortalamaları 33 puan üzerinden 14,02 $\pm$ 7,19 olarak bulunmuştur. Alt boyutlarına göre değerlendirildiğinde; genel HPV bilgisi alt boyutu 16 puan üzerinden 8,66 $\pm$ 3,92, HPV tarama testi bilgisi alt boyutu 6 puan üzerinden 1,66 $\pm$ 1,42, genel HPV aşı bilgisi alt boyutu 5 puan üzerinden 2,4 $\pm$ 1,77 ve HPV aşılama

programına yönelik bilgi alt boyutu puanı 6 puan üzerinden 1,29 $\pm$ 1,33 olarak bulunmuştur (Tablo 2). Genel olarak farkındalık düşük olmakla birlikte oransal olarak en fazla düşüklüğün HPV Tarama ve Aşılama ile ilgili olduğu gözlenmiştir. Katılımcıların okudukları bölüme göre HPV bilgi düzeylerinin değerlendirilmesi kapsamında, tıp öğrencileri ve diğer bölümlerdeki öğrencilerin bilgi düzeyleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığı değerlendirilmiştir. Bu sonuca göre tıp bölümü ve sağlık alanındaki diğer bölümlerde okuyan öğrencilerin HPV bilgi düzeyi sağlık dışı bölümlerde okuyan öğrencilere göre anlamlı derecede yüksektir (p<0,05).

Mann-Whitney U testi sonucuna göre katılımcıların HPV-BÖ puan ortalamaları okudukları bölüme göre değerlendirildiğinde; sağlık bölümlerinde okuyan katılımcıların genel puan ortalamaları sağlık dışı bölümlerde okuyanlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0,05). Bu durum tüm alt boyutlar için geçerlidir (Tablo 3).

Çalışma kapsamında cinsiyet ve HPV-BÖ genel ve alt boyut bilgi ortalamalarının ilişkisi değerlendirilmiştir. Mann-Whitney U testi sonucuna göre cinsiyet ve HPV bilgi düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Benzer şekilde tüm alt boyutlar için değerlendirildiğinde cinsiyet ve HPV bilgi düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p>0,05) (Tablo 4).

Katılımcıların cinsel deneyim yaşama durumlarına göre HPV bilgi düzeyleri değerlendirildiğinde; genel puan ortalaması ve tüm alt boyutlar için anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır (p>0,05) (Tablo 5).

Katılımcıların cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında fikir sahibi olma ve eğitim alma durumlarına göre HPV bilgi düzeyleri değerlendirildiğinde, cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında fikir sahibi olduğunu belirten katılımcıların bilgi düzeyi fikir sahibi olmayanlar ve kısmen fikir sahibi olanlara göre anlamlı derecede yüksektir (p<0,05). Benzer şekilde cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında eğitim alanların eğitim almayanlara göre HPV bilgi düzeyi anlamlı derecede yüksektir (p<0,05) (Tablo 6).

Tıp fakültesi öğrencileri özelinde değerlendirildiğinde; 1. Sınıf Tıp Fakültesi öğrencilerinin HPV-BÖ puanı 33 puan üzerinden 14,58 $\pm$ 6,86 iken 6. Sınıf Tıp Fakültesi öğrencilerinde bu puan 25,83 $\pm$ 1,16'a yükselmiştir. Bu yükselme özellikle 4. Sınıfta olduğu gözlenmiştir. 3. Sınıf öğrencilerinin HPV-BÖ puanları 15,33 $\pm$ 8,09 iken en yüksek artış 4. Sınıfta olarak 21,88 $\pm$ 4,04'e yükselmiştir. Bir diğer ifade ile Tıp Eğitimi alan öğrenciler HPV bilgi düzeyinin arttığı ve özellikle klinik dönemde bu artışın oransal olarak daha yüksek olduğu görülmüştür. Kruskal Wallis H testi sonucuna göre genel HPV-BÖ puan ortalaması ve tüm alt boyutlar için bu artış anlamlıdır (p<0,05) (Tablo 7).

Katılımcıların anne ve baba eğitim düzeylerine göre HPV bilgi düzeyleri de değerlendirilmiştir. Kruskal Wallis H testi sonucuna göre anne eğitim düzeyi okur-yazar olmayan katılımcıların HPV bilgi düzeyleri oldukça düşük (7,66 $\pm$ 4,32) olmasına rağmen eğitim düzeyi ve HPV bilgi düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bunun yanında baba eğitim düzeyi arttıkça HPV bilgi düzeyinin de arttığı ve bu artışın anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,013).

Tablo 1. Katılımcılara ilişkin demografik özellikler

	Tüm Katılımcılar Sayı (%)	HPV-BÖ Uygulanan Katılımcılar Sayı (%)
<b>Cinsiyet</b>		
Kadın	216 (%58)	205 (%61)
Erkek	156 (%42)	131 (%39)
<b>İkametgah</b>		
Aile evi	70 (%19)	66 (%19)
Arkadaşıyla birlikte	35 (%9)	33 (%10)
Tek başına	27 (%7)	26 (%8)
Yurt	235 (%63)	207 (%62)
Diğer	5 (%1)	4 (%1)
<b>Bölüm</b>		
Tıp	184 (%49)	174 (%52)
Sağlık alanında	36 (%10)	25 (%7)
Sağlık dışı	152 (%41)	137 (%41)
<b>Cinsel deneyim</b>		
Evet	99 (%27)	94 (%28)
Hayır	273 (%73)	242 (%72)
<b>Cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında fikir sahibi olma durumu</b>		
Evet	223 (%60)	209 (%62)
Hayır	21 (%6)	15 (%4)
Kısmen	128 (%34)	112 (%33)
<b>Cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında eğitim alma durumu</b>		
Evet	101 (%27)	99 (%29)
Hayır	271 (%73)	237 (%71)
<b>Daha önce HPV'yi duyma</b>		
Evet	336 (%90)	336 (%100)
Hayır	36 (%10)	-
<b>Sınıf *,**</b>		
1		104 (%60)
2		37 (%21)
3		6 (%3)
4		9 (%5)
5		12 (%7)
6		6 (%3)
<b>Sağlık alanında olup HPV eğitimi alma durumu**</b>		
Evet		60 (%30)
Hayır		139 (%70)

HPV-BÖ: Human Papilloma Virüsü Bilgi Ölçeği

\*HPV-BÖ uygulanan katılımcılara ilişkin sınıf bilgisi sadece tıp fakültesi öğrencilerini kapsamaktadır.

\*\*Sadece sağlık alanındaki HPV-BÖ uygulanan katılımcılara ait verileri içermektedir.

Tablo 2. Katılımcıların HPV-BÖ puan ortalamaları

	Madde Sayısı	Ortalama±SS	Min-Maks
<b>HPV-BÖ Toplam Puan Dağılımı</b>	33	14,02 ±7,19	0-28
<b>Genel HPV bilgisi</b>	16	8,66 ±3,92	0-16
<b>HPV tarama testi bilgisi</b>	6	1,66 ±1,42	0-5
<b>Genel HPV aşı bilgisi</b>	5	2,4 ±1,77	0-5
<b>HPV aşılama programına yönelik bilgi</b>	6	1,29 ±1,33	0-5

SS: Standart Sapma

Tablo 3. Katılımcıların okudukları bölüme göre HPV-BÖ puan ortalamaları

Ölçek	Sağlık Alanındaki Bölümler Ortalama±SS	Sağlık Dışı Bölümler Ortalama±SS	p
HPV-BÖ Toplam Puan Dağılımı	16,05 ±6,85	11,06 ±6,64	<0,001
Genel HPV bilgisi	9,72 ±3,64	7,10 ±3,81	<0,001
HPV tarama testi bilgisi	1,99 ±1,39	1,17 ±1,33	<0,001
Genel HPV aşı bilgisi	2,88 ±1,76	1,69 ±1,54	<0,001
HPV aşılama programına yönelik bilgi	1,44 ±1,28	1,08 ±1,38	0,003

SS: Standart Sapma

p&lt;0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir

Tablo 4. Katılımcıların cinsiyetlerine göre HPV-BÖ puan ortalamaları

Ölçek	Erkek Ortalama±SS	Kadın Ortalama±SS	p
HPV-BÖ Toplam Puan Dağılımı	13,96±7,28	14,05±7,15	0,880
Genel HPV bilgisi	8,65 ±4,19	8,66±3,75	0,750
HPV tarama testi bilgisi	1,64±1,44	1,66±1,42	0,925
Genel HPV aşı bilgisi	2,25±1,68	2,49±1,83	0,276
HPV aşılama programına yönelik bilgi	1,39±1,45	1,23±1,25	0,464

SS: Standart Sapma

p&lt;0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir

Tablo 5. Katılımcıların cinsel deneyim yaşama durumlarına göre HPV-BÖ puan ortalamaları

Ölçek	Evet Ortalama±SS	Hayır Ortalama±SS	p
HPV-BÖ Toplam Puan Dağılımı	14,96±7,24	13,65±7,15	0,104
Genel HPV bilgisi	9,12±3,90	8,47±3,92	0,107
HPV tarama testi bilgisi	1,78±1,44	1,61±1,42	0,296
Genel HPV aşı bilgisi	2,52±1,75	2,35±1,78	0,276
HPV aşılama programına yönelik bilgi	1,53±1,38	1,2±1,31	0,469

SS: Standart Sapma

p&lt;0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir

Tablo 6. Katılımcıların cinsel yolla bulaşan hastalıklarla ilgili değişkenlere göre HPV-BÖ puan ortalamaları

Ölçek	CYBH Hakkında Fikir			CYBH Hakkında Eğitim		p
	Evet Ortalama±SS	Hayır Ortalama±SS	Kısmen Ortalama±SS	Evet Ortalama±SS	Hayır Ortalama±SS	
HPV-BÖ Toplam Puan Dağılımı	15,61±7,19	11,00±4,00	11,46±6,69	16,51±7,30	13,02±6,90	<0,001
Genel HPV bilgisi	9,44±3,94	6,80±3,89	7,45±3,51	9,80±3,79	8,21±3,85	<0,001
HPV tarama testi bilgisi	1,89±1,43	1,46±1,45	1,24±1,31	2,14±1,53	1,45±1,33	<0,001
Genel HPV aşı bilgisi	2,75±1,71	1,40±1,63	1,88±1,72	2,73±1,78	2,26±1,75	<0,001
HPV aşılama programına yönelik bilgi	1,51±1,32	1,33±1,63	0,88±1,22	1,81±1,35	1,08±1,26	<0,001

SS: Standart Sapma

p&lt;0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir

Tablo 7. Tıp bölümü sınıf derecesine göre HPV-BÖ puan ortalamaları

	1.sınıf Ortalama±SS	2.sınıf Ortalama±SS	3.sınıf Ortalama±SS	4.sınıf Ortalama±SS	5.sınıf Ortalama±SS	6.sınıf Ortalama±SS
HPV-BÖ Toplam Puan Dağılımı	14,58±6,86	14,56±5,71	15,33±8,09	21,88±4,04	22,5±4,1	25,83±1,16
Genel HPV bilgisi	9,12±3,68	8,89±3,53	9,5±4,32	11,77±2,10	12,83±2,36	14,16±1,16
HPV tarama testi bilgisi	1,75±1,34	1,7±1,19	2±1,41	3,55±1,01	2,91±1,37	3,83±0,75
Genel HPV aşı bilgisi	2,55±1,88	2,86±1,54	2,16±1,6	3,88±1,26	4±1,12	4,83±0,40
HPV aşılama programına yönelik bilgi	1,14±1,16	1,10±1,12	1,66±1,5	2,66±1	2,75±1,21	3±0,89

SS: Standart Sapma

## Tartışma

Üniversite öğrencileri bir ülkenin geleceğini etkileyen ve toplumun şekillenmesinde temel taşlarını oluşturan en önemli popülasyondur. HPV ve ilişkili kanserlerden kaynaklı yaşanacak hasarın önüne geçmenin önündeki en büyük zorluk, toplumun bu konu hakkında bilinçsiz olmasıdır. Bu konuda geleceğin şekillendiricileri olarak üniversite öğrencilerine büyük sorumluluk düşmektedir. Bu çalışmada üniversite öğrencilerinin HPV hakkındaki bilgi düzeyleri değerlendirilmiş ve ortalama puan 33 üzerinden 14 olarak bulunmuştur. Sonuçlara göre üniversite öğrencilerinin HPV hakkında olması gerekenden daha düşük seviyede bilgi düzeyinde oldukları görülmüştür. Literatürde yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde Türkiye’de ve birçok ülkede de üniversite öğrencilerinin HPV bilgi düzeylerinin oldukça düşük olduğu görülmüştür. Turhan Çakır ve ark. tarafından yapılan çalışmada, tüm fakültelerden 303 öğrencini HPV bilgi düzeyi ölçülmüş ve ortalama puan 9,08±8,32 olarak hesaplanmıştır.<sup>15</sup> Benzer şekilde Yıldırım tarafından yapılan çalışmada, sağlık bilimleri fakültesinde okuyan 1.330 katılımcının puan ortalaması 8,38±6,64 olarak bulunmuştur.<sup>16</sup> Aslan ve Bakan tarafından yapılan çalışmada ise sağlık alanında öğrenim gören 312 öğrencinin ortalama puanı 5,86 ± 6,40 olarak bulunmuştur.<sup>17</sup> Literatürde Türkiye’de yapılmış diğer çalışmalar incelendiğinde bu çalışmanın sonuçlarının daha yüksek olduğu söylenebilmektedir. Bu durum zaman içinde HPV farkındalığının yükselmiş olduğu ve ilişkili olarak genç yetişkinlerde bilgi düzeyinin arttığı şeklinde de yorumlanabilmektedir.

Çalışmada katılımcıların %90’ının daha önce HPV’yi duyduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu oran yüksek olmakla birlikte cinsel yolla bulaşan hastalıklarla ilgili sadece %60’ı fikir sahibi olduğunu belirtmiştir. Bunun yanında katılımcıların sadece %30’u HPV konusunda eğitim aldıklarını belirtmiştir. Katılımcıların birçoğunun HPV’yi duymuş olmalarına rağmen bilgi düzeylerinin yeteri kadar yüksek olmaması ve cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında fikri olmayan %40 oranında katılımcı

düşünüldüğünde bu konuda üniversite öncesindeki eğitim hayatı sürecinde eğitim verilmesi gerektiği aşikardır. Bu çalışmanın sonuçları literatürdeki diğer çalışma sonuçlarına göre daha yüksek bir sonuç vermiştir. Şahin ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada; katılımcıların %35,5’i daha önce HPV’yi duymadığını ifade etmiştir.<sup>18</sup> Benzer şekilde Güvenç ve ark. tarafından yapılan çalışmada, hemşirelik yüksek okulunda okuyan 314 öğrencinin %55,7’sinin daha önce HPV’yi duyduğu belirlenmiştir.<sup>19</sup> Farkındalık ve bilincin oluşmasında en önemli etken hiç şüphesiz bu görevi üstlenen sağlık personelinin yeterli bilgi düzeyine sahip olmasıdır. Toplum bilgilendirme ve yönlendirme açısından önemli bir konumda bulunan hekimlerin HPV, HPV ile ilişkili hastalıklar ve HPV aşısının önemi konusunda bilgi, tutum ve davranışları hastalarına doğru bilgi aktarma, yönlendirme ve danışmanlık açısından oldukça önemlidir. Bu çalışmada sağlık alanındaki bölümlerde okuyan öğrencilerin genel bilgi düzeyleri sağlık dışındaki bölümlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde Şahin ve ark.<sup>18</sup>, Yıldırım ve ark.<sup>20</sup>, Liu ve ark.<sup>21</sup>, Monteiro ve ark.<sup>22</sup> ve Borlu ve ark.<sup>23</sup> tarafından yapılan çalışmalarda sağlık alanında okuyan öğrencilerin HPV ve HPV aşısı hakkında bilgi düzeyleri diğer bölümlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Literatürdeki çoğu çalışmadan farkı olarak bu çalışmanın sonuçları göre cinsiyet ve cinsel deneyimin HPV bilgi düzeyi üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını göstermektedir. Liu ve ark. kadın (p<0,001) ve cinsel deneyim yaşayan (p<0,05) öğrencilerin HPV hakkındaki bilgi düzeyinin anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuştur.<sup>21</sup> Ancak Wanderley ve ark. tarafından yapılan çalışmada cinsel olarak aktif öğrencilerin bilgi düzeyleri anlamlı derecede daha yüksek (p=0,001) bulunurken cinsiyetin anlamlı bir fark yaratmadığı tespit edilmiştir (p=0,638).<sup>22</sup> Bunun yanında literatürde yapılan çoğu çalışmada kadınların HPV konusundaki bilgi düzeyinin daha yüksek olduğu bulunmuştur.<sup>9,11,17,25-26</sup> Çalışmada tıp fakültesinde okuyan öğrencilerin sınıf derecesi arttıkça HPV bilgi düzeyinin anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. Bu durum sınıf yükselmesiyle alınan klinik temelli dersler ve kadın hastalıkları ve doğum alanında

yapılan stajlardan dolayı beklenen bir sonuçtur. Literatürde yapılan diğer çalışmalarda da sağlık alanındaki bölümlerde sınıf derecesinin artması ile HPV bilgi düzeyi arasında anlamlı ilişkiler bulunmuştur. Güvenç ve ark. tarafından yapılan çalışmada 1. sınıftan 4. sınıfa kadar her kademedede öğrencilerin bilgi düzeylerinin anlamlı derecede arttığı görülmüştür (1. sınıf: 2,80, 2. sınıf: 3,66, 3. sınıf: 5,20, 4. sınıf: 6,42;  $p < 0,001$ ).<sup>19</sup> Buna karşın Turhan Çakır ve ark. tarafından yapılan çalışmada 1, 2 ve 3. sınıf tıp öğrencilerinin HPV bilgi düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır (1. sınıf: 17,57±6,35, 2. sınıf: 14,12±7,22, 3. sınıf: 17,07±6,18,  $p = 0,071$ ).<sup>15</sup>

Cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında bilgi sahibi olduğunu belirten katılımcıların bilgi sahibi olmayan ve kısmen bilgi sahibi olanlara göre HPV bilgi düzeyi anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu durum HPV-BÖ'nün tüm alt boyutları için de geçerlidir. Benzer şekilde sağlık alanında okuyan 1.330 öğrenci ile yapılan bir çalışmada, cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında bilgi sahibi olduğunu belirten öğrencilerin HPV-BÖ puan ortalaması 8,99±6,67 olarak bulunurken bilgi sahibi olmayan öğrencilerin 5,37±5,63 olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). Cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında fikir sahibi olmanın anlamlı bir fark yarattığı sonucu, bu çalışmanın bulgularıyla uyumlu şekilde HPV-BÖ'nün tüm alt boyutları için geçerlidir.<sup>16</sup>

Sonuç olarak, HPV özellikle genç yetişkinler arasında oldukça yüksek bir prevalansla artmaya devam etmektedir. Aşı, tarama programları ve erken teşhisle HPV'nin kötü sonuçlarının önüne geçebilmek mümkünken HPV'nin artan prevalansa sahip olması toplumun bu konuda bilinçsiz olduğunun göstergesidir. Çalışmada üniversite öğrencilerinin HPV hakkındaki bilgi düzeyleri nispeten düşük bulunmuştur. Aralarında tıp ve sağlık alanındaki diğer bölümlerin bulunduğu katılımcı popülasyonu düşünüldüğünde sonuçların düşük seviyede olduğu ve Türkiye'deki gençlerin HPV hakkında yeterli bilgiye sahip olmadığı söylenebilmektedir. Tıp ve sağlık alanındaki diğer bölümlerde okuyan öğrencilerin HPV hakkındaki bilgi düzeyleri diğer bölümlere göre anlamlı derecede yüksek bulursa da ortalama üzerinden değerlendirildiğinde yine de düşük seviyelerdedir.

HPV farkındalığının yüksek öğretim okuyan bireylerin haricinde, tıp ve sağlık alanında okuyan bireylerde de düşük çıkması toplum sağlığı açısından önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bireylerin HPV farkındalığının düşük olması HPV'den korunmayı azaltırken, tanı ve tedavi süreçlerini geciktirebilir. Bu durumda tüm kanserlerin %5'ine neden olan HPV'ye bağlı kanserlerin Türkiye'de daha fazla gözlenmesine neden olabilir.

Bu çalışma; HPV farkındalığı ve bilgi düzeyi konusunda sağlık otoritelerinin mevcut durumu anlayabilmesi ve ileriye yönelik planlamalarında farkındalık sonuçlarına göre politikalar üretebilmesi adına oldukça önemli sonuçlar içermektedir. Bu çalışmanın sonuçlarından yola çıkarak genç nüfusun HPV konusunda bilinçlendirilmesi ve toplum çapında farkındalık çalışmalarının yapılması için nitelikli çalışmalara ihtiyaç bulunduğu söylenebilir.

### Etik Standartlara Uygunluk

Çalışma etik kurallara uygun şekilde yürütülmüş ve Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (GOKAEK-2022/21.07 sayılı izin).

### Çıkar Çatışması

Yazarlar, araştırmanın potansiyel bir çıkar çatışması olarak yorumlanabilecek herhangi bir ticari veya finansal ilişki olmaksızın yürütüldüğünü beyan etmiştir.

### Yazar Katkısı

PDK, EEÇ, BK, SCT, MFS, MAB, SÇ, AWR, EST: Çalışmanın tasarımı; EEÇ, BK, SCT, MFS, MAB, SÇ, AWR, EST: Veri toplanması; PDK: Verilerin analizi; PDK: Kaynak taraması ve makale yazımı.

### Finansal Destek

Çalışma için herhangi bir mali destek alınmamıştır.

### Kaynaklar

1. Maness SB, Reitzel LR, Watkins KL, McNeill LH. HPV awareness, knowledge and vaccination attitudes among church-going African-American Women. *Am J Health Behav.* 2016;40(6):771-778. doi:10.5993/AJHB.40.6.9
2. Chido-Amajuoyi OG, Jackson I, Yu R, Shete S. Declining awareness of HPV ant HPV vaccine within the general US population. *Hum Vaccin Immunother.* 2021;17(2):420-427. doi:10.1080/21645515.2020.1783952
3. Sanjose S, Brotons M, Pavon MA. The natural history of human papillomavirus infection. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;47:2-13. doi:10.1016/j.bpobgyn.2017.08.015
4. Haghshenas M, Golini-Moghaddam T, Rafiei A, Emadeian O, Shykhpour A, Ashrafi GH. Prevalence and type distribution of high-risk human papillomavirus in patients with cervical cancer: a population-based study. *Infectious agents and cancer.* 2013;8(1):1-6. doi:10.1186/1750-9378-8-20
5. Hathaway JK. HPV: diagnosis, prevention, and treatment. *Clinical obstetrics and gynecology.* 2012;55(3):671-680. doi:10.1097/GRF.0b013e31825caa36
6. Jafri AA, Shah AY, Shamim Z, Bajwa AA. Awareness and knowledge regarding cervical cancer screening and its association with demographic characteristics. *Annals of PIMS-Shaheed Zulfiqar Ali Bhutto Medical University.* 2018;14(4):285-290. doi:10.48036/apims.v14i4.138
7. Demir F. *Human Papilloma Virüsü Bilgi Ölçeği'nin (HPV Knowledge Scale) Türkçe Geçerlik ve Güvenirliği (Yüksek Lisans Tezi).* Ankara, Türkiye: Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Halk Sağlığı Hemşireliği A.B.D.; 2019.
8. Min KJ, Suh DH, Baba T, ve ark. Time for enhancing government-led primary prevention of cervical cancer. *J Gynecol Oncol.* 2021;32(1):e12. doi:10.3802/jgo.2021.32.e12
9. Çınar İO, Ozkan S, Aslan GK, Alatas E. Knowledge and behavior of university students toward human papillomavirus and vaccination. *Asia Pac J Oncol Nurs.* 2019;6(3):300-307. doi:10.4103/apjon.apjon\_10\_19
10. Alsous MM, Ali A, Al-Azzam SI, ve ark. Knowledge and awareness about human papillomavirus infection and its vaccination among women in Arab communities. *Scientific*



- reports. 2021;11(1):786-794. doi:10.1038/s41598-020-80834-9
11. Kasymova S, Harrison SE, Pascal C. (2019). Knowledge and awareness of human papillomavirus among college students in South Carolina. *Infectious Diseases: Research and Treatment*. 2019;12:1-9. doi:10.1177/1178633718825077
  12. Ozan H, Demir BÇ, Atik Y, Gümüş E, Özerkan K. Kadın hastalıkları ve doğum polikliniğine başvuran hastaların human papilloma virüs ve hpv aşısı hakkındaki bilgi düzeylerinin belirlenmesi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2011;37(3):145-148.
  13. Marlow LA, Zimet GD, McCaffery KJ, Ostini R, Waller J. Knowledge of human papillomavirus (HPV) and HPV vaccination: an international comparison. *Vaccine*. 2013;31(5):763-769. doi:10.1016/j.vaccine.2012.11.083
  14. Waller JO, Ostini R, Marlow LA, McCaffery K, Zimet G. Validation of a measure of knowledge about human papillomavirus (HPV) using item response theory and classical test theory. *Preventive medicine*. 2013;56(1):35-40. doi:10.1016/j.ypmed.2012.10.028
  15. Turhan Çakır A, Porsuk İ, Çalbiyık F ve ark. Üniversite öğrencilerinin HPV, HPV tarama testi ve HPV aşısına ilişkin bilgi düzeylerinin değerlendirilmesi: kesitsel bir çalışma. *Batı Karadeniz Tıp Dergisi*. 2021;5(3):472-480. doi:10.29058/mjwbs.974567
  16. Yıldırım C. *Bir Vakıf Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Öğrencilerinin Human Papilloma Virüs Farkındalığı* (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul, Türkiye: Biruni Üniversitesi, Hemşirelik Anabilim Dalı; 2022.
  17. Aslan G, Bakan AB. Identification of the knowledge level of students receiving health education about the human papilloma virus, screening tests, and human papilloma virus vaccination. *Journal of Community Health*. 2021;46:428-433. doi:10.1007/s10900-020-00888-8
  18. Şahin MA., Şenel U, Şahin RA, Ömer A, Hayran O. (2022). Üniversite öğrencilerinin human papilloma virüsü ve aşısı ile ilgili bilgi, tutum ve davranışları. *Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2022;31(1):1-8. doi:10.34108/eujhs.794249
  19. Güvenç G, Akyüz A, Seven M. Hemşirelik yüksek okulu öğrencilerinin human papilloma virüs enfeksiyonu ve aşıları ile ilgili bilgi ve tutumlarının belirlenmesi. *Gulhane Medical Journal*. 2012;54:104-110. doi:10.5455/gulhane.18912
  20. Yıldırım Ş, Deneyici B, Kılıç S ve ark. Üniversite öğrencilerinin HPV ve HPV aşısı hakkındaki bilgi, tutum ve davranışları. İKÇÜ Tıp Fakültesi 1. Ulusal Öğrenci Kongresi; 27-28 Mayıs,2021; İzmir, Türkiye.
  21. Liu Y, Di N, Tao X. Knowledge, practice and attitude towards HPV vaccination among college students in Beijing, China. *Hum Vaccin Immunother*. 2020;16(1):116-123. doi:10.1080/21645515.2019.1638727
  22. Monteiro DLM, Brollo LCS, Souza TPD, ve ark. (2018). Knowledge on the HPV vaccine among university students. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2018;60:e46. 10.1590/S1678-9946201860046
  23. Borlu A, Gunay O, Balci E, Sagioglu M. Knowledge and attitudes of medical and non-medical Turkish university students about cervical cancer and HPV vaccination. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016;17(1):299-303. doi:10.7314/apjcp.2016.17.1.299
  24. Wanderley MDS, Sobral DT, Resende CN, ve ark. Medical students' knowledge of the human papillomavirus (HPV), cervical cancer, and HPV vaccination. *Rev Bras Educ Med*. 2021;45(3):e155. doi:10.1590/1981-5271v45.3-20210071.ING
  25. Yacobi E, Tennant C, Ferrante J, Pal N, Roetzheim R. University students' knowledge and awareness of HPV. *Preventive medicine*. 1999;28(6), 535-541. doi: 10.1006/pmed.1999.0486
  26. Du EY, Adjei Boakye E, Taylor DB, ve ark. Medical students' knowledge of HPV, HPV vaccine, and HPV-associated head and neck cancer. *Hum Vaccin Immunother*, 2022;18(6), 2109892. doi: 10.1080/21645515.2022.2109892

## Research Article | Araştırma Makalesi

# ISOLATION OF HIGHLY ENRICHED NUCLEAR PROTEOME USING OPTIMIZED METHODS FROM NEUROBLASTOMA CELLS

## OPTİMİZE EDİLMİŞ YÖNTEMLER KULLANILARAK NÖROBLASTOMA HÜCRELERİNDEN YÜKSEK DERECEDE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ NÜKLEER PROTEOM İZOLASYONU

 Ayimgül Uzunyol<sup>1\*</sup>,  Murat Kasap<sup>2</sup>,  Gürler Akpınar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>OSTİM Technical University, Biomedical Device Technology Faculty, Vocational school, Ankara, Türkiye. <sup>2</sup>Kocaeli University, Department of Medical Biology/DEKART Proteomics Laboratory, Kocaeli University Medical School, Kocaeli, Türkiye.



### ABSTRACT

**Objective:** Nuclei sits at the center of cells and orchestrates many cellular metabolism. However, in proteomic studies, we lack of profound understanding of many processes regarding to nuclei due to the poor enrichment of its proteome. In this study, in order to put forward one step in this area of research, comprehensive evaluation of four different nuclear protein enrichment methods were conducted by using neuroblastoma cell lines (SH-SY5Y) as a model.

**Methods:** Nuclear proteins (NPs) have been isolated using either commercially available kits or density gradient centrifugation. The purity of the isolated nuclear proteins have been verified using Western Blot (WB) analysis with antibodies against histonH3, LaminA/C, GAPDH and Cyclophilin A. Further analysis have been performed by using 2-DE (2 dimentioanl gel electrophoresis) gels and the proteins have been identified by MALDI-TOF/TOF analysis.

**Results:** Results from this comparison study demonstrated that Q-Proteome nuclear protein isolation kit (Qiagen, USA) was superior when compared to other most commonly used differential and density gradient centrifugation nuclear protein enrichment methods. Collected fractions using this method gave bands only with anti-histone H3 and anti- LaminA/C antibodies . Approximately 70% of the proteins on 2-DE gels were resident nuclear proteins or predicted to be nuclear-associated.

**Conclusion:** Overall, we demonstrated that although it is not possible to obtain purified nuclear protein fractions, it is feasible to obtain highly enriched nuclear fractions from cells grown in culture. Our study will serve as an important platform for nuclear protein isolation in Proteomics.

**Keywords:** Nucleus, Proteomics, neuroblastoma cells, enrichment methods

### ÖZ

**Amaç:** Çekirdek, hücrelerin merkezinde yer alır ve birçok hücrel metabolizmayı yönetir. Ancak proteomik çalışmalarda, proteomunun zayıf zenginleşmesi nedeniyle çekirdeklerle ilgili birçok işlemi derinlemesine anlamamız mümkün olmamaktadır. Bu çalışmada bu önemli organeli detaylı olarak anlamak için nöroblastoma hücre (SH-SY5Y) model kullanarak dört farklı nükleer protein zenginleştirme yönteminin kapsamlı değerlendirilmesi yapılmıştır.

**Yöntem:** Nükleer proteinler (NP'ler), ticari kitler veya yoğunluk gradyanlı santrifüjleme metodu kullanılarak izole edilmiştir. İzole edilmiş nükleer proteinlerin saflığı, histonH3, LaminA/C, GAPDH ve Siklofilin A'ya karşı antikorlarla Western Blot (WB) analizi kullanılarak doğrulanmıştır. 2-DE (2 boyutlu jel elektroforez) jelleri ve proteinler MALDI-TOF/TOF analizi ile tanımlanmıştır.

**Bulgular:** Bu karşılaştırmalı çalışmanın sonuçları, Q-Proteome nükleer protein izolasyon kiti'nin (Qiagen, ABD) diğer en yaygın kullanılan farklı ve yoğunluk gradyanı santrifüjasyonu nükleer protein zenginleştirme yöntemleri ile karşılaştırıldığında üstün olduğunu göstermiştir. Bu yöntemle toplanan fraksiyonlar, yalnızca histon H3 ve Lamin A/C antikorları ile bantlar vermiştir. Yaklaşık olarak 2-DE jellerindeki proteinlerin %70'i yerel nükleer proteinler veya nükleer ile ilişkilendirilmiş olarak tahmin edilmiştir.

**Sonuç:** Genel olarak, saflaştırılmış nükleer protein fraksiyonları elde etmek mümkün olmasa da, kültürde yetiştirilen hücrelerden yüksek derecede zenginleştirilmiş nükleer fraksiyonlar elde etmek mümkündür. Çalışmamız, Proteomik'te nükleer protein izolasyonu için önemli bir platform olarak hizmet edecektir.

**Anahtar Kelimeler:** Çekirdek, Proteomik, nöroblastoma hücreleri, zenginleştirme yöntemleri

\*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Ayimgül Uzunyol; OSTİM Technical University, Biomedical Device Technology Faculty, Vocational school, Ankara, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (531) 263 48 14 e-mail/e-posta: ayimgul.unzunyol@ostimteknik.edu.tr

Submitted/Başvuru: 20.07.2023

Accepted/Kabul: 03.11.2023

Published Online/Online Yayın: 29.02.2024

## Introduction

An organelle is characterized by a subunit of the eukaryotic cells that is specialized in multiple cellular functions. The subcellular localization of an organelle protein is an paramount factor for protein function. In the same spring, mis-localization of proteins is blame for dysfunction in cell and various human diseases.<sup>1-3</sup> Majority of the organelle proteins are found in the nucleus. Nuclear proteome is characterized by a set of highly dynamic and multiple overlapping structure. Approximately 1425 protein-coding genes have been shown to located in nucleoli. In recent years, high-throughput methods have been developed based on either enrichment or isolation for organelle proteome and the most commonly used approach is subcellular fractionation.<sup>4-6</sup> The first procedure for subcellular fractionation is disruption of cells and tissues using physical methods such as mechanical or liquid shear or non-physical methods such as detergents or hypo-osmotic shock. The cell disruption step is aimed at obtaining high protein yields, and maintain structural and functional integrity of intracellular organelles. The conventional methods such as subcellular fractionation which are typically by differential and density-gradient centrifugation, have been employed a series of centrifugation steps to separate different populations of cellular compartments or organelles from cell homogenates based on their mass and/or density.<sup>7</sup> Eventhough more than 150 years of research into nucleoli, many aspects of their structure and function remain uncharacterized as a black whole. The noteworthy tendency in nucleoli research currently is rapid advances in nuclear proteomes research which allow us to deeply understand the nucleus-related metabolism in plants and animals cells. The most popular method for isolation of nuclei from cells was developed by Blobel and Potter in 1966.<sup>8</sup> The basic principle of the protocol is relied on high sedimentation velocity of nuclei relative to all other components in the somatic cell. The purification of nuclei from mammalian cells is associated with many technical problems such as time control of cell swelling using as hypotonic buffer, temperature control during mechanical disruption methods and washing times of the cell lysis. While excessive hypotonic swelling leads to nuclear membrane disruption, hypertonic buffers cause nuclear shrinking and therefore alter the density and lumen volume of the isolated nuclei potentially affecting their integrity and protein content. Temperature control is hardly be assured at any time of the nuclear isolation procedure during the mechanical disruption methods and as a result of uncontrolled

temperature the nuclei are in extensive contact with the cytoplasmic environment containing lysis-activated proteases which lead to partial degradation and modification of the samples despite the presence of protease inhibitors.<sup>9,10</sup> Repeated washing steps are necessary due to leakage of the nucleus-associated membrane systems and cytoskeletal components by overexposure to detergent and mechanical stress. Since nuclear leakage may lead to not only in loss of target proteins but also in clumping of the nuclei due to released chromosomal DNA.<sup>11</sup>

In this study, NPs from SH-SY5Y cells have been enriched by using four different methods namely, (1) Extraction of NPs using ReadyPrep™ Protein Extraction Kit, (2) Isolation of NPs using OptiPrep Application sheet, (3) An improved method using discontinues density gradient centrifugation, (4) Qproteome Nuclear Protein enrichment kit. The efficiencies of the methods have been evaluated by using the antibodies against nuclear proteins (NPs), histonH3, LaminA/C, beta-actin ( $\beta$ -actin) or glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH). Quantitative evaluation of the level of enrichment has been assessed by 2-DE gels coupled to MALDI-TOF/TOF analysis. In our study, the comparison of enrichment methods have demonstrated that enrichment of NPs using Qproteome Nuclear Protein enrichment kit approach was more successful than the other methods for the identification of NPs.

## Methods

### Cell culture

SH-SY5Y cells were cultured under standard tissue culture conditions as follows: cells were grown in EMEM supplemented with 10% (Vol/Vol) tetracycline-reduced fetal bovine serum, 100 U/ml penicillin streptomycin and 2mM L-glutamine at 37 °C in a humidified 5% CO<sub>2</sub> atmosphere, cells were cultured until reach to 90 % of confluence.

### Enrichment of Nuclear Protein Extracts

#### ***Enrichment of NPs From Cultured Cells using ReadyPrep (Cytoplasmic/Nuclear) Protein Extraction Kit***

The ReadyPrep Protein Extraction Kit (Cytoplasmic/Nuclear) provides a buffer/differential centrifugation protocol to generate enriched cytoplasmic fractions and intact nuclei.<sup>12,13</sup> The procedure of enrichment was followed instructions provided by the manufacturer (Bio-Rad, USA, ReadyPrep™ Protein Extraction Kit, #163-2089). In brief, 0.5 ml of packed cells were resuspended 0.5 ml cytoplasmic protein extraction

buffer (CPEB) for 30 min and then were lysed by gently passing of the cell suspension through a narrow opening of a 20 gauge needle without damaging the nuclei. The cell lysate was centrifuged at 1000 xg for 10 min at 4°C and the cytoplasmic proteins in the supernatant were collected. The pellet was washed several times with CPEB and nuclear proteins were then solubilized with a strongly chaotropic extraction buffer.

#### ***Enrichment of nuclei from cultured cells using OptiPrep medium***

The commercially available form of discontinuous iodixanol gradient medium, OptiPrep-(SigmaAldrich, USA) allows enrichment of nuclei from cultured cells by isopycnic banding in an iso-osmotic environment.<sup>14</sup> This method is based on the principle that sedimentation of the particles is very slow due to the high viscosity of the iodixanol (=1.32 g/ml) barrier. The cell homogenate (Adjusted to approx =1.14 g/ml) in 25% iodixanol was prepared according to the sheet instructions provided by the manufacturer, then the homogenate sample was underlayered with 15 ml of the 30% iodixanol (Adjusted to approx =1.175 g/ml) and 15 ml of the 35% iodixanol(Adjusted to approx = 1.20 g/ml ). In the last step, the gradient system consist of three bands was placed in a swinging-bucket rotor of a high-speed centrifuge for centrifugation at 10,000xg for 20 min and the band of nuclei at the 30%-35% iodixanol interface was collected (Figure1). The fractions were clean-up using a commercial kit by Biorad (The ReadyPrep 2-D cleanup kit, # 1632130).

#### ***Enrichment of NPs from cultured cells using Q-proteome nuclear protein enrichment approach***

A commercial kit by Qiagen (Q-proteome Nuclear Protein enrichment kit, # 37531) was used to enrich NPs. All steps were performed according to the instructions provided by the manufacturer. The approach relies on incubation of the cells in hypotonic buffer, causing them to swell. Then, detergent added to the lysis buffer to rupture the plasma membrane and centrifugation is used to separate the cytosolic fraction from the cell nuclei. In brief, starting material  $5 \times 10^6$  –  $1 \times 10^7$  SH-SY5Y cells were grown in T75 flasks to 80% confluency and the harvested cell pellet was resuspended in 500 µl lysis buffer NL containing Protease Inhibitor Solution and 0.1 M DTT by pipetting up and down and incubated on ice for 15 min. 25 µl of detergent solution NP was added and centrifuged to collect the nuclear pellet. The nuclear pellet was then resuspend with 50 µl extraction buffer and disrupted by gentle agitation in a thermomixer (SigmaAldrich, USA) at 4°C and centrifuged to collect supernatant of nucleic-acid

binding proteins (NABP). 150 µl of dilution buffer ND containing Protease Inhibitor Solution and 0.1 M DTT was added to the NABP and further purification was proceeded using Nuclear Protein Fractionation Column 500 µl of elution buffer NE1, elution buffer NE2 and elution buffer NE3 respectively. The “insoluble” nuclear proteins (NIPs) were achieved by incubation and centrifugation of resuspended pellet in 100 µl Extraction Buffer NX2.

#### ***Enrichment of NPs from cultured cells using discontinues density gradient centrifugation (DDGC)***

Before DDGC, crude nuclei were isolated using The ReadyPrep Protein Extraction Kit (Cytoplasmic/Nuclear). The cleaner nuclei were isolated following the protocol described in Graham et al<sup>14</sup>. In brief, SH-SY5Y cells were resuspended in 2 mL of buffer A (10 mM HEPES, pH 7.4, 10 mM NaCl, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EGTA, 0.05% Triton X-100) and homogenized by pipetting. The cell homogenate was pelleted through adding 4 mL of 250 mM sucrose in buffer B (50 mM HEPES, pH 7.4, 50 mM NaCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EGTA) to cell suspension at 1500xg for 10 min to obtain crude nuclei. The crude nuclear pellet was the resuspended in 3 mL of 25% iodixanol and 250 mM sucrose in buffer B and placed on top of a iodixanol step gradient consisting of 4.5 mL of 25% iodixanol, 15 mL of 30% iodixanol, and 15 mL of 35% iodixanol in buffer B (without sucrose) for ultracentrifugation at 10 000xg for 20 min. The isopycnic band at the 30–35% iodixanol interface contained the clean nuclei. Solublized with 2D rehydration buffer.

#### ***Determination of protein concentration***

Bradford Assay was used to measure total protein concentration in cell-free extracts.<sup>15</sup> In brief, 1 µL of protein extract was mixed with 19 µL sample preparation buffer. The mixture was vortexed with 1mL of 1x Bradford Reagent and allowed to sit for 5 min in the dark. The samples were then measured at 595 nm with Nanodrop. The measured protein concentrations of the samples were determined by comparing with the standards curve prepared using BSA. The BSA standards were prepared in the same buffer as the unknown protein samples.

#### ***Western blot analysis***

NPs were verified using Western Blot (WB) analysis with antibodies against histonH3(histonH3, Cell Signaling Technology, USA), LaminA/C (Lamin A/C (Jol3,): sc-56140, Santa Cruz, USA), Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH (6C5): sc-32233, Santa Cruz,

USA) and Cyclophilin A (PPIA - peptidylprolyl isomerase A, Novus Biologicals, USA).

NPs were fractionated on 12% SDS-PAGE and electrophoretically transferred onto nitrocellulose sheets. Membranes were blocked in 5% nonfat dry milk in membranes were treated with 5% non-fat dry milk/Tris buffered saline (TBS, 100 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, pH 7.6) containing 0.1% vol/vol Tween20 for 1 h and then incubated with indicated antibodies overnight at 4°C. Membranes were washed three times with TBST with 0.1% v/v Tween 20, and then incubated with HRP-conjugated secondary antibody. After washing, immune complexes were detected by reaction in the ECL assay (BioRad, USA) according to the manufacturer.

### ***Two-Dimensional gels electrophoresis (2DE)***

The protein concentrations of nuclear extracts were measured by Bradford Protein Assay (BioRad, USA). About 200 µg of protein was loaded onto each IPG strip (11cm, pH 5-8, BioRad, USA) and actively (50V) rehydrated for 16 hrs. The protein-loaded strips were focused on Protean IEF cell by using the recommended focusing conditions (BioRad, USA). Following focusing, strips were washed with equilibration buffer I (6M urea, 2% SDS, 37 mM Tris-HCl, pH 8.8, 20% glycerol) containing 20 mg/mL of DTT for 15 min at 22°C with shaking. Afterward the samples were then incubated in another 4 mL of equilibration buffer II (6M urea, 2% SDS, 37 mM Tris-HCl, pH 8.8, 20% glycerol) with 25 mg/mL of iodoacetamide/mL for 15 min at 22°C with shaking. After a final wash in SDS-PAGE running buffer, strips were used in SDS-PAGE for separation in the second dimension. (BioRad, USA) to prevent gel to gel variations. The runs were ended when the front dye reached to the bottom of the gels. The gels were fixed in 40% methanol plus 10% acetic acid solution for at least 8 hr and then were stained overnight in Coomassie Brilliant Blue G-250 (BioRad, USA). VersaDoc4000MP was used for imaging and the images were analyzed with PDQuest Advance (BioRad, USA). Spots were cut by using an ExQuest spot cutter and identified by MALDI-TOF/TOF (Applied Biomics, USA).

### ***Image Analysis***

2D gel images were captured with VersaDoc 4000MP system by using Quantity One software (Bio-Rad, USA-Version 4.6.7). 2D gel image comparison, protein spot intensities with more than two-fold significant-change ( $p < 0.05$ ) in a consistently increased or decreased pattern were considered differentially expressed. All selected spots were excised using an automated spot cutting tool, ExQuest Spot Cutter using PDQuest Advanced 2-D

analysis software (Bio-Rad, USA- Version 8.0.1), and disposed into 96-well plates for identification.

### ***Protein Identification***

All experiments related to Protein identification have been performed at Kocaeli University Medical Biology Proteomics Laboratory (Kocaeli, Turkey) using ABSCIEX MALDI-TOF/TOF 5800 system (Applied Biosystems®, Framingham, MA, USA). Protein spots cutted by the spot-cutter device in 96-well plates were replaced into 0.6 mL microcentrifuge tubes and a commercially available kit (Pierce®, USA). was used for in-gel tryptic digestion. All steps of digestion was followed protocol provided by manufacturer prior to the desalton of samples with a 10 µl ZipTipC18 (Millipore®, USA). The peptides were eluted with  $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic acid solution ( $\alpha$ -CHCA) in 0.1% trifluoroacetic acid (TFA)/50% acetonitrile as the matrix (1:1, v/v) and spotted (~0.5 µL) directly onto a stainless-steel MALDI target plate. Protein identification experiments were performed by using ABSCIEX MALDI-TOF/TOF 5800 system. The TOF spectra were recorded in the positive ion reflector mode with a mass range from 400 to 2000 Da. Each spectrum was the cumulative average of 2000 laser shots. The spectra were calibrated with the trypsin autodigestion ion peaks  $m/z$  (842.510 and 2211.1046) as internal standards. Ten of the strongest peaks of the TOF spectra per sample were chosen for MS/MS analysis. All of the PMFs were searched in the MASCOT version 2.5(Matrix Science) by using a streamline software, Protein Pilot (ABSCIEX®, USA), with the following criteria: SWISSPROT database; species restriction to *H. sapiens*; enzyme of trypsin; at least ten independent peptides matched; at most one missed cleavage site; MS tolerance set to  $\pm 50$  ppm and MS/MS tolerance set to  $\pm 0.2$  Da; fixed modification being carbamidomethyl (Cys) and variable modification being oxidation (Met); peptide charge of +1 and being monoisotopic. Only significant hits, as defined by the MASCOT probability analysis ( $p < 0.05$ ), were accepted.

## **Results**

Four different commonly used NPs enrichment methods have been evaluated to provide a comparative assessment for isolation of NPs. The isolated proteins have been then separated and identified by 2DE coupled to MALDI-TOF/TOF (Tables 1 and 2).

**Table 1.** List of identified proteins using different methods by MALDI-TOF/TOF

No.	AC no.	Protein Name	Protein Score	Expect	Matches	pI	Seq. Cov. (%)	Subcellular Location	Methods of enrichment
Nuclear proteins									
1	O96019	Actin-like protein 6A	122	1.30e-08	9	5.39	16	Nucleus	Improved
2	P20700	Lamin-B1	539	2,6E-50	38	5.11	40	Nucleus inner membrane	Improved
3	Q12912	Inositol 1,4,5-triphosphate receptor associated 2	56	0,049	7	5.62	8	Nucleus envelope	Improved
4	Q03252	Lamin-B2	579	2,6E-54	42	5.29	45	Nucleus inner membrane	Improved
5	Q09028	Histone-binding protein RBBP4	70	0,0022	2	4,74	3	Nucleus	Improved
6	Q9Y230	RuvB-like 2	102	1.30e-06	9	5,49	22	Nucleus matrix	Improved
7	P38919	Eukaryotic initiation factor 4A-III	628	3,2E-59	30	6,3	35	Nucleus	Improved
8	P36873	Serine/threonine-protein phosphatase PP1-gamma catalytic subunit	55	0,063	6	6,13	13	Nucleus	Improved
9	Q15366	Poly(rC)-binding protein 2	74	7, 7E-04	5	6,33	13	Nucleus	Improved
10	P53582	Methionine aminopeptidase 1	96	4,80E-06	8	6,75	24	Nucleus	Improved
11	P18754	Regulator of chromosome condensation	228	3,20E-19	12	7,18	18	Nucleus	Improved
12	Q9NVX2	Notchless protein homolog 1	60	0,023	9	6,92	13	Nucleus	Improved
13	Q2TAY7	WD40 repeat-containing protein SMU1 SMU1_HUMAN	566	5,1E-53	21	6,74	25	Nucleus	Improved
14	P14866	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L	279	2,6E-24	25	8,46	21	Nucleus	Improved
15	P12956	X-ray repair cross-complementing protein 6	127	4,0E-09	10	6,23	8	Nucleus	Improved
16	O43143	ATP-dependent RNA helicase DHX15	66	0,0057	5	7,12	4	Nucleus	Improved
17	P07910	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2	157	4, 0E-12	15	4,95	20	Nucleus	Improved
18	P63244	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-2-like 1	312	1, 30E-27	13	7,6	21	Nucleus	Improved
19	P26583	High mobility group protein B2	63	0,0099	7	7,62	22	Nucleus	Improved
20	Q14103	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D0	107	4,0E-07	4	7,62	12	Nucleus	Improved
21	Q07666	KH domain-containing, RNA-binding, signal transduction-associated protein 1	56	0,055	9	8,73	13	Nucleus	Improved
22	P51991	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3	97	4,0E-06	8	9,1	14	Nucleus	Improved
23	P09651	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	266	5,10E-23	266	9,17	31	Nucleus	Improved
24	O15226	NF-kappa-B-repressing factor	68	0,0034	24	8,94	22	Nucleus	Improved
25	P31943	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	150	2,00E-11	16	5,89	24	Nucleus	Improved
26	P17844	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX5	58	0,029	19	9,06	23	Nucleus	Improved
27	P38159	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein G	139	2,60E-10	24	10,06	43	Nucleus	Improved

Uzunyol et al., Nuclear Protein Isolation Method

28	P07910	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2	88	3,40E-05	12	4,95	25	Nucleus	Improved
29	P22626	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	332	1,30E-29	22	8,97	42	Nucleus	Improved
30	Q92804	TATA-binding protein-associated factor 2N	87	4,0E-05	16	8,04	30	Nucleus	QProteome -NABPF
31	Q96AE4	Far upstream element-binding protein 1	453	1,0E-41	34	7,18	38	Nucleus	QProteome -NABPF
32	O43172	U4/U6 small nuclear ribonucleoprotein Prp4	194	8.1E-16	26	7,71	38	Nucleus	QProteome -NABPF
33	P14866	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L	289	2.60E-25	32	8,46	42	Nucleus	QProteome -NABPF, Opti prep
34	Q92945	Far upstream element-binding protein 2	353	1.00E-31	36	6,84	41	Nucleus	QProteome -NABPF
35	Q09028	Histone-binding protein RBBP4	134	8,10E-10	17	4,74	23	Nucleus	QProteome -NIPF
36	P08865	40S ribosomal protein SA	117	4,00E-08	6	4,79	16	Nucleus	QProteome -NIPF
37	Q13610	Periodic tryptophan protein 1 homolog	114	8,10E-08	15	4,6	13	Nucleus	QProteome -NIPF
38	P43243	MATR3	57	0,042	15	5,87	13	Nucleus matrix	Opti prep
39	P23246	Splicing factor, proline- and glutamine-rich	380	2,00E-34	38	9,45	41	Nucleus	Opti prep
Cytoplasmic proteins									
40	P08670	Vimentin	618	3,2E-58	37	5,06	48	Cytoplasm	Biorad, Improved, QProteome -NIPF
41	P04264	Keratin, type II cytoskeletal 1	484	8,1E-45	12	8,15	27	Cytoplasm	Improved, Opti prep
42	P11142	Heat shock cognate 71 kDa protein	540	2.00E-50	24	5,37	30	Cytoplasm	Biorad, Improved
43	P34931	Heat shock 70 kDa protein 1-like	101	1,60E-06	20	5,76	25	Cytoplasm	Improved
44	P07437	Tubulin beta chain	170	2,00E-13	22	4,78	26	Cytoplasm	QProteome -NIPF
45	P68363	Tubulin alpha-1B chain	179	2,60E-14	25	4,94	45	Cytoplasm	QProteome -NIPF
44	Q7Z7B0	Filamin-A-interacting protein 1	58	0,035	28	8,46	23	Cytoplasm	QProteome -NIPF
46	P60174	Triosephosphate isomerase	517	4,00E-48	21	6,45	54	Cytoplasm	Opti prep
Mitochondrial proteins									
47	P10809	60 kDa heat shock protein	130	2,0E-09	13	5,7	21	Mitochondrial matrix	Biorad
48	P06576	ATP synthase subunit beta	262	1,3E-22	16	5,26	29	Mitochondrial matrix	Biorad , Improved
49	P25705	ATP synthase subunit alpha	187	4,0E-15	8	9,16	8	Mitochondrial membrane	Improved
50	P35232	Prohibitin	86	5,0E-05	9	5,57	26	Mitochondrial inner membrane	Improved
51	P34897	Serine hydroxymethyltransferase	169	2,60E-13	22	8,76	33	Mitochondrial matrix	Opti prep
52	P09622	Dihydrolipoyl dehydrogenase	243	1,00E-20	22	7,95	30	Mitochondrial matrix	Opti prep
53	Q07021	Complement component 1 Q subcomponent-binding protein	89	2,60E-05	5	4,74	21	Mitochondrial	Opti prep
Endoplasmic reticulum proteins									
54	P11021	Endoplasmic reticulum chaperone BiP	232	1,3E-19	16	5,07	18	ER lumen	Improved

55	P07237	Protein disulfide-isomerase	190	2.00e-15	9	4,76	13	Endoplasmic reticulum	Improved
56	P27797	Calreticulin	102	1.30e-06	7	4,29	14	Endoplasmic reticulum	Improved
57	P30101	Protein disulfide-isomerase A3	182	1.30e-14	25	5,98	28	Endoplasmic reticulum	Improved
Other proteins									
58	P08107	Heat shock 70 kDa protein 1A/1B	121	1.60e-08	17	5.48	23	Unknown	Biorad
59	P34931	Heat shock 70 kDa protein 1-like	266	5,1E-23	18	5,76	23	Blood microparticle, cytosol	Improved

**Table 2.** List of identified proteins using QProteome method by MALDI-TOF/TOF

No.	AC no.	Protein Name	Protein Score	Expect	Matches	pl	Seq. Cov. (%)	Subcellular Location	Methods of enrichment
Nuclear proteins									
1	P38159	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 11	139	2.60e-10	24	10.06	43	Nucleus	QProteome
2	P07910	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2	234	8.10e-20	17	4.95	25	Nucleus	QProteome
3	P22626	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	332	1.30e-29	22	8.97	42	Nucleus	QProteome
4	P35232	Prohibitin	95	6.10e-06	12	5.57	37	Nucleus	QProteome
5	Q92804	TATA-binding protein-associated factor 2N	87	4.00e-05	16	8.04	30	Nucleus	QProteome
6	Q96AE4	Far upstream element-binding protein 1	453	1.00e-41	34	7.18	34	Nucleus	QProteome
7	O43172	U4/U6 small nuclear ribonucleoprotein Prp4	194	8.10e-16	26	7.705	38	Nucleus	QProteome
8	P14866	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L	209	2.60e-17	30	8.46	37	Nucleus	QProteome
9	Q92945	Far upstream element-binding protein 2	353	1.00e-31	36	6.84	41	Nucleus	QProteome
10	Q09028	Histone-binding protein RBBP4	134	8.10e-10	17	4.74	23	Nucleus	QProteome
11	Q16576	Histone-binding protein RBBP7	95	6.10e-06	22	4.89	29	Nucleus	QProteome
12	P08865	40S ribosomal protein SA	117	4.00e-08	17	4.74	23	Nucleus	QProteome
13	Q13610	Periodic tryptophan protein 1	114	8.10e-08	15	4.60	13	Nucleus	QProteome
14	P13639	Elongation factor 2	154	8.10e-12	30	6.41	30	Nucleus	QProteome
15	Q9Y265	RuvB-like 1	166	5.10e-13	30	6.02	48	Nucleus	QProteome
16	P31943	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	186	5.10e-15	24	5.89	53	Nucleus	QProteome
17	P06748	Nucleophosmin	160	2.00e-12	14	4.64	30	Nucleus	QProteome
18	P11142	Heat shock cognate 71 kDa protein	153	1.00e-11	23	5.37	35	Nucleus	QProteome
19	Q6ZNG1	Zinc finger protein 600	66	0,0048	25	9.41	28	Nucleus	QProteom



20	P26641	Elongation factor 1-gamma	118	3.20e-08	18	6.25	32	Nucleus	QProteome
21	P29692	Elongation factor 1-delta	135	6.40e-10	18	4.90	38	Nucleus	QProteome
22	P45973	Chromobox protein homolog 5	95	6.10e-06	16	5.71	69	Nucleus	QProteome
23	Q9Y230	RuvB-like 2	207	4.00e-17	39	5.49	50	Nucleus, cytoplasm	QProteome
24	Q96J01	THO complex subunit 3	69	0.0027	10	5.7	21	Nucleus	QProteome
25	P09429	High mobility group protein B1	73	0.00095	14	5.62	42	Nucleus	QProteome
26	Q15365	Poly(rC)-binding protein 1	97	3.80e-06	13	6.66	48	Nucleus	QProteome
27	P60174	Triosephosphate isomerase	245	6.40e-21	24	6.45	75	Nucleus	QProteome
28	P45880	Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	113	1.00e-07	11	7.49	43	Nucleus	QProteome
29	P07355	Annexin A2	148	3.20e-11	24	7.57	53	Nucleus	QProteome
30	P12004	Proliferating cell nuclear antigen	105	6.40e-07	12	4.57	43	Nucleus	QProteome
31	P19338	Nucleolin	109	2.60e-07	23	4.6	27	Nucleus	QProteome
32	Q12874	Splicing factor 3A subunit 3	134	8.10e-10	22	5.27	36	Nucleus	QProteome
33	P08865	40S ribosomal protein SA	67	0.0043	16	4.79	35	Nucleus	QProteome
34	P31942	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H3	330	2.00e-29	32	6.37	77	Nucleus	QProteome
35	P08238	Heat shock protein HSP 90-beta	151	1.60e-11	33	4.97	33	Nucleus	QProteome
36	Q9P258	Protein RCC2	193	1.00e-15	25	9.02	33	Nucleus	QProteome
37	P29692	Elongation factor 1-delta	135	6.40e-10	18	4.9	38	Nucleus	QProteome
38	O95831	Apoptosis-inducing factor 1	92	1.40e-05	22	9.04	31	Nucleus	QProteome
39	Q9P258	Protein RCC2	193	1.00e-15	25	9.02	33	Nucleus	QProteome
40	Q07955	Splicing factor, arginine/serine-rich 1	225	6.40e-19	22	10.37	44	Nucleus	QProteome
41	P61978	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K	260	2.00e-22	24	5.39	41	Nucleus	QProteome
42	Q12874	Splicing factor 3A subunit 3	108	3.20e-07	20	5.27	32	Nucleus	QProteome
43	P13838	Spliceosome RNA helicase BAT1	306	5.10e-27	30	5.44	41	Nucleus	QProteome
44	P14866	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L	174	8.10e-14	26	8.46	31	Nucleus	QProteome
45	P34897	Serine hydroxymethyltransferase	64	0.0086	16	8.76	22	Nucleus	QProteome
46	P12956	ATP-dependent DNA helicase 2 subunit 1	328	3.20e-29	20	6.23	23	Nucleus	QProteome
47	O00148	ATP-dependent RNA helicase DDX39	160	2.00e-12	19	5.46	25	Nucleus	QProteome

## Cytoplasmic proteins

48	P08670	Vimentin1	313	1.00e-27	49	5.06	68	Cytoplasm	QProteome
49	P60174	Triosephosphate isomerase	278	3.20e-24	27	6.45	80	Cytoplasm	QProteome
50	P15121	Aldose reductase	172	1.30e-13	24	6.51	51	Cytoplasm	QProteome
51	P60709	Actin	161	1.60e-12	18	5.29	54	Cytoplasm	QProteome

52	P08238	Heat shock protein HSP 90-beta	151	1.60e-11	33	4.97	33	Cytoplasm	QProteome
53	P26641	Elongation factor 1-gamma	118	3.20e-08	18	6.25	32	Cytoplasm	QProteome
54	P40227	T-complex protein 1 subunit zeta	147	4.00e-11	22	6.23	30	Cytoplasm	QProteome
55	P32119	Peroxiredoxin-2	104	8.10e-07	10	5.66	36	Cytoplasm	QProteome
56	P60842	Eukaryotic initiation factor 4A-I	148	3.20e-11	26	5.32	48	Cytoplasm	QProteome
57	P17174	Aspartate aminotransferase	57	0.04	10	6.52	20	Cytoplasm	QProteome
58	P63241	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1	57	0.039	7	5.08	27	Cytoplasm,Nucleus, Endoplasmic reticulum	QProteome
59	P13645	Keratin, type I cytoskeletal 10	137	4.00e-10	25	5.13	25	Cytoplasm	QProteome
60	P35527	Keratin, type I cytoskeletal 9	91	1.60e-05	23	5.14	35	Cytoplasm,	QProteome
61	P08758	Annexin A5	437	4.00e-40	23	4.94	56	Cytoplasm	QProteome
62	P04264	Keratin, type II cytoskeletal 1	213	1.00e-17	26	8.15	34	Cytoplasm,	QProteome
63	P07195	L-lactate dehydrogenase B chain	193	1.00e-15	20	5.71	48	Cytoplasm	QProteome
64	P47756	F-actin-capping protein subunit beta	91	1.50e-05	16	5.36	29	Cytoplasm,	QProteome
65	P30041	Peroxiredoxin-6	261	1.60e-22	22	6.00	57	Cytoplasm,	QProteome
66	P06733	Alpha-enolase	379	2.60e-34	29	7.01	45	Cytoplasm	QProteome
67	P04075	Fructose-bisphosphate aldolase A	163	1.00e-12	20	8.3	40	Cytoplasm	QProteome
68	Q15019	Septin-2	80	0.0002	17	6.15	44	Cytoplasm	QProteome
69	P13693	Translationally-controlled tumor protein	131	1.60e-09	16	4.84	50	Cytoplasm	QProteome
70	P47813	Eukaryotic translation initiation factor 1A	64	0.0079	6	5.07	30	Cytoplasm	QProteome
71	Q07955	Splicing factor, arginine/serine-rich 1	225	6.40e-19	22	10.37	44	Cytoplasm,nucleus	QProteome
72	P05198	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 1	149	2.60e-11	26	5.02	50	Cytoplasm	QProteome
73	Q01105	Protein SET	57	0.042	12	4.23	31	Cytoplasm, ER,nucleus	QProteome
74	P12277	Creatine kinase B-type	278	3.20e-24	36	5.34	59	Cytoplasm, ER	QProteome
75	Q13347	Ukaryotic translation initiation factor 3 subunit I	74	0.00083	17	6.4	22	Cytoplasm	QProteome
76	P61158	Actin-related protein 3	63	0.011	12	5.61	24	Cytoplasm, nucleus	QProteome
ER proteins									
77	P07237	Protein disulfide-isomerase	366	5.10e-33	28	4.76	39	Endoplasmic reticulum	QProteome
78	Q13162	Peroxiredoxin-4	283	1.00e-24	18	5.86	43	Endoplasmic reticulum	QProteome
79	P11021	78 kDa glucose-regulated protein	573	4.00e-50	48	5.07	54	Endoplasmic reticulum lumen	QProteome
51	P14625	Endoplasmic reticulum chaperone	408	3.20e-37	42	4.76	32	Endoplasmic reticulum	QProteome
80	P30101	Protein disulfide-isomerase A3	255	6.40e-22	31	5.98	42	Endoplasmic reticulum,lumen,melosome	QProteome
81	P27797	Calreticulin	123	1.00e-08	21	4.29	45	Cytoplasm	QProteome

82	P67809	Nuclease-sensitive element-binding protein 1	56	5.30e-02	14	9.87	23	Endoplasmic reticulum	QProteome
83	Q15084	Protein disulfide-isomerase A6	237	4.00e-20	20	4.95	33	Endoplasmic reticulum,lumen,cell membrane,melosome	QProteome
84	9BS26	Endoplasmic reticulum resident protein 44	244	8.10e-21 31	5,09	4.29	45	Endoplasmic reticulum,lumen	QProteome
Mitochondrian proteins									
85	Q12931	Heat shock protein 75 kDa	143	1.00e-10	32	8.30	37	Mitochondria	QProteome
86	P10809	60 kDa heat shock protein	521	1.60e-48	34	5.7	46	Mitochondria	QProteome
87	P47985	Cytochrome b-c1 complex subunit Rieske	85	6.40e-05	9	8.55	27	Mitochondria	QProteome
88	P49411	Elongation factor Tu	127	4.00e-09	19	7.26	36	Mitochondria	QProteome
89	P45880	Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	113	1.00e-07	11	7.49	43	Mitochondria, go to nucleus	QProteome
90	Q13011	Delta(3,5)-Delta(2,4)-dienoyl-CoA isomerase	161	1.60e-12	16	8.16	30	Mitochondria,	QProteome
91	P30084	Enoyl-CoA hydratase	225	6.40e-19	16	8.34	30	Mitochondria	QProteome
92	P25705	ATP synthase subunit alpha	78	0,00036	18	9.16	25	Mitochondria	QProteome
93	O95831	Apoptosis-inducing factor 1	92	1.40e-05	22	9.04	31	Mitochondria,cytoplasm,nucleus	QProteome
94	P31040	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit	59	0.028	17	7.06	22	Mitochondrial,	QProteome
95	P34897	Serine hydroxymethyltransferase	64	0.0086	16	8.76	22	Mitochondrial, nucleus	QProteome
96	P35232	Prohibitin	280	2.00e-24	23	5.57	56	Mitochondrial, nucleus, cytoplasm, cell membrane	QProteome
Secreted proteins									
97	P07355	Annexin A2	148	3.20e-11	24	7.57	53	Secreted, extracellular space,extracellular matrix, basement membrane	QProteome
98	P13838	Spliceosome RNA helicase BAT1	79	0.00023	14	5.44	32	Membrane proteins, Mitochondria	QProteome
99	Q9UJZ1	Stomatin-like protein 2	221	1.60e-18	35	6.88	47	Cell membrane proteins, Mitochondria	QProteome
100	P15311	Ezrin	120	2.00e-08	33	5.94	34	Cell membrane, cytoplasm	QProteome

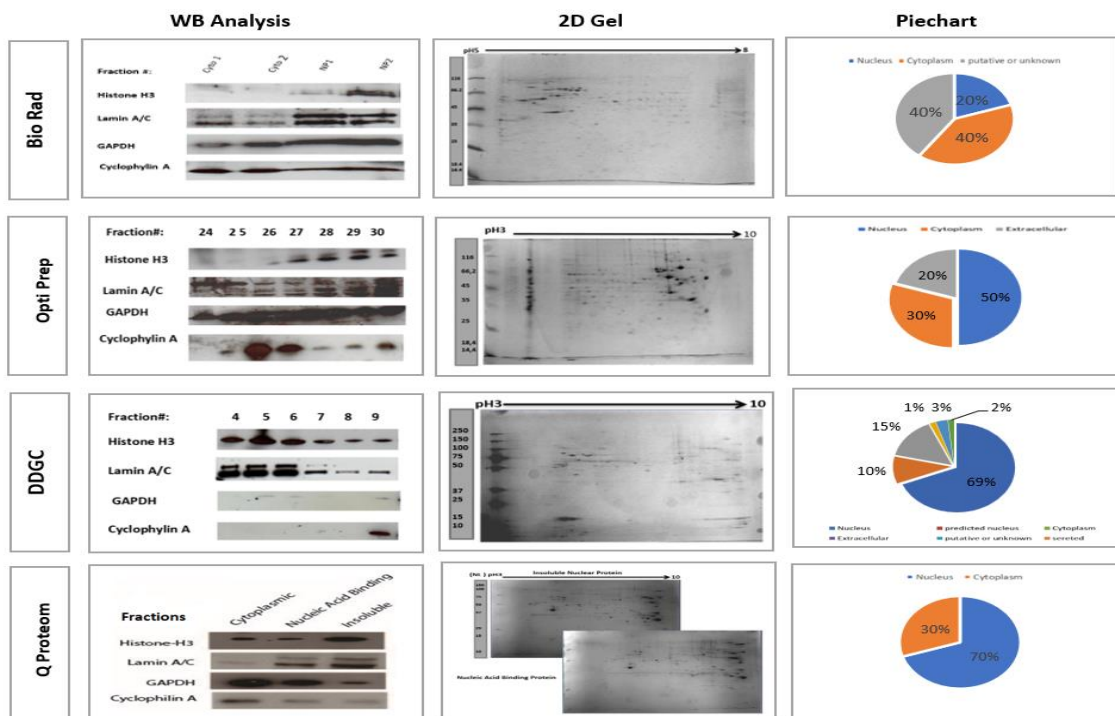
**Enrichment of NPs from cultured cells using ReadyPrep (Cytoplasmic/Nuclear) Protein Extraction Kit**

The experiments have been performed as described in the “Methods” section. NPs that were solubilized in a chaotropic buffer were subjected to 2DE separation and 10 randomly selected protein spots were cut-to to identify by MALDI-TOF / TOF analysis. The extent of NPs enrichment was assessed by using a NPs -specific markers, histonH3, LaminA/C, GAPDH and Cyclophilin A. The intracellular localizations of the identified proteins were determined using SWISS-PROT database or relevant databases. Only two of the identified proteins were localized to nucleus. The rest of the proteins were either cytoplasmic or had no known localization. The repeated experiments generated similar results indicating that, the enriched nuclear protein extracts obtained by this kit was not enriched at a desirable level. Nevertheless, for the sake of verification, enriched nuclear proteins were subjected to WB analysis and four different antibodies were used to visualize the level of enrichment. Histon-H3 and Lamin were used as the nuclear protein markers, and GAPDH and cyclophilin A were used as the cytoplasmic protein markers (Figure 1). WB results showed that NP fractions were partially enriched, and cytoplasmic

protein contamination was present at a considerable level. WB results were consistent with the results of 2DE and indicated that the commercial kit only partially enriched nuclear proteins to a desired level.

**Enrichment of NPs from cultured cells using OptiPrep medium**

OptiPrep medium helps isolation of nuclei from cultured cells and allow enrichment of NPs. Experiments with OptiPrep medium was performed as described in the materials and methods section. Proteins in fractions were solubilized in 2D rehydration buffer and were subjected to WB analysis using antibodies against nuclear proteins Histon and, Lamin A / C and the cytoplasmic proteins, GAPDH and Cyclophilin A. The results showed that nuclear proteins were predominantly located in between fractions 24 and 31. However, these fractions were also contaminated with the cytoplasmic proteins (Figure 1). To assess the level of enrichment, 2DE was performed with fraction 29 and spots were randomly cut and identified by MALDI- TOF/TOF analysis (Figure 1) (Table 1).



**Figure 1.** Representative images summarizing the major findings of the study. Western Blot analysis of the enriched nuclear protein fractions. Monoclonal antibodies against histone H3 and lamin A/C, GAPDH and Cyclophilin A were used to assess the level of NPs enrichment. Images of 2-DE gels from which the putative NPs were cut and identified. The pie-charts were used to present subcellular localization, BioRad: Extraction of NPs From Cultured Cell using ReadyPrep™ Protein Extraction Kit, OptiPrep: Isolation of nuclei from cultured cell using OptiPrep Application sheet, DDGC: As a combination of methodology 1 and 2, an improved method for extraction of NPs, Qproteome: Qproteome Nuclear Protein enrichment kit.

Ten randomly selected protein spots were cut from a gel and identified by MALDI-TOF / TOF analysis and the intracellular localizations of the identified proteins were determined using SWISS-PROT database or relevant databases. Only two of the identified proteins were localized to nucleus. The rest of the proteins were either cytoplasmic or had no known localization.

The repeated experiments generated similar results indicating that, the enriched nuclear protein extracts obtained by this kit was not enriched at a desirable level. Nevertheless, for the sake of verification, enriched nuclear proteins were subjected to WB analysis and four different antibodies were used to visualize the level of enrichment. Histone-H3 and Lamin were used as the nuclear protein markers, and GAPDH and cyclophilin A were used as the cytoplasmic protein markers (Figure 1). WB results showed that nuclear proteins were partially enriched, and cytoplasmic protein contamination was present in the enriched protein extracts. These results are consistent with the results of 2DE and indicated that the commercial kit failed to enrich nuclear proteins to the desired level.

#### ***Isolation of nuclei from cultured cell using OptiPrep Application sheet***

Extraction of NPs From Cultured Cell using OptiPrep Application sheet was performed as described above mentioned section. Thirty seven fractions were collected to separate proteins based on their molecular densities. The fractions were then subjected to WB analysis using antibodies against Histone, Lamin A / C, GAPDH and Cyclophilin A. "The results showed that nuclear proteins were predominantly located in between fractions 24 and 31. However, these fractions were also contaminated with the cytoplasmic proteins (Figure 1). To assess the level of enrichment, 2DE was performed with fraction 29 and spots were randomly cut and identified by MALDI-TOF/TOF analysis (Figure 1) (Table 1.)

#### ***Qproteome Nuclear Protein enrichment kit (Qiagen, Stockach, Germany)***

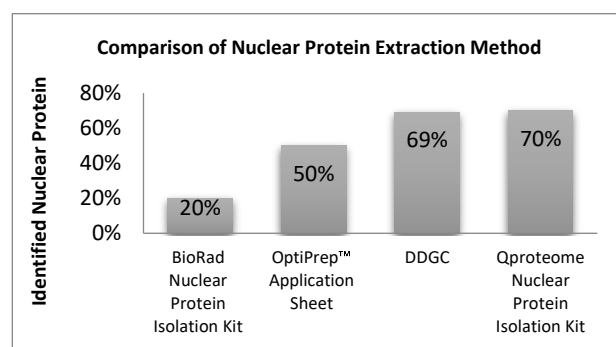
Q-Proteome nuclear protein isolation (Qiagen, USA) was used as an alternative to the differential and density gradient centrifugation approaches. Two different nuclear protein fractions were obtained by following instructions of kit. The first fraction contained the soluble nucleic acid binding proteins, while the second fraction contained the insoluble nuclear proteins. The enriched protein fractions were then subjected to WB analysis using antibodies against Histone, Lamin A / C, GAPDH and Cyclophilin A (Figure 1). The nucleic acid binding and insoluble protein fractions were richer in their histone

and Lamin A/C contents. In addition, the cyclophilin A level was much lower than the nuclear fractions indicating that the Q-proteome approach provided satisfactory level of enrichment for nuclear proteins. However, GAPDH was also detected in the enriched nuclear protein fractions, although the level of GAPDH was much lower in comparison to the cytoplasmic fraction. As we stated previously, GAPDH was not a good cytoplasmic protein marker to demonstrate the level of nuclear protein enrichment.

#### ***Enrichment of NPS from cultured cells using discontinuous density gradient centrifugation***

As a combination of methodology 1 and 2, an improved method for extraction of NPs was developed. WB analysis revealed the notable presence of histone H3, LaminA/C and even there was no any band signals related to cytoplasmic proteins. To examine the proteomic profiling of enriched proteins, 2-DE analysis was performed. Sixty one spots were identified and classified based on their subcellular location (Table 1). We were able to identify NPs or predicted NPs (69%) and cytoplasmic proteins (15%) along with the proteins belonging to extracellular and unknown or secreted proteins (6%). Overall, improved method approach did not provide sufficient enrichment of NPs despite some success over the other enrichment methods.

The enriched nuclear protein fractions were subjected to 2DE gel electrophoresis to assess the level of enrichment (Figure 1). Spots were randomly cut from the gels and identified by MALDI-TOF/TOF analysis. The results demonstrated that 90 % of the identified proteins in the nucleic acid binding protein fraction were nuclear. Although the insoluble nuclear protein containing fraction had much lower nuclear protein ratio, it was still above 50% indicating that Q-proteome nuclear protein enrichment kit was superior to the other kits/approaches (Figure 2) (Table 1 and 2).



**Figure 2.** Bar graph demonstrating the overall comparison of four different methods for enrichment of NPs.

Comparison of the overall results have indicated that the Q-proteome isolation method was more successful in enrichment of nuclear proteins than the other tested methods (Figure 1). During enrichment of nuclear proteins, two fractions labeled as the nucleic acid binding protein fraction and the nuclear insoluble protein fraction were obtained. Both fractions were subjected to western blot analysis to assess the level of nuclear protein enrichments using nuclear and cytoplasmic protein markers (Figure 1).

Significant increases in the levels of two of the nuclear proteins, histone H3 and lamin A/C, were detected in the enriched nuclear protein fractions, while a significant decrease occurred in the level of cyclophilin A, a cytoplasmic protein. Surprisingly, however, there was no notable change in GAPDH levels in the enriched nuclear protein fractions indicating that GAPDH was not a good enrichment marker for the nuclear protein extracts. On the other hand, there was relatively low level of cyclophilin A in the enriched nuclear protein fractions indicating that the enriched nuclear protein fractions might possess cytoplasmic proteins.

Quantitative evaluation of the level of enrichment was performed by running 2DE gels from which protein spots were cut and identified. Approximately  $170 \pm 20$  protein spots were detected on the gels and 110 of these were excised and identified by MALDI-TOF/TOF. Cellular localizations of the identified proteins were determined using UniProt database. The enriched nuclear protein fractions were subjected to 2DE gel electrophoresis to assess the level of enrichment (Figure 1). Spots were randomly cut from the gels and identified by MALDI-TOF/TOF analysis. The results have demonstrated that 90 % of the identified proteins in the nucleic acid binding protein fraction were nuclear. Although the insoluble nuclear protein containing fraction had much lower nuclear protein ratio, it was still above 50% indicating that Q-proteome nuclear protein enrichment kit was superior to the other kits/approaches (Figure 1) (Table 1 and 2).

## Discussion

As a first sub-cellular organelle discovered in early seventeenth century, nucleus is characterized with a plethora of functions including condensation of chromatin through assemble of long DNA molecules, replication and repair of DNA, gene expression and regulation, synthesis and modification of RNA molecules. Eventhough given their importance, current poor knowledge of high-throughput methods to enrich or extract of nuclear proteins remain limited. Since, this

study focused on evaluating of four different enrichment methods to facilitate deeper research of the complex nuclear machinery. There are variety of factors which hampered the enrichment of nuclear proteins. The most striking bottleneck seems to be the contamination of nuclei by cytosolic material during the isolation process. The classical methods are remain to be used widely due to the advantages of easily adaptation and provide base for more advanced approaches. Here we evaluated four different methods of enrichment of NPs. Based on our evaluation, comparison of the four types of methods results have indicated that the Q-proteome isolation method was more successful in enrichment of nuclear proteins than the other tested methods (Figure 2). Recent developments in methodological and technological advances, new strategies such as FFE, immunopurification, FAOS, LOPIT, PCP and subtractive proteomics were emerged for systematically characterize and isolated various types of subcellular organellar proteomics. For some instances, lately researchers combined subtractive proteomics and proximity-labelling technology coupled with quantitative mass spectrometry to identified about 200 potential candidates for plant NE transmembrane (PNET) proteins from Arabidopsis. Among them, PNET1 is a homologue of human TMEM209, a critical driver for lung cancer which is a bona fide nucleoporin in the plant.<sup>16</sup> In the long run, emerging techniques may be independently or compensation for conventional strategies to obtain organellar proteomics with high-resolution.

## Compliance with Ethical Standards

Since this study was in vitro cell line study, there was no need for ethical approval.

## Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

## Funding

This study was founded by The Scientific and Technological Research Council of Turkey , 1002- Short-Term Support Module, project number: 216S177.

## Author contributions

AU: Study conception and experimental, Cell culture experiments, Sample preparation and protein isolation, draft of the manuscript; AU, MK: Western Blotting experiments; AU, MK and GA: Two-Dimensional gels electrophoresis, The identification of proteins and image analysis; MK, GA: Writing, review, and editing. All authors commented and approved the final version of the manuscript.

## References

1. P KTWJs. Nuclear transport and cancer: from mechanism to intervention. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(2):2004 4:2. doi:10.1038/nrc1274
2. Laurila K, Vihinen M. Prediction of disease-related mutations affecting protein localization. *BMC Genomics*. 2009;10. doi:10.1186/1471-2164-10-122
3. Park S, Yang JS, Shin YE, Park J, Jang SK, Kim S. Protein localization as a principal feature of the etiology and comorbidity of genetic diseases. *Mol Syst Biol*. 2011;7(494):1-11. doi:10.1038/msb.2011.29
4. Jung E, Heller M, Sanchez JC, Hochstrasser DF. Proteomics meets cell biology: The establishment of subcellular proteomes. *Electrophoresis*. 2000;21(16):3369-3377. doi:10.1002/1522-2683(20001001)21:16<3369::AID-ELPS3369>3.0.CO;2-7
5. Huber LA, Pfaller K, Vietor I. Organelle proteomics: Implications for subcellular fractionation in proteomics. *Circ Res*. 2003;92(9):962-968. doi:10.1161/01.RES.0000071748.48338.25
6. Yates JR, Gilchrist A, Howell KE, Bergeron JJM. Proteomics of organelles and large cellular structures. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005;6(9):702-714. doi:10.1038/nrm1711
7. Dreger M. Subcellular proteomics. *Mass Spectrom Rev*. 2003;22(1):27-56. doi:10.1002/mas.10047
8. After C, Spectronic L, The I, Ceresan T. Nuclei from Rat Liver: Isolation Method That Combines Purity with High Yield. 1966;154(2):1662-1665. doi:10.1126/science.154.3757.1662.
9. Hoffmann P, Chalkley R. Procedures for minimizing protease activity during isolation of nuclei, chromatin, and the histones. *Methods Cell Biol*. 1978;17(C):1-12. doi:10.1016/S0091-679X(08)61130-9
10. D GJr. Subcellular fractionation : a practical approach. Published online 1997:339. <https://global.oup.com/academic/product/subcellular-fractionation-9780199634941>
11. Graham JM. Rapid purification of nuclei from animal and plant tissues and cultured cells. *Sci World J*. 2002;2:1551-1554. doi:10.1100/tsw.2002.832
12. Lebovitz RM, Roeder RG, Sciences B. Accurate transcription initiation by RNA polymerase II in a soluble extract from isolated mammalian nuclei. *Nucleic Acids Res*. 1983;11(5):1475-1489. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC325809/pdf/nar00350-0265.pdf>
13. Zerivitz K, Akusjärvi G. An improved nuclear extract preparation method. *Gene Anal Tech*. 1989;6(5):101-109. doi:10.1016/0735-0651(89)90016-2
14. Graham J, Ford T, Rickwood D. The Preparation of Subcellular Organelles from Mouse Liver in Self-Generated Gradients of Iodixanol. *Anal Biochem*. 1994;220(2):367-373. doi:10.1006/ABIO.1994.1351
15. Binding A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72(1-2):248-254. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3
16. ang Y, Huang A, Gu Y. Global profiling of plant nuclear membrane proteome in Arabidopsis. *Nat Plants*. 2020;6(7):838-847. doi:10.1038/s41477-020-0700-9





## Araştırma Makalesi | Research Article

# ÜVEİT İLE BAŞVURAN HASTALARIN DEMOGRAFİK VE KLİNİK VERİLERİ: TEK MERKEZ DENEYİMİ

## DEMOGRAPHIC AND CLINICAL DATA OF PATIENTS PRESENTING WITH UVEITIS: A SINGLE CENTER EXPERIENCE

✉ Yunus Emre Bayrak<sup>1\*</sup>, Nihal Şahin<sup>1</sup>, Ecem Önder Tokuç<sup>2</sup>, Hafize Emine Sönmez<sup>1</sup>, Levent Karabaş<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Romatoloji Bilim Dalı, Kocaeli, Türkiye. <sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye



### Öz

**Amaç:** Çocuk romatoloji polikliniğine başvuran üveit tanılı hastaların etyolojik faktörlerinin dağılımının değerlendirilmesini amaçladık.

**Yöntem:** Ağustos 2020-Mart 2023 arasında üveit tanısı alan olguların klinik özellikleri, laboratuvar ve immünojenik test verileri, enfeksiyon belirteçleri ve tedavi yanıtları geriye dönük olarak incelendi.

**Bulgular:** Çalışmaya 60 hasta dahil edildi. Hastaların 26'sı (%43) kız, 34'ü (%57) ise erkekti. Hastaların ortanca yaşı 160 (23-240), semptom başlama yaşı 136 (16-204), tanı yaşı 136 (18-216) aydı. Gözde kızarıklık (%73) en sık başvuru şikayeti idi. Üveit lokalizasyonu sırasıyla; anterior (ön) (%59), posterior (arka) (%16), pan-üveit (%16) ve pars planitti (%9). Hastaların 12'si (%20) enfeksiyöz üveitti. Enfeksiyöz dışı üveit nedenleri ise sırasıyla; idiyopatik (%81), Behçet hastalığı (%8), juvenil idiyopatik artrit (%8) ve tübulointerstisyel nefrit ve üveit sendromuydu (%2). Yirmi bir hastada (%35) ANA değeri pozitif olarak saptandı. HLA-B27 pozitifliği %14 idi. Kırk beş hastaya (%75) tedavi lokal steroid tedavisi uygulandı. Diğer uygulanan tedaviler sırasıyla; sistemik steroid (30,%50 hasta), DMARD (29, %48,3 hasta) ve biyolojik ajandı (16, %26,7 hasta). Uygulanan tedaviler sonrasında 26 (%43,3) hasta tedavisiz remisyonda idi. Dokuz hasta takibi bırakmıştı. Yirmi beş hastanın ilaçla takibine devam etmekteydi. Takipte 2 hastada glokom gelişmişti, 2 hasta katarakt ve 2 hasta da posterior sineşi nedeni ile opere olmuştu.

**Sonuç:** Kliniğimizde 60 üveit tanılı hasta incelendi. En sık neden idiyopatik iken, enfeksiyöz hastalıklar içinde en sık etken kedi tırmığı idi. Çocuk romatoloji hekimlerinin sık sık karşısına çıkan üveit kalıcı görme kaybına neden olabilen önemli bir hastalıktır. Referans merkez olan kliniğimizdeki tecrübeler bu hastalarla günlük pratiğinde uğraşan çocuk ve çocuk romatoloji hekimlerine bir yol haritası çizebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Üveit, juvenil idiyopatik artrit, Bartonella Henselae

### ABSTRACT

**Objective:** This study aimed to evaluate the demographic and clinical findings of patients presenting with uveitis who applied to the pediatric rheumatology outpatient clinic.

**Method:** The clinical features, laboratory and immunological findings, infection markers, and treatment responses of patients with uveitis were analyzed retrospectively. This cross-sectional study was conducted between August 2020 and March 2023.

**Results:** Sixty patients were included in the study. Of them, 26 (43%) were female and 34 (57%) were male. The median age, age of symptom onset, and diagnosis of the patients were 160 (23-240), 136 (16-204), and 136 (18-216), respectively. The most common complaint was redness of the eye (73%). The localization of uveitis was anterior (59%), posterior (16%), panuveitis (16%), and pars planitis (9%), respectively. Twelve (20%) patients had infectious uveitis. The causes of non-infectious uveitis were idiopathic (81%), Behçet's disease (8%), juvenile idiopathic arthritis (8%), and tubulointerstitial nephritis and uveitis syndrome (2%), respectively. Twenty-one patients (35%) were ANA positive and HLA-B27 positivity was 14%. Forty-five patients (75%) were treated with local steroid therapy. Other treatments were systemic steroids (n=30, 50%), DMARDs (n=29, 48.3%), and biologic agents (n=16, 26.7%), respectively. At last control, 26 (43.3%) patients were in remission without treatment. Nine patients discontinued follow-up. Twenty-five patients continued to be followed up with medication. In the follow-up, 2 patients developed glaucoma, 2 patients were operated for cataract and 2 patients were operated for posterior synechia.

**Conclusion:** Sixty patients with uveitis were examined. The most common cause of uveitis was idiopathic while the most common cause of infectious diseases was Bartonella henselae. The experiences in our clinic as a referral center may provide a roadmap for clinicians dealing with these patients in their daily practice.

**Keywords:** Uveitis, juvenile idiopathic arthritis, Bartonella henselae

\*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: 24.07.2023

Kabul/Accepted: 22.12.2023

Online Yayın/Published Online: 29.02.2024

## Giriş

Üvea; ön kısmı iris ve siliyer cisim, arka kısmı koroid tabakalardan oluşan gözün vasküler ve pigment yapılarından zengin orta tabakasıdır. Üveit ise üvea tabakasının bir kısmının veya tamamının inflamasyonudur.<sup>1</sup> Üvea dışında vitreus, retina, optik sinir, sklera, lens gibi komşu dokuların ve bazen göz çevresi dokularının inflamasyonu da buna eşlik edebilir. Üveit tek gözü veya her iki gözü aynı zamanda tutabilir, tüm üveit vakalarının %5-10'u çocukluk çağında bulgu verir.<sup>2</sup> Üveit en önemli görme kaybı ve körlük nedenlerinden biridir. Batı ülkelerinde görme kaybı ve körlüğün %10'unun nedeni üveittir.<sup>3</sup> Üveit semptomları ilişkili olduğu anatomik lokalizasyona bağlı olarak değişmekle beraber gözlerde ağrı, kızarıklık, görmede azalma, bulanık görme ve göz önünde uçan cisimler görülmesi en sık semptomlardır. Üveitler etyolojik, anatomik ve histopatolojik özelliklere göre sınıflandırılır. Etiyolojik özelliklere göre idiyopatik, enfeksiyöz ve enfeksiyon dışı nedenler; anatomik olarak ön, arka, pars planit (orta) ve pan-üveit; histopatolojik özelliklerine göre granülatöz ve non-granülatöz olarak sınıflandırılır.<sup>4</sup> Çocukluk çağında üveitin en sık nedeni idiyopattır; ancak enfeksiyöz hastalıklar,<sup>5-8</sup> romatolojik hastalıklar,<sup>9</sup> primer göz hastalıkları ve ilaçlara bağlı olarak da üveit görülebilir.<sup>10</sup> Üveit konusunda uzmanlaşmış göz doktorlarının çoğu genellikle enfeksiyöz ve primer göz hastalıkları nedenlerini belirleyebilir, ancak altta yatan bir romatolojik hastalık için hastaların muhakkak çocuk romatoloji hekimi tarafından değerlendirilmesi gerekmektedir.

Üveit, körlük ve görme bozukluğuna yol açabildiğinden hastaların hızlı tanı ve tedavisi çok önemlidir. Üveit tedavisinde, enflamasyonun derecesi, risk faktörlerinin ve komplikasyonların varlığına göre; en az agresif tedaviden başlayarak daha agresif tedavilere doğru devam eden basamaklı bir algoritma kullanılır. Sırasıyla lokal ve sistemik kortikosteroidler, hastalık modifiye eden romatizmal ilaçlar (DMARD) ve biyolojik ajanlar kullanılır.<sup>11</sup>

Üveit hastalarının tedavisi, üveitin anatomik tutulumu, göz içi inflamasyonun ağırlığı ve altta yatan hastalığın ciddiyetine göre değişir. Bu nedenle üveit tanılı çocuk hastaların pediatrik üveit konusunda deneyimli göz doktorları ve çocuk romatologları tarafından birlikte takip edilmesi önerilir.<sup>12</sup> Çalışmamızda kliniğimizde takipli üveitli hastaların klinik bulgularının ve tedavi yanıtlarının değerlendirilmesini amaçladık. Kliniğimizdeki tecrübelerimizi paylaşarak bu hastalarla günlük pratiğinde uğraşan çocuk ve çocuk romatoloji hekimlerine bir yol haritası çizmeyi planladık.

## Yöntem

Çalışmaya Ağustos 2020-Mart 2023 arasında Kocaeli Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı ve Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda üveit 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: 2023/187-15.06.2023).

Üveit tanılı hastaların verileri elektronik dosyalardan geriye dönük olarak tarandı. Öncelikle demografik verileri (yaş, cinsiyet, tanı yaşı), klinik bulguları ve laboratuvar bulguları (anti nükleer antikor; ANA), insan lökosit antijeni; HLA-B27 ve HLA-B51) kaydedildi. Tüm hastaların üveit lokalizasyonları, enfeksiyon parametreleri ve histopatolojik özellikleri göz hastalıklarına ait elektronik kayıtlardan not edildi. Üveit tanısı ile başvuran tüm hastalarda TORCH serolojisi, mikobakterium tüberkülozis taraması için akciğer filmi ve quantiferon testi, kedi tırmığı için Bartonella henselae serolojisi bakılmaktadır. Bu sonuçları da dosyalardan geriye yönelik tarandı. Ayrıca hastaların kullandığı tedaviler ve tedavi sonrasında aktif hastalık durumunda değişiklik olup olmadığı da kaydedildi. Hastaların son vizitte muayene bulguları, komorbidite ve operasyon öyküleri de incelendi.

## 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. Kategorik değişkenler yüzde olarak ifade edilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalarda kategorik değişkenler için ki-kare testi ve normal dağılıma uymayan sayısal değişkenler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için  $p < 0,05$  kabul edildi.

## Bulgular

Çalışmaya 60 hasta dahil edildi. Hastaların 26'sı (%43) kız, 34'ü (%57) ise erkekti. Hastaların ortanca yaşı 160 (23-240), semptom başlama yaşı 136 (16-204), tanı yaşı 136 (18-216) aydı.

Hastaların klinik özellikleri incelendiğinde; gözde kızarıklık ( $n=43$ , %73) en sık başvuru şikayeti idi. Gözde kızarıklıktan sonra görülen en sık şikayet görmede azalmaydı ( $n=12$ , %20) ve 4 (%7) hasta asemptomatikti. Asemptomatik olan dört hastada üveit rutin muayene esnasında saptanmıştı. Bu hastaların hepsi juvenil idiaopatik artrit (JIA) tanılı idi. Gözde matlaşma olması nedeni ile değerlendirilen bir hasta da katarakt ve üveit tanısı almıştı.

Üveit lokalizasyonu sırasıyla; anterior (ön) ( $n=38$ , %59), posterior (arka) ( $n= 10$ , %16), pan-üveit ( $n=10$ , %16) ve pars planitti ( $n=6$ , %9).

Histopatolojik özelliklerine göre hastaların 6'sı (%10) granülatöz, 54'ü (%90) ise non-granülatöz üveit olarak sınıflandı.

Hastaların etyolojik nedenleri incelendiğinde; 12'si (%20) enfeksiyöz üveitti. Enfeksiyöz üveit etkenleri sırasıyla; *Bartonella henselae* ( $n=6$ , %50), SARS-COV2 ( $n=3$ , %25), *Epstein-Barr virüs* (EBV) ( $n=1$ , %8,33), *mikoplazma pnömoni* ( $n=1$ , %8,33) ve *Brucella* idi ( $n=1$ , %8,33). Enfeksiyon dışı üveit ( $n=28$ , %80) nedenleri ise sırasıyla; idiyopatik ( $n=39$ , %80), Behçet hastalığı ( $n=4$ , %8), JIA

(n=4, %8) ve tübülointerstisyel nefrit nefrit ve üveit sendromuydu (TİNU) (n=1, %2).

Cinsiyete göre üveit özellikleri incelendi ve Tablo 1'de özetlendi. Tanı yaşı erkek hastalarda kız hastalara göre daha küçüktü. Ancak bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi. Üveit lokalizasyonu değerlendirildiğinde; her iki cinsiyette de en sık ön üveit görülürken pars planit tutulumu erkeklerde (n=5, %14,7), kızlara (n=1, %4,2) göre daha sıklı. Etiyolojik nedenler incelendiğinde; enfeksiyöz nedenlerde en sık etken her iki cinsiyette de *Bartonella Hanselae* idi. Enfeksiyon dışı etkenlerde her iki cinsiyette en sık neden idiopatikti. Erkeklerde (n=3, %8,8) Behçet Hastalığı kızlara göre (n=1, %3,8) daha sık saptandı.

**Tablo 1.** Üveit özelliklerinin cinsiyete göre dağılımı

Özellikler	Kız n=26 (%100)	Erkek n=34 (%100)	P
Tanı yaşı (ay)	149 (18-216)	131 (36-191)	0,266
<b>Üveit lokalizasyonu</b>			
Ön üveit	17 (%65,4)	21 (58,3)	0,561
Pars planit	1 (%3,8)	5 (%13,9)	
Arka üveit	6 (%23,1)	6 (%16,7)	
Pan üveit	2 (%7,7)	2 (%5,6)	
<b>Üveit etyolojisi</b>			
İnfeksiyon	7 (%26,9)	5 (%13,9)	0,522
<i>Bartonella Hanselae</i>	4 (%15,4)	2 (%5,6)	
SARS-COV2	2 (%7,7)	1 (%2,8)	
Ebstein Barr virüs	0 (%0)	1 (%2,8)	
Mikoplazma pnömoni	0 (%0)	1 (%2,8)	
Brucella mellitus	1 (%3,8)	0 (%0)	
İnfeksiyon dışı nedenler	19 (%73,1)	29 (%80,6)	
İdiopatik	15 (%57,7)	24 (%66,7)	
Juvenil idiyopatik artrit	2 (%7,7)	2 (%5,6)	
Behçet Hastalığı	1 (%3,8)	3 (%8,3)	
Tübülointerstisyel nefrit ve üveit	1 (%3,8)	0 (%0)	
<b>ANA pozitifliği</b>	11 (%42,3)	10 (%27,8)	0,135
<b>HLA-B51 pozitifliği</b>	2 (%7,7)	1 (%2,8)	0,181
<b>HLA-B27 pozitifliği</b>	0 (%0)	1 (%2,8)	0,225
<b>Son durum</b>			
Tedavisiz remisyon	11 (%42,3)	15 (%41,7)	0,709
Tedavi altında stabil hastalık	11 (%42,3)	14 (%38,3)	
Aktif hastalık	1 (%3,8)	0 (%0)	
Takibi bırakma	4 (%15,4)	4 (11,1)	
Operasyon	1 (%3,8)	1 (%2,8)	

ANA; anti-nükleer antikor, HLA; insan lökosit antijen

Hastaların laboratuvar verileri incelendiğinde; 21 hastada ANA pozitif olarak saptandı. HLA-B27 ise 1 hastada pozitifti.

Hastalara verilen tedaviler incelendiğinde; 45 hastaya (%75) lokal steroid tedavisi uygulandı. Diğer uygulanan tedaviler sırasıyla; 30 (%50) hastada sistemik steroid, 29'unda (%48,3) metotreksat ve 16'ında (%26,7) biyolojik (adalimumab) ajandı. Uygulanan tedaviler sonrasında 26 (%43,4) hasta tedavisiz remisyona ulaştı. Sekiz (%13,4) hasta takipsizdi. Yirmi beş (41,6) hastanın ise takibine ilaçla devam edilmekteydi. Bir (%1,6) hastada halen aktif üveit vardı. Takipte 2 hastada glokom gelişmişti, 2 hasta katarakt ve 2 hasta da posterior sineşi nedeni ile opere olmuştu. İki hastada da bant keratopati oluşmuştu.

## Tartışma

Çalışmamızda üveit nedeni ile kliniğimizde takipli olan 60 hastanın demografik ve klinik özelliklerini değerlendirdik. Yapılan çalışmalarda cinsiyet dağılımı ile ilgili veriler değişkenlik gösterse de her iki cinsiyetin eşit olarak etkilendiğini bildiren yayınlar çoğunluktadır.<sup>13-15</sup> Üveit nedenlerinden sarkoidoz, JİA, multipl skleroz, sistemik lupus ertitematozus kadınlarda daha yaygın görülürken; Behçet hastalığı, ankilozan spondilit, Eales hastalığı erkeklerde daha yaygın görülür.<sup>16-19</sup> Çalışmamızda erkeklerin kızlara oranla 1,3 kat daha fazla etkilendiği bulunmuştur. Önceki çalışmalarda pediatrik üveit hastalarının tanı anındaki ortalama yaşı 9-11,4 yıl olarak bildirilmiştir.<sup>13,15,20-21</sup> Çalışmamızda da benzer olarak üveit tanı yaşı ortanca 11,3 yıl (136) ay olarak saptanmıştır.

Üveit hastalarında tutulan anatomik lokalizasyona göre farklı semptomlar görülebilir. Ön üveit tutulumu olan hastalarda ağrı ve kızarıklık olurken; arka üveit ve pars planitte ağrı beklenmez; görmeye azalma ve göz önünde uçuşan cisimler en sık bulgularıdır.<sup>22</sup> Ön üveit anatomik lokalizasyon olarak en sık görülen üveit iken; pars planit en az görülen üveittir.<sup>15,19-20, 23</sup> Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak en sık görülen üveit ön üveitti. Buna bağlı olarak da gözde kızarıklık en sık başvuru şikayeti olarak kayıt edilmiştir.

İdiyopatik ön üveit toplumda en sık görülen üveit şeklidir.<sup>24</sup> Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak en sık üveit nedeni idiyopatik olarak saptanmıştır. Enfeksiyöz üveitler gelişmekte olan ülkelerde daha yaygın iken; enfeksiyöz olmayan üveitler gelişmiş ülkelerde daha yaygın olarak görülür.<sup>24</sup> Çocukluk çağında üveitin en sık nedeni ise idiyopatikdir; ancak enfeksiyöz hastalıklar,<sup>5-8</sup> romatolojik hastalıklar,<sup>9</sup> primer göz hastalıkları ve ilaçlara bağlı olarak üveit görülebilir.<sup>10</sup> Yalçındağ ve ark.<sup>19'a</sup> ait erişkin hastalardan oluşan Türk serisinde en sık üveit nedeni enfeksiyon dışı hastalıklar olarak bildirilmiştir. Ancak enfeksiyon etkenler incelendiğinde en sık saptanan etkenler oküler toksoplazmoz ve herpetik ön üveittir. Benzer olarak, İtalyan<sup>25</sup>, Alman<sup>26-27</sup> ve İngiliz<sup>28</sup> serilerinde de en sık enfeksiyöz üveit etkeni oküler toksoplazmoz olarak raporlanmıştır. Çalışmamızda ise en sık enfeksiyöz etken *Bartonella henselae* (n=6, %50) olarak saptanmıştır. Çalışmamız çocuk ve adolesan yaş grubundaki hastalardan oluştuğu için enfeksiyöz etkenlerde farklılık olduğu düşünülmektedir.

Enfeksiyon dışı etkenler incelendiğinde; Yalçındağ ve ark.<sup>19'nın</sup> yaptıkları çalışmada Behçet Hastalığı'na bağlı üveitler, tüm üveitlerin yaklaşık dörtte biri olarak bildirilmiştir. Şahin ve ark.<sup>29'nın</sup> yaptıkları 500 hastadan oluşan "JUPİTER" çalışmasında ise JİA tanılı hastalar incelenmiş ve 4 yıllık izlem sürecinde hastaların %6,8'inde üveit geliştiği gösterilmiştir. Çalışmamızda enfeksiyon dışı nedenler incelendiğinde Behçet Hastalığı ve JİA sıklığı benzer sıklıkta (%8) saptanmıştır. Behçet hastalığı sıklığı daha önce yapılan çalışmalara benzer olarak erkek cinsiyette daha yüksek orandadır.<sup>16-19</sup> Çalışmamız çocuk ve adolesan yaş grubunda yapıldığı için üveit etyolojisi olarak JİA'nın literatüre göre daha yüksek oranda saptandığı düşünülmektedir.

Üveit tedavisi anatomik lokalizasyonuna ve etyolojisine göre farklılık göstermektedir. Enfeksiyöz üveitlerde altta yatan enfeksiyöz etkene yönelik tedavi planlanır. Enfeksiyöz ön üveitlerde ek olarak topikal (lokal) steroid tedavisi önerilir. Enfeksiyöz olmayan ön üveitte başlangıç tedavisi olarak lokal steroid ve yapışıklık (sineşi) oluşumunu önlemeye yardımcı olmak için siklopentolat gibi genişletici bir damla önerilir. Orta-arka ve pan üveitte ise triamsinolon gibi intraoküler streoid enjeksiyonları başlangıç tedavisi olarak seçilebilir.<sup>30</sup> Ön üveit tedavisine lokal steroidlerle başlanır, dirençli hastalarda ise sistemik streoid, DMARD'lar ve biyolojik ilaçlar ile devam edilir. Steroid tedavisinin kesilemediği (günlük 10 mg veya daha fazla prednizolon dozuna ihtiyaç duyan) hastalara DMARD başlanması önerilmektedir.<sup>10,12</sup> İmmun supresif ajan olarak azatiyoprin<sup>31</sup>, mikofenolat mofetil<sup>32</sup>, metotreksat<sup>33</sup>, kalsinörin inhibitörleri (siklosporin ve takrolimus) ve alkilleyici ajanlar (siklofosamid) kullanılabilir. Maccora ve ark.<sup>34</sup> yaptıkları derlemede metotreksatın başarısız olduğu çocuklarda adalimumab ve/veya tocilizumab tedavisi ile oküler inflamasyonun baskılandığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da hastalara rehberlerdeki tedavi önerilerine göre sırasıyla lokal steroid, sistemik steroid, DMARD ve biyolojik ajan tedavileri uygulanmıştır. Uygulanan tedaviler sonrasında 26 (%43,4) hasta tedavisiz remisyona ulaşmıştır. Sekiz (%13,4) hasta takibi bırakmıştır. Yirmi beş (41,6) hasta ise halen ilaçla takibine devam etmektedir. Bir (%1,6) hastada halen aktif üveit vardır.

Üveit hastalarında katarakt, glokom, band keratopati ve posterior şineşi gibi komplikasyonlar görülebilir. Şahin ve ark.<sup>29</sup>'nün yaptıkları "JUPİTER" çalışmasında 4 hastada (%11,8) katarakt ve 1 hastada (%2,9) band keratopati olduğu bildirilmiştir. Yalçındağ ve ark.<sup>19</sup>'nün yaptıkları erişkin çalışmasında ise hastaların %16,2 sinde posterior şinesi, %16,2 sinde katarakt ve %7,3 ünde glokom saptanmıştır. Çalışmamızda ise saptanan komplikasyonlar; posterior şinesi (n=2,%3,3), katarakt (n=2,%3,3) ve glokom (n=2,%3,3) olarak kayıt edilmiştir.

Çalışmamızın geriye dönük olması, hasta sayısının az ve tek merkezden olması en önemli kısıtlılığdır. Ancak kiniğimizin Doğu Marmara Bölgesi'nde referans merkez olması nedeni ile tecrübelerimizin paylaşılmasının önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak kliniğimizde 60 üveit tanılı hasta incelenmiştir. En sık neden idiyopatik-ön üveit iken, enfeksiyöz hastalıklar içinde en sık etken kedi tırmığı hastalığı olarak saptanmıştır. Kliniğimiz referans merkez olduğu göz önünde bulundurulduğunda sonuçlarımız bu hastalarla günlük pratiğinde uğraşan çocuk, çocuk romatoloji ve göz hekimlerine yardımcı olabilir.

#### **Etik Standartlara Uygunluk**

Çalışmaya başlamadan önce Kocaeli Üniversitesi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Onay numarası ve tarihi: 2023/187-15.06.2023)

#### **Çıkar Çatışması**

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

#### **Finansal Destek**

Yoktur.

#### **Yazar Katkısı**

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

Bütün yazarlar yazının son halini okumuştur ve onay vermiştir.

#### **Kaynaklar**







1. Clarke SL, Sen ES, Ramanan AV. Juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2016;14(1):27. doi: 10.1186/s12969-016-0088-2.
2. Ravelli A, Martini A. Juvenile idiopathic arthritis. *Lancet.* 2007;369(9563):767-778. doi:10.1016/S0140-6736(07)60363-8
3. Suttrop-Schulten MS, Rothova A. The possible impact of uveitis in blindness: a literature survey. *Br J Ophthalmol.* 1996;80(9):844-8. doi: 10.1136/bjo.80.9.844
4. Deschenes J, Murray PI, Rao NA, Nussenblatt RB. International Uveitis Study Group. International Uveitis Study Group (IUSG): clinical classification of uveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2008;16(1):1-2. doi:10.1080/09273940801899822
5. Oliver GF, Carr JM, Smith JR. Emerging infectious uveitis: Chikungunya, dengue, Zika and Ebola: A review. *Clin Exp Ophthalmol.* 2019;47:372-380. doi: 10.1111/ceo.13450
6. Merle H, Donnio A, Jean-Charles A, et al. Ocular manifestations of emerging arboviruses: Dengue fever, Chikungunya, Zika virus, West Nile virus, and yellow fever. *J Fr Ophthalmol.* 2018;41(6):235-243. doi:10.1016/j.jfo.2018.05.002
7. Cunningham ET Jr, Downes KM, Chee SP, Zierhut M. Cytomegalovirus Retinitis and Uveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2015;23(5):359-61. doi:10.3109/09273948.2015.1090820
8. Lindström BE, Skogman BH, Lindström AK, Tallstedt L, Nilsson K. Borrelia Ocular Infection: A Case Report and a Systematic Review of Published Cases. *Ophthalmic Res.* 2022;65(2):121-130. doi: 10.1159/000521307
9. Cann M, Ramanan AV, Crawford A, et al. Outcomes of non-infectious Paediatric uveitis in the era of biologic therapy. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2018;16(1):51. doi:10.1186/s12969-018-0266-5
10. Chan NS, Choi J, Cheung CMG. Pediatric Uveitis. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila).* 2018;7(3):192-199. doi:10.22608/APO.2018116
11. Gamalero L, Simonini G, Ferrara G, Polizzi S, Giani T, Cimaz R. Evidence-Based Treatment for Uveitis. *Isr Med Assoc J.* 2019;21:475-479.
12. Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT. Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol.* 2005;140(3):509-16. doi:10.1016/j.ajo.2005.03.057
13. Ozdel S, Baglan E, Gungor T, et al. Comparison of pediatric patients with noninfectious idiopathic uveitis and noninfectious uveitis associated with an underlying systemic disease: from a referral center in Turkey. *Postgrad Med.* 2021 May;133(4):444-448. doi:10.1080/00325481.2021.1902684

14. Çakan M, Yıldız İkinci D, Gül Karadağ Ş, Aktay Ayaz N. Etiologic Spectrum and Follow-Up Results of Noninfectious Uveitis in Children: A Single Referral Center Experience. *Arch Rheumatol.* 2019;34(3):294-300. doi:10.5606/ArchRheumatol.2019.7253
15. Arslanoglu Aydin E, Ozdel S, Cakar Ozdal P, et al. Changing face of non-infectious pediatric uveitis in the pre-pandemic and pandemic periods: a comparison study. *Postgrad Med.* 2023 May;135(4):418-423. doi:10.1080/00325481.2023.2184092
16. Yeung IY, Popp NA, Chan CC. The role of sex in uveitis and ocular inflammation. *Int Ophthalmol Clin.* 2015;55(3):111-31. doi:10.1097/IIO.0000000000000072
17. Sen HN, Davis J, Ucar D, Fox A, Chan CC, Goldstein DA. Gender disparities in ocular inflammatory disorders. *Curr Eye Res.* 2015;40(2):146-61. doi:10.3109/02713683.2014.932388
18. Choudhary MM, Hajj-Ali RA, Lowder CY. Gender and ocular manifestations of connective tissue diseases and systemic vasculitides. *J Ophthalmol.* 2014;2014:403042. doi:10.1155/2014/403042
19. Yağcıdağ FN, Özdal PC, Özyazgan Y, Batioğlu F, Tugal-Tutkun I. BUST Study Group. Demographic and Clinical Characteristics of Uveitis in Turkey: The First National Registry Report. *Ocul Immunol Inflamm.* 2018;26(1):17-26. doi: 10.1080/09273948.2016.1196714.
20. Yağcıdağ FN, Güngör SG, Değirmenci MFK, et al. The Clinical Characteristics of Pediatric Non-Infectious Uveitis in Two Tertiary Referral Centers in Turkey. *Ocul Immunol Inflamm.* 2021;29(2):282-289. doi:10.1080/09273948.2019.1674890
21. Ekici Tekin Z, Otar Yener G, Akbulut S, Çetin EN, Yüksel S. Follow-up Findings of Non-infectious Pediatric Uveitis Patients. *Turk J Ophthalmol.* 2021;51(6):351-357. doi:10.4274/tjo.galenos.2021.38585.
22. Darrell RW, Wagener HP, Kurland LT. Epidemiology of uveitis. Incidence and prevalence in a small urban community. *Arch Ophthalmol.* 1962;68:502-14. doi:10.1001/archophth.1962.00960030506014
23. Keino H, Watanabe T, Taki W, et al. Clinical features of uveitis in children and adolescents at a tertiary referral centre in Tokyo. *Br J Ophthalmol.* 2017;101(4):406-410. doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-308194
24. Tsirouki T, Dastiridou A, Symeonidis C, et al. A Focus on the Epidemiology of Uveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2018;26(1):2-16. doi:10.1080/09273948.2016
25. Cimino L, Aldigeri R, Salvarani C, et al. The causes of uveitis in a referral centre of Northern Italy. *Int Ophthalmol.* 2010;30(5):521-9. doi:10.1007/s10792-010-9359-y
26. Grajewski RS, Caramoy A, Frank KF, et al. Spectrum of Uveitis in A German Tertiary Center: Review of 474 Consecutive Patients. *Ocul Immunol Inflamm.* 2015;23(4):346-352. doi:10.3109/09273948.2014.1002567.
27. Jakob E, Reuland MS, Mackensen F, et al. Uveitis subtypes in a german interdisciplinary uveitis center--analysis of 1916 patients. *J Rheumatol.* 2009;36(1):127-36. doi:10.3899/jrheum.080102
28. Jones NP. The Manchester Uveitis Clinic: the first 3000 patients--epidemiology and casemix. *Ocul Immunol Inflamm.* 2015;23(2):118-26. doi:10.3109/09273948.2013.855799
29. Sahin S, Acari C, Sonmez HE, et al. Frequency of juvenile idiopathic arthritis and associated uveitis in pediatric rheumatology clinics in Turkey: A retrospective study, JUPITER. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2021;19(1):134. doi:10.1186/s12969-021-00613-2
30. Jabs DA, Rosenbaum JT, Foster CS, et al. Guidelines for the use of immunosuppressive drugs in patients with ocular inflammatory disorders: recommendations of an expert panel. *Am J Ophthalmol.* 2000;130(4):492-513. doi:10.1016/s0002-9394(00)00659-0
31. Pasadhika S, Kempen JH, Newcomb CW, et al. Azathioprine for ocular inflammatory diseases. *Am J Ophthalmol.* 2009;148(4):500-509. doi:10.1016/j.ajo.2009.05.008
32. Daniel E, Thorne JE, Newcomb CW, et al. Mycophenolate mofetil for ocular inflammation. *Am J Ophthalmol.* 2010;149(3):423-432. doi:10.1016/j.ajo.2009.09.026
33. Ali A, Rosenbaum JT. Use of methotrexate in patients with uveitis. *Clin Exp Rheumatol.* 2010;28(5 Suppl 61):145-150.
34. Maccora I, Sen ES, Ramanan AV. Update on noninfectious uveitis in children and its treatment. *Curr Opin Rheumatol.* 2020;32(5):395-402. doi:10.1097/BOR.0000000000000723

## Araştırma Makalesi | Research Article

# SİSTEMİK LUPUS ERİTEMATOZUS HASTALIĞINDA C-REAKTİF PROTEİN VE PENTRAKSİN-3 DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

## INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN C-REACTIVE PROTEIN AND PENTRAXIN-3 LEVELS IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS DISEASE

 Şükran Aslantaş<sup>1</sup>,  Nurdan Oruçoğlu<sup>2</sup>,  Merve Türkeğün<sup>3</sup>,  Senay Balcı<sup>4</sup>,   Lülüfer Tamer<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Kütahya Simav Doç.Dr. İsmail Karakuyu Devlet Hastanesi, Kütahya, Türkiye. <sup>2</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Romatoloji Bilim Dalı, Mersin, Türkiye. <sup>3</sup>Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı., Antalya, Türkiye. <sup>4</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye.



### Öz

**Amaç:** Sistemik lupus eritematozus, çoklu otoantijenlere karşı poliklonal otoimmüniteyi içeren ve çok çeşitli klinik belirti spektrumuna sahip, öngörülemez seyirli otoimmün bir hastalıktır. Otoimmün hastalıklarda, uzun pentraksin ailesinden olan pentraksin-3 seviyelerinin dolaşımda arttığı bulunmuştur. Pentraksin-3, diğer pentraksinlerden farklı olarak periferik dokularda yerleşik ve doğal bağışıklık hücreleri tarafından, inflammatuar sinyallere cevap olarak üretilir. Bu çalışmada, kronik enflamasyon ve immün fonksiyon bozukluğu ile karakterize olan sistemik lupus eritematozus'da, inflammatuar belirteçlerden C-reaktif protein ve pentraksin-3 düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

**Yöntem:** Çalışmaya, dahil edilme kriterlerine uyan, sistemik lupus eritematozus tanısı almış 56 hasta ve 55 sağlıklı birey dahil edildi. Tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı, alanin transaminaz, kreatinin ve C-reaktif protein otoanalizörde çalışılırken; pentraksin-3 düzeyleri, serum örneklerinden, ELISA yöntemi ile çalışıldı.

**Bulgular:** Çalışma verileri incelendiğinde, sistemik lupus eritematozus hastalarında, C-reaktif protein ve pentraksin-3 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla p=0,003; p=0,008). Pentraksin-3 ile diğer parametrelerin, grup içi düzeylerinin korelasyonu değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı.

**Sonuç:** Sistemik lupus eritematozus, farklı doku ve organ tutulumları olan ve buna bağlı olarak farklı klinik belirtilere yol açan bir hastalıktır. Aynı zamanda bu belirtilerin spektrumu da oldukça geniştir. Bu nedenle, sistemik lupus eritematozus ile ilişkilendirilmiş genetik yatkınlık doku ve organ tutulumları ve hastalığın şiddeti ve aktifliğine göre gruplandırma yaparak daha ileri çalışmalar önermekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** SLE, PTX3, CRP, inflamasyon

### ABSTRACT

**Objective:** Systemic lupus erythematosus is an autoimmune disease with an unpredictable course that includes polyclonal autoimmunity against multiple autoantigens and has a wide spectrum of clinical manifestations. In autoimmune diseases, levels of pentraxin-3, a member of the long pentraxin family, have been found to be increased in the circulation. Pentraxin-3 is produced by innate and resident immune cells in peripheral tissues in response to inflammatory signals. In this study, it was aimed to investigate the relationship between C-reactive protein and pentraxin-3 levels in systemic lupus erythematosus, which is characterized by chronic inflammation and immune dysfunction.

**Method:** Fifty-six patients with Systemic lupus erythematosus and 55 healthy individuals who met the inclusion criteria were included in the study. Complete blood count, erythrocyte sedimentation rate, alanine aminotransferase, creatinine and C-reactive protein were analyzed by autoanalyzer; pentraxin-3 levels were studied by ELISA from serum samples.

**Results:** When the study data were examined, C-reactive protein and pentraxin-3 levels were found to be significantly higher in systemic lupus erythematosus patients compared to the control group (respectively p=0.003; p=0.008). When the correlation between Pentraxin-3 and other parameters and within-group levels was evaluated, no statistically significant correlation was found.

**Conclusion:** Systemic lupus erythematosus is a disease that has different tissue and organ involvement and accordingly causes different clinical symptoms. At the same time, the spectrum of these symptoms is quite wide. Therefore, we suggest further studies by grouping according to genetic susceptibility, tissue and organ involvement, and severity and activity of the disease associated with systemic lupus erythematosus.

**Keywords:** SLE, PTX3, CRP, inflammation

## Giriş

Sistemik lupus eritematozus (SLE), çoklu otoantijenlere karşı poliklonal otoimmüniteyi içeren ve ateş, cilt döküntüleri, artralji ve böbrek, akciğer veya santral sinir sistemi tutulumuna bağlı çok çeşitli klinik belirtiler spektrumunu sahip, öngörülemeden seyirli otoimmün bir hastalıktır.<sup>1</sup> İlk olarak kronik dermatolojik bir hastalık olarak tanımlanmış olup sonraki yıllarda hastalığın sistemik özellikleri dikkat çekmiştir ve anti-DNA antikorun saptanması ile hastalığın otoimmün özelliği kanıtlanmıştır.<sup>2</sup> Klinik seyir, hafiften ciddi gidişe kadar değişebilir ve tipik olarak değişen sürelerde remisyon ve alevlenmeler görülebilmektedir.<sup>3</sup>

Hem doğal hem de edinsel bağışıklık sistemleri SLE'nin patogenezinde rol oynamaktadır. Doğal bağışıklıkta, özellikle nötrofilin apoptozu sonucu açığa çıkan nükleer agregatlar dendritik hücrelerin interferon-alfa üretimini teşvik edebilmekte ve T-lenfositler için antijen işlevi görebilmektedir. Bu durum tromboza ve vasküler hasara aracılık edebilmektedir.<sup>4</sup>

SLE'de T hücrelerindeki bozulmuş gen ifadesi, anormal sitokin üretimine yol açmaktadır. Bu T hücrelerinde, daha az IL-2 üretimi olur ve bu durum düzenleyici T hücre üretiminin değişmesine yol açar. T hücreleri, otoreaktif B hücrelerinin CD40L ve sitokin üretimi ile aktivasyonuna neden olur.<sup>5</sup> Hücre membranına bağlı Toll benzeri reseptörler (TLRs), ölmekte olan hücrelerin ekstrasellüler DNA ve RNA'sına maruz kaldıklarında aktive olurlar, bu da otoantikörlerin üretimine yol açar. Ayrıca, kendi antijenleri tarafından uyarılan otoreaktif B hücreleri, fonksiyonel nötralizasyonda yer alan proses eksikliğinden dolayı hemen ortadan kaldırılamaz. B hücreleri antijen sunan hücreler olarak da hizmet edebilir ve T hücrelerini etkinleştirebilir. Böylece, hem B hem de T hücrelerinin birbirini aktive ettiği ve her ikisinin de daha fazla otoimmüniteye yol açtığı bir döngü oluşturur.<sup>5</sup>

Hem doğal hem de kazanılmış bağışıklığın düzensizliği, doku hasarının başlamasına neden olan çok sayıda farklı antijen tipine karşı otoantikörlerin üretimini teşvik etmektedir. SLE patogenezinde en çok rol oynayan otoantikörler, hücrelerin nükleer bileşenine (ANA) yönelik olanlardır. Patojenik olan bu otoantikörler, kompleman ve nötrofil aktivasyonu ile immün kompleks birikimine yol açmaktadır. Bu immün kompleks, apoptoz ve sitokin üretimine neden olarak hücre fonksiyonunu değiştirir ve organ hasarına neden olur.<sup>6</sup>

SLE'nin patogenezinde, inflamasyon oluşumu ve ilişkili moleküller kilit bir rol oynamaktadır.<sup>6</sup> İnflamasyonla ilişkili uyarıcılarla indüklenebilir olan pentraxin süper ailesinden olan, akut faz proteini olarak bilinmekte olan C-reaktif protein (CRP), primer olarak karaciğer hücreleri tarafından salgılanmaktadır. CRP, oldukça duyarlı, nonspesifik bir inflamasyon, doku hasarı ve enfeksiyon belirteçidir. Uzun pentraksin ailesinin prototipi olan pentraksin 3 (PTX3), siklik multimerik yapıya sahip ve bütün pentraksin ailesinde korunan bir alan ile karakterize, çok işlevli bir glikoproteindir. PTX3, mononükleer fagositler, dendritik hücreler, fibroblastlar, endotel hücreleri, düz kas hücreleri, adipositler, sinoviyal hücreler, kondrositler ve epitel

kaynaklı hücreler olmak üzere çeşitli hücrelerde sentezlenmektedir. Akut faz yanıtında, düzeyinin hızlı ve birkaç saat içinde binlerce kat artabilmesi, kısa sürede eski seviyelerine inmesi, diüurnal varyasyon, yaş ve cinsiyet farkı göstermemesi PTX3'ün biyolojik özelliklerindedir.<sup>7-9</sup> CRP'den farklı olarak PTX3, periferik dokularda yerleşik ve doğal bağışıklık hücreleri tarafından, inflamatuvar sinyallere cevap olarak üretilmektedir. İnflamatuvar durumlarda CRP seviyeleri genellikle hastalık aktivitesi ile paralellik gösterirken, aktif SLE'de bir biyobelirteç olarak kabul görmemektedir. Bununla birlikte, serozit ve poliartrit gibi belirtileri olan SLE'li hasta alt gruplarında önemli CRP yanıtları gözlenmektedir.<sup>10,11</sup> Yapılan çalışmalarda, SLE'nin ortaya çıkmasına neden olan antinükleer antikor gelişiminin, CRP ve diğer pentraksin seviyelerinin düşmesine bağlı olduğu öne sürülmektedir.<sup>12-14</sup> SLE'nin, kronik enflamasyon ve immün fonksiyon bozukluğu ile karakterize olduğu düşünüldüğünde, PTX3'ün bu hastalığın patogenezinde rolü olabileceği varsayımı akla gelmektedir. Bu bilgilerin ışığı altında bu çalışmada, SLE hastalarında, CRP ve PTX3 düzeylerinin belirlenmesi ve pentraksin ailesi üyesi olan bu iki inflamatuvar belirteç ile hastalık arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

## Yöntem

### Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Çalışma grupları oluşturulurken, 18-60 yaş aralığında olan katılımcılardan, SLE tanısı almış ancak başka bir kronik hastalık veya inflamatuvar hastalığı olmayan hastalar hasta grubu ve herhangi bir kronik hastalık veya inflamatuvar hastalığı olmayan bireyler kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

Bu çalışmanın sonuçlarını etkileyecek herhangi bir ilaç kullanan ve başka bir kronik hastalık veya inflamatuvar hastalığı olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmaya dahil edilen SLE hastalığı tanısı konulan 56 hasta ve sağlıklı 55 kişi olmak üzere toplam 111 bireyden, 5 ml'lik içeriksiz biyokimya tüplerine ve 2 ml'lik EDTA'lı hemogram tüplerine kan örnekleri alındı. İçeriksiz biyokimya tüpleri santrifüj edildikten sonra elde edilen serum örneklerinden, CRP, alanin transaminaz (ALT) ve kreatinin, hemogram tüpüne alınan kan örneklerinden, tam kan sayımı ve eritrosit sedimantasyon hızı (ESR) çalışıldı. Mikrosantrifüj tüpüne alıktılan serum örnekleri ise PTX3 düzeylerinin analizi için -80°C'lik derin dondurucuda analiz gününe kadar saklandı.

Çalışma Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 04/12/2019 tarih ve 2019/529 kararı ile onaylandı ve çalışmaya dahil edilen bütün bireyler çalışma hakkında bilgilendirilerek yazılı onayları alındı.

### Biyokimyasal Parametrelere Ait Analizler

Serum CRP düzeyleri, partikülle güçlendirilmiş immünotürbidimetrik yöntemle, ALT seviyeleri enzimatik kolorimetrik metod ile ve kreatinin, kinetik kolorimetrik (Jaffe yöntemi) yöntemle otoanalizörde (AU5800, Beckman Coulter, CA, USA) çalışıldı.



Tam Kan Sayımı parametreleri, Sysmex XN 1000 cihazından çalışıldı. Beyaz kan hücresi (WBC) ve trombosit (PLT) yarı iletken lazerli akım sitometrisi yöntemi ile; eritrosit (RBC), hematokrit (HCT) ve ortalama eritrosit hacmi (MCV) DC akım ölçüm yöntemi ile; Hemogloblin (HGB) ise SLS-hemogloblin yöntemi ile çalışıldı.

ESR, hemogram tüpünden Vision-b sedimentasyon cihazında (YHLO BIOTECH) kızılotesi okuma teknolojisi yöntemi ile çalışıldı.

### Pentraksin-3 Ölçümü

PTX3 düzeyi ELISA yöntemiyle Human Pentraxin-3 kiti (Lot No: 201609, Sunredbio, Shanghai) kullanarak, Four-Plate Automated ELISA Processing System mikroELISA (Chantilly, USA) cihazında ölçüldü.

PTX3 ölçüm prensibi, örneklerdeki insan PTX3 düzeyini ölçmek için, çift antikor sandviç enzim bağlı immünoassay (ELISA) yöntemine dayanmaktadır.

Stok standart çözeltisinden seri dilüsyon yaparak 5 farklı derişimde standart çözelti (12 ng/ml, 6 ng/ml, 3 ng/ml, 1,5 ng/ml, 0,75 ng/ml) hazırlandı. Kit içeriğinde bulunan insan PTX3 monoklonal antikor ile kaplı ELISA plak kuyucuklarına standartlar ve serum örnekleri ilave edildi ve inkübe edildi. Biotin eklendi ve duysuz kompleks oluşturmak için Streptavidin-HRP ile kombine edildi. İnkübasyon sonrası yıkama ile örnekten bağlanmayan komponentler uzaklaştırıldı. Kromojen solüsyonu A ve B eklendiğinde oluşan mavi renk durdurma solüsyonundaki asit etkisi ile sarı oldu. Tüm kuyucuklar 450 nm okundu ve konsantrasyonlar standart eğriye göre hesaplandı.

### İstatistiksel Yöntemler

Kategorik yapıdaki demografik değişkenlerinin dağılımı sayı ve yüzde değerleri ile özetlendi. Shapiro-Wilk testi ile sayısal değişkenler için normal dağılım kontrolü sağlandı. Normal dağılım gösteren sayısal yapıdaki değişkenler ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri ile özetlenirken normal dağılım göstermeyenler ise medyan, minimum ve maksimum değerler ile özetlendi. Hasta kontrol gruplarının ortalamaları parametrik yöntemlerden olan Student-t testi ile medyanları ise parametrik olmayan yöntemlerden Mann Whitney-U testi ile karşılaştırıldı. İki kategorik değişken arasındaki ilişkiler ki-kare analizi ile incelendi. Sayısal tipteki kan ölçümleri arasındaki ilişkiler için korelasyon analizi yapıldı. Tüm karşılaştırmalar için istatistik önem düzeyi ( $p \leq 0,05$  alındı).

### Bulgular

#### Çalışma Grubunu Oluşturan Bireylerin Tanımlayıcı Bilgileri

Çalışmaya SLE hastalığı tanısı konulan 56 hasta (yaş ortalaması  $44,75 \pm 12,16$ ) ve sağlıklı 55 kişi (yaş ortalaması  $41,91 \pm 13,05$ ) olmak üzere toplam 111 birey çalışmaya dahil edildi. Yaş ortalaması bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği tespit edildi ( $p=0,238$ ).

Gruplar ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Hasta grubundaki kadınların oranı

kontrol grubundaki kadınların oranından daha yüksek iken, erkeklerin oranının ise hasta grubunda daha düşük olduğu bulundu. Çalışmaya katılan 89 kadın katılımcının %39,3’ü kontrol grubunda, %60,7’si hasta grubunda, 22 erkek katılımcının, %90,9’u kontrol grubunda, %9,1’i hasta grubunda olduğu bulundu. Grup içerisinde cinsiyet dağılımlarına bakıldığında, kontrol grubunda kadınların oranı %63,6, erkelerin oranı %36,4 olarak bulunurken; hasta grubunda bu oranlar sırası ile %96,4 ve %3,6 olarak tespit edildi ( $p < 0,0001$ ).

#### Çalışma Grubunu Oluşturan Bireylerin Hematolojik Parametrelerine Ait Bulgular

Hasta ve kontrol grubuna ait hematolojik bulgular incelendiğinde, bütün parametrelerin hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla düşük olduğu bulundu. HCT ortalama değerinin ve diğer parametrelere ait medyan değerlerinin, hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğu tespit edildi (Tablo 1a ve 1b) ( $p < 0,05$ ).

**Tablo 1.** Çalışma grubunun hematolojik parametrelerine ait bulgular

a.		n	Min	max	Medyan	P
HGB (g/dL)	Kontrol	55	9,10	16,80	13,60	<b>0,001</b>
	Hasta	56	8,30	13,20	12,45	
RBC ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	Kontrol	55	3,56	7,33	4,66	<b>0,011</b>
	Hasta	56	2,75	6,00	4,32	
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	Kontrol	55	4,67	12,63	7,08	<b>0,001</b>
	Hasta	56	1,73	14,27	5,98	
PLT ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	Kontrol	55	131,00	692,00	264,00	<b>0,018</b>
	Hasta	56	89,00	359,00	247,00	
b.		n	Min	max	Mean $\pm$ SD	P
HCT (%)	Kontrol	55	30,00	48,00	39,98 $\pm$ 4,07	<b>0,000</b>
	Hasta	56	26,00	44,00	37,04 $\pm$ 3,88	

Tablo 1a: Normal dağılım göstermeyen veriler; 1b: Normal dağılım gösteren veriler

p= gruplar arası anlamlılık derecesi,  $p < 0,05$  anlamlı kabul edildi.

Min: minimum değer; max: maksimum değer; Mean $\pm$ SD: ortalama $\pm$ standart sapma; HGB: Hemogloblin; WBC: Beyaz kan hücresi; PLT: Trombosit; HCT: Hematokrit

#### Çalışma Grubunu Oluşturan Bireylerin Biyokimyasal Parametrelerine Ait Bulgular

Çalışma grubuna ait kreatinin ve ALT parametrelerinin medyan değerleri incelendiğinde, SLE hastalarında, kontrol grubuna göre kreatinin ve ALT düzeylerinin daha düşük olduğu belirlendi. Kreatinin ve ALT düzeyleri bakımından hasta grubunun kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmasında, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ( $p < 0,05$ ). Hasta ve kontrol grubuna ait ESR sonuçlarının karşılaştırmasında, hasta grubunda daha yüksek bulunmuş olup, istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0,0001$ ) (Tablo 2).

**Tablo 2.** Çalışma grubunun biyokimyasal parametrelerine ait bulgular

		n	min	max	Medyan	P
<b>KREATİNİN</b> (mg/dL)	Kontrol	55	0,37	1,21	0,6600	<b>0,160</b>
	Hasta	56	0,22	7,00	0,6300	
<b>ALT</b> (U/L)	Kontrol	55	6,00	96,00	18,6000	<b>0,113</b>
	Hasta	56	6,20	91,00	15,7500	
<b>ESR</b> mm/saat	Kontrol	55	1,00	46,00	9,0000	<b>0,0001</b>
	Hasta	56	2,00	51,00	18,0000	

p=gruplar arası anlamlılık derecesi, p<0,05 anlamlı kabul edildi.

Min: minimum değer; max: maksimum değer; ALT: Alanin transaminaz; ESR: Eritrosit sedimantasyon hızı

### Hasta ve Kontrol Grubunda Serum Pentraksin-3 ve CRP Düzeyine Ait Bulgular

Hasta grubunda CRP düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (p=0,003). Hasta grubunda, PTX3 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (p=0,008) (Tablo 3).

Bu çalışmada, SLE hastalarında, pentraksin ailesi üyelerinden CRP ve PTX3 düzeylerinin daha yüksek olduğu bulunurken, bu iki parametrenin grup içi düzeylerinin korelasyonu değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (p>0,05). PTX3 düzeyleri ile çalışmaya dahil edilen hematalojik ve biyokimyasal parametrelerin korelasyonlarına ait veriler incelendiğinde, PTX3 ile bu parametrelerin grup içi ilişkileri zayıf ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0,05).

**Tablo 3.** Hasta ve kontrol grubuna ait CRP ve PTX3 düzeyleri

		n	min	max	Medyan	P
<b>CRP</b> (mg/L)	Kontrol	55	0,12	17,97	1,49	<b>0,003</b>
	Hasta	56	0,24	37,41	2,63	
<b>Pentraksin 3</b> (ng/mL)	Kontrol	55	0,91	15,35	2,22	<b>0,008</b>
	Hasta	56	1,03	36,52	3,24	

p= gruplar arası anlamlılık derecesi, p< 0,05 anlamlı kabul edildi.

Min: minimum değer; max: maksimum değer; CRP: C-reaktif protein

### Tartışma

SLE, etiolojisi bilinmeyen multisistemik bir hastalıktır. Bozulmuş apoptotik klirens, doğal ve edinsel bağışıklık sisteminin upregülasyonu, kompleman aktivasyonu, antijen-antikor kompleksleri ve doku iltihabının karmaşık bir etkileşimi ile progrese olan otoimmün bir süreçtir. Laboratuvar testleri SLE tanısını desteklenmesi, hastalığın aktivitesi ve ciddiyetinin izlenmesinde önemlidir. Rutin biyokimya panelleri, böbrek tutulumu (serumda kan üre azotu ve kreatininde artış, elektrolit konsantrasyonlarında değişiklikler), karaciğer ve kas tutulumunu (karaciğer fonksiyon testi anormallikleri ve kas enzimlerindeki artış) değerlendirmeye olanak sağlarken, tam kan sayımı ise, anemi, lökopeni/lenfopeni ve trombositopeniyi değerlendirmede önemlidir. ESR ve CRP inflamasyon halinde artar.

Akut faz yanıtı, tamamen koordineli bir yanıt değildir. Bunun yerine, çeşitli akut faz reaktanları bağımsız olarak düzenlenir. Son çalışmalar, akut faz yanıtının diğer yaygın olarak kullanılan ölçüsü olan ESR'nin lupustaki hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğunu ve oldukça yüksek olabileceğini doğrulamıştır. CRP seviyesi ile ESR arasında tutarsızlık olmakla birlikte, lupustaki ılımlı akut faz davranışı, CRP'ye özgü değildir. Diğer majör akut faz reaktanı olan serum amiloid A'nın serum seviyeleri de Romatoid artrit (RA) hastalarına kıyasla SLE hastalarında nispeten düşüktür.<sup>15</sup>

CRP, esas olarak proinflamatuvar sitokin interlökin-6'ya (IL-6) yanıt olarak hepatositler tarafından yüksek miktarlarda üretilir. IL-6 indüksiyonu ile gerçekleşen seviyesindeki bu büyük artış nedeniyle, CRP inflamasyon ve doku hasarının bir biyobelirtici olarak kabul edilse de, tüm inflamatuvar durumlarda yararlı değildir. SLE, CRP düzeylerinin hastalık aktivitesini nadiren yansıtmaması bakımından bir istisnayı temsil eder. CRP serum seviyeleri genellikle inflamatuvar durumlarda hastalık aktivitesine paralel olmasına rağmen, aktif SLE'li birçok hastanın, enflamasyonun arttığı yoğun hastalık aktivitesi dönemlerinde, sadece orta derecede yüksek veya normal CRP seviyeleri gösterdiği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. SLE'li birçok hastada nispeten düşük CRP düzeylerinin nedeni halen belirsizliğini korumaktadır. Ancak, belirli belirtileri olan (örneğin, serozit ve poliartrit) SLE'li hasta alt gruplarında önemli CRP yanıtları gözlenmektedir. SLE, CRP düzeylerinin tipik olarak düşük kaldığı önemsiz viral enfeksiyonlara benzer şekilde, oral ülserler, plörit/perikardit ve lökopeni olarak ortaya çıkabilir.<sup>15</sup>

İnflamatuvar miyopatiler, primer Sjögren sendromu ve sistemik skleroz, CRP'nin hastalık aktivitesini izlemek için güvenilir olmayan bir belirteç olarak kabul edildiği diğer hastalıklardır. Ek olarak, viral enfeksiyonlar nadiren CRP düzeylerinde önemli bir artış sergiler. Bu koşulların hepsinde ortak olarak Type I interferonların (Tip I IFN) aktivasyonu olmasıdır. En yaygın olarak çalışılan Tip I IFN, 12 alt tipi içeren IFN- $\alpha$ 'dır. IFN- $\alpha$ , virüslere karşı savunmada fizyolojik bir işleve sahip olmasının yanı sıra, otoantikör üretimini ve diğer birçok işlevi kolaylaştırarak otoimmün patolojiyi indükler ve sürdürür.<sup>16</sup> Tip I IFN'ler için reseptörler (IFN- $\alpha/\beta$  reseptörü; IFNAR) her yerde eksprese edilir ve antiviral, inflamatuvar ve düzenleyici gen ekspresyonunun aktivasyonu için farklı STAT heterodimerlerinin ve homodimerlerinin aktivasyonuna aracılık eder.<sup>17</sup> IFN- $\alpha$ 'nın (tüm alt tipler) CRP transkripsiyonu ve üretimi üzerindeki inhibitör etkisi hepatik hücre hattında ve primer hepatositlerde gösterilmiştir. SLE'li hastalarda CRP düzeyleri ve IFN- $\alpha$  düzeylerine ilişkin diğer in vivo çalışmalarda, kesin hücre içi yollar bilinmemekle birlikte, IFN- $\alpha$ 'nın CRP üretiminde düzenleyici rolü olduğu fikrine destek sağlamıştır.<sup>18</sup> Ayrıca, SLE hastalarında, viral enfeksiyonlarda ve Tip I IFN kaynaklı otoimmün hastalıklarda görülen görece CRP yanıtı eksikliği, CRP transkripsiyonunun IFN- $\alpha$ 'a bağlı down regülasyonuna ve ayrıca CRP gen polimorfizmlerine bağlanabilir.<sup>19</sup>

Suh CH ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, hastalık ile eş zamanlı enfeksiyon olan ve olmayan SLE hastalarında CRP

ve sitokin düzeylerini araştırmışlardır. Enfeksiyon olmayan SLE hastalarında CRP düzeyinin önemli oranda artmadığı raporlanmıştır. SLE'de dolaşımdaki nükleer otoantijenlerin immünojenik hale gelmesine neden olan non-enfeksiyöz inflamasyonda düşen sitokin cevapları, nispeten düşük CRP seviyeleri ile ilişkili bulunmuştur.<sup>20</sup>

SLE tanılı hastalarda hastalık alevlenmesi ve enfeksiyon arasında ayırım yapmak için CRP düzeylerinin prospektif olarak incelendiği bir çalışmada, 38 alevlenmenin 25'inde ve 36 enfeksiyonun 32'sinde CRP seviyelerinin arttığı bildirilmiştir (6 mg/l'den fazla). Enfeksiyon sırasında medyan CRP seviyelerinin (60 mg/l; 1-400 aralığı), hastalığın alevlenmesi sırasındakinden (16,5 mg/l; aralık 1-375) daha yüksek olduğu, alevlenmeden önce yükseldiği ve sonrasında düştüğü rapor edilmiştir. Serozitin eşlik ettiği alevlenmeler sırasında, medyan CRP seviyeleri (76 mg/l; aralık 2-375), serozitsiz alevlenmelerden (16 mg/l; aralık 1-53) daha yüksek olarak raporlanmıştır. Serozit olmaksızın alevlenmeler sırasında 60 mg/l'yi aşan CRP seviyelerinin, tüm vakalarda enfeksiyonu işaret ettiği belirtilmiştir. Bu nedenle, SLE'de CRP ölçümünün, yalnızca serozit yokluğunda enfeksiyon ve alevlenme arasında ayırım yapmak için değerli olduğu sonucuna varılmıştır.<sup>21</sup>

CRP'nin de yer aldığı Pentraksin ailesi, apoptozu ve hücre içi içeriğin sızıntısını indükleyen enfeksiyöz ve inflamatuvar koşullarda otoimmün tepkilerin gelişimini modüle eder. Makrofajlar tarafından apoptotik hücre klirensi, pentraksinlerin ve anti-inflamatuvar faktörlerin, örneğin TGFβ'nin sentezini tetikler. Uzun pentraksinlerden olan PTX3, apoptotik hücrelere ve histonlar dahil hücre kalıntılarına spesifik olarak bağlanır; böylece dendritik hücreler tarafından yakalanmaları ve bağışıklık sistemine antijen olarak sunulması önlenir. Sonuç olarak, hücre ölümü bağışıklık sistemi aktivasyonu ile sonuçlanmaz ve konak dokuya verilen otoimmün hasar sınırlıdır. Bir opsonin olarak PTX3, sitotoksik CD8+ lenfositlere antijen epitop sunumuna da katılır ve uygun antimikrobiyal mekanizmaların sürdürülmesinde çok önemli bir rol oynayan proinflamatuvar sitokinlerin sentezini uyarır. PTX3, otoreaktif lenfositlerin klonal ekspresyonunu sınırlarken aynı zamanda antibakteriyel ve antifungal doğuştan gelen inflamatuvar yanıtları destekler.<sup>22</sup>

Yapılan çalışmalarda, PTX3'ün bağışıklık savunmasında veya bağışıklık toleransında ve ayrıca otoimmünite süreçlerinin gelişiminde sinerjistik olarak hareket edebileceği belirtilmiştir. PTX3, patojenlere karşı koruma ile otoimmünitenin kontrolü arasında özel bir tür fonksiyonel denge yaratmaktadır. PTX3, patojenleri tanıyarak ve opsonize ederek ve sonuçta ortaya çıkan kompleman aktivasyonu, sitokin salınımı, immün hücrelerin olgunlaşması ve glikozilasyona bağlı inflamatuvar süreçler yoluyla doğuştan gelen ve adaptif immün yanıtları geliştirir. Zıt PTX3 işlevi, antijen çapraz sunumunun kısıtlanmasını içerir. Böylece, PTX3 patojenlere karşı bağışıklık tepkisini geliştirirken aynı zamanda kendi antijenlerine karşı periferik toleransı da artırır.<sup>22</sup>

PTX3, birçok hastalıkta vaskülitlerin bir göstergesi olarak hareket edebilir. Çocukluk çağına başlayan sistemik lupus eritematozus (cSLE), vaskülit yoluyla inflamatuvar organ hasarı ile karakterize multisistemik otoimmün bir

hastalıktır. PTX3, ağırlıklı olarak endotelial hücrelerden inflamatuvar süreçlerin bölgelerinde lokal olarak eksprese edilir. Yetişkin çalışmalarında<sup>22-24</sup>, PTX3'ün hem büyük damar hem de küçük damar vaskülitlerinde ve ayrıca SLE'de aktif vaskülitin bir göstergesi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, SLE'de hastalık aktivitesi ve bazı klinik belirtiler ve laboratuvar parametreleri ile korele olduğu bulunmuştur. Cieślak P ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, PTX3'ün SLE'de vasküler hasarın bir belirteci olarak kullanılabilirliği araştırılmış ve SLE hastalarındaki PTX3 konsantrasyonları, vasküler endotel aktivasyonunun/işlev bozukluğunun bir göstergesi olarak hizmet edebileceği savunulmuştur.<sup>23</sup> PTX3'ün cSLE'de önemli bir mediatör olup olmadığını ve hastalığın seyri sırasında aktif vaskülitte işaret edip etmediğini belirlemeyi amaçlayan başka bir çalışmada; serum PTX3 seviyeleri ile hastalık aktivitesi, hasar, klinik özellikler, laboratuvar parametreleri ve ilaçların ilişkisi araştırılmıştır ve sağlıklı kontrollere kıyasla PTX3 düzeylerinin arttığı bulunmuştur. Klinik açıdan bakıldığında, serum PTX3 seviyeleri sadece aktif vaskülit, Raynaud fenomeni ve mukokutanöz bulguları olan hastalarda daha yüksek bulunmuştur.<sup>24</sup>

Huang XL ve arkadaşlarının yaptığı meta-analizde, otoimmün hastalıklarda ve sağlıklı kontrollerde PTX3'ün serum/plazma düzeyleri karşılaştırılmış ve PTX3'ün düzeylerinin otoimmün hastalıklarla ilişkili olup olmadığı araştırılmıştır. Farklı sayıda SLE, ankilozan spondilit (AS), romatoid artrit (RA), sistemik skleroz (SSc) ve multipl skleroz (MS) çalışmaları olmak üzere toplam 20 araştırma incelenmiş ve otoimmün hastalıklarda serum/plazma PTX3 seviyelerinin normal kontrollerden önemli ölçüde yüksek olduğunu ortaya koyulmuştur.<sup>25</sup> Mevcut bir başka meta-analizde, SLE hastalarında, PTX3 seviyeleri araştırılmış ve SLE hastalarının, kontrollerden önemli ölçüde daha yüksek PTX3 seviyelerine sahip olduğu belirtilmiştir.<sup>26</sup>

## Sonuç

CRP, sistemik inflamatuvar yanıtların bir sonucu olarak üretildiğinden tipik bir akut faz biyobelirteçidir. Tersine, PTX3, gen organizasyonu, protein oligomerizasyonu ve ekspresyon paterni için CRP'den farklı olarak erken ve yerel bir akut faz biyobelirteç olmasıyla ayırt edilir. Konak savunmasındaki bu "yin-yang" davranışı muhtemelen PTX3'ün çok işlevli özelliklerinden kaynaklanmaktadır.<sup>27</sup>

SLE, farklı doku ve organ tutulumları olan ve buna bağlı olarak farklı klinik belirtilere yol açan bir hastalıktır. Hastalık aktivitesiyle PTX3 konsantrasyonlarının arttığı ve hatta PTX3'ün bir alevlenme belirteci olduğu öngörülmektedir. Diğer çalışmalardan farklı olarak, bu çalışmada, CRP düzeylerindeki artışın da, hastalık aktivitesiyle ilişkili olabileceği düşünüldü.

Sonuç olarak, SLE ile ilişkilendirilmiş genetik yatkınlık, doku ve organ tutulumları ve hastalığın şiddeti ve aktifliğine göre gruplandırma yaparak yapılacak ileri çalışmalar ile desteklendiğinde, SLE hastalarının takibinde PTX3'ün rutin bir parametre olarak bakılmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

**Etik Standartlara Uygunluk**

Çalışma Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 04/12/2019 tarih ve 2019/529 kararı ile onaylandı ve çalışmaya dahil edilen bütün bireyler çalışma hakkında bilgilendirilerek yazılı onayları alındı.

**Çıkar Çatışması**

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

**Finansal Destek**

Bu çalışma BAP 2020-1-TP3-4072 kodlu proje olarak Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

**Yazar Katkısı**

SA: Örneklerin toplanması ve biyokimyasal analiz; SB: Biyokimyasal analiz; MT: İstatistiksel analiz; NO: Çalışma grubunun oluşturulması ve örnek toplama; LT: Sonuçların değerlendirilmesi. Tüm yazarlar yazım aşamasında katkıda bulunmuştur.






**Kaynaklar**

- Doria A, Iaccarino L, Ghirardello A, et al. Long-term prognosis and causes of death in systemic lupus erythematosus. *Am J Med.* 2006;119:1497-9. doi:10.1016/j.amjmed.2005.11.034
- Hahn BH, Kelly WN, Harris ED, et al. Systemic lupus erythematosus and related syndromes In Text-book of Rheumatology WB Saunders Company; 1997:1015-1056.
- Petri M. Epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2002;16:847-858. doi:10.1053/berh.2002.0259
- Graham RR, Kozyrev SV, Baechler EC, et al. A common haplotype of interferon regulatory factor 5 (IRF5) regulates splicing and expression and is associated with increased risk of systemic lupus erythematosus. *Nat Genet.* 2006;38:550-555. doi:10.1038/ng1782
- Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2008;358:929-939. doi:10.1056/NEJMra071297
- Fortuna G, Brennan MT. Systemic lupus erythematosus: epidemiology, pathophysiology, manifestations, and management. *Dental Clinics.* 2013;57(4):631-655. doi:10.1016/j.cden.2013.06.003
- Garlanda C, Bottazzi B, Bastone A, Mantovani A. Pentraxins at the crossroads between innate immunity, inflammation, matrix deposition, and female fertility. *Annual Review of Immunology.* 2005;23:337-366. doi:10.1146/annurev.immunol.23.021704.115756
- Pepys MB, Hirschfield G. C-Reactive Protein: A Critical Update. *Journal of Clinical Investigation.* 2003;111(12):1805-1812. doi:10.1172/JCI18921
- Lu J, Marnell LL, Marjon KD, Mold C, Du Clos TW, Sun PD. Structural recognition and functional activation of fcγr by innate pentraxins. *Nature.* 2008;456(7224):989-992. doi:10.1038/nature07468
- Gaitonde S, Samols D, Kushner I. C-reactive protein and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2008;59:1814-1820. doi:10.1002/art.24316
- Morrow WJ, Isenberg DA, Parry HF, Snaith ML. C-reactive protein in sera from patients with systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* 1981;8:599-604. PMID: 7299761
- Lu J, Marnell LL, Marjon KD, Mold C, Du Clos TW, Sun PD. Structural recognition and functional activation of FcγR by innate pentraxins. *Nature.* 2008;456(7224):989-92. doi:10.1038/nature07468
- Ganrot PO, Kindmark CO. C-reactive protein--a phagocytosis-promoting factor. *Scand J Clin Lab Invest.* 196;24(3):215-9. doi:10.3109/00365516909080155
- Mortensen RF, Osmand AP, Lint TF, Gewurz H. Interaction of C-reactive protein with lymphocytes and monocytes: complement-dependent adherence and phagocytosis. *J Immunol.* 1976;117(3):774-81. doi:10.4049/jimmunol.117.3.774
- Gaitonde S, Samols D, Kushner I. C-reactive protein and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Care & Research.* 2008;59(12):1814-1820. doi:10.1002/art.24316
- Eloranta ML, Rönnblom L. Cause and consequences of the activated type I interferon system in SLE. *J. Mol. Med.* 2016;94:1103-1110. doi:10.1007/s00109-016-1421-4
- de Weerd NA, Nguyen T. The interferons and their receptors--distribution and regulation. *Immunol Cell Biol.* 2012;90:483-491. doi:10.1038/icb.2012.9
- Enocsson H, Sjöwall C, Skogh T, Eloranta ML, Rönnblom L, Wetterö J. Interferon-alpha mediates suppression of C-reactive protein: Explanation for muted C-reactive protein response in lupus flares? *Arthritis Rheum.* 2009;60:3755-3760. doi:10.1002/art.25042
- Enocsson H, Karlsson J, Li HY, et al. The complex role of C-reactive protein in systemic lupus erythematosus. *Journal of Clinical Medicine.* 2021;10(24):5837. doi:10.3390/jcm10245837
- Suh CH, Chun HY, Ye YM, Park HS. (2006). Unresponsiveness of C-reactive protein in the non-infectious inflammation of systemic lupus erythematosus is associated with interleukin 6. *Clinical Immunology.* 2006;119(3):291-6. doi:10.1016/j.clim.2005.11.006
- Ter Borg EJ, Horst G, Limburg PC, Van Rijswijk MH, Kallenberg CG. C-reactive protein levels during disease exacerbations and infections in systemic lupus erythematosus: a prospective longitudinal study. *The Journal of Rheumatology.* 1990;17(12):1642-1648. PMID: 2084238
- Cieřlik P, Hrycek A. Long pentraxin 3 (PTX3) in the light of its structure, mechanism of action and clinical implications. *Autoimmunity.* 2012;45(2):119-128. doi:10.3109/08916934.2011.611549
- Cieřlik P, Hrycek A. Pentraxin 3 as a biomarker of local inflammatory response to vascular injury in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity.* 2015;48(4):242-250. doi:10.3109/08916934.2014.983264
- Sahin S, Adrovic A, Barut K, et al. Pentraxin-3 levels are associated with vasculitis and disease activity in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2017;26(10):1089-1094. doi:10.1177/0961203317699
- Huang XL, Zhang L, Duan Y, Wang YJ, Wang J. Association of pentraxin 3 with autoimmune diseases: a systematic review and meta-analysis. *Archives of Medical Research.* 2016;47(3):223-231. doi:10.1016/j.arcmed.2016.05.006
- Wu Q, Guan SY, Dan YL, et al. Circulating pentraxin-3 levels in patients with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Biomarkers in Medicine.* 2019;13(16):1417-1427. doi:10.2217/bmm-2019-0161
- Daigo K, Mantovani A, Bottazzi B. The yin-yang of long pentraxin PTX3 in inflammation and immunity. *Immunology Letters.* 2014;161(1):38-43. doi:10.1016/j.imlet.2014.04.012

## Araştırma Makalesi | Research Article

# ACİL SERVİSE BAŞVURAN HASTALARDA VENÖZ KAN GAZI PARAMETRELERİNİN GÜVENİLİRLİĞİNİN RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

## RETROSPECTIVE EVALUATION OF THE RELIABILITY OF VENOUS BLOOD GAS PARAMETERS IN PATIENTS ADMITTED TO THE EMERGENCY DEPARTMENT

✉  Enver Özçete<sup>1\*</sup>,  İlhan Uz<sup>1</sup>,  Gamze Tüzer<sup>1</sup>,  Şahin Sağman<sup>1</sup>,  Nurali Lomanov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.



### Öz

**Amaç:** Çalışmamızda venöz kan gazı analizi parametrelerinin güvenilir olup olmadığını bulmayı amaçladık.

**Yöntem:** Acil servisimize 01.10.2021- 31.03.2022 tarihleri arasında başvuran 18 yaş üstü, hastalardan istenen kan tetkikleriyle eş zamanlı venöz kan gazı alınan hastalar çalışmaya alındı. Hastalardan alınan kan biyokimyasal tetkiklerinden (potasyum, sodyum, hemoglobin, hematokrit ve kan glukoz düzeyi) ve eş zamanlı alınan venöz kan gazında; Ph, potasyum, sodyum, hemoglobin, hematokrit ve kan glukoz düzeyi hasta alım formuna işlendi. Her parametre için Pearson korelasyon katsayıları hesaplandı; r 0,8 değeri güçlü bir korelasyon olarak kabul edildi. Merkezi biyokimya laboratuvarı oto analizörü ve venöz kan gazı analizi sonuçları arasındaki uyumu değerlendirmek için %95 güven aralığı (CI) uyum sınırları olan bir Bland-Altman testi kullanıldı.

**Bulgular:** Acil servise başvuran ve venöz kan gazı alınan 933 hastanın sonuçları incelendi ve 582 hasta çalışmaya alındı. Venöz kan gazı ve merkezi laboratuvar sonuçları arasındaki uyum değerlendirildiğinde, ortalama farklar; glukoz için  $5,5 \pm 22$  mg/dL, hemoglobin için  $0,4 \pm 1$  g/dL, hematokrit için  $1,5 \pm 3,8$  %, Potasyum için  $-0,2 \pm 0,46$  mmol/L ve Sodyum için  $3,2 \pm 4,9$  mmol/L bulundu. Bland-Altman analizine göre klinik kullanım için potasyum, hemoglobin ve hematokrit ölçümleri için kabul edilebilir uyum olmasına rağmen, glukoz ve sodyum ölçümleri için zayıf bir uyum olduğu bulundu.

**Sonuç:** Uyum limitleri dikkate alındığında potasyum, hemoglobin ve hematokrit değerlerinin kabul edilebilir, glukoz ve sodyum değerleri kabul edilebilir değildi. Klinisyenlerin venöz kan gazı sonuçlarını kullanması gerektiğinde kısıtlılıkların farkında olmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Venöz kan gazı, laboratuvar, acil servis

### ABSTRACT

**Objective:** In our study, we aimed to find out whether the parameters of venous blood gas analysis are reliable.

**Method:** Patients over the age of 18 years who presented to our emergency department between 01.10.2021 and 31.03.2022 and whose venous blood gas was taken simultaneously with the blood tests requested from the patients were included in the study.

Blood biochemical tests (potassium, sodium, hemoglobin, hematocrit and blood glucose levels) and venous blood gas obtained simultaneously; Ph, potassium, sodium, hemoglobin, hematocrit and blood glucose levels were recorded on the patient intake form. Pearson correlation coefficients were calculated for each parameter; r 0.8 was considered a strong correlation. A Bland-Altman test with 95% confidence interval (CI) limits of agreement was used to assess the agreement between the central biochemistry laboratory auto analyzer and venous blood gas analysis results.

**Results:** The results of 933 patients who presented to the emergency department and had venous blood gas analysis were analyzed and 582 patients were included in the study. When the agreement between venous blood gas and central laboratory results was evaluated, the mean differences were  $5.5 \pm 22$  mg/dL for glucose,  $0.4 \pm 1$  g/dL for hemoglobin,  $1.5 \pm 3.8$  % for hematocrit,  $-0.2 \pm 0.46$  mmol/L for potassium and  $3.2 \pm 4.9$  mmol/L for sodium. According to Bland-Altman analysis, there was acceptable agreement for potassium, hemoglobin and hematocrit measurements for clinical use, but poor agreement for glucose and sodium measurements.

**Conclusion:** Considering the limits of agreement, potassium, hemoglobin and hematocrit values were acceptable, while glucose and sodium values were not acceptable. Clinicians should be aware of the limitations when using venous blood gas results.

**Keywords:** Venous blood gas, laboratory, emergency department

## Giriş

Laboratuvar sonuçları, acil serviste (AS) hastaların tanı ve yönetiminde büyük önem taşımaktadır. Temel laboratuvar hizmetleri acil serviste kalış süresini uzatabilir; ayrıca geciken sonuçlar hasta bakım kalitesini düşürebilir.<sup>1,2</sup>

Kan gazı analizörleri neredeyse tüm acil servislerde kullanılmaktadır ve kan gazı analizi (KGA) birçok endikasyon için sıkça istenen bir testtir. Kan gazı analizörleri pH ve kan gazlarına ek olarak hemoglobin (hb), hematokrit (hct), glukoz, sodyum (Na), potasyum (K) ve Laktat gibi parametreleri ölçebilir. Kan gazı analizi, temel laboratuvar analizlerine kıyasla daha hızlı olma avantajına sahiptir.<sup>3</sup>

Kan gazı analizi sonuçlarının sodyum, potasyum, hemoglobin, hematokrit ve glukoz değerleri için güvenilirliğini değerlendiren çalışmalar vardır. Ancak KGA'nın güvenilirliğine ilişkin literatür tartışmalıdır. KGA ve merkezi biyokimya laboratuvarı oto analizörü (LOA) sonuçları arasında ya güçlü korelasyonlar ya da önemli farklılıklar olduğunu bildiren çalışmalar vardır.<sup>4-7</sup>

Çalışmamızda amacımız acil servise başvuran hastalarda venöz KGA parametrelerinin güvenilir olup olmadığını belirlemektir.

## Yöntem

Araştırmamız tek merkezli, retrospektif olarak yapıldı. Etik kurul onayı Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı (protokol kayıt numarası 02.01.2023-22-12.2T/10). Helsinki İlkeler Deklarasyonuna uyularak çalışma gerçekleştirildi.

Acil servisimize 01.10.2021- 31.03.2022 tarihleri arasında başvuran, 18 yaş üstü, kan tetkikleriyle eş zamanlı venöz kan gazı alınan hastalar çalışmaya alındı. Eş zamanlı venöz kan gazı alınmayan, 18 yaş altı ve verilerinde eksik-hatalı ve hemolizli olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Hastaların; demografik verileri, vital bulguları (kan basıncı, nabız, periferik SO<sub>2</sub>), ek hastalıkları, son tanısı hasta alım formuna kayıt edildi.

Hastalardan alınan kan biyokimyasal tetkiklerinden (Na, K, hb, hct ve kan glukoz düzeyi) ve eş zamanlı alınan venöz kan gazında; Ph, Na, K, hb, hct, ve kan glukoz düzeyi hasta alım formuna işlendi.

Venöz kan gazı örneklerini almak ve taşımak için özel heparinize kan gazı enjektörleri kullanıldı. Venöz KGA acil servis içinde bulunan 4 saat arayla kalibre edilen (Radiometer ABL 700 Kan Gazı Analiz Cihazı, Radiometer Medical ApS, Brønshøj, Danimarka) cihazı ile değerlendirildi. Kan tetkikleri pnömatik bir sistemle laboratuvara aktarıldı ve merkezi biyokimya LOA'de değerlendirildi.

Veri dağılımının normalliği Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendi. Normal dağılan veriler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilirken, geri kalanlar medyan çeyrekler arası değerler (%25-%75) ve yüzde olarak ifade edildi. Her parametre için Pearson korelasyon katsayıları hesaplandı; r 0,8 değeri güçlü bir korelasyon olarak kabul edildi. LOA ve KGA sonuçları arasındaki uyumu

değerlendirmek için %95 güven aralığı (CI) uyum sınırları olan bir Bland-Altman testi kullanıldı. İstatistiksel analiz için IBM SPSS Version 25.0 istatistik paket programı kullanıldı.

## Bulgular

Acil servise başvuran ve venöz kan gazı alınan 933 hastanın sonuçları incelendi. Hastalardan; 142'sinin bilgileri eksik, 105'inin tetkik sonucu hemolizli, 104'ünün venöz kan gazı laboratuvar tetkikleriyle farklı zamanlarda alınmış olması nedenleriyle çalışma dışı bırakıldı. Sonuç olarak çalışmamızda 582 hastanın sonuçları değerlendirildi.

Hastaların yaş ortalaması 60,4±18,7 olup, %51,7'si kadındı. Tablo 1'de hastaların klinik ve demografik özellikleri belirtildi.

**Tablo 1.** Hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri

Yaş/yıl ortalaması	60,4±18,7
Sistolik kan basıncı ortalaması/mmhg	135±25,4
Diastolik kan basıncı ortalaması/mmhg	78,5±15,3
Nabız ortalaması/dakika	91,1±17,6
Periferik Oksijen Saturasyonu ortalaması/%	97,2±2,2
<b>Cinsiyet</b>	
Erkek	281 (%48,3)
Kadın	301 (%51,7)
<b>Ek hastalıklar</b>	
Hipertansiyon	211 (%36,3)
Diyabetes mellitus	178 (%30,6)
Ek hastalık yok	113 (%19,4)
Malignite	88 (%15,1)
Kalp yetmezliği	38 (%6,5)
Kronik böbrek yetmezliği	29 (%4,9)
Diğer	54 (%9,3)
<b>Ph grup</b>	
Normal (7,35-7,45)	395 (%67,9)
Asidoz <7,35	66 (%11,3)
Alkoloz >7,45	121 (%20,8)
<b>Hastaların tanıları</b>	
Enfeksiyon hastalıkları	127 (%21,8)
Akut karın ağrısı	101 (%17,4)
Akut böbrek yetmezliği	50 (%8,6)
Akut gastro enterit	34 (% 5,8)
Gastro intestinal kanama	32 (%5,5)
Diyabetik aciller	24 (%4,1)
Yumuşak doku problemi	24 (%4,1)
Akut koroner sendrom	22 (% 3,8)
Malignite	22 (%3,8)
Baş dönmesi	21 (%3,6)
İnme	18 (%3,1)
Senkop	17 (%2,9)
Baş ağrısı	16 (%2,8)
İntoksikasyon	13 (%2,2)
Anemi	12 (% 2,1)
Nöbet	10 (%1,7)
Diğer	39 (%6,7)

Hemoglobin (hb), hematokrit (hct)

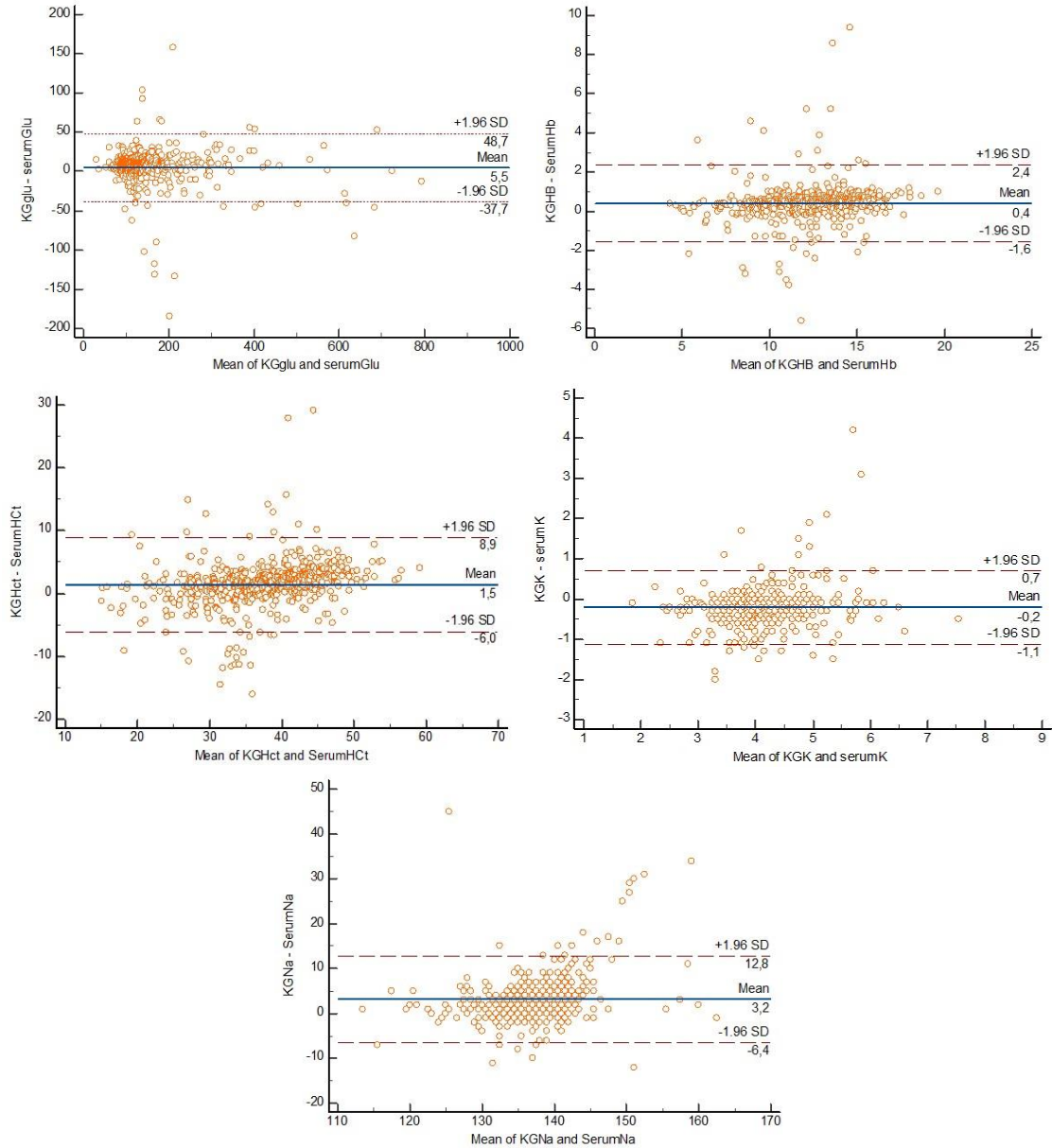
Hastaların laboratuvar ve venöz kan gazı sonuçları arasında fark vardır. Venöz kan gazı ve merkezi laboratuvar sonuçları arasındaki korelasyonlar değerlendirildiğinde glukoz düzeyi için ( $p<0,001$ ,  $r=0,91$ ), hb için ( $p<0,001$ ,  $r=0,93$ ), hct için ( $p<0,001$ ,  $r=0,89$ ) ve K için ( $p<0,001$ ,  $r=0,80$ ) güçlü bir korelasyon olduğu görüldü. Na için ise ( $p<0,001$ ,  $r=0,69$ ) zayıf bir korelasyon vardı (Tablo 2).

Venöz KGA ve merkezi LOA sonuçları arasındaki uyum değerlendirildiğinde, ortalama farklar; glukoz için  $5,5\pm 22$ , hb için  $0,4\pm 1$  g/dL, hct için  $1,5\pm 3,8$  %, K için  $-0,2\pm 0,46$  mmol/L ve Na için  $3,2\pm 4,9$  mmol/L bulundu. Bland-Altman analizine göre klinik kullanım için K, hb ve hct ölçümleri için kabul edilebilir uyum olmasına rağmen, glukoz ve Na ölçümleri için zayıf bir uyum olduğu bulundu (Şekil 1).

**Tablo 2.** Hastaların venöz kan gazı ve rutin laboratuvar sonuçlarının karşılaştırılması ve korelasyon katsayıları

	Venöz KGA sonucu	LOA sonucu	P	r
Glukoz (mg/dl)	126 (107-168)	122 (100-163)	<0,001	0,91
Sodyum (mmol/L)	140 (136-142)	137 (134-139)	<0,001	0,69
Potasyum (mmol/L)	4 (3,6-4,4)	4,2 (3,8-4,6)	<0,001	0,80
Hemoglobin (g/dl)	$12,4 \pm 2,7$	$12 \pm 2,6$	<0,001	0,93
Hematokrit (%)	$38,1 \pm 8$	$36,6 \pm 7,2$	<0,001	0,89

r: Pearson korelasyon katsayısı, KGA: Kan Gazı Analizi, LOA: Laboratuvarı Oto Analizörü. Parantez içinde ortanca değerlerin %25-%75 çeyreklik değerleri yazıldı.



KG: Kan Gazı, Hb:Hemoglobin, Hct: Hematokrit, Glu:Glukoz, Na:Sodyum , K:Potasyum

**Şekil 1.** Bland-Altman analizlerine göre venöz kan gazındaki sodyum, potasyum, hemoglobin, hematokrit ve glukoz düzeylerinin ve rutin laboratuvar sonuçlarının ortalamaları ve ortalama farkları



## Tartışma

Sodyum, K, hb, hct ve glukoz seviyeleri gibi laboratuvar sonuçları, hekimlere hastaların durumu hakkında değerli bilgiler verir ve doğru teşhis için gereklidir. KGA'nin acil servis içindeki cihaz ile yapılması LOA göre laboratuvar sonuçlarına hızlı bir şekilde ulaşmamıza olanak sağlar. Şiddetli hiperkalemi klinik bir acil durum olarak kabul edildiğinden, acil tıbbi müdahalelere ihtiyaç vardır.<sup>8</sup> Glukoz bozuklukları, özellikle hipoglisemi de önemli morbidite, yaşam kalitesinde azalma ve ölüm riski ile ilişkilidir.<sup>9,10</sup> Kanamalı hastalarda hb ve htc seviyelerinin erken değerlendirilmesi çok önemlidir çünkü mevcut kılavuzlar, tespit edilen düşük başlangıç hb/htc değerlerinin ciddi kanama için bir göstere olabileceğini belirtmektedir.<sup>11</sup> Literatür incelendiğinde Na seviyelerinin KGA ve LOA arasında uyumun kabul edilebilir olmadığı vurgulanmıştır.<sup>5-7,12-14</sup> Üç çalışmada Na açısından bu durumun aksi savunulmuştur.<sup>4,15,16</sup> Solak tarafından yapılan çalışma diğer çalışmalara kıyasla en büyük örneklem büyüklüğüne sahipti (n=2557 hastanın laboratuvar sonuçları) ancak sadece KGA ve LOA ile ölçülen sodyum seviyelerini içermiştir. Yazar, LOA sonuçlarına göre kan çiftlerini hiponatremi, eunatremi ve hipernatremi olarak sınıflandırmıştır. Çalışma sonuçları, tüm Na gruplarında KGA ve LOA sonuçları arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermiştir.<sup>13</sup> Çalışmamız da Na seviyelerinde zayıf korelasyon ve uyum olduğu bulundu. Bu nedenle acil serviste Na seviyelerinin tespiti ve tedavi kararın da venöz KGA kullanılmamalıdır. Bir çok çalışmada KGA ve LOA arasında K seviyeleri açısından kabul edilebilir uyum olduğu belirtilmiştir.<sup>4-6,12,14,15</sup> Gavala ve arkadaşları KGA sonuçlarının LOA değerlerinden önemli ölçüde daha düşük olduğunu ve incelenen tüm parametrelerin birbirlerinin yerine kullanılmamasını önermişlerdir.<sup>17</sup> Bizim çalışmamızda da K'un güçlü korelasyonda ve kabul edilebilir uyumda olduğu bulundu. Acil servise başvuran ve venöz KGA'de K patolojisi tespit edilen hastalarda erken tedavi başlanabilir. Bu kararı almadan önce hastanın kliniği ve EKG bulgularının beraber değerlendirilmesi gerektiğini düşünüyoruz. Hemogloblin ve hct değerlerinin venöz KGA ile LOA arasında çalışmamızda yüksek korelasyon olup kanamanın ya da aneminin ön tanısının da kabul edilebilir uyumda olduğunu düşünüyoruz. Daha önce yapılan çalışmalarda hb ve hct değerleri arasında güçlü ya da zayıf korelasyonlar bildirilmiştir.<sup>4,7,14,16</sup> Zang ve arkadaşlarının<sup>16</sup> yaptığı çalışmada hb ve hct in güvenilir olduğu vurgulanmasına rağmen diğer çalışmalarda uyum sınırlarının acil serviste klinik uygulamada kullanım için çok geniş olduğu sonucu çıkarılmıştır.<sup>4,7,14</sup> Venöz KGA ile LOA arasında glukoz değerleri açısından düşük ya da yüksek korelasyon ve uyum bildirilmiştir.<sup>4,6</sup> Çalışmamızda glukoz güçlü korelasyonda ve zayıf uyumda idi. Bu nedenle klinik kullanımda yararının düşük olduğunu düşünüyoruz. Kan gazı analizinde merkezler arası farklı sonuçların oluşmasında uygun enjektör kullanımı, numunenin uygun şekilde transferi gibi preanalitik hatalar ve cihaz kalibrasyonu gibi nedenler göz önünde bulundurulmalıdır.

Standardize edilmiş uygulamalar ve eğitimle sonuçların korelasyon ve uyumu artırılabilir.<sup>18</sup> Bu nedenler de göz önüne alınarak hastanın kliniğine uyumlu KGA sonuçları erken tanı ve tedavi kararında klinisyene yardımcı olabilir.

## Sonuç

Sonuç olarak çalışmamız K, glukoz, hb ve hct değerleri için venöz KGA ile LOA arasında güçlü korelasyonlar olduğunu ortaya koydu; ancak Na değeri için güçlü bir korelasyon yoktu. Uyum limitleri dikkate alındığında K, hb ve hct değerlerinin kabul edilebilir, glukoz ve Na değerleri kabul edilebilir değildi. Klinisyenlerin venöz kan gazı sonuçlarını kullanması gerektiğinde kısıtlılıkların farkında olması, kesin karar almadan önce hastanın klinik bulgularına dikkat etmesi gerekir.

## Kısıtlılıklar

Çalışmamızın kısıtlılığı tek merkezli olması ve hastaların verilerinin retrospektif olarak incelenmesiydi. Ayrıca preanalitik ve cihaz kalibrasyonu kaynaklı problemler yaşanmış olabilir.

## Etik Standartlara Uygunluk

Bu çalışma Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı (protokol kayıt numarası 02.01.2023-22-12.2T/10).

## Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemiştir.

## Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemiştir.

## Yazar Katkısı

EÖ, İU: Fikir/Hipotez; EÖ, İU, GT, ŞS, NL: Tasarım; GT, ŞS, NL: Veri toplama/Veri işleme; EÖ, İU, GT, ŞS, NL: Veri analizi; EÖ, İU: Makalenin hazırlanması.

## Kaynaklar

1. Holland LL, Smith LL, Blick KE. Total laboratory automation can help eliminate the laboratory as a factor in emergency department length of stay. *Am J Clin Pathol.* 2006;125(5):765-70.
2. Blick KE. Providing critical laboratory results on time, every time to help reduce emergency department length of stay: how our laboratory achieved a Six Sigma level of performance. *Am J Clin Pathol.* 2013;140(2):193-202.
3. Kapoor D, Srivastava M, Singh P. Point of care blood gases with electrolytes and lactates in adult emergencies. *Int J Crit Illn Inj Sci.* 2014;4(3):216-22.
4. Uysal E, Acar YA, Kutur A, Cevik E, Salman N, Tezel O. How reliable are electrolyte and metabolite results measured by a blood gas analyzer in the ED? *Am J Emerg Med.* 2016 Mar;34(3):419-24.
5. Jain A, Subhan I, Joshi M. Comparison of the point-of-care blood gas analyzer versus the laboratory auto-analyzer for the measurement of electrolytes. *Int J Emerg Med.* 2009;2(2):117-20.



6. Uyanik M, Sertoglu E, Kayadibi H, et al. Comparison of blood gas, electrolyte and metabolite results measured with two different blood gas analyzers and a core laboratory analyzer. *Scand J Clin Lab Invest*. 2015 Apr;75(2):97-105.
7. Altunok İ, Aksel G, Eroğlu SE. Correlation between sodium, potassium, hemoglobin, hematocrit, and glucose values as measured by a laboratory autoanalyzer and a blood gas analyzer. *Am J Emerg Med*. 2019 Jun;37(6):1048-1053.
8. Kovcsdy CP. Updates in hyperkalemia: outcomes and therapeutic strategies. *Rev Endocr Metab Disord*. 2017;18(1):41-7.
9. Amiel SA, Dixon T, Mann R, Jameson K. Hypoglycaemia in Type 2 diabetes. *Diabet Med*. 2008 Mar;25(3):245-54.
10. Clarke W, Jones T, Rewers A, Dunger D, Klingensmith GJ. Assessment and management of hypoglycemia in children and adolescents with diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2009 Sep;10 Suppl 12:134-45.
11. Rossaint R, Bouillon B, Cerny V, et al. The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: fourth edition. *Crit Care*. 2016 Apr 12;20:100.
12. Leino A, Kurvinen K. Interchangeability of blood gas, electrolyte and metabolite results measured with point-of-care, blood gas and core laboratory analyzers. *Clin Chem Lab Med*. 2011;49:1187-91.
13. Solak Y. Comparison of serum sodium levels measured by blood gas analyzer and biochemistry autoanalyzer in patients with hyponatremia, eunatremia, and hypernatremia. *Am J Emerg Med*. 2016 Aug;34(8):1473-9.
14. Çorbacioğlu Ş, Emektar E, Çevik Y, et al. Comparison of Hgb, Htc, Na+, and K+ Levels Measured by Blood Gases Analyzer and Laboratory Auto-Analyzer in Different pH Stages. *Eurasian Journal of Emergency Medicine*. 2018;17(4): 159-164. doi:10.5152/eajem.2018.07078
15. Mirzazadeh M, Morovat A, James T, Smith I, Kirby J, Shine B. Point-of-care testing of electrolytes and calcium using blood gas analysers: it is time we trusted the results. *Emerg Med J*. 2016 Mar;33(3):181-6.
16. Zhang JB, Lin J, Zhao XD. Analysis of bias in measurements of potassium, sodium and hemoglobin by an emergency department-based blood gas analyzer relative to hospital laboratory autoanalyzer results. *PLoS One*. 2015;10:e0122383.
17. Gavala A, Myrianthefs P. Comparison of point-of-care versus central laboratory measurement of hematocrit, hemoglobin, and electrolyte concentrations. *Heart Lung*. 2017 Jul-Aug;46(4):246-50.
18. Ehrmeyer S, Laessig R. Point-of-care testing, medical error, and patient safety: a 2007 assessment. 2007;45(6):766-773.

## Araştırma Makalesi | Research Article

# ESANSİYEL TROMBOSİTOZLU HASTALARDA KALSİYUM, FOSFOR VE ARSENİK ELEMENTLERİNİN ANALİZİ

## ANALYSIS OF CALCIUM, PHOSPHORUS AND ARSENIC IN ESSENTIAL THROMBOCYTOSIS

✉  Denizhan Karış<sup>1\*</sup>,  Tuba Özkan Tekin<sup>2</sup>,  Fatma Ateş<sup>3</sup>,  Güven Çetin<sup>4</sup>,  Alev Meltem Ercan<sup>5</sup>

<sup>1</sup>İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye. <sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye. <sup>3</sup>İstanbul Beykent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye. <sup>4</sup>Bezmialem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye. <sup>5</sup>İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.



### Öz

**Amaç:** Esansiyel trombositoz, trombositlerde ciddi artış ve fonksiyon bozukluğuna sebep olan kök hücre kökenli nadir bir hastalıktır. Trombositlerin fonksiyonlarındaki bozulma ve artan aktiviteleri sonucunda, yapılarında bulunan granüllerden özgün moleküller salgılanmaktadır. Esansiyel trombositozda görülen hiperkalsemi, sayıca artan ve aktiviteleri artan trombositlerden kalsiyum salgılanmasına bağlıdır. Ayrıca, esansiyel trombositoz hastalarında artan serum fosfor düzeyi pıhtılaşma sırasında hücre içinden hücre dışına salınmasıyla ilişkili olabilir. Toksik bir element olan arsenik, trombositlerin yapısal değişikliklerine bağlı olarak ateroskleroza yol açan lipit peroksidasyonunu ve oksidatif stresi tetiklemektedir. Bu çalışmanın amacı serum kalsiyum, fosfor ve arsenik düzeylerindeki değişimlerin esansiyel trombositozun patogenezi ve prognozuna etkilerini araştırmaktır.

**Yöntem:** Çalışma grupları esansiyel trombositoz tanısı alan hastalar (Grup-1, n=40), demir eksikliği anemisine bağlı reaktif trombositoz hastaları (Grup-2, n=40) ve sağlıklı kontroller (Grup-3, n=40) olarak oluşturuldu. Serum kalsiyum, fosfor ve arsenik düzeyleri indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrofotometresi kullanılarak analiz edildi.

**Bulgular:** Grup-1'de serum kalsiyum düzeyleri Grup-2 ve Grup-3'e göre anlamlı derecede yüksek olarak belirlendi (sırasıyla; p=0,001, p=0,006). Grup-1 ve Grup-2'nin serum arsenik düzeyleri Grup-3'ten yüksekti (p=0,000).

**Sonuç:** Bu çalışma, değişen yapı ve fonksiyonlarıyla trombositlerin aktivitelerindeki artışı ortaya çıkardı. Esansiyel trombositoz grubunda serum kalsiyum düzeylerinin yüksek olması, aktif trombositlerden hücre dışına salgılanan kalsiyuma bağlı olabileceği düşüncesindedir. Benzer şekilde, trombositoz gruplarında serum arsenik düzeyindeki artış ise, trombosit membranındaki lipit peroksidasyona bağlı olarak oksidatif strese maruz kaldığının göstergesi olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Esansiyel trombositoz; kalsiyum; fosfor; arsenik

### ABSTRACT

**Objective:** Essential thrombocytosis is a rare clonal stem cell disease defined as increased number of thrombocytes with impaired functions. Thrombocytes become hyperactivated by means of their dysfunction and specific mediators are secreted from granules in their structure. Hypercalcemia observed in essential thrombocytosis is due to secretion of calcium from excessive number of thrombocytes with increased activity. Besides, essential thrombocytosis patients may have higher serum phosphorus because of its release from intracellular compartment during clotting. Arsenic, as a toxic element, induces atherosclerosis promoting lipid peroxidation and oxidative stress via morphological changes of thrombocytes. The aim of the present study was to investigate the effects of serum calcium, phosphorus and arsenic alterations in pathogenesis and prognosis of essential thrombocytosis.

**Methods:** Study groups were categorized as patients with essential thrombocytosis (Group-1, n=40), patients with reactive thrombocytosis secondary to iron deficiency anemia (Group-2, n=40) and healthy controls (Group-3, n=40). Serum calcium, phosphorus and arsenic levels were analyzed utilizing inductively coupled plasma emission spectrophotometer.

**Results:** Group-1 had significantly higher serum calcium levels compared with Group-2 and Group-3 (p=0.001, p=0.006, respectively). Serum arsenic levels in Group-1 and Group-2 were higher than Group-3 (p=0.000).

**Conclusion:** The present study concluded the hyperactivity of thrombocytes with their altered structure and functions. Higher serum calcium levels in essential thrombocytosis group might indicate the efflux of calcium from activated thrombocytes. Similarly, higher serum phosphorus levels in thrombocytosis groups may present the the oxidative stress due to lipid peroxidation.

**Keywords:** Essential thrombocytosis; calcium; phosphorus; arsenic

## Giriş

Trombositöz, trombositlerin normal değer aralığının (150 – 450 x 10<sup>3</sup>/µL) üst düzeyini aşması olarak tanımlanır.<sup>1,2</sup> Trombositöz sebepleri klonal, reaktif ve ailesel olmak üzere üç ana grupta sınıflandırılabilir.<sup>2,3</sup> Klonal trombositöz, esansiyel trombositöz (ET) ve polisitemia vera gibi miyeloproliferatif hastalıklarla (MPH) ilişkilidir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından nadir hastalıklar grubuna alınan ET, trombosit sayısındaki artış (> 450 x 10<sup>3</sup>/µL) ile gelişen izole trombositöz ve kemik iliğinde megakaryosit hiperplazisi olarak tanımlanır.<sup>1-3</sup> Türkiye’de ET insidansı ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır, ancak Aydoğan ve ark. Türkiye’de trombositöz etiyolojisinin %1,5 düzeyinde ET’a bağlı olduğu bildirilmişlerdir.<sup>4</sup> ET, yüksek tromboz ve hemoraji riski taşıdığından tanı ve tedavisi oldukça önemlidir.<sup>2</sup>

Reaktif trombositöz (RT), miyelodisplastik displaziler (MDS) veya kronik miyeloproliferatif patolojiler olmaksızın trombosit miktarındaki yükselmedir. Trombosit sayısı genel olarak 1.000 x 10<sup>3</sup>/µL’nin altında olduğu RT; MPH veya MDS tanısı olmayan, trombosit değeri normal aralıkta seyreden hastada, ancak medikal ya da cerrahi bir nedene bağlı olarak trombositlerin yükselmesidir. RT erişkinlerde kanama, akut ve sistemik enfeksiyon, anemi, inflamasyon ve neoplastik durumlarda görülmektedir.<sup>3</sup> Medikal ya da cerrahi neden ortadan kalktığı zaman trombositözün da normale dönmesi beklenir.<sup>5</sup>

Eser elementler yaşam için esansiyel inorganik elementlerdir. Fazla miktarlarda alındıklarında da vücut homeostazını bozarak toksik etki oluşturabilirler. Eser elementler metabolik fonksiyonlar için özgüldür ve bunların yerine benzer kimyasallar geçemez. Birçok çalışmada farklı hastalıklara bağlı olarak eser elementlerin homeostazının bozulduğu ve dolayısı ile çeşitli komplikasyonların geliştiği ileri sürülmektedir.<sup>6,7</sup>

Eser elementlerin anormal hücre çoğalması/neoplaziler ile ilişkisi tam olarak bilinmemektedir. Ancak bu inorganik elementlerin organizmada anabolik ve katabolik enzim etkilerini hızlandırarak veya yavaşlatarak hücrelerde birtakım bozukluklara sebep olduğu düşünülmektedir. Literatürde kanserli hastalarda serum ve tümör dokularının analizlerinde, kanser ile esansiyel elementler arasında bir ilişki olduğuna dair yapılan çalışmalar vardır.<sup>8,9</sup> Bazı hematolojik maligniteler ve lösemilerde de eser elementlerin düzeylerinin değiştiği bildirilse de, klonal trombosit artışı ile eser element ilişkisine dair henüz yeterli çalışma bulunmamaktadır.<sup>9</sup> Ancak bazı eser/toksik elementlerin normal regülasyonunun trombosit fonksiyonları ile ilişkisi ve trombosit zengin kan ürünlerindeki konsantrasyonuna dair çalışmalar yapılmıştır.<sup>10-12</sup>

İnsan vücudunda yüksek konsantrasyonda bulunan kalsiyum (Ca), hemostaz mekanizması, kas ve sinir hücrelerinin uyarılması ve hücre içi uyarıların düzenlenmesinde önemli role sahiptir.<sup>13</sup> Trombositlerin hemostazda oluşturduğu mekanizmalar trombosit adezyon ve agregasyonu, trombositlerin aktivasyonu, sekresyon ve prokoagülan aktiviteleridir. Normal hemostaz, ilk trombosit tıkaçının oluşumu ve ayrıca kan

pıhtılaşmasındaki çoğu olay için serbest iyonize Ca ve fibrinojen gerektirir.<sup>14-16</sup> Fosfor (P), vücutta etkin olan birçok organik/inorganik molekülün yapısında bulunur ve hücresel yapı ve fonksiyonda önemli bir rol oynar.<sup>17</sup>

Arsenik (As), çevrede özellikle su, toprak ve havada sıklıkla bulunan bir elementtir.<sup>18,19</sup> Arseniğin toksik etkisi, bileşiğın kimyasal formuna ve maruziyet süresine göre oluşturduğu oksidasyon sürecine bağlıdır. Arsenik metabolizmada reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini hızlandırarak oksidatif strese yol açmakta, DNA hasarına neden olmakta ve çeşitli kanser süreçlerinde rol almaktadır.<sup>20,21</sup> Diğer yandan, miyeloproliferatif hastalıklarda ve farklı kanser türlerinde tedavi amacıyla kullanıldığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır.<sup>22,23</sup>

ET’un patogenezi, prognoz ve komplikasyonları açısından kalsiyum, fosfor ve arseniğın etkileriyle ilgili literatür araştırmaları sınırlı sayıdadır. Bu çalışmanın temel amacı, klonal hücre fonksiyon bozukluğının neden olduğu esansiyel bir trombositöz modelinde serum kalsiyum, fosfor ve arsenik düzeylerindeki değişikliklerin fizyopatolojik etkilerini araştırmaktır.

## Yöntem

Bu çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’nun (04.06.2014; No: 71306642/050-01-04/141) onayı alınarak prospektif bir çalışma olarak planlandı. Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı Polikliniğında DSÖ tanı kriterlerine göre; ET tanısı alan ve hala takipte olan hasta grubunda (Grup-1) 40 kişi (25 kadın, 15 erkek), demir eksikliği anemisine sekonder RT tanısı olan hasta grubunda, (Grup-2) 40 kişi (27 kadın, 13 erkek) ve sağlıklı kontrol grubunda (Grup-3) 40 kişi (19 kadın, 21 erkek) çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya katılmak için hasta değerlendirme formu dolduran ve/veya yakınlarından onay alınan hastalardan rutin kontrolleri sırasında, uygun tüplere kan örnekleri alınarak 3000 rpm’de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen serum örnekleri Eppendorf tüplere alınarak ölçüm yapıncaya kadar -20°C derin dondurucuda bekletildi. Alınan numunelerin Ca, P ve As düzeyleri İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa / Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Eser Element Laboratuvarında indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrofotometresi (iCAP 6000 - Thermo) kullanılarak ölçüdü. Ölçüm günü derin dondurucudan çıkarılan serum örnekleri oda sıcaklığında çözdürüldü. Serum örnekleri iki kez distile edilen deiyonize su ile 1/10 oranında dilüe edildi. Ölçümü yapılacak her bir elementin standart stok solüsyonlarından (1000 µg/dL) standart çözeltileri birlikte hazırlandı. Bu standart çözeltiler ve kör çözeltileri olarak deiyonize su kullanılarak her bir element için kalibrasyon grafikleri çizildi.<sup>24</sup>

İstatistiksel olarak güç analizi değerlendirmesi yapılarak, çalışma gruplarının kişi sayısı ve yaş dağılımı özellikleri belirlendi. Yapılan güç analizi sonucunda %95 güven ve %90 güç değerlerine ulaşıldı. Buna göre, çalışma

gruplarının yaş aralığı 30-70 yaş olup, grupların 70'er kişiden oluşması gerektiği sonucuna varıldı.

Analizler sonunda elde edilen veriler, SPSS-17.0 (Statistical Package For Social Science) programı kullanılarak değerlendirildi. Grup dağılımının normallik denetlemesi Shapiro - Wilk Testi ile yapıldı. Dağılımın normal olduğu parametrelerde gruplar arası istatistiksel farkları ortaya çıkarmak üzere ANOVA kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametreler ise Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Verilerin birbirleriyle olan korelasyonları Pearson'un korelasyon testi ile hesaplandı.  $p < 0,05$  düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## Bulgular

Çalışmamız 81'i kadın, 49'u erkek olmak üzere 120 gönüllü kişi ile gerçekleştirildi. Çalışma gruplarına ait demografik bulgular Tablo 1'de verilmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Çalışma gruplarına ait demografik bulgular

Parametre	Grup-1 (n=40)	Grup-2 (n=40)	Grup-3 (n=40)
Yaş (yıl)	47 ± 10	44 ± 10	45 ± 7
Cinsiyet (K/E)	25 / 15	27 / 13	19 / 21
VKI (kg/m <sup>2</sup> )	26,12 ± 3,61	24,86 ± 4,62	27,02 ± 4,26

Çalışma gruplarına ait hemogram parametre değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Grup-1'in serum Ca değerleri, Grup-2 ve Grup-3'e göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek saptandı (sırasıyla;  $p = 0,001$ ;  $p = 0,006$ ). Serum P düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık tespit edilememiştir. Serum As düzeyleri ise Grup-1 ve Grup-2'de Grup-3'e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p = 0,000$ ). Tablo 3'te ET, RT ve SK grubunun serum element düzeyleri arasındaki ilişki gösterilmiştir (Tablo 3).

**Tablo 2.** Çalışma gruplarına ait hemogram parametreleri

Parametre	Grup-1 (n=40)	Grup-2 (n=40)	Grup-3 (n=40)
Hgb (g/dL)	12,45 ± 2,12	9,15 ± 1,43 a***	13,56 ± 1,19 b**, c***
Hct (%)	38,20 ± 5,76	30,72 ± 3,53 a***	41,32 ± 41,6 b*, c***
Eritrosit (x10 <sup>6</sup> /µL)	4,39 ± 1,12	4,22 ± 0,57	4,87 ± 0,53 b***, c***
MCV (fL)	91,92 ± 16,02	71,45 ± 8,42 a***	83,56 ± 17,12 b*, c***
MCH (pg)	29,30 ± 6,46	20,35 ± 3,81 a***	27,95 ± 5,6 c***
MCHC (g/dL)	32,20 ± 1,76	31,40 ± 1,81 a***	33,46 ± 1,21 b***, c***
RDW (%)	16,75 ± 3,56	18,22 ± 2,46 a***	15,76 ± 7,85 b**
Trombosit (x10 <sup>3</sup> /µL)	575,42 ± 200,26	486,76 ± 71,23 a*	240,45 ± 56,43 b***, c***
MPV (fL)	9,45 ± 0,92	7,85 ± 1,49 a***	8,32 ± 1,26 b***, c***
PDW (fL)	11,02 ± 2,69	16,90 ± 3,45 a***	14,36 ± 3,42 b***

Hgb, Hemoglobin; Hct, Hematokrit; MCV, Ortalama eritrosit hacmi; MCH, Ortalama eritrosit hemoglobini; MCHC, Ortalama korpüsküler hemoglobin konsantrasyonu; RDW, Kırmızı hücre dağılım genişliği; MPV, Ortalama trombosit hacmi; PDW, Trombosit dağılım genişliği.

a: Grup-1'in Grup-2 ve Grup-3 ile karşılaştırılması, b: Grup-1'in Grup-3 ile karşılaştırılması, c: Grup-2'nin Grup-3 ile karşılaştırılması. \* $< 0,05$ , \*\* $< 0,01$ , \*\*\* $< 0,001$

**Tablo 3.** Grup-1, Grup-2 ve Grup-3'e ait element düzeylerinin karşılaştırılması

Elementler	Grup-1 (n=40)	Grup-2 (n=40)	Grup-3 (n=40)	p
Kalsiyum (µg/dL)	9,036 ± 1,480	8,261 ± 1,059	8,491 ± 0,810	$p^a = 0,001$ , $p^b = 0,006$ , $p^c = 0,830$
Fosfor (µg/dL)	4,960 ± 1,114	4,864 ± 1,083	4,054 ± 0,798	$p^a = 0,698$ , $p^b = 0,381$ , $p^c = 0,689$
Arsenik (µg/dL)	0,025 ± 0,004	0,020 ± 0,003	0,012 ± 0,002	$p^a = 0,000$ , $p^b = 0,000$

a: Grup-1'in Grup-2 ve Grup-3 ile karşılaştırılması, b: Grup-1'in Grup-3 ile karşılaştırılması, c: Grup-2'nin Grup-3 ile karşılaştırılması

## Tartışma

ET'de megakaryosit ve trombosit sayısının artmasında, trombopoez sürecinde farklı mekanizmalara yol açan birçok neden sorumlu tutulmaktadır. ET hastalarının daha iyi değerlendirilebilmesi, kanama ve tromboz gibi komplikasyonların önlenmesi ve ET hastalarının günlük yaşamlarının iyileştirilebilmesi için ET patogenezinde altta yatan mekanizmaların aydınlatılması gerekmektedir. ET hastalarının yaşam beklentisi beş ve on yıl için sırasıyla %74-93 ve %61-84 olarak bildirilmiştir.<sup>8,25</sup> Çalışmamızda Grup-1'in trombosit değerleri ( $575,42 \pm 202,26 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) ile Grup-2'nin trombosit değerleri ( $486,76 \pm 71,23 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, Grup-1'in trombosit değerleri anlamlı yüksek olduğu bulundu ( $p<0,05$ ). Her iki grup, Grup-3 ile karşılaştırıldığında ise trombosit değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu belirlendi ( $p<0,001$  ve  $p<0,001$ ). Bu değerler trombositoz çalışma gruplarını oluşturmak için oldukça önemliydi. Grup-1'e ait değerlerin WHO tarafından belirlenen 2016 Esansiyel Trombositoz Tanı Kriterleri'ne uygun olduğu tespit edildi.<sup>8</sup> Grup-2'ye ait hastalarda ise demir eksikliği anemisinin yine WHO tarafından tanımlanmış laboratuvar bulgularıyla uyumlu olacak şekilde; Hgb, Hct, MCV, MCH ve MCHC değerleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük ve RDW ile PDW değerleri anlamlı yüksek olarak belirlendi.<sup>9</sup>

Ca, P ve As'nin metabolik fonksiyonlarda ve fizyopatolojik süreçlerde hayati bir rol oynadığı iyi bilinmektedir.<sup>14,17,20</sup> Eser/toksik elementler ve minerallerin seviyeleri organizmada özellikle bir takım fizyolojik ve patolojik koşullara bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. ET'daki moleküler, hematolojik, enzimatik ve onkolojik yollarla ilişkili fizyopatolojik mekanizmalardaki temel etkileri tam olarak tanımlanmamıştır.<sup>8,26-28</sup> Bu nedenle, bu özgün çalışmada serum Ca, P ve As düzeylerindeki değişikliklerinin ET'un patogenezinde ve/veya prognozunda önemli etkilerine odaklandık.

ET tanısı almış hastalarda görülen hiperkalseminin in vitro pıhtılaşma sırasında aktifleşmiş trombositlerin yapılarında bulunan granüllerden Ca salınması sonucu geliştiği bildirilmiştir.<sup>29,30</sup> Diğer MDS'lerde de gelişen hiperkalseminin; lösemik hücrelerin aracılık ettiği kemik yıkımı, ektojik paratiroid hormon üretimi ve osteoklastik kemik rezorpsiyonunu uyaran tümör kaynaklı dönüştürücü büyüme faktörleri dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalarla ilişkilendirilmiştir. ET'de uygulanan sitoredüktif tedavi sonucunda hiperkalseminin düzelerek serum Ca düzeylerinin normal değerlere inmesi de bu bulguları desteklemektedir.<sup>31,32</sup> Benzer dönemde yapılan bir diğer çalışmada ise MPH tanısı almış hastalarda trombositlerde bulunan granüllerdeki Ca düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gösterilmiştir.<sup>33</sup> Takiben, Howard ve ark.'nın 2000 yılında ET tanılı hastalarda yaptığı çalışmada, serum Ca düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olduğu, bu durumun sayıca artan ve aktifleşen trombosit sayısı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>29</sup> Bayhan ve ark.'nın ET tanısı almış pediatrik grupta dört sene süresince yaptığı bir takip çalışmasında ise, ortalama serum Ca düzeylerinin normal değerlerin üst sınırına yakın olduğunu belirlemiş, fakat bu

bulguyu trombosit sayısı ile ilişkilendirememiştir.<sup>30</sup> Bizim çalışmamızda, Grup-1'in serum Ca düzeylerinin Grup-2 ve Grup-3'e göre anlamlı derece yüksek olduğu belirlendi. Grup-1'in serum Ca yüksekliğinin, ET hastalarında sayıca fazla ve fonksiyonel olarak daha aktifleşmiş olan trombosit özelliğiyle ilişkili olduğunu düşünmekteyiz. Grup-2 ile Grup-3 arasındaki serum Ca düzeylerinin sayısal olarak birbirine yakındır. Bu durumu ise, anemiyle ilişkili olarak gelişen RT'de SK grubuna göre sayıca anlamlı olarak artan, fakat fonksiyonel olarak aktifleşmemiş trombosit özellikleriyle açıklanabilir.

P hücre membran iskeleti, nükleik asit yapısı, enerji metabolizması, asit-baz dengesi ve tampon sistemleri ile kemik mineralizasyonunda görev almaktadır.<sup>34</sup> Günümüze kadar yapılan çalışmalarda ET ile P arasındaki fizyopatolojik ve moleküler mekanizma henüz aydınlatılmamıştır. ET tanısı almış hastalarda serum P düzeylerinin hafifçe yüksek olmasına karşın, referans değerler arasında olduğu bildirilmiştir.<sup>35</sup> Bu çalışmada, hücre içi ile hücre dışı arasındaki elektriksel dengenin korunması amacıyla, serum P değerlerinin anlamlı olmasa da yüksek olduğu belirtilmiştir. Bayhan ve ark.'nın ET tanısı almış pediatrik grupta dört sene süresince yaptığı bir takip çalışmasında ise, ortalama serum P düzeylerinin normal değerlerin üst sınırına yakın olduğunu belirlemiş, fakat bu bulguyu trombosit sayısı ile ilişkilendirememiştir.<sup>30</sup> Çalışmamızda, Grup-1'in serum P düzeyleri diğer gruplara göre yüksek olsa da, istatistiksel bir anlamlılık tespit edilmedi. Bu bulgular yapılan çalışmalarda benzerlik göstermektedir. ET ile serum P arasındaki fizyopatolojik ve moleküler mekanizmayı açıklayacak çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

As'nin oksidatif stres süreci aracılığıyla toksisiteye neden olduğu iyi bilinmektedir. ROS moleküllerinin dış yörüngelerinde bulunan eşleşmemiş elektronlar molekülü daha reaktif hale getirir. Bununla beraber, ROS artış gösterdiğinde, redoks sinyallerinin bozulması, protein ve DNA oksidasyonu, lipid peroksidasyonu, ve antioksidan savunma sistemlerini etkisiz hale getirerek moleküler hasara neden olur.<sup>36,37</sup> Ezech ve ark.'nın ratlarda yaptığı çalışmada farklı konsantrasyonda ve farklı sürelerde uygulanan As maruziyeti sonrasında, hematopoietik sistemi baskılayarak pansitopeniye yol açtığını bildirmişlerdir.<sup>38</sup> Kim ve ark.'nın insan trombosit hücrelerine uyguladıkları As'nin, trombositlerin hücre membran iskeletlerinde bozulmaya, trombosit agregasyonunda artmaya ve trombotik komplikasyonlara neden olduğunu bildirmişlerdir.<sup>39</sup> Çalışmamızda Grup-1 ve Grup-2'nin serum As düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı derece yüksek olmasının nedeni; trombositoz gruplarında referans değerinden anlamlı derece yüksek olan trombosit sayısı ile ve trombosit lipid peroksidasyonu sonucu gelişen membran şekil değişimleriyle ilişkili olabileceği düşüncesindeyiz.

Çalışmamız, trombositoz gruplarında trombositlerin hem sayıca arttığını hem de yapısal fonksiyonlarının bozularak etkili olabileceğini göstermiştir. Diğer yandan, ET'nin moleküler, patolojik ve etiyolojik mekanizmaları ile kalsiyum, fosfor ve arsenik bu mekanizmalarla ilişkili henüz aydınlatılmamıştır.

Hasta sayısının az olması ve ET hastalarının mutasyon tipleri ve tedavi protokollerine göre sınıflandırılmaması bu çalışmanın kısıtlılıklarıydı. Çok merkezli, hasta sayısının artırıldığı, ilaç protokollerine göre çalışma gruplarının oluşturulduğu ileri çalışmalar önermekteyiz. Sonuç olarak; ET hastalarında tanı, tedavi ve takip aralıkları açısından serum kalsiyum ve fosfor analizinin yanı sıra arseniğin de göz önüne alınmasının önemli bir protokol olabileceği düşüncesindeyiz.

#### Etik Standartlara Uygunluk

Bu çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun (04.06.2014; No: 71306642/050-01-04/141) onayı alınarak prospektif bir çalışma olarak planlandı.

#### Açıklama

Bu makale "International Conference of Trace Elements and Minerals (ICTEM), Online Meeting of 36th GMS, 7th ISZB, TEMA17 and 13th ISTERH, Aachen, Germany" 02 – 06 August 2021 tarihinde sunulmuştur.

#### Çıkar Çatışması Beyanı

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

Çalışmaya dahil olan tüm yazarlar eşit derecede katkı sağlamıştır.

#### Finansal Destek

Çalışmada herhangi bir finansal destek kullanılmamıştır.

#### Yazar Katkısı

Çalışmaya dahil olan tüm yazarlar eşit derecede katkı sağlamıştır.

#### Kaynaklar

1. Çetin G, Esansiyel trombositemi. İ.Ü. Cerrahpaşa Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Hematolog Olmayanlar için Hematolojik Maligniteler Sempozyum Dizisi. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi; 2005; İstanbul, Türkiye, 45:277-283.
2. Schafer Al. Thrombocytosis. *New Engl J Med*. 2004;350:1211-1219. doi: 10.1056/NEJMra035363
3. Bleeker JS, Hogan WJ. Thrombocytosis: diagnostic evaluation, thrombotic risk stratification and risk-based management strategies. *Thrombosis*. 2011;536062:1-16. doi: 10.1155/2011/536062
4. Aydoğan T, Kanbay M, Alici O, Koşar A. Incidence and etiology of thrombocytosis in an adult Turkish population. *Platelets*. 2006;17(5):328-331. doi: 10.1080/09537100600746573
5. Greist A. The role of blood component removal in essential and reactive thrombocytosis. *Ther Apher Dial*. 2002;6(1):36-44. doi: 10.1046/j.1526-0968.2002.00394.x
6. Choi CW, Bang SM, Jang S, et al. Guidelines for the management of myeloproliferative neoplasms. *Korean J Intern Med*. 2015;30(6):771-788. doi: 10.3904/kjim.2015.30.6.771
7. Bazzan M, Tamponi G, Schinco P, et al. Thrombosis-free survival and life expectancy in 187 consecutive patients with essential thrombocythemia. *Ann Hematol*. 1999;78:539-543. doi: 10.1007/s002770050555
8. Ozkan Tekin T, Karis D, Ates Alkan F, Cetin G, Ercan AM, Evaluation of trace elements in essential thrombocytosis and reactive thrombocytosis. *JTEMB*. 2022;73:127034. doi: 10.1016/j.jtemb.2022.127034
9. Archived: Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control. A guide for programme managers. <https://www.who.int/publications/m/item/iron-children-6to23--archived-iron-deficiency-anaemia-assessment-prevention-and-control>. Erişim tarihi: 31.08.2023).
10. Irmak G. *Esansiyel trombositemi tanısıyla izlenen olgularda JAK2 gen mutasyonu, komplikasyonlar ve tedavi ilişkisinin değerlendirimi*. [Uzmanlık Tezi]. Bursa, Türkiye: T.C. Uludağ Üniversitesi/Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı; 2013.
11. Takagi M, Egawa T, Motomura T, et al. Interleukin-6 secreting pheochromocytoma associated with clinical markers of inflammation. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1997;46:507-509. doi: 10.1046/j.1365-2265.1997.1160931.x
12. Sipahi H, Palabiyik ŞS, Balci S, Şahin G. Alüminyum toksisitesi ve nörodejeneratif hastalıklardaki rolü. *Türkiye Klinikleri J Neurol*. 2015;10(1): 6-14.
13. Duyff RL. *The American Dietetic Association's Complete Food and Nutrition Guide*. Chronimed Publishing. Minneapolis - USA; 2000.
14. Ganong WF. *Review of Medical Physiology*. 22nd ed. USA: The McGraw-Hill Companies Inc; 2005.
15. Ghoshal K, Bhattacharyya M. Overview of platelet physiology: its hemostatic and nonhemostatic role in disease pathogenesis. *Sci World J*. 2014;781857:1-16. doi: 10.1155/2014/781857
16. Xu XR, Zhang D, Oswald BE, et al. Platelets are versatile cells: new discoveries in hemostasis, thrombosis, immune responses, tumor metastasis and beyond. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2016;53(6):409-430. doi: 10.1080/10408363.2016.1200008.
17. Dibartola SP, Willard MD. *Disorders of phosphorus: hypophosphatemia and hyperphosphatemia. Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice*. Elsevier Health Sciences; 2011.
18. Alkan FA, Kariş D, Çakmak G, Ercan A. Analysis of Serum Nickel, Silicium, Arsenic and Boron in Smoking Individuals. *OJM*. 2021;43(4):374-381. doi: 10.20515/otd.886366
19. Ratnaik RN. Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgrad Med J*. 2003;79:391-396. doi: 10.1136/pmj.79.933.391
20. Pérez-Granados AM, Vaquero MP. Silicon, aluminium, arsenic and lithium: essentiality and human health implications. *J Nutr Health Aging*. 2002;6(2):154-162.
21. Oyagbemia AA, Omobowaleb TO, Asenuga ER, et al. Effect of arsenic acid withdrawal on hepatotoxicity and disruption of erythrocyte antioxidant defense system. *Toxicol Rep*. 2017;4:521-529. doi: 10.1016/j.toxrep.2017.09.006
22. Saulle E, Riccioni R, Pelosi E, et al. In vitro dual effect of arsenic trioxide on hemopoiesis: Inhibition of erythropoiesis and stimulation of megakaryocytic maturation. *Blood Cells, Mol Dis*. 2006;36:59-76. doi: 10.1016/j.bcmd.2005.10.005
23. Perkins C, Kim CN, Fang G, Bhalla KN. Bhalla, Arsenic induces apoptosis of multidrug-resistant human myeloid leukemic cells that express Bcr-abl or overexpress MDR, MRP, Bcl-2, or Bcl-Xl. *Blood*. 2000;95:1014-1021.

24. Tanören B, Parlattan U, Parlak M, et al. Determination of modifications in rat liver due to phthalate uptake by SAM, RS, and ICP-OES. *Anal Methods*. 2021;26(13):2926–2935.
25. Kucine N, Chastain KM, Mahler MB, Bussel Jb. Primary thrombocytosis in children. *Haematologica*. 2014;99(4):620-628. Doi: 10.3324/haematol.2013.092684
26. Silvera SAN, Rohan TE. Trace elements and cancer risk: A review of the epidemiologic evidence. *Cancer Causes Control*. 2007;18(1):7-27. doi: 10.1007/s10552-006-0057-z
27. Yang X, Tang Z, Li J, Jiang J. Esophagus cancer and essential trace elements. *Front Public Health*. 2022;16(10):1038153. doi: 10.3389/fpubh.2022.1038153
28. Axelrad AA, Eskinazi D, Correa PN, Amato D. Hypersensitivity of circulating progenitor cells to megakaryocyte growth and development factor (PEG-rHu MGDF) in essential thrombocythemia, *Blood*. 2000;96(10):3310-3321.
29. Howard MR, Ashwell S, Bond L, Holbrook I. Artefactual serum hyperkalaemia and hypercalcaemia in essential thrombocythaemia. *J Clin Pathol*. 2000;53:105-109. doi: 10.1136/jcp.53.2.105
30. Bayhan T, Ünal Ş, Kuşkonmaz B, et al. Pseudo-ElectrolyteImbalances among pediatric patients with essential thrombocythemia: single center experience. *Acta Medica*. 2016;5:65-67.
31. Delgado JA, Lopez B, Morell-García D, et al. Clinical thresholds for pseudohyperkalemia and pseudonormokalemia in patients with thrombocytosis. *EJIFCC*. 2022;33(3):233-241.
32. Goud A, Abdelqader A, Dahagam C, et al. Hypercalcemia and diffuse osteolytic lesions in a 45-year-old patient with myeloid sarcoma with megakaryocytic differentiation. *J Community Hosp Intern Med Perspect*. 2016;6(2):30327. doi: 10.3402/jchimp.v6.30327.
33. Minder K, Ostermann G, Hochaus A, Höche D, Till U. Blood platelet calcium content and aggregation behaviour in myeloproliferative disorders and secondary thrombocytosis. *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch*. 1988;115:461-464.
34. Önal H. Fosfat Metabolizması, *Çocuk Dergisi*. 2019;19(3):105-115.
35. Lutomski DM, Bower RH. The effect of thrombocytosis on serum potassium and phosphorus concentrations. *Am J Med Sci*. 1994;307(4):255-258. doi: 10.1097/00000441-199404000-00002
36. Niedzwiecki MM, Mechanisms of arsenic toxicity in humans: interplay of arsenic, glutathione, and DNA methylation in Bangladeshi adults. Columbia University, 2017
37. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol*. 2015;4:180-183. doi: 10.1016/j.redox.2015.01.002
38. Ezeh PC, Lauer FT, MacKenzie D, et al. Arsenite selectively inhibits mouse bone marrow lymphoid progenitor cell development in vivo and in vitro and suppresses humoral immunity in vivo. *PLoS One*. 2014;9(4):e93920. doi: 10.1371/journal.pone.0093920
39. Kim K, Shin EK, Chung JH, LimKM. Arsenic induces platelet shape change through altering focal adhesion kinase-mediated actin dynamics, contributing to increased platelet reactivity. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2020;391:114912. doi: 10.1016/j.taap.2020.114912



## Araştırma Makalesi | Research Article

# POSTOPERATIVE COGNITIVE DYSFUNCTION AFTER CARDIAC SURGERY; INCIDENCE AND RISK FACTORS

## KARDİYAK CERRAHİ SONRASI POSTOPERATİF BİLİŞSEL FONKSİYON BOZUKLUĞU; GÖRÜLME SIKLIĞI VE RİSK FAKTÖRLERİ

Tülay Çardaközü<sup>1\*</sup>, Zeki Talas<sup>2</sup>, Nur Nazire Yuca<sup>1</sup>, Sibel Gür<sup>2</sup>, Huri Yeşildal<sup>1</sup>, Şadan Yavuz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye. <sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye.



### ÖZ

**Amaç:** Çalışmamızın amacı merkezimizde kalp cerrahisi sonrası kognitif bozulma görülme sıklığını ve risk faktörlerini araştırmaktır.

**Yöntem:** 01.01.2021 ve 31.12.2021 tarihleri arasında kalp cerrahisi planlanan 18-70 yaş arası ASA II-III hastalar çalışmaya dahil edildi. Postoperatif bilişsel bozukluk (POBB) tanısı mini mental durum testi (MMDT) ile konuldu. MMDT, ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası 7. gün ve 8. haftada yapıldı. MMDT puanı <23 olan hastalar bilişsel işlev bozukluğu olan hastalar POBB (+) olarak tanımlandı.

**Bulgular:** Bu süre içerisinde uygun görülen 231 hastadan 73'ü çalışma dışı bırakıldı, çalışmaya dahil edilen 158 hastadan 54'ü çalışmayı tamamlayamadı ve geri kalan 104 hastanın verileri analiz edildi. POBB (+) görülme sıklığı 7. günde %38,46, ameliyat sonrası 8. haftada ise %22,11 olarak belirlendi. Yaş >60 yıl (AUC=0,790, p<0,001), MMDT preoperatif skoru ≤25 (AUC=0,667, p=0,001), Euroscore II skoru >2 (AUC=0,642, p=0,008) ve 2 gün üzerinde yoğun bakım süresi (AUC=0,610, p=0,036) postoperatif 7. gün POBB için risk faktörü olarak belirlendi. Yaş >60 yıl (AUC=0,811, p<0,001), MMDT preoperatif skoru ≤24 (AUC=0,673, p=0,009), MMDT 7. gün skoru ≤22 (AUC=0,909, p<0,001) ise 8. hafta POBB için risk faktörleri olarak belirlendi.

**Sonuç:** Kardiyak cerrahi sonrası POBB halen yüksek sıklıkta görülmektedir. Yaş, nörobilişsel rezerv, Euroscore II skorları ve uzamış yoğun bakım süresi POBB gelişimini etkileyen risk faktörleridir.

**Anahtar Kelimeler:** Kalp Cerrahisi, ameliyat sonrası bilişsel bozukluk, mini mental durum testi

### ABSTRACT

**Objective:** The aim of our study was to investigate the incidence and risk factors of cognitive impairment after cardiac surgery in our center.

**Methods:** Between 01.01.2021 and 31.12.2021, ASA II-III patients aged 18-70 years who were planned for cardiac surgery were included in the study. Postoperative cognitive disorder (POCD) was diagnosed by a mini mental status test (MMDT). MMDT was performed preoperatively and on postoperative 7th day and 8th week. Patients with MMDT score <23 were defined as patients with cognitive dysfunction (POBB (+)).

**Results:** Within this period, 73 of the 231 eligible patients were excluded from the study, 54 of the 158 patients included in the study could not complete the study, and the data of the remaining 104 patients were analyzed. On day 7, the POBB (+) incidence was 38.46% and 22.11% in the 8th week postoperatively. Age >60 years (AUC=0.790, p<0.001), MMDT preoperative score ≤ 25 (AUC=0.667, p=0.001), Euroscore II score >2 (AUC=0.642, p=0.008) and intensive care duration over 2 days (AUC=0.610, p=0.036) was determined as a risk factor for POBB on the 7th postoperative day. Age >60 years (AUC=0.811, p<0.001), MMDT preoperative score ≤24 (AUC=0.673, p=0.009) and MMDT 7th day score ≤22 (AUC=0.909, p<0.001) were found to be risk factors for 8th week POBB.

**Conclusion:** POBB is still seen with high frequency after cardiac surgery. Age, neurocognitive reserve, Euroscore II scores and prolonged intensive care period are risk factors for the development of POBB.

**Keywords:** Cardiac surgery, postoperative cognitive impairment, mini mental status test

\*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Tülay Çardaközü; Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Umuttepe, 41001, Kocaeli, Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (262) 303 75 75 e-posta/e-mail: [tulayhosten@hotmail.com](mailto:tulayhosten@hotmail.com)

Başvuru/Submitted: 03.10.2023

Kabul/Accepted: 27.02.2024

Online Yayın/Published Online: 29.02.2024



## Giriş

Postoperatif bilişsel fonksiyon bozukluğu (POBB), yapılan nöropsikolojik testler sonucunda bilişsel performansın ameliyat öncesine göre düşüşü ile tanımlanan bir sendromdur, perioperatif stres karşısında bilişsel dayanıklılık eksikliği olarak ta kavramsallaştırılmıştır.<sup>1</sup> Kardiyak cerrahi sonrası görülme sıklığı ilk haftalarda %46-71, altıncı haftada %36, 3. ayda %20-50 civarındadır.<sup>2-5</sup> Kalp cerrahisini takiben POBB için risk faktörleri arasında; ileri yaş, koroner olmayan aterosklerotik kalp hastalığı, düşük eğitim düzeyi, önceden var olan nörolojik bozukluk, diyabet ve kapak cerrahisi yer alır.<sup>6</sup> Postoperatif dönemde uzamış entübasyon ve yoğun bakım süresi ve postoperatif deliryum varlığı da risk faktörleri arasındadır.<sup>7</sup> Görülme sıklığı ve risk faktörleri bir merkezden diğerine değişebilir.<sup>8</sup> POBB, yaşam kalitesinde ciddi bir bozulmaya, hastanede kalış süresinin uzamasına ve uzun yıllar devam etmesi durumunda demans gelişimine açabilir.<sup>9</sup> Risk faktörlerinin bilinmesi ve artmış risk faktörüne sahip hastalarda uygun anestezi ve monitörizasyon yöntemlerinin uygulanması ile, POBB gelişimi engellenebilir. Bu çalışmada hastanemizde kardiyak cerrahi sonrası POBB görülme sıklığı ve risk faktörlerinin araştırılması hedeflenmiştir.

## Yöntem

Bu prospektif kohort çalışmaya Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun onayı (GOKAEK-2020/20.02) ve bilgilendirilmiş hasta onamı alındıktan sonra, 01.01.2021 ve 31.12.2021 tarihleri arasında elektif koroner veya kalp kapak cerrahisi planlanan, 18-70 yaş arası ASA II-III hastalar çalışmaya dahil edildi. Preoperatif mini mental durum testi (MMDT) skoru 23'ün altında olanlar, MMDT yapamayacak kadar işitsel ve görsel kaybı olanlar, kooperasyon kurulamayan hastalar, nörolojik (demans, alzheimer, cerebrovasküler hastalık öyküsü) ve psikolojik hastalık tanısı olanlar, eğitim yılı <5 yıl olanlar, nörokognitif fonksiyonu etkileyen ilaç kullanımı olanlar, total sirkulatuvar arrest uygulanacaklar ve aort replasmanı yapılacak hastalar, postoperatif komplikasyon nedeniyle destek tedavisi alan hastalar (24 saatten uzun süre nonvaziv veya invaziv mekanik ventilasyon gerekliliği ve hemofiltrasyon veya hemodiyaliz), postoperatif dönemde serebrovasküler hastalık geçirdiğinden şüphe edilen hastalar, elektrolit imbalansı olanlar ve postoperatif dönemde 2 ay içinde vefat eden hastalar çalışma dışı bırakıldılar.

### Anestezi Protokolü

Operasyona alınacak hastalara 0,02 mg/kg (maksimum 2mg) intravenöz (iv) midazolamla premedikasyon yapıldıktan sonra operasyon odasına alındılar, yüz maskesiyle 5L/dk oksijen verilirken, kalp hızı, noninvaziv kan basıncı ve periferik oksijen saturasyonu ve serebral bölgesel oksijen saturasyonu (rSO<sub>2</sub>) monitörize edildi. 1µg/kg iv fentanil verildi, Allen testinden sonra, lidokain infiltrasyonu ile lokal anestezi sağlandıktan sonra

dominant olmayan elden radyal arter kanülasyonu yapıldı ve invaziv kan basıncı monitörize edildi. Kardiyak ventriküler fonksiyona göre iv. 0,03 mg/kg midazolam, 5-7µg/kg fentanil, 0,1mg/kg rokuronyum ve 2-3 mg/kg tiyopental ile anestezi indüksiyonu sonrası entübe edildiler, 8 ml/kg tidal volüm ve 5 cmH<sub>2</sub>O PEEP ile hacim kontrollü mekanik ventilasyon başlandı. Her iki grupta soluk sonu karbondioksit (EtCO<sub>2</sub>) değerleri 30-35 mmHg arasında olacak şekilde solunum frekansı ayarlandı, SpO<sub>2</sub> yüzde 94'ün altına düştüğünde inspire edilen oksijen konsantrasyonu artırıldı. Tercihen sağ internal juguler ven yolundan olmak üzere bir santral venöz basınç (SVB) kateteri yerleştirildi. Anestezi idamesi %40 oksijen, %60 hava karışımı içinde desfluran inhalasyonu ile yapıldı. İntraoperatif analjezi remifentanil infüzyonu (0,1-0,4µg/kg/dk) ve 3-5 µg fentanil iv bolus ile sağlandı. Hipotansiyon (≥1 dakika, ortalama arteriyel basınç (OAB)<65 mmHg) gelişmesi durumunda, hasta önce Trendelenburg pozisyonuna getirildi, yanıt vermeyen hastalara 250 mL kolloid solüsyonu (hidroksi etil starch (HES) %6 (130/0,4)), kolloid solüsyonunun kontrendike olduğu durumlarda ise dengeli elektrolit solüsyonu infüze edildi ve daha fazla yanıtızlık durumunda 5-10 mg iv efedrin bolus uygulandı. Hipertansiyon (sistolik kan basıncında başlangıca göre %20'den fazla artış) olması durumunda iv bolus fentanil yapıldı devam etmesi durumunda doz aralığı 0,1-3 mcg/kg/dk olacak şekilde nitrogliserin infüzyonu başlandı. Bradikardi (Kalp hızı<50 atım/dk) için 0,5 mg iv atropin uygulandı. Arteriyel ve venöz kanülasyonlar uygulandıktan sonra sistemik heparinizasyon ile ACT düzeyi 480 sn'i aştığında kardiyopulmoner baypas (KPB)'a girildi. Anestezi idamesi KPB devresine entegre edilmiş desfluran vaporizatöründen sağlandı. KPB yönetimi; pulsatil akımla, hedef akış hızı; 2,2 -2,4 L/dak/m<sup>2</sup>, OAB; 60-80 mmHg, Arteriyel oksijen basıncı (PaO<sub>2</sub>): 90-150 mmHg, Arteriyel karbondioksit basıncı (PaCO<sub>2</sub>): 35-40 mmHg ve venöz oksijen saturasyonu (ScvO<sub>2</sub>) >%70 ve hedef vücut ısısı 32-34°C olarak belirlendi. Soğutma 1°C/dk, yeniden ısınma 0,5°C/dk hızında olacak şekilde yapıldı, soğutma esnasında oksijenatörün venöz girişi ile arteriyel çıkışı arasındaki sıcaklık farkının 10°C'den, yeniden ısınma esnasında ise 4°C'den az olmasına özen gösterildi. KPB başlangıcında ve yeniden ısınma döneminde midazolam (0,03 mg/kg) ve rokuronyum bromür (0,15 mg/kg) verildi. rSO<sub>2</sub> değerleri, bazal değer in %20 altına veya 50 değerinin altına düştüğünde önce problemler ve hastanın baş pozisyonu kontrol edildi. Kanül pozisyonları doğrulandı, ardından hastanın kan basıncı düşük ise gereksinim durumuna göre vazopresörler veya volum replasmanı ile kan basıncı uygun seviyelere yükseltildi. PaO<sub>2</sub> basıncı düşük ise FiO<sub>2</sub> artırıldı, PaCO<sub>2</sub> yükseltilecek serebral kan akımı arttırılmaya çalışıldı. Hastaların hemoglobin değeri 8 mg/dl'nin altında ise eritrosit transfüzyonu yapıldı.<sup>10</sup> Anestezi süresince vazopresör, inotrop, sıvı ve kan ve kan ürünü replasmanı OAB, SVB, laktat, baz açığı, ScvO<sub>2</sub>, hemoglobin, hematokrit, rSO<sub>2</sub> değerleri ve idrar çıkışı göz önünde bulundurularak rutin klinik pratiğimize göre yapıldı. Hastanın klinik ve hemodinamik durumuna göre, dobutamin (5-10µ/kg/dk)

dopamin (3-10µ/kg/dk), adrenalin (0,01-0,3 µ/kg/dk) infüzyonu uygulandı, vazoplejiye bağlı hipotansiyon düşünüldüğünde noradrenalin infüzyonu başlandı (0,01-0,3 µ/kg/dk). Cerrahinin sonunda tüm hastalara 1 gr parasetamol ve 100 mg tramadol iv uygulandı, tüm hastalar entübe halde kalp ve damar cerrahisi yoğun bakım ünitesine transfer edildiler, postoperatif analjezi 8 saatte bir 1 gr. iv parasetamol ve 6 saatte bir iv 50 mg tramadol ile sağlandı. Preoperatif (hastalara ait demografik veriler, komorbidite ve kullandığı ilaçlar, kardiyak durum, ASA ve Euroscore II puanları), intraoperatif (anestezi ve cerrahiye ait özellikler anestezi indüksiyonundan KPB'ya kadar 15. dk'da bir, KPB süresince 30 dk'da bir ve cerrahi sonunda) ve postoperatif dönemde (ekstübasyon, yoğun bakım ve taburculuk süreleri) veriler kaydedildi.

### Bilişsel Değerlendirme

Minimal durum testi (MMDT), bilişsel bozukluğu değerlendirmek için 1975 yılında tasarlanmış, 11 sorudan oluşan 30 puanlık bir araçtır ve 5 geniş bilişsel işlev alanını kapsamaktadır: yönlendirme (10 puan), kayıt (3 puan), dikkat ve hesaplama (5 puan), hatırlama (3 puan) ve dil (9 puan) puanlarından oluşur.<sup>11</sup> Tamamlanması yaklaşık 10 dakika sürmektedir. Türkiye'deki geçerlik-güvenilirliği 2002 yılında test edilerek farklı uygulayıcılar arası güvenilirlik tespit edilmiş bilişsel bozukluk tanısı için eşik değerin 23/24 olduğu saptanmıştır.<sup>12</sup>

Çalışmamız da Güngeç ve ark.'nın<sup>12</sup> çalışmasında mevcut olan Ek 1 ve Ek 2'deki materyal ve test kullanıldı, MMDT preoperatif 1. gün önce (MMDT<sub>Preoperatif</sub>), postoperatif 7. gün (MMDT<sub>7. gün</sub>) ve postoperatif 8. haftada (MMDT<sub>8. hafta</sub>) aynı kişi tarafından yapıldı (SG). MMDT skoru <23 olan hastalar bilişsel fonksiyon bozukluğu gelişen POBB (+) grup, MMDT skoru ≥23 olanlar ise POBB (-) grup olarak tanımlandı.

### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) programı ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren değişkenler ortalama ± standart sapma, normal dağılım göstermeyen değişkenler medyan (25.-75. yüzdelik) 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 belirlendi. Eşik değerini (cut-off) ve AUC (Area under the curve) değerini belirlemek için ROC (receiver operating characteristic curve) analizi yapıldı. Hipotez testlerinde p<0,05 istatistiksel önemlilik için yeterli kabul edildi.

### Bulgular

01.01.2021 ve 31.12.2021 tarihleri arasında kardiyak cerrahi yapılması planlanan 231 hastadan 73'ü çalışma dışı bırakıldı, kalan 158 hastadan 54'ünde çalışma tamamlanamadı, çalışma için geri kalan 104 hastanın

verileri analiz edildi (Şekil 1). Preoperatif, intraoperatif ve postoperatif veriler Tablo 1'de sunuldu. 7. günde POBB (+) olan hasta sayısı 40 (%38,46), 8. haftada ise 23 (%22,11) olarak bulundu. 7. gün POBB (+) olan hastalarla POBB (-) olanlar arasında yaş, Euroscore II, MMDT<sub>Preoperatif</sub> skorları ile YBÜ'de yatış süreleri anlamlı derecede farklı idi (Tablo 2). 8. haftada POBB (+) olan grup ile diğer grup arasında ise yine yaş, MMDT<sub>Preoperatif</sub> ve MMDT<sub>7. gün</sub> skorları anlamlı derecede farklılık gösterdi (Tablo 3). 7. günde POBB (+) için belirlenen risk faktörlerine ilişkin ROC analizi yapıldığında; yaş için 60 yıl (AUC=0,790, p<0,001), MMDT<sub>Preoperatif</sub> skoru için ≤25 (AUC=0,667, p=0,001), Euroscore II skoru için >2 (AUC=0,642, p=0,008) ve YBÜ'de kalış süresi için >2 gün (AUC=0,610, p=0,036) cut-off değeri olarak belirlendi. 8. haftada POBB (+) için belirlenen risk faktörlerine ilişkin cut-off değerleri ise; yaş için 60 yıl (AUC=0,811, p<0,001), MMDT<sub>Preoperatif</sub> skoru için ≤24 (AUC=0,673, p=0,009), MMDT<sub>7. gün</sub> için ≤22 (AUC=0,909, p<0,001), olarak belirlendi.

### Tartışma

Çalışmamızda 7. günde POBB görülme sıklığı %38,46, 8. haftada ise %22,11 olarak tespit edildi. 60 yaş üzerinde olmak, MMDT<sub>Preoperatif</sub> skorunun 25 ve altında, Euroscore 2 puanının 2'nin üzerinde olması, yoğun bakımda kalış süresinin 2 günden fazla olması 7. gün POBB için risk faktörü olarak bulundu. Yine 60 yaş üzerinde olmak, MMDT<sub>Preoperatif</sub> skorunun 24 ve altında, MMDT<sub>7. gün</sub> skorunun 22 ve altında olması ise 8. haftada POBB gelişimi için risk faktörü olarak belirlendi.

Kardiyak cerrahide yapılan çalışmalarda, kullanılan bilişsel testlerin zamanlamasına, tipine ve yorumuna ve ilgili hasta popülasyonuna bağlı olarak %30-60 arasında bir POBB insidansı tanımlanmıştır.<sup>13,14</sup>

Bilişsel performansı ölçmek için iyi bilinen MMDT dışında daha gelişmiş pek çok test mevcuttur, nörokognitif bozukluğun bu testlerle tanımı ve kriterleri POBB insidansını etkileyebilir.<sup>15</sup> Mahanna ve ark. taburcu olmadan önceki %15,3-%66 ve 6. haftadaki %1,1-%34 gibi geniş aralıktaki POBB oranlarını, bilişsel bozulma tanımı için kullanılan kriterlerin farklılığına bağlamışlardır.<sup>16</sup> Van Dijk ve ark. bilişsel düşüşü, bir bireyin performansında, ana değişkenlerin en az %20'sinde, başlangıca göre en az %20 azalma olarak tanımladılar ve sıklığı 3. ayda off-pump cerrahide %21, on-pumpta ise %29 olarak buldular.<sup>17</sup> Norkiene ve ark.<sup>3</sup> bilişsel düşüşü, en az iki nörobilişsel testin performansında bir standart sapma veya daha fazla azalma olarak tanımlarken POBB sıklığını %46, Newman ve ark.<sup>5</sup> ise, bilişsel işlevin dört alanından herhangi birinin test puanlarında bir standart sapma veya daha fazla düşüş olarak tanımlayarak %53 oranında tespit ettiler.

Klinisyenler bilişsel fonksiyonları sıklıkla MMDT veya MoCA gibi hızlı yatak başı testleri kullanarak değerlendirirler, bu testlerin kullanımı kabul edilebilir olmakla birlikte, diğer onaylanmış nöropsikolojik testler ile tamamlanmalıdırlar.<sup>18</sup> Nöropsikolojik testler farklı durumlara uyarlanabilir olmalıdır, aksi takdirde kültürel farklılıklar ve dil engelleri test sorularının anlaşılmasını

bozabilir.<sup>19</sup> MMDT'nin Türkçe versiyonu Güngen ve ark.<sup>12</sup> tarafından en az 5 yıllık eğitimi tamamlamış yaşlılara uygulanmış, 23/24 kesme puanının en yüksek duyarlılık (0,91), özgüllük (0,95), pozitif ve negatif prediktif değerlere (sırasıyla 0,90 ve 0,95) sahip olduğu bulunmuştur. MMDT hastanede yatan yaşlı hastalarda POBB için yararlı bir tarama aracıdır.<sup>20</sup> Genel anestezi altında ameliyattan sonra bilişsel fonksiyonları değerlendirmek için kolay ve güvenilir bir yöntem olduğu bildiren çalışmalar mevcuttur.<sup>21</sup> Biz POBB tanısı için MMDT testini kullanmayı tercih ettik, MMDT skorunun 23'ün altında olması durumunu POBB olarak tanımladık ve bu kriterlerle POBB görülme sıklığını daha önce yapılan çalışmalara benzer şekilde 7. günde %38,46, 8. haftada %22,11 olarak tespit ettik.<sup>2-4</sup>

POBB görülme sıklığının azaltılması veya engellenmesi için alta yatan risk faktörlerinin ve patofizyolojinin anlaşılması gerekir. Çalışmamızda 60 yaş üzerinde olmak hem 7. gün hem 8. hafta için risk faktörü olarak tespit edilmiştir. 25 ve altında preoperatif MMDT skoru, 2 üzerinde Euroscore II puanı ve 2 günden uzun YBÜ yatış süresi 7. gün POBB gelişimi için diğer risk faktörleridir. 8. hafta POBB için 24 ve altında preoperatif MMDT skoru ile 22 ve altında 7. gün MMDT skorunun risk faktörü olarak tespit edilmesi, Newmann ve ark.'nın<sup>4</sup> erken dönemde POBB gelişen hastaların, geç bilişsel bozulma için aday olduğu fikrini de desteklemektedir. Erken dönemde POBB gelişen hastaların uzun süreli ve kalıcı POBB yönünden daha yakın takip ve tedavi edilmesi gerekli olabilir.

Kalp cerrahisini takiben POBB için risk faktörleri arasında ileri yaş, koroner arter dışı ateroskleroz, düşük eğitim düzeyi, önceden var olan nörolojik defisit, diyabet ve kapak cerrahisi yer alır.<sup>6</sup> Postoperatif uzun süreli entübasyon ve yoğun bakım kalış süreleri ve deliryum varlığı da risk faktörleri olarak belirtilmiştir.<sup>7</sup> Bizim çalışmamızda olduğu gibi pek çok çalışmada artan yaş POBB için değiştirilemeyen bir risk faktörü olarak gösterilmiştir.<sup>4,22</sup> Monk ve ark. 60 yaş ve üstü hastalarda 60 yaşın altındakilere göre iki kattan fazla sıklıkta POBB görüldüğünü bildirmişlerdir.<sup>22</sup> Bizim çalışmamızda da 60 yaş üzerinde olmak hem 7. Gün hem de 8. hafta için risk faktörü olarak saptanmıştır. Özellikle preoperatif serebrovasküler hastalığı olan yaşlı hastalar riskli gruplar olarak tanımlanmıştır.<sup>23</sup> Kılavuzlar POBB'nin önlenmesi veya azaltılması için vasküler hastalık öyküsü olanlar ve aort aterosklerozu veya kalsifikasyonunun diğer kanıtları olanlar da dahil olmak üzere inme riski yüksek hastalarda aort plağının epiaortik ultrasonla değerlendirilmesini, partikül veya gaz içeren mikroembolileri azaltacak cerrahi ve teknik önlemlerin alınmasını, şiddetli aterosklerozlu aorta kanülasyondan kaçınılmasını, çoklu aort klemleme dışında tekli aort manipülasyonunu önermektedir.<sup>24</sup> Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde, ASA statüsü, cinsiyet, eşlik eden hastalıklar, karotis veya periferik arter hastalığı mevcudiyeti, çoklu ilaç kullanımı ve preoperatif AF varlığı ve anemi gibi preoperatif döneme ait özelliklerin POBB gelişimine herhangi bir katkısının olmadığı söylenebilir.

Ekstrakorporeal dolaşım, kalp cerrahisi sonrası POBB gelişmesinde rol oynayan en önemli intraoperatif

faktörlerden birisi olarak belirtilmiştir. KPБ sırasındaki gaz ya da partikül embolisi veya enflamatuar değişiklikler, kan-beyin bariyeri geçirgenliğinin artışı ve serebral hipoperfüzyon POBB gelişimini kolaylaştırır.<sup>25</sup> Öte yandan off-pump cerrahinin nörobilişsel fonksiyonlardaki hasarı azaltmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur.<sup>26</sup>

POBB için bir diğer risk faktörü de KPБ süresince pompa akımının şeklidir. Aykut ve ark.<sup>27</sup> pulsatil akımın bilişsel işlev bozukluğunu azaltmak için faydalı etkileri olduğunu öne sürerken, bazı çalışmalar ise pulsatil akımın nonpulsatil akıma benzer oranda POBB nedeni olduğunu göstermektedir.<sup>28</sup> Çalışmamızda bütün hastalarda pulsatil akım kullanıldığı için, akım şeklinin POBB gelişimi üzerine etkisi ile ilişkili yorum yapılamamıştır.

Kalp cerrahisinde serebral otoregülasyonun bozulması POBB gelişimine katkıda bulunabilir.<sup>23</sup> Ono ve ark. kalp cerrahisi hastalarının yaklaşık %20'sinde serebral otoregülasyonun bozulduğunu ve bunlarda da perioperatif inme oranlarının arttığını bildirmişlerdir.<sup>29</sup> Serebral hipoperfüzyon riskinin, özellikle aşikar veya gizli serebro vasküler hastalığı olan yaşlı hastalarda, OAB'nin düşük tutulduğu KPБ sırasında yüksek olduğu bildirilmiştir.<sup>30</sup> Öte yandan intraoperatif yüksek OAB düzeylerinin de kan-beyin bariyerinde değişikliklere, beyin ödeme ve serebral hiperperfüzyona neden olarak POBB'yi arttıracığı belirtilmiştir.<sup>31</sup> Hipotansiyon sınırının 40-50 mmHg, hipertansiyon sınırının da 70-80 mmmHg olarak hedeflendiği bir çalışmada hastalar 3 yıl süreyle takip edilmiş ve her iki grup arasında POBB yönünden anlamlı fark bulunamamıştır.<sup>32</sup> Yazarlar KPБ sırasında hem "düşük" hem de "yüksek" OAB düzeylerinin olumsuz etkilerinden kaçınmak gerektiğini bildirmişlerdir.<sup>33</sup> Çalışmamızda hipotansiyon görülen hasta sayısının POBB görülen ve görülmeyen grupta benzer olması tek başına kan basıncı takibinin POBB gelişimini önlemede yetersiz olduğunu düşündürülebilir. NIRS serebral otoregülasyon takibinde noninvazif yöntemlerden birisi olarak kullanılabilir ve bozulmuş otoregülasyonun tahmininde faydalı olabilir.<sup>34</sup> Yaşlı hastalarda intraoperatif serebral oksijen desatürasyonu erken ve geç POBB ile ilişkilendirilmiştir. Uzun süreli rSO<sub>2</sub> düşüşleri bilişsel düşüşün bir göstergesidir ve bundan kaçınılmalıdır.<sup>35</sup> Çalışmamızda POBB gelişen ve gelişmeyen gruplarda rSO<sub>2</sub> düzeylerinin benzer seyretmesi, rSO<sub>2</sub> monitörizasyonunun POBB gelişimini öngörmede yetersiz kalabileceğini düşündürmektedir. POBB'yi önlemek için herhangi bir monitörizasyon yöntemi tek başına POBB'yi engellemek veya öngörmek için yetersiz kalabilir.

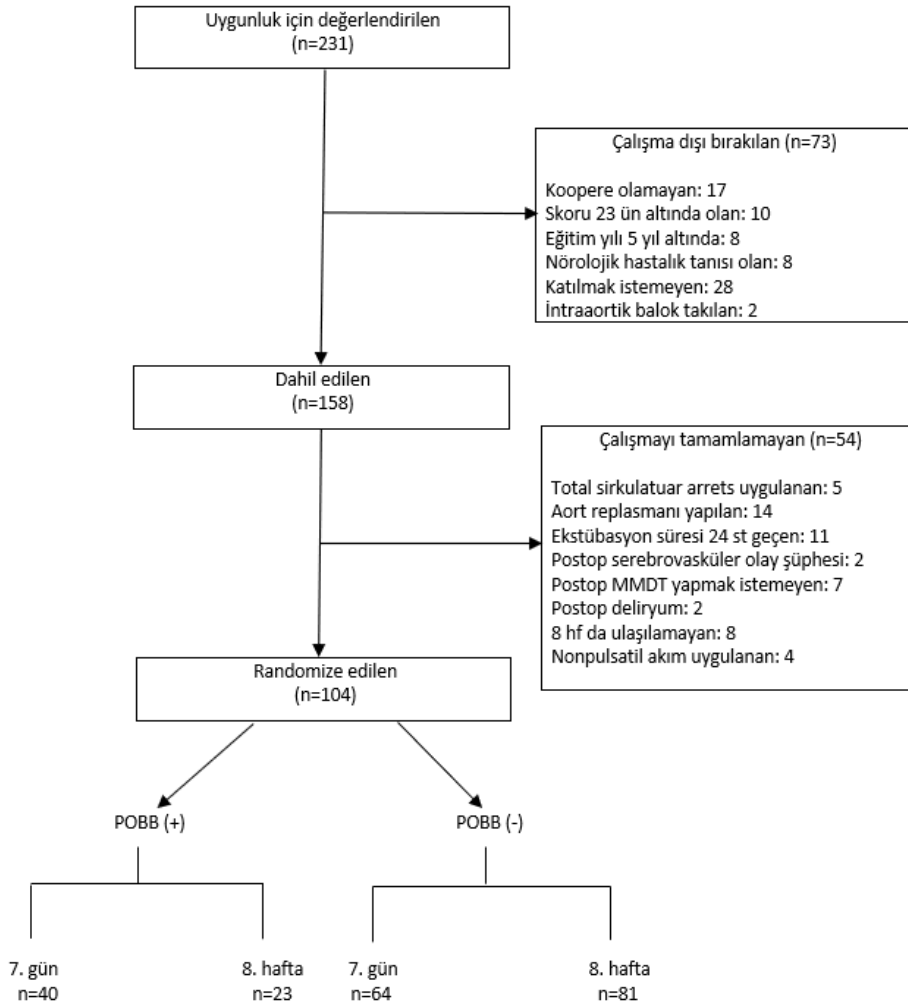
İntraoperatif arteriyel hipoksi, hiperoksi ve karbondioksit basıncı düzeyleri de POBB görülme sıklığını etkileyebilir.<sup>36,37</sup> Serebral kan akımı ve oksijen sunumunun yanı sıra, nörobilişsel işlevde serum glukoz düzeylerinin etkili olduğu da bilinmektedir.<sup>38</sup> Bir diğer çalışmada diyabetik olmayan hastalarda intraoperatif hipergliseminin (>200 mg/dL) kötüleşen postoperatif bilişsel işlev ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.<sup>39</sup> Öte yandan kardiyak cerrahide intraoperatif hiperinsülinemik-normoglisemik hedef ile (glukoz hedefi 80-110 mg/dL) standart tedaviye (glukoz hedefi <150 mg/dL) göre, deliryum insidansının daha yüksek olduğu bildirilmiştir.<sup>38</sup>

Bu veriler postoperatif POBB'den kaçınmak için hipoglisemi ve hiperglisemiden kaçınmanın eşit derecede önemli olabileceğini düşündürmektedir. KPB süresince ileri decerede hemodilüsyon ve yeniden ısınmanın hızlı olması da POBB için diğer risk faktörlerindedir.<sup>40</sup> Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, KPB, kros klemp (KK) uygulanması, KPB ve KK süreleri, ekstrakorporeal dolaşıma bağlı Hb ve Htc konsantrasyonlarındaki düşüş, hipotermi düzeyi, arteriyel kan gazı değişiklikleri, plazma glukoz düzeyleri, cerrahinin türü ve süresi POBB gelişiminde risk faktörü olarak tespit edilmemiştir.

Barbitüratlar, propofol, ksenon gibi anestezi ajanlarının ve volatil anesteziğin nöroprotektif etkiye sahip olduğu belirtilirken, deneysel hayvan modellerinde volatil ve intravenöz anesteziğin (özellikle izofluran ve ketamin) uygulanmasının, gelişmekte olan beyinde doz ve maruz kalma süresine bağlı nörodejeneratif etkilerle ilişkili olduğu bildirilmiştir.<sup>41</sup> Bocskai ve ark. Bispektral index (BIS)

kullanımının 12. haftada POBB insidansını azalttığını belirtmiş ve özellikle ileri yaş ve artan komorbiditesi olan hastalarda BIS kullanımının POBB gelişimini önlemek açısından faydalı olabileceğini bildirmişlerdir.<sup>42</sup> Biz çalışmamız esnasında anestezi derinliği için BIS monitörizasyonu kullanmadık, bu da çalışmamızın limitasyonu olarak kabul edilebilir. Çalışmamızda POBB gelişen hastalarla gelişmeyen hastalar arasında anestezi süresinin ve intraoperatif anestezi ve opioid tüketiminin benzer olması, inhalasyon anesteziği ve opioidlerin POBB gelişiminde veya nöroprotektif etkisinin olmadığını düşündürmektedir.

Sonuç olarak; açık kalp cerrahisini takiben POBB görülme sıklığı, 7. günde %38, 2. ayda için %22 civarındadır. Yaş, nörobilişsel rezerv, Euroscore II skorları, yoğun bakım kalış süresi POBB gelişimi için risk faktörleri olarak tespit edilmiştir. Risk faktörlerinin bilinmesi POBB'nin önlenmesi açısından önemlidir.



Şekil 1. Akış diyagramı

**Tablo 1.** Çalışmaya dahil edilen hastalara ait veriler

ASA; II/III	12 /92 (11,50/88,50)
Cinsiyet; Kadın/Erkek	37/67 (35,60/64,40)
Cerrahi; Kapak/Koroner/Kapak ve koroner	15 /79/10 (14,40/76,0/9,60)
Eşlik eden hastalık; Var/Yok	76/28 (73,10/26,90)
Polifarmasi; Evet/Hayır	56 /48 (53,80/46,20)
Preoperatif AF; Var/Yok	24 /80 (23,10/76,90)
Preoperatif Anemi; Var/Yok	54 /50 (51,90/48,10)
Karotis darlığı; Var/Yok	7/97 (6,70/93,30)
Periferik arter hastalığı; Var/Yok	12 /92 (11,50/88,50)
Pump; On/Off	73/31 (70,20/29,80)
İntraoperatif kan replasmanı; Var/Yok	57/47 (54,80/45,20)
İntraoperatif hipotansiyon; Var/Yok	94/10 (90,40/9,60)
Postoperatif AF; Var/Yok	28/76 (26,90/73,10)
Yaş; yıl	58,03 ± 8,02
BMI; kg/m <sup>2</sup>	29,00 (25,25-32,75)
EUROSCORE II	3,00 (1,00-3,00)
EF; %	57,50 (50,00-60,00)
Preoperatif HbA1C; %	5,00 (4,05-6,50)
İntraoperatif nöromuskuler bloker; mg	80,00 (70,00-80,00)
İntraoperatif fentanil; µg	1100,00 (1050,00-1150,00)
İntraoperatif remifentanil; µg	2050,00 (1962,50-2100,00)
İntraoperatif desfluran; %	5,00 (4,00-6,00)
Krosklemp süresi; dk	46,00 (0,00-63,75)
KPB süresi; dk	80,00 (0,00-107,50)
KPB süresince ısı; °C	33,80 (33,00-34,07)
İntraoperatif glukoz düzeyi, mg	100,00 (90,25-124,00)
İntraoperatif hemoglobin; mg/dL	10,50 (10,00-12,00)
İntraoperatif hematokrit; %	32,00 (29,25-35,75)
Anestezi süresi; saat	5,00 (4,00-6,00)
Cerrahi sonu rSO <sub>2</sub> (sağ), %	66,00 (62,00-68,00)
Cerrahi sonu rSO <sub>2</sub> (sol), %	64,50 (60,00-67,00)
Cerrahi sonu PaO <sub>2</sub> ; mmHg	185,50 (142,25-238,75)
Cerrahi sonu sıvı balansı; ml	800,00 (525,00-1237,50)
Ekstübasyon süresi; saat	5,25 (5,00-6,75)
Yoğun bakım süresi; gün	3,00 (3,00-4,00)
Taburculuk süresi; gün	8,00 (7,00-8,25)
MMDT skoru (preoperatif)	25,00 (24,00-27,00)
MMDT skoru (7. gün)	24,00 (21,00-25,00)
MMDT skoru (8. hafta)	25,00 (23,00-26,00)

Veriler n (%), ortalama ± standart sapma ve medyan (25.-75. yüzdeler) olarak sunulmuştur.

ASA: American Society of Anesthesiologists-Amerikan Anestezi Derneği, AF: Atrial fibrilasyon, BMI: Body mass index-Vücut kitle indeksi, EF: Ejeksiyon fraksiyonu, KPB: Kardiyopulmoner bypass, rSO<sub>2</sub>: Serebral bölgesel oksijen saturasyonu, MMDT: Mini mental durum testi

**Tablo 2.** Postoperatif 7. günde postoperatif bilişsel bozukluk gelişen ve gelişmeyen hastaların karşılaştırılması

	POBB (+) n=40	POBB (-) n=64	p
ASA; II/III	3/37 (7,5/92,5)	9/55 (11,5/88,5)	0,363
Cinsiyet; Kadın/Erkek	15/25 (37,5/62,5)	22/42 (34,4/65,6)	0,910
Cerrahi; Kapak/Koroner/Kapak ve koroner	9/27/4 (23,5/66,5/10,0)	6/52/6 (9,4/81,2/9,4)	0,170
Eşlik eden hastalık; Var/Yok	29/11 (72,5/27,5)	47/17 (73,4/26,6)	1,00
Polifarmasi; Evet/Hayır	21/19 (52,5/47,5)	35/29 (54,7/45,3)	0,988
Preoperatif AF; Var/Yok	11/29 (27,5/72,5)	13/51 (20,3/79,7)	0,544
Preoperatif Anemi; Var/Yok	20/20 (50,0/50,0)	34/30 (53,1/46,9)	0,914
Karotis darlığı; Var/Yok	3/37 (7,5/92,5)	4/60 (6,3/93,7)	NA
Periferik arter hastalığı; Var/Yok	6/34 (15,0/85,0)	6/58 (9,4/90,6)	0,530
Pump; On/Off	30/10(75,0/25,0)	43/21(67,2/32,8)	0,531
İntraoperatif kan replasmanı; Var/Yok	22/18 (55,0/45,0)	35/29 (54,7/45,3)	1,000
İntraoperatif hipotansiyon; Var/Yok	38/2 (95,0/5,0)	56/8 (87,5/12,5)	0,310
Postoperatif AF; Var/Yok	15/25 (37,5/62,5)	13/51 (20,3/79,7)	0,090
Yaş; yıl	63,5(59,25-66,75)	55,0 (50,0-60,0)	<b>&lt;0,001</b>
BMI; kg/m <sup>2</sup>	29,0 (26,0-33,0)	27,5 (25,0-32,0)	0,585
EUROSCORE II	3,0 (2,0-5,0)	3,0 (1,0-3,0)	<b>0,009</b>
EF; %	55,0 (50,0-60,0)	60,0 (50,0-60,0)	0,754
Preoperatif HbA1C; %	5,5 (4,13-6,5)	5,0 (4,05-6,48)	0,893
İntraoperatif nöromuskuler bloker; mg	80,0 (70,0-80,0)	80,0 (70,0-80,0)	0,906
İntraoperatif fentanil; µg	1100,0 (1050,0-1120,0)	1100,0 (1012,0-1150,0)	0,867
İntraoperatif remifentanil; µg	2050,0 (2000,0-2137,5)	2050,0 (1950,0-2100,0)	0,652
İntraoperatif desfluran; %	5,0 (4,0-6,0)	5,0 (4,25-6,00)	0,837
Krosklemp süresi; dk	50,0 (10,0-78,5)	45,0 (0-54,5)	0,059
KPB süresi; dk	89,0 (18,75-125,75)	80,0 (0,0-95,0)	0,083
KPB süresince ısı; °C	33,90 (33,10-34,10)	33,80 (32,92-34,00)	0,176
İntraoperatif glukoz düzeyi; mg	104,5 (90,0-125,75)	99,0 (92,25-120,0)	0,820
İntraoperatif hemoglobin; mg/dL	10,5 (10,0- 11,9)	10,6 (9,7-12,0)	0,631
İntraoperatif hematokrit; %	30,5 (29,25-34,0)	32,0 (28,5-36,0)	0,371
Anestezi süresi; saat	5,0 (4,63-6,0)	5,0 (4,0-6,0)	0,174
Cerrahi sonu rSO <sub>2</sub> (sağ), %	66,0 (61,25-68,0)	66,0 (62,25-68,0)	0,830
Cerrahi sonu rSO <sub>2</sub> (sol), %	65,0 (60,25-67,0)	64,0 (60,0-67,75)	0,740
Cerrahi sonu PaO <sub>2</sub> ; mmHg	178,0 (144,5-223,0)	191,5 (145,25-240,0)	0,155
Cerrahi sonu sıvı balansı; ml	675,0 (500,0-1000,0)	800,0 (600,0-1200,0)	0,224
Ekstübasyon süresi; saat	6,0 (5,0-7,0)	5,0 (5,0-6,0)	0,956
Yoğun Bakım Süresi; gün	3,0 (3,0-4,0)	3,0 (2,0-4,0)	<b>0,048</b>
Taburculuk süresi; gün	8,0 (7,0-8,0)	8,0 (7,0-9,0)	0,780
MMDT skoru (preoperatif)	25,0 (24,0-26,0)	26,0 (25,0-27,0)	<b>0,002</b>

Veriler n (%), ortalama ± standart sapma ve medyan (25.-75. yüzdellik) olarak sunulmuştur.

NA: Not applicable (Ki-kare testi varsayımları sağlanamadığından uygulanamadı). ASA: American Society of Anesthesiologists-Amerikan Anestezi Derneği, AF: Atrial fibrilasyon, BMI: Body mass index-Vücut kitle indeksi, EF: Ejeksiyon fraksiyonu, KPB: Kardiyopulmoner bypass, rSO<sub>2</sub>: Serebral bölgesel oksijen saturasyonu, MMDT: Mini mental durum testi

**Tablo 3.** Postoperatif 8. haftada postoperatif bilişsel bozukluk gelişen ve gelişmeyen hastaların karşılaştırılması

	POBB (+) n=23	POBB (-) n=81	p
ASA; II/III	1/22 (4,3/95,7)	11/70 (13,6/86,4)	0,293
Cinsiyet; Kadın/Erkek	10/13 (43,5/56,5)	27/54 (33,3/66,7)	0,516
Cerrahi; Kapak/Koroner/Kapak ve koroner	4/17/2 (17,4/73,9/8,7)	11/62/8 (13,6/76,5/9,9)	0,919
Eşlik eden hastalık; Var/Yok	16/7 (69,6/30,4)	60/21 (74,1/25,9)	0,870
Polifarmasi; Evet/Hayır	15/8 (65,2/34,8)	41/40(50,6/49,4)	0,316
Preoperatif AF; Var/Yok	5/18 (21,7/78,3)	19/62 (23,5/76,5)	1,000
Preoperatif Anemi; Var/Yok	12/11 (52,2/47,8)	42/39 (51,9/48,1)	1,000
Karotis darlığı; Var/Yok	3/20 (13,0/87,0)	4/77 (4,9/95,1)	0,180
Periferik arter hastalığı; Var/Yok	2/21 (8,7/91,3)	10/71(12,3/87,7)	1,000
Pump; On/Off	17/6 (73,9/26,1)	56/25 (69,1/30,9)	0,854
İntraoperatif kan replasmanı; Var/Yok	14/9 (60,9/39,1)	43/38 (53,1/46,9)	0,671
İntraoperatif hipotansiyon; Var/Yok	22/1 (95,7/4,3)	72/9 (88,9/11,1)	0,452
Postoperatif AF; Var/Yok	6/17 (26,1/73,9)	22/59 (27,2/77,8)	1,000
Yaş; yıl	64,0 (62,0-68,0)	56,0 (50,5-62,0)	<b>&lt;0,001</b>
BMI; kg/m <sup>2</sup>	29,0 (26,0-33,0)	29,0 (25,0-32,5)	0,934
EUROSCORE II	3,0 (2,0-5,0)	3,0 (1,0-3,0)	0,083
EF; %	60,0 (50,0-60,0)	55,0 (50,0-60,0)	0,881
Preoperatif HbA1C; %	5,5 (4,5-6,5)	5,0 (4,0-6,45)	0,432
İntraoperatif nöromuskuler bloker; mg	80,0 (70,0-80,0)	80,0 (70,0-80,0)	0,935
İntraoperatif fentanil; µg	1100,0 (1000,0- 1120,0)	1100,0 (1050,0-1150,0)	0,502
İntraoperatif remifentanil; µg	2000,0 (1950,0-2200,0)	2050,0 (2000,0-2100,0)	0,843
İntraoperatif desfluran; %	5,0 (5,0-6,0)	5,0 (4,0-6,0)	0,201
Krosklemp süresi; dk	50,0 (0,0-71,0)	45,0 (0,0-58,0)	0,474
KPB süresi; dk	88,0 (0,0-115,0)	80,0 (0,0-105,0)	0,688
KPB süresince ısı; °C	33,8 (32,90-34,0)	33,9 (33,0-34,1)	0,379
İntraoperatif glukoz düzeyi, mg	106,0 (91,0-126,0)	100,0 (90,0-123,5)	0,799
İntraoperatif hemoglobin; mg/dL	10,5 (10,0-12,0)	10,5 (9,6-12,0)	0,677
İntraoperatif hematokrit; %	31,0 (30,0-34,0)	32,0 (28,0-36,0)	0,747
Anestezi süresi; saat	5,0 (4,0-6,0)	5,0 (4,0-6,0)	0,581
Cerrahi sonu rSO <sub>2</sub> (sağ), %	65,0 (60,0-67,0)	64,0 (60,5-68,0)	0,225
Cerrahi sonu rSO <sub>2</sub> (sol), %	65,0 (60,0-67,0)	64,0 (60,5-68,0)	0,884
Cerrahi sonu PaO <sub>2</sub> ; mmHg	185,0 (149,0-240,0)	185,0 (142,0-236,5)	0,582
Cerrahi sonu sıvı balansı; ml	700,0 (500,0-900,0)	800,0 (550,0-1200,0)	0,113
Ekstübasyon süresi; saat	6,0 (5,0-7,0)	5,0 (5,0-6,5)	0,736
Yoğun Bakım Süresi; gün	3,0 (3,0-4,0)	3,0 (3,0-4,0)	0,574
Taburculuk süresi; gün	8,0 (7,0-8,0)	8,0 (7,0-9,0)	0,575
MMDT skoru (preoperatif)	24,0 (24,0-26,0)	26,0 (25,0-27,0)	<b>0,010</b>
MMDT skoru 7. gün	19,0 (17,0-21,0)	24,0 (23,0-25,0)	<b>&lt;0,001</b>

Veriler n (%), ortalama ± standart sapma ve medyan (25.-75. yüzdellik) olarak sunulmuştur.

ASA: American Society of Anesthesiologists-Amerikan Anestezi Derneği, AF: Atrial fibrilasyon, BMI: Body mass index-Vücut kitle indeksi, EF: Ejeksiyon fraksiyonu, KPB: Kardiyopulmoner bypass, rSO<sub>2</sub>: Serebral bölgesel oksijen saturasyonu, MMDT: Mini mental durum testi

**Açıklamalar**

Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği 57. Ulusal Kongresinde sözlü sunu olarak paylaşılmıştır.

**Etik Standartlara Uygunluk**

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan tarihinde GOKAEK-2020/20.02 koduyla etik kurul onayı alınmıştır.

**Çıkar Çatışması**

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

**Yazar Katkısı**

TÇ: Çalışma tasarımı, kaynak taraması, analiz ve makale yazımı; ZT: Veri toplanması, kaynak taraması, makale yazımı; NNY: Kaynak taraması; SG: Veri toplanması; HY: Veri toplanması; ŞY: Makale yazımı

**Finansal Destek**

Bu çalışma için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

**Teşekkür**

Çalışmamızın istatistiksel analizine olan katkılarından dolayı Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sibel Balcı'ya teşekkür ederiz.

**Kaynaklar**

- Berger M, Nadler JW, Browndyke J, et al. Postoperative cognitive dysfunction: minding the gaps in our knowledge of a common postoperative complication in the elderly. *Anesthesiol Clin*. 2015;33(3):517-550. doi:10.1016/j.anclin.2015.05.008
- Norkienė I, Samalavičius R, Misiūrienė I, Paulauskienė K, Budrys V, Ivaškevičius J. Incidence and risk factors for early postoperative cognitive decline after coronary artery bypass grafting. *Medicina (Mex)*. 2010;46(7):460. doi:10.3390/medicina46070066
- Relander K, Hietanen M, Rantanen K, et al. Postoperative cognitive change after cardiac surgery predicts long-term cognitive outcome. *Brain Behav*. 2020;10(9):e01750. doi:10.1002/brb3.1750
- Newman MF, Kirchner JL, Phillips-Bute B, et al. Longitudinal assessment of neurocognitive function after coronary-artery bypass surgery. *N Engl J Med*. 2001;344(6):395-402. doi:10.1056/NEJM200102083440601
- Moller JT, Cluitmans P, Rasmussen LS, et al. Long-term postoperative cognitive dysfunction in the elderly: ISPOCD1 study. *The Lancet*. 1998;351(9106):857-861. doi:10.1016/s0140-6736(97)07382-0
- Sidebotham D. *Cardiothoracic Critical Care*. Elsevier Health Sciences; 2007.
- Greaves D, Psaltis PJ, Davis DH, et al. Risk factors for delirium and cognitive decline following coronary artery bypass grafting surgery: a systematic review and meta-analysis. *J Am Heart Assoc*. 2020;9(22):e017275. doi:10.1161/JAHA.120.017275
- Berian JR, Zhou L, Russell MM, et al. Postoperative delirium as a target for surgical quality improvement. *Ann Surg*. 2018;268(1):93-99. doi:10.1097/SLA.0000000000002436
- Van Harten AE, Scheeren TWL, Absalom AR. A review of postoperative cognitive dysfunction and neuroinflammation associated with cardiac surgery and anaesthesia. *Anaesthesia*. 2012;67(3):280-293. doi:10.1111/j.1365-2044.2011.07008.x
- Gazioğlu TG, Karadeniz Ü, Demir ZA, et al. Açık kalp cerrahisinde kapak ve koroner ameliyatlarında serebral oksijenasyon monitörizasyonu. *Göğüs Kalp Damar Anestezi ve Yoğun Bakım Derneği Derg*. 2017;23(1):8-14. doi:10.5222/GKDAD.2017.008
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state": a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975;12(3):189-198. doi:10.1016/0022-3956(75)90026-6
- Güngen C, Ertan T, Eker E, Yaşar R, Engin F. Standardize mini mental test'in Türk toplumunda hafif demans tanısında geçerlik ve güvenilirliği. *Türk Psikiyatri Derg*. 2002;13(4):273-281.
- Selnes OA, Gottesman RF, Grega MA, Baumgartner WA, Zeger SL, McKhann GM. Cognitive and neurologic outcomes after coronary-artery bypass surgery. *N Engl J Med*. 2012;366(3):250-257. doi:10.1056/NEJMra1100109
- Kok WF, Van Harten AE, Koene B, et al. A pilot study of cerebral tissue oxygenation and postoperative cognitive dysfunction among patients undergoing coronary artery bypass grafting randomised to surgery with or without cardiopulmonary bypass. *Anaesthesia*. 2014;69(6):613-622. doi:10.1111/anae.12634
- Rasmussen LS, Larsen K, Houx P, et al. The assessment of postoperative cognitive function. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2001;45(3):275-289. doi:10.1034/j.1399-6576.2001.045003275.x
- Mahanna EP, Blumenthal JA, White WD, et al. Defining neuropsychological dysfunction after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg*. 1996;61(5):1342-1347. doi:10.1016/0003-4975(95)01095-5
- Van Dijk D, Jansen EW, Hijman R, et al. Cognitive outcome after off-pump and on-pump coronary artery bypass graft surgery: a randomized trial. *Jama*. 2002;287(11):1405-1412. doi:10.1001/jama.287.11.1405
- Lamont RA, Swift HJ, Drury L. Understanding perceived age-based judgement as a precursor to age-based stereotype threat in everyday settings. *Front Psychol*. 2021;12:640567. doi:10.3389/fpsyg.2021.640567
- Thames AD. Conducting a culturally informed neuropsychological evaluation. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2018;33(2):254-256. doi:10.1093/arclin/acx057
- De Marchis GM, Foderaro G, Jemora J, et al. Mild cognitive impairment in medical inpatients: the Mini-Mental State Examination is a promising screening tool. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2010;29(3):259-264. doi:10.1159/000288772
- Ballard C, Jones E, Gauge N, et al. Optimised anaesthesia to reduce post operative cognitive decline (POCD) in older patients undergoing elective surgery, a randomised controlled trial. *PLoS One*. 2012;7(6):e37410. doi:10.1371/journal.pone.0037410
- Monk TG, Weldon BC, Garvan CW, et al. Predictors of cognitive dysfunction after major noncardiac surgery. *J Am Soc Anesthesiol*. 2008;108(1):18-30. doi:10.1097/01.anes.0000296071.19434.1e
- Caldas JR, Haunton VJ, Panerai RB, Hajjar LA, Robinson TG. Cerebral autoregulation in cardiopulmonary bypass surgery: a systematic review. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2018;26(3):494-503. doi:10.1093/icvts/ivx357



24. Glas KE, Swaminathan M, Reeves ST, et al. Guidelines for the performance of a comprehensive intraoperative epiaortic ultrasonographic examination: recommendations of the American Society of Echocardiography and the Society of Cardiovascular Anesthesiologists; endorsed by the Society of Thoracic Surgeons. *J Am Soc Echocardiogr.* 2007;20(11):1227-1235. doi:10.1016/j.echo.2007.09.001
25. Marasco SF, Sharwood LN, Abramson MJ. No improvement in neurocognitive outcomes after off-pump versus on-pump coronary revascularisation: a meta-analysis. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2008;33(6):961-970. doi:10.1016/j.ejcts.2008.03.022
26. Møller CH, Perko MJ, Lund JT, et al. No major differences in 30-day outcomes in high-risk patients randomized to off-pump versus on-pump coronary bypass surgery: the best bypass surgery trial. *Circulation.* 2010;121(4):498-504. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.880443
27. Aykut K, Albayrak G, Guzeloglu M, Hazan E, Tufekci M, Erdoğan I. Pulsatile versus non-pulsatile flow to reduce cognitive decline after coronary artery bypass surgery: a randomized prospective clinical trial. *J Cardiovasc Dis Res.* 2013;4(2):127-129. doi:10.1016/j.jcdr.2013.05.005
28. O'Neil MP, Fleming JC, Badhwar A, Guo LR. Pulsatile versus nonpulsatile flow during cardiopulmonary bypass: microcirculatory and systemic effects. *Ann Thorac Surg.* 2012;94(6):2046-2053. doi:10.1016/j.athoracsur.2012.05.065
29. Ono M, Joshi B, Brady K, et al. Risks for impaired cerebral autoregulation during cardiopulmonary bypass and postoperative stroke. *Br J Anaesth.* 2012;109(3):391-398. doi:10.1093/bja/aes148
30. Nomura Y, Faegle R, Hori D, et al. Cerebral small vessel, but not large vessel disease, is associated with impaired cerebral autoregulation during cardiopulmonary bypass: a retrospective cohort study. *Anesth Analg.* 2018;127(6):1314-1322. doi:10.1213/ANE.0000000000003384
31. Henriksen L, Hjelms E, Lindeburgh T. Brain hyperperfusion during cardiac operations: cerebral blood flow measured in man by intra-arterial injection of xenon 133: evidence suggestive of intraoperative microembolism. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1983;86(2):202-208.
32. Larsen MH, Draegert C, Vedel AG, et al. Long-term survival and cognitive function according to blood pressure management during cardiac surgery. A follow-up. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2020;64(7):936-944. doi:10.1111/aas.13595
33. Joshi B, Ono M, Brown C, et al. Predicting the limits of cerebral autoregulation during cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg.* 2012;114(3):503-510. doi:10.1213/ANE.0b013e31823d292a
34. Brady K, Joshi B, Zweifel C, et al. Real-time continuous monitoring of cerebral blood flow autoregulation using near-infrared spectroscopy in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Stroke.* 2010;41(9):1951-1956. doi:10.1161/STROKEAHA.109.575159
35. Colak Z, Borojevic M, Bogovic A, Ivancan V, Biocina B, Majeric-Kogler V. Influence of intraoperative cerebral oximetry monitoring on neurocognitive function after coronary artery bypass surgery: a randomized, prospective study. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2015;47(3):447-454. doi:10.1093/ejcts/ezu193
36. Liu T, Deng R, Wang X, et al. Mechanisms of hypoxia in the hippocampal CA3 region in postoperative cognitive dysfunction after cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Surg.* 2022;17(1):1-11. doi:10.1186/s13019-022-01865-z
37. Onur T, Karaca Ü, Ata F, et al. Intraoperative hyperoxygenation may negatively affect postoperative cognitive functions in coronary artery bypass graft operations: A randomized controlled study. *J Card Surg.* 2022;37(9):2552-2563. doi:10.1111/jocs.16661
38. Berger M, Browndyke J, Mathew JP. Intraoperative glycemic control to prevent delirium after cardiac surgery: steering a course between Scylla and Charybdis. *Anesthesiology.* 2015;122(6):1186-1188. doi:10.1097/ALN.0000000000000670
39. Puskas F, Grocott HP, White WD, Mathew JP, Newman MF, Bar-Yosef S. Intraoperative hyperglycemia and cognitive decline after CABG. *Ann Thorac Surg.* 2007;84(5):1467-1473. doi:10.1016/j.athoracsur.2007.06.023
40. Mathew JP, Mackensen GB, Phillips-Bute B, et al. Effects of extreme hemodilution during cardiac surgery on cognitive function in the elderly. *J Am Soc Anesthesiol.* 2007;107(4):577-584. doi:10.1097/01.anes.0000281896.07256.71
41. Schifilliti D, Grasso G, Conti A, Fodale V. Anaesthetic-related neuroprotection: intravenous or inhalational agents? *CNS Drugs.* 2010;24(11):893-907. doi:10.2165/11584760-000000000-00000
42. Bocskai T, Kovács M, Szakács Z, et al. Is the bispectral index monitoring protective against postoperative cognitive decline? A systematic review with meta-analysis. *PLoS One.* 2020;15(2):e0229018. doi:10.1371/journal.pone.0229018

## Research Article / Araştırma Makalesi

# THE EFFECTS OF SELECTIVE COURSES ON STUDENT SATISFACTION AND ATTITUDES IN MEDICAL EDUCATION: THE CASE OF KOCAELİ MEDICAL FACULTY

## TIP EĞİTİMİNDE SEÇMELİ DERSLERİN ÖĞRENCİ MEMNUNİYETİ VE TUTUMLARINA ETKİSİ: KOCAELİ TIP FAKÜLTESİ ÖRNEĞİ

 Tuncay Çolak<sup>1</sup>,  Pınar Daylan Koçkaya<sup>2</sup>,  Mehmet Deniz Yener<sup>1</sup>,   Emre Kaygın\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Anatomy, İzmit, Kocaeli, Türkiye. <sup>2</sup>Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Anesthesiology and Reanimation, İzmit, Kocaeli, Türkiye.



### ABSTRACT

**Objective:** Elective courses offer students opportunities to gain knowledge and improve themselves in different fields. Therefore, it is important to examine the effects of elective courses on student satisfaction and attitudes. The purpose of this study is to examine the variability of the effect of elective courses on student satisfaction and attitudes with gender and board grades.

**Methods:** A total of 102 students (46 females, 56 males) from our faculty participated in the online elective course satisfaction survey (ECSS), which consisted of 25 questions with five options prepared using the Likert scale. The responses to the survey were analyzed using IBM SPSS Statistics 25 program.

**Results:** Regarding the question "Do you think the course you've chosen contributes to your school grades?" 49.1% of women responded negatively, while 79.3% of men gave a negative response ( $p<0.05$ ). For the question "Do you think the course you've chosen will contribute to your future career?" 72.2% of women gave a positive response, while only 40% of men gave a positive response ( $p<0.05$ ). When asked about the sufficiency and competence of the course instructor, 94.4% of women gave a positive response, whereas 66.7% of men gave a positive response ( $p<0.05$ ). Regarding the question "Does the influence of your expectations for your future academic life affect your choice of course?" 23.5% of students with a grade below 80 gave a positive response, while 52.4% of those with a grade above 80 gave a positive response, and a statistically significant difference was found ( $p<0.05$ ). **No significant difference was found in the other questions.**

**Conclusion:** It was observed that female students have higher academic expectations than male students, they make more thoughtful choices when selecting courses to meet their academic expectations, they are more likely to believe that the instructor teaching the course is well-equipped compared to males, and as the student's academic achievement level increases, it is believed that elective courses contribute more to academic life.

**Keywords:** Elective Course, Medical Education, Student Satisfaction.

### Öz

**Amaç:** Seçmeli dersler öğrencilere farklı alanlarda bilgi edinme ve kendilerini geliştirme fırsatları sunar. Bu nedenle, seçmeli derslerin öğrenci memnuniyeti ve tutumları üzerindeki etkilerini incelemek önemlidir. Bu çalışmanın amacı seçmeli derslerin öğrenci memnuniyet ve tutumlarına olan etkisinin cinsiyet ve kurul notları ile olan değişkenliğini incelemektir.

**Yöntem:** Likert ölçeği kullanılarak hazırlanan 5 seçenekli 25 soruluk online seçmeli ders memnuniyet anketine (SDMA) fakültemiz 102 öğrenci (46 kadın, 56 erkek) katılmıştır. Ankete verilen cevaplar IBM SPSS Statistics 25 programı kullanılarak analiz edilmiştir.

**Bulgular:** "Seçtiğiniz dersin okul notlarınıza katkı sağlayıp sağlamadığını düşünüyor musunuz?" sorusuna kadınların kadınların %49,1'i olumsuz yanıt verirken, erkeklerin %79,3'ü olumsuz yanıt vermişlerdir ( $p<0.05$ ). Seçtiğiniz dersin gelecekteki kariyerinize katkı sağlayacağını düşünüyor musunuz?" sorusuna kadınların %72,2'si olumlu yanıt verirken, sadece erkeklerin %40'ı olumlu yanıt vermişlerdir ( $p<0.05$ ). "Dersi veren öğretim üyesi yeterli ve donanımlı mıydı?" sorusuna kadınların %94,4'ü olumlu yanıt verirken, erkeklerin %66,7'si olumlu yanıt vermişlerdir ( $p<0,05$ ). "Dersi seçmenizde ilerideki akademik hayatınızla ilgili beklentilerinizin etkisi oluyor mu? sorusuna başarı notu 80'in altında olan öğrencilerin %23,5'i olumlu cevap verirken başarı notu 80'in üstünde olanların %52,4'ü olumlu cevap vermişlerdir ( $p<0,05$ ). Diğer sorularda anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

**Sonuç:** Kadın öğrencilerin erkek öğrencilerden daha fazla akademik beklenti içinde olduğu, ders seçerken daha fazla düşünerek ve akademik beklentilerini karşılayacak ders seçimleri yaptığı, dersi veren öğretim üyesinin donanımlı olduğunu erkeklere oranla daha fazla düşündüğü ve öğrenci başarı düzeyi yükseldikçe seçmeli derslerin akademik hayata katkısının daha fazla olacağını düşünülüyor görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Seçmeli ders, Tıp eğitimi, Öğrenci memnuniyeti.

## Introduction

In the context of medical education, elective courses are regarded as a significant phenomenon. They enable students to explore their areas of interest and experiment with their knowledge and experiences, guided by the outcomes of their choices.<sup>1</sup> This approach, which forms an essential component of educational diversity, can reshape educational policies by providing students with the opportunity to focus on their areas of interest.<sup>2</sup> Learning is fundamentally a physiological process, and it can become more effective when supported by appropriate enriching environments or pedagogical methods.<sup>3</sup> These experiences require the continuity of changes in attention, movement, and behavior to transform learning into a sustainable process of change. It can be thought that the effect of elective courses taken by medical faculty students on their social lives and course success is an important issue that needs to be examined.<sup>4</sup> Learning extends beyond the confines of educational periods and continues as a lifelong process. The effective shaping and direction of this process are critical for the validity of educational methodologies. Students acquire the necessary knowledge and skills through this continuous learning journey, adapting to educational environments and steering their lives appropriately during this phase. Elective course curricula should also support this process.<sup>5,6</sup>

The implementation of elective courses among medical students is generally regarded positively.<sup>7</sup> This approach reflects their favorable attitudes towards case-based learning, highlighting the necessity of integrating this learning style into the medical education curriculum.<sup>8</sup> Elective courses in medical school curricula offer a multitude of benefits.<sup>9</sup> Foremost among these is the opportunity they provide for students to engage deeply in a diverse array of disciplines beyond the traditional scope of medicine. This aspect of elective courses facilitates an expansive and comprehensive educational experience.<sup>10</sup> Moreover, elective courses can help diversify students' learning experiences.<sup>11</sup> They are considered an important educational tool for medical students, offering them the chance to acquire knowledge in different areas, personalize their learning experiences, and enhance the variety of their learning. Therefore, incorporating elective courses into the medical education curriculum is a crucial way to provide students with a richer and more personalized educational experience.<sup>12</sup>

In this context, elective courses provide students with opportunities to acquire knowledge in different fields and improve themselves.<sup>13</sup> The aim of this study is to examine the effects of elective courses in the field of medical education on students' success, gender and social life. Our research aims to determine how the courses students choose according to their personal interests contribute to their career goals and personal development. In this context, our research question is as follows: "What are the effects of elective courses in medical education on students' learning experiences and social interactions?"

This question aims to deeply analyze the potential advantages and challenges of integrating electives into the medical education curriculum on student development.

## Methods

### Participants and Survey Method

The study was conducted with the approval of the ethics committee (Ethics Committee Approval Number: E-80418770-020-408333) at Kocaeli University Faculty of Medicine. A 25-item questionnaire, prepared using a Likert scale with five options: "definitely no," "no," "undecided," "yes," and "definitely yes," was administered to second-year students at Kocaeli University Faculty of Medicine. Students were instructed to provide objective responses to the questions. Student expectations, personal experiences, and satisfaction levels from elective courses have been evaluated based on their responses. While providing these responses, gender distinctions and their grade levels from the most recent final exams were also considered to observe if there was any significant variation in the answers. Participation in the survey was entirely voluntary, and a total of 102 students (46 female, 56 male) 34.6% participated.

The research method employed is based on a five-point Likert scale. This approach is designed to gather information on a subject by providing a neutral option for participants who may be reluctant to choose extreme options in research designs. Our study involved Term-2 students who enrolled in elective courses during the Fall semester of the 2022-2023 academic year. The survey was administered to the participants in the subsequent term following the conclusion of the courses. Participation was entirely voluntary. Each student was required to choose one elective course. Among the courses selected by participants, 12 were in the pre-clinical field, 4 in clinical, and 14 in non-medical areas. The survey was administered to students online via the Online Forms survey application. This approach aimed to reach a larger number of participants more easily and facilitate data analysis.

The survey included questions about students' age, gender, grade point average, daily study hours, as well as specific questions related to the purpose of the study, such as the elective courses they had chosen, why they had chosen those courses, the contribution of these courses to their academic and post-educational lives, and their thoughts about the instructors of these courses.

When preparing the survey, care was taken to ensure that the questions were objective and understandable, and that they allowed for short and clear answers. Questions were presented to students with response options in the form of "definitely no," "no," "undecided," "yes," and "definitely yes," enabling students to provide objective responses within a wide framework. Additionally, open-ended questions were included to allow students to express their thoughts in their own words, ensuring that the survey remained student-focused and objective. Only

second-year students were included in the survey, in accordance with the regulations of Kocaeli University Faculty of Medicine's education, teaching, and examination regulations, which allow students to select elective courses. Students who selected multiple elective courses were not included in the study.

### Statistical Analysis

The responses given by the students were analyzed using the IBM SPSS Statistics 25 program. In this program, responses of "definitely no" and "no" were considered negative, while responses of "yes" and "definitely yes" were considered positive. Those who selected the "undecided" option were also included in the statistics, and a triple correlation was examined. The relationship between negative, positive, and undecided responses to the questions and gender and grades was investigated. This statistical analysis was conducted using the IBM SPSS Statistics 25 program and correlations were examined using the Chi-Square test, with p-values determined.

As the average grade of the students participating in the study was 87.62 ( $\pm 10.31$ ), and considering that students with an average score of 80 or above in the university's medical faculty have the right to pass the final exam without taking it, this score was accepted as 80 when analyzing the relationship between the grade and the given responses.

Since statistically significant differences were found only in 4 questions, the table of these 4 questions is provided in the findings section. Tables for questions without statistically significant differences are not included.

### Results

Of the 102 students who participated in the study, 54.9% were male (56 individuals), and 45.1% were female (46 individuals). The average grade point average of the participating students was  $87.62 \pm 10.31$ , and their average age was  $20.35 \pm 0.95$  (Table 1). The percentage distribution of responses to the 5-item questionnaire, prepared using a Likert scale and administered to the participating students, is presented in Table 2. In response to the open-ended questions we posed to participants, we primarily encountered brief, emotion-expressing answers, often consisting of a single word or a short phrase. Due to the inability to categorize these responses in detail, they were broadly classified into positive and negative categories. Among the negative responses, four main themes emerged: 'being online,' 'examination pressure,' 'lack of practical application,' and 'ineffectiveness.' The remaining 94 responses were either positively inclined or comprised statements equivalent to 'None.'

### Discussion

In medical education, "elective courses" play an important role and offer various contributions and benefits to students.<sup>4</sup> Beyond the traditional medical curriculum,

elective courses allow students to explore their areas of interest. Elective courses provide medical students with the opportunity to delve into different subject areas beyond the field of medicine.<sup>14</sup> This enables students to discover their own areas of interest and deepen their knowledge in these areas. Such experiences can help students determine their future career preferences.<sup>10</sup> Internal motivation is an important concept for understanding students' interest and commitment to the learning process.<sup>15</sup> In a study conducted by Ferrer Caja et al.<sup>16</sup> In 2002, they aimed to validate a model that influenced students' internal motivation. They found that students were more eager and engaged in courses they found exciting and enjoyable. Moreover, it was stated that the topics in courses with a high likelihood of selection were within the students' areas of interest.<sup>17</sup> In our study, when we asked students whether their personal interests and current hobbies affect their choice of courses, 47.5% of the students answered "yes," while 12.9% answered "definitely yes" (Table 2). Similarly, medical students responded with "yes" in 55% of the cases and "definitely yes" in 11% of the cases when asked if their personal abilities/interests influence their course selection (Table 2). Female participants significantly answered yes to the question "Does your future academic life affect your choice of course?" This indicates that female students among the participants have a more positive approach to elective courses in our study. Consistent with the literature, it is seen that most medical students are influenced by their areas of interest in their course choices.<sup>2,14</sup>

**Table 1.** Demographic characteristics, grades, and age averages of participating students. Chi-Square test.

	INDIVIDUALS	AVERAGE GRADE	AVERAGE AGE
FEMALE	46	85.41 ( $\pm 9.77$ )	20.3 ( $\pm 1.18$ )
MALE	56	88.91 ( $\pm 10.12$ )	20.39 ( $\pm 1.24$ )
TOTAL	102	87.62 ( $\pm 10.31$ )	20.35 ( $\pm 0.95$ )

Medical education is a complex and intensive process. However, each student has a different learning style and pace.<sup>8</sup> Therefore, providing personalized learning experiences for medical students should be considered an important teaching strategy. Elective courses represent an effective way to provide these personalized experiences in medical education and hold great importance in many aspects.<sup>4</sup> Elective courses offer students the opportunity to personalize their learning experiences. These courses grant students the freedom to choose courses that align with their own learning needs and goals.<sup>2</sup> Considering that each student comes to medical education with a different background and has different areas of interest, elective courses offer students the opportunity to select courses that match their interests and abilities.<sup>3</sup> This allows students to focus on their areas of interest, potentially making their education more meaningful and satisfying.<sup>8</sup> Medical specialization is becoming increasingly important, and elective courses provide students with the

opportunity to determine their future areas of expertise and delve deeper into those areas. This can assist students in defining their career goals and may aid them in achieving these goals.<sup>4</sup> For medical students, elective courses serve as an important tool for personalized learning experiences.<sup>13</sup> These experiences can increase students' motivation, help shape their career aspirations, and enhance their independent learning skills.<sup>10</sup> Therefore, the emphasis placed on elective courses in medical education can contribute to the successful graduation and future success of students as medical professionals.<sup>2,4</sup> In our study, when we asked medical students whether their chosen courses contribute to their personal development, we received a 68% affirmative response (Table 2). Similarly, the literature also

emphasizes the positive contributions of personalized learning experiences to the success of medical students. These new methods can lead to the methodological improvement of teaching.<sup>10,18</sup>

In medical education, elective courses play a significant role and provide various contributions and benefits to students. Students can gain additional knowledge and experience in areas of interest or fields they aspire to specialize in.<sup>3</sup> Through elective courses, students have the opportunity to explore different medical specialties and acquire more knowledge in areas that interest them. This helps students make more informed decisions about their future career preferences.<sup>10</sup> Additionally, it can assist medical students in making more suitable choices for their future specialization and accelerating their professional

**Table 2.** Survey questions and the percentages of responses from students.

	0-9	10-14	15-24	25-30	30+
<b>How many hours do you study per week after school?</b>	35.29%	11.76%	19,6%	30.39%	2.94%
	<b>Yes</b>	<b>No</b>			
<b>Have you experienced semester failure?</b>	6.9%	93.1%			
	<b>Definitely No</b>	<b>No</b>	<b>Undecided</b>	<b>Yes</b>	<b>Definitely Yes</b>
<b>Does your choice of courses depend on your expectations for your future academic life?</b>	8.9%	23.8%	19.8%	43.6%	4%
<b>Does your selection of courses depend on your personal interests and current hobbies?</b>	5.9%	16.8%	16.8%	47.5%	12.9%
<b>Are the opinions of students who have previously taken the course affecting your choice?</b>	16.8%	33.7%	13.9%	30.7%	5%
<b>Does your choice of course take into account your personal abilities?</b>	4%	13%	17%	55%	11%
<b>Do you believe you have sufficient information about the course you selected before making your choice?</b>	4%	35.6%	31.7%	24.8%	4%
<b>Do you think that the course you have chosen contributes to your school grades?</b>	15.8%	46.5%	28.7%	8.9%	0%
<b>Do you believe that the course you have chosen contributes to your social life?</b>	10%	20%	27%	35%	8%
<b>Do you think that the course you have chosen contributes to your personal development?</b>	7%	7%	18%	60%	8%
<b>Do you believe that the course you have chosen will contribute to your future career?</b>	8.1%	15.2%	19.2%	44.4%	13.1%
<b>Would you prefer to choose another elective course instead of the one you selected?</b>	8.2%	28.6%	31.6%	22.4%	9.2%
<b>Do you find the elective course titles in the program sufficient?</b>	9.3%	20.6%	26.8%	39.2%	4.1%
<b>Would you have preferred the course you selected to have more practical content?</b>	4.1%	12.2%	30.6%	34.7%	18.4%
<b>Would you have liked to choose more elective courses than you did?</b>	12.1%	34.3%	21.2%	26.3%	6.1%
<b>The assignments, projects, and activities given in elective courses contribute to our learning effectively.</b>	9,1%	14.1%	38.4%	33.3%	5.1%
<b>Are methods and techniques used in the courses to encourage active student participation?</b>	6.1%	10.1%	35.4%	41.4%	7.1%
<b>Is effective communication between students and instructors ensured in the course?</b>	3.1%	7.1%	23.7%	56.7%	9.3%
<b>Was the instructor who taught the course competent and well-equipped?</b>	0%	1%	17.2%	58.6%	23.2%
<b>Did this course positively influence your knowledge and behavior?</b>	4.1%	8.2%	26.5%	56.1%	5.1%
<b>Are you satisfied with the number of hours of the course you selected?</b>	0%	11.1%	21.2%	60.6%	7.1%

development.<sup>4</sup> Elective courses also offer students the chance to enhance their problem-solving and critical thinking skills. They encounter various scenarios in different fields, allowing them to practice these skills and reduce their concerns.<sup>19</sup> This can contribute to their effectiveness and competence in medical practice after graduation. Elective courses are also crucial for developing interdisciplinary collaboration skills.<sup>13</sup> Medical students gain the opportunity to engage with instructors across diverse scientific fields, thereby enriching their comprehension of the multifaceted nature of healthcare and boosting their competency in addressing patient needs. Electing courses aligned with their interests equips these students with advanced preparation and insight as they progress towards their chosen areas of specialization.<sup>4</sup> Elective courses taken in the early stages of medical education play a critical role in shaping their careers after graduation. For all these reasons, elective courses significantly contribute to the individual and professional development of medical students and are considered an integral part of medical education.<sup>3,14</sup> Female participants reported that elective courses had a positive impact on their future careers. They expressed a statistically significantly more positive opinion than male participants. In our study, 47.6% of students answered "yes" to the question, "Do your expectations regarding your future academic life affect your choice of courses?" Additionally, 57.5% of students believe that the elective course they chose will contribute to their future careers (Table 2).

In medical education, the importance of elective courses in diversifying learning experiences is quite evident.<sup>13</sup> Beyond traditional medical courses, elective courses provide students with various learning opportunities. These opportunities allow students to explore different learning environments and pedagogical approaches beyond classroom lectures.<sup>15</sup> Through elective courses, students can be exposed to various learning methods such as case-based learning, laboratory experience, fieldwork, and patient care. This diversity enables students to discover their learning styles and preferences.<sup>2</sup> Elective courses empower students to determine their own learning preferences and choose courses that align with their choices. This enhances learning motivation and assists students in more effective learning.<sup>15</sup> Moreover, elective courses can make medical education more engaging. Particularly in a demanding and intensive field like medical education, the opportunity for students to learn subjects they are interested in is a significant advantage.<sup>14</sup> This contributes to the more effective training of medical students and equips them to be more competent as future medical professionals. Therefore, elective courses are an integral part of medical education and greatly contribute to students' professional development.<sup>20</sup> In our study, 61.2% of the students stated that the elective courses they chose positively influenced their knowledge and behaviors (Table 2).

Within the scope of medical education, elective courses play a significant role in providing students with opportunities to develop independent learning skills. These

courses also offer students autonomy and a sense of self-direction in their education.<sup>3</sup> Medical students participating in elective courses are encouraged to take an active role in shaping their educational experiences. They have the chance to create their own study schedules, explore various educational resources, and develop original research projects aligned with their interests and career goals.<sup>10,21</sup> Elective courses form the foundation of this process focused on enhancing medical students' independent learning skills, providing an indispensable skill set for medical students and future healthcare professionals.<sup>15</sup> These courses expect students to take greater responsibility for their education and encourage them to set personalized learning goals and pursue individualized inquiry paths.<sup>22</sup> This process not only promotes a deeper understanding of the subject matter but also enhances critical thinking, problem-solving, and research skills. These scientific endeavors extend beyond mere academic exercises; they serve as a catalyst for the expansion of the students' knowledge base. Engaging in these activities encourages students to delve deeper into their subjects, fostering a robust intellectual curiosity.<sup>21</sup> Furthermore, elective courses provide a platform for students to engage in scientific activities such as conducting in-depth literature reviews, designing research studies, or participating in clinical investigations. In the course of our research, it was observed that a substantial proportion of the student body, accounting for 38.4%, reported that their educational experience was notably enriched by various components of their elective courses (Table 2). These components included a range of assignments, comprehensive projects, and extensive engagement in scientific activities. This notable percentage of students recognized that these aspects of their elective coursework played a significant role in deepening their understanding and enhancing their learning. The diversity and depth of these assignments and projects, coupled with the practical application of scientific activities, provided a multifaceted educational experience that was instrumental in advancing their academic growth. This multifaceted engagement not only enhances their academic prowess but also prepares them for future challenges in their medical careers. The impact of these activities is profound, as they contribute significantly to the holistic development of the students, shaping them into well-rounded, inquisitive, and competent future healthcare professionals. These scientific activities not only broaden students' knowledge but also contribute to the development of intellectual curiosity.<sup>23</sup>

Many medical faculties aim to diversify and personalize education for their students by offering elective courses. These elective courses provide students with the opportunity to gain in-depth knowledge in disciplines outside the core medical curriculum.<sup>14,20</sup> This allows students the freedom to choose courses aligned with their interests and career goals, enabling them to shape their education according to their objectives.<sup>10</sup> Additionally, elective courses provide students with the opportunity to personalize their learning experiences. These courses

enable students to experiment with different learning styles and methods, potentially making their learning experiences more effective and efficient.<sup>20</sup> They offer students greater freedom and experience in learning. By selecting courses related to their interests, students become more motivated, positively impacting their learning processes. Satisfaction can contribute to increased motivation and success among students.<sup>19,22</sup> Similarly, in our study, 43% of students mentioned that elective courses contributed to their social lives. It is observed that elective courses have a positive impact on satisfaction levels (Table 2).

In our study, when asked the question "Do you think the course you've chosen contributes to your school grades?" 49.1% of women responded negatively, while 79.3% of men gave a negative response. There is a statistically significant difference between women and men in their responses to this question ( $p < 0.05$ ), and women are more optimistic than men about the contribution of the courses they have chosen to their school grades (Table 3).

**Table 3.** Distribution of Percentage Responses to the Question "Does your future academic life affect your choice of course?", Question "Do you believe that the course you have chosen will contribute to your future career?" and "Was the instructor who taught the course competent and well-equipped?" by Gender and p-value. Chi-Square test.

	Negative	Positive	Undecided	p
<b>Do you think the course you've chosen contributes to your school grades?</b>				
Female	49.1%	10.9%	40.0%	<b>0.009</b>
Male	79.3%	6.5%	15.2%	
<b>Do you believe that the course you have chosen will contribute to your future career?</b>				
Female	9.3%	72.2%	20.0%	<b>0.001</b>
Male	27.3%	18.2%	18.5%	
<b>Was the instructor who taught the course competent and well-equipped?</b>				
Female	0%	94.4%	5.6%	<b>0.002</b>
Male	2.2%	66.7%	31.1%	

For the question "Do you think the course you've chosen will contribute to your future career?" 72.2% of women gave a positive response, while only 40% of men gave a positive response. There is a statistically significant difference between women and men in their responses to this question ( $p < 0.05$ ), and women believe that the courses they have chosen will contribute more to their academic lives than men (Table 3).

When asked the question "Was the instructor of the course sufficient and competent?" 94.4% of women gave a positive response, while 66.7% of men gave a positive response. There is a statistically significant difference between women and men in their responses to this question ( $p < 0.05$ ), and women are more likely than men to think that the instructor of the course was sufficient and competent (Table 3).

When we analyzed the responses to the questions based on the academic achievement, there was only one question where a statistically significant difference was observed. For the question "Does the influence of your expectations for your future academic life affect your choice of course?" 23.5% of students with a grade below 80 gave a positive response, while 52.4% of those with a grade above 80 gave a positive response, and a statistically significant difference was found ( $p < 0.05$ ). There is a positive relationship between students' academic achievement and the contribution of the courses they choose to their academic lives (Table 4).

Education encompasses the holistic development of individuals, acquiring new and necessary skills, being aware of the knowledge they possess, and continuously renewing that knowledge.<sup>24</sup> The effectiveness of the education process is greatly influenced by an individual's attitudes toward the educational environment and subjects. The ability of students to develop positive attitudes towards their education and courses is related to the organization of education in line with the interests and needs of the students.<sup>6,15</sup> Elective courses hold a significant place in medical education because they provide students with the opportunity to explore their interests, experience personalized learning experiences, support their professional development, diversify their learning experiences, enhance their independent learning skills, and increase their satisfaction.<sup>19</sup> We believe that these courses can better prepare medical students and help them progress successfully in their careers.

**Table 4.** Distribution of Percentage Responses to the Question "Does your future academic life affect your choice of course?" by academic achievement and p-value. Chi-Square test.

Does your choice of course depend on your expectations for your future academic life?	Negative	Positive	Undecided	p
Below 80	52.9%	23.5%	23.5%	<b>0.04</b>
Above 80	28.6%	52.4%	19%	

### Limitations

This study has some limitations that should be taken into account. Here are the limitations of this study:

1. **Sample Size:** The study has a limited sample size (102 individuals). Studies conducted with a larger sample size can help in making the results more generalizable.
2. **Voluntary Basis:** This study was conducted on a voluntary basis. The students who agreed to participate may have been selected from a specific group that could potentially affect the results. Therefore, the potential for representing the entire student population in the sample might be limited.
3. **Subjective Responses:** In survey studies, participants respond subjectively to the questions. This means that responses are based on personal opinions or experiences, which can limit objectivity.
4. **Number of Variable:** This study has primarily focused on establishing relationships with specific parameters, which include gender and grade point averages. Adding more parameters or assessing relationships with different variables can contribute to a more comprehensive understanding of the results.

### Conclusion

Considering the advantages that elective courses offer to medical education, it can be concluded that these courses increase the satisfaction levels of medical students and enrich their educational experiences.

In conclusion, the majority of students in our study stated that they choose elective courses based on their interests (60.4%). Furthermore, students mentioned that these courses contribute to their future academic life (47.6%), social life (43%), and personal development (68%). They also indicated that elective courses positively affect their abilities (66%).

From all these results, it can be inferred that female students have higher academic expectations compared to male students, make more thoughtful choices when selecting courses, believe that the instructors of the courses are more qualified than male students do, and think that elective courses contribute more to academic life as the students' academic performance increases.

Elective courses provide students with the freedom to choose courses that align with their interests and career goals, allowing them to personalize their learning experiences. Moreover, they help students become more motivated and effectively guide their learning processes. Elective courses offer students the opportunity to experiment with different learning styles and methods, diversifying their learning. Therefore, it can be said that elective courses in medical education increase student satisfaction and contribute to their professional development. Medical faculties and programs should consider integrating elective courses into their curricula more extensively, taking these advantages into account.

### Compliance with Ethical Standards

Our study was conducted with ethical approval obtained from Kocaeli University Faculty of Medicine. The ethical approval number is E-80418770-020-408333.

### Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

### Author Contribution

TÇ, PDK, MDY, EK: Study idea, hypothesis, study design; MDY, EK: Material preparation, data collection and analysis; TÇ, MDY, EK: Writing the first draft of the article; TÇ, EK: Critical review of the article finalization and publication process.

### Financial Disclosure

None.

### References

1. Norman G. Medical education: past, present and future. *Perspect Med Educ.* 2012;1:6-14. DOI: 10.1007 /s40037-012-0002-7
2. Stys D, Hopman W, Carpenter J. What is the value of global health electives during medical school? *Med Teach.* 2013;35(3):209-218. DOI: 10.3109/0142159X.2012.731107
3. Lumb A, Murdoch-Eaton D. Electives in undergraduate medical education: AMEE Guide No. 88. *Med Teach.* 2014;36(7):557-572. DOI: 10.3109/0142159X.2014.907887
4. Jeffrey J, Dumont RA, Kim GY, Kuo T. Effects of international health electives on medical student learning and career choice. *Fam Med.* 2011;43(1):21-28. PMID: **21213133**
5. Dai A, Wu LQ, Jacobs RC, Raghuram A, Dhar SU. Implementation of a medical school elective course incorporating case-based learning: a pilot study. *Med Sci Educ.* 2020;30:339-344. DOI: 10.1007/s40670-019-00911-1
6. Özdirek S, Cicerali EE. Üniversite öğrencilerinde uzaktan eğitime yönelik tutumlar ile akademik öz-yeterlik arasındaki ilişkiler. *Troyacademy.* 2021;6(3): 836-863. <https://doi.org/10.31454/troyacademy.972045>
7. Vora N, Chang M, Pandya H, Hasham A, Lazarus C. A student-initiated and student-facilitated international health elective for preclinical medical students. *Med Educ Online.* 2010;15(1):4896. DOI: 10.3402/meo.v15i0.4896
8. Lee J, Graham AV. Students' perception of medical school stress and their evaluation of a wellness elective. *Med Educ.* 2001;35(7):652-659. DOI: 10.1046 /j.1365-2923.2001.00956.x
9. Thompson MJ, Huntington MK, Hunt DD, Pinsky LE, Brodie JJ. Educational effects of international health electives on US and Canadian medical students and residents: a literature review. *Acad Med.* 2003;78(3):342-347. DOI: 10.1097/00001888-200303000-00023
10. Keating EM, O'donnell EP, Starr SR. How we created a peer-designed specialty-specific selective for medical student career exploration. *Med Teach.* 2013;35(2): 91-94. DOI: 10.3109/0142159X.2012.731110










11. Holmes D, Zayas LE, Koyfman A. Student objectives and learning experiences in a global health elective. *J Community Health*. 2012;37:927-934. DOI: 10.1007/s10900-012-9547-y
12. Drain PK, Primack A, Hunt DD, Fawzi WW, Holmes KK, Gardner P. Global health in medical education: a call for more training and opportunities. *Acad Med*. 2007;82(3):226-230. DOI: 10.1097/ACM.0b013e3180305cf9
13. Wiskin C, Barrett M, Fruhstorfer B, Schmid ML, compiled on behalf of the MSC UK Electives Committee. Recommendations for undergraduate medical electives: a UK consensus statement. *Med Educ*. 2018;52(1):14-23. DOI: 10.1111/medu.13445
14. Agarwal A, Wong S, Sarfaty S, Devaiah A, Hirsch AE. Elective courses for medical students during the preclinical curriculum: a systematic review and evaluation. *Med Educ Online*. 2015;20(1):26615. DOI: 10.3402/meo.v20.26615
15. Brami C, Sultan S, Robieux L, Piot MA, Gartili H, Zenasni F. Understanding students' motivations for participating in a mindfulness course: a qualitative analysis of medical students' views. *BMC Complement Med Ther*. 2023;23(1):163. DOI: 10.1186/s12906-023-03949-2
16. Ferrer-Caja E, Weiss MR. Cross-validation of a model of intrinsic motivation with students enrolled in high school elective courses. *J Exp Educ*. 2002;71(1):41-65. DOI:10.1080/00220970209602056
17. Graham KW, Achenreiner G, McDermott M, Crosby E. Is what students want what they really need? A values view of undergraduate marketing elective course offerings. *Mark Educ Rev*. 2020;30(3):140-149. DOI:10.1080/10528008.2020.1773277
18. Kelly L, Walters L, Rosenthal D. Community-based medical education: Is success a result of meaningful personal learning experiences? *Educ Health*. 2014;27(1):47-50. DOI: 10.4103/1357-6283.134311
19. Finkelstein C, Brownstein A, Scott C, Lan Y. Anxiety and stress reduction in medical education: an intervention. *Med Educ*. 2007;41(3):258-264. DOI: 10.1111/j.1365-2929.2007.02685.x
20. Mahajan R, Singh T. Electives in undergraduate health professions training: Opportunities and utility. *Med J Armed Forces India*. 2021;77:S12-S15. DOI: 10.1016/j.mjafi.2020.12.005
21. Svoboda M, Kamal Y, Pinto-Powell R. Science Scholars: integrating scientific research into undergraduate medical education through a comprehensive student-led preclinical elective. *MedEdPORTAL*. 2021;17: 11144. DOI: 10.15766/mep\_2374-8265.11144
22. Ramalho AR, Vieira-Marques P, Magalhães-Alves C, Severo M, Ferreira M, Falcão-Pires I. Electives in the medical curriculum—an opportunity to achieve

## Research Article | Araştırma Makalesi

# MANAGEMENT OF CHEST PAIN IN PEDIATRIC PATIENTS BY PHYSICIANS AT DIFFERENT LEVELS

## ÇOCUK HASTALARDA GÖĞÜS AĞRISI ŞİKAYETİNİN FARKLI BASAMAKLARDAKİ HEKİMLER TARAFINDAN YÖNETİMİ

  Kahraman Yakut<sup>1\*</sup>,  Umur Durak<sup>2</sup>,  Muhammed Talha Karadoğan<sup>3</sup>,  Cem Koray Fırat<sup>4</sup>,  Selçuk Uzuner<sup>4</sup>,  Yılmaz Yozgat<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Istanbul Basaksehir Cam and Sakura City Hospital, Department of Pediatric Cardiology, İstanbul, Türkiye. <sup>2</sup>Inonu University, Department of Developmental Pediatrics, İstanbul, Türkiye. <sup>3</sup>Erzincan Binali Yıldırım University School of Medicine, Department of Pediatrics, Erzincan, Türkiye.

<sup>4</sup>Bezmialem University, School of Medicine, Department of Pediatrics, İstanbul, Türkiye. <sup>5</sup>Bezmialem University, School of Medicine, Department of Pediatric Cardiology, İstanbul, Türkiye.



### ABSTRACT

**Objective:** We aimed to examine the management of chest pain in pediatric patients by physicians at different levels of care.

**Methods:** A questionnaire on the management of chest pain in pediatric patients was sent to pediatric specialists, family practitioners, and pediatric residents online. Physicians were asked to answer all questions anonymously between March 2021 and June 2021. A prospective analysis was conducted based on the data obtained from the questionnaire forms.

**Results:** Physicians in all groups stated that chest pain was most frequently associated with the musculoskeletal system (Pediatricians 86.7%, Pediatric residents 81%, Family practitioners 76.7%). Pediatric patients with chest pain were most frequently referred to pediatric cardiology outpatient clinics; the rate of referral increased in parallel with the level of training in the field of pediatrics (Pediatricians 87.8%, Pediatric residents 84.7%, Family practitioners 70.4%). While cyanosis was the most important cause of referral for family practitioners (95.2%), a family history of early myocardial infarction was the leading cause for pediatricians (95.3%) and pediatric residents (93%). Compared to other groups, the percentage of family practitioners who have access to diagnostic tests was slightly lower. Electrocardiogram (ECG) was the most accessible (Pediatricians 98.4%, Pediatric residents 98.8%, Family practitioners 92.5%) and the most commonly used diagnostic tool in all groups (Pediatricians 95.6%, Pediatric residents 97.6%, Family practitioners 94.2%). The percentage of physicians who believed that they could interpret pediatric ECG very well was low in all groups (Pediatricians 16.3%, Pediatric residents 8.6%, Family practitioners 4.6%).

**Conclusion:** In this study, the most common cause of chest pain in children was associated with the musculoskeletal system by all physician groups. Although there were no difficulties in accessing diagnostic tools, the referral system is frequently utilized. While the rate of chest pain of cardiac origin is low, the most frequent referral is to cardiology outpatient clinics.

**Keywords:** Chest pain, electrocardiogram, child, questionnaire

### ÖZ

**Amaç:** Göğüs ağrısı şikayeti olan çocuk hastalarda, farklı basamaklardaki hekimlerin hasta yönetimi konusundaki uygulamalarını incelemeyi amaçladık.

**Yöntem:** Göğüs ağrısı olan çocuklar için hazırlanan anket formundaki sorular çocuk sağlığı ve hastalıkları uzmanları (ÇSHU), aile hekimi uzmanları (AHU) ve çocuk sağlığı ve hastalıkları asistanlarına (ÇSHA) internet üzerinden ulaştırıldı. Mart 2021-Haziran 2021 tarihleri arasında hekimlerin isim belirtmeden

**Bulgular:** Bütün gruplardaki hekimlerin göğüs ağrısının en sık kas-iskelet sistemi ilişkili olduğunu düşündükleri belirlendi (ÇSHU %86.7, ÇSHA %81, AHU %76.7). Göğüs ağrısı olan çocukların, hekimler tarafından en sık çocuk kardiyojoli polikliniğine yönlendirildiği ve bu oranının çocuk sağlığı ve hastalıkları alanında eğitim düzeyi arttıkça arttığı belirlendi (ÇSHU %87.8, ÇSHA %84.7, AHU %70.4). Siyanoz AHU için en önemli yönlendirme nedeni (95.2), ailede erken yaşta miyokard infarktüsü geçirme öyküsü ÇSHU (%95.3) ve ÇSHA (%93) için ilk sırada gelen nedeni idi. Diğer gruplarla karşılaştırıldığında tanı testlerine ulaşabilen AHU oranlarının biraz daha düşük olduğu belirlendi. EKG tüm gruplar için en ulaşılabilir (ÇSHU %98.4, ÇSHA %98.8, AHU %92.5) ve en çok kullanılan tanı aracıydı (ÇSHU %95.6, ÇSHA %97.6, AHU %94.2). Pediatrik EKG'yi çok iyi değerlendirebildiğini düşünen hekim sayısı oranı tüm gruplarda düşüktü (ÇSHU%16.3, ÇSHA %8.6, AHU %4.6).

**Sonuç:** Bu çalışmada tüm hekim grupları tarafından çocuklardaki göğüs ağrısının en sık nedeni kas-iskelet sistemi olarak düşünülmektedir. Tanı araçlarına ulaşmakta güçlük çekilmediği halde sevk sistemine çok sık başvurulduğu görülmektedir. Kardiyak kökenli göğüs ağrısı oranı düşük olduğu halde, en sık yönlendirme kardiyojoli polikliniklerine olduğu izlenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Göğüs ağrısı, elektrokardiyogram, çocuk, anket.

## Introduction

Chest pain is one of the most common causes of presenting to outpatient pediatric cardiology clinics. Centers that use standard clinical evaluation and management algorithms avoid unnecessary tests, minimize the use of financial resources and provide an opportunity for real cardiac patients to be attended to at cardiology outpatient clinics.<sup>1</sup> However, there are no standard clinical evaluation and management algorithms for physicians to follow in Turkey. The incidence of chest pain of cardiac origin in children is low, yet it is a significant cause for concern in families. Therefore, it is one of the frequent causes of admission to the emergency room (ER).<sup>2-8</sup> Chest wall lesions, respiratory and gastrointestinal tract pathologies, and psychological factors are causes of noncardiac chest pain in children. In this study, we aimed to examine the approaches of family practitioners, pediatric residents, and pediatricians in managing chest pain in the pediatric age group, and the difficulties they encounter during evaluation.

## Methods

Between March 2021 and June 2021, a questionnaire was sent online to pediatricians, family practitioners, and pediatric residents, who evaluate children with chest pain in outpatient clinics and emergency outpatient clinics. Physicians were asked to answer all questions anonymously. Data obtained were analyzed in a prospective study. Informed consent was obtained from participants. This study was approved by the Ethics Committee of Bezmialem University.

## Statistical Analysis

IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Turkey) software was used for the statistical analysis of the results obtained in the study. The conformity of the parameters to the normal distribution was evaluated using the Shapiro-Wilk test. Descriptive statistical methods (mean, standard deviation, frequency) were used while evaluating the study data.

## Results

254 pediatricians, 189 family practitioners, and 85 pediatric residents responded to the questionnaire. In all groups, the majority of the physicians identified musculoskeletal pain as the cause of chest pain in children (pediatricians 86.2%, pediatric residents 81%, family practitioners 76.7%) (Table 1). Another etiology that physicians in all three groups frequently associated with chest pain was pain associated with the respiratory system (pediatricians 42%, family practitioners 63%, pediatric residents 53%). 39.4% of pediatricians, 42.3% family practitioners, and 40% of pediatric residents considered the cardiovascular system to be the cause of chest pain. Pediatric patients with chest pain were most frequently referred to pediatric cardiology outpatient

clinics; the rate of referral increased in parallel with the level of training in the field of pediatrics (Pediatricians 87.8%, Pediatric residents 84.7%, Family practitioners 70.4%) (Table 1).

**Table 1.** Organ systems associated with chest pain and/or subspecialty outpatient clinics to which patients were referred

<b>Organ systems associated with chest pain in children.</b>	
<b>Family Practitioners (n=189)</b>	Frequency (n) (%)
Gastrointestinal system	39 (20.6%)
Cardiovascular system	80 (42.3%)
Musculoskeletal system	145 (76.7%)
Psychological causes	51 (27%)
Respiratory system	119 (63%)
<b>Pediatricians (n=254)</b>	Frequency (n) (%)
Gastrointestinal system	50 (19.7%)
Cardiovascular system	100 (39.4%)
Musculoskeletal system	219 (86.2%)
Psychological causes	71 (5.1%)
Respiratory system	106 (42%)
<b>Pediatric Residents (n=85)</b>	Frequency (n) (%)
Gastrointestinal system	11 (13%)
Cardiovascular system	34 (40%)
Musculoskeletal system	69 (81%)
Psychological causes	20 (23.5%)
Respiratory system	45 (53%)
<b>Subspecialty outpatient clinics to which children with chest pain were referred.</b>	
<b>Family Practitioners (n=189)</b>	Frequency (n) (%)
Pediatric Gastroenterology	3 (1.6%)
Pediatric Pulmonary Diseases	44 (23.3%)
Pediatric Cardiology	133 (70.4%)
Pediatric Psychiatry	3 (1.6%)
Pediatric Rheumatology	1 (0.5%)
Pediatrics	5 (2.6%)
<b>Pediatricians (n=254)</b>	Frequency (n) (%)
Pediatric Gastroenterology	7 (2.8%)
Pediatric Pulmonary Diseases	16 (6.3%)
Pediatric Cardiology	223 (87.8%)
Pediatric Psychiatry	5 (2%)
Pediatric Rheumatology	1 (0.4%)
Orthopedics	2 (0.8%)
<b>Pediatric Residents (n=85)</b>	Frequency (n) (%)
Pediatric Gastroenterology	1 (1.2%)
Pediatric Pulmonary Diseases	9 (10.6%)
Pediatric Cardiology	72 (84.7%)
Pediatric Psychiatry	2 (2.4%)
Pediatrics	1 (1.2%)

When asked about the history and physical examination findings that led to referrals to the pediatric cardiology outpatient clinic, differences were observed between the approaches of the groups. For family practitioners, the most important finding was cyanosis (95.2%), followed by murmur (93.1%), exertional chest pain (89.4%), and family history of early myocardial infarction (MI) (88.3%). Family history of early MI was the most important reason for referral for pediatricians, followed by cyanosis (92.1%). Other significant reasons for pediatricians were exertional chest pain (91.7%), and murmur (89%). Family history of early MI (93%) and exertional chest pain (93%) was the most important reason, followed by cyanosis (91.7%) and murmur (91.7%) for pediatric residents (Table 2).

**Table 2.** Physical examination and laboratory findings leading to referral to cardiology outpatient clinic

<b>Family Practitioners (n=189)</b>	<b>Frequency (n)</b>	<b>Percentage (%)</b>
Variation in pain intensity based on the position of the body	38	20.1
Palpation-induced pain	18	9.5
Cyanosis	180	95.2
Tachypnea	89	47
Tachycardia	138	73
Murmur	176	93.1
Family history of early myocardial infarction	167	88.3
Exertional chest pain	169	89.4
Coughing with chest pain	10	5.3
Change in pain intensity with breathing	32	16.9
<b>Pediatricians (n=254)</b>	<b>Frequency (n)</b>	<b>Percentage (%)</b>
Variation in pain intensity based on the position of the body	49	19.3
Palpation-induced pain	12	4.7
Cyanosis	234	92.1
Tachypnea	100	39.4
Tachycardia	216	85
Murmur	226	89
Family history of early myocardial infarction	242	95.3
Exertional chest pain	233	91.7
Coughing with chest pain	9	3.5
Change in pain intensity with breathing	27	10.6
<b>Pediatric Residents (n=85)</b>	<b>Frequency (n)</b>	<b>Percentage (%)</b>
Variation in pain intensity based on the position of the body	11	13
Cyanosis	78	91.7
Tachypnea	29	34.1
Tachycardia	65	76.4
Murmur	78	91.7
Family history of early myocardial infarction	79	93
Exertional chest pain	79	93
Coughing with chest pain	5	5.9
Change in pain intensity with breathing	8	9.4
<b>Family Practitioners (n=189)</b>	<b>Frequency (n)</b>	<b>Percentage (%)</b>
Abnormal ECG results	188	99.5
Abnormal telecardiography results	139	73.5
Elevated ASO	56	29.6
Elevated CK-MB	121	64
Elevated Troponin I	134	70.9
Elevated Troponin T	126	66.6
<b>Pediatricians (n=254)</b>	<b>Frequency (n)</b>	<b>Percentage (%)</b>
Abnormal ECG results	248	97.6
Abnormal telecardiography results	204	80.3
Elevated ASO	39	15.3
Elevated CK-MB	146	57.5
Elevated Troponin I	210	82.6
Elevated Troponin T	153	60.2
<b>Pediatric Residents (n=85)</b>	<b>Frequency (n)</b>	<b>Percentage (%)</b>
Abnormal ECG results	82	96.5
Abnormal telecardiography results	69	81.2
Elevated ASO	37	43.5
Elevated CK-MB	63	74.1
Elevated Troponin I	68	80
Elevated Troponin T	57	67

Variation in pain intensity based on the position of the body and fever were factors that led the physicians away from considering the chest pain to be of cardiac origin (Table 3). When the availability of laboratory diagnostic tools was compared, family practitioners had lower levels of access to all diagnostic tools compared to the other

groups (Table 4). ECG was the most commonly used diagnostic tool by all physicians (pediatricians 95.6%, family practitioners 94.2%, pediatric residents 97.6%), followed by troponin I/T tests (pediatricians 75.2%,

**Table 3.** Factors that lead physicians away from considering the chest pain to be of cardiac origin

<b>Family Practitioners (n=189)</b>	<b>Frequency (n)</b>	<b>Percentage (%)</b>
Variation in pain intensity based on the position of the body	121	64
Fever	91	48.1
Syncope	9	4.7
Palpitations	5	2.6
Chest pain that starts when sitting down	37	19.5
<b>Pediatricians (n=254)</b>	<b>Frequency (n)</b>	<b>Percentage (%)</b>
Variation in pain intensity based on the position of the body	171	67.3
Fever	110	43.3
Syncope	18	9.5
Palpitations	15	7.9
Chest pain that starts when sitting down	63	33.3
<b>Pediatric Residents (n=85)</b>	<b>Frequency (n)</b>	<b>Percentage (%)</b>
Variation in pain intensity based on the position of the body	52	61.2
Fever	30	35.3
Syncope	3	3.5
Palpitations	2	2.3
Chest pain that starts when sitting down	17	20

family practitioners 62%, pediatric residents 70.6%) (Table 5). Compared to other groups, pediatricians used chest X-rays less frequently (48.4%).

**Table 4.** The level of laboratory support in centers where physicians work

<b>Family Practitioners (N=189)</b>	<b>Frequency (n) (%)</b>
Chest X-Ray	84 (44.4%)
ASO	119 (63%)
C-Reactive Protein	162 (85.7%)
CK-MB	80 (42.3%)
Electrocardiogram	175 (92.5%)
Hemogram	177 (93.6%)
Creatine kinase	123 (65%)
Sedimentation	71 (37.5%)
Telecardiogram	40 (21.1%)
Troponin I	65 (34.4%)
Troponin T	48 (25.4%)
<b>Pediatricians (N=254)</b>	<b>Frequency (n) (%)</b>
Chest X-Ray	243 (95.6%)
ASO	233 (91.7%)
C-Reactive Protein	243 (95.6%)
CK-MB	239 (94.1%)
Electrocardiogram	250 (98.4%)
Hemogram	245 (96.4%)
Creatine kinase	243 (95.6%)
Sedimentation	241 (94.8%)
Telecardiogram	227 (89.3%)
Troponin I	217 (85.4%)
Troponin T	168 (66.1%)
<b>Pediatric Residents (N=85)</b>	<b>Frequency (n) (%)</b>
Chest X-Ray	84 (98.8%)
ASO	80 (94.1%)
C-Reactive Protein	84 (98.8%)
CK-MB	84 (98.8%)
Electrocardiogram	84 (98.8%)
Hemogram	84 (98.8%)
Creatine kinase	83 (97.6%)
Sedimentation	81 (95.2%)
Telecardiogram	78 (71.7%)
Troponin I	70 (82.3%)
Troponin T	61 (71.7%)

Contrary to expectations, the use of telecardiography was low in all groups (pediatricians 52.3%, pediatric

residents 35.3%), the rate was significantly lower among family practitioners (13.7%).

**Table 5.** The most commonly preferred tests by physicians to evaluate chest pain

<b>Family Practitioners (N=189)</b>	<b>Frequency (n) (%)</b>
Chest X-Ray	114 (60.3%)
ASO	34 (18%)
C-Reactive Protein	81 (42.8%)
CK-MB	71 (37.5%)
Electrocardiogram	178 (94.2%)
Hemogram	95 (50.2%)
Creatine kinase	40 (21.1%)
Sedimentation	24 (12.7%)
Telecardiogram	26 (13.7%)
Troponin I/T	117 (62%)
<b>Pediatricians (N=254)</b>	<b>Frequency (n) (%)</b>
Chest X-Ray	123 (48.4%)
ASO	20 (7.8%)
C-Reactive Protein	77 (30.3%)
CK-MB	116 (45.6%)
Electrocardiogram	243 (95.6%)
Hemogram	114 (44.8%)
Creatine kinase	65 (25.6%)
Sedimentation	52 (20.5%)
Telecardiogram	133 (52.3%)
Troponin I/T	191 (75.2%)
<b>Pediatric Residents (N=85)</b>	<b>Frequency (n) (%)</b>
Chest X-Ray	58 (68.2%)
ASO	11 (13%)
C-Reactive Protein	29 (34.1%)
CK-MB	50 (58.8%)
Electrocardiogram	83 (97.6%)
Hemogram	35 (41.2%)
Creatine kinase	28 (33%)
Sedimentation	17 (20%)
Telecardiogram	30 (35.3%)
Troponin I/T	60 (70.6%)

The rate of the number of physicians who thought that they could evaluate pediatric ECG very well was low in all groups (Pediatrician 16.3%, Pediatric resident 8.6%, Family practitioners 4.6%) (Table 6). The number of physicians who can recognize arrhythmias in ECG was higher among pediatric residents than in the other

groups (pediatricians 28.1%, family practitioners 22.5%, pediatric residents 43.1%). The most significant laboratory finding leading to referral to a pediatric cardiology outpatient clinic was abnormal ECG (pediatricians 97.6%, family practitioners 99.5%, pediatric residents 96.5%). For pediatricians, the second most important laboratory test was elevated troponin I (82.6%); for family practitioners and pediatric residents, it was abnormal telecardiography (73.5%, 81.2%).

**Table 6.** Electrocardiogram Interpreting Skills of Physician Groups

	Frequency (n)	Percentage (%)	
<b>Family Practitioners</b>			
Applicable metrics	Recognizing dysrhythmias	69	22.5
	I believe I can interpret pediatric ECG very well.	14	4.6
	I cannot interpret pediatric ECG at all.	61	19.9
	QTc calculation	78	25.5
	ST segment variations	35	11.4
	T wave variations	49	16
	Total	306	100
<b>Pediatricians</b>			
Applicable metrics	Recognizing dysrhythmias	98	28.1
	I believe I can interpret pediatric ECG very well.	57	16.3
	I cannot interpret pediatric ECG at all.	11	3.2
	QTc calculation	56	16
	ST segment variations	63	18.1
	T wave variations	64	18.3
	Total	349	100
<b>Pediatric Residents</b>			
Applicable metrics	Recognizing dysrhythmias	50	43.1
	I believe I can interpret pediatric ECG very well.	10	8.6
	I cannot interpret pediatric ECG at all.	4	3.4
	QTc calculation	15	12.9
	ST segment variations	17	14.7
	T wave variations	20	17.2
	Total	116	100

For pediatricians, the third most important laboratory test was abnormal telecardiography (80.3%); for family practitioners and pediatric residents, it was elevated troponin I (family practitioners 70.9%, 80% pediatric residents). The most important consideration when referring patients was history including exertional chest pain, change in pain intensity with breathing (pediatricians 26.3%, family practitioners 25.4%, pediatric residents 27.8%), followed by physical examination findings (pediatricians 24.4%, family practitioners 24.2%, pediatric residents 24.1%). Family history was another important consideration when referring patients (pediatricians 17%, family practitioners 17.5%, pediatric residents 18.1%).

## Discussion

Studies on chest pain in children have shown that pain is mostly associated with the musculoskeletal system, gastrointestinal system, respiratory system; it is idiopathic or due to psychological causes.<sup>2,9,10</sup> Although the rate of chest pain of cardiac origin is low in children, it becomes significant due to the anxiety it causes in parents and children. According to studies, 0.6-1% of chest pain in children who were admitted to the ER was of cardiac origin.<sup>2,11,12</sup> In our study, the most common cause of chest pain in children in all physician groups was the musculoskeletal system (76.7%-86.2%). Pain that was considered to be of cardiovascular origin was the third most common cause (39.4%-42.3%). Pediatric patients with chest pain were most frequently referred to pediatric cardiology outpatient clinics; the rate of referral increased in parallel with the level of training in the field of pediatrics. This may be due to the fact that pediatric outpatient clinics evaluate patients with more complex pathologies. Additionally, in our country, the lack of standardized algorithms that physicians can apply in the national database on this subject may be a reason for more referrals to the pediatric cardiology outpatient clinic.

In recent years, news about sudden death in athletes has aroused concern and anxiety both in parents and physicians. Family history of early myocardial infarction in a child with chest pain is a concern both for parents and physicians. In this study, family history of early MI was found to be the most important driver for pediatricians and pediatric residents for referring the patients to pediatric cardiology outpatient clinics (95.3% and 93% respectively).

Physical examination and laboratory findings provide important information for determining the important causes of chest pain in outpatient clinics and emergency departments. Cyanosis and murmur are two important findings that suggest a cardiac etiology. In our study, cyanosis was the most important factor (95.2%) for family practitioners for referring patients to cardiac evaluation. For the same group, the second was murmur (93.1%). Among laboratory findings, abnormal ECG findings were the most important reason for referral, followed by elevated troponin I and abnormal telecardiography. Variation in pain intensity based on the position of the body and fever were factors that led the physicians away from considering the chest pain to be of cardiac origin.

ECG, troponin T/I, and chest X-ray were the most common tools used for diagnosis. Family practitioners had lower levels of access to all diagnostic tools compared to the other groups. When the groups were compared, it was seen that pediatricians used chest X-rays less frequently than others. Telecardiography was low in all groups, especially in family practitioners. Based on these findings, we believe that increasing laboratory support for family practitioners can both reduce the workload in pediatric cardiology outpatient clinics and allow physicians to evaluate their patients

holistically. Designing training programs on interpreting telecardiography for all physician groups may allow this diagnostic tool to be used more widely and contribute to the early diagnosis of cardiac pathologies. The percentage of those who could interpret the ECG, which is the most frequently used tool for diagnosis, was low in all groups. These rates were slightly higher in the evaluation of arrhythmia (pediatricians 28.1%, family practitioners 22.5%, pediatric residents 43.1%). Based on these data, we believe that systematic and regular ECG trainings for all physicians will increase the quality of health care services for the patients and reduce unnecessary referrals to cardiology outpatient clinics. Patient history provides invaluable information when assessing chest pain in children. All physicians who participated in this study attached the highest importance to patient history when deciding on a referral.

### Conclusion

The data obtained from our study shows that physicians face certain difficulties when evaluating chest pain in children and referring their patients to the pediatric cardiology outpatient clinic due to the lack of applicable standard guidelines. The rates of evaluating ECG and using telecardiography for diagnosis were low in all groups. Providing structured education programs on these issues can allow for a more holistic evaluation of the patient and contribute to the earlier diagnosis of serious pathologies. Family practitioners had lower levels of access to all diagnostic tools compared to the other groups. Increasing laboratory support for family physicians may reduce unnecessary referrals and enable easier identification of patients requiring further evaluation.

### Compliance with Ethical Standards

Bezmailem University Ethics Committee approved this study (2021/02.22). 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

1. Saleeb SF, McLaughlin SR, Graham DA, Friedman KG, Fulton DR. Resource reduction in pediatric chest pain: Standardized clinical assessment and management plan. *Congenit Heart Dis*. 2018;13:46-51.
2. Sert A, Aypar E, Odabas D, Gokcen C. Clinical characteristics and causes of chest pain in 380 children referred to a

- paediatric cardiology unit. *Cardiol Young*. 2013;23:361-7. doi:10.1017/S1047951112000881
3. Driscoll DJ. Chest pain in children and adolescent. In: Allen HD, Clark EB, Gutgessel HP, Driscoll DJ (eds). *Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children, and Adolescent*. Vol. 2, 6th Ed. Lippincott Co., Philadelphia 2001:1379-82.
4. Evangelista JA, Parsons M, Renneburg AK. Chest pain in children: diagnosis through history and physical examination. *J Pediatr Health Care*. 2000;14:3-8.
5. Park MG. Child with chest pain. In: *Pediatric Cardiology for Practitioners*, 4th ed. Mosby, 2002:441-8.
6. Kocis KC. Chest pain in pediatrics. *Pediatr Clin North Am*. 1999;46:189-203.
7. Leung AK, Robson WL, Cho H. Chest pain in children. *Can Fam Physician*. 1996;42:1156-60.
8. Rowe BH, Dulberg CS, Peterson RG, Vlad P, Li MM. Characteristics of children presenting with chest pain to a pediatric emergency department. *CMAJ*. 1990;143:388-94.
9. Danduran MJ, Earing MG, Sheridan DC, Ewalt LA, Frommelt PC. Chest pain: characteristics of children/adolescents. *Pediatr Cardiol*. 2008;29:775-81.
10. Hanson CL, Hokanson JS. Etiology of chest pain in children and adolescents referred to cardiology clinic. *WMJ*. 2011;11:58-62.
11. Drossner DM, Hirsh D a, Sturm JJ, et al. Cardiac disease in pediatric patients presenting to a pediatric ED with chest pain. *Am J Emerg Med*. 2011;29:632-8. doi:10.1016/j.ajem.2010.01.011
12. Saleeb SF, Li WY V, Warren SZ, Lock JE. Effectiveness of screening for life-threatening chest pain in children. *Pediatrics*. 2011;128:e1062-8. doi:10.1542/peds.2011-0408

## Research Article | Araştırma Makalesi

# DIFFERENCES IN THE CLASSICAL/NON-CLASSICAL HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS OF PSORIASIS PATIENTS ACCORDING TO PSORIASIS SUBTYPE, DISEASE DURATION AND SEVERITY, ANATOMICAL REGION, AND CLINICAL PRESENTATION

## PSORİAZİS HASTALARINDA KLASİK/KLASİK OLMAYAN HİSTOPATOLOJİK BULGULARIN PSORİAZİS ALT TIPLERİNE, HASTALIK SÜRESİNE VE ŞİDDETİNE, ANATOMİK BÖLGEYE VE KLİNİK GÖRÜNÜME GÖRE DEĞİŞİMİ

Yıldız Gursel Urun<sup>1\*</sup>, Gülden Karakalem<sup>1</sup>, Nuray Can<sup>2</sup>, Meltem Ayyıldız Mercan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trakya University, Faculty of Medicine, Department of Dermatology and Venereology, Edirne, Türkiye. <sup>2</sup>Trakya University, Faculty of Medicine, Department of Medical Pathology, Edirne, Türkiye.



### ABSTRACT

**Objective:** Although histopathological examination is considered the gold standard in the diagnosis of psoriasis, it has limited usefulness in patients with non-classical histopathological and/or clinical presentations. The aim of this study was to examine the distribution of classical and non-classical histopathological findings according to psoriasis subtype, disease duration, disease severity, biopsy site, and classical/non-classical presentation.

**Methods:** We retrospectively reviewed the records of 160 patients with histopathologically confirmed psoriasis. Classical and non-classical histopathological features were determined according to dermatopathology textbooks and literature. Patients were categorized according to disease duration ( $\leq 12$  and  $> 12$  months) and disease severity (Psoriasis Area Severity Index [PASI]  $\leq 10$  and  $> 10$ ) at presentation, and classical/non-classical presentation (based on morphology, distribution, nail pitting, and family history).

**Results:** The most common classical histopathological findings were regular acanthosis (99.4%), confluent parakeratosis (96.3%), blood vessels, dilated (93.1%), hyperkeratosis (89.4%), and suprapapillary plate thinning (89.4%). The most common non-classical histopathological findings were superficial perivascular dermal infiltration (81.3%) and spongiosis (53.8%). Hyperkeratosis ( $p=0.044$ ) and intraepidermal lymphocyte accumulation ( $p=0.042$ ) were more frequent in patients with a disease duration  $> 12$  months. The presence of Munro microabscess ( $p=0.010$ ) and stratum basale necrotic keratinocytes ( $p=0.031$ ) were observed more frequently in patients with PASI  $> 10$ . Significant hyperkeratosis ( $p=0.024$ ) and suprapapillary plate thinning ( $p=0.027$ ) were more common in trunk biopsies compared to other locations. Spongiosis ( $p=0.005$ ) and intraepidermal lymphocytes ( $p=0.008$ ) were more common in patients with non-classical clinical presentation.

**Conclusion:** Non-classical histopathological findings can be observed in patients with psoriasis. Clinical features should be considered when evaluating classical/non-classical histopathological findings during diagnosis.

**Keywords:** Dermatopathology, histopathology, psoriasis, diagnosis

### Öz

**Amaç:** Psoriasis hastalığının tanısında histopatolojik inceleme altın standart olarak kabul edilmekle birlikte, klasik olmayan histopatolojik ve/veya klinik bulgulara sahip hastalarda bu yöntemin kullanımı sınırlıdır. Çalışmamızda klasik ve klasik olmayan histopatolojik bulguların psoriazis klinik alt tiplerine, hastalık süresine, hastalığın şiddetine, biyopsi alınan anatomik bölgeye ve klasik/klasik olmayan klinik görünümüne göre dağılımının incelenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Histopatolojik olarak psoriazis tanısı doğrulanmış toplam 160 hastanın kayıtları geriye dönük olarak incelendi. Dermatopatoloji ders kitapları ve literatür verilerine göre klasik ve klasik olmayan histopatolojik özellikler belirlendi. Hastalar, başvuru anındaki hastalık süresine ( $\leq 12$  ve  $> 12$  ay) ve hastalık şiddetine (Psoriasis Alan Şiddet İndeksi [PASI]  $\leq 10$  ve  $> 10$ ) ve klasik/klasik olmayan klinik görünümüne (lezyonların morfolojisi ve dağılımı, tırnaklarda pitting varlığı ve ailede psoriazis öyküsü) göre gruplara ayrıldı.

**Bulgular:** En sık görülen klasik histopatolojik bulgular düzenli akantoz (%99,4), konfluent parakeratoz (%96,3), kan damarlarının genişlemesi (%93,1), hiperkeratoz (%89,4) ve suprapapiller tabakada inceleme (%89,4) idi. Klasik olmayan histopatolojik bulgular arasında en sık yüzeysel perivasküler dermal infiltrasyon (%81,3) ve spongiyoz (%53,8) görüldü. Hastalık süresi 12 ayın üzerindeki hastalarda hiperkeratoz ( $p=0,044$ ) ve intraepidermal lenfosit birikimi ( $p=0,042$ ) daha sık görüldü. Munro mikroabsesi ( $p=0,010$ ) ve stratum bazalede nekrotik keratinositlerin varlığı ( $p=0,031$ ) PASİ değeri 10'nun üzerindeki hastalarda daha sıkı. Gövdeden alınan biyopsilerde hiperkeratoz ( $p=0,024$ ) ve suprapapiller tabakada inceleme ( $p=0,027$ ) diğer lokalizasyonlara göre daha belirgindi. Klasik olmayan klinik görünümüne sahip hastalarda spongiyoz ( $p=0,005$ ) ve intraepidermal lenfosit birikimi ( $p=0,008$ ) daha fazlaydı.

**Sonuç:** Psoriazis hastalarında klasik olmayan histopatolojik bulgular görülebilmektedir. Tanı sırasında klasik/klasik olmayan histopatolojik bulgular değerlendirilirken klinik özellikler dikkate alınmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Dermatopatoloji, histopatoloji, psoriazis, tanı

\*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Yıldız Gursel Urun; Trakya University, Faculty of Medicine, Department of Dermatology and Venereology, Edirne, Türkiye

Phone/Telefon: +90 (505) 537 30 63 e-mail/e-posta: ygurselu@gmail.com

Submitted/Başvuru: 02.11.2023

Accepted/Kabul: 29.02.2024

Published Online/Online Yayın: 29.02.2024



## Introduction

Psoriasis is a chronic, multifactorial skin disease that affects 2-3% of the global population.<sup>1,2</sup> The diagnosis is usually made clinically. However, biopsy is needed for an accurate diagnosis in subtypes such as erythrodermic psoriasis (EP) and pustular psoriasis (PP), in the eruptive phase of psoriasis, and in patients with scalp, palmoplantar, and intertriginous involvement.<sup>3</sup> Histopathological examination is considered the gold standard in the diagnosis of psoriasis, although it is considered a subjective method.<sup>4</sup>

Characteristic changes seen in psoriatic plaques include: (i) irregular proliferation and maturation of keratinocytes, (ii) increased dermal blood vessels, and (iii) inflammatory cell infiltration in the skin.<sup>5</sup> Classical histopathological findings in the skin biopsies of mature psoriatic lesions include regular (psoriasiform) epidermal hyperplasia, elongation of the rete ridges with a thin suprapapillary epidermis, dilated vessels in the upper dermis, and hyperkeratosis with parakeratotic mounds.<sup>6</sup> However, regardless of the histopathological features described, it has been noted there is no completely characteristic microscopic architecture even in untreated, clinically active psoriatic lesions.<sup>7</sup> Moreover, psoriasis is a dynamic process and its histopathological features may vary according to disease duration and lesion location.<sup>1,3</sup> Establishing a pathological diagnosis of psoriasis is challenging in patients with non-classical features.<sup>5,8</sup>

This study aimed to investigate the distribution of classical/non-classical histopathological findings in psoriasis patients according to 1) psoriasis subtype, 2) disease duration, 3) disease severity, 4) the anatomical site of biopsy, and 5) classical/non-classical clinical presentation.

## Methods

We retrospectively analyzed data from 160 patients diagnosed with psoriasis through histopathological examination at our clinic between 2017 and 2023. Patients who had not discontinued all topical and systemic dermatological treatments one month prior to biopsy were excluded. Ethical approval for the study was obtained from the Trakya University, Faculty of Medicine, Non-Interventional Scientific Research Ethics Committee (approval date/number: 09.10.2023/335).

Histopathologically classical and non-classical findings were determined by reviewing dermatopathology textbooks and relevant primary literature.<sup>3,9,10</sup> Biopsy specimens stained with hematoxylin and eosin were re-

examined according to the histopathological criteria by two pathologists from the pathology department of Trakya University, Faculty of Medicine who were experienced in dermatopathology.

The sociodemographic (age, gender) and clinical characteristics (psoriasis subtypes, disease duration, lesion morphology and distribution, family history, and fingernail pitting) of the patients participating in the study were recorded retrospectively from electronic medical records. Psoriasis subtypes were classified as psoriasis vulgaris (PV), palmoplantar PP (PPPP), palmoplantar psoriasis, generalized PP (GPP), guttate psoriasis, and EP. The PPPP category included patients with vesiculo-pustular lesions involving the palms and soles of the feet, while the palmoplantar psoriasis category included patients with well-circumscribed erythematous keratotic plaques but few pustular formations.<sup>11</sup>

To enable a comparison with the literature data and identify histopathological data in early-onset psoriasis, disease duration was classified as  $\leq 12$  or  $>12$  months and as  $\leq 1$  or  $>1$  month.<sup>12</sup> Except for those with PPPP and palmoplantar psoriasis, we retrospectively reviewed all patients' Psoriasis Area Severity Index (PASI) scores, which are used to measure the severity of psoriasis. According to PASI scores calculated at the time of biopsy, the patients were divided into two groups as PASI  $\leq 10$  or PASI  $>10$ .<sup>13</sup> The anatomical regions biopsied were categorized as trunk, lower extremities, palmoplantar, upper extremities and scalp.

The clinical manifestations of psoriasis patients were classified as classical and non-classical feature using the criteria specified by Chau et al. as a reference.<sup>10</sup> In addition to classical morphology and/or classical distribution, the presence of nail pitting (10 or more on a nail)<sup>14</sup> and/or a history of psoriasis in a first-degree relative were evaluated. Patients who met at least two diagnostic criteria were regarded as having the classical features.

## Statistical Analysis

The data were statistically analyzed using IBM SPSS version 26 software. Pearson's chi-square and Fisher's exact test were used for comparisons of categorical variables between the groups.  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

## Results

A total of 160 biopsy sections from 160 patients were included in this study. The sociodemographic and clinical characteristics of the patients are summarized in Table 1.

**Table 1.** Demographic and clinical characteristics of the study sample (n=160)

	n (%)
<b>Age, years, mean±SD (range)</b>	44.34±14.52 (18-75)
<b>Gender, n (%)</b>	
Female	93 (58.1)
Male	67 (41.9)
<b>Psoriasis subtype, n (%)</b>	
Psoriasis vulgaris	112 (70)
PPPP	25 (15.6)
Palmoplantar psoriasis	8 (5.0)
Generalized PP	6 (3.8)
Guttate psoriasis	5 (3.1)
Erythrodermic psoriasis	4 (2.5)
<b>Disease Duration (months), n (%)</b>	
>12	93 (58.1)
≤12	67 (41.9)
Mean±SD (Min-Max)	65.85±92.07 (1-480)
<b>PASI, n=112 (%)</b>	
PASI ≤10	82 (73.2)
PASI >10	39 (34.8)
Mean±SD (Min-Max)	8.4±8.03 (0.1-43.4)
<b>Clinical diagnostic criteria, n (%)</b>	
Classic morphology*	102 (63.8)
Classic distribution†	86 (53.8)
Nail pitting‡	22 (13.8)
Family history of psoriasis§	38 (23.7)
Classic features	96 (60)
Non-classic features	64 (40)
<b>Anatomical site of biopsy, n (%)</b>	
Trunk	42 (26.3)
Lower extremity	41 (25.6)
Palmoplantar	31 (19.4)
Upper extremity	28 (17.5)
Scalp	18 (11.3)

SD: Standard deviation, Min: Minimum, Max: Maximum, PPPP: Palmoplantar pustular psoriasis, PP: Pustular psoriasis, PASI: Psoriasis Area Severity Index.

\* Classical morphology was defined as well-demarcated erythematous papules and plaques accompanied by silvery micaceous scales.<sup>9</sup>

† Classical distribution was defined as scalp, elbows, knees, or gluteal region involvement in psoriasis vulgaris and as palmoplantar region involvement in palmoplantar pustular psoriasis and palmoplantar psoriasis.<sup>9</sup>

‡ A nail with 10 or more pits was considered positive.<sup>13</sup>

§ History of psoriasis in a first-degree relative was considered positive family history.<sup>9</sup>

The mean age of the patients was 44.34 years (range: 18-75 years). Women accounted for 58.1% (n=93) of the study group. Lesion duration was less than ≤12 months in 67 patients (41.9%) and ≤1 month in 8 patients. Classical morphology and classical distribution were observed in 63.8% (n=102) and 53.8% (n=86) of the patients, respectively.

The most common classical histopathological findings were regular acanthosis (99.4%), confluent parakeratosis (96.3%), blood vessels, dilated (93.1%), hyperkeratosis (89.4%), suprapapillary plate thinning (89.4%), thick-walled vessels (83.8%), and hypogranulosis (78.8%). Among the non-classical histopathologic features, the most common were superficial perivascular dermal infiltration (81.3%), spongiosis (53.8%), and the presence of intraepidermal lymphocytic cells (51.3%) (Table 2).

Spongiform pustule of Kogoj was more common in PPPP and GPP patients than in other psoriasis subtypes (64% and 66.7%, respectively). A higher proportion of PPPP patients had intraepidermal neutrophil accumulation (44%). All GPP patients (n=6, 100%) exhibited an increased number of dermal blood vessels, papillary oedema and superficial perivascular dermal infiltration. Among the classical histopathological findings in palmoplantar psoriasis patients, hyperkeratosis and associated vascular pathologies (dermal papillae capillary ectasia, blood vessels, dilated, increased number of vessels, thick-walled vessels) were detected at a rate of 100% (n=8). Irregular acanthosis, stratum basale necrotic keratinocytes, and spongiosis were detected in 100% (n=4) of patients with EP (Table 3).

When the distribution of classical and non-classical histopathological findings was examined according to disease duration, hyperkeratosis and intraepidermal lymphocyte accumulation were more common in patients with disease duration longer than 12 months (p=0.044 and p=0.042, respectively) (Table 4). Dilated blood vessels, papillary edema, and dermal neutrophils were statistically more frequent in patients with a disease duration of less than ≤ 1 month (p=0.031, p=0.011, and p=0.011, respectively) (Table 5).

Analysis of changes in histopathological findings according to disease severity revealed that the presence of Munro microabscess (p=0.010), papillary oedema (p=0.014), stratum basale necrotic keratinocytes (p=0.031) were higher in patients with PASI >10 (Table 6). In terms of the distribution of histopathological findings according to biopsy site, we determined that spongiform pustule of Kogoj, intraepidermal neutrophils, and vacuolar changes in the basement membrane were more common in biopsies of the palmoplantar region (p=0.003, p=0.002, and p=0.021, respectively). Hyperkeratosis and

suprapapillary plate thinning were more common in trunk biopsies ( $p=0.024$  and  $p=0.027$ , respectively) (Table 7).

**Table 2.** Distribution of histopathological findings in psoriasis patients (n=160)

	n	%
<b>Classical histopathologic features</b>		
Hyperkeratosis	143	89.4
Confluent Parakeratosis	154	96.3
Hypogranulosis	126	78.8
Munro microabscess	50	31.3
Spongiform pustule of Kogoj	51	31.9
Regular acanthosis	159	99.4
Club-shaped rete ridges	101	63.1
Dermal papillae capillary ectasia	126	78.8
Suprapapillary plate thinning	143	89.4
Blood vessels, dilated	149	93.1
Increased number of the vessels	109	68.1
Thick-walled vessels	134	83.8
Papillary oedema	10	6.3
<b>Non-classical histopathologic features</b>		
Irregular acanthosis	35	21.9
Hypergranulosis	6	3.8
Compact orthokeratosis	9	5.6
Stratum spinosum necrotic keratinocytes	2	1.3
Stratum basale necrotic keratinocytes	10	6.3
Spongiosis	86	53.8
Intraepidermal cells		
<i>Lymphocytes</i>	82	51.3
<i>Neutrophils</i>	27	16.9
<i>Eosinophils</i>	2	1.3
Neutrophilic spongiosis	6	3.8
Vacuolar change in basement membrane	3	1.9
Dermal infiltration		
<i>Erythrocyte extravasation</i>	1	0.6
<i>Eosinophils</i>	3	1.9
<i>Neutrophils</i>	11	6.9
<i>Lymphocytes</i>	1	0.6
<i>Deep perivascular</i>	6	3.8
<i>Superficial perivascular</i>	130	81.3
Papillary dermal fibrosis	2	1.3

When the histopathological findings of patients with non-classical presentation were evaluated, it was found that spongiosis and intraepidermal lymphocytes were more common than in patients with the classical presentation ( $p=0.005$  and  $p=0.008$ , respectively) (Table 8).

## Discussion

Psoriasis occurs equally in men and women.<sup>15</sup> However, because psoriasis in men has a more severe course and is more likely to require systemic treatment, male predominance has been mentioned in recent studies.<sup>16</sup> In our study, women were predominant. This may be because psoriasis has a greater impact on quality of life in women than men, leading them to present to the dermatology outpatient clinic more frequently<sup>16,17</sup>, and most of the patients in our study have mild PASI scores ( $\leq 10$  in 59.4% of patients).

The most common and easily recognized subtype of psoriasis is chronic plaques or PV.<sup>18</sup> PPPP is a variant that can affect 11-39% of psoriasis patients,<sup>19</sup> while palmoplantar psoriasis accounts for 3-4% of all cases.<sup>20</sup> Although our findings are generally consistent with the literature, the rate of palmoplantar psoriasis was found to be higher. This may be because palmoplantar psoriasis is difficult to distinguish from contact dermatitis due to both clinical presentation and location, and therefore skin biopsy is more necessary during diagnosis.<sup>1</sup>

Nail pitting is a common nail finding in psoriasis, reported at a rate of 37% in a study by Singh.<sup>21</sup> This rate was similar to that observed in our study. It has been shown that approximately 30% of psoriasis patients have a first-degree relative with a history of psoriasis and that this is associated with early-onset psoriasis (before the age of 40).<sup>22</sup> In our study, 22% of the patients had a positive family history. The fact that the mean age of the patients participating in the study was 44.34 years and patients under the age of 18 were not included in the study may have led to the lower rate of family history positivity.

Consistent with the literature, our study found that acanthosis and parakeratosis were among the most frequently occurring histopathological changes in the epidermis of patients with psoriasis. Studies have reported that the histopathological finding of Munro microabscess is more common than spongiform pustule of Kogoj.<sup>8,10,24</sup> In our study, both were observed at similar rates. This may be due to the higher proportion of PPPP patients in our study compared to other studies.<sup>8,10</sup>

Appukkuttan et al. reported that lymphocytes were the most common dermal infiltrating cells, similar to our findings.<sup>25</sup> Song et al. detected a prominence of dermal neutrophils and noted that they were seen in biopsies of early psoriasis lesions.<sup>8</sup> In our study, the majority of early psoriasis patients (disease duration  $\leq 1$  month) had a dominant dermal neutrophil population. This may be explained by the autoinflammation process that is prevalent in early psoriasis lesions.<sup>12</sup>

**Tablo 3.** Histopathological findings in various clinical subtypes of psoriasis

	Psoriasis subtype					
	PV (n=112)	PPPP (n=25)	Palmoplantar psoriasis (n=8)	GPP (n=6)	Guttate psoriasis (n=5)	Erythrodermic psoriasis (n=4)
<b>Classical histopathologic features</b>						
Hyperkeratosis	101 (90.2)	22 (88)	8 (100)	4 (66.7)	4 (80)	4 (100)
Confluent Parakeratosis	111 (99.1)	23 (92)	7 (87.5)	5 (83.3)	4 (80)	4 (100)
Hypogranulosis	93 (83)	19 (76)	5 (62.5)	3 (50)	2 (40)	4 (100)
Munro microabscess	34 (30.4)	10 (40)	1 (12.5)	2 (33.3)	2 (40)	1 (25)
Spongiform pustule of Kogoj	25 (22.3)	16 (64)	3 (37.5)	4 (66.7)	1 (20)	2 (50)
Regular acanthosis	112 (100)	25 (100)	8 (100)	6 (100)	5 (100)	4 (100)
Club-shaped rete ridges	69 (61.6)	17 (68)	7 (87.5)	3 (50)	3 (60)	2 (50)
Dermal papilla capillary ectasia	88 (78.6)	21 (84)	8 (100)	4 (66.7)	3 (60)	2 (50)
Suprapapillary plate thinning	102 (91.1)	21 (84)	7 (87.5)	5 (83.3)	5 (100)	3 (75)
Blood vessels, dilated	106 (94.6)	22 (88)	8 (100)	5 (83.3)	4 (80)	4 (100)
Increased number of the vessels	73 (65.2)	17 (68)	8 (100)	6 (100)	2 (40)	3 (75)
Thick-walled vessels	95 (84.8)	22 (88)	8 (100)	5 (83.3)	2 (40)	2 (50)
Papillary oedema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (100)	0 (0)	4 (100)
<b>Non-classical histopathologic features</b>						
Irregular acanthosis	22 (19.6)	6 (24)	1 (12.5)	2 (33.3)	0 (0)	4 (100)
Hypergranulosis	3 (2.7)	2 (8)	0 (0)	0 (0)	1 (20)	0 (0)
Compact orthokeratosis	4 (3.6)	5 (20)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Stratum spinosum necrotic keratinocytes	0 (0)	2 (8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Stratum basale necrotic keratinocytes	5 (4.5)	1 (4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (100)
Spongiosis	54 (48.2)	17 (68)	5 (62.5)	4 (66.7)	2 (40)	4 (100)
Intraepidermal cells						
<i>Lymphocytes</i>	55 (49.1)	12 (48)	6 (75)	3 (50)	2 (40)	4 (100)
<i>Neutrophils</i>	13 (11.6)	11 (44)	2 (25)	1 (16.7)	0 (0)	0 (0)
<i>Eosinophils</i>	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)	1 (16.7)	0 (0)	0 (0)
Neutrophilic spongiosis	5 (4.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (25)
Vacuolar change in basement membrane	0 (0)	3 (12)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Dermal infiltration						
<i>Erythrocyte extravasation</i>	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Eosinophils</i>	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)	2 (33.3)	0 (0)	0 (0)
<i>Neutrophils</i>	6 (5.4)	1 (4)	0 (0)	3 (50)	0 (0)	1 (25)
<i>Lymphocytes</i>	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Deep perivascular</i>	4 (3.6)	2 (8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Superficial perivascular</i>	95 (84.8)	19 (76)	3 (37.5)	6 (100)	4 (80)	3 (75)
Papillary dermal fibrosis	2 (1.8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

PV: Psoriasis vulgaris, PPPP: Palmoplantar pustular psoriasis, GPP: Generalized pustular psoriasis.

**Table 4.** Distribution of classical and non-classical histopathological findings according to disease duration

	Disease Duration (months)		X <sup>2</sup>	P value*
	≤ 12 (n=67)	>12 (n=93)		
<b>Classical histopathologic features</b>				
Hyperkeratosis	56 (83.6)	87 (93.5)	4.07	<b>0.044</b>
Confluent Parakeratosis	62 (92.5)	92 (98.9)	4402.00	0.083
Hypogranulosis	49 (73.1)	77 (82.8)	2172.00	0.141
Munro microabscess	23 (34.3)	27 (29)	0.51	0.476
Spongiform pustule of Kogoj	24 (35.8)	27 (29)	0.83	0.363
Regular acanthosis	67 (100)	92 (98.9)	0.73	1.000
Club-shaped rete ridges	42 (62.7)	59 (63.4)	0.01	0.922
Dermal papillae capillary ectasia	52 (77.6)	74 (79.6)	0.09	0.765
Suprapapillary plate thinning	59 (88.1)	84 (90.3)	0.21	0.647
Blood vessels, dilated	61 (91)	88 (94.6)	0.779	0.528
Increased number of the vessels	43 (64.2)	66 (71)	0.83	0.363
Thick-walled vessels	57 (85.1)	77 (82.8)	0.15	0.700
Papillary oedema	8 (11.9)	2 (2.2)	3467.000	0.096
<b>Non-classical histopathologic features</b>				
Irregular acanthosis	13 (19.4)	22 (23.7)	0.41	0.521
Hypergranulosis	3 (4.5)	3 (3.2)	0.17	0.695
Compact orthokeratosis	4 (6)	5 (5.4)	0.03	1.000
Stratum spinosum necrotic keratinocytes	1 (1.5)	1 (1.1)	0.06	1.000
Stratum basale necrotic keratinocytes	8 (11.9)	2 (2.2)	6370.00	0.018
Spongiosis	42 (62.7)	44 (47.3)	3703.00	0.054
Intraepidermal cells				
<i>Lymphocytes</i>	28 (41.8)	54 (58.1)	4.128	<b>0.042</b>
<i>Neutrophils</i>	13 (19.4)	14 (15.0)	0.088	0.767
<i>Eosinophils</i>	1 (1.5)	1 (1.1)	0.06	1.000
Neutrophilic spongiosis	3 (4.5)	3 (3.2)	0.17	0.695
Vacuolar change in basement membrane	3 (4.5)	- (-)	4244.00	0.072
Dermal infiltration				
<i>Erythrocyte extravasation</i>	0 (0)	1 (1.1)	0.73	1.000
<i>Eosinophils</i>	1 (1.5)	2 (2.2)	0.09	1.000
<i>Neutrophils</i>	6 (9)	5 (5.4)	0.78	0.528
<i>Lymphocytes</i>	0 (0)	1 (1.1)	0.73	1.000
<i>Deep perivascular</i>	3 (4.5)	3 (3.2)	0.17	0.695
<i>Superficial perivascular</i>	64 (95.5)	66 (71)	5.30	<b>0.021</b>
Papillary dermal fibrosis	1 (1.5)	1 (1.1)	0.06	1.000

\*Pearson chi-Square, Fisher's exact test. Bold values denote statistical significance at the p < 0.05 level.

**Tablo 5.** Change of histopathological findings depending on whether the disease duration is less than 1 month or not

	Disease Duration (months)		X <sup>2</sup>	P value*
	≤ 1 (n=8)	>1 (n=152)		
<b>Classical histopathologic features</b>				
Hyperkeratosis	5 (62.5)	138 (90.8)	6405.00	<b>0.040</b>
Confluent Parakeratosis	7 (87.5)	147 (96.7)	1786.00	0.269
Hypogranulosis	5 (62.5)	121 (79.6)	1329.00	0.368
Munro microabscess	4 (50)	46 (30.3)	1378.00	0.258
Spongiform pustule of Kogoj	3 (37.5)	48 (31.6)	0.12	0.710
Regular acanthosis	8 (100)	151 (99.3)	0.05	1.000
Club-shaped rete ridges	6 (75)	95 (62.5)	0.51	0.711
Dermal papilla capillary ectasia	7 (87.5)	119 (78.3)	0.39	1.000
Suprapapillary plate thinning	6 (75)	137 (90.1)	1832.00	0.203
Blood vessels, dilated	8 (100)	141 (91.5)	5.061	<b>0.031</b>
Increased number of the vessels	8 (100)	101 (66.4)	3940.00	0.056
Thick-walled vessels	7 (87.5)	127 (83.6)	0.09	1.000
Papillary oedema	4 (25)	8 (5.3)	12.336	<b>0.011</b>
<b>Non-classical histopathologic features</b>				
Irregular acanthosis	2 (25)	33 (21.7)	0.05	1.000
Hypergranulosis	0 (0)	6 (3.9)	0.33	1.000
Compact orthokeratosis	0 (0)	9 (5.9)	0.50	1.000
Stratum spinosum necrotic keratinocytes	0 (0)	2 (1.3)	0.11	1.000
Stratum basale necrotic keratinocytes	1 (12.5)	9 (5.9)	0.56	0.410
Spongiosis	6 (75)	80 (52.6)	1530.00	0.288
Intraepidermal cells				
<i>Lymphocytes</i>	5 (62.5)	77 (50.7)	0.43	0.720
<i>Neutrophils</i>	2 (25)	25 (16.4)	0.05	1.000
<i>Eosinophils</i>	1 (12.5)	1 (0.7)	8634.00	0.098
Neutrophilic spongiosis	0 (0)	6 (3.9)	0.33	1.000
Vacuolar change in basement membrane	0 (0)	3 (2)	0.16	1.000
Dermal infiltration				
<i>Erythrocyte extravasation</i>	0 (0)	1 (0.7)	0.05	1.000
<i>Eosinophils</i>	1 (12.5)	2 (1.3)	5167.00	0.143
<i>Neutrophils</i>	3 (37.5)	8 (5.3)	12336.00	<b>0.011</b>
<i>Lymphocytes</i>	0 (0)	1 (0.7)	0.39	1.000
<i>Deep perivascular</i>	0 (0)	6 (3.9)	0.33	1.000
<i>Superficial perivascular</i>	8 (100)	122 (80.3)	1067.00	0.599
Papillary dermal fibrosis	0 (0)	2 (1.3)	0.11	1.000

\*Pearson chi-Square, Fisher's exact test. Bold values denote statistical significance at the p &lt; 0.05 level.

**Table 6.** Distribution of histopathological findings according to PASI scores (n=121)

	PASI		X <sup>2</sup>	P value*
	PASI 10 ≤	PASI 10 >		
<b>Classical histopathologic features</b>				
Hyperkeratosis	73 (89)	36 (92.3)	0.319	0.750
Confluent Parakeratosis	80 (97.6)	39 (100)	0.967	1.000
Hypogranulosis	65 (79.3)	34 (87.2)	1.112	0.292
Munro microabscess	19 (23.2)	18 (46.2)	6.577	<b>0.010</b>
Spongiform pustule of Kogoj	17 (20.7)	11 (28.2)	0.830	0.362
Regular acanthosis	82 (100)	38 (97.4)	2.120	0.322
Club-shaped rete ridges	49 (59.8)	25 (64.1)	0.210	0.647
Dermal papillae capillary ectasia	61 (74.4)	32 (82.1)	0.872	0.350
Suprapapillary plate thinning	75 (91.5)	35 (89.7)	0.095	0.745
Blood vessels, dilated	77 (93.9)	37 (94.9)	0.046	1.000
Increased number of the vessels	50 (61)	28 (71.8)	1.351	0.245
Thick-walled vessels	69 (84.1)	30 (76.9)	0.927	0.336
Papillary oedema	2 (2.4)	6 (15.4)	7.174	<b>0.014</b>
<b>Non-classical histopathologic features</b>				
Irregular acanthosis	14 (17.1)	12 (30.8)	2.939	0.086
Hypergranulosis	3 (3.7)	1 (2.6)	0.099	1.000
Compact orthokeratosis	3 (3.7)	1 (2.6)	0.099	1.000
Stratum spinosum necrotic keratinocytes	-	-	-	-
Stratum basale necrotic keratinocytes	3 (3.7)	6 (15.4)	5.278	<b>0.031</b>
Spongiosis	39 (47.6)	21 (53.8)	0.418	0.518
Intraepidermal cells				
<i>Lymphocytes</i>	38 (46.3)	23 (59)	1.687	0.194
<i>Neutrophils</i>	7 (8.5)	8 (20.5)	3.491	0.079
<i>Eosinophils</i>	1 (1.2)	0 (0)	0.480	1.000
Neutrophilic spongiosis	2 (2.4)	4 (10.3)	3.427	0.084
Vacuolar change in basement membrane	-	-	-	-
Dermal infiltration				
<i>Erythrocyte extravasation</i>	1 (1.2)	0 (0)	0.480	1.000
<i>Eosinophils</i>	1 (1.2)	0 (0)	0.480	1.000
<i>Neutrophils</i>	5 (6.1)	2 (5.1)	0.046	1.000
<i>Lymphocytes</i>	0 (0)	1 (2.6)	2.120	0.322
<i>Deep perivascular</i>	2 (2.4)	2 (5.1)	0.598	0.593
<i>Superficial perivascular</i>	68 (82.9)	34 (87.2)	0.361	0.548
Papillary dermal fibrosis	2 (2.4)	0 (0)	0.967	1.000

PASI: Psoriasis Area Severity Index. \*Pearson chi-Square, Fisher's exact test. Bold values denote statistical significance at the p <0.05 level.

**Table 7.** Classical and non-classical histopathological findings according to the anatomical site of the biopsy

	Anatomic site of biopsy					X <sup>2</sup>	P value*
	Trunk (n=42)	Lower extremity (n=41)	Palmoplantar (n=31)	Upper extremity (n=28)	Scalp (n=18)		
<b>Classical histopathologic features</b>							
Hyperkeratosis	42 (100)	36 (87.8)	28 (90.3)	22 (78.6)	15 (83.3)	10.098	<b>0.024</b>
Confluent Parakeratosis	40 (95.2)	41 (100)	29 (93.5)	26 (92.9)	18 (100)	3.786	0.372
Hypogranulosis	31 (73.8)	36 (87.8)	21 (67.7)	22 (78.6)	16 (88.9)	5.793	0.209
Munro microabscess	16 (38.1)	12 (29.3)	10 (32.3)	10 (35.7)	2 (11.1)	4.663	0.324
Spongiform pustule of Kogoj	12 (28.6)	11 (26.8)	19 (61.3)	6 (21.4)	3 (16.7)	16.369	<b>0.003</b>
Regular acanthosis	42 (100)	40 (97.6)	31 (100)	26 (92.9)	18 (100)	3.665	0.740
Club-shaped rete ridges	27 (64.3)	23 (56.1)	22 (71)	17 (60.7)	12 (66.7)	1.880	0.758
Dermal papillae capillary ectasia	33 (78.6)	29 (70.7)	27 (87.1)	21 (75)	16 (88.9)	4.002	0.405
Suprapapillary plate thinning	41 (97.6)	33 (80.5)	27 (87.1)	25 (89.3)	17 (94.4)	10.120	<b>0.027</b>
Blood vessels, dilated	40 (95.2)	40 (97.6)	29 (93.5)	17 (60.7)	16 (88.9)	4.414	0.320
Increased number of the vessels	32 (76.2)	27 (65.9)	22 (71)	19 (67.9)	9 (50)	4.195	0.380
Thick-walled vessels	34 (81)	33 (80.5)	28 (90.3)	22 (78.6)	17 (94.4)	3.478	0.483
Papillary edema	7 (16.7)	1 (2.4)	1 (3.2)	1 (3.6)	0 (0)	7.504	0.061
<b>Non-classical histopathologic features</b>							
Irregular acanthosis	12 (28.6)	8 (19.5)	6 (19.4)	4 (14.3)	5 (27.8)	2.647	0.624
Hypergranulosis	1 (2.4)	2 (4.9)	1 (3.2)	2 (7.1)	0 (0)	1.825	0.835
Compact orthokeratosis	2 (4.8)	1 (2.4)	5 (16.1)	1 (3.6)	0 (0)	5.957	0.132
Stratum spinosum necrotic keratinocytes	0 (0)	0 (0)	2 (6.5)	0 (0)	0 (0)	4.812	0.083
Stratum basale necrotic keratinocytes	6 (14.3)	1 (2.4)	1 (3.2)	1 (3.6)	1 (5.6)	4.999	0.247
Spongiosis	22 (52.4)	19 (46.3)	20 (64.5)	15 (53.6)	10 (55.6)	2.406	0.661
Intraepidermal cells							
<i>Lymphocytes</i>	21 (50)	20 (48.8)	17 (54.8)	14 (50)	10 (55.6)	0.437	0.979
<i>Neutrophils</i>	9 (21.4)	1 (2.4)	11 (35.5)	5 (17.9)	1 (5.6)	16.226	<b>0.002</b>
<i>Eosinophils</i>	1 (2.4)	0 (0)	0 (0)	1 (3.6)	0 (0)	2.956	0.658
Neutrophilic spongiosis	3 (7.1)	2 (4.9)	0 (0)	0 (0)	1 (5.6)	3.560	0.441
Vacuolar change in basement membrane	0 (0)	0 (0)	3 (9.7)	0 (0)	0 (0)	6.606	<b>0.021</b>
Dermal infiltration							
<i>Erythrocyte extravasation</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5.6)	5.311	0.111
<i>Eosinophils</i>	1 (2.4)	2 (4.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2.534	0.691
<i>Neutrophils</i>	5 (11.9)	3 (7.3)	1 (3.2)	2 (7.1)	0 (0)	2.962	0.554
<i>Lymphocytes</i>	0 (0)	1 (2.4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3.665	0.740
<i>Deep perivascular</i>	1 (2.4)	1 (2.4)	1 (3.2)	1 (3.6)	2 (11.1)	2.961	0.554
<i>Superficial perivascular</i>	37 (88.1)	35 (85.4)	22 (71)	24 (85.7)	12 (66.7)	6.434	0.164
Papillary dermal fibrosis	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3.6)	1 (5.6)	4.651	0.121

\*Pearson chi-square. Bold values denote statistical significance at the p &lt; 0.05 level.



**Table 8.** Distribution of histopathological findings according to classical/non-classical features classification

	Classical feature (n=96)	Non-classical feature (n=64)	$\chi^2$	P value*
<b>Classical histopathologic features</b>				
Hyperkeratosis	87 (90.6)	56 (87.5)	0.395	0.530
Confluent Parakeratosis	94 (97.9)	60 (93.8)	1.847	0.219
Hypogranulosis	76 (79.2)	50 (78.1)	0.025	0.875
Munro microabscess	28 (29.2)	22 (34.4)	0.485	0.486
Spongiform pustule of Kogoj	27 (28.1)	24 (37.5)	1.554	0.213
Regular acanthosis	95 (99)	64 (100)	0.671	1.000
Club-shaped rete ridges	62 (64.6)	39 (60.9)	0.219	0.640
Dermal papillae capillary ectasia	78 (81.3)	48 (75)	0.896	0.344
Suprapapillary plate thinning	84 (87.5)	59 (92.2)	0.889	0.346
Blood vessels. dilated	91 (94.8)	58 (90.6)	1.041	0.350
Increased number of the vessels	66 (68.8)	43 (67.2)	0.043	0.835
Thick-walled vessels	76 (79.2)	58 (90.6)	3.705	0.054
Papillary oedema	3 (3.1)	7 (10.9)	4.000	0.091
<b>Non-classical histopathologic features</b>				
Irregular acanthosis	18 (18.8)	17 (26.6)	1.371	0.242
Hypergranulosis	2 (2.1)	4 (6.3)	1.847	0.219
Compact orthokeratosis	5 (5.2)	4 (6.3)	0.078	1.000
Stratum spinosum necrotic keratinocytes	1 (1)	1 (1.6)	0.084	1.000
Stratum basale necrotic keratinocytes	3 (3.1)	7 (10.9)	4.000	0.091
Spongiosis	18 (18.8)	46 (71.8)	7.748	<b>0.005</b>
Intraepidermal cells				
<i>Lymphocytes</i>	66 (68.8)	16 (25)	1.839	<b>0.008</b>
<i>Neutrophils</i>	14 (14.6)	13 (20.3)	0.899	0.343
<i>Eosinophils</i>	2 (2.1)	0 (0)	1.350	0.517
Neutrophilic spongiosis	4 (4.2)	2 (3.1)	0.115	1.000
Vacuolar change in basement membrane	1 (1)	2 (3.1)	0.906	0.564
Dermal infiltration				
<i>Erythrocyte extravasation</i>	1 (1)	0 (0)	0.671	1.000
<i>Eosinophils</i>	0 (0)	3 (4.7)	4.586	0.062
<i>Neutrophils</i>	5 (5.2)	6 (9.4)	1.041	0.350
<i>Lymphocytes</i>	1 (1)	0 (0)	0.671	1.000
<i>Deep perivascular</i>	2 (2.1)	4 (6.3)	1.847	0.219
<i>Superficial perivascular</i>	78 (81.3)	52 (81.3)	0.000	1.000
Papillary dermal fibrosis	2 (2.1)	0 (0)	1.350	0.517

\*Pearson chi-Square, Fisher's exact test. Bold values denote statistical significance at the p &lt;0.05 level.

In a study by Fülle et al., intraepidermal eosinophilia was observed at a rate of 2.6% (n=2), eosinophilic spongiosis at 1.3% (n=1), and dermal eosinophilia at 21.3% (n=16).<sup>3</sup> Chau et al. reported the frequency of eosinophilic spongiosis and dermal eosinophilia as 4.6% and 25.4%, respectively.<sup>10</sup> In our study, the rate of intraepidermal eosinophilia was 1.3% (n=2) and that of dermal eosinophilia was 1.9% (n=3), while eosinophilic spongiosis was not observed in any patient. Pathology textbooks and primary sources state that eosinophils are typically rare or absent in psoriasis patients.<sup>26</sup> Chau et al. considered that their higher levels of eosinophilia may be attributable to the presence of coexisting contact dermatitis or atopic dermatitis in the psoriasis lesions of their patients.<sup>10</sup>

Histopathological findings in patients with GPP include the classic histopathological findings (hyperkeratosis, confluent parakeratosis and regular acanthosis) that accompany spongiform pustule of Kogoj.<sup>27</sup> In contrast to PV, papillary oedema and superficial perivascular dermal infiltration are more common.<sup>2</sup> In our study, we observed that the histopathological finding of spongiform pustule of Kogoj was more common in GPP patients, while an increased number of dermal blood vessels, papillary edema, and superficial perivascular dermal infiltration were observed in all patients.

Palmoplantar psoriasis is often accompanied by fissures and hyperkeratosis, making it difficult to differentiate from contact dermatitis.<sup>1</sup> Aydın et al. emphasized that focal parakeratosis and associated moderate hyperkeratosis are important in the diagnosis of palmoplantar psoriasis.<sup>28</sup> In addition, dilated and tortuous capillaries are not seen in contact dermatitis.<sup>1</sup> Although there was no control group in our study, we believe that because hyperkeratosis, orthokeratosis, and vascular changes are more common in palmoplantar psoriasis compared to other psoriasis subtypes, these findings will be especially helpful in the diagnosis of palmoplantar psoriasis.

In EP, Munro microabscesses and parakeratosis are not histopathologically evident because highly accelerated cell turnover causes loss of the stratum corneum layer.<sup>1,29</sup> In addition to other non-classical histopathological findings, apoptotic keratinocytes are also seen in EP.<sup>29</sup> Recently, it has been emphasized that necrotic keratinocytes can be seen in psoriasis and are mostly located in the upper epidermis. However, psoriasis subtyping was not performed in this study.<sup>30</sup> During erythrodermic drug eruptions, the epidermis shows vacuolar alteration and necrotic keratinocytes at all levels of the epidermis.<sup>31</sup> Although we noted no drug-associated EP in our retrospective data analysis, it is

noteworthy that stratum basale necrotic keratinocytes were observed in our EP patients.

Psoriatic histopathological changes in the dermis precede histopathological changes in the epidermis. The earliest histopathological changes include dilated vessels in the papillary dermis and congestion with mild perivascular lymphocytic infiltration.<sup>25,32</sup> In our study, early histopathological findings were pronounced in lesions with a short duration. However, the histopathological findings of early psoriasis are nonspecific.<sup>32</sup> In addition, patients' clinical characteristics should be known in order to better evaluate these histopathological findings, because the classical histopathological findings accompanying epidermal changes are seen in well-established lesions.<sup>1</sup> Although there are no clear data on early psoriasis lesions and lesion duration in the literature, Fanoni et al. described patients with early psoriasis as presenting with papular lesions or actively emerging pustular/papulopustular lesions.<sup>12</sup> However, the retrospective nature of our study resulted in data loss, and the characteristics defined by Fanoni et al. could not be evaluated.

It has been reported in the literature that there is no correlation between histopathological findings and PASI scores.<sup>33,34</sup> In their quantitative computer-aided study, Kim et al. observed a relationship between histopathological findings and the three components of the PASI score (erythema, thickness, and desquamation).<sup>35</sup> In our study, stratum basale necrotic keratinocytes were observed at higher rates only in patients with high PASI values. The fact that this histopathological finding is mostly seen in patients with EP may be related to the higher PASI scores in this group. In order to more clearly evaluate the relationship between PASI and histopathological findings, we think it would be more appropriate to determine PASI component scores separately and calculate PASI scores at the lesion level.

Similar to the study by Chau et al., the lower extremities and trunk were among the most commonly biopsied anatomical regions in our study.<sup>10</sup> The list of differential diagnoses for psoriasis is long and includes inflammatory, infectious, and neoplastic diseases with papulosquamous lesions.<sup>18</sup> These diseases are mostly localized to the limbs and trunk.<sup>36</sup> As clinicians have difficulty in the differential diagnosis of psoriasis lesions on the lower extremity and trunk, more biopsies are needed for lesions located in these regions.

Patients with PP exhibit intraepidermal pustules at various stages of development.<sup>1</sup> The histopathologic features in acute PP differ from those seen in PV because neutrophil exocytosis occurs before the typical epidermal

hyperplastic changes take place.<sup>24</sup> In our study, these histopathological findings were more frequent in patients with PPPP compared to other localizations, consistent with clinical findings.

Ackerman et al. emphasized that histopathological findings in patients with leg psoriasis were less psoriasiform and that this was more pronounced in patients with psoriasis and concomitant stasis dermatitis.<sup>37</sup> Fülle et al. reported that regular hyperplasia and suprapapillary thinning were less common in psoriasis patients with leg involvement compared to trunk involvement.<sup>3</sup> The same authors stated that stasis dermatitis did not alter the histopathological findings in patients with leg psoriasis. In our study, these histopathological changes were more common in patients with trunk involvement. As a result, when evaluating histopathological findings in psoriasis patients, attention should be paid to the location of the biopsy site.

The appearance of different clinical pictures at different times in psoriasis patients creates a dilemma both for the clinician and the diagnostic value of the histopathological findings used in diagnosis.<sup>4</sup> In this respect, psoriasis should be distinguished histopathologically from psoriasiform dermatitis.<sup>4,38</sup> The histopathological findings of psoriasiform dermatitis should include spongiosis, irregular acanthosis, and the absence of Munro microabscesses and Kogoj abscesses.<sup>4</sup> In the study of Chau et al., irregular acanthosis and spongiosis were among the most common non-classical histopathological findings.<sup>10</sup> In our study, the spongiosis and intraepidermal lymphocytes were more common in psoriasis patients with non-classical clinical features. The appearance of intraepidermal lymphocytes may be related to mild spongiosis.<sup>1</sup> Mehta et al. found that the presence of intraepidermal lymphocytic cells was significantly associated with the diagnosis of psoriasiform dermatitis.<sup>4</sup> In conclusion, it should be noted that the presence of spongiosis and intraepidermal lymphocytes seen in psoriasis vulgaris histopathology can also be seen histopathologically in patients with non-classical clinical features, and pathognomonic signs such as the presence of Munro's microabscess and Kogoj's spongiform pustules should be sought to distinguish it from psoriasiform dermatitis.<sup>7</sup>

In the study by Chau et al., vacuolar changes in the basal layer were among the second most common non-classical histopathological findings, observed at a rate of 1% in palmoplantar psoriasis.<sup>10</sup> Vacuolar changes in the basal layer are known as a sign of interface/lichenoid dermatitis associated with necrotic keratinocytes.<sup>39</sup> In our study, vacuolar changes in the basal layer and

stratum spinosum necrotic keratinocytes were observed in palmoplantar region involvement. Psoriasiform dermatitis encompasses a wide-ranging group of diseases with similar clinical and histopathological features. It is classified into two main categories: the pure psoriasiform pattern and combination patterns (psoriasiform lichenoid, spongiotic psoriasiform, spongiotic psoriasiform lichenoid).<sup>40</sup> In our study, histopathological changes in the psoriasiform lichenoid pattern were observed in palmoplantar region involvement. Although these findings are among the non-classical histopathological findings of psoriasis, it should not be forgotten that they can be seen in the palmoplantar location.

Eczematized psoriasis is seen in 10-15% of psoriasis patients. The most common findings in these patients were found to be spongiosis, the presence of eosinophils, and serum crusts.<sup>41</sup> Although spongiosis was a prominent histopathological finding in our study, eosinophils were not detected. Psoriasis, especially in the early stages, can manifest with minimal spongiosis in certain locations (e.g., mucosal and flexural involvement) and in the presence of severe eczema.<sup>1</sup> However, in patients who present with non-classical clinical findings, the diagnosis of eczematized psoriasis should also be considered. A limitation of our study is that spongiosis severity was not evaluated.

There are a few limitations of this study that should be considered. Due to its retrospective design, it was not possible to clearly evaluate patients' existing lesions and whether psoriasis was in the active phase. Moreover, studies recommend performing multiple biopsies in one session for some patients to confirm a psoriasis diagnosis.<sup>24</sup> In our study, single biopsies from the patients were examined. Finally, this study did not include a control group representing other inflammatory skin diseases.<sup>8</sup>

In conclusion, when evaluating histopathological findings in psoriasis patients, important factors are the disease duration, the anatomical sites biopsy, and the clinical features of the disease. Patients may present both classical and non-classical histopathological findings, and all histopathological findings should be considered together in the diagnosis of psoriasis.

#### **Compliance with Ethical Standards**

Trakya University, Faculty of Medicine, Non-Interventional Scientific Research Ethics Committee approved this study (approval date/number: 09.10.2023/335). Informed consent was obtained from all participants.

## Acknowledgement

This study was presented at 31<sup>st</sup> Turkish National Dermatology Congress (18-22 October 2023, Antalya, Turkey).

## Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

## Author Contribution

YGÜ, GK, NC: Study design; YGÜ, GK, NC and MAM: Material preparation, data collection and analysis; YGÜ and GK: Writing first draft of the article; YGÜ and NC: Critical review of the article, finalization and publication process. All authors read and approved the final version of the manuscript.

## Financial Disclosure

Financial disclosure none.

## References

1. Ferreli C, Pinna AL, Pilloni L, Tomasini CF, Rongioletti F. Histopathological aspects of psoriasis and its uncommon variants. *G Ital Dermatol Venereol.* 2018;153:173-184. doi:10.23736/s0392-0488.17.05839-4.
2. Kardaun SH, Kuiper H, Fidler V, Jonkman MF. The histopathological spectrum of acute generalized exanthematous pustulosis (AGEP) and its differentiation from generalized pustular psoriasis. *J Cutan Pathol.* 2010;37:1220-1229. doi:10.1111/j.1600-0560.2010.01612.x.
3. Fülle M, Metzke D, Böer-Auer A, Osada N, Braun SA. Psoriasis on the leg: Site-specific histopathological and immuno-histochemical features and diagnostic difficulties. *Acta Derm Venereol.* 2021;101:adv00453. doi:10.2340/00015555-3817.
4. Mehta S, Singal A, Singh N, Bhattacharya SN. A study of clinicohistopathological correlation in patients of psoriasis and psoriasiform dermatitis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2009;75:100. doi: 10.4103/0378-6323.45241.
5. Mylonas A, Conrad C. Psoriasis: Classical vs. Paradoxical. The yin-yang of tnf and type i interferon. *Front Immunol.* 2018;9:2746. doi:10.3389/fimmu.2018.02746.
6. Camporro Á F, Roncero-Riesco M, Revelles-Peñas L, et al. The ñ sign: A visual clue for the histopathologic diagnosis of psoriasis. *JAMA Dermatol.* 2022;158:451-452. doi:10.1001/jamadermatol.2022.0015.
7. Patil NK, Bubna AK. Psoriasis neurodermiformis, verrucous psoriasis, and psoriasiform keratosis: A clinicopathological evaluation. *Turk J Dermatol.* 2023;17:19-27. doi:10.4103/tjd.tjd\_67\_22.
8. Song H, Yang X-H, Jiang Y-Q. Visual clues for the histopathological diagnosis of psoriasis. *Int J Dermatol Venereol.* 10.1097. doi:10.1097/JD9.0000000000000285.
9. Calonje E, Brenn T, Lazar AJ, Billings S. Spongiotic, psoriasiform and pustular dermatoses. In: Calonje E, Brenn T, Lazar AJ, Billings S, ed. *McKee's Pathology of the Skin with Clinical Correlations.* 5th Edition. China: Elsevier; 2020:201-240.
10. Chau T, Parsi KK, Ogawa T, et al. Psoriasis or not? Review of 51 clinically confirmed cases reveals an expanded histopathologic spectrum of psoriasis. *J Cutan Pathol.* 2017;44:1018-1026. doi:10.1111/cup.13033.
11. Yamamoto T. Similarity and difference between palmoplantar pustulosis and pustular psoriasis. *J Dermatol.* 2021;48:750-760. doi:10.1111/1346-8138.15826.
12. Fanoni D, Venegoni L, Vergani B, et al. Evidence for a role of autoinflammation in early-phase psoriasis. *Clin Exp Immunol.* 2019;198:283-291. doi:10.1111/cei.13370.
13. Akyol M, Alper S, Atakan N, et al. Türkiye psoriasis tedavi kılavuzu-2016. *Turkderm - Arch Turk Dermatol Venerology.* 2016;50(Suppl 1):1-56.
14. Haneke E. Nail psoriasis: Clinical features, pathogenesis, differential diagnoses, and management. *Psoriasis (Auckl).* 2017;7:51-63. doi:10.2147/ptt.S126281.
15. Colombo D, Cassano N, Bellia G, Vena GA. Gender medicine and psoriasis. *World J Dermatol.* 2014;3:36-44. doi: 10.5314/wjd.v3.i3.36.
16. Kojanova M, Fialova J, Cetkovska P, et al. Demographic data, comorbidities, quality of life, and survival probability of biologic therapy associated with sex-specific differences in psoriasis in the czech republic. *Dermatol Ther.* 2021;34:e14849. doi:10.1111/dth.14849.
17. Mabuchi T, Yamaoka H, Kojima T, Ikoma N, Akasaka E, Ozawa A. Psoriasis affects patient's quality of life more seriously in female than in male in japan. *Tokai J Exp Clin Med.* 2012;37:84-88.
18. Griffiths CEM, Armstrong AW, Gudjonsson JE, Barker J. Psoriasis. *Lancet.* 2021;397:1301-1315. doi:10.1016/s0140-6736(20)32549-6.
19. Freitas E, Rodrigues MA, Torres T. Diagnosis, screening and treatment of patients with palmoplantar pustulosis (ppp): A review of current practices and recommendations. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2020;13:561-578. doi:10.2147/ccid.S240607.
20. Khandpur S, Singhal V, Sharma VK. Palmoplantar involvement in psoriasis: A clinical study. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2011;77:625. doi:10.4103/0378-6323.84071.
21. Singh SK. Finger nail pitting in psoriasis and its relation with different variables. *Indian J Dermatol.* 2013;58:310-312. doi:10.4103/0019-5154.113955.
22. Kimmel GW, Lebwohl M. Psoriasis: Overview and diagnosis. *Evidence-Based Psoriasis.* 2018 Jul 1:1-16. doi: 10.1007/978-3-319-90107-7\_1.
23. Waghmare R, Parameshwar V, Kavishwar V, Nayak C. Histopathological study of psoriasis: A prospective cum retrospective study at a tertiary care centre. *Saudi J Pathol Microbiol.* 2020;5:233-238. doi:10.36348/sjpm.2020.v05i05.002.
24. Murphy M, Kerr P, Grant-Kels JM. The histopathologic spectrum of psoriasis. *Clin Dermatol.* 2007;25:524-528. doi:10.1016/j.clindermatol.2007.08.005.
25. Appukkuttan AS, Haridasan RK, Jose BA. Histopathological features and clinical variants of biopsy confirmed psoriasis cases in a tertiary care setting in kerala. *J Evolution Med Dent Sci.* 2020;9:2372-2376. doi:10.14260/jemds/2020/514.
26. Rosa G, Fernandez AP, Schneider S, Billings SD. Eosinophils are rare in biopsy specimens of psoriasis vulgaris. *J Cutan Pathol.* 2017;44:1027-1032. doi:10.1111/cup.13042.
27. Costanzo A, Bardazzi F, C DES, et al. Pustular psoriasis with a focus on generalized pustular psoriasis: Classification and diagnostic criteria. An italian expert consensus. *Ital J Dermatol Venereol.* 2022;157:489-496. doi:10.23736/s2784-8671.22.07415-1.

28. Aydin O, Engin B, Oğuz O, Ilvan S, Demirkesen C. Non-pustular palmoplantar psoriasis: Is histologic differentiation from eczematous dermatitis possible? *J Cutan Pathol.* 2008;35:169-173.
29. Singh RK, Lee KM, Ucmak D, et al. Erythrodermic psoriasis: Pathophysiology and current treatment perspectives. *Psoriasis (Auckl).* 2016;6:93-104. doi:10.2147/ptt.S101232.
30. Cloutier JM, Hsi A, Camacho C, Lazova R. Necrotic keratinocytes are common in psoriasis and have a predilection to the upper epidermis: A quantitative and comparative analysis. *Am J Dermatopathol.* 2020;42:20-23. doi:10.1097/dad.0000000000001444.
31. Altman EM, Kamino H. Diagnosis: Psoriasis or not? What are the clues? *Semin Cutan Med Surg.* 1999;18:25-35. doi:10.1016/s1085-5629(99)80005-4.
32. Yamanaka K, Yamamoto O, Honda T. Pathophysiology of psoriasis: A review. *J Dermatol.* 2021;48:722-731. doi:10.1111/1346-8138.15913.
33. Kim BY, Choi JW, Kim BR, Youn SW. Histopathological findings are associated with the clinical types of psoriasis but not with the corresponding lesional psoriasis severity index. *Ann Dermatol.* 2015;27:26-31. doi:10.5021/ad.2015.27.1.26.
34. Aslan F. Is there a relationship between clinical severity of psoriasis and histopathological findings? A clinicopathological study. *Cukurova Med J.* 2019;44:319-324. doi:10.17826/cumj.461671.
35. Kim SA, Choi JW, Kim BR, Youn SW. Correlation between histopathologic findings of psoriasis determined using quantitative computer-aided analysis and elements of the psoriasis area and severity index. *J Am Acad Dermatol.* 2015;73:325-326. doi:10.1016/j.jaad.2015.04.057.
36. Papadimitriou I, Bakirtzi K, Lallas A, et al. Psoriasis vs. Its mimickers: When the dermatoscope casts light on challenging cases in everyday clinical practice. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2021;35:e793-e6. doi:10.1111/jdv.17475.
37. Ackerman AB, Ragaz A. The lives of lesions: Chronology in dermatopathology. 1st Edition. USA, Masson Pub; 1984.
38. Balan R, Grigoraş A, Popovici D, Amălinei C. The histopathological landscape of the major psoriasiform dermatoses. *Arch Clin Cases.* 2019;6:59-68. doi:10.22551/2019.24.0603.10155.
39. Fung MA, Barr KL. Current knowledge in inflammatory dermatopathology. *Dermatol Clin.* 2012;30:667-684, vii. doi:10.1016/j.det.2012.06.004.
40. Tirumalae R. Psoriasiform dermatoses: Microscopic approach. *Indian J Dermatol.* 2013;58:290-293. doi:10.4103/0019-5154.113945.
41. Lauffer F, Eyerich K. Eczematized psoriasis—a frequent but often neglected variant of plaque psoriasis. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2023;21:445-453. doi:10.1111/ddg.14991.

## Research Article | Araştırma Makalesi

# MULTIDIMENSIONAL FATIGUE INVENTORY-20 ADAPTATION FOR CANCER-RELATED-FATIGUE: VALIDITY AND RELIABILITY STUDY INTO TURKISH

## KANSERE BAĞLI YORGUNLUKTA ÇOK BOYUTLU YORGUNLUK ENVANTERİ-20'NİN UYARLANMASI: TÜRKÇE GEÇERLİK VE GÜVENİRLİK ÇALIŞMASI

  Yasemin Özhanlı<sup>1\*</sup>,  Didem Kandemir<sup>2</sup>,  Açelya Türkmen<sup>3</sup>,  Sena Melike Özdamar<sup>4</sup>,  Gülbeyaz Can<sup>5</sup>,  Nevin Kanan<sup>6</sup>,  Ertuğrul Göksoy<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli University, Faculty of Health Sciences, Department of Surgical Nursing, Kocaeli, Türkiye. <sup>2</sup>Phlebotomy Department, Glasgow Royal Infirmary Hospital, Glasgow, Scotland. <sup>3</sup>Çukurova University, Faculty of Health Sciences, Department of Surgical Diseases Nursing, Adana, Türkiye. <sup>4</sup>University of Health Sciences, Hamidiye Faculty of Nursing, Department of Surgical Nursing, Istanbul, Türkiye. <sup>5</sup>Istanbul University-Cerrahpaşa, Florence Nightingale Faculty of Nursing, Department of Internal Medicine Nursing, Istanbul, Türkiye. <sup>6</sup>Haliç University, Faculty of Health Sciences, Department of Surgical Diseases Nursing, Istanbul, Türkiye. <sup>7</sup>Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Istanbul, Türkiye

### ABSTRACT

**Objective:** Cancer-related fatigue (CRF) is one of the most common symptoms in cancer and its treatment. It negatively affects the quality of life of patients. Despite the frequent occurrence of cancer-related fatigue and its negative effects on patients, its physiopathological mechanism is unknown. For the patient's quality of life to improve and the treatment procedure to be successfully completed, daily measurement of tiredness and regular follow-up are crucial. In this study, we aimed to evaluate the validity and reliability of the Multidimensional Fatigue Inventory-20 (MFI-20) in patients undergoing oncological surgery.

**Methods:** The study was conducted with a total of 200 patients (61.5% who received only surgical treatment) who received oncological treatment (at least surgery) in the general surgery clinics of a university hospital between September 2017-July 2019. The criteria of Beaton et al. were followed for the translation process of the scale. Cronbach's alpha coefficient was calculated for reliability and fatigue was compared with visual analog scale. Confirmatory factor analysis (DFA) was performed to assess the structural validity of the MFI.

**Results:** The total Cronbach's alpha coefficient was 0.94 (0.74 to 0.94). The CFA showed good construct validity and revealed five dimensions.  $\chi^2/df$  value is below 3 (2.216). The overall correlation between MFI and VAS-fatigue was highly significant ( $p < 0.000$ ), indicating a strong relationship.

**Conclusion:** In this study, the Turkish version of the MFI-20 was found to have high internal consistency and appropriate construct validity. The use of MFI-20 for the evaluation of fatigue in individuals who have undergone oncological surgery is valid and reliable.

**Keywords:** Cancer related fatigue; multidimensional fatigue inventory; reliability; validity.

### Öz

**Amaç:** Kansere bağlı yorgunluk, kanser ve tedavisinde en sık görülen semptomlardan biridir. Hastaların yaşam kalitesini olumsuz etkiler. Kansere bağlı yorgunluğun sık görülmesine ve hastalar üzerindeki olumsuz etkilerine rağmen fizyopatolojik mekanizması bilinmemektedir. Hastanın yaşam kalitesinin artması ve tedavi sürecinin başarılı bir şekilde tamamlanması için yorgunluğun günlük olarak ölçülmesi ve düzenli takip edilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, Çok Boyutlu Yorgunluk Envanteri-20'nin (MFI-20) onkolojik cerrahi geçiren hastalarda geçerlilik ve güvenilirliğini değerlendirmeyi amaçladık.

**Yöntem:** Araştırma Eylül 2017- Temmuz 2019 tarihleri arasında bir üniversite hastanesinin genel cerrahi kliniklerinde onkolojik tedavi alan (en az cerrahi geçiren) toplam 200 hasta (sadece cerrahi tedavi alan %61,5) ile gerçekleştirildi. Ölçeğin çeviri işlemi için Beaton ve ark.'nın kriterleri izlendi. Güvenirlilik için Cronbach alfa katsayısı hesaplandı ve yorgunluk görsel analog skala karşılaştırıldı. MFI'nin yapısal geçerliliğini değerlendirmek için Doğrulayıcı faktör analizi (DFA) yapıldı.

**Bulgular:** Toplam Cronbach alfa katsayısı 0.94 (0,74 ile 0,94) bulundu. DFA iyi bir yapısal geçerlilik gösterdi ve beş boyut ortaya çıkardı.  $\chi^2/df$  değeri 3'ün altındadır (2.216). MFI ve VAS-yorgunluk arasındaki tüm korelasyon ileri derecede anlamlıydı ( $p < 0,000$ ) ve bu da güçlü bir ilişkiyi göstermektedir.

**Sonuç:** Bu çalışmada, MFI-20'nin Türkçe versiyonunun yüksek bir iç tutarlılığa ve uygun yapı geçerliliğinin olduğu belirlendi. Onkolojik cerrahi geçirmiş bireylerde yorgunluğun değerlendirilmesi için MFI-20 kullanımı geçerli ve güvenilirdir.

**Anahtar Kelimeler:** Kansere bağlı yorgunluk; çok boyutlu yorgunluk envanteri; güvenilirlik; geçerlilik

\*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Yasemin Özhanlı; Kocaeli University, Faculty of Health Sciences, Department of Surgical Nursing, Kocaeli, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (262) 303 10 00 e-mail/e-posta: yaseminozhanli@gmail.com

Submitted/Başvuru: 13.11.2023

Accepted/Kabul: 29.02.2024

Published Online/Online Yayın: 29.02.2024



## Introduction

Cancer is an important health problem worldwide.<sup>1</sup> One of the most prevalent symptoms of cancer and cancer therapy is Cancer related fatigue (CRF). Patients' quality of life is adversely affected.<sup>2,3</sup> CRF can develop suddenly, unlike the fatigue characteristics experienced by healthy individuals. It is disproportionate to effort, and relaxation is not available with rest and sleep.<sup>3</sup> The prevalence of total CRF in patients diagnosed with cancer is 14.3%-100%, treatment-related CRF is between 80-90%.<sup>4-7</sup> The incidence of this symptom may vary according to the definitions, criteria for evaluation as fatigue, cancer type, and anti-cancer treatment.<sup>8,9</sup> Fatigue causes deterioration in patients' quality of life, often associated with weakness, loss of energy, physiological and psychological changes.<sup>10</sup> Patients often describe fatigue using different expressions such as weariness, weakness, and lack of energy.<sup>11,12</sup> National Comprehensive Cancer Network (NCCN), on the other hand, defines fatigue as an uncomfortable, persistent, subjective feeling of weariness or exhaustion that is out of proportion to recent activity related with cancer and cancer treatment and interferes with normal life.<sup>8,13</sup>

Despite the frequent occurrence of CRF and its negative effects on patients, its physiopathological mechanism is unknown. Its pathogenesis consists of complex and multifactorial mechanisms involving the interaction of dynamic, clinical process, and cognitive, emotional, psychosocial, and somatic factors.<sup>8,9</sup> In people with cancer, weakness can be caused by surgery, abnormal blood values, and electrolyte levels, infection, and hormonal changes. Often, fatigue develops due to cancer and its treatment, as there are many comorbid factors involved.<sup>14</sup> It has been reported that variables such as changes in protein and hormone levels associated with the inflammatory process, increase in the amount of energy spent to remove metabolic wastes from the body after anticancer treatment, production of toxic substances by cancer, skeletal muscle loss, desynchronization of circadian rhythms, change in cytokine levels (primarily proinflammatory cytokines), depression, anemia, cachexia, and hypothyroidism are effective on cancer fatigue.<sup>15-17</sup>

For the patient's quality of life to improve and the treatment procedure to be successfully completed, daily measurement of tiredness and regular follow-up are crucial. It is observed that in the literature, multidimensional scales have been developed to evaluate the cognitive, emotional, and psychosocial characteristics of fatigue.<sup>18-20</sup>

Scales evaluating fatigue in the literature generally evaluate it with either quantitative or qualitative measurements in the psychological or physiological dimension. There are multiple variables in the etiology of cancer fatigue. All these evaluation tools are difficult and impossible to use in daily practice. In routine practice, the diagnostic process of fatigue is similar to the assessment of pain, which is subjective data.<sup>4</sup> Therefore, nurses need a brief assessment tool to evaluate the fatigue status of

cancer patients.<sup>21</sup> For this reason, we aimed to establish the Turkish language and content The Multidimensional Fatigue Inventory (MFI) scale's reliability and validity, which includes the evaluation of different dimensions of cancer-related fatigue, based on the information provided.

## Methods

### Study Design

The study was conducted in descriptive type.

### Setting and Samples

Patients who underwent cancer surgery in the university hospital in Istanbul between September 2017 and July 2019 participated in this study. After explaining the content and purpose of the study to the participants, the patients who met the research criteria and gave consent to participate in the study constituted the sample.

The G Power (3.1.9.2) (Kiel University, Germany) application was used for power analysis to calculate the sample size. As a result of the power analysis, the difference between the primary treatment groups in terms of Multidimensional Fatigue Inventory (MFI) score was found to be type 1 error:  $p < .05$ , sample size=200, and power level was .86 according to effect size =.253.

Patients who were adults ( $\geq 18$  years), and had cancer of lung, liver, gastric, colorectal, pancreatic, kidney, bladder, breast and underwent elective cancer surgery under general anesthesia and had no disabilities and could read, write, understand, and speak Turkish that could affect the interview, and were accepted to participate in the study. Patients who had undergone thyroid cancer surgery (it will affect the level of fatigue metabolically) and had a neurological disorder and were administered drugs that could affect severe cognitive or communication deficits were excluded from the study.

### Ethical Considerations

Ethical approval (no: 368415/04.10.2017) from the Istanbul University Cerrahpasa Clinical Research Ethics Committee, and institutional permission (no: 192686/22.05.2017) were obtained to conduct the study. A face-to-face questionnaire was used to gather the data. It was explained to the patients that answering the questionnaire was completely voluntary. The patients gave their verbal and written agreement to take part in the study. In addition, permission was obtained from the author to use the scales in the study.

### Study Protocol

#### Patients

Data such as socio-demographic characteristics of the patients, diagnosis of the disease and surgical intervention, date of diagnosis, primary treatment method (surgery, chemotherapy, radiotherapy), treatment methods applied at the time of the study, recurrence status, presence of metastasis, date of

surgical intervention, type of surgical intervention, completion time of surgical intervention were recorded.

#### **Language Equivalence and Content Validity of the Scale**

For the translation of the scales, the criteria of Beaton et al. (22) were followed.

In the first stage of the pilot testing process, two translators and two other researchers, who were informed about the purpose of the process, assessed the MFI's original English version and its translation into Turkish to ensure conceptual similarity. Differences in the translation results of the scale items were arranged by consensus. To assess the content validity of the scale, a team of five experts in the field of oncology and surgical oncology (1 internal medicine nurse, 2 surgical nurses, and 2 general surgeons) evaluated the content validity of the scale and found that the "content validity ratio" and "content validity index" values of the two scales were 1. Then, the Turkish version of the scale was completed before the pilot study.

This the version was tested in pilot group of 20 patients. Before issuing the final version of the scale, it was ensured that the patients had similar demographic characteristics. Patients were asked which items they had difficulty understanding and answering. All patients were able to complete the questionnaire on their own without intervention. There were no negative comments from patients after the test. Therefore, a major change was not considered necessary. These 20 questionnaires were not included in the study. The patients' questionnaire was completed in an average of 10 minutes.

#### **Construct Validity and Reliability**

Confirmatory factor analysis (CFA) was performed to evaluate the construct validity of the MFI. The CFA findings indicated that the standard values of each item's corresponding factors were all significantly large ( $>0.70$ ). Many fit indices are used for confirmatory factor analysis. In this study,  $\chi^2/df$ , RMSEA, SRMR, CFI, and GFI were examined.

Reliability is the stability of the measurement values of a measurement tool as a result of repeated measurements under the same conditions. In the "Reliability Analysis" applied to test the reliability of the scale in this study, the internal consistency reliability of the scale was calculated by considering the item total score correlation and Cronbach's alpha coefficient. Test-retest method was not used to ensure reliability. Because in this study, the fatigue status of patients undergoing oncologic surgery was evaluated and it was not found appropriate to measure at the time interval suitable for test-retest (2 to 4 weeks later).

In clinical practice, VAS is often used to assess fatigue. To assess the subscales in the scale, cut-off points from the study by Baussard et al. (21), which assessed fatigue in a similar sample group to the present study, were used. According to this study, the lower limit of "0" on the scale indicates no fatigue, while the upper limit of "10" indicates extreme fatigue. Patients were asked about their fatigue, weakness and exhaustion levels separately

while applying the VAS scale. The threshold was 5.5 cm for physical fatigue and 7 cm and above for psychological fatigue. The MFI's Cronbach's alpha in this study was 0.946 and the item total correlation values were 0.292-0.833 (min-max).

#### **Statistical Analysis**

The study was carried out on 200 subjects. The data were analyzed with IBM SPSS Statistics 25 and IBM SPSS AMOS 25 programs. While evaluating the study data, frequency distribution for categorical variables and descriptive statistics for numerical variables were given. Independent samples t test was used to determine whether there were differences in MFI and VAS scores. One Way ANOVA was used to determine whether there was a difference between more than two groups. As a result of "one-way analysis of variance" (ANOVA), Levene's test was used for homogeneity of variance. Then, which group or groups the difference originated from was checked with the "multiple comparison test" (Bonferroni or Tamhane's T2). The Bonferroni test was used to examine the difference between the groups in the variables that provided variance homogeneity, and Tamhane's T2 test was used to examine the difference between the groups in the variables that did not provide the variance homogeneity. The results were presented in tables using confirmatory factor analysis for scale validity and Cronbach's alpha value for reliability and Pearson correlation analysis for the relationship between domains.

#### **Results**

Fifty percent of the patients were female, mean age was  $53.26 \pm 13.00$ , mean BMI was  $27.08 \pm 5.57$ , 86.5% were married, 31.5% were primary school graduates, 35% were retired, 50% were smoking, and 18.5% consumed alcohol. We assessed whether the type of cancer, time since diagnosis, type of treatment and type of surgical intervention affected patients' fatigue levels. We found that there was a significant correlation between the mean VAS scores for cancer, treatment type and type of surgical intervention and the mean MFI scores for treatment type (Table 1).

#### **Construct Validity of the Scale**

The internal consistency of the factors (total Cronbach's  $\alpha$  coefficient: 0.946) was higher than 0.70. The Cronbach's  $\alpha$  coefficients of each of the five subscales of the MFI-20 range between 0.74 and 0.94. An item-total score correlation coefficient of 0.30 and above is interpreted as good for reliability. It was decided in this study not to remove any item in the scale since no item was found to be below 0.30 and no item in the item analysis significantly changed the Cronbach's  $\alpha$  value when any item was deleted (Table 2).



**Table 1.** Distribution of Participants' Socio-demographic and Disease Characteristics

		N	%				
Gender	Woman	101	50,5				
	Man	99	49,5				
Age (Mean±SD)		53,26±13,00					
BMI (Mean±SD)		27,08±5,57					
Marital status	Married	173	86,5				
	Single	27	13,5				
Education levels	Illiterate	8	4,0				
	Literate	12	6,0				
	Primary education	63	31,5				
	High school	63	31,5				
	University	53	26,5				
Working status	Graduate	1	0,5				
	Working	55	27,5				
	Unemployed	19	9,5				
	Retired	70	35,0				
Cigaret	Housewife	56	28,0				
	Yes	100	50,0				
	No	100	50,0				
Alcohol	Yes	37	18,5				
	No	163	81,5				
		N	%	VAS Mean±SD	MFI Mean±SD	p <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>
Type of cancer	Colorectal cancer	70	35,0	5,62±2,55 <sup>b</sup>	67,39±17,81	.012*	.444
	Breast cancer	33	16,5	6,73±2,28	74,58±15,69		
	Gastric cancer	28	14,0	5,95±2,00	67,07±15,39		
	Pancreatic cancer	20	10,0	7,26±2,01	70,20±17,67		
	Lung cancer	16	8,0	7,31±1,42 <sup>a</sup>	68,94±16,43		
	Kidney cancer	13	6,5	6,83±1,53	69,08±16,83		
	Bladder cancer	12	6,0	7,03±1,86	62,08±16,66		
	Other*	8	4,0	6,85±1,43	71,25±16,31		
Time after diagnosis	Less than 2 years	154	77,0	6,28±2,32	67,45±16,10	.552	.086
	2-5 years	35	17,5	6,74±1,68	73,37±17,63		
	More than 5 years	11	5,5	6,25±2,70	74,64±21,94		
Type of treatment	Surgical treatment	123	61,5	5,96±2,45 <sup>b</sup>	65,76±16,25 <sup>b</sup>	.004*	.001*
	Surgery+chemotherapy	43	21,5	7,16±1,60 <sup>a</sup>	71,63±15,80		
	Trimodal treatment**	34	17,0	6,81±1,78	76,71±17,51 <sup>a</sup>		
Type of intervention	Open surgical intervention	165	82,5	6,65±2,06	69,95±16,42	.001*	.052
	Closed surgical intervention	35	17,5	4,99±2,57	63,86±18,09		

\*Lymphoma=2, Uterine Cancer=1, Prostate Cancer=5 \*\*Trimodal treatment: Surgery+radiotherapy+chemotherapy, <sup>1</sup>:VAS, <sup>2</sup>:MFI

**Table 2.** MFI-20 and Sub-Scales Reliability

Sub-Scales of MFI-20	Item	Item-total correlation	Cronbach's Alpha (if the item is deleted)	Cronbach's alfa
General fatigue	mfi15	0,813	0,942	0,947
	mfi12	0,789	0,942	
	mfi14	0,833	0,941	
	mfi4	0,793	0,942	
	mfi3	0,755	0,942	
	mfi38	0,763	0,942	
	mfi20	0,708	0,943	
	mfi40	0,697	0,943	
Physical fatigue	mfi21	0,481	0,945	0,826
	mfi22	0,608	0,944	
	mfi24	0,577	0,944	
	mfi1	0,443	0,946	
	mfi25	0,538	0,945	
Reduced activity	mfi19	0,610	0,944	0,851
	mfi16	0,751	0,942	
	mfi2	0,599	0,944	
	mfi17	0,610	0,944	
	mfi11	0,526	0,945	
	mfi29	0,727	0,943	
Reduced motivation	mfi18	0,292	0,947	0,745
	mfi32	0,594	0,944	
	mfi33	0,504	0,945	
	mfi30	0,328	0,947	
	mfi28	0,600	0,944	
	mfi27	0,369	0,946	
Mental fatigue	mfi34	0,550	0,944	0,849
	mfi35	0,553	0,944	
	mfi26	0,592	0,944	

		General.F.	Physical.F.	R.activity	R.motivation	Mental.F.	MFI
General fatigue	r	1	.70	.63	.67	.70	.87
	p		.000	.000	.000	.000	.000
Physical fatigue	r		1	.65	.71	.55	.85
	p			.000	.000	.000	.000
Reduced activity	r			1	.77	.54	.84
	p				.000	.000	.000
Reduced motivation	r				1	.59	.88
	p					.000	.000
Physical fatigue	r					1	.80
	p						.000
MFI	r						1
	p						

*r*: Pearson correlation coefficient. F: Fatigue R: Reduced

In the second stage, the maximum likelihood method was used to estimate the model so that the parameters including the errors of the observed variables, the variances of the latent variables and the regression coefficients of the paths drawn from the latent variables to the observed variables could be estimated. In order to improve the fit indices, a two-way relationship was established between the error terms of the questions “mfi5” and “mfi16”, “mfi10” and “mfi17”, “mfi15” and “mfi18”, “mfi7” and “mfi11”, and “mfi13” and “mfi19” in the multidimensional fatigue inventory scale, which had the highest modification indices (Table 3).

CFA was used to assess the scale's construct validity. *In the first stage*, a path model with 5 factor-dimensions as latent variables (general fatigue-f1, physical fatigue-f2, reduced activity-f3, reduced motivation-f4, mental fatigue-f5) and the statements constituting these factors as indicator variables was created in **Figure 1**. Since latent variables are not metric, to estimate parameter values, a value of 1 (factor loading equal to 1) is assigned to the observed (indicator) variables from the latent variables.<sup>25</sup>

**Table 3.** Models of fit indexes and acceptable value ranges used in the study

Indexes	Perfect fit criteria	Acceptable compliance criteria	The findings	Conclusion
$\chi^2/df$	0	$3 \leq \chi^2/df \leq 5$	2.216	Perfect appropriate
RMSEA	$0.00 \leq RMSEA \leq 0.05$	$0.05 \leq RMSEA \leq 0.08$	0.078	Acceptable
SRMR	$0.00 \leq SRMR \leq 0.05$	$0.05 \leq SRMR \leq 0.10$	0.065	Acceptable
CFI	$0.95 \leq CFI \leq 1.00$	$0.85 \leq CFI$	0.886	Acceptable
GFI	$0.95 \leq TLI \leq 1.00$	$0.85 \leq TLI$	0.860	Acceptable

References: RMSEA (26), SRMR: (27), CFI ve TLI: (28-31).

All components have a substantial standard estimate of their respective factors (>0.70), according to the Turkish MFI's CFA findings. The standardised values for overall fatigue, physical fatigue, mental fatigue, reduced activity, and reduced motivation varied from 0.71 to 0.81, 0.70 to 0.76, 0.72 to 0.84, and 0.70 to 0.84, respectively. Additionally, the model showed a strong match to the

data. The relationship between the subscales is not significant, indicating that all five factors are different from each other. The minimum values of Chi-Square divided by the degree of freedom ( $\chi^2/df$ ) were below 3 (2.216), RMSEA below 0.08 (0.078), SRMR below 0.10 (0.065), and CFI (0.886) and GFI above 0.85 (0.860).

**Table 4.** Investigation of the relationship between multidimensional fatigue inventory and VAS scores

		General fatigue	Physical fatigue	Reduced activity	Reduced motivation	Mental fatigue	MFI
VAS fatigue	r	.56	.37	.29	.31	.43	.46
	p	.000	.000	.000	.000	.000	.000
VAS weakness	r	.57	.38	.27	.32	.45	.47
	p	.000	.000	.000	.000	.000	.000
VAS exhaustion	r	.61	.37	.35	.32	.51	.51
	p	.000	.000	.000	.000	.000	.000

r: Pearson correlation coefficient

**Reliability Study of the Scale**

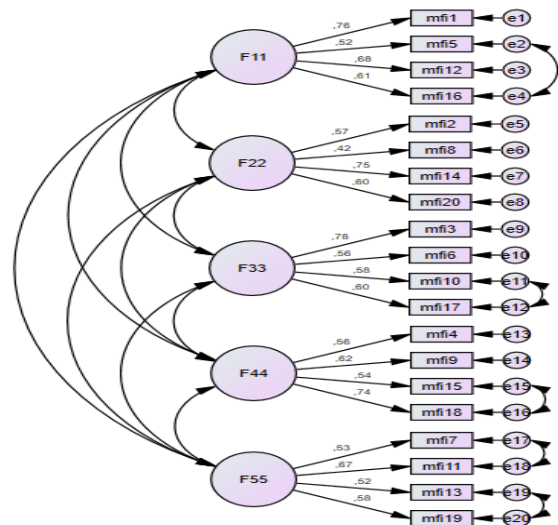
Cronbach's Alpha values of the scale showed a total reliability of .94. In this study, only item-18 was found to be below .30, however, it was decided not to remove any item from the scale because it did not significantly affect the Cronbach's Alpha value when removed (Table 2). In the reliability analysis of the scale, since the test-retest method was not suitable for the evaluation of the sample group, the VAS scale similar to the MFI was used. In our study, there was a strong correlation between the MFI subscales and the mean VAS scores, which separately assessed patients' fatigue, weakness and exhaustion (Table 4).

**Evaluation of the Scale**

The scale includes five subscales (general fatigue, physical fatigue, reduced motivation, reduced activity and mental fatigue) and 20 questions. The subscales include four questions with two positive and two negative statements. The questions are scored on a five-point scale from "1=yes, this is correct" to "5=no, this is incorrect". The total score of the scale is calculated as the sum of the scores given to each item of the scale. Scores range from a minimum of 4 to a maximum of 20 in each subscale and the maximum total score is a minimum of 20 and a maximum of 100. A higher score indicates increased fatigue.

**Discussion**

Fatigue is one of the most disabling sign for patients undergoing oncologic treatment and needs a powerful tool that enables detailed measurement for clinical assessment of patients.<sup>19,20</sup> Evidence on questioning and managing fatigue levels of oncology patients during the clinical assessment process is available in the literature.



**Figure 1.** Path Model

Fatigue refers to a multidimensional concept that includes social, physical, psychological aspects. Therefore, healthcare professionals need to evaluate patients with comprehensive tools. MFI is a useful scale that evaluates the impact and severity of fatigue on the patient.<sup>23</sup> The VAS is a short and easily applicable assessment tool that is very easy to use,<sup>21</sup> however, the MFI allows for a formal assessment of fatigue.

In this context, we tried to develop the Turkish form of MFI, which can evaluate the fatigue of oncology patients. The authors of the original article recommended using the English version rather than the Polish, French, Chinese and Brazilian versions in cultural adaptation studies. When developing a valid Turkish version of the MFI, we used the forward-backward translation method and aimed to preserve the original meaning of the items. It was determined that the Turkish version was an easy-to-understand tool and no changes were required. Cronbach Alpha values of the Turkish MFI showed a total reliability of .94. It is in parallel with the results of the French study conducted with a similar sample group.<sup>24</sup> Cronbach's  $\alpha$  values of the Turkish five-factor model indicate that this version has good internal consistency (range: 0.74-0.94). The results of the CFA analysis for construct validity support the five-factor model. Accordingly, the factor loadings of all items were above 0.7; therefore, there was no need to remove any item from the scale. Chi-square and RMSEA values also showed that the fit to the data was good. The study results were found to have five dimensions, as in the CFA result of the Hindi version of MFI-20.<sup>25</sup> Physical and general fatigue aspects were not identified in the other versions of the MFI-20.<sup>26-29</sup> In Filion et al's version, cancer-related fatigue was assessed and four dimensions (general and mental fatigue, reduced activity and motivation) were obtained. Physical and general fatigue resulted from both.<sup>24</sup> Smets's study is reported that the four-factor model is as acceptable as the five-factor model, so these two values can be combined.<sup>30</sup> Similarly for the Swedish version, the researchers report that these values can be combined.<sup>31</sup> It also supports the results of research evaluating the fatigue level of patients with fibromyalgia.<sup>23</sup> Cancer-related fatigue is a concept that includes not only physical fatigue but also mental fatigue. The psychological fatigue of oncology patients seriously affects their treatment compliance, pain perception and quality of life. The Turkish oncology version of the MFI-20 has strong construct validity and multidimensional evaluation of fatigue in cancer patients was supported. In this study, we questioned patients' levels of fatigue, weakness and exhaustion using VAS and assessed the physical and psychological aspects of the MFI-20. There were strong correlations between the VAS and all subscales of the Turkish MFI-20 ( $p < 0.01$ ). Similar to our study, Smets et al.<sup>30</sup> also reported a strong correlation between general fatigue and VAS in the original MFI-20.

In conclusion, Turkish MFI-20 oncology version makes an important contribution to the literature on nursing care in the fatigue assessment process of cancer patients. The

five-dimensional model of the Turkish MFI-20 used in oncology patients has sufficient internal consistency and construct validity, with its item-total correlation value and Cronbach's alpha value being high. The Turkish MFI-20 oncology version is a valid and reliable tool for the multidimensional assessment of fatigue in cancer patients.

**Limitations of the research:** The Turkish validity and reliability study of the MFI Scale was conducted in a single center and on patients receiving multimodal (surgery, radiotherapy, chemotherapy) cancer treatment. This situation disrupts the homogeneity of treatment-related fatigue levels and characteristics of the patients in the study sample.

#### What this paper adds?

- Multidimensional Fatigue Inventory is a valid and reliable instrument for determining the symptom profile of patients undergoing cancer surgery, chemotherapy radiotherapy and multimodal treatment.

The implications of this paper:

- Multidimensional Fatigue Inventory is an easy to answer numeric rating instrument that has the potential to be included in clinical practice settings to achieve a more comprehensive and objective assessment of the symptom experience.

#### Compliance with Ethical Standards

Ethical approval (no: 368415/04.10.2017) from the Istanbul University-Cerrahpasa Clinical Research Ethics Committee, and institutional permission (no: 192686/22.05.2017) were obtained to conduct the study. Informed consent was obtained from all participants.

#### Conflict of Interest

The author declares no conflicts of interest.

#### Author Contribution

YÖ, DK: Idea generation; YÖ, DK, NK, EG: Literature review; GC, YÖ, DK, EG: Study design; YÖ, DK, SMÖ: Data collection; GC, YÖ, AT: Statistics//analysis; GC, YÖ, AT: Interpretation of the results; GC, YÖ AT, SMÖ: Writing of the article.

#### Financial Disclosure

None

#### References




1. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer Statistics, 2021. *CA Cancer J Clin.* 2021; 71(1):7-33. doi: [10.3322/caac.21654](https://doi.org/10.3322/caac.21654)
2. Barsevick A, Frost M, Zwiderman A, Hall P, Halyard M; GENEQOL Consortium. I'm so tired: biological and genetic mechanisms of cancer-related fatigue. *Qual Life Res.* 2010;19(10):1419-27. doi: [10.1007/s11136-010-9757-7](https://doi.org/10.1007/s11136-010-9757-7)
3. Berger AM, Mooney K, Alvarez-Perez A, Breitbart WS, Carpenter KM, Cella D, et al. National comprehensive cancer network. Cancer-Related Fatigue, Version 2.2015. *J Natl Compr Canc Netw.* 2015;13(8):1012-39. doi: [10.6004/jcn.2015.0122](https://doi.org/10.6004/jcn.2015.0122)

4. Kirshbaum M. Cancer-related fatigue: A review of nursing interventions. *Br J Community Nurs*. 2010; 15(5):214-216. doi: [10.12968/bjcn.2010.15.5.47945](https://doi.org/10.12968/bjcn.2010.15.5.47945)
5. Li Y, Yuan C. Levels of fatigue in Chinese women with breast cancer and its correlates: a cross-sectional questionnaire survey. *J Am Acad Nurse Pract*. 2011; 23(3): 153-60. doi: [10.1111/j.1745-7599.2010.00591.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-7599.2010.00591.x)
6. Wang SH, He GP, Jiang PL, Tang LL, Feng XM, Zeng C, et al. Relationship between cancer-related fatigue and personality in patients with breast cancer after chemotherapy. *Psychooncology*. 2013;22(10):2386-2390. doi: [10.1002/pon.3303](https://doi.org/10.1002/pon.3303)
7. Hanna EY, Mendoza TR, Rosenthal DI, Gunn GB, Sehra P, Yucel E, et al. The symptom burden of treatment-naïve patients with head and neck cancer. *Cancer*. 2015; 121(5): 766-73. doi: [10.1002/cncr.29097](https://doi.org/10.1002/cncr.29097)
8. Mohandas H, Jaganathan SK, Mani MP, Ayyar M, Rohini Thevi GV. Cancer-related fatigue treatment: An overview. *J Cancer Res Ther*. 2017;13(6):916-929. doi: [10.4103/jcrt.JCRT\\_50\\_17](https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT_50_17)
9. O'Higgins CM, Brady B, O'Connor B, Walsh D, Reilly RB. The pathophysiology of cancer-related fatigue: current controversies. *Support Care Cancer*. 2018;26(10): 3353-3364. doi: [10.1007/s00520-018-4318-7](https://doi.org/10.1007/s00520-018-4318-7)
10. Zargar-Shoshtari K, Hill AG. Postoperative fatigue: a review. *World J Surg*. 2009;33(4):738-45. doi: [10.1007/s00268-008-9906-0](https://doi.org/10.1007/s00268-008-9906-0)
11. Can G. Fatigue in Cancer Patients. *Journal of Education and Research in Nursing*. 2006; 3(7): 10-17.
12. Radbruch L, Strasser F, Elsner F, Gonçalves JF, Løge J, Kaasa S, et al. Research Steering Committee of the European Association for Palliative Care (EAPC). Fatigue in palliative care patients -- an EAPC approach. *Palliat Med*. 2008; 22(1):13-32. doi: [10.1177/0269216307085183](https://doi.org/10.1177/0269216307085183)
13. Koh WJ, Abu-Rustum NR, Bean S, Bradley K, Campos SM, Cho KR, et al. Cervical Cancer, Version 3.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2019; 17(1): 64-84. doi: [10.6004/jnccn.2019.0001](https://doi.org/10.6004/jnccn.2019.0001)
14. Agasi-Idenburg SC, Thong MS, Punt CJ, Stuijver MM, Aaronson NK. Comparison of symptom clusters associated with fatigue in older and younger survivors of colorectal cancer. *Support Care Cancer*. 2017;25(2):625-632. doi: [10.1007/s00520-016-3451-4](https://doi.org/10.1007/s00520-016-3451-4)
15. Wang XS, Woodruff JF. Cancer-related and treatment-related fatigue. *Gynecol Oncol*. 2015; 136(3):446-52. doi: [10.1016/j.ygyno.2014.10.013](https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2014.10.013)
16. Ruiz-Schutz VC, Gomes LM, Mariano RC, de Almeida DVP, Pimenta JM, Dal Molin GZ, et al. Risk of fatigue and anemia in patients with advanced cancer treated with olaparib: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2019;141(1):163-173. doi: [10.1016/j.critrevonc.2019.06.012](https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2019.06.012)
17. Savina S, Zaydiner B. Cancer-Related Fatigue: Some Clinical Aspects. *Asia Pac J Oncol Nurs*. 2019;6(1):7-9. doi: [10.4103/apjon.apjon\\_45\\_18](https://doi.org/10.4103/apjon.apjon_45_18)
18. Smets EM, Garssen B, Bonke B, De Haes JC. The Multidimensional Fatigue Inventory (MFI) psychometric qualities of an instrument to assess fatigue. *J Psychosom Res*. 1995;39(3):315-25. doi: [10.1016/0022-3999\(94\)00125-o](https://doi.org/10.1016/0022-3999(94)00125-o)
19. Hoffman AJ, von Eye A, Gift AG, Given BA, Given CW, Rothert M. The development and testing of an instrument for perceived self-efficacy for fatigue self-management. *Cancer Nurs*. 2011;34(3):167-75. doi: [10.1097/NCC.0b013e31820f4ed1](https://doi.org/10.1097/NCC.0b013e31820f4ed1)
20. Shahid A, Wilkinson K, Marcu S, Shapiro CM. Brief Fatigue Inventory. In: Shahid A., Wilkinson K., Marcu S., Shapiro C. (eds) STOP, THAT and One Hundred Other Sleep Scales. Springer, New York, 2011. doi: [10.1007/978-1-4419-9893-4\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9893-4_11)
21. Baussard L, Stoeber-Delbarre A, Bonnabel L, Huteau ME, Gastou A, Cousson-Gélie F. Development and validation of the daily fatigue cancer scale (DFCS): Single-item questions for clinical practice. *Eur J Oncol Nurs*. 2017;26(1):42-48. doi: [10.1016/j.ejon.2016.12.004](https://doi.org/10.1016/j.ejon.2016.12.004)
22. Beaton DE, Bombardier C, Guillemin F, Ferraz MB. Guidelines for the process of cross-cultural adaptation of self-report measures. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2000;25(24):3186-3191. doi: [10.1097/00007632-200012150-00014](https://doi.org/10.1097/00007632-200012150-00014)
23. Başoğlu F, Öncü J, Kuran B, Alptekin HK. The reliability and validity of The Turkish version of Multidimensional Fatigue Inventory-20 for the evaluation of different dimensions of fatigue in patients with fibromyalgia. *Turk J Phys Med Rehabil*. 2020;66(4):436-443. doi: [10.5606/tftrd.2020.5781](https://doi.org/10.5606/tftrd.2020.5781)
24. Fillion L, Gélinas C, Simard S, Savard J, Gagnon P. Validation evidence for the French Canadian adaptation of the Multidimensional Fatigue Inventory as a measure of cancer-related fatigue. *Cancer Nursing*. 2003;26(2):143-154. doi: [10.1097/00002820-200304000-00008](https://doi.org/10.1097/00002820-200304000-00008)
25. Chandel P, Sultan A, Khan KA, Choudhary V, Parganiha A. Validation of the Hindi version of the Multidimensional Fatigue Inventory-20 (MFI-20) in Indian cancer patients. *Supportive Care in Cancer*, 2015;23(10):2957-2964. doi: [10.1007/s00520-015-2661-5](https://doi.org/10.1007/s00520-015-2661-5)
26. Gentile S, Delarozière JC, Favre F, Sambuc R, San Marco JL. Validation of the French 'multidimensional fatigue inventory' (MFI 20). *European journal of cancer care*, 2003;12(1): 58-64. doi: [10.1046/j.1365-2354.2003.00295.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2354.2003.00295.x)
27. Buss T, Kruk A, Wiśniewski P, Modlińska A, Janiszewska J, Lichodziejewska-Niemierko M. Psychometric properties of the Polish version of the Multidimensional Fatigue Inventory-20 in cancer patients. *Journal of pain and symptom management*, 2014;48(4):730-737.
28. Chuang LL, Chuang YF, Hsu MJ, Huang YZ, Wong AMK, Chang YJ. Validity and reliability of the Traditional Chinese version of the Multidimensional Fatigue Inventory in general population. *PLoS one*, 2018;13(5):e0189850. doi: [10.1371/journal.pone.0189850](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189850)
29. Lopes J, Araújo H, Smaili, SM. Brazilian version of the Multidimensional Fatigue Inventory for Parkinson's disease. *Fisioterapia em Movimento*, 2020;33(e003362):1-11. doi: [10.1590/1980-5918.033.AO61](https://doi.org/10.1590/1980-5918.033.AO61)
30. Smets, E. M. A., Garssen, B., Cull, A., & De Haes, J. C. J. M. Application of the multidimensional fatigue inventory (MFI-20) in cancer patients receiving radiotherapy. *British journal of cancer*, 1996;73(2): 241-245. doi: [10.1038/bjc.1996.42](https://doi.org/10.1038/bjc.1996.42)
31. Hagelin CL, Wengström Y, Runesdotter S, Fürst CJ. The psychometric properties of the Swedish Multidimensional Fatigue Inventory MFI-20 in four different populations. *Acta Oncol*. 2007;46(1):97-104. doi: [10.1080/02841860601009430](https://doi.org/10.1080/02841860601009430)

## Research Article | Araştırma Makalesi

# EXPLORING THE ROLE OF sFRP-4, TFF-3, NF-κB AND ROMO1 LEVELS IN COLORECTAL CANCER: IMPLICATIONS FOR PATHOPHYSIOLOGY AND DISEASE PROGRESSION

## KOLOREKTAL KANSERDE sFRP-4, TFF-3, NF-κB ve ROMO1 DÜZEYLERİNİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI: HASTALIĞIN PATOFİZYOLOJİSİ VE PROGRESYONUNA ETKİLERİ

 Sinem Durmus<sup>1\*</sup>,  Berrin Papila Kundaktepe<sup>2</sup>,  Cigdem Papila<sup>3</sup>,  Remise Gelisgen<sup>4</sup>,  Hafize Uzun<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Izmir Kâtip Celebi University, Izmir, Türkiye. <sup>2</sup>Department of General Surgery, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Türkiye. <sup>3</sup>Department of Internal Medicine, Oncology Division, Faculty of Cerrahpasa Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Türkiye. <sup>4</sup>Department of Medical Biochemistry, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Türkiye. <sup>5</sup>Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Istanbul Atlas University, Istanbul, Türkiye.



### ABSTRACT

**Objective:** Colorectal cancer (CRC) is a significant global health concern with high morbidity and mortality rates. Early detection and accurate diagnostic tools are critical for managing the clinical course. This research explores the molecular landscape of CRC, aiming to provide valuable insights beyond traditional diagnostic approaches. The main aim of this study was to investigate the potential contribution of specific biomarkers, such as secreted frizzled associated protein-4 (sFRP-4), trefoil factor-3 (TFF-3), nuclear factor-kappa-B (NF-κB) and reactive oxygen species modulator-1 (Romo1), to understanding the pathophysiology and determining the progression of CRC.

**Methods:** This study analyzed plasma levels of sFRP-4, TFF-3, NF-κB and Romo1 in a cohort of patients with CRC (n=50) and age- and gender-matched control group (n=40), utilizing ELISA. The diagnostic performance of these biomarkers was assessed through Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis.

**Results:** Our research revealed a significant increase in the levels of NF-κB, TFF-3 and Romo1 in patients with a diagnosis of CRC. Furthermore, these parameters were found to maintain elevated levels in patients with tumors larger than 4 cm as opposed to those with smaller tumors. Patients with metastases also had elevated levels of the three parameters compared with patients without metastases. The ROC analysis revealed that NF-κB showed the most promise as a parameter for distinguishing patients from control subjects, whereas TFF-3 displayed the most potential in identifying tumor size and the presence of metastasis.

**Conclusion:** This research contributes valuable insights into understanding the pathophysiology and progression of CRC. The potential roles of NF-κB, TFF-3, and Romo1 as biomarkers, as revealed in our study, offer a promising avenue for early detection and improved management of CRC. Further validation and prospective studies are necessary to clarify the roles of these biomarkers in the pathophysiological mechanism of CRC and to establish their clinical utility.

**Keywords:** Colorectal cancer, NF-κB, Romo1, sFRP-4, TFF-3

### Öz

**Amaç:** Kolorektal kanser (KRK), yüksek morbidite ve mortalite oranları ile önemli bir küresel sağlık sorunudur. Erken teşhis ve doğru tanı araçları klinik seyirin yönetimi için kritik öneme sahiptir. Bu araştırma, geleneksel tanı yaklaşımlarının ötesinde bilgiler sağlamayı amaçlayarak KRK'nin moleküler manzarasını araştırmaktadır. Bu çalışmanın temel amacı, salgılanan frizzled ilişkili protein-4 (sFRP-4), trefoil faktör-3 (TFF-3), nükleer faktör-kappa-B (NF-κB) ve reaktif oksijen türleri modülatörü-1 (Romo1) gibi spesifik biyobelirteçlerin, KRK'nin patofizyolojisini anlamaya ve progresyonunu belirlemeye potansiyel katkılarını araştırmaktır.

**Yöntem:** Bu çalışmada, KRK'li hastalar (n=50) ile yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş kontrol grubunda (n=40) sFRP-4, TFF-3, NF-κB ve Romo1'in plazma düzeyleri ELISA yöntemi ile analiz edilmiştir. Bu biyobelirteçlerin tanılma performansı ROC analizi ile değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Araştırmamız, KRK tanısı alan hastalarda NF-κB, TFF-3 ve Romo1 seviyelerinde önemli bir artış olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, bu parametrelerin 4 cm'den büyük tümörü olan hastalarda daha küçük tümörü olanlara kıyasla daha yüksek seviyelerde olduğu tespit edilmiştir. Metastazı olan hastalarda da metastazı olmayan hastalara kıyasla üç parametrenin seviyeleri de yüksek bulunmuştur. ROC analizi, NF-κB'nin hastaları kontrol bireylerinden ayırt etmek için potansiyeli en iyi biyobelirteç olabileceğini, TFF-3'ün ise tümör boyutunu ve metastaz varlığını belirlemede en fazla potansiyel gösterdiğini ortaya koymuştur.

**Sonuç:** Bu araştırma, KRK'nin patofizyolojisinin ve progresyonunun anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. Çalışmamızda ortaya konduğu üzere NF-κB, TFF-3 ve Romo1'in biyobelirteç olarak potansiyel rolleri, KRK'nin erken teşhisi ve yönetimi için umut verici bir yaklaşım sunmaktadır. Bu biyobelirteçlerin KRK'nin patofizyolojik mekanizmasındaki rollerini netleştirmek ve klinik faydalarını belirlemek için daha fazla doğrulama ve ileriye dönük çalışmalar gereklidir.

**Anahtar Kelimeler:** Kolorektal kanser, NF-κB, Romo1, sFRP-4, TFF-3

\*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Sinem Durmus; Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Izmir Kâtip Celebi University 35640, Izmir, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (538) 729 79 29 e-mail/e-posta: durmus.sinem@gmail.com

Submitted/Başvuru: 16.11.2023

Accepted/Kabul: 07.02.2024

Published Online/Online Yayın: 29.02.2024



## Introduction

Colorectal cancer (CRC) stands as a significant global health challenge, with an escalating incidence and a substantial disease burden. CRC, which encompasses malignancies of the colon and rectum, is known for its silent progression, often remaining asymptomatic until the disease reaches advanced stages.<sup>1,2</sup> Early detection and precise diagnostic methods are pivotal in improving patient outcomes and reducing the impact of this disease.<sup>3</sup> Colonoscopy is recognized as the gold standard for the diagnosis of CRC, but its use is restricted by its invasiveness, the necessary bowel preparation, and the high costs. Although fecal immunochemical testing (FIT) is noninvasive and more affordable, it still lacks the accuracy required to effectively detect advanced adenoma. Despite the availability of novel therapies for CRC and enhanced survival rates, screening rates have not notably increased, highlighting the necessity for more accurate, non-invasive and tolerable screening tests.<sup>4,5</sup>

Secreted Frizzled Associated Protein-4 (sFRP-4), a member of the secreted frizzled-related protein family, has been implicated in Wnt signaling pathway modulation and is expressed in various tissues.<sup>6</sup> Since the cysteine-rich domain of sFRP-4 resembles the Wnt-binding site, it is predicted to be a tumor suppressor.<sup>7</sup> Studies have shown that sFRP-4 expression is generally down-regulated in CRC tissues and cell lines, supporting the view that it may function as a tumor suppressor.<sup>8,9</sup> However, Huang et al.<sup>10</sup> showed that sFRP-4 was overexpressed in CRC tissues compared to adjacent non-cancerous tissues. Moreover, sFRP-4 has been linked to the inhibition of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT), a process where epithelial cells lose their adhesion properties and acquire invasive characteristics.<sup>11</sup> EMT is involved in cancer metastasis and the role of sFRP-4 in inhibiting this process suggests that it should be investigated as a CRC metastasis biomarker.

Trefoil Factor-3 (TFF-3), associated with mucosal protection and repair in the gastrointestinal tract, has displayed altered expression in CRC, hinting at its potential role as a diagnostic marker.<sup>12,13</sup> It has been suggested that elevated TFF3 tumor levels could be linked to reduced survival rates, lymph node metastasis, more advanced tumor stage, poor tumor differentiation, and increased clinical TNM stage.<sup>13,14</sup>

Nuclear Factor-Kappa-B (NF- $\kappa$ B), a transcription factor central to inflammatory processes and cancer, has been linked to the inflammatory microenvironment characteristic of CRC. NF- $\kappa$ B also can upregulate the expression of anti-apoptotic genes, enabling cancer cells to evade programmed cell death. This resistance to apoptosis contributes to tumor survival and growth.<sup>15,16</sup> In addition, it has been associated with the induction of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT), a process that enhances the invasive properties of cancer cells and their ability to metastasize.<sup>17</sup>

Reactive Oxygen Species Modulator-1 (Romo1), is a mitochondrial membrane protein and associated with oxidative stress and cell proliferation, holds promise as a marker due to the oxidative stress commonly observed in CRC.<sup>18</sup> ROMO1 has also been reported to have a regulatory effect on NF- $\kappa$ B-dependent activation of EMT factors.<sup>19</sup>

In recent years, biomarker research has garnered significant attention, offering a promising avenue for the detection of CRC. Such markers can be detected through blood-based tests, thereby providing an easily accessible, non-invasive, and cost-effective approach to diagnosis and screening. This research explores the molecular landscape of CRC, aiming to provide valuable insights beyond traditional diagnostic approaches. The objective of this study was to examine the potential roles of sFRP-4, TFF-3, NF- $\kappa$ B, and Romo1 in gaining insight into the molecular mechanisms linked to CRC pathophysiology and progression.

## Methods

### Study Groups

The study protocol was approved by the local Ethics Committee of the Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa (No: 20502, date:04/07/2018), and it was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. Fifty individuals diagnosed with CRC (25 female (50%), 25 males (50%), mean age: 51.74 $\pm$ 7.19) and forty age- and gender-matched healthy individuals (20 females (50%), 20 males (50%), mean age: 49.93 $\pm$ 5.15) without a history of cancer were enrolled in the study. Patients were selected from Department of Internal Medicine, Division of Oncology, and Department of General Surgery, Faculty of Cerrahpasa Medicine, Istanbul University Cerrahpasa. Informed written consent was obtained from all participants prior to sample collection. Patients with primary CRC were included in the study. All patients were aged 25-70 years, had not received chemotherapy or radiotherapy, and had no secondary malignancies. Patients who underwent surgery, received chemotherapy and radiotherapy were not included in the study.

Venous blood samples were collected from each participant into EDTA-coated vacutainer tubes using aseptic techniques. Blood samples were obtained in the morning after an overnight fast. Blood samples were immediately centrifuged for 15 min at 3000 RCF at 4°C to separate plasma. The resulting plasma samples were carefully collected and stored at -80°C until further analysis.

Plasma TFF-3, Romo-1, NF- $\kappa$ B and SFRP-4 levels were measured by commercial ELISA kits (Human TFF3 ELISA kit, Cat. No: E-EL-H1108; Human ROMO1 ELISA kit, Cat. No: E-EL-H5430; Human NF- $\kappa$ B-p65 kit, Cat. No. E-EL-H1388; Human SFRP4 ELISA kit, Cat. No: -EL-H5447, respectively, Elabscience Biotechnology Inc., USA),

based on sandwich principle, according to the manufacturer’s instructions.

The sensitivity of commercial assay kits for Romo-1, NF-κB and SFRP-4 were 0.10 ng/mL. The sensitivity of commercial assay kit for TFF-3 was 46.88 pg/mL. The intra- and inter-assay variation coefficients for all parameters were less than 10.

**Statistical Analysis**

All statistical analysis was performed with SPSS version 29.0 (IBM SPSS Statistics for MacOs, IBM Corp. USA). Categorical variables were presented as percentages or frequencies and were compared using Pearson’s χ<sup>2</sup> tests. Continuous variables were described as mean values along with their corresponding standard deviations. The normal distributions of the variables were determined by histogram and/or by Kolmogorov–Smirnov/Shapiro–Wilk’s test. The mean differences between the parameters among groups was determined by student t-test. The univariate associations were evaluated by Spearman’s rank correlation analysis. The study assessed the sensitivity and specificity of the measured variables as biomarkers through a receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. Cut-off values were determined by using the Youden’s J Index. A two-sided p-value less than 0.05 was considered significant. In our study, the post-hoc power analysis for NF-κB, Romo-1 and TFF-3 shows that it reached a power of over 95%, indicating that the study has sufficient power to detect the observed effect size at an alpha level of 0.05.

**Results**

Clinicopathological features of patients with CRC are shown in Table 1. Tumor, lymph node, metastasis (TNM) stages of all patients were determined according to the American Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM staging system.<sup>20</sup> In this study, 10 patients were

identified with TNM stage I, 21 with TNM stage II, 10 with TNM stage III, and 9 with TNM stage IV. In 28 patients, the tumor size exceeded 4 cm, and 17 of them had metastasis.

**Table 1.** Clinicopathological features of patients with CRC (n=50)

Variables	n (%)
TNM Stage	
I/II/III/IV	10 (20.0%) / 21 (42.0%) / 10 (20.0%) / 9 (18.0%)
Tumor Size	
≤4 cm	22 (44.0%)
>4 cm	28 (56.0%)
Metastasis Status	
Yes	17 (34.0%)
No	33 (66.0%)

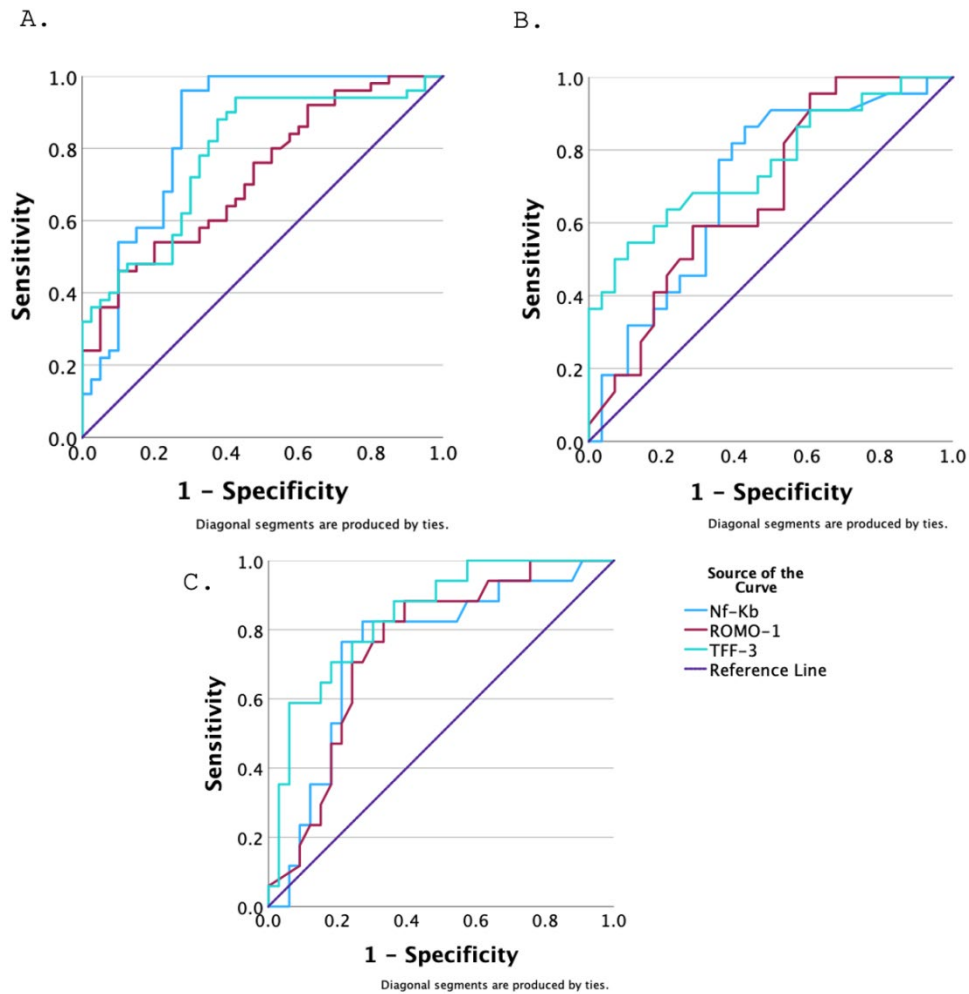
Demographic characteristics, tumor markers and biochemical parameters levels in patients with CRC and controls are summarized in Table 2. The mean age of CRC patients 51.74±7.19 years, and of controls 49.93±5.15 years. The ratio of female to male was the same in both the CRC patients and the controls. All three tumor marker levels (CA-15.3, CA-19.9 and CEA) were significantly elevated among patients with CRC. Our results reveal a significant increase in the plasma levels of NF-κB, Romo-1, and TFF-3 in CRC patients in comparison to healthy controls (all p<0.001, Table 2). There was no significant difference observed in the levels of sFRP-4 between the patients with CRC and the control subjects. ROC analysis demonstrated that all three parameters have the potential to serve as biomarkers for distinguishing CRC patients from control subjects. Notably, NF-κB was identified as the most significant parameter in terms of AUC values for distinguishing CRC patients from healthy controls (Figure 1-A and Table 5-A).

**Table 2.** Demographic characteristics, tumor markers and biochemical parameters levels in patients with CRC and controls

	CRC patients (n=50)	Controls (n=40)	p
<b>Demographic characteristics</b>			
Mean age (mean±SD) (years)	51.74±7.19	49.93±5.15	0.167
Female/male ratio (% ,n)	1 / 1 (25 F / 25 M)	1 / 1 (20 F / 20 M)	1.00
<b>Tumor marker levels (mean±SD)</b>			
CA-15.3 (U/mL)	14.73±4.78	11.04±3.07	<0.001
CA-19-9 (U/mL)	26.34±9.06	4.44±2.12	<0.001
CEA (ng/mL)	6.84±8.77	1.52±0.59	<0.001
<b>Biochemical parameters levels (mean±SD)</b>			
NF-κB (ng/mL)	4.75±2.13	2.29±1.88	<0.001
sFRP-4 (ng/mL)	1.68±1.13	1.90±0.74	0.137
Romo-1 (ng/mL)	2.69 ±1.27	1.68±1.02	<0.001
TFF-3 (pg/mL)	3379.53±864.54	2319.96±916.17	<0.001

CA-15.3: Cancer antigen 15.3, CA-19.9: Cancer antigen 19.9, CEA: Carcinoembryonic antigen, NF-κB: Nuclear Factor kappa B, SFRP-4: Secreted frizzled-related protein 4, Romo-1: Reactive oxygen species modulator 1, TFF-3: Trefoil Factor 3





**Figure 1.** Comparisons of the sensitivity and specificity of the diagnosis by biochemical parameters (NF-κB, Romo-1, TFF-3) and tumour markers (CA-15.3, CA-19.9 and CEA)

The ROC curve of A. CRC versus healthy controls; B. Tumor size > 4 cm versus tumor size ≤ 4 cm; C. Patients with metastasis versus patients without metastasis.

When patients with CRC were classified according to tumor size, significant increases in plasma NF-κB, Romo-1 and TFF-3 levels were observed in patients with tumors larger than 4 cm compared to those with tumors smaller than 4 cm ( $p=0.025$ ,  $p=0.017$  and  $p<0.001$ , respectively; Table 3). We also found that plasma levels of all three parameters were higher in CRC patients with

metastases compared to CRC patients without metastases ( $p=0.027$ ,  $p=0.004$  and  $p<0.001$ , respectively; Table 4). The ROC analysis revealed that TFF-3 displayed the most potential in identifying tumor size and the presence of metastasis (Figure 1-B, -C and Table 5-B, -C).

**Table 3.** Biochemical parameter levels in subgroups formed according to tumor size in CRC patients

Parameters	Tumor size ≤ 4 cm (n=22)	Tumor size > 4 cm (n=28)	p
NF-κB (ng/mL)	4.23±1.87	5.41±2.29	0.025
sFRP-4 (ng/mL)	1.78±1.15	1.57±1.11	0.260
Romo-1 (ng/mL)	2.35 ±1.27	3.11±1.16	0.017
TFF-3 (pg/mL)	3032.68±825.79	3820.97±708.99	<0.001

**Table 4.** Biochemical parameter levels in subgroups formed according to metastasis status in CRC patients

Parameters	Patients with metastasis (n=17)	Patients without metastasis (n=33)	p
NF-κB (ng/mL)	5.66±2.18	4.28±1.97	0.027
sFRP-4 (ng/mL)	1.40±1.23	1.83±1.06	0.103
Romo-1 (ng/mL)	3.39 ±1.04	2.32±1.24	0.004
TFF-3 (pg/mL)	3988.07±539.80	3066.04±837.09	<0.001

**Table 5.** AUC, specificity, sensitivity and cut-off values of NF-κB, Romo-1 and TFF-3

Variables	AUC	p	95% CI (LB-UB)	Cut-off value	Sensitivity	Specificity
<b>A. CRC versus healthy controls</b>						
NF-κB	0.848	<0.001	0.760-0.936	2,88	%96	%72.5
Romo-1	0.724	<0.001	0.621-0.827	2.99	%46	%90
TFF-3	0.785	<0.001	0.689-0.880	2195.40	%94	%57.5
<b>B. Tumor size &gt; 4 cm versus tumor size ≤ 4 cm</b>						
NF-κB	0.705	0.014	0.558-0.851	3.40	%86.4	%57.1
Romo-1	0.682	0.029	0.535-0.829	1.70	%95.5	%39.3
TFF-3	0.761	0.002	0.624-0.897	3938.45	%54.5	%89.3
<b>C. Patients with metastasis versus patients without metastasis</b>						
NF-κB	0.745	0.005	0.598-0.892	4.41	%76.5	%78.8
Romo-1	0.750	0.004	0.613-0.888	2.55	%82.4	%66.7
TFF-3	0.841	0.000	0.730-0.953	3971.46	%58.8	%93.9

CI: Confidence Interval; LB: Lower Bound; UB: Upper Bound

Tumor size was positively correlated with Nf-κB, Romo-1 and TFF-3 ( $r=0.352$ ,  $p=0.012$ ;  $r=0.313$ ,  $p=0.027$  and  $r=0.448$ ,  $p<0.001$ , respectively). Among these parameters, the strongest positive correlation was found between tumor size and TFF-3. Also, NF-κB levels were positively correlated with TFF-3 levels ( $r=0.503$ ,  $p<0.001$ ).

### Discussion

The exploration of biomarkers for colorectal cancer (CRC) diagnosis is paramount in advancing our understanding of this prevalent malignancy and improving clinical outcomes. In this study, the investigation into specific biomarkers, including secreted frizzled associated protein-4 (sFRP-4), trefoil factor-3 (TFF-3), nuclear factor-kappa-B (NF-κB), and reactive oxygen species modulator-1 (Romo1), has provided valuable insights into their potential roles in the pathophysiological mechanisms of CRC. The observed elevation of NF-κB, TFF-3, and Romo1 levels in CRC patients, particularly in those with larger tumors and metastases, underscores their relevance in understanding disease progression. These findings appear to be consistent with the literature and suggest their potential as contributors to the broader understanding of CRC pathophysiology.

There is growing evidence supporting the significance of NF-κB as a major mediator between inflammation and cancer as well as regulation of cell differentiation, proliferation, and apoptosis.<sup>21,22</sup> The activation of NF-κB signaling can occur through canonical or non-canonical pathways which have distinct roles in tumor progression. In particular, the canonical pathway has been extensively studied and found to have anti-apoptotic and immunomodulatory functions in response to the tumor microenvironment, whereas the non-canonical pathway plays a critical role in the maintenance of cancer stem cells and tumor re-initiation.<sup>23</sup> Supporting the results of our study,

researchers have reported that activated NF-κB is associated with metastasis and poor clinical outcome in CRC patients.<sup>24,25</sup>

The deregulation of the NF-κB signaling pathway has led to Romo1 being implicated in the invasion of cancer cells. Inhibition of the non-canonical NF-κB pathway, notably with the inhibitor of κB kinase (IKK), was demonstrated to counteract the invasive effects triggered by Romo1.<sup>18</sup> Romo1 is a crucial protein situated in the mitochondrial membrane that regulates ROS levels by altering the inner membrane potential and thereby impacting its permeability.<sup>26-28</sup> Overexpression of this protein has been reported in various cancers, including CRC, and has been associated with lymphatic metastasis and poorer prognosis.<sup>18,26,27,29,30</sup> In our study, we have shown that Romo1 is overexpressed in CRC patients and the elevation increases with increasing tumour size and is associated with metastasis in CRC patients. Studies have reported elevated levels of Romo1 in CRC patients, consistent with our findings and supporting the investigation of Romo1's potential role in the disease.<sup>18,26</sup> To the best of our knowledge, data on Romo1 levels in CRC are very limited in the literature. And yet, on the other hand, a study suggests that targeting Romo1 could have significant anti-cancer effects and help develop new drugs for CRC.<sup>31</sup> We found that plasma Romo-1 levels were not correlated with NF-κB levels. Therefore, we propose that the mechanism may operate via an independent signalling pathway to NF-κB in patients with CRC.

The correlation between elevated levels of plasma TFF-3 and NF-κB in individuals with CRC implies that TFF-3 has the ability to initiate the NF-κB signalling pathway in CRC. Consistent with our hypothesis, Chen et al.<sup>32</sup> found that TFF3 can induce NF-κB activation to inhibit apoptosis of gastric cancer cells. Another study reported a positive correlation between abnormal expression of TFF3 in gastric cancer and NF-κB p65 expression.<sup>33</sup> In accordance with our findings, recent research has revealed that elevated TFF-3 expression levels are

related to metastasis, depth of invasion, TNM stage, poor prognosis and recurrence.<sup>13,34</sup> It has been suggested that the possible role of TFF3 in CRC in carcinogenesis, tumor proliferation, infiltration, metastasis and angiogenesis is mediated by inducing PTGS2 expression mainly by activating STAT3 signalling.<sup>35</sup> In another study, it was reported that TFF3 is a novel regulator of EP4 expression, which plays the most important role in tumorigenic mechanisms, and STAT3 signaling is responsible for TFF3-induced EP4 expression.<sup>36</sup> However, in contrast to our results and these studies in the literature, Kondo et al.<sup>37</sup> found that low TFF3 expression in rectal mucosa was associated with ulcerative colitis-related cancer development. These conflicting results may have occurred due to potential bias arising from the small sample size of patients included.

Some research indicates that sFRP-4, which mainly inhibits Wnt signalling, may also enhance of NF-κB activity.<sup>38</sup> On the other hand, it has been reported that sFRP-4 may also inhibit cancer metastasis by inhibiting EMT.<sup>11</sup> While there is evidence for an increase in sFRP4 expression in various cancers, some studies have shown a decrease.<sup>39–41</sup> In our study, sFRP4 levels did not differ in CRC patients compared to healthy individuals, this may be due to the limited number of patients. It is important to note the discrepancies in findings and further research is required to fully understand the role of sFRP4 in cancer.

Our findings not only contribute to the elucidation of the pathophysiology and progression of CRC, but also hold promise for the development of effective non-invasive diagnostic approaches. The ROC analysis revealed the promising diagnostic performance of NF-κB, particularly in distinguishing CRC patients from the control group, emphasizing its potential as a robust biomarker. Furthermore, TFF-3 emerged as a noteworthy indicator, displaying efficacy in identifying both tumor size and the presence of metastasis. The consistent elevation of these biomarkers in larger tumors and metastatic cases reinforces their potential utility in aiding prognostic assessments, guiding treatment decisions and predicting disease progression. Since metastasis is the primary cause of cancer-related deaths, the survival rate of patients can be enhanced by targeting TFF-3.

NF-κB, TFF-3 and Romo1, which are implicated in CRC pathophysiology and progression, offer a promising avenue for early detection, a critical factor in improving patient outcomes. The potential clinical utility of these biomarkers is underscored by their ability to provide valuable information regarding tumor characteristics and metastatic status. However, further validation through large-scale and prospective studies is essential to establish their reliability and clinical applicability. Integration of these biomarkers into CRC diagnostic, screening and management of disease programs holds promise for advancing personalized medicine and enhancing the overall management of this global health concern.

### Compliance with Ethical Standards

The study protocol was approved by the local Ethics Committee of the Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa (No: 20502, date:04/07/2018)

### Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

### Author Contribution

Concept: SD and HU, Design: SD and HU, Data Collection and Processing: SD, BPK, CP, Analysis and Interpretation: SD, HU, RG, BPK and CP, Literature Search: SD, HU and RG, Writing: SD, Reviewing and Editing: SD, BPK, CP, RG and HU. All the authors read and approved the final manuscript.

### Financial Disclosure

The authors declared that this study received no financial support.

### References





1. Simon K. Colorectal cancer development and advances in screening. *Clin Interv Aging*. 2016;11:967. doi:10.2147/CIA.S109285
2. Hossain MS, Karuniawati H, Jairoun AA, et al. Colorectal Cancer: A Review of Carcinogenesis, Global Epidemiology, Current Challenges, Risk Factors, Preventive and Treatment Strategies. *Cancers (Basel)*. 2022;14(7):1732. doi:10.3390/CANCERS14071732
3. Zhang Y, Wang Y, Zhang B, Li P, Zhao Y. Methods and biomarkers for early detection, prediction, and diagnosis of colorectal cancer. *Biomed Pharmacother*. 2023;163:114786. doi:10.1016/J.BIOPHA.2023.114786
4. Gude SS, Veeravalli RS, Vejjandla B, Gude SS, Venigalla T, Chintagumpala V. Colorectal Cancer Diagnostic Methods: The Present and Future. *Cureus*. 2023;15(4). doi:10.7759/CUREUS.37622
5. Mo S, Dai W, Wang H, et al. Early detection and prognosis prediction for colorectal cancer by circulating tumour DNA methylation haplotypes: A multicentre cohort study. *eClinicalMedicine*. 2023;55. doi:10.1016/j.eclinm.2022.101717
6. Pawar NM, Rao P. Secreted frizzled related protein 4 (sFRP4) update: A brief review. *Cell Signal*. 2018;45:63-70. doi:10.1016/J.CELLSIG.2018.01.019
7. Jones SE, Jomary C. Secreted Frizzled-related proteins: searching for relationships and patterns. *BioEssays*. 2002;24(9):811-820. doi:10.1002/BIES.10136
8. Qi J, Zhu YQ, Luo J, Tao WH. Hypermethylation and expression regulation of secreted frizzled-related protein genes in colorectal tumor. *World J Gastroenterol*. 2006;12(44):7113-7117. doi:10.3748/WJG.V12.I44.7113
9. Liu Y, Yu J, Xie Y, et al. EZH2 regulates sFRP4 expression without affecting the methylation of sFRP4 promoter DNA in colorectal cancer cell lines. *Exp Ther Med*. 2020;20(5):1-1. doi:10.3892/ETM.2020.9160
10. Huang D, Yu B, Deng Y, et al. SFRP4 was overexpressed in colorectal carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2010;136(3):395-401. doi:10.1007/S00432-009-0669-2

11. Nfonsam LE, Jandova J, Jecius HC, Omesiete PN, Nfonsam VN. SFRP4 expression correlates with epithelial mesenchymal transition-linked genes and poor overall survival in colon cancer patients. *World J Gastrointest Oncol.* 2019;11(8):589. doi:10.4251/WJGO.V11.I8.589
12. Taupin D, Podolsky DK. Trefoil factors: initiators of mucosal healing. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4(9):721-732. doi:10.1038/NRM1203
13. Yusup A, Huji B, Fang C, et al. Expression of trefoil factors and TWIST1 in colorectal cancer and their correlation with metastatic potential and prognosis. *World J Gastroenterol.* 2017;23(1):110-120. doi:10.3748/WJG.V23.I1.110
14. Li Q, Wang K, Su C, Fang J. Serum Trefoil Factor 3 as a Protein Biomarker for the Diagnosis of Colorectal Cancer. *Technol Cancer Res Treat.* 2017;16(4):440-445. doi:10.1177/1533034616674323
15. Hassanzadeh P. Colorectal cancer and NF-κB signaling pathway. *Gastroenterol Hepatol From Bed to Bench.* 2011;4(3):127. Accessed November 14, 2023. /pmc/articles/PMC4017424/
16. Slattery ML, Mullany LE, Sakoda L, et al. The NF-κB signalling pathway in colorectal cancer: associations between dysregulated gene and miRNA expression. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2018;144(2):269. doi:10.1007/S00432-017-2548-6
17. Huber MA, Azoitei N, Baumann B, et al. NF-κB is essential for epithelial-mesenchymal transition and metastasis in a model of breast cancer progression. *J Clin Invest.* 2004;114(4):569. doi:10.1172/JCI21358
18. Kim HJ, Jo MJ, Kim BR, et al. Reactive oxygen species modulator-1 (Romo1) predicts unfavorable prognosis in colorectal cancer patients. *PLoS One.* 2017;12(5). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0176834
19. Shyamsunder P, Verma RS, Lyakhovich A. ROMO1 regulates RedOx states and serves as an inducer of NF-κB-driven EMT factors in Fanconi anemia. *Cancer Lett.* 2015;361(1):33-38. doi:10.1016/J.CANLET.2015.02.020
20. Amin MB, Frederick J, Greene L, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(2):93-99. doi:10.3322/CAAC.21388
21. Soly W, Zhanjie L, Lunshan W, Xiaoren Z. NF-κB Signaling Pathway, Inflammation and Colorectal Cancer. *Cell Mol Immunol* 2009 65. 2009;6(5):327-334. doi:10.1038/cmi.2009.43
22. Xia L, Tan S, Zhou Y, et al. Role of the NFκB-signaling pathway in cancer. *Onco Targets Ther.* 2018;11:2063. doi:10.2147/OTT.S161109
23. Harrington BS, Annunziata CM. NF-κB Signaling in Ovarian Cancer. *Cancers (Basel).* 2019;11(8). doi:10.3390/CANCERS11081182
24. Puvvada SD, Funkhouser WK, Greene K, et al. NF-κB and Bcl-3 Activation Are Prognostic in Metastatic Colorectal Cancer. *Oncology.* 2010;78(3-4):181-188. doi:10.1159/000313697
25. Klampfer L. Cytokines, Inflammation and Colon Cancer. *Curr Cancer Drug Targets.* 2011;11(4):451-464. doi:10.2174/156800911795538066
26. Ghasemi H, Amini MA, Pegah A, et al. Overexpression of reactive oxygen species modulator 1 is associated with advanced grades of bladder cancer. *Mol Biol Rep.* 2020;47(9):6497. doi:10.1007/S11033-020-05702-1
27. Tsoneva E, Dimitrova PD, Metodiev M, Shivarov V, Vasileva-Slaveva M, Yordanov A. The effects of ROMO1 on cervical cancer progression. *Pathol - Res Pract.* 2023;248:154561. doi:10.1016/J.PR.P.2023.154561
28. Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism.* 2000;49(2):3-8. doi:10.1016/S0026-0495(00)80077-3
29. Jo MJ, Kim BG, Park SH, et al. Romo1 Inhibition Induces TRAIL-Mediated Apoptosis in Colorectal Cancer. *Cancers* 2020, Vol 12, Page 2358. 2020;12(9):2358. doi:10.3390/CANCERS12092358
30. Chung JS, Park S, Park SH, et al. Overexpression of Romo1 Promotes Production of Reactive Oxygen Species and Invasiveness of Hepatic Tumor Cells. *Gastroenterology.* 2012;143(4):1084-1094.e7. doi:10.1053/J.GASTRO.2012.06.038
31. Jo MJ, Kim BG, Park SH, et al. Romo1 Inhibition Induces TRAIL-Mediated Apoptosis in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel).* 2020;12(9):1-18. doi:10.3390/CANCERS12092358
32. Chen YH, Lu Y, De Plaen IG, Wang LY, Tan X Di. Transcription factor NF-kappaB signals antiaoinic function of trefoil factor 3 on intestinal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;274(3):576-582. doi:10.1006/BBRC.2000.3176
33. Rong Z, Zaihong Y, Gastroenterology ZJD of, Corporation the CH of CNP, 065000 L, China. Expressions of TFF3,NF-κB and their implications in Helicobacter pylori associated-gastric ulcer and gastric cancer. *Chinese J Gastroenterol Hepatol.* 2013;(2):130-132.
34. Yusufu A, Shayimu P, Tuerdi R, Fang C, Wang F, Wang H. TFF3 and TFF1 expression levels are elevated in colorectal cancer and promote the malignant behavior of colon cancer by activating the EMT process. *Int J Oncol.* 2019;55(4):789. doi:10.3892/IJO.2019.4854
35. Cui HY, Wang SJ, Song F, et al. CD147 receptor is essential for TFF3-mediated signaling regulating colorectal cancer progression. *Signal Transduct Target Ther* 2021 61. 2021;6(1):1-15. doi:10.1038/s41392-021-00677-2
36. Yang T, Fu X, Tian RF, et al. TFF3 promotes clonogenic survival of colorectal cancer cells through upregulation of EP4 via activation of STAT3. *Transl Cancer Res.* 2023;12(6):1503-1515. doi:10.21037/TCR-22-2552/COIF
37. Kondo S, Araki T, Toiyama Y, et al. Downregulation of trefoil factor-3 expression in the rectum is associated with the development of ulcerative colitis-associated cancer. *Oncol Lett.* 2018;16(3):3658. doi:10.3892/OL.2018.9120
38. Kida H, Jiang JJ, Matsui Y, et al. Dupuytren's contracture-associated SNPs increase SFRP4 expression in non-immune cells including fibroblasts to enhance inflammation development. *Int Immunol.* 2023;35(7):303-312. doi:10.1093/INTIMM/DXAD004
39. Busuttill RA, George J, House CM, et al. SFRP4 drives invasion in gastric cancer and is an early predictor of recurrence. *Gastric Cancer.* 2021;24(3):589. doi:10.1007/S10120-020-01143-8
40. Bernreuther C, Daghigh F, Möller K, et al. Secreted Frizzled-Related Protein 4 (SFRP4) Is an Independent Prognostic Marker in Prostate Cancers Lacking TMPRSS2: ERG Fusions. *Pathol Oncol Res.* 2020;26(4):2709. doi:10.1007/S12253-020-00861-9
41. Turan H, Vitale SG, Kahramanoglu I, et al. Diagnostic and prognostic role of TFF3, Romo-1, NF-κB and SFRP4 as biomarkers for endometrial and ovarian cancers: a prospective observational translational study. *Arch Gynecol Obstet.* 2022;306(6):2105. doi:10.1007/S00404-022-06563-8

## Research Article | Araştırma Makalesi

# EVALUATION OF DONOR CANDIDATES USING MULTI-DETECTOR COMPUTED TOMOGRAPHY ANGIOGRAPHY IN PREPARATION FOR RENAL TRANSPLANTATION

## RENAL TRANSPLANTASYON HAZIRLIĞINDA MULTI-DEDEKTÖR BİLGİSAYARLI TOMOGRAFİ ANJİYOĞRAFİ İLE DONÖR ADAYLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

 Demet Dogan<sup>1</sup>,  Kagan Gokce<sup>2\*</sup>,  Taner Kivilcim<sup>2</sup>,  Alp Gurkan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istanbul Okan University, School of Medicine, Department of Radiology, Istanbul, Türkiye. <sup>2</sup>Istanbul Okan University, School of Medicine, Department of General Surgery, Istanbul, Türkiye.



### ABSTRACT

**Objective:** Renal and extrarenal intra-abdominal findings in Multi-Detector Computed Tomography Angiography (MDCTA) imaging of kidney donor candidates, which may prevent the candidate from becoming a donor, or cause a change in surgical approach. We aim to underline the impact of MDCTA results on pre-transplant kidney donor evaluation.

**Methods:** Our study retrospectively evaluated renal MDCTA imaging performed on 496 kidney donor candidates at Okan University Faculty of Medicine Hospital between January 2017 and November 2022. The size and parenchymal thickness of both kidneys were measured. The diameter, number, variations, and anomalies of the renal artery and vein on both sides were determined. Findings that prevented kidney transplantation were detected. MDCTA findings and how these findings affected the surgical approach were determined.

**Results:** Of the 496 kidney donor candidates 273 were men and 223 were women. The age range of donor candidates was between 20-85, and the mean age was 46.25±13.2. 278 of the healthy individuals who applied to the ethics committee became donor candidates, and 218 were eliminated. Among the 218 candidates eliminated, 22 could not become donors due to the findings detected in MDCTA. The most common MDCTA finding that prevented transplantation was bilateral kidney stones.

**Conclusion:** Before a renal transplant, it is very important to evaluate intra-abdominal renal and extrarenal pathologies that may prevent transplantation. Renal MDCTA provides a minimally invasive, rapid, and accurate evaluation of living kidney donors. For this reason, MDCTA is an imaging method that is increasingly used in the evaluation before renal transplantation.

**Keywords:** Donor nephrectomy, multi-detector computed tomography angiography, renal transplantation

### Öz

**Amaç:** Böbrek donör adayı olarak başvuran kişilere uygulanan Multidedektörlü Bilgisayarlı Tomografi Anjiyografi (MDBTA) incelemesinde; kişinin donör olmasını engelleyebilecek veya cerrahi yaklaşımın değişmesine neden olabilecek renal ve ekstra renal bulgularımızı bildirmeyi amaçlamaktayız. Nakil öncesi donör değerlendirmesi için yapılan MDBTA incelemesinin ve sonuçlarının transplantasyon planlaması üzerindeki etkisinin altını çizmeyi hedeflemekteyiz.

**Yöntem:** Çalışmamızda Ocak 2017 ile Kasım 2022 tarihleri arasında 496 böbrek verici adayına uygulanan renal MDBTA tetkiki retrospektif olarak değerlendirdi. Her iki böbreğin boyutu ve parankim kalınlığı ölçüldü. Her iki taraf renal arter ve venin çapı, sayıları, varyasyonları, anomalileri tespit edildi. Renal ve diğer batin içi patolojiler belirlendi. Tüm bu değerlendirmelerin sonucunda böbrek nakline engel olan bulgular saptandı. Böbrek nakli için donör adaylarının preoperatif değerlendirilmesinde MDBTA bulguları ve bu bulguların cerrahi yaklaşımı ne oranda etkilediği belirlendi.

**Bulgular:** 496 böbrek verici adayının 273'ü erkek, 223'ü kadın idi. Verici adaylarının yaş aralığı 20-85 arasındaydı, yaş ortalaması ise 46,25±13,2 idi. 278 tanesi donör adayı olmuş, 218 aday çeşitli nedenler ile elenmiştir. Bunların 22 tanesi MDBTA'de tespit edilen bulgulara bağlı olarak donör olamamıştır. Nakile engel olan en sık MDBTA bulgusu ise bilateral böbrek taşı idi.

**Sonuç:** Renal transplant öncesi nakile engel olacak batin içi renal ve ekstrarenal patolojilerin değerlendirilmesi oldukça önemlidir. Renal MDBTA; canlı böbrek donörlerinin minimal invaziv, hızlı ve doğru bir şekilde değerlendirilmesini sağlar. Bu nedenle MDBTA renal transplantasyon öncesi değerlendirmede kullanımı gittikçe yaygınlaşan bir görüntüleme yöntemidir.

**Anahtar Kelimeler:** Donör nefrektomi, multi-dedektör bilgisayarlı tomografi anjiyografi, renal transplantasyon

\*Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: Kagan Gokce; Icmeler Mahallesi, Aydinli Yolu Caddesi, Okan Üniversitesi Tıp Fakültesi Arastirma ve Uygulama Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, No: 2, 34947 Tuzla-Istanbul, Türkiye.

Phone/Telefon: +90 (532) 581 05 90 e-mail/e-posta: kagangokce2023@gmail.com

Submitted/Başvuru: 31.12.2023

Accepted/Kabul: 14.02.2024

Published Online/Online Yayın: 29.02.2024

## Introduction

The gold standard treatment for end-stage renal failure is kidney transplantation.<sup>1</sup> It can be performed from a deceased human source or a living donor. Graft survival in renal transplantation from a living donor is higher than in transplantation from a deceased person. Since organ donations from deceased humans are scarce in our country, kidney transplants from living donors have tended to increase in recent years.<sup>2</sup> The presence of active infection, incurable malignant diseases, alcohol and drug addiction are absolute contraindications for kidney transplantation. Kidney transplantation can be done in people over the age of 60, but transplantation in patients over the age of 70 is a matter of debate.<sup>3</sup> Radiological imaging plays an important role in the evaluation of living donor candidates before kidney transplantation. Conventional renal angiography has been used to date in the anatomical evaluation of renal arteries. Intravenous Pyelography (IVP) has been used for many years to evaluate the renal parenchyma and collect urinary system.<sup>4</sup> Conventional angiography is an invasive procedure. However, it also carries risks of complications and side effects due to invasive intervention and high-dose contrast material use. As a result of technological developments in Computed Tomography (CT), the Renal Multidetector Computed Tomography Angiography (MDCTA) technique has been developed. Renal MDCTA imaging has replaced invasive angiography and IVP in pre-transplant donor evaluation.<sup>5-6</sup> With four-phase multiplanar MDCTA, the anatomy, vascular and nonvascular pathologies, and anomalies of both kidneys can be detected. In addition, extrarenal and other intra-abdominal pathologies can be easily distinguished. MDCTA provides guidance in surgical planning before donor nephrectomy surgery and significantly reduces the risk of surgical complications. Due to the absence of ionizing radiation, Magnetic Resonance (MRI) imaging can give insight into the anatomy and vascular structure of the kidneys. In the literature, studies comparing non-contrast MR Angiography (MRA) and renal MDCTA have found high diagnostic accuracy rates of MRA examination in showing vascular anatomy.<sup>7-9</sup>

However, due to its inability to rule out possible urinary system stones and the higher number of respiratory artifacts compared to MDCTA, it is not preferred in imaging before kidney transplantation unless necessary.<sup>10</sup>

In kidney transplants from living donors where nephrectomy is planned, full consent of the donor must be obtained and potential risks must be explained to the donor candidate. In addition, absolute contraindications that may prevent the donor from becoming a donor should be excluded.<sup>11</sup> After these conditions are met, the purpose of preoperative evaluation of the living donor is to evaluate the anatomy of the donor's kidneys and measure their size and parenchymal thickness. The presence of any mass lesion in the kidneys or the presence of stones in the urinary system is investigated. It is aimed to evaluate the arteries and veins of both

kidneys, to investigate collecting system anomalies, and to determine whether there are variations related to these anatomical structures. Findings identified by renal MDCTA performed in appropriate phases are highly visualized.<sup>12</sup>

In this study, we aimed to determine the frequency of renal and extrarenal pathologies detected by renal MDCTA before transplantation and to what extent these pathologies affect the person's ability to become a donor and the surgical approach.

## Methods

A total of 496 cases who applied to our hospital as kidney transplant donor candidates and underwent MDBTA examination between January 2017 and November 2022 were retrospectively screened. Demographic data of the cases were obtained from the hospital's electronic record system. Examinations were obtained on 64-slice CT (Optima CT 660, General Electric Medical Systems, Milwaukee, Wisconsin, USA). Water-soluble non-ionic intravenous (i.v.) contrast substance (350 mg/ml) was administered with an automatic double-injector system at a dose of 1 ml/kg at a speed of 4-5 ml/s through an 18-gauge cannula placed in the antecubital vein. Bolus monitoring technique and i.v. contrast substance scheduling was made. Thin-section axial images of the abdomen were taken, starting from the celiac artery origin of the suprarenal aorta to the distal part of both common iliac arteries. Two- and three-dimensional images were created from these images using Maximum Intensity Projection (MIP) and Volume Rendering Technique (VRT). Renal MDCTA examination was performed in four phases.

The first phase (non-contrast phase) is a thin-section multiplanar examination aimed at evaluating kidney dimensions, parenchymal thickness and structure, presence of stones, and possible additional pathologies. Craniocaudal and transverse dimensions and parenchymal thicknesses of both kidneys were measured on sagittal images of this phase.

The second phase (arterial or corticomedullary phase) visualizes the abdominal aorta and its branches in three dimensions throughout the entire course of the renal arteries, starting from the aortic ostium, within 25-30 seconds after contrast substance administration. This phase is used to detect possible renal artery anomalies and their variations and to evaluate renal parenchymal contrast enhancement. Renal artery diameters were measured using axial MIP sections of this phase. Branching of the renal arteries 2 centimeters (cm) from the orifice; considered early branching. In the presence of more than one renal artery that was separated from the aorta by a separate orifice and extended to the kidney, the larger diameter was called the main renal artery and the others were called accessory renal arteries. The accessory renal artery originates from the aorta; If it enters the hilus, it is called accessory hilar artery, if it enters the upper pole, it is called upper polar

artery, and if it enters the lower pole, it is called lower polar artery.

The third phase (venous-nephrographic phase) was used to evaluate the renal veins and other abdominal structures 65-75 seconds after the administration of the contrast substance. If there is more than one renal vein on both sides; This condition has been defined as an accessory renal vein. Anatomical course anomalies of the left renal vein by its position relative to the aorta; They were evaluated and named as preaortic, retroaortic, and circumaortic.

The fourth phase (late phase-pyelographic phase) was used to evaluate the collecting system and filtering functions of the kidneys 5-10 minutes after contrast substance administration.

MDCTA images were examined and evaluated in detail by a single radiologist (D.D.) experienced in abdominal radiology. Average craniocaudal and transverse dimensions and parenchymal thickness of bilateral kidneys were measured. The diameter, number, and anomalies of both renal arteries and veins were determined. Urinary and other intra-abdominal pathologies were identified within the abdominal sections.

### Statistical Analysis

SPSS 22.0 (SPSS for Windows, 2007, Chicago, US) was used for statistical analysis. Continuous variables with normal distribution are presented as mean±standard deviation. Statistical analysis for parametric variables was performed with Student's t-test. Qualitative variables were given as percentages and the correlation between categorical variables was investigated with the Chi-square test and Fisher's exact test. The statistical significance level was defined as  $p < 0.05$ .

### Results

The renal MDBTA examination, which was registered in our hospital's Picture Archiving and Communication System (PACS) and performed on 496 kidney donor candidates between January 2017 and November 2022, was evaluated retrospectively by a single radiologist (D.D.). 273 of the cases were male (55%) and 223 were female (45%). The age range was 20-85, the overall average age was  $46.25 \pm 13.2$ . The average age by gender was  $48.36 \pm 12.72$  for females and  $44.53 \pm 13.35$  for males ( $p = 0.01$ ).

The mean craniocaudal length of the right kidney was  $105.73 \pm 10.218$  millimeters (mm) in females and  $108.31 \pm 9.163$  mm in males ( $p = 0.003$ ). The average right kidney transverse length was  $46.06 \pm 5.318$  mm in females and  $48.07 \pm 5.73$  mm in males ( $p < 0.01$ ). The average parenchymal thickness of the right kidney was  $16.95 \pm 2.634$  mm in females and  $17.63 \pm 2.766$  mm in males ( $p = 0.005$ ), the average craniocaudal length of the left kidney was  $105.76 \pm 10.415$  mm in females and  $111.10 \pm 9.712$  mm in males ( $p < 0.01$ ). The average left kidney transverse length was  $45.69 \pm 5.337$  mm in females

and  $48.63 \pm 6.080$  mm in males ( $p < 0.01$ ), the average left kidney parenchymal thickness was  $17.07 \pm 2.516$  mm in females and  $17.73 \pm 2.586$  mm in males ( $p < 0.01$ ) (Table 1). The mean diameter of the right renal artery was  $5.80 \pm 1.076$  mm in females and  $6.13 \pm 1.323$  mm in males ( $p = 0.003$ ). The mean diameter of the right renal vein was  $9.70 \pm 2.105$  mm in females and  $9.90 \pm 2.227$  mm in males ( $p = 0.329$ ). The mean diameter of the left renal artery was  $6.01 \pm 0.96$  mm in females and  $6.38 \pm 1.323$  mm in males ( $p < 0.001$ ). The mean diameter of the left renal vein was  $8.43 \pm 2.401$  mm in females, and  $8.67 \pm 2.577$  mm in males ( $p = 0.297$ ) (Table 2).

Right renal artery variation was detected in 40 females (17.9%) and 64 males (23.4%) ( $p = 0.134$ ). Lower polar artery variation was detected in 5 of the female donor candidates, an upper polar artery in 16, an accessory hilar artery in 16, 4 renal artery variations in 2, and 3 renal artery variations in 1 female donor candidate. Lower polar artery variation was detected in 5 male donor candidates, upper polar artery variation in 20, accessory hilar artery variation in 32, 4 renal artery variations in 2, and 3 renal artery variations in 5 male donor candidates. Left renal artery variation was detected in 48 women (21.5%) and 78 men (28.6%) ( $p = 0.073$ ). Upper polar renal artery variations were detected in 13 of the female cases, accessory hilar in 24, lower polar in 8, and 3 renal artery variations in 3 of them. Accessory hilar artery variation was detected in 34 of the male cases, an upper polar artery in 22, a lower polar artery in 17, 3 renal artery variations in 3, and 4 renal artery variations in 2 male donor candidates.

Early branching variation was detected in 35 (15.7%) of females and 42 (15.4%) of males.

Right renal vein variation was detected in 21 females (9.4%) and 41 men (15%) ( $p = 0.061$ ). In females, 1 ovarian vein draining into the right renal vein, 1 with 3 renal vein variations, and 19 with double renal vein variations were detected. 35 of the males had double renal veins, 3 had 3 renal veins, 1 had a renal vein flowing into the iliac vein, 1 had 4 renal veins, and 1 had double inferior vena cava and accompanying double renal vein variation.

Left renal vein variation was detected in 24 females (10.8%) and 37 males (13.6%) ( $p = 0.346$ ). Lumbar vein draining into the renal vein in 8 of the female cases, retroaortic left renal vein in 7, double renal vein variation and accompanying lumbar vein anomaly draining into the left renal vein in 1, and compression of the left renal vein between the Superior Mesenteric Artery (SMA) and Aorta (Nutcracker Syndrome) in 4, double renal vein and ovarian vein variation flowing into the left renal vein were detected in 1 patient, double renal vein one of which had a retroaortic course, and double renal vein variation was detected in 2 patients. Double renal vein was detected in 11 of the male cases, retroaortic left renal vein in 12, lumbar vein variation flowing into the renal vein in 10, and compression of the left renal vein between SMA and Aorta (Nutcracker Syndrome) variation in 4.

Right kidney pathology was detected in 35 (15.7%) of female kidney donor candidates and 54 (19.8%) of male

kidney donor candidates ( $p=0.238$ ). Kidney stones were detected in 13 of the female cases, kidney cysts in 18 females, a cyst in one kidney and angiomyolipoma in the other kidney in 1 female, kidney stones and angiomyolipoma in 1 female, rotation anomaly in 1 female, and only angiomyolipoma in 1 female. Of the

male cases, 20 had kidney stones, 26 had kidney cysts, and 5 had kidney cysts and stones together. A Horseshoe kidney was detected in 1 male, a distal ureter stone was detected in 1 and angiomyolipoma was detected in 1 male.

**Table 1.** Mean age by gender, mean dimensions and mean parenchymal thickness of both kidneys

Table 1	Female	Male	p
Mean Age	48.36±12.722	44.53±13.358	=0.001
Right kidney craniocaudal dimension	105.73±10.218 mm	108.31±9.163 mm	=0.003
Right kidney transverse dimension	46.06±5.318 mm	48.07±5.730 mm	<0.001
Right kidney parenchymal thickness	16.95±2.634 mm	17.63±2.766 mm	=0.005
Left kidney craniocaudal dimension	105.76±10.415 mm	111.10±9.712 mm	<0.001
Left kidney transverse dimension	45.69±5.337 mm	48.63±6.080 mm	<0.001
Left kidney parenchymal thickness	17.07±2.516 mm	17.73±2.586 mm	=0.005

**Table 2.** Mean diameter of bilateral renal arteries and veins by gender

Table 2	Female	Male	p
Mean diameter of right renal artery	5.80±1.076 mm	6.13±1.323 mm	=0.003
Mean diameter of right renal vein	9.70±2.105 mm	9.90±2.227 mm	=0.329
Mean diameter of left renal artery	6.01±0.964 mm	6.38±1.323 mm	<0.001
Mean diameter of left renal vein	8.43 ±2.401 mm	8.67 ±2.577 mm	=0.297

Left kidney pathology was detected in 34 females (15.2%) and 55 males (20.1%) ( $p=0.157$ ). Kidney stones were detected in 12 of the female kidney donor candidates, kidney cysts in 17, kidney stones and accompanying cysts in 4, and angiomyolipoma in 1. Kidney stones were detected in 14 of the male kidney donor candidates, kidney cysts in 34, kidney stones and cysts in 6, microcalculi, and an accompanying solid lesion in 1 male. Collecting system pathology was detected in 9 females (4%) and 12 males (4.4%) ( $p=0.843$ ). Bilateral pelvicalyceal ectasia was detected in 3 of the female cases, bilateral extrarenal pelvis variation in 2, unilateral pelvicalyceal ectasia in 3, and bilateral dilated extrarenal pelvis variation in 1. 3 of the male cases had unilateral pelvicalyceal ectasia, 2 had bilateral pelvicalyceal ectasia, 2 had bilateral extrarenal pelvis variation, 1 had bilateral extrarenal pelvis and accompanying pelvicalyceal ectasia, 1 had a double collecting system on the left, 1 had an ectopic pelvic kidney variation on the left and 1 had double left pelvic kidney variation. Collecting system and accompanying pelvicalyceal ectasia were detected on the right side and ureteropelvic stenosis variation was detected on the left in 1 of the male cases. Other intra-abdominal additional pathologies were detected in 92 (41.3%) of females and 93 (34.1%) of males ( $p=0.1$ ). Hepatosteatosi in 33 of the female cases, hepatosteatosi and accompanying hepatomegaly in 6, umbilical hernia in 15, liver cyst in 7, liver hemangioma in 5, splenomegaly in 4, cholelithiasis in 3, adrenal adenoma in 2, adrenal lipoma in 1, mesenteric panniculitis in 4. appearance 1 with a giant mass originating from the uterus, 1 with a uterine myoma, 2 with an ovarian cyst, 1

with hepatosteatosi and accompanying hemangioma, 2 with hepatosteatosi and accompanying adrenal adenoma, 2 with hepatosteatosi and splenomegaly, 2 with adrenal adenoma and cholelithiasis, in another one hemangioma, hepatosteatosi and cholelithiasis were detected in the liver. Among the male cases, 45 had hepatosteatosi, 10 had hepatosteatosi and accompanying hepatomegaly, 3 had umbilical hernia, 1 had umbilical hernia and associated hepatosteatosi, 9 had liver cysts, 3 had liver cysts associated with gallbladder stones, hepatosteatosi and hepatomegaly in 2, cholelithiasis in 7, hepatosteatosi and accompanying liver hemangioma in 2, hepatosteatosi and accompanying adrenal adenoma in 5, mesenteric panniculitis in 2, splenomegaly in 2 and Ankylosing Spondylitis findings in the bone structures in 1 (Table 3). Of the 496 kidney donor candidates in the study, 278 were able to become donors. 218 candidates were eliminated for various reasons. According to MDCTA findings, the number of patients eliminated was 22, and 15 of them had bilateral kidney stones (Figure 1). One of them had left nephrolithiasis and accompanying proteinuria, one had 3 bilateral renal arteries (Figure 2), one had bilateral fine-calibrated double renal arteries and veins, and one had 3 renal arteries on the right and double renal arteries on the left and early branching variation (Figure 3). One case was eliminated because of multiple kidney cysts, one had a right kidney stone and a double retroaortic renal vein on the left, and one had a gynecological tumor (Figure 4).

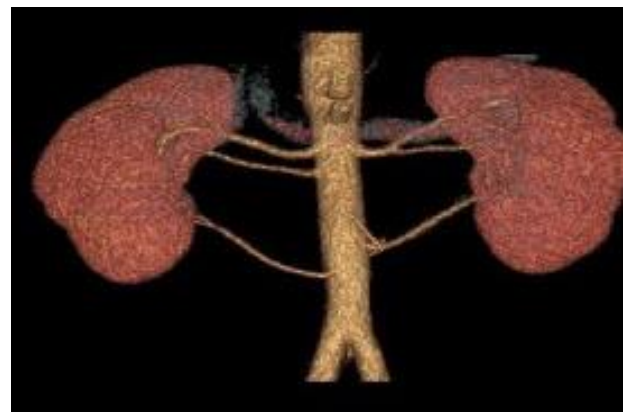


**Table 3.** The incidence of renal artery and vein variations, renal pathologies, collecting system pathologies, and other intra-abdominal pathologies according to gender

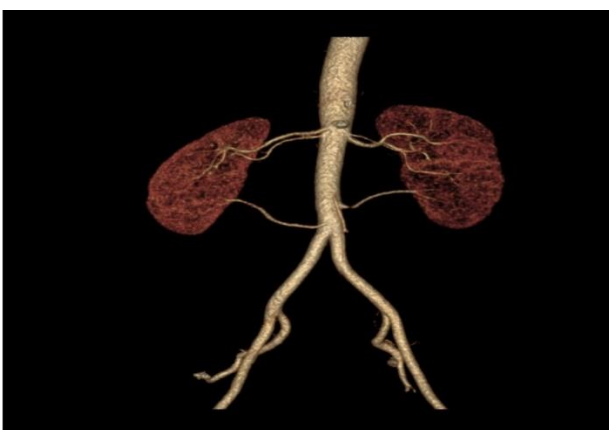
		Female	Male	p
Right renal artery variation	Negative	183(82.1%)	209(76.6%)	=0.134
	Positive	40(17.9%)	64(23.4%)	
Left renal artery variation	Negative	175(78.5%)	195(71.4%)	=0.073
	Positive	48(21.5%)	78(28.6%)	
Right renal vein variation	Negative	202(90.6%)	232(85%)	=0.061
	Positive	21(9.4%)	41(15%)	
Left renal vein variation	Negative	199(89.2%)	236(86.4%)	=0.346
	Positive	24(10.8%)	37(13.6%)	
Right kidney pathology	Negative	188(84.3%)	219(80.2%)	=0.238
	Positive	35(15.7%)	54(19.8%)	
Left kidney pathology	Negative	189(84.8%)	218(79.9%)	=0.157
	Positive	34(15.2%)	55(20.1%)	
Collecting system pathology	Negative	214(96%)	261(95.6%)	=0.843
	Positive	9(4%)	12(4.4%)	
Additional intra-abdominal pathology	Negative	131(58.7%)	180(65.9%)	=0.1
	Positive	92(41.3%)	93(34.1%)	
Total		223(100%)	273(100%)	



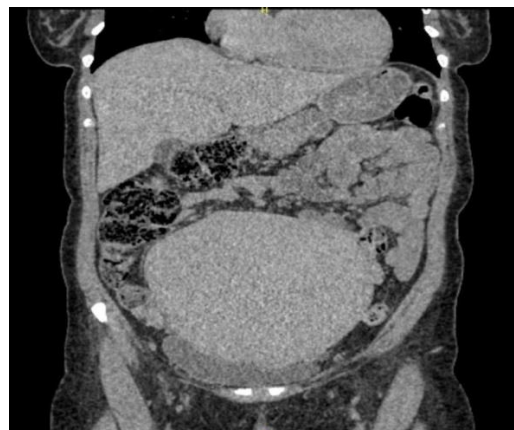
**Figure 1.** Bilateral kidney stones (blue arrows) in non-contrast axial MDCTA examination



**Figure 3.** Three-dimensional Volume Rendered Technique (VRT) imaging shows 3 renal arteries on the right and double renal arteries on the left, with variation and early branching



**Figure 2.** In the three-dimensional Volume Rendered Technique (VRT) review; bilateral three renal artery variations



**Figure 4.** Giant mass thought to originate from the uterus (white arrow) on coronal non-contrast CT scan

Other reasons for exclusion in the evaluation of donor nephrectomy are the kidney recipient being found to be at immunological risk, the kidney recipient being found to be at cardiovascular risk, other diseases detected in

the recipient, blood group incompatibility, detection of proteinuria, hypertension, diabetes, malignancy, cardiovascular diseases in the donor candidate, the ethics committee not approving transplantation, and the donor candidate gives up on transplantation. In a total of 203 kidney transplant operations performed without complications, left laparoscopic donor nephrectomy was performed, and in the other 75 operations, laparoscopic right donor nephrectomy was performed. When choosing the side of the surgeries; MDBTA review results played an important role in the decision-making process.

## Discussion

In patients whose chronic renal failure has become irreversible, when the glomerular filtration rate drops below 15 milliliters/minute/1.73 square meters, these patients are evaluated for dialysis and kidney transplantation. The transplant success rate is higher in patients who have the chance to undergo transplantation without dialysis.<sup>13-14</sup> Laparoscopic donor nephrectomy from a living donor was first performed by Ratner in 1995 and subsequently became widespread rapidly. This practice has started to be implemented in our country since the year 2000.<sup>15-16</sup> Nowadays, with the increasing success of immunosuppressive treatment, graft survival rates are over 90% thanks to technical developments such as laparoscopic surgery. Kidney transplantation is the gold standard treatment for kidney failure. Since organ donations from deceased persons are low, kidney transplantation from living donors is more prominent in some countries like ours.<sup>17</sup> During donor nephrectomy, the donor should be protected as much as possible and the risks of mortality and morbidity should be reduced. Studies have shown that the Laparoscopic Donor Nephrectomy (LDN) procedure takes longer than the open operation, and has a longer warm ischemia time, but has similar results in terms of perioperative complications and long-term complications.<sup>18-19</sup> Therefore, LDN is the most commonly performed surgical method today.<sup>20</sup>

Having knowledge about renal anatomy and vascular structure in the preoperative period is guiding in terms of surgical planning. In particular, examining the vascular structures of both kidneys of donor candidates is decisive in determining which side of the kidney will be selected for nephrectomy. In addition, it greatly reduces the risk of complications that may occur during dissection during donor nephrectomy surgery.<sup>21</sup>

Renal MDCTA, performed in four phases with appropriate technique, is the most common imaging method used for this purpose today. First of all, in the thin-section imaging performed in the non-contrast phase, the localization of both kidneys, their dimensions, and parenchymal thickness are measured, and lesions such as stones and crystalloids, if any, can be distinguished. Renal vascular anatomy is evaluated in detail in the arterial and venous phases. In particular, the presence of more than one renal artery and vein, the presence of accessory and renal polar arteries, and the

presence, of course, anomalies of the renal vein such as retroaortic, circumaortic, and left renal vein opening into the lumbar vein are displayed. Renal cysts, the most common kidney mass, appear as homogeneous hypodense lesions with smooth contours that do not enhance contrast in the arterial and venous phases and can be easily distinguished from mass lesions such as angiomyolipoma, oncocytoma, and renal cell carcinoma. In the late phase; It can be evaluated whether there are anomalies in the collecting system such as ureteropelvic stenosis and ureteral dilatation. Evaluating all the findings together provides guidance on which side, right or left, will be chosen for donor nephrectomy.<sup>22</sup>

If there is more than a 2 cm difference between kidney sizes on imaging, it should be considered that there may be a significant difference in glomerular filtration rates. Radioisotope renography (Tc99m-MAG3) can be performed when necessary to evaluate the function of both kidneys. If a difference of 10% or more is detected between kidney functions, the kidney with lower function can be planned to be removed, but this usually prevents acceptance as a donor.<sup>23-24</sup>

Preoperative evaluation of vascular anatomy is extremely important. The presence of multiple renal arteries and veins does not constitute a contraindication for donor nephrectomy. However, preoperative knowledge of these vascular variations is very important in preventing possible complications. In approximately 25% of cases, more than one vessel is seen in one kidney, and in 7% of cases, more than one vessel is seen in both kidneys. If there is no other obstacle, the removal of a kidney with a single artery and a single vein should be preferred to minimize the risk of complications. Due to the length of the vein, the preference for donor nephrectomy is the left kidney. Due to the short vein in the right kidney, mechanical complications such as renal vein thrombosis are more common.<sup>23,25</sup>

Preoperative evaluation should also be performed carefully in the presence of kidney stones. If stones are detected in both kidneys, the person cannot be a candidate for donor nephrectomy. However, non-symptomatic stones under 1.5 cm in diameter in a single kidney are not an obstacle for donor nephrectomy. Planning should be done so that the kidney without stones remains in the donor.<sup>26-27</sup>

Simple cystic structures of the kidney detected in preoperative evaluation do not prevent becoming a donor. Kidney transplantation can be performed with cystic structure. Again, while benign masses such as angiomyolipoma under 4 cm do not prevent donation, mass lesions in the kidney over 4 cm are generally not suitable for donor nephrectomy. However, donor nephrectomy may be considered if there is a mass that can be removed ex-vivo.<sup>10,17</sup> Kidney transplantation may be a possibility if ex-vivo partial nephrectomy can be performed in incidentally detected early-stage renal cell cancers.<sup>11,22</sup>

Both renal arteries originate from the aorta just after the superior mesenteric artery at the level of L1-L3 vertebrae. In most cases, there is a single renal artery

bilaterally. It is approximately 4-6 cm long and 5-6 mm in diameter. Depending on the location of the renal hilus, they show a lateral and posterior course and enter the hilus from the posterior of the renal vein. The right renal artery originates from the anterolateral aspect of the aorta, while the left renal artery originates from the aorta more superior to the right.<sup>28</sup> Transient mesonephritic arteries that develop during the embryological period and do not disappear afterward cause renal artery variations. Renal artery variations are named accessory, hilar, upper polar, lower polar, aberrant, and early branching according to their number, origin, branching pattern, and entry into the kidney. These variational conditions in the renal arteries often do not cause clinical findings. It is detected incidentally in radiological imaging. However, sometimes thin and tortuous accessory renal arteries can cause perfusion disorders in the kidney and resistant hypertension. If the inferior polar artery causes compression as it courses in front of the ureteropelvic junction, hydronephrosis may occur. Accessory renal arteries may be injured during renal biopsy or kidney surgery, and conditions such as bleeding and ischemia necrosis may occur. Evaluating the donor's vascular structure, especially before renal transplant, is very important in this respect.<sup>29</sup> In the donor nephrectomy operation, the renal artery incision should be made 1.5-2 cm distal to the aortic origin to control bleeding easily and to make the anastomosis suitable for the recipient. Therefore, it is very important to identify any possible premature branching of the main renal artery preoperatively.<sup>30</sup>

Renal vein anomalies and variations are much less common than renal arteries. Multiple renal veins are the most common renal vein variation, they are more common in the right kidney and are between 15-30% of the whole population.<sup>31</sup> Each kidney usually has one renal vein, which drains into the inferior vena cava. The right renal vein is shorter than the left. Therefore, the left kidney is usually chosen. At the entrance location to the Inferior Vena Cava (IVC), the average diameter of the left renal vein is 12.3±1.41 mm, while the right renal vein is 10.9±1.56 mm wide. Multiple renal veins bilaterally, circumaortic, or retroaortic renal vein on the left may be seen. The left renal vein normally passes in front of the aorta and flows into the IVC. If the left renal vein passes posterior to the aorta and flows into the inferior vena cava, it is called a retroaortic course. If it divides into branches passing in front and behind the aorta and extends to the inferior vena cava, it is called the circumaortic renal vein. These variations do not pose an obstacle to LDN. However, the risk of thrombosis of the retroaortic left renal vein is high and it is important to know it in the preoperative period as there is a risk of injury during surgery.<sup>32</sup> The circumaortic left renal vein becomes compressed between the aorta and SMA, or the retroaortic left renal vein becomes compressed between the aorta and the vertebral body, causing the Nutcracker Phenomenon. Increased pressure in the left renal vein causes rupture in the thin-walled renal veins, which may cause clinical findings such as hematuria, orthostatic

proteinuria, and increased pressure in the gonadal veins may cause clinical findings such as pelvic congestion, left varicocele, and flank pain.<sup>33</sup> Urinary system anomalies and collecting system anomalies may be asymptomatic or may lead to renal failure.<sup>34</sup> In the pyelographic phase, which is the late phase; the renal pelvis, calyces, and ureter anatomy are evaluated and anomalies such as hydronephrosis, ureteropelvic stenosis, and double collecting system are detected.<sup>35</sup> It is possible to detect renal artery and vein variations accurately and quickly with renal MDCTA. At the same time, MDCTA provides information about renal function, urinary system variations and pathologies, and other intra-abdominal pathologies.<sup>36-38</sup> Renal MDCTA performed with appropriate technique; is superior to other radiological modalities in the evaluation of living kidney donors.<sup>39</sup> With a single radiographic imaging, renal vascular and nonvascular anatomy, and other intra-abdominal organs can be evaluated quickly and accurately. For this reason, it is an imaging method that is increasingly used routinely.<sup>40</sup>

### Conclusion

MDCTA can be applied as radiological imaging alone to determine suitable candidates before donor nephrectomy operation and to predict the vascular variants that will be encountered perioperatively. Knowing the vascular variants before surgery is important data on which kidney will be received as a donor. Technically, taking the left kidney as a donor is more suitable from a surgical perspective. Although vascular variations are more prevalent on the right side, detailed information can be obtained with MDCTA and this information may enable the selection of the right side in donor nephrectomy operation. MDCTA alone is an ideal radiological examination modality that can be used safely before donor nephrectomy surgery, as it provides detailed information about renal parenchyma and size, collecting urinary system and other intra-abdominal pathologies, as well as vascular and urinary variations.

### Compliance with Ethical Standards

The study was performed after obtaining the necessary ethics committee permission and institutional approval were received from Istanbul Okan University Non-Invasive Clinical Research Ethics Committee at the meeting numbered 169 on 18/10/2023 with decision number 14.

### Conflict of Interest

The authors declared no conflicts of interest with respect to the authorship and/or publication of this article.

### Author Contribution

All authors contributed equally to the article.

### Financial Disclosure

The authors received no financial support for the research and/or authorship of this article.

## References

1. Roi GS, Mosconi G, Totti V, et al. Renal function and physical fitness after 12-mo supervised training in kidney transplant recipients. *World Journal of Transplantation*. 2018;8(1):13-22. doi:10.5500/wjt.v8.i1.13
2. Atlı E, Kılınçer A, Uyanık S, et al. Renal computed tomography angiography protocol and radiation dose in kidney transplant donors. *Kocatepe Medical Journal*. 2021;22(5):321-325. doi:10.18229/kocatepetip.786155
3. Melandro F, Del Turco S, Ghinolfi D. Age disparities in transplantation. *Current Opinion in Organ Transplantation*. 2021;26(5):536-541. doi:10.1097/mot.0000000000000906
4. Kaynan AM, Rozenblit AM, Figueroa KI, et al. Use of spiral computerized tomography in lieu of angiography for preoperative assessment of living renal donors. *The Journal of Urology*. 1999;1769-1775. doi:10.1097/00005392-199906000-00006
5. Pozniak MA, Lee FT. (1999) 'Computed tomographic angiography in the preoperative evaluation of potential renal transplant donors. *Current Opinion in Urology*. 1999;9(2):165-170. doi:10.1097/00042307-199903000-00011
6. Alfrey EJ, Rubin GD, Kuo PC, et al. The use of spiral computed tomography in the evaluation of living donors for kidney TRANSPLANTATION1. *Transplantation*. 1995;59(4):643-645. doi:10.1097/00007890-199559040-00037
7. Li X, Xia F, Chen L, Zhang X, Mo C, Shen W. One-stop preoperative assessment of renal vessels for living donors with 3.0 T non-contrast-enhanced magnetic resonance angiography: Compared with computerized tomography angiography and surgical results. *The British Journal of Radiology*. 2021;94(1128). doi:10.1259/bjr.20210589
8. Israel GM, Lee VS, Edey M, et al. Comprehensive MR imaging in the preoperative evaluation of living donor candidates for laparoscopic nephrectomy: Initial experience. *Radiology*. 2002;225(2):427-432. doi:10.1148/radiol.2252011671
9. Gurkan A, Varılsuha C, Eren S, et al. The diagnostic value of the spiral computed tomographic angiography in the evaluation of renal transplant donors. *Klinik ve Deneysel Cerrahi Dergisi*. 2000;8(4):190-193.
10. Gluecker TM, Mayr M, Schwarz J, et al. Comparison of CT angiography with MR Angiography in the preoperative assessment of living kidney donors. *Transplantation*. 2008;86(9):1249-1256. doi:10.1097/tp.0b013e3181890810
11. Garg AX, Levey AS, Kasiske BL, Cheung M, Lentine KL. Application of the 2017 KDIGO guideline for the evaluation and care of living kidney donors to clinical practice. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2020;15(6):896-905. doi:10.2215/cjn.12141019
12. Yiğit B, Berber İ, Kara M, Tellioglu G, Akıncı O, Titz İ. Canlı böbrek vericisinin ameliyat öncesi incelemesinde 3-Boyutlu Spiral Tomografik Anjiyografinin Kullanımı. *Türk Nefroloji ve Transplantasyon Dergisi*. 2007;16(2):77-9.
13. Ersoy FF. Son dönem böbrek yetmezliğinde uygun diyaliz yönteminin seçimi. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*. 2005;(1):88-92.
14. Ertugrul G. Böbrek nakli yapılan hastaların retrospektif analizi. *Journal of Health Sciences and Medicine*. 2019;2.3:88-91.
15. Ratner LE, Ciseck LJ, Moore RG, Cigarroa FG, Kaufman HS, Kavoussi LR. Laparoscopic live donor nephrectomy. *Transplantation*. 1995;60(9):1047-1049.
16. Sen S, Özkahya M, Hoşçoskun C, Başdemir G. Sıfır saat biyopsilerde saptanan morfolojik bulgular ve erken dönemde greft fonksiyonuna etkisi. *Türk Nefrol Diyaliz Transplant Derg*. 2000;1:30-36.
17. Gürkan A, Kaçar S, Karaca C, Varılsuha C, Karaoğlan M, Başak K. Laparoscopic living donor nephrectomy a nation's first experiences. *Dialysis and Transplantation*. 2004;33(1):22-30.
18. Wilson CH, Sanni A, Rix DA, Soomro NA. Laparoscopic versus open nephrectomy for live kidney donors. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;(11):CD006124. doi:10.1002/14651858.CD006124.pub2
19. Erikoğlu M, Küçükartallar T, Çolak B, Tekin A. Laparoskopik Donör Nefrektomi: Erken Dönem Sonuçlarımız. *Endoskopik Laparoskopik & Minimal İnvaziv Cerrahi Dergisi*. 2011;18(4).
20. Gürkan A, Kaçar S, Başak K, Varılsuha C, Karaca C. Do Multiple renal arteries restrict laparoscopic donor nephrectomy? *Transplant Proc*. 2004;36(9):105-107.
21. Arer İ, Yabanoğlu H, Çalışkan K, ve ark. Böbrek Transplantasyon Donörlerinde Vasküler Farklılıklar ve Anastomoz Teknikleri. *Cukurova Medical Journal*. 2015;40(3):542-546.
22. Ghonge NP, Gadanayak S, Rajakumari V. MDCT evaluation of potential living renal donor, prior to laparoscopic donor nephrectomy: What the transplant surgeon wants to know? *Indian J Radiol Imaging*. 2014;24(4):367-378. doi:10.4103/0971-3026.143899
23. Andrews PA, Burnapp L. British Transplantation Society / Renal Association UK Guidelines for Living Donor Kidney Transplantation 2018: Summary of Updated Guidance. *Transplantation*. 2018;102(7):e307. doi:10.1097/TP.0000000000002253
24. Janki S, Dor FJ, IJermans JN. Surgical aspects of live kidney donation: an updated review. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2015;7(2):346-365. doi:10.2741/738
25. Wang K, Zhang P, Xu X, Fan M. Right Versus Left Laparoscopic Living-Donor Nephrectomy: A Meta-Analysis. *Exp Clin Transplant*. 2015;13(3):214-226.
26. Tatapudi VS, Goldfarb DS. Differences in national and international guidelines regarding use of kidney stone formers as living kidney donors. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2019;28(2):140-147. doi:10.1097/MNH.0000000000000480
27. Longo N, Calogero A, Creta M, et al. Outcomes of Renal Stone Surgery Performed Either as Predonation or Ex Vivo Bench Procedure in Renal Grafts from Living Donors: A Systematic Review. *Biomed Res Int*. 2020;2020:6625882. doi:10.1155/2020/6625882
28. Stojadinovic D, Zivanovic-Macuzic I, Szadanovic P, et al. Concomitant multiple anomalies of renal vessels and collecting system. *Folia Morphol (Warsz)*. 2020;79(3):627-633. doi:10.5603/FM.a2019.0108
29. Leslie SW, Sajjad H. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Renal Artery. *Europe PMC, StatPearls Publishing LLC*. 2022. PMID:2908326, Bookshelf ID: NBK459158.
30. Tatar I, Töre HG, Çelik H, Karcaaltınbaca M. Retroaortic and circum-aortic left renal veins with their CT findings and review of the literature. *Anatomy*. 2008;2(1):72-76.
31. Çınar C, Türkvatan A. Prevalence of renal vascular variations: Evaluation with MDCT angiography. *Diagn Interv Imaging*. 2016;97(9):891-897. doi:10.1016/j.diii.2016.04.001

32. Abrams HL. Renal venography. In: Abrams HL (ed) Abrams angiography, 2nd ed. *Little Brown, Boston*.1983;1327-1364.
33. Aslan A, Barutca H, Kocaaslan C, Orman S, Şahin S. Pulsatile Mass Sensation with Intense Abdominal Pain; Atypical Presentation of the Nutcracker Syndrome. *Pol J Radiol*. 2016;28;(81):507-509. doi: 10.12659/PJR.898166
34. Ramanathan S, Kumar D, Khanna M, et al. Multi-modality imaging review of congenital abnormalities of kidney and upper urinary tract. *World J Radiol*. 2016;8(2):132-141. doi:10.4329/wjr.v8.i2.132
35. Turkvatan A, Olçer T, Cumhuri T. Multidetector CT urography of renal fusion anomalies. *Diagn Interv Radiol*. 2009;15(2):127-134.
36. Tombul ST, Aki FT, Gunay M, et al. Preoperative evaluation of hilar vessel anatomy with 3-D computerized tomography in living kidney donors. *Transplant Proc*. 2008;40(1):47-49. doi:10.1016/j.transproceed.2007.11.045
37. Hänninen EL, Denecke T, Stelter L, et al. Preoperative evaluation of living kidney donors using multirow detector computed tomography: comparison with digital subtraction angiography and intraoperative findings. *Transpl Int*. 2005;18(10):1134-1141. doi:10.1111/j.1432-2277.2005.00196.x
38. Öner S, Öner Z. Arteria Renalis Varyasyonları: Bir Multidetektör BT Anjiyografi Çalışması. *Kafkas J Med Sci*. 2019; 9(1):1-5.
39. Arvin-Berod A, Bricault I, Terrier N, et al. Évaluation préopératoire du nombre de vaisseaux chez le donneur de rein vivant. La TDM est-elle supérieure à l'IRM? [Preoperative assessment of renal vascular anatomy for donor nephrectomy: Is CT superior to MRI?]. *Prog Urol*. 2011;21(1):34-39. doi10.1016/j.purol.2010.05.013
40. Namasivayam S, Kalra MK, Small WC, Torres WE, Mittal PK. Multidetector row computed tomography evaluation of potential living laparoscopic renal donors: the story so far. *Curr Probl Diagn Radiol*. 2006;35(3):102-114. doi:10.1067/j.cpradiol.2006.02.005



## Derleme | Review

# PANKREAS DUKTAL ADENOKARSİNOMUNDA İLAÇ DİRENCİNİN MOLEKÜLER TEMELLERİ, *IN VITRO*, *EX VIVO* VE *IN VIVO* PREKLİNİK MODELLEMELER

## MOLECULAR BASIS OF DRUG RESISTANCE IN PANCREATIC DUCTAL ADENOCARCINOMA, *IN VITRO*, *EX VIVO* AND *IN VIVO* PRECLINICAL MODELS

Yağmur Kaya<sup>1\*</sup>, Ezel Bildik<sup>1</sup>, Hilal Koçdor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anadali, İzmir, Türkiye.



### Öz

Pankreas duktal adenokarsinomu (PDAK); tanı alındığında ileri evrelere ulaşmış olan, agresif seyirli bir malignitedir. 5 yıllık genel sağkalım oranı yalnızca %7'dir. Tümör mikroçevresinin spesifik özellikleri ve erken dönemde metastaz yapması da dahil birçok özelliği nedeniyle mortalite oranını düşürebilecek etkin bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Diğer solid tümörler ile karşılaştırıldığında, uygulanan terapötik rejimler PDAK'nin tedavi direnci nedeniyle çok daha etkisiz kalmaktadır. PDAK'nin kompleks tümör mikroçevresinin tümör progresyonuna sağladığı katkı ve bunun prelinik modellere yansıtılması, klinikte kullanılması amaçlanan yeni terapötik ajanların geliştirilebilmesi için önemlidir. Bu derlemede, PDAK'nin moleküler özellikleri, tümör mikroçevresi ve tedavi direncinin moleküler temelleri ele alınmış; uygulanması hedeflenen tedavilerin klinikteki uygulamadan önceki süreçleri olan *in vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* prelinik modellemelerden bahsedilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Pankreas kanseri, inflamasyon, prelinik modellemeler.

### ABSTRACT

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC); it is a malignancy with an aggressive course and poor prognosis. The 5-year overall survival rate is only 7%. Due to the specific characteristics of the PDAC microenvironment and early metastasis, there is no effective treatment method that can reduce the mortality rate. Compared to other solid tumors, the therapeutic regimens applied are much less effective due to the treatment resistance of PDAC. The contribution of the complex tumor microenvironment of PDAC to tumor progression and its reflection on preclinical models are important for the development of new therapeutic agents intended for clinical use. In this review, molecular features of PDAC, tumor microenvironment and molecular basis of treatment resistance are discussed, *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo* preclinical models, which are the processes before the targeted treatments are applied to the clinic, are mentioned.

**Keywords:** Pancreatic cancer, inflammation, preclinical models.

\*İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: Yağmur Kaya; Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anadali, İzmir, Türkiye.

Telefon/Phone: +90 (534) 706 46 00 e-posta/e-mail: [yağmur.kaya21@ogr.deu.edu.tr](mailto:yağmur.kaya21@ogr.deu.edu.tr)

Başvuru/Submitted: 16.08.2023

Kabul/Accepted: 21.12.2023

Online Yayın/Published Online: 29.02.2024



## Giriş

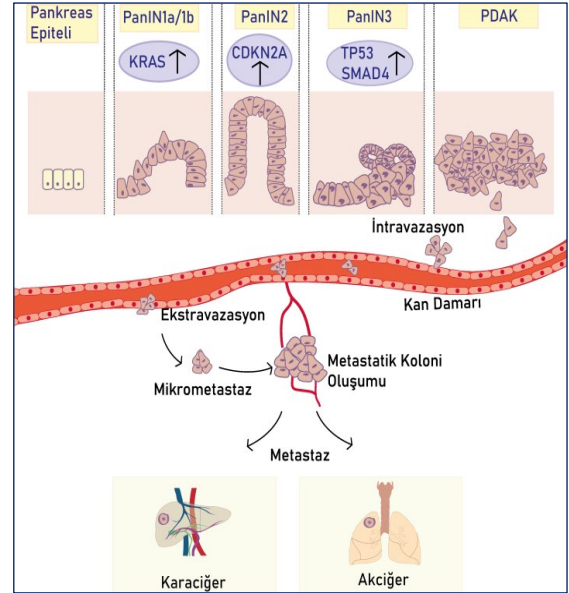
Pankreas duktal adenokarsinomu (PDAK); yoğun desmoplastik stroma ile karakterize edilen, agresif seyirli ve kötü prognoza sahip bir malignitedir. Dünya çapında kansere bağlı ölümlerin yedinci önde gelen nedenidir.<sup>1</sup> PDAK tedavisi hastalığın evresine göre seçilir ve cerrahi, kemoterapi, radyasyon tedavisi ve palyatif bakımı içerir. PDAK'ta halen en etkin tedavi yöntemi, rezeke edilebilir hastalar için cerrahi rezeksiyondur. Ancak cerrahi rezeksiyon uygulanmış olsa bile; hastaların %90'ında bir yıl içerisinde nüks görüldüğünden bazen cerrahi rezeksiyon uygulanabilir bir yöntem değildir.<sup>2</sup> Bu nedenle cerrahi sonrası kemoterapi hastalar için vazgeçilmez bir seçenek olsa da cerrahi rezeksiyonun ardından kısa süre sonra tedavi başlamadan hasta hayatını kaybeder.<sup>3</sup> Aynı zamanda tümörü rezeke edilemeyen PDAK hastaları tanı aldığında, hastalık ya lokal olarak ilerlemiş (%30) haldedir ya da uzak metastaz yapmıştır (%50). Pereiro & Chio tarafından 2020 yılında yapılan literatür taramasında, PDAK'nin primer tümör kitlesi oluşturmadan önce bile metastaz yapabileceği gösterilmiştir. Metastaz sonucunda farklı organlara yerleşmiş olan kanser hücreleri, invaze olduğu yerde klonal çeşitlilik gösterir ve uygulanan tedavilere karşı artan bir dirençle dormansi (tümörün büyümesini durdurması ve hareketsiz kalması) halinde bulunurlar.<sup>4,5</sup> PDAK'nin erken evrelerde asemptomatik olması, tümör mikroçevresinin özellikleri, erken metastaz yapma yeteneği ve kemoterapötik ajanlara karşı direnç geliştirerek standart tedavilere zayıf yanıt vermesi sağkalım oranının düşük olmasına ve nükse neden olur.<sup>6</sup> Bu derlemenin amacı; PDAK'nin karakterize edildiği spesifik özellikler ile birlikte tümör mikroçevresinin, epitelyal mezenkimal dönüşüm (EMT) sürecinin ve ilişkili sinyal yollarının metastazdaki önemini ele almaktır. Ek olarak tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde ilk basamak olan *in vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* modellemelerden söz edilecektir.

## Pankreas Duktal Adenokarsinomu'nda Genetik Değişiklikler

Ekzokrin ve endokrin fonksiyonlara sahip olan pankreas glandüler bir organdır.<sup>7</sup> Endokrin pankreasın fonksiyonel birimi olan Langerhans adacıkları, glikoz metabolizmasının kontrolünden sorumlu olan glukagon ve insülin gibi hormonları salgılayan  $\alpha$  ve  $\beta$  hücreleri içerir. Asiner hücrelerden ve duktal ağlardan oluşan ekzokrin pankreas lipaz, amilaz gibi sindirim enzimlerinin salgılanmasında görevlidir.<sup>8</sup>

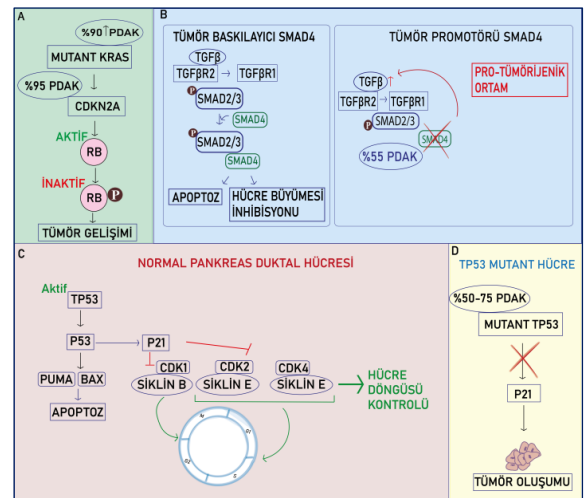
Pankreasın ekzokrin kısmından türeyen PDAK çok basamaklı genetik değişikliklerle karakterize edilir. PDAK'nin öncü lezyonu olan Pankreatik intraepitelyal neoplazi (PanIN), PanIN1a/b, PanIN2 ve PanIN3 olmak üzere üç evreden oluşur (Şekil 1).<sup>9</sup> Ras proteininin bir

izoformu olan KRAS onkogeni, PDAK'ta %90 oranında nokta mutasyonuna uğrar. Malign transformasyonun erken aşamalarında ortaya çıkar ve progresyonda başlatıcı mutasyon olarak kabul edilir. Mutant KRAS, PanIN2 evresinde tümör baskılayıcı gen olan CDKN2A, PanIN3 evresinde ise bir diğer tümör baskılayıcı gen olan SMAD4 ve genomun gardiyanı olarak adlandırılan TP53'de oluşan mutasyonlar ile birleşerek, PDAK'nin hızla ilerlemesinden sorumlu hale gelir.<sup>10,11</sup>



**Şekil 1.** Normal pankreas duktal epitel hücrelerinin, PanIN lezyonlarına ilerlemesi ve PDAK oluşumundan sonra yaygın metastaz gelişiminin şematik gösterimi.<sup>12</sup>

PDAK gelişiminde gördüğümüz bu erken lezyonların (PanIN), tümörögenез sürecinde rolü olan sinyal yollarında bazı spesifik değişikliklere sahip olduğu bilinmektedir (Şekil 2A).



**Şekil 2.** PDAK vakalarında görülen genetik değişiklikler şematize edilmiştir. Kanser hücrelerinin proliferasyonunda ihtiyaç duyulan Ras, PDAK gelişiminde anahtar görevi görür.

Mutant KRAS, CDKN2A mutasyonuna sebep olur ve kontrolsüz tümör gelişimini başlatır.<sup>13,14</sup>

Bu yollarda meydana gelen değişimler ve mutasyonlar da halihazırda karmaşık olan PDAK'ı daha kompleks hale getirir.<sup>15,16</sup> PanIN3 evresinde mutasyona uğrayan SMAD4, TGF-β yolu aracılığı ile sinyalizasyonda önemli rollere sahiptir. Standart TGF-β yolağı hücre büyümesi üzerinde güçlü inhibitör etkiye sahiptir. Bu yüzden, PDAK'nin erken aşamalarında hem apoptozu uyararak hem de epitel hücrelerde G1 fazında hücre döngüsünü durdurarak tümör baskılayıcı işlev görür. Diğer taraftan SMAD4, PDAK vakalarının %55'inde delesyona uğrayarak TGF-β'nin ekspresyonunu ve ekstraselüler matrikse (ECM) salınımını arttırarak protümörojenik bir ortam oluşturur (Şekil 2B).<sup>17,18</sup>

Normal hücrelerde hücre döngüsü kontrolünü sağlayan ve apoptozu indükleyen TP53 ise fonksiyonunu kaybettiğinde p21'i inhibe ederek hücrelerin sürekli proliferasyonuna sebep olur (Şekil 2C-D).<sup>17</sup>

PDAK'ta yaygın olarak gözlenen bu mutasyonların tanımlanması, PDAK moleküler biyolojisini anlamamızın yanı sıra, ihtiyaç duyduğumuz yeni terapötik yaklaşımların araştırılmasına da imkân sağlayacaktır. Araştırmalar PDAK'nin uzun yıllar içinde ortaya çıkan, daha erken tanı ve etkili tedaviye ihtiyaç duyan bir hastalık olduğunu göstermektedir. Genetik değişiklikler, PanIN'lerin ortaya çıkmasından ve PDAK oluşumundan önce gelmektedir.<sup>19</sup> PDAK'nin tümör heterojenitesine neden olan özelliklerinin hedeflenmesiyle ilgili çalışmalar geliştirildikçe, PDAK tedavisindeki ilerlemeler hızlanacaktır.

Epitelyal mezenkimal dönüşüm süreci (EMT), epitel hücrelerin invazyon ve metastaz yeteneği kazanmak amacıyla mezenkimal karaktere dönüşümüken, mezenkimal epitelyal dönüşüm süreci (MET) ise mezenkimal hücrelerin epitelyal karaktere dönüşme sürecidir.

PDAK'ta yüksek mortalitenin en önemli nedeni olan metastaz, TGF-β'nin EMT sürecini başlatmasıyla indüklenir (Şekil 3).<sup>20</sup>

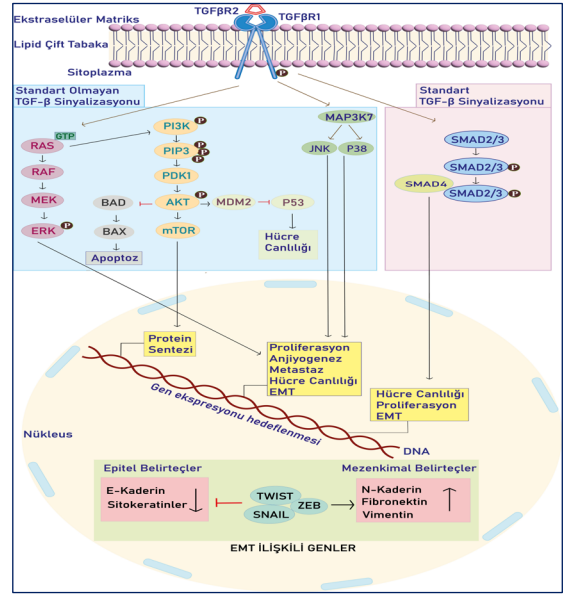
EMT ve MET süreçleri, PI3K/AKT, Notch ve WNT sinyalizasyonu da dahil olmak üzere birçok koordineli sinyal tarafından kontrol edilir ve KRAS, TP53, SMAD4 gibi genlerde meydana gelen mutasyonlar ile kolaylaşır.<sup>21</sup>

PDAK'ta metastaz çok basamaklı, kompleks ve çok hızlı bir süreçtir. Tümör hücrelerinin bazal membrana invaze olarak stromaya geçiş yeteneği kazanmasıyla başlar. Tümör hücreleri metastaz yapacağı organın parankimine invaze olmaya çalışırken, immün sistemden kaçarak kan dolaşımına geçer, akciğer ve karaciğer gibi uzak organlara yayılır.<sup>21-23</sup>

PDAK'ta mortalitenin yüksek olmasının diğer sebebi, EMT sürecinin çok erken evrelerde başlamasıdır.<sup>24</sup> Bu

sürecin başlamasını epitel belirteçlerin (E-kaderin, sitokeratin) kaybindan sonra mezenkimal belirteçlerin (N-kaderin, fibronektin, vimentin) kazanımı takip eder ve mezenkimal karaktere sahip hücrelerin migrasyonu desteklenir. Bu hücreler yapısı gereği, yüksek invazyon ve migrasyon yeteneğine, apoptozu karşı dirence ve ECM bileşenlerini normalden daha fazla eksprese etme kapasitesine sahiptir.<sup>25</sup>

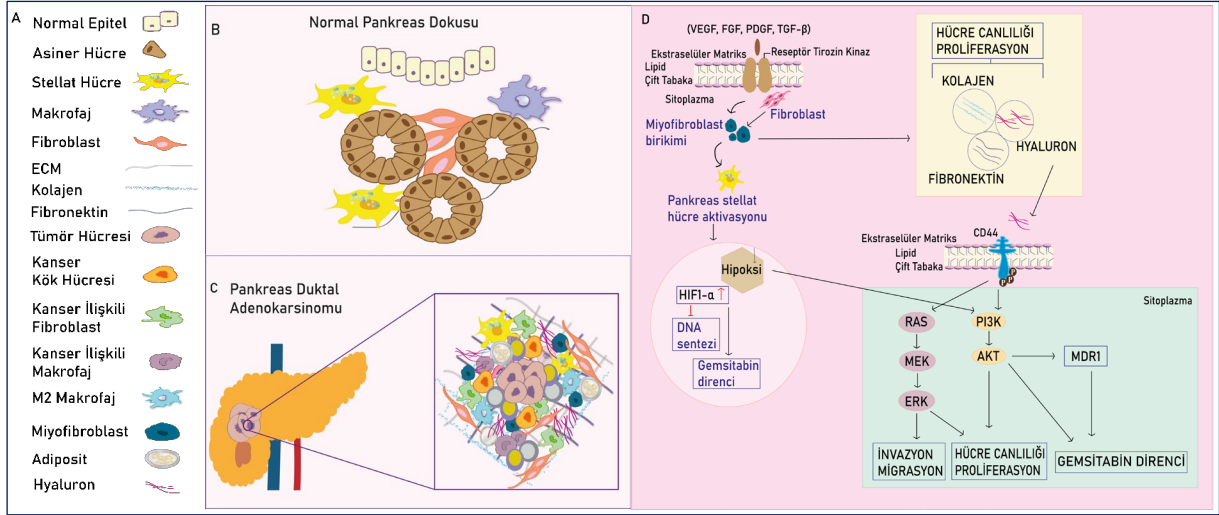
PDAK için E-kaderin ekspresyonunun azalması ile fibronektin ve vimentin ekspresyonlarının artması kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Kötü prognoz ise mortalite yüksekliğinin bir diğer önemli nedenidir.<sup>26</sup>



**Şekil 3.** PDAK gelişiminde standart ve standart olmayan TGF-β sinyal yolağı şematize edilmiştir. TGF-β'nin TGFβR2 reseptörüne bağlanmasıyla TGFβR1'nin fosforilasyonu uyarılır. Standart yolda SMAD2/3 proteinleri fosforile edilir ve SMAD4 ile kompleks oluşturularak; hücre canlılığı, proliferasyon ve EMT sürecine katkıda bulunur. Standart olmayan yolda ise TGF-β sinyali; RAS-RAF-MEK-ERK ve PI3K-AKT-mTOR aracılığı ile iletilir.

Kanser hücrelerinin invazyon ve metastaz esnasında immün sistemden kaçarak ortam koşullarına uyum sağlaması gerekir. Bu kaçı başarabilmesi ve invaze olduğu yerde kolonize olabilmesi için tümör mikroçevresi son derece önemli bir faktördür. İnvazyon ve metastaz sürecini gerçekleştirmiş olan kanser hücrelerinin, aynı zamanda uygulanacak kemoterapötik ilaçlara karşı da direnç kazanma ihtimali yüksektir. Bu basamaklardaki moleküller hedef alınarak ve tümör mikroçevresi çözümlenerek sürecin aydınlatılması kemorezistans mekanizmalarının anlaşılmasına fayda sağlayacaktır.





**Şekil 4.** Normal pankreas dokusu ile pankreas duktal adenokarsinomunun desmoplastik yapısının karşılaştırılması (4B,4C) ve immün sistem hücrelerinin (4A) PDAK'nin yoğun stromal tümör mikroçevresindeki rolleri (4D) şematize edilmiştir.

### Pankreas Duktal Adenokarsinomu Tümör Mikroçevresi ve İnflamatuar Süreç

PDAK gelişiminde normal hücrelerin morfolojik değişimiyle erken lezyonlara ve invaziv tümörlere doğru ilerleyen süreçte heterojen stromal bir yapı gözlenir. Bu yapıya Şekil 4A'da gösterilen hücrelerin katılımıyla oluşan desmoplastik bir mikroçevre eşlik eder.<sup>27</sup> Normal dokularda fibroblastlar, inflammatuar hücreler ve ECM doku homeostazını korumaktadır (Şekil 4B). Ancak PDAK'ta tümör etrafında bulunan neoplastik hücreler stromal yapıyı ve doku homeostazını bozar, kanser hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu destekleyen bir ortam oluşturur.

Tümör hücreleri öncelikle kendisini çevreleyen stromada inflammatuar bir yanıt oluşumuna neden olur. Daha sonra stroma kademeli şekilde tümör oluşumunu ve progresyonunu destekleyecek bir ortama dönüşmeye başlar. Son aşamada bu ortam tümörün büyümesini ve tedavi direncini destekleyen bir ortam haline gelir ve tümöre agresiflik kazandırır (Şekil 4C).<sup>27,28</sup>

Tümör progresyonu, bazal membran yapısının bozulması, desmoplastik stroma ve EMT ile yakından ilişkilidir.<sup>29</sup> Tümör mikroçevresinde fibrojenin görülmesiyle büyüme faktörleri salgılanır ve fibroblastların EMT ile miyofibroblastlara dönüşerek biriktiği gözlenir. Fibroblastların çoğalması ve miyofibroblastlara dönüşümü ECM proteinlerinin (kolajen, hyaluronan, fibronektin) birikimine neden olarak, kanser hücrelerinin hayatta kalmasını ve sürekli proliferasyonunu sağlar. Tümör mikroçevresinde bulunan hyaluronan, reseptör tirozin kinazlar ve küçük GTPaz'lar yoluyla anjiyogenezi, EMT sürecini ve kemorezistansı indükler (Şekil 4D).<sup>29-31</sup>

Normalde hareket yeteneği olmayan pankreas stellat hücreleri pankreas dokusunun mevcut yapısının korunmasında ve ECM üretiminde görevlidir. Tümörögenез sırasında ise tümör hücreleri TGF-β gibi

büyüme faktörleri salgılayarak pankreas stellat hücrelerini aktive ederler.<sup>32</sup> PDAK'ta aktif pankreas stellat hücreleri, HIF1α ekspresyonunu arttırarak hipoksik bir ortam oluşturduğunu gösterir. Normoksiye kıyasla daha düşük bir oksijen seviyesini temsil eden hipoksi, birçok solid tümörde olduğu gibi PDAK'ta da yaygın olarak gözlenir.<sup>33</sup> Hipoksi; hücre siklusunu yavaşlatarak, DNA sentezini engeller ve sitotoksik ilaçlara karşı gelişen direnci artırabilir. Ayrıca, çeşitli sinyal yolları üzerinden PDAK'ta Gemsitabin direncine katkıda bulunabilir ve ilaç direncinden sorumlu olduğu tanımlanmış gen olan MDR1'in (çoklu ilaç direnci 1) ekspresyonunu uyararak ilaç penetrasyonunu düzenleyebilir (Şekil 4D).<sup>34</sup>

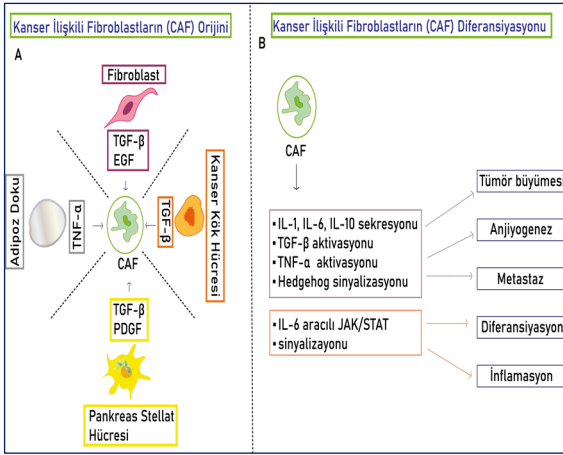
HIF1α ekspresyonu ile tümör invazyonunu, anjiyogenezi, immün sistemden kaçışı ve tedavi direncini modüle eden hipoksik durum, PDAK malignitesini yönlendiren önemli bir koşuldur. PDAK hastalarında ayrıca, tümörün interstisyel boşluğunda ECM proteoglikanları (kolajen) ve glikozaminoglikanlarının (hyaluronan) aşırı üretimi mevcuttur. Bu moleküller tümör büyümesi ve anjiyogenez sırasında salgılanırlar. Büyüme, metastaz, anjiyogenez, diferansiyasyon ve immün yanıt gibi süreçleri modüle ederler.<sup>35</sup>

Kanser hücrelerinin lokal tümörden lenf bezlerine ve kan yoluyla uzak yerlere yayılımını sağlayan lenfatik invazyon PDAK'ta da yaygın olarak gözlenir. Bu süreçte lenfanjiyogenez olarak adlandırılan lenfatik damarların genişlemesi kritik bir adım olarak kabul edilir.<sup>36</sup> PDAK'nin tümör mikroçevresinde lenfatik invazyon erken evrelerde görülür ve düşük sağkalıma neden olan M2 fenotipinde tümör ilişkili makrofajların birikimi ile karakterize edilir. Makrofajların birikimi inhibitör sitokinleri salgılayarak immün yanıtı sınırlar. Ayrıca pankreas adipoz dokusu TGF-β, TNF-α gibi proinflammatuar sitokinlerin salgılanmasından

sorumludur. Bu dokudan salgılanan adipositler, endotel hücreler, fibroblastlar, immün sistem ve kanser kök hücreleri PDAK gelişimine neden olur.<sup>37,38</sup>

Tümör mikroçevresinde tümörün ihtiyaç duyduğu ortamın sağlanması için, doğal öldürücü hücrelerin (NK) ve CD+8 lenfositlerin sayısının da azalması gereklidir. Bunun aksine; düzenleyici T hücreleri (Treg), miyeloid türevli baskılayıcı hücreler (MDSC) ve tümörle ilişkili makrofajlar (TAM) ise önemli ölçüde artar, böylece kanser hücrelerinin immün sistem ile karşılaşması engellenir. Normal durumda Treg hücreleri, CTLA-4 ekspresyonu ve TGF- $\beta$  ile IL-10 sekresyonu yoluyla kanser hücrelerini yok etmeye çalışan otoimmünitenin ortaya çıkmasını önler. Ancak tümörögenез sırasında Treg hücreleri, efektör T hücrelerini etkileyerek tümöre karşı oluşturulacak immün yanıtı engeller.<sup>39,40</sup>

PDAK tümör mikroçevresinde bulunan diğer önemli hücre grubu kanserle ilişkili fibroblastlardır (CAF). CAF'ler, pankreatik stellat hücrelerden, fibroblastlardan, kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerden ve adipositlerden gelişir (Şekil 5A). Bu hücreler TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-1, 6, 10 ve Hedgehog sinyal yolları ile aktive edilerek sitokinleri ve kemokinleri salgılar.<sup>41</sup> IL-6 aynı zamanda JAK/STAT sinyal yolağının aktivasyonu yoluyla, ADM denilen (asiner-duktal metaplazi) süreçte katkıda bulunur ve inflamasyonu indükler (Şekil 5B).<sup>25</sup>



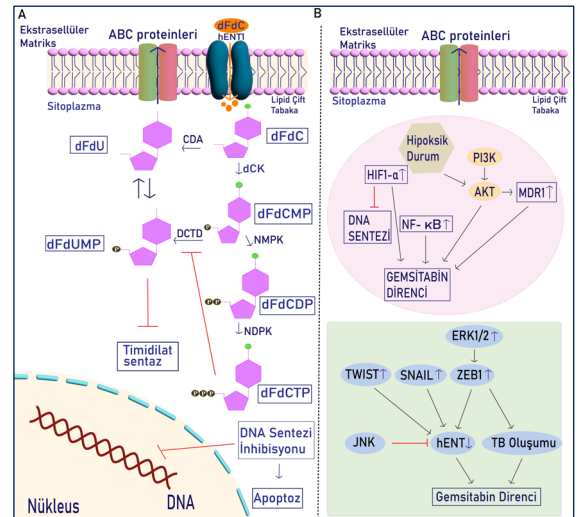
**Şekil 5.** Kanser ilişkili fibroblastların (CAF) köken aldığı hücreler şematize edilmiştir (5A). CAF'ların sitokin sekresyonu ve sinyal yolları aracılığıyla tümör hücresine olan etkileri gösterilmiştir (5B).

PDAK metastazındaki gelişmelere rağmen, bu süreci engellemek adına FDA tarafından henüz onaylanmış ilaçların olmaması dikkat çekicidir. Preklinik araştırmalardan elde edilen sonuçların kliniğe geçmemiş olması; bu sürecin son derece karmaşık olduğunu, birden çok sinyalizasyon ile desteklendiğini ve geliştirilen ilaçların etkinliğinin yetersiz kaldığını doğrulamaktadır. Bu başarısızlıkların nedenleri arasında; PDAK tümörlerinin heterojenik ve yoğun stromal yapısı, kanser hücrelerinin EMT sürecinin de etkisi altında

geliştirilen ilaçlara karşı direnç oluşturması, immün sistemin etkisizleştirilmesi gösterilebilir. Aynı zamanda PDAK çeşitli sinyal yolları ile desteklendiğinden tek bir yolu hedeflemenin PDAK progresyonuna ve mortalitesine fayda sağlayamayacağı bilinmelidir.

Daha önce bahsedilen PDAK stroması, toplam tümör kütlelerinin %90'ını oluşturur.<sup>42</sup> Bu yoğun desmoplastik stroma, günümüzde kullanılan kemoterapötik ilaçların (Gemsitabin ve Folfirinox vb.) penetrasyonunu engelleyen fiziksel bir bariyer gibi işlev görür.<sup>43</sup> Rezeke edilemeyen (inoperable) PDAK hastalarında Gemsitabin ve Folfirinox bazlı kemoterapi birinci basamak yaklaşımdır.<sup>44,45</sup> Gemsitabin direncinin oluşmasındaki önemli mekanizmalardan bir tanesi; JNK sinyalizasyonu aracılığıyla nükleosid taşıyıcılardan olan hENT1 (insan dengeli nükleosid taşıyıcısı 1) ekspresyonunun inhibe edilmesidir. hENT1 ekspresyonunun varlığında, PDAK hastalarında genel sağkalım oranı artmaktadır. hENT1 molekülünün varlığının prognostik bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir.<sup>46</sup> Bu mekanizmadan kaynaklanan ilaç direncinin engellenmesinde transportu sağlayacak farklı stratejilerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Gemsitabin'in ATP'den elde edilen enerji ile hücre içine alınımından da sorumlu olan ABC taşıyıcı proteinleri (Şekil 6A) de kemorezistans ile ilişkilendirilmiştir. Bu proteinlerin ekspresyon seviyelerindeki artış PDAK kemorezistansı ile pozitif korelasyon gösterir.<sup>22</sup>



**Şekil 6.** Gemsitabin hENTs ile hücre içine alımı ve hücre membranına girdikten sonraki biyodönüşümleri gösterilmiştir. Oklar biyodönüşümü, küt uçları bulunan kırmızı çizgiler ise inhibisyonu ifade eder (6A). Hipoksinin farklı sinyal yolları üzerinden Gemsitabin direncine olan etkisi, ERK1/2 sinyalizasyonu ve transkripsiyon faktörleri aracılığıyla Gemsitabin'in hücre içine alımı gösterilmiştir (6B). dFdC (Gemsitabin); 2',2'-diflorodeoksisisitidin, dFdU; 2',2'-diflorodeoksisisitidin, dFdCMP; 2',2'-diflorodeoksisisitidin 5'-monofosfat, dFdCDP; 2',2'-diflorodeoksisisitidin 5'-difosfat, dFdCTP; 2',2'-diflorodeoksisisitidin 5'-trifosfat, dCK; deoksisisitidin kinaz, CDA; sitidin deaminaz, NMPK; nükleosit monofosfat kinaz, DCTD; deoksisisitidilat deaminaz, NDPK; nükleosit difosfat kinaz).

Gemsitabin direncinde önemli olan diğer mekanizma ise daha önce bahsedilen EMT sürecidir. Gemsitabin bazı kemoterapiye olan direnç, EMT sürecini yansıtan ve 'tumor budding (TB)' denilen tümör hücrelerinin küçük kümeler oluşturması ile ilişkilidir. EMT süreci epitelyal belirteçleri baskılayan ve mezenkimal belirteçleri eksprese eden ZEB, SNAIL ve TWIST transkripsiyon faktörleri tarafından yönetilir. Gemsitabin'e direnç geliştiren PDAK hücrelerinde SNAIL ve TWIST ekspresyonu artar, bu gen ekspresyonunu inhibe olur hücre içine Gemsitabin alımını azalır (Şekil 6B).<sup>22,47</sup>

PDAK kemorezistansı:

- PDAK'nin yoğun stroması,
- hENT1 aracılığı gerçekleşen transportu
- ABC taşıyıcı proteinlerinin ekspresyonu
- Zar geçirgenliğinin azalması
- Epitel mezenkimal dönüşüm süreci ve
- İlaç metabolizmasını düzenleyen çeşitli enzimlerin seviyelerinin ve aktivitelerinin değişmesi gibi özellikler nedeniyle indüklenir.<sup>48</sup>

Tümör mikroçevresinde açıklanan bu moleküller, tümör büyümesini, invazyon-metastaz ve tedavi direncini desteklerler, PDAK agresifliğini ve mortalitesini artırırlar.

Klinikte fayda sağlayacak bu tedavilerin geliştirilmesi için oluşturulması gereken preklinik modellemeler, tümör hücresinin yalnızca fenotipik özelliklerini yansıtmakla kalmamalı, mikroçevrenin desmoplastik yapısını da taklit edebilmelidir. PDAK tümörünün bu heterojenik yapısı, tasarlanan tedavilerin terapötik etkinliklerini gözlemek ve değerlendirmek amacıyla preklinik modellemelerin oluşturulmasında ciddi güçlükler oluşturmaktadır. Ancak bu modellemeler, hastalığın genetik, moleküler özelliklerinin açığa çıkarılması, prediktif (öngörücü) biyobelirteçlerin tanımlanması, etkin tedavi yöntemlerin geliştirilmesi ve doğrulanması için gereklidir.

Diğer solid organ tümörleri ile kıyaslandığında PDAK'ta standart ve hedefe yönelik terapilerde henüz umut verici sonuçlar bulunmamaktadır. Geliştirilecek tedavilerin başarılı olması için klinikten bir önceki basamak olan preklinik modellemelerin seçimi son derece önemlidir. Yazının bundan sonraki sürecinde *in vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* preklinik modellemelere değinilecektir.

### **Pankreas Duktal Adenokarsinomunda Preklinik Modellemeler**

Preklinik modellemelerin her birinin avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Bunlar Tablo 1'de özetlenmiştir.

*In vitro* modellemelerin kullanılması, terapötik etkinliğinin denenmesi planlanan potansiyel ajanı değerlendirmek için ilk adımdır.

Kanser araştırmalarında en sık kullanılan preklinik *in vitro* model hücre hatları ile oluşturulan modellemelerdir.<sup>44</sup> Hücre hatları birbirinden farklı özelliklere sahiptir. Bu nedenle deneylerin yapılma amacına bağlı olarak hücreler, genotipleri ve fenotipleri göz önünde bulundurularak seçilmelidir. İki boyutlu hücre kültürlerinde özellikle metastazı incelemek amacıyla çeşitli invazyon ve migrasyon deneyleri yapılmaktadır.<sup>49</sup>

Kısıtlılıkları nedeniyle 3 boyutlu kültür modellemelerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur.

### **3 Boyutlu Modellemeler**

Bu modellemeler yapısal özellikleri nedeniyle tümör hücrelerinin yapı ve davranışları hakkında fizyolojik açıdan daha gerçekçi ve kliniğe uyarlanabilecek sonuçlar verebilir. Başarılı sayılabilecek bir 3 boyutlu modelleme, PDAK'nin *in vivo* modellemesinde gözlediğimiz tümör oluşumundaki yoğun stromal yapıyı ve mikroçevreyi tanımlayabilmelidir.

Sferoid modelleme 3 boyutlu yapılandırmalarda en yaygın kullanılan tekniktir. Sferoidler 2 boyutlu hücre hatlarının agaroz, kollajen ya da matrijele gömülmesi ile oluşturulur. Hücreler yapay matrislerde proliferasyon olarak büyümeye eğilimi gösterirler. Sferoid model temel olarak hücrenin, hücre-hücre etkileşimleri ile 3 boyutlu agregatlar oluşturma yeteneğine ve ECM'nin varlığına dayanır. PDAK sferoidleri, 2 boyutlu hücre kültürü ile karşılaştırıldığında daha heterojen bir yapıya sahiptir. Sferoid modellemede yoğun ECM, moleküler transportu ve penetrasyonu fiziksel bir bariyer gibi engeller ve 2 boyutlu kültürlerde görmediğimiz gradyanların oluşmasına olanak sağlar.<sup>50,51</sup>

Sferoid modellemeler, metastazın incelenmesinde sıklıkla tercih edilen yöntemlerdir. Hücre kolonilerinin yüzeyden bağımsız olması hücresel transformasyonun ve kontrolsüz hücre proliferasyonunun ayırt edici özelliklerinden birisidir. Normal epitelyal hücreler hayatta kalma ve proliferatif sinyalleri sağlayan bazal membran tarafından desteklenir. Süspanse kültürlerde alındıkları zaman ise apoptoza yönelirler. Bunun aksine tümör hücreleri ise apoptozdan kaçarak kontrolsüz şekilde proliferasyon olurlar.<sup>52</sup> Sferoid model oluşumu ile görme imkânı bulduğumuz bu kolonileşme metastaza giden süreçte önemli basamaklardan biridir ve bu modelle deneysel olarak zamana bağlı şekilde gözlemlenir.

Hücre hatlarından veya hasta kökenli hücrelerden üretilen *in vitro* modeller daha uygulanabilir olsa da, tümör mikroçevresinden ve immün sistemden yoksun olduğundan, eksplantlar oluşturmak üzere hasta kaynaklı dokulardan üretilen *ex vivo* modellemeler gündeme getirilmiştir.

	in vitro Modellemeler		ex vivo Modellemeler			in vivo Modellemeler					
	2D Hücre Kültürü	Sferoid Model	Organoid Model	Organ/Tümör-on-a-chip	Korioallantoik Membran Analizi	Zebra balığı	Subkutanöz (sc)	Intraperitoneal (ip)	Intrapancreatik	Kıyasalla indüklenen fare modellemeleri	Domuz
Orijin	• Hücre hatları • Primer tümörler	• Hücre hatları • Hasta dokuları	• Primer tümörler • Embriyonik kök hücreler	• Hücre hatları • Hasta dokuları	• Hücre hatları	• Hücre hatları	• Hücre hatları	• Hücre hatları	• Hücre hatları	• BOP (N-nitrosobis(2-oksopropil)-amin) • MNU (N-metil-N-nitrozotüre)	• Hücre hatları
Besin ve O <sub>2</sub> gradyanı											
Vaskülarizasyon											
Hücre - hücre etkileşimi											
Hızlı büyüme											
Tümör mikroçevresi											
Heterojenite											
Standart protokoller											
Tekrarlanabilir sonuç											
Uygulanabilirlik											
Klinik ile uyum											
Biyobanka											
Literatür	(43,73,74,53,76,81)	(43,44,81)	(43,44,48,50)	(44,51)	(54,55)	(59,60,61)	(58,81)	(79)	(63,79)	(62,63,77,78,81)	(69,70,71,72)

**Tablo 1.** PDAK'de metastazi incelemek için kullanılan modellemelere genel bakış. Renk skalasındaki renkler her bir model için, mavi: uygun, açık mavi: kısmen uygun, krem rengi: kısmen uygun değil ve turuncu: uygun değil olarak tanımlanmıştır.

### Ex Vivo Preklinik Modellemeler

İnsan ya da hayvan kaynaklı tümörlerden hazırlanan ex vivo model sistemleri; orijinal dokunun yapısını, heterojenitesini ve mikroçevresini korumayı amaçlar. Aynı zamanda hastalığa özgü biyobelirteçlerin keşfi ve kişiselleştirilmiş tedavi yanıtlarının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır.<sup>53</sup>

Onkolojik araştırmalarda sıklıkla kullanılan organoid modellemeler; yetişkin kök hücrelerden, insan veya hayvan dokularından elde edilen ex vivo modellemelerdir. Alındıkları organın temel işlevini, yapısını, biyolojik özelliklerini taklit edebilirler.<sup>54</sup>

PDAK karsinogenezinde erken lezyonların, normal epitel hücreler ile neoplastik hücreler arasındaki etkileşimlerin ve kanser kök hücrelerinin rolünün incelenmesi için uygun bir modellemedir.<sup>55</sup>

Bu amaçla elde edilecek hücreler hem operasyonla çıkarılmış hem de operasyon şansı olmayan hastalardan ince iğne aspirasyonu ile alınan tümörlerden primer hücre kültürü yoluyla elde edilebilir. Bu avantajı sayesinde PDAK'nin tüm evrelerinden organoid model oluşturmak mümkündür.<sup>56</sup>

Organoidlerde vasküler dolaşımın bulunmaması modellemenin dezavantajıdır. Bu durum tümör heterojenitesi ile hücreler arası etkileşim ve tümör mikroçevresini yansıtmakta yetersiz kalabilir. Bu nedenle, PDAK tümörlerindeki immün sistemin mekanizmaları tam olarak yansıtılamamaktadır.

Organoid modellerde mevcut olan bu kısıtlılıkların aşılması ve birden fazla organoidin ard arda büyütülmesi için geliştirilen modellemelerden birisi de Organ-on-a-chip (OOC) sistemleridir. OOC'ler, şeffaf polimerlerden

oluşan ex vivo modellemelerdir. Organ özelliklerini taklit eden, tümör mikroçevresinin özelliklerine sahip olan OOC sistemleri, uygulanan tedavinin hem tümör hücresi üzerindeki hem de diğer organlar üzerindeki etkisinin belirlenmesi için uygun bir modellemedir.<sup>57-59</sup> PDAK'nin özelliklerini yansıtabilecek bu modellemelerin yanında, son zamanlarda tümör anjiyogenezini, invazyonunu ve metastazını değerlendirmek için, korioallantoik membran (CAM) modellemesi yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu model gelişmekte olan civciv embriyosunun korioallantoik membranına hastadan alınan tümör hücrelerinin implantasyonu ile oluşturulur. Uygulanan tedavi sonucundaki değişiklikler eş zamanlı olarak takip edilebilir.<sup>60,61</sup>

CAM yöntemi anjiyojenik sürecin, tümör büyümesinin, invazyon ve metastatik yayılımın mekanizmalarını çalışmak için kullanılan etkin yöntemlerdendir. CAM modellemesinin dezavantajlarından birisi kuş kökenli olmasıdır. Bu nedenle uyumlu antikolar veya reaktifler deneysel fare modellerine kıyasla sınırlı sayıdadır.<sup>62</sup>

PDAK'nin yüksek mortalitesi ve tedavilere karşı zayıf yanıt oluşturması göz önüne alındığında, preklinik modellemelerde terapötik yaklaşımları daha doğru bir şekilde değerlendirmek için PDAK'nin biyokimyasal ve patolojik özelliklerinin tamamen açıklığa kavuşturulması gerekmektedir.

### In Vivo Preklinik Modellemeler

#### Zebra Balığında Kanser Modellemeleri

Zebra balığı (*Danio rerio*), biyomedikal araştırmalarda en önemli omurgalı model organizmalardan biri haline gelmiştir. Zebra balığı modellemesi genomik instabilite,

invazyon ve metastaz gibi insanda oluşan tümörlere benzer özellikler göstermektedir.

Zebra balığı modellemesi şeffaf olmasından dolayı, tümör hücrelerinin enjekte edildiği andan itibaren proliferasyonlarının ve invaziv süreçlerin görüntülenmesine imkân sağlar.<sup>63,64</sup> Aynı zamanda bu parametrelerin birkaç gün içinde analiz edilebilmesi, farklı ilaç konsantrasyonlarının ve kombinasyonlarının test edilmesine imkân tanır.<sup>64-66</sup>

Zebra balığının optimum 28 °C'de yaşamını sürdürmesi, tümör hücresinin çoğalması için ideal sıcaklık olarak belirlenen insan vücudundan (37°C) farklıdır. Balık larvalarında terapi yanıtları ancak tüm balığın ilaç içeren suya daldırılmasıyla alınabileceğinden dolayı larvanın aldığı ilaç miktarı belirlenmemektedir.<sup>66,67</sup>

Avantaj ve dezavantajları ile birlikte tümör progresyonunu erken lezyonlardan invaziv duruma kadar gösterebilmesi, eş zamanlı görüntüler ve veriler sağlaması ile PDAK'ı hedefleyen farklı metodolojileri değerlendirmek için umut vaat eden bir modellemedir.

#### **Deneysel Fare Modelleri**

PDAK biyolojisinin anlaşılmasında ve çeşitli terapötiklerin preklinik değerlendirmesinde önemli bir rol oynamaktadır. İdeal bir PDAK hayvan modellemesi erken lezyonları yansıtabilmeli; kemorezistansı, immün yanıtı kaçışı ve tümör mikroçevresindeki yoğun stromal yapıyı da sağlayabilmelidir. Ayrıca uygulanan tedavi sonucu alınan yanıtı da tekrarlanabilir şekilde göstermelidir.<sup>68</sup>

Bu modellemeler tümör enjeksiyon şekline, tümör implantasyonu yapılan bölgeye ve histopatolojik özelliklere göre sınıflandırılır. PDAK hücrelerinin ya da tümör dokularının farelere implante edilmesiyle oluşturulanlar Xenograft modellemelerdir. Kanseri hücreleri direkt pankreas dokusuna (ortotopik implantasyon) ya da pankreas dokusu dışına (heterotopik implantasyon) enjekte edilebilir. Ortotopik implantasyon, heterotopik modellemelere göre biyolojik açıdan tümör ile daha ilişkili bir yapıya sahiptir ve invazyon metastaz yeteneği de kazandırır.<sup>69</sup>

PDAK modellemesi oluşturulmasında fizyolojik açıdan en uygun yöntem pankreas içine yapılan tümör enjeksiyonudur. Fakat bu enjeksiyon diğer yöntemlere ek olarak hassas cerrahi prosedür ve özel bakım gerektirir.<sup>70,71</sup>

PDAK'ta tedavi yaklaşımlarının incelenmesinde primer tümör kaynağı da önemlidir. Eğer hasta kökenli pankreas tümörleri kullanılacaksa çoğunlukla atimik (timusu alınmış) ve immün yetmezliği (SCID) olan fareler tercih edilmektedir.<sup>72</sup> Bu tümörler, kanserin moleküler ve genomik çeşitliliğini de yansıttığından moleküler mekanizmaların hedeflenmesi için daha uygundur. Ancak kullanılan immünsupresif fareler PDAK'nin immünolojik parametrelerini analiz etmek için elverişli değildir. Bu durum, modellemenin ilk dezavantajıdır. İmmünkompetan fareleri kullanmak, terapötik ajanın

immün sistem üzerindeki etkilerini incelemek ve immünolojik parametreleri analiz etmek için idealdir. Modellemenin ikinci dezavantajı da deney prosedürü için gereken hücre hatlarının pasajlanma ihtiyacıdır. Hücre hatları aldığı her bir pasajda fenotipinde minimal de olsa değişiklikler meydana geldiği ve bu durumun da tümör oluşumunu etkilediği düşünülmelidir.<sup>73</sup>

#### **Kimyasal Karsinojenlerle Yapılan in vivo Modellemeler**

PDAK gelişiminde kimyasal karsinojenlerin maruziyeti önemli bir yer tutar. Kimyasal indüksiyon PDAK modellemesi oluşturmak için ideal yöntemlerden birisidir. Bu modelleme ile organa özgü lezyonlar üretilir. Bu lezyonların fare fenotiplerinde yüksek oranda tekrarlanabilir olması önemli avantajlarından. Ayrıca kimyasal ajanlar ile indüklenen modellemeler, hiperplaziler, displaziler ve erken lezyonları biyokimyasal ve histopatolojik açıdan çok iyi yansıtır. Tümör gelişiminin hangi aşamalarında hangi terapötik ajanın daha duyarlı olduğunu araştırmak için çok değerlidirler. Bu modellemelerin metastaz yapma eğilimleri de yüksektir.<sup>74</sup> Fakat preklinik aşamalarda rutin kullanımda bazı dezavantajlar içerirler. Bunlardan ilki kimyasal enjeksiyon ile tümör oluşumu için uzun zaman ve tekrarlayan uygulamalar gerekmektedir. Modellemenin bir diğer sınırlılığı ise kimyasal ajanın kullanımında çalışan sağlığı için oluşabilecek güvenlik endişeleridir.<sup>75</sup>

Onkolojik araştırmalarda sıklıkla kullanılan fare modellemeleri tümör mikroçevresinde olan hücresel değişiklikleri yansıtamamaktadır.

PDAK'nin fare modellemelerinde etkili olan potansiyel ajanlar klinikte aynı etkiyi gösteremediğinden ilaç geliştirmede kullanılmak üzere klinik ile daha uyumlu olacak yeni modellemelerin geliştirilmesi gerekmektedir.

#### **Domuzlarda Oluşturulan Kanseri Modellemeleri**

Onkolojik araştırmalarda kullanılan domuzların anatomisi, fizyolojisi ve metabolizması diğer primatlara kıyasla insanlara daha benzerdir. Bu özellikleri ile kanseri gelişimini ve progresyonunu yansıtmak için ideal bir hayvan modelidir.<sup>76</sup>

Domuzlar boyutları nedeniyle daha fazla kan örneği almaya imkân tanıdığından tümör belirteçlerinin incelenmesi için de uygun hayvanlardır. Benzer şekilde büyük tümörler oluşturmaya da elverişli olduklarından tümör heterojenitesinin incelenmesi için uygun modellemelerdir. Ancak domuzların yetiştirilmesi ve bakımı, kafeslerde tutulan deney hayvanlarına kıyasla daha maliyetlidir. Ayrıca deney prosedürlerinin uygulanması sırasında tehlikeli olabileceğinden daha tecrübeli personele ihtiyaç duyulur. Domuz modellemelerinin bir diğer dezavantajı ise deney için kullanılacak antijen ve antikörlerin sınırlı olmasıdır.<sup>77</sup> Domuz modellemelerinin dermatolojik, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar ile kanseri dahil olmak

üzere farklı alanlarda etkili modellemeler olduğu gösterilmiştir. Solid tümörlerin %75'inde görülen peritoneal metastaz için domuz kullanımı yaygın bir model haline gelmektedir. Potansiyel antikanser ajanların değerlendirilmesinde, metastazın incelenmesinde ve cerrahi tekniklerin geliştirilmesinde kullanılmaktadır.<sup>78,79</sup>

PDAK için hücre hatları kullanılarak oluşturulan deneysel hayvan modellemeleri, potansiyel ajanların terapötik etkinliklerinin belirlenmesinde merkezi rol oynamaya devam etmektedir. Ancak PDAK progresyonundaki karmaşıklığın ve mikroçevrenin rolünün belirlenmesi konusunda yeni modellemeler geliştirilmeye devam edilmektedir.

Geleneksel preklinik modellemeler ve gelişmekte olanlar, şu ana kadar PDAK için büyük ilerlemelere katkıda bulunmuştur. Ancak PDAK'nin heterojenitesi, yüksek desmoplazi içeren yapısı ve oluşan spontan mutasyonlar elde edilen bulguların klinikte karşılıksız kalmasına sebep olmuştur. Bu sebeple PDAK'ta FDA onaylı ilaç sınırlı sayıdadır. Hem bu kısıtlılığın önüne geçmek hem de yüksek mortalite oranını düşürmek için PDAK'nin bu özellikleri göz önüne alınarak yeni deneysel modellemeler oluşturulmalıdır.

### Sonuçlar ve Gelecek Perspektifleri

PDAK, etkili tedavi için sınırlı seçenekleri olan ve en ölümcül kanserlerden biri olmaya devam etmektedir. Cerrahi tekniklerle klinik sistemik tedavilerdeki anlamlı ilerlemelerin pankreas kanseri hastalarının sağkalımını iyileştireceği kesindir. Pankreas kanseri cerrahisi, son 20 yılda modern kombinasyon kemoterapisiyle birlikte önemli ölçüde daha güvenilir etkili hale gelse, postoperatif mortalite riski %3'e düşse de günümüzde rezeksiyon ve kemoterapi sonrası ortalama sağkalım süresi yaklaşık 30 ay, ameliyat geçiren seçilmemiş pankreas kanserli hastalarda 5 yıllık sağkalım yaklaşık %30'dur. Kısa sürede ortaya çıkan nükslerin de çoğu başlangıçta asemptomatiktir. Hastalığın erken tanısı, erken ve daha etkili tedavi sağlayabilir. Tedavi yanıtı ve hastalığın prognozunun tahmini için daha iyi biyobelirteçler ve araçlar, gelecekte tedavi model ve rejimlerinin özel olarak seçilmesini ve sıralanmasını sağlamak için gereklidir. Klinisyenler bu hastalara uygulanan tedavide ortaya çıkan yanıtların gözlenmesinin, önceki geleneksel kemoterapi ve/veya radyasyonun, ilgili tedavi hedefini nasıl etkileyeceğini hesaba katıp, bunların kombinasyonunun nasıl kullanılması gerektiğini de düşünmenin gerekliliğini savunurlar. PDAK karsinogenezi, az sayıda gende öngörülebilir basit ve yapısal genetik değişikliklerle, öncü lezyonlar yoluyla orijin hücresinden invaziv hastalığa doğru ilerler. Ancak kalıtsal hastalığın moleküler yapısındaki sorumlu genlerin tamamı henüz net olarak bilinmemektedir. Gen mutasyonları, tümör metabolizması ve tümör mikroçevresine ilişkin yeni

bilgiler başta olmak üzere pankreas kanserinin biyolojisi ve genetiğine ilişkin daha derin araştırmaların sonuçları, tedavide umut verici ve yenilikçi yol haritalarını oluşturacaktır. Klinisyenler arasında tedavide tek bir molekül veya yolağı hedeflemenin pankreatik kanser tedavisi başarısında yetersiz olacağı ön görüşü yaygındır. Hem hastalık alt tipine yönelik hem de kombine tedavi, tümör ilerlemesini kontrol etmek için daha umut verici hedefler sunabilir. Mutasyonlar ve bunların yeniden programlanmış metabolik yolları, çekici tedavi hedefleri olmuştur. Örneğin BRCA mutasyonlu pankreas kanseri hastalarının PARP inhibitörlerinden fayda gördüğünü gösteren son gelişmeler, alt tipe özgü tedavinin klinik etkinliğini daha da artıracığı umudunu verebilir. PDAK tedavisinde araştırmacılar moleküler olarak hastalığın genomik ve transkriptomik özelliklerine odaklanmıştır. Kalan bilgi boşluklarını doldurmak için, kodlayıcı olmayan mutasyonların, epigenetik değişikliklerin ve mitokondriyal genomların görevi başta olmak üzere diğer birçok faktörün de tam olarak keşfedilmesi gerekir. Ultrason, bilgisayarlı tomografi taramaları, manyetik rezonans görüntüleme ve pozitron emisyon tomografi taramaları gibi tanı yaklaşımlarının yanı sıra cerrahi, radyasyon, kemoterapi ve immünoterapi gibi tedavi yaklaşımlarıyla genel sağkalım son yıllarda az da olsa artış göstermiştir... Teknolojik ilerlemelerle "in vitro Diyagnostik" tanı araçlarından çok katmanlı görüntüleme, immünoterapi ve mutasyonel tanı araçlarının performanslarının artması, PDAK hastalarının sağkalımının uzatılması hedefine hizmet edecektir. PDAK mikroçevresine ilişkin bilgilerdeki ilerlemeler ve ortaya konan hedefler göz önüne alındığında, pankreas kanserlerinin gelecekteki başarılı tedavisi için umutlu olunabilir... Yeni tedavi yaklaşımlarının klinik başarısına giden yolun, "daha özel, geliştirilmiş hayvan modellemelerinin ve motive olmuş multidisipliner ekiplerin yorulmaz çabaları" sayesinde gelişeceği açıktır.

### Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

### Finansal Destek

Bu çalışma hiçbir kuruluş tarafından desteklenmemiştir.

### Yazar Katkısı

YK, EB, HK: Tasarım, literatür tarama ve veri toplama, çalışmanın yazımı; YK, EB, HK: Analiz ve yorumlama, literatür tarama, çalışmanın yazımı.

### Kaynaklar

1. Zuzčák M, Trnka J. Cellular metabolism in pancreatic cancer as a tool for prognosis and treatment (Review). *Int J Oncol.* 2022;61(2):93. doi:10.3892/ijo.2022.5383

2. Janssen QP, O'Reilly EM, van Eijck CHJ, Groot Koerkamp B. Neoadjuvant Treatment in Patients With Resectable and Borderline Resectable Pancreatic Cancer. *Front Oncol.* 2020;10:41. doi: 10.3389/fonc.2020.00041
3. Dumont R, Puleo F, Collignon J, et al. A single center experience in resectable pancreatic ductal adenocarcinoma: the limitations of the surgery-first approach. Critical review of the literature and proposals for practice update. *Acta Gastroenterol Belg.* 2017 Oct-Dec;80(4):451-461. Erratum in: *Acta Gastroenterol Belg.* 2018 Apr-Jun;81(2):358.
4. Ayres Pereira M, Chio IIC. Metastasis in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Current Standing and Methodologies. *Genes (Basel).* 2019;11(1):6. doi: 10.3390/genes11010006
5. Orth M, Metzger P, Gerum S, et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma: biological hallmarks, current status, and future perspectives of combined modality treatment approaches. *Radiat Oncol.* 2019;14(1):141. doi: 10.1186/s13014-019-1345-6
6. Kaşıkçı E, Aydemir E, Bayrak ÖF, Şahin F. Inhibition of Migration, Invasion and Drug Resistance of Pancreatic Adenocarcinoma Cells - Role of Snail, Slug and Twist and Small Molecule Inhibitors [published correction appears in *Onco Targets Ther.* 2022 May 11;15:523-526]. *Onco Targets Ther.* 2020;13:5763-5777. doi: 10.2147/OTT.S253418
7. Karpińska M, Czauderna M. Pancreas-Its Functions, Disorders, and Physiological Impact on the Mammals' Organism. *Front Physiol.* 2022;13:807632. doi: 10.3389/fphys.2022.807632
8. Patel SN, Mathews CE, Chandler R, Stabler CL. The Foundation for Engineering a Pancreatic Islet Niche. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:881525. doi: 10.3389/fendo.2022.881525
9. Das KK, Brown JW, Fernandez Del-Castillo C, et al. mAb Das-1 identifies pancreatic ductal adenocarcinoma and high-grade pancreatic intraepithelial neoplasia with high accuracy. *Hum Pathol.* 2021;111:36-44. doi: 10.1016/j.humpath.2021.01.003
10. Cancer Genome Atlas Research Network. Electronic address: andrew\_aguirre@dfci.harvard.edu; Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated Genomic Characterization of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancer Cell.* 2017;32(2):185-203.e13. doi: 10.1016/j.ccell.2017.07.007
11. Visani M, Acquaviva G, De Leo A, et al. Molecular alterations in pancreatic tumors. *World J Gastroenterol.* 2021;27(21):2710-2726. doi: 10.3748/wjg.v27.i21.2710
12. Mallya K, Gautam SK, Aithal A, Batra SK, Jain M. Modeling pancreatic cancer in mice for experimental therapeutics. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2021;1876(1):188554. doi: 10.1016/j.bbcan.2021.188554
13. Michaelis KA, Zhu X, Burfeind KG, et al. Establishment and characterization of a novel murine model of pancreatic cancer cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2017;8(5):824-838. doi: 10.1002/jcsm.12225
14. Knudsen ES, Balaji U, Mannakee B, et al. Pancreatic cancer cell lines as patient-derived avatars: genetic characterisation and functional utility. *Gut.* 2018;67(3):508-520. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313133
15. Cancer Genome Atlas Research Network. Electronic address: andrew\_aguirre@dfci.harvard.edu; Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated Genomic Characterization of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancer Cell.* 2017;32(2):185-203.e13. doi:10.1016/j.ccell.2017.07.007
16. Javadrashid D, Baghbanzadeh A, Derakhshani A, et al. Pancreatic Cancer Signaling Pathways, Genetic Alterations, and Tumor Microenvironment: The Barriers Affecting the Method of Treatment. *Biomedicines.* 2021;9(4):373. doi: 10.3390/biomedicines9040373
17. Hernandez AL, Young CD, Wang JH, Wang XJ. Lessons learned from SMAD4 loss in squamous cell carcinomas. *Mol Carcinog.* 2019;58(9):1648-1655. doi: 10.1002/mc.23049
18. Ezrova Z, Nahacka Z, Stursa J, et al. SMAD4 loss limits the vulnerability of pancreatic cancer cells to complex I inhibition via promotion of mitophagy. *Oncogene.* 2021;40(14):2539-2552. doi: 10.1038/s41388-021-01726-4
19. Grant TJ, Hua K, Singh A. Molecular Pathogenesis of Pancreatic Cancer. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2016;144:241-275. doi: 10.1016/bs.pmbts.2016.09.008
20. Yang J, Liu Y, Liu S. The role of epithelial-mesenchymal transition and autophagy in pancreatic ductal adenocarcinoma invasion. *Cell Death Dis.* 2023;14(8):506. doi: 10.1038/s41419-023-06032-3
21. Thomas SK, Lee J, Beatty GL. Paracrine and cell autonomous signalling in pancreatic cancer progression and metastasis. *EBioMedicine.* 2020;53:102662. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102662
22. Albrengues J, Shields MA, Ng D, et al. Neutrophil extracellular traps produced during inflammation awaken dormant cancer cells in mice. *Science.* 2018;361(6409):eaao4227. doi: 10.1126/science.aao4227
23. Miquel M, Zhang S, Pilarsky C. Pre-clinical Models of Metastasis in Pancreatic Cancer. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:748631. doi:10.3389/fcell.2021.748631
24. Aiello NM, Kang Y. Context-dependent EMT programs in cancer metastasis. *J Exp Med.* 2019;216(5):1016-1026. doi: 10.1084/jem.20181827
25. Aiello NM, Brabletz T, Kang Y, Nieto MA, Weinberg RA, Stanger BZ. Upholding a role for EMT in pancreatic cancer metastasis. *Nature.* 2017;547(7661):E7-E8. doi: 10.1038/nature22963
26. El Amrani M, Corfiotti F, Corvaisier M, et al. Gemcitabine-induced epithelial-mesenchymal transition-like changes sustain chemoresistance of pancreatic cancer cells of mesenchymal-like phenotype. *Mol Carcinog.* 2019;58(11):1985-1997. doi: 10.1002/mc.23090
27. Heinrich MA, Mostafa AMRH, Morton JP, Hawinkels LJAC, Prakash J. Translating complexity and heterogeneity of pancreatic tumor: 3D in vitro to in vivo models. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021;174:265-293. doi: 10.1016/j.addr.2021.04.018
28. Thomas D, Radhakrishnan P. Tumor-stromal crosstalk in pancreatic cancer and tissue fibrosis. *Mol Cancer.* 2019;18(1):14. doi: 10.1186/s12943-018-0927-5
29. Neoptolemos JP, Kleeff J, Michl P, Costello E, Greenhalf W, Palmer DH. Therapeutic developments in pancreatic cancer: current and future perspectives. *Nat Rev*



- Gastroenterol Hepatol.* 2018;15(6):333-348. doi: 10.1038/s41575-018-0005-x
30. Chen Y, Kim J, Yang S, et al. Type I collagen deletion in  $\alpha$ SMA+ myofibroblasts augments immune suppression and accelerates progression of pancreatic cancer. *Cancer Cell.* 2021;39(4):548-565.e6. doi: 10.1016/j.ccell.2021.02.007
  31. Jin G, Hong W, Guo Y, Bai Y, Chen B. Molecular Mechanism of Pancreatic Stellate Cells Activation in Chronic Pancreatitis and Pancreatic Cancer. *J Cancer.* 2020;11(6):1505-1515. doi: 10.7150/jca.38616
  32. Du J, Gu J, Li J. Mechanisms of drug resistance of pancreatic ductal adenocarcinoma at different levels. *Biosci Rep.* 2020;40(7):BSR20200401. doi: 10.1042/BSR20200401
  33. Erkan M, Kurtoglu M, Kleeff J. The role of hypoxia in pancreatic cancer: a potential therapeutic target? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016;10(3):301-316. doi: 10.1586/17474124.2016.1117386
  34. Kaps L, Schuppan D. Targeting Cancer Associated Fibroblasts in Liver Fibrosis and Liver Cancer Using Nanocarriers. *Cells.* 2020;9(9):2027. doi:10.3390/cells9092027
  35. Xu M, Jung X, Hines OJ, Eibl G, Chen Y. Obesity and pancreatic cancer: overview of epidemiology and potential prevention by weight loss. *Pancreas.* 2018; 47(2):158.
  36. Stanciu S, Ionita-Radu F, Stefani C, et al. Targeting PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway in Pancreatic Cancer: From Molecular to Clinical Aspects. *Int J Mol Sci.* 2022;23(17):10132. doi: 10.3390/ijms231710132
  37. Huber M, Brehm CU, Gress TM, et al. The Immune Microenvironment in Pancreatic Cancer. *Int J Mol Sci.* 2020;21(19):7307. doi: 10.3390/ijms211973077
  38. Hessmann E, Buchholz SM, Demir IE, et al. Microenvironmental Determinants of Pancreatic Cancer. *Physiol Rev.* 2020;100(4):1707-1751. doi: 10.1152/physrev.00042.2019
  39. Ishii N, Araki K, Yokobori T, et al. Conophylline suppresses pancreatic cancer desmoplasia and cancer-promoting cytokines produced by cancer-associated fibroblasts. *Cancer Sci.* 2019;110(1):334-344. doi: 10.1111/cas.13847
  40. Hubbard JM, Grothey A. Napabucasin: An Update on the First-in-Class Cancer Stemness Inhibitor. *Drugs.* 2017;77(10):1091-1103. doi: 10.1007/s40265-017-0759-4
  41. Gu J, Saiyin H, Fu D, Li J. Stroma - A Double-Edged Sword in Pancreatic Cancer: A Lesson From Targeting Stroma in Pancreatic Cancer With Hedgehog Signaling Inhibitors. *Pancreas.* 2018;47(4):382-389. doi: 10.1097/MPA.0000000000001023
  42. Justus CR, Leffler N, Ruiz-Echevarria M, Yang LV. In vitro cell migration and invasion assays. *J Vis Exp.* 2014;(88):51046. doi: 10.3791/51046
  43. Yu S, Zhang C, Xie KP. Therapeutic resistance of pancreatic cancer: Roadmap to its reversal. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2021;1875(1):188461. doi: 10.1016/j.bbcan.2020.188461
  44. Sarvepalli D, Rashid MU, Rahman AU, et al. Gemcitabine: A Review of Chemoresistance in Pancreatic Cancer. *Crit Rev Oncog.* 2019;24(2):199-212. doi: 10.1615/CritRevOncog.2019031641
  45. Mansoori B, Mohammadi A, Davudian S, Shirjang S, Baradaran B. The Different Mechanisms of Cancer Drug Resistance: A Brief Review. *Adv Pharm Bull.* 2017;7(3):339-348. doi: 10.15171/apb.2017.041
  46. Carter EP, Roozitalab R, Gibson SV, Grose RP. Tumour microenvironment 3D-modelling: simplicity to complexity and back again. *Trends Cancer.* 2021;7(11):1033-1046. doi: 10.1016/j.trecan.2021.06.009
  47. Nieskoski MD, Marra K, Gunn JR, et al. Collagen Complexity Spatially Defines Microregions of Total Tissue Pressure in Pancreatic Cancer. *Sci Rep.* 2017;7(1):10093. doi: 10.1038/s41598-017-10671-w
  48. Parroche P, Roblot G, Le Calvez-Kelm F, et al. TLR9 re-expression in cancer cells extends the S-phase and stabilizes p16(INK4a) protein expression. *Oncogenesis.* 2016;5(7):e244. doi:10.1038/oncsis.2016.49
  49. Garcia PL, Miller AL, Yoon KJ. Patient-Derived Xenograft Models of Pancreatic Cancer: Overview and Comparison with Other Types of Models. *Cancers (Basel).* 2020;12(5):1327. doi: 10.3390/cancers12051327
  50. Jenkins RW. Introduction to Ex Vivo Cancer Models. In: Aref A, Barbie D. (eds) Ex Vivo Engineering of the Tumor Microenvironment. Cancer Drug Discovery and Development. *Humana Press, Cham.* 2017. doi: 10.1007/978-3-319-45397-2\_1
  51. Moreira L, Bakir B, Chatterji P, Dantes Z, Reichert M, Rustgi AK. Pancreas 3D Organoids: Current and Future Aspects as a Research Platform for Personalized Medicine in Pancreatic Cancer. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2017;5(3):289-298. doi: 10.1016/j.jcmgh.2017.12.004
  52. Sontheimer-Phelps A, Hassell BA, Ingber DE. Modelling cancer in microfluidic human organs-on-chips. *Nat Rev Cancer.* 2019;19(2):65-81. doi: 10.1038/s41568-018-0104-6
  53. Caballero D, Kaushik S, Corrello VM, Oliveira JM, Reis RL, Kundu SC. Organ-on-chip models of cancer metastasis for future personalized medicine: From chip to the patient. *Biomaterials.* 2017;149:98-115. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.005
  54. Nelson SR, Walsh N. Genetic Alterations Featuring Biological Models to Tailor Clinical Management of Pancreatic Cancer Patients. *Cancers (Basel).* 2020;12(5):1233. doi: 10.3390/cancers12051233
  55. Dünker N, Jendrosseck V. Implementation of the Chick Chorioallantoic Membrane (CAM) Model in Radiation Biology and Experimental Radiation Oncology Research. *Cancers (Basel).* 2019;11(10):1499. doi: 10.3390/cancers11101499
  56. Lokman NA, Ricciardelli C, Oehler MK. Chick chorioallantoic membrane assay: a 3D animal model for cancer invasion and metastasis. *Anial Biotechnology.* 2020;221-231. doi: 10.1016/b978-0-12-811710-1.00031-8
  57. Ribatti D. The chick embryo chorioallantoic membrane (CAM). A multifaceted experimental model. *Mech Dev.* 2016;141:70-77. doi: 10.1016/j.mod.2016.05.003
  58. Park JT, Leach SD. Zebrafish model of KRAS-initiated pancreatic cancer. *Anim Cells Syst (Seoul).* 2018;22(6):353-359. doi: 10.1080/19768354.2018.1530301



59. Kucinska M, Murias M, Nowak-Sliwinska P. Beyond mouse cancer models: Three-dimensional human-relevant in vitro and non-mammalian in vivo models for photodynamic therapy. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2017;773:242-262. doi: 10.1016/j.mrrev.2016.09.002
60. Astell KR, Sieger D. Zebrafish In Vivo Models of Cancer and Metastasis. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2020;10(8):a037077. doi: 10.1101/cshperspect.a037077
61. Cabezas-Sainz P, Guerra-Varela J, Carreira MJ, et al. Improving zebrafish embryo xenotransplantation conditions by increasing incubation temperature and establishing a proliferation index with ZFtool. *BMC Cancer.* 2018;18(1):3. doi: 10.1186/s12885-017-3919-8
62. Kong K, Guo M, Liu Y, Zheng J. Progress in Animal Models of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *J Cancer.* 2020;11(6):1555-1567. doi: 10.7150/jca.37529
63. Park JT, Leach SD. Zebrafish model of KRAS-initiated pancreatic cancer. *Anim Cells Syst (Seoul).* 2018;22(6):353-359. doi: 10.1080/19768354.2018.1530301
64. Kucinska M, Murias M, Nowak-Sliwinska P. Beyond mouse cancer models: Three-dimensional human-relevant in vitro and non-mammalian in vivo models for photodynamic therapy. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2017;773:242-262. doi:10.1016/j.mrrev.2016.09.002
65. Astell KR, Sieger D. Zebrafish In Vivo Models of Cancer and Metastasis. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2020;10(8):a037077. doi: 10.1101/cshperspect.a037077
66. Cabezas-Sainz P, Guerra-Varela J, Carreira MJ, et al. Improving zebrafish embryo xenotransplantation conditions by increasing incubation temperature and establishing a proliferation index with ZFtool. *BMC Cancer.* 2018;18(1):3. doi: 10.1186/s12885-017-3919-8
67. Hason M, Bartůněk P. Zebrafish Models of Cancer-New Insights on Modeling Human Cancer in a Non-Mammalian Vertebrate. *Genes (Basel).* 2019;10(11):935. doi: 10.3390/genes10110935
68. Kong K, Guo M, Liu Y, Zheng J. Progress in Animal Models of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *J Cancer.* 2020;11(6):1555-1567. doi: 10.7150/jca.37529
69. Takahashi M, Hori M, Mutoh M, Wakabayashi K, Nakagama H. Experimental animal models of pancreatic carcinogenesis for prevention studies and their relevance to human disease. *Cancers (Basel).* 2011;3(1):582-602. doi: 10.3390/cancers3010582
70. Schook LB, Collares TV, Hu W, et al. A Genetic Porcine Model of Cancer. *PLoS One.* 2015;10(7):e0128864. doi: 10.1371/journal.pone.0128864
71. Bailey KL, Carlson MA. Porcine Models of Pancreatic Cancer. *Front Oncol.* 2019;9:144. doi: 10.3389/fonc.2019.00144
72. Michaelis KA, Zhu X, Burfeind KG, et al. Establishment and characterization of a novel murine model of pancreatic cancer cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2017;8(5):824-838. doi: 10.1002/jcsm.12225
73. Knudsen ES, Balaji U, Mannakee B, et al. Pancreatic cancer cell lines as patient-derived avatars: genetic characterisation and functional utility. *Gut.* 2018;67(3):508-520. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313133
74. Ruggeri BA, Camp F, Miknyoczki S. Animal models of disease: pre-clinical animal models of cancer and their applications and utility in drug discovery. *Biochem Pharmacol.* 2014;87(1):150-161. doi: 10.1016/j.bcp.2013.06.020
75. Takahashi M, Hori M, Mutoh M, Wakabayashi K, Nakagama H. Experimental animal models of pancreatic carcinogenesis for prevention studies and their relevance to human disease. *Cancers (Basel).* 2011;3(1):582-602. doi: 10.3390/cancers3010582
76. Schook LB, Collares TV, Hu W, et al. A Genetic Porcine Model of Cancer. *PLoS One.* 2015;10(7):e0128864. doi: 10.1371/journal.pone.0128864
77. Bailey KL, Carlson MA. Porcine Models of Pancreatic Cancer. *Front Oncol.* 2019;9:144. doi: 10.3389/fonc.2019.00144
78. Lee EJ, Park SJ, Seol A, et al. Establishment of a piglet model for peritoneal metastasis of ovarian cancer. *J Transl Med.* 2022;20(1):329. doi: 10.1186/s12967-022-03533-1
79. Swindle MM, Makin A, Herron AJ, Clubb FJ Jr, Frazier KS. Swine as models in biomedical research and toxicology testing. *Vet Pathol.* 2012;49(2):344-56. doi: 10.1177/0300985811402846. Erratum in: *Vet Pathol.* 2012 Jul;49(4):738.