

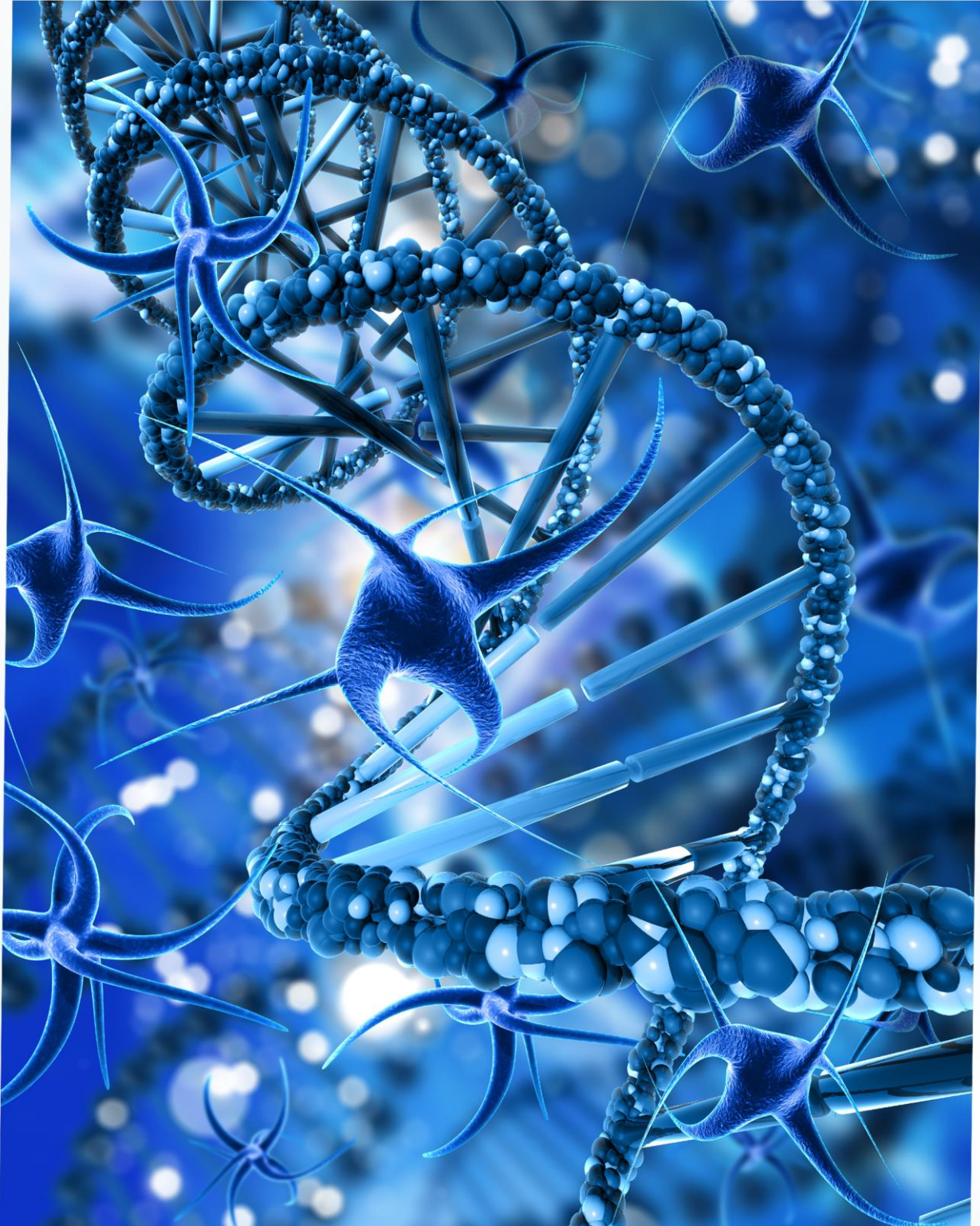


FARABI TIP DERGİSİ

FARABI MEDICAL JOURNAL

VOLUME 3 · ISSUE 3 · September 2024

CİLT 3 · SAYI 3 · Eylül 2024



e-ISSN:2979-9821

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

FARABİ MEDICAL JOURNAL

FARABİ TIP DERGİSİ

OFFICIAL JOURNAL OF FACULTY OF MEDICINE OF KARADENİZ TECHNICAL UNIVERSITY
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ RESMİ DERGİSİ

Journal Owner / İmtiyaz Sahibi

Neşe KAKLIKKAYA, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Editor in Chief / Baş Editör

Orhan DEĞER, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Associated Editor / Editör Yardımcısı

Ahmet MENTEŞE, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Selim DEMİR, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Section Editors / Alan Editörleri

Ahmet ALVER, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Ahmet AYAR, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Ahmet EROĞLU, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Arzu ERDEN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Esin YULUĞ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Gülin RENDA, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Gürdal YILMAZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Murat LİVAOĞLU, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Mustafa KANDAZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Özlem KANBER UZUN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Songül AKTAŞ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Tamer TÜZÜNER, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Turan SET, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Statistics Editor / İstatistik Editörü

Nazım Ercüment BEYHUN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Language Editors / Dil Editörleri

İsmail ABİDİN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Fulya BALABAN YÜCESAN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Layout Editors / Mizanpaj Editörleri

Ertuğrul YİĞİT, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Sevil KÖR, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Advisory Board / Danışma Kurulu

Ahmet Coşkun ÖZDEMİR, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Ali AYGÜN, Ordu University, Ordu, TR

Ali Faruk ÖZYAŞAR, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Ali GÜNER, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Atilla TÜRKİYILMAZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Ayşegül AKAN, University of Health Science, Trabzon, TR

Bahadır TURAN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Başak ARU, Yeditepe University, İstanbul, TR

Başak TOĞAR, Bayburt University, Bayburt, TR

Bircan SÖNMEZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Burhan Hakan KANAT, Malatya Turgut Özal University, Malatya, TR

Cavit BOZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Cengiz DİLBER, Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Kahramanmaraş, TR

Deniz KULAKSIZ, University of Health Science, Trabzon, TR

Didem SEVEN, Yeditepe University, İstanbul, TR

Diler US ALTAY, Ordu University, Ordu, TR

Doğan Sabri TOK, Giresun University, Giresun, TR

Elif AYAZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Elif Nur BARUT, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Emine CANYILMAZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Erdal ÖZER, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Erhan ÇAPKIN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Evrin ÖZKORUMAK KARAGÜZEL, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Giuseppe BIAGINI, University of Modena and Reggio Emilia, Modena, IT

Gül BÜLBÜL MARAŞ, İzmir Demokrasi University, İzmir, TR

Hatice Bengü YALDIZ ÇOBANOĞLU, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Hidayet ERDÖL, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

İbrahim TURAN, University of Health Science, Trabzon, TR

İlker EYÜBOĞLU, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

İlknur KAHRİMAN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

İlknur ERKÖSEOĞLU, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Karolin YANAR, İstanbul University-Cerrahpasa, İstanbul, TR

Leyla BAYKAL SELÇUK, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Murat ÇAKIR, Medical Park Trabzon Karadeniz Hospital, Trabzon, TR

Murat TOPBAŞ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Müge KOPUZ ALVAREZ NOVAL, Yeditepe University, İstanbul, TR

Nergiz ERKUT, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Nurcan KIRICI BERBER, Malatya Turgut Özal University, Malatya, TR

Özgül BAYGIN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Savaş YAYLI, Koç University, İstanbul, TR

Seda GÜLEÇ YILMAZ, Yeditepe University, İstanbul, TR

Selçuk AKTURAN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Sevim GÖNEN, Gazi University, Ankara, TR

Sina COŞKUN, Ondokuz Mayıs University, Samsun, TR

Sinan CANPOLAT, Fırat University, Elazığ, TR

Süha TÜRKMEN, Qatar University, Doha, QA

Süleyman Cihan ERDOĞAN, Yeditepe University, İstanbul, TR

Süleyman TÜREDİ, University of Health Science, Trabzon, TR

Şükür KELEŞ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Ümit ÇOBANOĞLU, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Volkan ERGİN, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

Zehra BATU, İzmir Demokrasi University, İzmir, TR

Bibliographical Advising / Bibliyografik Danışman

Beyhan KARPUZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Design / Tasarım

Gonca ARSLAN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Secretary / Sekreter

Elif ŞAHİN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Journal Communication / Dergi İletişim

Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Farabi Street, 61080, Trabzon, Türkiye.

e-mail: farabimedj@ktu.edu.tr

e-ISSN: 2979-9821

This journal is peer-reviewed and published 4 issues per year.
There is no charge for submitting and publishing articles to our journal.

Hakemli bir dergi olup yılda 4 sayı olarak yayınlanmaktadır.
Dergimize makale göndermek ve yayınlamak için herhangi bir ücret talep edilmemektedir.

Issue Content / Sayı İçeriği

Research Articles / Araştırma Makaleleri

Ahmet Mentese, Selim Demir, Nihal Turkmen-Alemdar, Elif Ayazoglu-Demir, Yüksel Aliyazicioglu

The Effect of Chlorogenic Acid on Methotrexate-Induced Oxidative Stress and Inflammation in Lung Tissue of Rats

(*Şıçanların Akciğer Dokusunda Metotreksat ile Oluşturulan Oksidatif Stres ve İnflamasyon Üzerine Klorojenik Asitin Etkisi*)__71-78

Pınar Sarışın, İmran İnce-Akça, Ahmet Alver

Farelerde Yüksek Yağlı Diyetin Karaciğer Karbonik Anhidraz Aktivitesi Üzerine Etkisinin Araştırılması

(*Investigation of The Effect of High Fat Diet on Liver Carbonic Anhydrase Activity in Mice*)__79-84

Zühal Albayrak, Tijen Acar

Bir Aile Hekimliği Biriminde COVID-19 Tanısı Alanların Özellikleri ve Hastalık Süreçleri

(*Features and Disease Progresses who Diagnosed with COVID-19 in a Family Health Unit*)__85-95

Case Reports / Olgu Sunumları

Fatma Rana Yesilyurt, Rumeysa Beyzanur Gulcebi, Safak Ersoz, Mustafa Kandaz

Skin Spiradenocarcinoma in an Adult Patient: A Case Report

(*Yetişkin Bir Hastada Cilt Spiradenokarsinomu: Bir Olgu Sunumu*)__96-101

Review / Derleme

İlknur Çöllü, Ozan Turamanlar

Glenfatik Sistem

(*The Glymphatic System*)__102-110

Didem Seven

Güncel Epigenetik Tedaviler

(*Current Epigenetic Treatments*)__111-118

Issue Reviewers / Sayı Hakemleri

Ahmet KALAYCIOĞLU, Biruni University, İstanbul, TR

Ali Faruk ÖZYAŞAR, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Basak TOĞAR, Bayburt University, Bayburt, TR

Ceren GÜNENÇ BEŞER, Hacettepe University, Ankara, TR

Derya ÖZSAVCI, Marmara University, İstanbul, TR

Güven TOKSOY, İstanbul University, İstanbul, TR

Hanife KARA, Amasya University, Amasya, TR

Hilal AKSOY, Hacettepe University, Ankara, TR

Hüseyin CAN, İzmir Kâtip Çelebi University, İzmir, TR

Mehmet Ali ÇAN, Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale, TR

Merve TOÇOĞLU, Hacettepe University, Ankara, TR

Mustafa Bayraktar, Atatürk University, Erzurum, TR

Mustafa TOSUN, Sivas Cumhuriyet University, Sivas, TR

Müge KOPUZ ALVAREZ NOVAL, Yedi Tepe University, İstanbul, TR

Seher Nazlı KAZAZ, İstinye University, İstanbul, TR

Selcen ÇELİK UZUNER, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Serap CELİKLER KASIMOĞULLARI, Uludağ University, Bursa, TR

Şule KARABULUT GÜL, Lütfi Kırdar Kartal Training and Research Hospital, İstanbul, TR

Tuğba Raika KIRAN, Malatya Turgut Özal University, Malatya, TR

The Effect of Chlorogenic Acid on Methotrexate-Induced Oxidative Stress and Inflammation in Lung Tissue of Rats

Sıçanların Akciğer Dokusunda Metotreksat ile Oluşturulan Oksidatif Stres ve İnflamasyon Üzerine Klorojenik Asitin Etkisi

Ahmet Mentese^{1,a}, Selim Demir^{2,b,*}, Nihal Turkmen-Alemdar^{3,4,c}, Elif Ayazoglu-Demir^{5,d}, Yüksel Aliyazicioglu^{6,e}

¹Karadeniz Technical University, Vocational School of Health Services, Department of Medical Services and Techniques, 61080, Trabzon, Türkiye.

²Karadeniz Technical University, Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, 61080, Trabzon, Türkiye.

³Karadeniz Technical University, Graduate School of Health Sciences, Department of Medical Biochemistry, 61080, Trabzon, Türkiye.

⁴Recep Tayyip Erdogan University, Vocational School of Health Services, Department of Medical Services and Techniques, 53100, Rize, Türkiye.

⁵Karadeniz Technical University, Macka Vocational School, Department of Chemistry and Chemical Processing Technologies, 61750, Trabzon, Türkiye.

⁶Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, 61080, Trabzon, Türkiye.

*Corresponding author e-mail: selim-demir@hotmail.com

^a<https://orcid.org/0000-0003-2036-5317>

^b<https://orcid.org/0000-0002-1863-6280>

^c<https://orcid.org/0000-0002-8913-8692>

^d<https://orcid.org/0000-0001-7188-2176>

^e<https://orcid.org/0000-0001-9474-4307>

ABSTRACT

Although methotrexate (MTX) is a widely used chemotherapeutic agent, lung toxicity remains a significant problem, limiting its use. The molecular mechanism of MTX-related lung toxicity is not fully understood. However, increased reactive oxygen species-induced oxidative stress (OS) and inflammation play an important role in lung injury. Chlorogenic acid (CHA) is a natural phenolic compound that has been shown in recent years to have beneficial effects in many pathologies associated with OS and inflammation. This study focused on investigating for the first time, the potential therapeutic effects of CHA in the lung tissue of rats exposed to MTX. After lung toxicity was induced in rats by MTX (20 mg/kg) injection on the first day, two different doses of CHA (1.5 and 3 mg/kg) were used for treatment for 3 days. The results showed that CHA treatment reduced the level of pulmonary lipid peroxidation, inflammation and apoptosis and promoted the pulmonary antioxidant system in rats subjected to MTX. Taken together, the antioxidant and anti-inflammatory properties of CHA may play a central role in attenuating MTX-induced lung injury, but the exact mechanism needs to be investigated in more extensive preclinical studies.

Keywords: Apoptosis, Chlorogenic acid, Inflammation, Lung toxicity, Methotrexate, Oxidative stress

ÖZET

Metotreksat (MTX) yaygın olarak kullanılan bir kemoterapötik ajan olmasına rağmen, akciğer toksisitesi önemli bir sorun olmaya devam etmekte ve ilacın kullanımını sınırlamaktadır. MTX'e bağlı akciğer toksisitesinin moleküler mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak artan reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif stres (OS) ve inflamasyon, akciğer hasarında önemli bir rol oynamaktadır. Klorojenik asit (CHA), son yıllarda OS ve inflamasyon ile ilişkili birçok patolojide yararlı etkilere sahip olduğu gösterilen doğal bir fenolik bileşiktir. Bu çalışma, MTX'e maruz bırakılan sıçanların akciğer dokusunda CHA'nın potansiyel terapötik etkilerinin ilk kez araştırılmasına odaklandı. Sıçanlarda ilk gün MTX (20 mg/kg) enjeksiyonu ile akciğer toksisitesi oluşturulduktan sonra, 3 gün boyunca iki farklı dozda CHA (1.5 ve 3 mg/kg) ile tedavi uygulandı. Sonuçlar, CHA tedavisinin, MTX'e maruz bırakılan sıçanlarda pulmoner lipid peroksidasyon, inflamasyon ve apoptoz seviyesini azalttığını ve pulmoner antioksidan sistemi desteklediğini gösterdi. Birlikte ele alındığında, CHA'nın antioksidan ve anti-inflamatuar özellikleri MTX'in neden olduğu akciğer hasarını hafifletmede merkezi bir rol oynayabilir, ancak kesin mekanizmanın daha kapsamlı klinik öncesi çalışmalarla araştırılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer toksisitesi, Apoptoz, İnflamasyon, Klorojenik asit, Metotreksat, Oksidatif stres

INTRODUCTION

Chemotherapy is a method that aims to eliminate cancer cells while causing minimal damage to healthy cells and used to treat many cancers today.¹ Methotrexate (MTX) is a folate inhibitor that is employed in the treatment of ectopic pregnancy and rheumatoid diseases at low doses and in cancer chemotherapy at high doses.² The anticancer effect of MTX is attributed to its capacity to inhibit thymidylate synthesis by suppressing the dihydrofolate reductase enzyme.³ Nevertheless, the advent of adverse effects, including nephro-, haematological- and lung toxicity, particularly in the context of cancer therapy, has constrained the clinical utilisation of this treatment.^{2,4} A significant proportion of patients undergoing MTX therapy experience respiratory complications, including cough, wheezing, shortness of breath and other respiratory problems.⁵ Long-term MTX use can result in the development of lung toxicity, which can manifest as fibrosis, interstitial pneumonia and even serious alveolar damage.^{2,6} The aetiology of MTX-induced tissue damage is underpinned by the presence of oxidative stress (OS) and inflammation, which are caused by an increased amount of reactive oxygen species (ROS).⁷⁻⁹ Glutathione (GSH) is the most important cellular antioxidant molecule, and the reducing power of NADPH is indispensable in the reduction of oxidised GSH.⁹ MTX inhibits the pentose phosphate pathway, which is responsible for the production of NADPH, resulting in a depletion of the cell's GSH pool.¹⁰ MTX also induces the production of ROS.¹¹ MTX exposure results in OS through the concurrent elevation of ROS production and inhibition of the antioxidant system regeneration. Consequently, OS results in the damage of lipids, proteins and DNA.⁹ In general, tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) are considered to be pro-inflammatory cytokines that regulate inflammatory responses.¹² MTX is a known cause of inflammation, with a particular effect of increasing TNF- α concentration.¹³ Chronic inflammation has been shown to further exacerbate OS and apoptosis over time.¹⁴ Therefore, it is of paramount importance to identify molecules that can prevent the lung injury induced by MTX.¹⁵⁻¹⁷

Epidemiological studies have shown that a diet rich in natural products promotes good health and helps in the prevention and treatment of a variety of diseases.¹⁸

Chlorogenic acid (CHA) is a dietary polyphenol found in many natural products, including coffee, apple, pear, strawberry and grape.^{19,20} A series of experimental and clinical studies have demonstrated that CHA can exert beneficial biological effects on a number of different systems, including the nervous, cardiovascular, gastrointestinal, respiratory and reproductive systems.^{20,21} CHA exhibits a multitude of functions, including neuroprotective, antidiabetic, anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial, cardioprotective and antitumor activities.²² The lack of adverse effects on healthy tissues and the favourable tolerability profile in experimental animals and humans have led to an increase in the number of studies investigating the beneficial activities of CHA on an annual basis.^{22,23} Prior investigations have substantiated the therapeutic and/or protective efficacy of CHA against lung injury resulting from lipopolysaccharide (LPS)²⁴, paraquat²⁵ and LPS+polyinosinic/polycytidylic acid²⁶ exposure. Nevertheless, to the best of our knowledge, there are no reports that evaluate the potential beneficial effects of CHA against MTX-associated lung injury. This study represents the first evaluation of the therapeutic effectiveness of CHA in an acute model of MTX-related lung toxicity in rats.

METHODS

Animals

This study was conducted on 9-week-old female Sprague-Dawley rats that were housed in an air-conditioned room (temperature 23 \pm 2°C), maintained on a 12-h light/dark cycle and in laboratory cages, with unrestricted access to pellet feed and tap water *ad libitum*.

Experimental design and treatments

The protocol was approved by the Local Animal Ethics Committee of Karadeniz Technical University (Protocol Number: 2023/08). Following a five-day acclimation period, 30 animals were divided into five groups (six subjects in each group). The groups were designated as follows: Control, MTX, MTX+CHA (1.5 and 3 mg/kg) and CHA only (3 mg/kg). Lung toxicity was induced by a MTX injection in first day of experiment. During the subsequent three days, the MTX group received saline injections. In order to investigate the effectiveness of CHA, two different doses of CHA (1.5 and 3 mg/kg) were administered intraperitoneally to the rats for three days. The doses of CHA²⁷⁻²⁹ and MTX³⁰⁻³² used in the study were determined based on previous experimental

studies. On the 5th day, all rats were sacrificed by cervical dislocation and the removed lung tissues were stored at -80°C for biochemical analysis.

Biochemical assessment

Following homogenisation of the lung tissues in ice-cold phosphate buffered saline and centrifugation, protein determination of the resulting supernatants was conducted via the bicinchoninic acid method.³³ Lipid peroxidation levels were quantified in accordance with the previously described methodology for the measurement of malondialdehyde (MDA).³⁴ Briefly, the supernatants were mixed with 3 mL of 1% phosphoric acid and 1 mL of 0.672% thiobarbituric acid, then placed in a boiling water bath for 1 hour. Following this period, the tubes were cooled and centrifuged at 1800xg for 10 minutes. Two hundred microlitres of each supernatant was transferred to a 96-well plate and the absorbances were read at 532 nm using a microplate reader (Versamax, Molecular Devices, CA, USA). The standard employed was 1,1,3,3-tetramethoxypropane, with the resulting tissue MDA levels expressed as nmol/mg protein.³⁵

The total antioxidant status (TAS) and the total oxidant status (TOS) of lung tissue were quantified using commercially available kits (Rel Assay Kit Diagnostics, Gaziantep, Turkey). Briefly, in the TOS measurement, firstly 45 µL of supernatant was mixed with 300 µL of Reagent 1 (25 mM H₂SO₄) and after 30 seconds the initial absorbance was measured at 530 nm using a spectrophotometer. Then, 15 µL of Reagent 2, which contains o-dianisidine and ferrous ion, were added to the mixture. After 5 minutes of incubation at 37°C, the final absorbance was measured at 530 nm. 10 mmol/L H₂O₂ was used as the standard. The TOS levels of the samples were calculated using the following formula:

$$\text{The TOS level of sample} = (\Delta\text{Abs sample} / (\Delta\text{Abs standard}) \times 10$$

Briefly, in the TAS measurement, firstly 18 µL of supernatant was mixed with 300 µL of Reagent 1 (0.4 mol/L acetate buffer) and after 30 seconds the initial absorbance was measured at 660 nm using a spectrophotometer. Then, 45 µL of Reagent 2, which contains 30 mmol/L ABTS, were added to the mixture. After 5 minutes of incubation at 37°C, the final absorbance was measured at 660 nm.

1 mmol/L trolox was used as the standard. Distilled water was used as the blank. The TAS levels of the samples were calculated using the following formula:

$$\text{The TAS level of sample} = (\Delta\text{Abs blank} - \Delta\text{Abs sample}) / (\Delta\text{Abs blank} - \Delta\text{Abs standard})$$

The OS index (OSI) was calculated using the following formula, based on the TOS and TAS values obtained for the samples:³⁶

$$\text{OSI} = (\text{TOS/TAS}) \times 100$$

In the supernatants, the levels of superoxide dismutase (SOD) as an antioxidant enzyme³⁷, TNF-α as an inflammatory cytokine³⁸ and caspase-3 (CASP3) as an apoptosis marker³⁹ were determined using commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits (BT LAB, Zhejiang, China) in accordance with the manufacturer's recommendations.

Statistical analysis

Each result is expressed as the mean±SEM. The statistical significance of the observed differences between the groups was evaluated by one-way ANOVA and Tukey's post-hoc test. A p-value of less than 0.05 was considered to be statistically significant.

RESULTS

The effects of CHA on OS biomarkers

The changes of tissue OS parameters were presented in Table 1. The levels of tissue MDA, TOS and OSI were increased in the MTX group compared with control group, whereas CHA treatments demonstrated a dose-dependent reduction in MDA, TOS and OSI levels.

The antioxidant capacity of lung tissue in rats treated with MTX was evaluated using TAS and SOD parameters. MTX diminished a significant reduction in the levels of lung TAS and SOD. In contrast, the administration of CHA exhibited a dose-dependent improvement in TAS and SOD levels.

The effects of CHA on inflammation and apoptosis biomarkers

The levels of inflammation and apoptosis in the lung tissue were evaluated using two distinct parameters: TNF-α and CASP3, respectively (Figure 1). MTX triggered a significant elevation in the levels of lung TNF-α and CASP3. Conversely, CHA treatment (in particular at the dose of 3 mg/kg) largely abolished inflammatory and apoptotic processes.

Table 1. Effects of CHA on the levels of OS markers in the lungs of rats treated with MTX

	Control	MTX (20 mg/kg)	MTX+CHA (1.5 mg/kg)	MTX+CHA (3 mg/kg)	CHA (3 mg/kg)
MDA (nmol/mg protein)	10.55±0.70	26.04±3.05***	13.73±1.28###	10.17±0.33###	10.37±0.61
TOS (µmol H ₂ O ₂ equivalent/L)	19.48±0.52	37.23±5.02**	31.83±3.65*	22.14±0.65##	20.79±1.30
TAS (mmol trolox equivalent/L)	7.81±0.64	2.55±0.41***	4.85±0.39**,#	7.84±0.33###,+++	7.93±0.33
OSI (arbitrary unit)	0.26±0.02	1.58±0.31***	0.66±0.06##	0.28±0.01###	0.27±0.02
SOD (ng/mg protein)	0.45±0.04	0.20±0.02*	0.32±0.04	0.46±0.02#	0.59±0.09

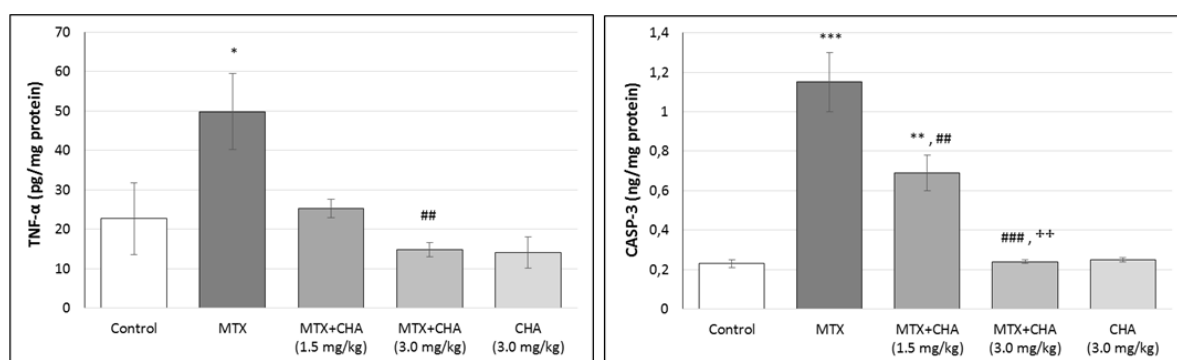
MTX: methotrexate, CHA: chlorogenic acid, MDA: malondialdehyde, TOS: total oxidant status, TAS: total antioxidant status, OSI: oxidative stress index, SOD: superoxide dismutase.

P-values according to one-way ANOVA test, post-hoc Tukey test. Data were expressed as mean±SEM.

Compared with control group *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001.

Compared with MTX group #p<0.05, ##p<0.01 and ###p<0.001.

Compared with MTX+CHA (1.5 mg/kg) group +++p<0.001.

**Figure 1.** Effects of CHA on the levels of inflammatory and apoptosis markers in the lungs of rats treated with MTX

MTX: methotrexate, CHA: chlorogenic acid, TNF- α : tumor necrosis factor-alpha, CASP3: caspase-3.

P-values according to one-way ANOVA test, post-hoc Tukey test. Data were expressed as mean±SEM.

Compared with control group *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001.

Compared with MTX group #p<0.05, ##p<0.01 and ###p<0.001.

Compared with MTX+CHA (1.5 mg/kg) group ++p<0.01.

DISCUSSION

The current study aimed to determine for the first time the therapeutic effect of CHA on MTX-associated lung injury. MTX was administered intraperitoneally at a dose of 20 mg/kg in a single injection, which is a frequently used dose in the literature to induce lung toxicity.³⁰⁻³² Subsequently, the rats were administered two distinct doses of CHA for a period of three days.^{29,40} The results demonstrated that MTX induced OS, inflammation, and apoptosis in lung tissue, while CHA treatment mitigated this damage.

Although the precise mechanism by which MTX induces tissue toxicity remains elusive, one of the most compelling theories is that it results from increased OS, characterised by elevated levels of ROS and a deficiency in the antioxidant system.^{1,8} As a consequence of elevated ROS attack, membrane

phospholipids are predominantly oxidised, resulting in elevated MDA levels, a by-product of this oxidation.^{1,29} The TOS, TAS and OSI have been employed with considerable frequency in recent years as straightforward and useful parameters for evaluating the overall OS degree in a biological sample.⁴¹ SOD is an important cytoprotective enzyme that prevents the conversion of superoxide radicals to hydroxyl radicals.^{37,42} Consistent with previous reports⁴³⁻⁴⁵, it was determined that only MTX administration increased lipid peroxidation in the lung tissue of rats and caused OS by suppressing the antioxidant system. Conversely, the administration of CHA following MTX application has been observed to enhance the antioxidant system and to reduce OS levels dose-dependently. In a similar vein with our results, Vardi *et al.* have reported that CHA has the potential to exert a protective effect on the

cerebellum by suppressing MDA levels while promoting the levels of catalase (CAT), SOD and GSH in an experimental model of MTX-induced cerebellar injury.¹⁸ In another experimental approach, Ali *et al.* reported that CHA can suppress levels of lipid peroxidation and protect liver tissue from apoptosis by supporting antioxidant system elements, including glutathione reductase, glutathione peroxidase, SOD, CAT and GSH, in an MTX-induced liver injury model.¹ In addition to the aforementioned findings, it has been demonstrated that CHA can also mitigate oxidative tissue damage in experimental models of triptolide-induced hepatotoxicity⁴⁶, 5-fluorouracil-induced ovotoxicity⁴⁰ and testicular ischemia/reperfusion injury⁴⁷. The powerful antioxidant activity of CHA is due to its hydroxyl, carboxyl and *o*-diphenol hydroxyl groups, which help it to donate electrons and quench free radical.²² The reduction in OS levels following the administration of MTX and concurrent treatment with CHA may be attributed to the *in vivo* antioxidant activity of CHA.

In addition, the mechanisms of inflammation and inflammation-induced apoptosis have been proposed as other important mechanisms for MTX-associated tissue damage.^{45,48} Although inflammation is an acute adaptive response of the body to an invading attack, in the process of chronic inflammation, the sustained production of TNF- α increases tissue destruction, resulting in the activation of CASP3.⁴⁹ CASP3 activation is the main indicator that a cell has entered the irreversible apoptotic process.⁵⁰ In addition, high levels of MDA and TNF- α can induce apoptosis by activating CASP3.⁴⁵ Consistent with previous reports^{15,50}, it was determined that only MTX administration increased inflammation and apoptosis levels in the lung tissue. Conversely, the administration of CHA following MTX has been observed to suppress the inflammation and apoptosis levels dose-dependently. In parallel with our findings, Xu *et al.* have demonstrated that CHA exhibit a hepatoprotective effect by inhibiting the nuclear factor-kappa B (NF- κ B) pathway and reducing the levels of toll like receptor 4 (TLR4), peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1 α) and TNF- α in an experimental liver injury model induced by LPS.⁵¹ In another experimental study, Ji *et al.* demonstrated that CHA can suppress inflammation-induced liver apoptosis by inhibiting the extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2), c-Jun N-terminal

kinases (JNK) and p38 mitogen-activated protein kinases (p38 MAPK) pathways in acetaminophen-induced liver injury.⁵² The reduction in the levels of inflammation and inflammation-induced apoptosis observed following the administration of MTX in conjunction with CHA treatment may be attributed to the *in vivo* anti-inflammatory activity of CHA. In support of this hypothesis, the anti-inflammatory activity of CHA is attributed to its capacity to inhibit the synthesis and secretion of pro-inflammatory mediators, including TNF- α and IL-6.²² A various of studies have indicated that CHA exerts a suppressive effect on a multitude of inflammatory signalling pathways, including the Janus kinase/signal transduction and transcription activation (JAK/STAT), NF- κ B and NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3) inflammasome pathways. Furthermore, it has been demonstrated that CHA have the capacity to activate nuclear factor-erythroid 2 related factor 2 (Nrf2) signalling, which plays a pivotal role in regulating antioxidant and anti-inflammatory mechanisms.^{20,22} The most significant limitation of this study is that the signalling pathways pertaining to OS and inflammation could not be incorporated into the research design. It would be beneficial for future studies to elucidate the therapeutic effect of CHA against MTX-induced lung injury through the inclusion of more comprehensive molecular studies.

CONCLUSION

This study revealed for the first time the therapeutic effects of CHA in MTX-induced lung toxicity. The therapeutic activity of CHA may be attributed to a combination of its antioxidant and anti-inflammatory properties. Nevertheless, further molecular studies will be beneficial in elucidating the precise mechanism underlying the lung-protective effects of CHA.

Acknowledgement

The authors wish to thank Sait Al and Ibrahim Aydin from Surgical Practice and Research Center of Karadeniz Technical University for professional assistance with the experimental studies.

Authorship contribution statement

Concept and design: AM and SD.

Acquisition of data: AM, SD, NTA and EAD.

Analysis and interpretation of data: AM, SD, NTA, EAD and YA.

Drafting of the manuscript: AM and SD.

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: YA.

Statistical analysis: AM.

Declaration of competing interest

None of the authors have potential conflicts of interest to be disclosed.

Ethical approval

This study was approved by the Local Animal Research Ethics Committee of Karadeniz Technical University (Protocol no: 2023/08) and performed according to the animal research reporting of *in vivo* experiments (ARRIVE) guidelines.

Availability of data and materials

All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

Funding

No financial support was received for this research.

REFERENCES

1. Ali N, Rashid S, Nafees S, et al. Protective effect of chlorogenic acid against methotrexate induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat liver: An experimental approach. *Chem Biol Interact.* 2017;272:80-91. doi:10.1016/j.cbi.2017.05.002
2. Hamed KM, Dighriri IM, Baomar AF, et al. Overview of methotrexate toxicity: A comprehensive literature review. *Cureus.* 2022;14(9):e29518. doi:10.7759/cureus.29518
3. Choy EH, Smith C, Doré CJ, Scott DL. A meta-analysis of the efficacy and toxicity of combining disease-modifying anti-rheumatic drugs in rheumatoid arthritis based on patient withdrawal. *Rheumatology (Oxford).* 2005;44(11):1414-1421. doi:10.1093/rheumatology/kei031
4. Schmiegelow K. Advances in individual prediction of methotrexate toxicity: A review. *Br J Haematol.* 2009;146(5):489-503. doi:10.1111/j.1365-2141.2009.07765.x
5. Solomon DH, Glynn RJ, Karlson EW, et al. Adverse effects of low-dose methotrexate: A randomized trial. *Ann Intern Med.* 2020;172(6):369-380. doi:10.7326/M19-3369
6. Ohbayashi M, Suzuki M, Yashiro Y, et al. Induction of pulmonary fibrosis by methotrexate treatment in mice lung *in vivo* and *in vitro*. *J Toxicol Sci.* 2010;35(5):653-661. doi:10.2131/jts.35.653
7. Çakır T, Özkan E, Dulundu E, et al. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats. *J Pharm Pharmacol.* 2011;63(12):1566-1571. doi:10.1111/j.2042-7158.2011.01359.x
8. Mukherjee S, Ghosh S, Choudhury S, et al. Pomegranate reverses methotrexate-induced oxidative stress and apoptosis in hepatocytes by modulating Nrf2-NF-κB pathways. *J Nutr Biochem.* 2013;24(12):2040-2050. doi:10.1016/j.jnutbio.2013.07.005
9. Roghani M, Kalantari H, Khodayar MJ, et al. Alleviation of liver dysfunction, oxidative stress and inflammation underlies the protective effect of ferulic acid in methotrexate-induced hepatotoxicity. *Drug Des Devel Ther.* 2020;14:1933-1941. doi:10.2147/DDDT.S237107
10. Babiak RM, Campello AP, Carnieri EG, Oliveira MB. Methotrexate: pentose cycle and oxidative stress. *Cell Biochem Funct.* 1998;16(4):283-293. doi:10.1002/(SICI)1099-0844(1998120)16:4<283::AID-CBF801>3.0.CO;2-E
11. Jahovic N, Çevik H, Şehirli AÖ, Yeğen BÇ, Şener G. Melatonin prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats. *J Pineal Res.* 2003;34(4):282-287. doi:10.1034/j.1600-079X.2003.00043.x
12. Demir S, Kazaz IO, Kerimoglu G, et al. Gallic acid attenuates torsion/detorsion-induced testicular injury in rats through suppressing of HMGB1/NF-κB axis and endoplasmic reticulum stress. *Rev Int Androl.* 2024;22(1):1-7. doi:10.22514/j.androl.2024.001
13. Khalifa MMA, Bakr AG, Osman AT. Protective effects of phloridzin against methotrexate-induced liver toxicity in rats. *Biomed Pharmacother.* 2017;95:529-535. doi:10.1016/j.biopha.2017.08.121
14. Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20(7):1126-1167. doi:10.1089/ars.2012.5149
15. Mammadov R, Suleyman B, Akturan S, et al. Effect of lutein on methotrexate-induced oxidative lung damage in rats: A biochemical and histopathological assessment. *Korean J Intern Med.* 2019;34:1279-1286. doi:10.3904/kjim.2018.145
16. Abosrea AM, Aboul Ezz HS, Mahmoud SM, Mousa MR, Ahmed NA. The potential role of pumpkin seeds oil on methotrexate-induced lung toxicity. *Sci Rep.* 2023;13(1):7321. doi:10.1038/s41598-023-34143-6
17. Abdalhameid E, Abd El-Haleim EA, Abdelsalam RM, Georgy GS, Fawzy HM, Kenawy SA. Cinnamic acid mitigates methotrexate-induced lung fibrosis in rats: comparative study with pirfenidone. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2024;397(2):1071-1079. doi:10.1007/s00210-023-02652-w
18. Vardi N, Parlakpınar H, Ates B. Beneficial effects of chlorogenic acid on methotrexate-induced cerebellar Purkinje cell damage in rats. *J Chem Neuroanat.* 2012;43(1):43-47. doi:10.1016/j.jchemneu.2011.09.003
19. Shin HS, Satsu H, Bae MJ, et al. Anti-inflammatory effect of chlorogenic acid on the IL-8 production in Caco-2 cells and the dextran sulphate sodium-induced colitis symptoms in C57BL/6 mice. *Food Chem.* 2015;168:167-175. doi:10.1016/j.foodchem.2014.06.100
20. Lu H, Tian Z, Cui Y, Liu Z, Ma X. Chlorogenic acid: A comprehensive review of the dietary sources, processing effects, bioavailability, beneficial properties, mechanisms of action, and future directions. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2020;19(6):3130-3158. doi:10.1111/1541-4337.12620
21. Liang N, Kitts DD. Role of chlorogenic acids in controlling oxidative and inflammatory stress conditions. *Nutrients.* 2015;8(1):16. doi:10.3390/nu8010016
22. Nguyen V, Taine EG, Meng D, Cui T, Tan W. Chlorogenic acid: A systematic review on the biological functions, mechanistic actions, and therapeutic

- potentials. *Nutrients*. 2024;16(7):924. doi:10.3390/nu16070924
23. Gupta A, Atanasov AG, Li Y, Kumar N, Bishayee A. Chlorogenic acid for cancer prevention and therapy: Current status on efficacy and mechanisms of action. *Pharmacol Res*. 2022;186:106505. doi:10.1016/j.phrs.2022.106505
 24. Lv B, Guo J, Du Y, et al. Chlorogenic acid reduces inflammation by inhibiting the elevated expression of KAT2A to ameliorate lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Br J Pharmacol*. 2023;180(16):2156-2171. doi:10.1111/bph.16069
 25. Larki-Harchegani A, Fayazbakhsh F, Nourian A, Nili-Ahmadabadi A. Chlorogenic acid protective effects on paraquat-induced pulmonary oxidative damage and fibrosis in rats. *J Biochem Mol Toxicol*. 2023;37(7):e23352. doi:10.1002/jbt.23352
 26. Jain S, Saha P, Syamprasad NP, et al. Targeting TLR4/3 using chlorogenic acid ameliorates LPS+POLY I:C-induced acute respiratory distress syndrome via alleviating oxidative stress-mediated NLRP3/NF- κ B axis. *Clin Sci (Lond)*. 2023;137(10):785-805. doi:10.1042/CS20220625
 27. Domitrović R, Cvijanović O, Šušnić V, Katalinić N. Renoprotective mechanisms of chlorogenic acid in cisplatin-induced kidney injury. *Toxicology*. 2014;324:98-107. doi:10.1016/j.tox.2014.07.004
 28. Park SH, Baek SI, Yun J, et al. IRAK4 as a molecular target in the amelioration of innate immunity-related endotoxic shock and acute liver injury by chlorogenic acid. *J Immunol*. 2015;194(3):1122-1130. doi:10.4049/jimmunol.1402101
 29. Ayazoglu Demir E, Mentese A, Livaoglu A, Alemdar NT, Aliyazicioglu Y, Demir S. Chlorogenic acid attenuates cisplatin-induced ovarian injury in rats. *Drug Chem Toxicol*. 2024;47(2):213-217. doi:10.1080/01480545.2023.2172181
 30. Erbogga M, Aktas C, Erbogga ZF, Donmez YB, Gurel A. Quercetin ameliorates methotrexate-induced renal damage, apoptosis and oxidative stress in rats. *Ren Fail*. 2015;37(9):1492-1497. doi:10.3109/0886022X.2015.1074521
 31. Yuksel Y, Yuksel R, Yagmurca M, et al. Effects of quercetin on methotrexate-induced nephrotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol*. 2017;36(1):51-61. doi:10.1177/0960327116637414
 32. Sultana S. Protective effect of baicalin on methotrexate-induced mitochondrial damage in testicular tissues of rats. *J King Saud Univ Sci*. 2022;34:102343. doi:10.1016/j.jksus.2022.102343
 33. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem*. 1985;150(1):76-85. doi:10.1016/0003-2697(85)90442-7
 34. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*. 1978;86(1):271-278. doi:10.1016/0003-2697(78)90342-1
 35. Demir S, Kazaz IO, Kerimoglu G, et al. Propolis ameliorates ischemia/reperfusion-induced testicular damage by reducing oxidative stress. *Rev Int Androl*. 2023;21(3):100364. doi:10.1016/j.androl.2023.100364
 36. Demir S, Mentese A, Livaoglu A, Demir EA, Alemdar NT, Aliyazicioglu Y. Therapeutic effect of sinapic acid against 5-fluorouracil-induced oxidative stress and inflammation in rat ovary: An experimental approach. *Farabi Med J*. 2023;2(2):1-7. doi:10.59518/farabimedj.1221397
 37. Islam MN, Rauf A, Fahad FI, et al. Superoxide dismutase: An updated review on its health benefits and industrial applications. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2022;62(26):7282-7300. doi:10.1080/10408398.2021.1913400
 38. Van Loo G, Bertrand MJM. Death by TNF: A road to inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2023;23(5):289-303. doi:10.1038/s41577-022-00792-3
 39. Shalini S, Dorstyn L, Dawar S, Kumar S. Old, new and emerging functions of caspases. *Cell Death Differ*. 2015;22(4):526-539. doi:10.1038/cdd.2014.216
 40. Mentese A, Demir S, Alemdar NT, Aliyazicioglu Y, Deger O. The effect of chlorogenic acid on 5-fluorouracil-induced oxidative damage in rat ovarian tissue. *Farabi Med J*. 2022;1(1):1-7.
 41. Ayazoglu Demir E, Mentese A, Kucuk H, Alemdar NT, Demir S, Aliyazicioglu Y. N-Acetylcysteine ameliorates 5-fluorouracil-induced ovarian injury in rats. *Clin Exp Health Sci*. 2023;13(4):776-781. doi:10.33808/clinexphealthsci.1199615
 42. Ayazoglu Demir E, Mentese A, Kucuk H, Alemdar NT, Demir S. The therapeutic effect of silibinin against 5-fluorouracil-induced ovarian toxicity in rats. *J Biochem Mol Toxicol*. 2023;37(9):e23408. doi:10.1002/jbt.23408
 43. Kahraman H, Kurutaş E, Tokur M, et al. Protective effects of erythropoietin and N-acetylcysteine on methotrexate-induced lung injury in rats. *Balkan Med J*. 2013;30(1):99-104. doi:10.5152/balkanmedj.2012.078
 44. Kalemci S, Dirican N, Cetin ES, et al. The efficacy of minocycline against methotrexate-induced pulmonary fibrosis in mice. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013;17(24):3334-3340
 45. Zaki SM, Hussein GHA, Khalil HMA, Abd Algaeel WA. Febuxostat ameliorates methotrexate-induced lung damage. *Folia Morphol (Warsz)*. 2021;80(2):392-402. doi:10.5603/FM.a2020.0075
 46. Wang JM, Chen RX, Zhang LL, et al. In vivo protective effects of chlorogenic acid against triptolide-induced hepatotoxicity and its mechanism. *Pharm Biol*. 2018;56(1):626-631. doi:10.1080/13880209.2018.1527370
 47. Kazaz IO, Demir S, Kerimoglu G, et al. Chlorogenic acid ameliorates torsion/detorsion-induced testicular injury via decreasing endoplasmic reticulum stress. *J Pediatr Urol*. 2022;18(3):289.e1-289.e7. doi:10.1016/j.jpuro.2022.02.013
 48. Ali YA, Ahmed AAE, Abd El-Raouf OM, Elkhoely A, Gad AM. Polydatin combats methotrexate-induced pulmonary fibrosis in rats: Involvement of biochemical and histopathological assessment. *J Biochem Mol Toxicol*. 2022;36(5):e23019. doi:10.1002/jbt.23019
 49. Althagafy HS, Sharawi ZW, Batawi AH, et al. Buspirone attenuated methotrexate-induced hippocampal toxicity in rats by regulating Nrf2/HO-1, PPAR- γ , NF- κ B/nNOS, and ROS/NLRP3/caspase-1

- signaling pathways. *J Biochem Mol Toxicol*. 2023;37(9):e23414. doi:10.1002/jbt.23414
50. Kurt A, Tumkaya L, Turut H, et al. Protective effects of infliximab on lung injury induced by methotrexate. *Arch Bronconeumol*. 2015;51(11):551-557. doi:10.1016/j.arbres.2015.03.018
51. Xu Y, Chen J, Yu X, et al. Protective effects of chlorogenic acid on acute hepatotoxicity induced by lipopolysaccharide in mice. *Inflamm Res*. 2010;59(10):871-817. doi:10.1007/s00011-010-0199-z
52. Ji L, Jiang P, Lu B, et al. Chlorogenic acid, a dietary polyphenol, protects acetaminophen-induced liver injury and its mechanism. *J Nutr Biochem*. 2013;24(11):1911-1919. doi:10.1016/j.jnutbio.2013.05.007
- To Cite:** Mentese A, Demir S, Turkmen-Alemdar N, Ayazoglu-Demir E, Aliyazicioglu Y. The Effect of Chlorogenic Acid on Methotrexate-Induced Oxidative Stress and Inflammation in Lung Tissue of Rats. *Farabi Med J*. 2024;3(3):71-78. doi:10.59518/farabimedj.1504348

Farelerde Yüksek Yağlı Diyetin Karaciğer Karbonik Anhidraz Aktivitesi Üzerine Etkisinin Araştırılması

Investigation of The Effect of High Fat Diet on Liver Carbonic Anhydrase Activity in Mice

Pınar Sarışın^{1,a}, İmran İnce-Akça^{2,b}, Ahmet Alver^{3,c,*}

¹Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Rize, Türkiye

²Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tokat, Türkiye

³Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Trabzon, Türkiye

*Sorumlu yazar e-posta: alver61@yahoo.com

^a<https://orcid.org/0009-0009-3841-662X>

^b<https://orcid.org/0000-0003-2232-3444>

^c<https://orcid.org/0000-0002-9617-6689>

ÖZET

Prokaryotlardan ökaryotlara kadar çok geniş bir dağılıma sahip olan karbonik anhidrazlar (CA, E.C.4.2.1.1, karbonat hidrolizaz), bikarbonatın (HCO₃⁻) dehidrasyon veya (CO₂) karbondioksitin hidrasyonunu dönüşümlü olarak katalizleyen, aktif bölgesinde prostetik grup olarak Zn²⁺ içeren metaloenzimlerdir. Bu enzimler CO₂ taşınması, dokularda elektrolit salgılanması, kemik resorpsiyonu, tümör oluşumu ve idrar asidifikasyonu gibi birçok fizyolojik süreçte görev almaktadır. Çalışmada yüksek yağlı diyetin *de novo* lipid sentezinin öncü bileşiği olan HCO₃⁻'i sentezleyen CA aktivitesi üzerine etkilerinin, fare karaciğerinde incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında, 16 adet erkek C57BL/6J ırkı fare Research Diets' ten alınan yüksek yağlı ve standart fare yemleri ile beslendi. Dört aylık beslenme periyodunun sonunda farelerin ağırlıkları ölçüldü ve dekapitasyon ile sakrifiye edildi. Karaciğer dokuları homojenize edildikten sonra CA aktiviteleri potansiyometrik metod ile ölçüldü. Standart diyet ile beslenen farelerin CA aktivitesi 0.87±0.26 U/mg protein olarak ölçülürken, Yüksek yağlı diyet grubundaki farelerde ise aktivite 0,60±0,15 U/mg protein olarak bulundu (p=0.038). Sonuç olarak, yüksek yağlı diyet kullanımının *de novo* lipid sentezinde öncü bileşiği sentezleyen CA aktivitesini fare karaciğerinde azalttığı ve bu azalışa metabolik ve hormonal değişikliklerin sebep olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer, Karbonik anhidraz, Yüksek yağlı diyet

ABSTRACT

Carbonic anhydrases (CA, E.C.4.2.1.1, carbonate hydrolase), which have a very wide distribution from prokaryotes to eukaryotes, are metalloenzymes containing Zn²⁺ as a prosthetic group in the active site that alternately catalyze the dehydration of bicarbonate (HCO₃⁻) or hydration of carbondioxide (CO₂). These enzymes are involved in many physiological processes such as transport of CO₂, electrolyte secretion in tissues, bone resorption, tumorigenesis and urinary acidification. In this study, it is aimed to investigate of the effect's high fat diet on the activity of CA, synthesized HCO₃⁻ that is the precursor of *de novo* lipid synthesis, in mice liver. Within the study, 16 male C57BL / 6J mice fed with high fat and standard mouse feed from Research Diets. At the end of the four-month feeding period, mice were weighed and sacrificed by decapitation. After the liver tissues were homogenized, CA activities were measured by potentiometric method. The activity of the standard diet fed mice was measured as 0.87±0.26 U/mg protein. For the rats in the high fat dietary group, the activity was 0.60±0.15 U/mg protein (p=0.038). As a result, it was concluded that the use of high-fat diet reduced activity of CA synthesized the precursor substance for *de novo* lipid synthesis in mice live and metabolic and hormonal changes may be caused this decrease.

Keywords: Carbonic anhydrase, High fat diet, Liver

GİRİŞ

Karbonik anhidraz (CA, E.C.4.2.1.1, karbonat hidrolizaz), tüm canlılarda yaygın olarak bulunan, aktif bölgesinde prostetik grup olarak Zn^{2+} içeren, monomerik yapıya sahip bir metaloenzimdir. CA, bikarbonatın (HCO_3^-) dehidrasyon reaksiyonunu veya CO_2 'in hidrasyonunu dönüşümlü olarak katalizler. Bu enzim ilk olarak memeli eritrositlerden 1933 yılında saflaştırılmıştır.^{1,2} CA, yukarıda bahsedilen reaksiyonun yanında karbosilik, sülfonik, karbonik ve fosforik esterlerin, aldehytlerin, piruvatın hidroliz reaksiyonunu da katalizler. Ancak bunların fizyolojik önemi tam olarak ortaya konulamamıştır.³ CA katalizlediği bu reaksiyon ile CO_2 ve bikarbonatın akciğer ve dokular arasında taşınmasında, pH regülasyonunda, dokularda elektrolit salgılanmasında, birçok biyosentez reaksiyonlarında (lipogenez, glukoneogenez vs.), kalsifikasyon, kemik resorpsiyonu, tümör oluşumu, idrar asidifikasyonu gibi birçok fizyolojik ve patolojik süreçlerde yer almaktadır.^{4,5}

CA, prokaryotlardan ökaryotlara kadar oldukça geniş bir dağılıma sahip olmakla beraber, α , β , γ , δ , ϵ , η karbonik anhidrazlar olmak üzere 6 adet birbirinden farklı ve bağımsız gen ailesine sahiptir. Karbonik anhidrazın en fazla bilinen ve aydınlanmış olan sınıfı alfa ailesidir. Alfa ailesinin 16 adet izoenzimi bulunmaktadır. Bunların 13 tanesi aktif izoform (CA I-VA, VB, VI, VII, IX ve XII-XV) ve 3 tanesi inaktif izoformdan (VIII, X, XI) oluşur. CA I, II, III, VII ve XIII sitozolde, CA IV, IX, XII, XIV, XV hücre membranında, CA-VI salgısal, CA-VA ve VB mitokondride bulunur.⁶

Karaciğer yakıt metabolizmasında, sindirimde ve yabancı maddelerin detoksifikasyonu ve eliminasyonunda merkezi ve kritik biyokimyasal rolü olan bir organdır. Sindirim sisteminden gelen kanın tamamı ilk olarak karaciğerden geçer. Burada besinlerin sindiriminden kaynaklanan ürünler işlenir, dönüştürülür ve depolanır. Karaciğer proteinlerin, karbohidratların ve lipitlerin metabolizmasında merkezi role sahiptir.⁷ Karaciğerde *de novo* yağ asidi sentezi için gerekli olan bikarbonatı sağlayan sitozolik CA'lar (CA I, CA II) ve mitokondriyal CA V bol miktarda bulunmaktadır. Ayrıca yakıt metabolizması ile ilişkisi tam gösterilmemiş olmakla beraber CA III enzimi de erkek ve dişi rodentlerin karaciğerinde bulunmaktadır. Yine hepatositlerin membranlarında CA IV enzimi de bulunmaktadır. Bu enzimin hepatositik plazma membranlarında bikarbonat taşınması ile ilgilidir.^{8,9,10}

Bu çalışmada yüksek yağlı diyet kullanımının *de novo* lipit sentezinde öncü bileşiği sentezleyen CA aktivitesi üzerine etkilerinin fare karaciğerinde araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEM

Deney Hayvanları

Yapılan deneylerin tamamı, Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan deneyleri yerel etik kurulunun 2010/39 protokol no'lu etik kurul onayı ile sakrifiye edilmiş hayvanların karaciğerlerinde yapılmıştır. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen C57BL/6J ırkı 16 adet, 4-5 haftalık, 10-15 g ağırlığında erkek farelerden alınan karaciğer dokusu örnekleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan yemler (D12550J ve D12492) Research Diets'ten satın alınmıştır.

Çalışmaya dahil edilen tüm fareler, 15 gün süreyle, kalorininin %70'ini karbohidrattan, %20'sini proteinden, %10'unu yağdan sağlandığı standart fare yemi (D12550J) ile beslendi. Yem ve su *ad libitum* olarak verildi. On beş gün sonra fareler rastgele her grupta 8 adet fare olacak şekilde 2 gruba ayrıldı ve tartım işlemleri gerçekleştirildi.

I. Grup (Kontrol grubu): Kalorisi % 70 karbohidrat, % 20 protein, %10 yağ'dan oluşan standart fare yemi (D12550J) ile beslendi.

II. Grup (Obez grup): Kalorisi %60 yağ, %20 karbohidrat, %20 protein'den oluşan yüksek kalorili yem (D12492) ile beslendi. Farelerin kullandığı yemler D12550J ve D12492 yemlerin içeriği tablo 1 ve tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 1. Standart yemin içeriği

D12550J kodlu standart sıçan yemi içeriği	g (%)	K. kalori (%)
Protein	19.2	20
Karbohidrat	67.3	70
Yağ	4.3	10
Toplam kalori	3.83	100

Tablo 2. Yüksek kalorili sıçan yeminin içeriği

D12492 kodlu standart sıçan yemi içeriği	g (%)	K. Kalori (%)
Protein	26	20
Karbohidrat	26	20
Yağ	35	60
Toplam kalori	5.24	100

Toplam dört aylık beslenme periyodunun sonunda, farelerin tartımı gerçekleştirildi ve saat 09:00-10:00 arasında dekapitasyon ile sakrifiye edildi. Alınan serum ve karaciğer dokuları ependorflara konularak analiz sürelerine kadar -80°C'de saklandı.

Karaciğer dokusunda karbonik anhidraz aktivitesinin ölçümü

Karaciğer dokusunda yaklaşık 40 mg alınarak, doku buz içinde bekleyen 500 µL Tris HCl tamponuna (50mM Tris HCl içeren tampon, pH:7.5) konuldu. Dokular buz içinde 10 s süre ile el homojenizatörü ile homojenize edildi. Homojenize doku +4°C'de, 12000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Pellet kısmı uzaklaştırılıp kalan süpernatant ikinci kez 12000 rpm'de +4°C'de santrifüj edildi. Pellet kısmı uzaklaştırılıp, süpernatant kısmında enzim ve protein ölçümü yapıldı.

Karbonik anhidraz hidrataz aktivitesi Wilbur-Anderson metodu ile potansiyometrik olarak ölçüldü.¹¹ Bu yöntem, 20 mM Tris-Baz tamponunun 0°C'de, pH'nın 8.3'ten 6.3'e düştüğü ana kadar geçen zamanın ölçülmesi esasına dayanır. Enzim katalizsiz sürenin (kör) yarısını veren CA aktivitesi, 1 Enzim ünitesi (1 Enzim ünitesi: Wilbur-Anderson ünitesi) olarak kabul edildi. $EU = t_0 - t_c / t_c$ formülü kullanılarak enzim aktivitesi hesaplandı (t_c : Enzimatik Reaksiyonların pH Değişim Süresi (saniye), t_0 : Enzimatik Olmayan Reaksiyonlardaki pH Değişim Süresi, EU: Enzim Ünitesi (Wilbur-Anderson ünitesi). Sonuçlar EU/mg protein olarak ifade edildi. Ölçüm yönteminin %CV değeri %5.7 olarak bulundu.

Serum glukoz, TAG ve insülin ölçümü

Deneyde kullanılan farelerden elde edilen serum örneklerinde glukoz ve triaçilgliserol (TAG) ölçümleri Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya laboratuvarındaki otoanalizatörlerde gerçekleştirildi. İnsülin değerleri ise üretici firmanın önerdiği protokole göre ticari ELISA kiti (Ultra Sensitive Mouse ELISA, Crystal Chem. USA) kullanılarak belirlendi.

İstatistiksel analiz

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Smirnov testi ile kontrol edildi. İkili karşılaştırmalar Mann-

Whitney U testi ile yapıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

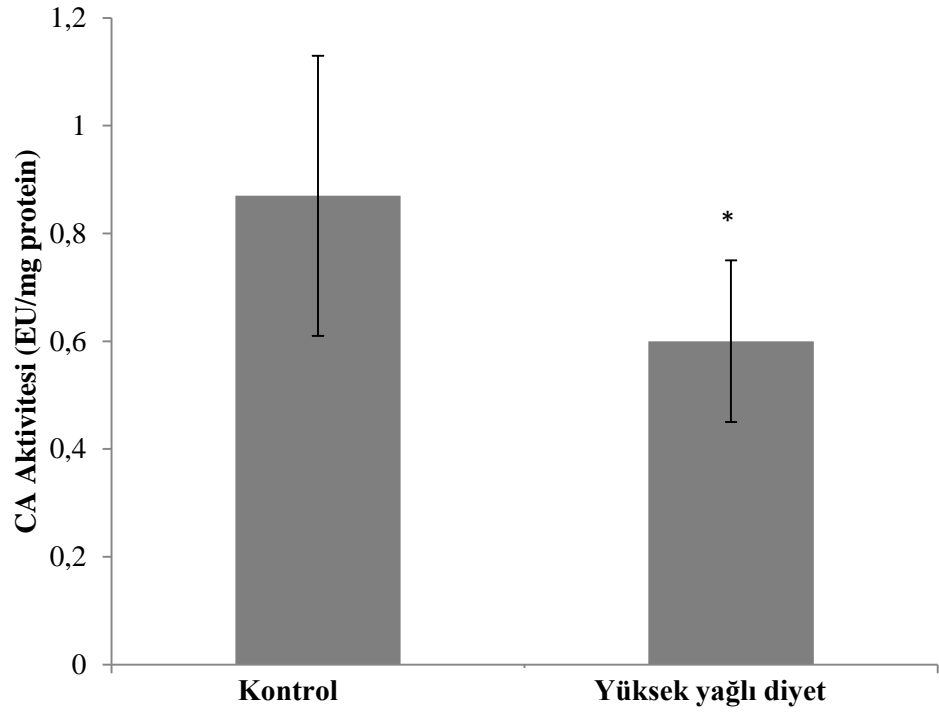
Dört aylık besleme periyodunun sonunda, farelerde gözlenen ağırlık, serum glukoz, TAG, insülin değerleri Tablo 3'te verilmiştir. Farelerin son ağırlıkları yüksek yağlı diyetle beslenenlerde, kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p < 0.0001$). Açlık serum glukoz değerleri kontrol grubunda, yüksek yağlı diyetle beslenen farelere göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük bulundu ($p = 0.049$). Kontrol farelerin serum TAG değerleriyle yüksek yağ içerikli diyetle beslenen farelerin TAG değerleri karşılaştırıldığında obez grupta istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($p = 0.015$). Serum insülin düzeyleri karşılaştırıldığında, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde insülin değerinin, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi ($p = 0.017$). Sonuçlar beraber değerlendirildiğinde, yüksek yağlı diyet kullanımının, farelerde hiperglisemik, hiperinsülinemik ve hipertrigliseridemik bir obez durumu tetiklediği görülmektedir.

Tablo 3. Deney gruplarında ağırlık ve serum parametrelerinin değerleri

	Kontrol (Standart diyet)	Obez (Yüksek yağlı diyet)
Başlangıç ağırlık (g)	16.5 ± 1.1	17.2 ± 0.8
Son ağırlık (g)	26.6±2	35.4±6*
Glukoz (mg/dL)	132±34	162±32*
Trigliserit (mg/ml)	84±14	105±17*
İnsülin (mg/dL)	4.06±2.1	9.34±6*

*Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

Karaciğer dokusunda yapılan CA aktivite ölçümlerinde standart diyet ile beslenen farelerdeki CA aktivitesi 0.87 ± 0.26 U/mg protein olarak ölçülmüştür. Yüksek yağlı diyet grubundaki farelerde ise aktivite 0.60 ± 0.15 U/mg protein olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p = 0.038$). Elde edilen sonuçlar şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Deney gruplarındaki CA aktivitesi (*p=0.038)

TARTIŞMA

Karaciğer *de novo* yağ sentezinin merkezi organıdır. *De novo* yağ asitlerinin sentezinde, asetil CoA karboksilaz enziminin katalizlediği, asetil CoA'nın bikarbonat ile birleştirildiği basamak sentezin kontrol noktasıdır. Sentez bikarbonat sağlandığı sürece devam etmektedir. Bikarbonat da karaciğerde bulunan CA izoenzimlerince sağlanır. Karaciğerde çeşitli CA izoenzimleri bulunmakla beraber, *de novo* lipit sentezinde özellikle CA II, CA VA, CA VB ve kısmen CA I'in katkısı bulunmaktadır. Diğer izoenzimlerin bikarbonat taşınması, proton tedariki ve pH regülasyonu gibi rolleri vardır. Ancak bu izoenzimler için net bir fonksiyon tanımlanması oldukça zordur.^{12,13}

Karbonik anhidraz izoenzimleri tarafından katalizlenen reaksiyonlar ile prüvat karboksilaz, asetil-CoA Karboksilaz ve Karbamoil fosfat sentetaz I ve II'ye bikarbonat sağlanır. *De novo* lipogeneze yeterli substratı sağlamak için asetil gruplarının mitokondriden sitozole taşınması gerekir. Fakat mitokondri membranının asetil-CoA'ya geçirgenliği yoktur. Bu taşınma asetil-CoA'nın okzaloasetatla birleşerek sitrat oluşturması ile gerçekleşir. Pirüvat, bikarbonat ile pirüvat karboksilaz enzimi sayesinde karboksillenerek okzalata dönüşür. Bu olay için gerekli olan bikarbonat karbonik anhidraz

izoenzimi olan CA VA veya VB tarafından sağlanır. Okzalatın asetil-CoA ile reaksiyonu sonucunda oluşan Sitrat, trikarboksilik asit taşıyıcıları ile sitozole taşınır. Burada sitrat ATP sitrat liyaz tarafından asetilCoA'ya dönüştürülür (Reaksiyon sonunda oluşan okzalat dekarboksilasyon sonucu pirüvata dönüşerek pirüvat taşıyıcıları ile mitokondriye taşınır). Asetil-CoA *de novo* lipogenez için sitozolde kullanılır. Asetil-CoA, asetil-CoA karboksilaz ve bikarbonat ile malonil-CoA'ya dönüşür. Bu olay için gereken bikarbonat CA II izoenzimi ile CO₂'nin bikarbonata dönüşümü ile sağlanır. Bu reaksiyonlarla yağ zinciri uzatılır. Sonuç olarak karbonik anhidraz izoenzimlerinin birkaçı yağ asitleri biyosentezinde rol alır. Bu izoenzimler: mitokondride CA VA ve VB izoenzimleri (prüvat karboksilaz için yeterli substrat sağlar) ve sitozoldeki CA II izoenzimidir (asetil-CoA Karboksilaz için gereken substratı sağlar).¹⁴

Yukarıda da bahsedildiği gibi karaciğerde çeşitli CA izoenzimleri bulunmaktadır. Bunların katalitik aktiviteleri birbirinden farklı olmakla beraber hepsinin hidrataz aktivitesi vardır.^{1,2} Çalışmada potansiyometrik olarak ölçtüğümüz hidrataz aktivitesine hangi izoenzimin ne kadar katkı verdiğini net olarak söylemek mümkün değildir. Ancak CA izoenzimlerinin doku

dağılımları ve lokalizasyonları göz önüne alındığında, CA II'nin katkısının yüksek olması muhtemeldir.

Çalışmamızda dört ay süre ile yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde karaciğer total CA aktivitesinin normal diyet ile beslenen farelere göre daha düşük olduğunu bulduk (p=0.038, şekil 1). Karaciğerde *de novo* lipit sentezi tokluk safhasında, karbohidratlar ve lipitler bol iken sentezlenir ve diğer dokuların kullanımı için perifer dokulara taşınır. Yüksek yağlı diyet ile beslenmeye bağlı olarak vücuda bol miktarda yağ asidi ve lipit karakterli bileşikler alındığı için lipitlerin *de novo* sentezinin baskılanmasına bağlı olarak CA aktivitesi de baskılanmış olabilir. Ayrıca, çalışmamızda kullandığımız yüksek yağlı diyet ile beslenen fareler hiperglisemik, hiperinsülinemik ve hipertrigliseridemik bir metabolik durumda bulunduğu için (tablo 3) gelişen insülin direnci de CA aktivitesinde azalmaya sebep olabilir. Benzer şekilde deneysel olarak hayvanlarda oluşturulan diyabet modellerinde de CA aktivitesi kontrollere göre daha düşük bulunmuştur. Özellikle bu düşüşün CA III izoenziminde daha belirgin olduğu belirtilmiştir.¹⁴

Rodentlerde, CA izoenzimlerinin karaciğerde sentezi hormonlar tarafından da kontrol edilmektedir. CA II sentezi fare karaciğerinde testosteron tarafından azaltılırken, östrojen tarafından artırılır. Bu regülasyon CA III izoenzimi için tam tersi şekilde gerçekleşmektedir. Testosteron tarafından artırılırken östrojen tarafından azaltılır. Dolayısıyla bu enzimlerin sentez seviyeleri erkek ve dişi fare karaciğerlerinde farklıdır. Cinsiyet nedeniyle sentez farkı CA III için yaklaşık 10-20 kat iken CA II için 3 kat kadardır. Fakat hem dişi hem erkek farelerin karaciğerlerinde total karbonik anhidraz aktivitesi aynıdır. Bu durum fare karaciğerinde CA II ve CAIII izoenzimlerinin total karbonik anhidraz aktivitesini sabit tutmak için bir çeşit feedback mekanizması sergileyebileceklerini göstermektedir.¹ Tablo 3 incelendiğinde yüksek yağlı diyet kullanan farelerin obez oldukları net olarak görülmektedir. CA izoenzimlerinin seviyeleri üzerine obezitenin de etkileri olduğu görülmektedir. Karaciğerde gözlenen CA aktivitesi değişiklikleri yağ dokusundan salgılanan (leptin gibi) adipokinlerin karaciğere olan etkisinin bir sonucu olabilir.¹⁵

SONUÇ

Sonuç olarak, yüksek yağlı diyet kullanımının *de novo* lipit sentezinde öncü bileşiği sentezleyen CA aktivitesini fare karaciğerinde azalttığı bu azalışa,

metabolik ve hormonal değişikliklerin sebep olabileceği kanaatine varıldı.

Authorship contribution statement

Concept and design: İİA, AA

Acquisition of data: PS, İİA

Analysis and interpretation of data: PS, İİA

Drafting of the manuscript: PS, İİA, AA

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: PS, İİA, AA

Statistical analysis: PS, İİA

Declaration of competing interest

None of the authors have potential conflicts of interest to be disclosed.

Ethical approval

This study was approved by the Local Animal Research Ethics Committee of Karadeniz Technical University (Protocol no: 2010/39) and performed according to the animal research reporting of *in vivo* experiments (ARRIVE) guidelines.

Availability of data and materials

All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

Funding

No financial support was received for this research.

KAYNAKLAR

1. Frost SC. Carbonic Anhydrase: Mechanism, Regulation, Links to Disease, and Industrial Applications. Springer; 2014.
2. Senturk A, Alver A, Karkucak M, Küçük M, Ahmadi Rendi T. Oxidative modification of carbonic anhydrase by peroxynitrite trigger immune response in mice and rheumatic disease patients. Am J Med Sci. 2023;366(6):438-448. doi:10.1016/j.amjms.2023.09.002
3. Pocker Y, Sarkanen S. Oxonase and esterase activities of erythrocyte carbonic anhydrase. Biochemistry. 1978;17(6):1110-1118. doi:10.1021/bi00599a027
4. Alver A, Şentürk A, Çakırbay H, et al. Carbonic anhydrase II autoantibody and oxidative stress in rheumatoid arthritis. Clin Biochem. 2011;44(17-18):1385-1389. doi:10.1016/j.clinbiochem.2011.09.014
5. Saleem M, Saeed A, Khan A, et al. Benzamide sulfonamide derivatives: potent inhibitors of carbonic anhydrase-II. Medicinal Chemistry Research. 2016;25(3): 438-448.
6. Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors: an editorial. Expert Opin Ther Pat. 2013;23(6):677-679. doi:10.1517/13543776.2013.778246
7. Burtis CA, Bruns DE. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier Health Sciences; 2014.

8. Dodgson SJ. Why are there carbonic anhydrases in the liver?. *Biochem Cell Biol.* 1991;69(12):761-763. doi:10.1139/o91-116
9. King RW, Garg LC, Huckson J, Maren TH. The isolation and partial characterization of sulfonamide-resistant carbonic anhydrases from the liver of the male rat. *Mol Pharmacol.* 1974;10(2):335-343.
10. Ronchi VP, Conde RD, Guillemot JC, Sanllorenti PM. The mouse liver content of carbonic anhydrase III and glutathione S-transferases A3 and P1 depend on dietary supply of methionine and cysteine. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004;36(10):1993-2004. doi:10.1016/j.biocel.2004.02.019
11. Wilbur KM, Anderson NG. Electrometric and colorimetric determination of carbonic anhydrase. *J Biol Chem.* 1948;176(1):147-154.
12. Wang B. *Drug design of zinc-enzyme inhibitors: functional, structural, and disease applications.* John Wiley & Sons; 2009.
13. Hazen SA, Waheed A, Sly WS, LaNoue KF, Lynch CJ. Differentiation-dependent expression of CA V and the role of carbonic anhydrase isozymes in pyruvate carboxylation in adipocytes. *FASEB J.* 1996;10(4):481-490. doi:10.1096/fasebj.10.4.8647347
14. Ibrahim SI, Ameh DA, Atawodi SE, Umar IA. Carbonic anhydrase: a new therapeutic target for managing diabetes. *J Metabolic Syndr.* 2016;5(196):2167-0943.
15. Alver A, Uçar F, Keha EE, Kalay E, Ovali E. Effects of leptin and insulin on CA III expression in rat adipose tissue. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2004;19(3):279-281. doi:10.1080/14756360410001720445

To Cite: Sarişın P, İnce-Akça İ, Alver A. Investigation of The Effect of High Fat Diet on Liver Carbonic Anhydrase Activity in Mice. *Farabi Med J.* 2024;3(3):79-84. doi:10.59518/farabimedj.1545667

Bir Aile Hekimliği Biriminde COVID-19 Tanısı Alanların Özellikleri ve Hastalık Süreçleri

Features and Disease Progresses who Diagnosed with COVID-19 in a Family Health Unit

Zühal Albayrak^{1,a,*}, Tijen Acar^{2,b}

¹Keçiören Şehit Yasin Süer Aile Sağlığı Merkezi, Ankara, Türkiye.

²Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği Ana Bilim Dalı, Kars, Türkiye.

*Sorumlu yazar e-posta: albayrak250@gmail.com

^a<https://orcid.org/0000-0001-7433-1169>

^b<https://orcid.org/0000-0002-3200-8926>

ÖZET

Koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19), bilinmeyenleri olan bir halk sağlığı sorunudur. Burada, COVID-19 hastalarının hastalık sürecine etkili özelliklerini ortaya çıkartarak hastalığı önlemek, hastalık sürecine müdahale olanağı sağlamak, koruyucu önlemlerin farkındalığını artırmak amaçlanmıştır. Bu tanımlayıcı çalışmada, Keçiören’de bir aile hekimliği birimine kayıtlı, COVID-19’la tanılanmış, iletişim kurabilen, erişkin 227 gönüllüye, 54 soruluk veri toplama formu yüz yüze uygulanmıştır. $P<0,05$ ’se istatistiksel anlamlı değerlendirilmiştir. Yaşları 18-78 değişen katılımcıların 144’ü (%63,43) kadın olup korunma (maske %88,99, mesafe %88,54, el yıkama %98,24), sağlıklı yaşam davranışı %62,11, ek ilaç-vitamin %81,06 ve besin desteği %61,67 bulunmuştur. Okuma yazma bilmeyen, sigarayı bırakmış, beden kitle indeksi veya yaş arttıkça, COVID-19 aşısı eksik, kırgınlık-yorgunlukla test yaptıran, solunum sıkıntısı veya günlük stres yaşayan, hipertansiyon, kanser, diyabet, koroner arter veya diğer kalp damar hastalığı olanlarda hastaneye yatış yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Hastalığı geçirirken vitamin kullanan veya post-COVID-19 asemptomatiklerde hastaneye yatış düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Post-COVID-19 döneme; hastaneye yatış, aşı, sigarayı bırakmış olma, süregelen hastalıklar etkili bulunmuştur ($p<0,05$). COVID-19’da en sık yaşantı değişikliği sosyal izolasyon %21,11, hissedilen halsizlik-yorgunluk-kırgınlık %25,53, hastalığı geçirirken yapılan dinlenmek-yatmak %51,59, stres nedeni korku %50,40 saptanmıştır. Öğrenim, obezite, yaş, sigara, süregelen hastalık, sürekli ilaç, aşılar, kırgınlık yorgunlukla test yaptırma, solunum sıkıntısı, gün içinde stres yaşama, vitaminler, post-COVID-19 asemptomatik olma kliniğe; aşılar, sigara, hastaneye yatış, sürekli hastalık, hipertansiyon, diyabetes mellitus, astım, tiroid hastalığı, romatizma hastalığı post-COVID-19 değişikliklere etki etmektedir. Bu çalışma, COVID-19 hastalığı için korunma, takip ve risk gruplarının tespitini kolaylaştırabilir, çalışmalara ışık tutabilir.

Anahtar Kelimeler: COVID-19, Önleme, SARS CoV-2

ABSTRACT

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is a public health concern with unknowns. Study aims to prevent COVID-19 by revealing patients’ effective features on disease processes, offer chance to provide opportunity to intervene in disease process, increase awareness of protective measures. In descriptive study, data collection form (54 items) was applied face-to-face to 227 volunteers (adult, registered to a family health unit in Keçiören, diagnosed with COVID-19, able to communicate). Participants aged 18-78, 144 (63.43%) women; protection (mask 88.99%, distance 88.54%, hand washing 98.24%), healthy life behavior (62.11%), supplemental medication-vitamins (81.06%), nutritional support (61.67%) were detected. Hospitalization was determined high in patients being illiterate, quitting smoking, as body mass index or age increases, having hypertension, diabetes, cancer, coronary artery or other cardiovascular disease; being COVID-19 under-vaccinated, testing with malaise-fatigue, having respiratory distress or daily stress, and low in patients taking vitamins in COVID-19 or asymptomatics post-COVID-19 ($p<0.05$). Hospitalization, vaccination, smoking cessation, chronic diseases were found effective post-COVID-19 ($p<0.05$). Life change, feeling, made during disease, stress cause were detected most often in COVID-19 respectively social isolation (21.11%), tired-malaise-fatigue (25.53%), resting-lying (51.59%), fear (50.40%). Education, obesity, age, smoking, chronic disease, vaccination, testing with malaise-fatigue, respiratory distress, daily stress, vitamins, being post-COVID-19 asymptomatic affect clinic; vaccines, smoking, hospitalization, chronic disease affect post-COVID-19 symptoms. This study can facilitate protection, follow-up and risk groups identification for COVID-19 disease and shed light on studies.

Keywords: COVID-19, Prevention, SARS-CoV-2

GİRİŞ

Koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19), Aralık 2019'da Çin'de Wuhan'da başlamış, Mart 2020'de pandemiye dönüşmüştür, hâlâ gizemli bir halk sağlığı sorunudur.¹⁻⁵ Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), 1.9.2024'te Türkiye'de hastalığı geçirenleri 17.004.724, hastalıktan ölenleri 101.419 kişi olarak açıklamıştır.⁶ COVID-19'un etkeni ribonükleik asid (RNA) virüsü, hasta veya asemptomatik insanlardan diğerlerine temas, damlacık yoluyla hızlı bulaşabilmektedir.^{4,5,7} Kuluçka süresi 2-10 gün, belirtiler 5-6 günde çıkmaktadır.^{4,7} Bulaştırıcılık, belirti öncesinden hastalığın sonuna kadar sürebilmektedir.^{1,8} Hastalık belirtisiz olabildiği gibi, öksürük, boğaz ağrısı, ateşle hafif üst veya ağır alt solunum yolu enfeksiyonu şeklinde geçirilebilir.^{2,5,7,9,10} Başlangıçta en sık ateş, yorgunluk, kuru öksürük, iştahsızlık, kas ağrısı, nefes darlığı olurken; balgam çıkarma, hemoptizi, rinore, ishal, bulantı-kusma, baş ağrısı, baş dönmesi, koku-tat bozuklukları gözlenmektedir.^{1,4,7,10-12} Ağır hastalıkta kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA), kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabetes mellitus (DM), obezite, orak hücreli anemi, kronik böbrek yetmezliği, organ yetmezliğine bağlı baskılanmış immünite, kanser bulunabilir.^{1,9,10,12-14} Yoğun bakım ihtiyacını ve mortaliteyi yaş, cinsiyet, etnik köken, yaşam tarzı alışkanlıkları, hastalıklar, genetik artırabilir.¹⁵ Destek tedavisi esastır; hidrasyon, beslenmeyi sürdürmek, ateş ve öksürüğün kontrolü amaçlanır.^{1,4} Korunmada aşılama, sosyal mesafe, maske, temizlik-dezenfeksiyon, havalandırma önerilmektedir.^{2,16,17} Eller için alkollü el antiseptikleri, kolonya kullanılabilir.¹⁶ COVID-19'un etkin ve kalıcı kontrolünde aşı önemlidir.⁵ Ülkemizde üç çeşit COVID-19 aşısı uygulanmaktadır. Primer aşı şeması: Sinovac (Sinovac Biotech Ltd., Pekin, Çin Halk Cumhuriyeti) 0, 1 ve 4. aylarda üç doz; Biontech (BioNTech SE (iş birliğiyle Pfizer Inc.), Mainz, Almanya ve Amerika Birleşik Devletleri) 0 ve 1. aylarda iki dozdur, hatırlatma dozu en erken 3 ay sonra önerilir.¹⁷ Pandemi, sağlık ve sağlıklı yaşam biçiminin önemini herkese hatırlatmıştır.^{2,10,16} Düzenli fiziksel aktivite bağışıklığı destekler, COVID-19'a yakalanmayı, kaygıyı azaltabilir, iyileşmeyi hızlandırabilir.^{18,19} Obezite gibi metabolik bozukluklar bağışıklık sistemini yavaşlatmaktadır.¹⁸ Sağlıklı beslenme (günlük taze sebze, meyve, tahıl, hayvansal kaynaklı besinlerin alınması, hazır ve işlenmiş gıdalardan kaçınılması,

şeker ve katı yağ tüketiminin azaltılması, sıvı tüketiminin artırılması) bağışıklık sistemini güçlendirir.²⁰ COVID-19'a bağlı depresyon, anksiyete, travma sonrası stres bozukluğu oluşabilir.^{21,22} Stres, uyku kalitesini azaltabilir.^{23,24} Sigara içenlerde COVID-19 sıklığı değişmemekte, ancak hastalık daha ağır geçirilmektedir. Yapılan araştırmalarda sigaranın COVID-19'a bağlı ölüm ve morbiditeyi önemli ölçüde artırdığı belirlenmiştir.^{3,12} COVID-19 duyarlılığı ve şiddetli hastalık riski kan grubu A'da fazla, O'da daha azdır.^{25,26}

COVID-19 sonrasında yorgunluk, egzersiz sonrası halsizlik veya belirtilerin kötüleşmesi, bilişsel körelme, özellikle üst düzey işlevler, beyin sisi, göğüste ağrı veya yanma, nefes darlığı, öksürük, ayaktayken çarpıntı veya baş dönmesi, alerjiler (gözde yaşarma, burun tıkanıklığı gibi), döküntüler, tat ve koku kaybı, şişkinlik veya ishal, kaygı veya depresyon, sarkopeni, kilo alımı görülebilir.^{27,28} Post-COVID-19 dönem için önceden bilinen rahatsızlıklar (astım, alerjiler, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu, kas-iskelet sistemi ağrısı, DM, ruh sağlığı bozukluğu, uykusuzluk, baş ağrıları, kronik yorgunluk ve güçsüzlük), kadın cinsiyet, ilk hastalığın multisemptomatik olması, ilk hastalığın ağır geçirilmesi, COVID-19 aşısız veya eksik aşı olma, ilk hastalıkta dinlenememe, ilk hastalıkta antiviral kullanmama, tekrarlayan COVID-19 hastalığı uzun süreli COVID-19 riskini artırmaktadır.²⁷

Sağlık Bakanlığı, aile hekimlerinden karantinadaki hastalara ve yakınlarına telefonla özellikli izlem yapmalarını, filyasyon ekiplerinden hidrosiklorokin, favipiravir içeren ilaçları dağıtmalarını istemiştir.

COVID-19 fiziksel, sosyal, psikolojik ve ekonomik etkili bir salgındır.²² Salgında COVID-19'un epidemiyolojisi ayrıntılarıyla değerlendirilmeli, güncellemeler takip edilmelidir.²⁸ Özellikle konakçı, viral, çevresel faktörler konusunda ileri çalışmalar yapılmalıdır.²⁹

Bu çalışmada, bir aile hekimliği biriminde COVID-19 tanısı alanların hastalık bulaşı, seyri ve sonrası hastalık sürecine etki eden bazı özelliklerini ortaya çıkartarak hastalığı önleme ve seyrine müdahale olanağı sağlamak, koruyucu önlemler (maske, mesafe, hijyen ve aşı) konusunda farkındalığı artırmak amaçlanmıştır.

YÖNTEM

Bu tanımlayıcı çalışma, Keçiören Eğitim Araştırma Hastanesi Etik Kurulu'nun 25.1.2022-2465 tarih sayılı onayı ve Ankara İl Sağlık Müdürlüğü'nden alınan 14.4.2022/726 tarih sayılı araştırma izni sonrası,

01.04.2022–01.06.2022’de Keçiören Şehit Yasin Süer Aile Sağlığı Merkezi’nde yürütülmüştür. Keçiören 66 nolu aile hekimliği birimine başvuran, kesin kayıtlı, iletişim kurabilen, COVID-19 tanısı almış (polimeraz zincir reaksiyonu(PCR) testi pozitif), erişkin 227 gönüllü çalışmaya alınmıştır. Katılımcılara, bilgilendirilmiş onamları alındıktan sonra, sosyodemografik özellikler (yaş, cinsiyet, medeni hal, eğitim durumu, meslek, boy ve kilo bilgileri, sağlık güvencesi, aylık gelir , sigara alkol vb. kullanım durumları, sürekli hastalıkları ve ilaç kullanımı, aşı durumu), korunma önlemleri (kişisel koruyucu ekipman kullanımı, hijyen davranışları, öksürme alışkanlıkları, kişisel mesafe), sağlıklı yaşam (beslenme, fiziksel aktivite, uyku ve stres ile ilgili), COVID-19 süreci (geçirme zamanı, test için başvuru belirtisi, belirtileri, seyri, tedavi şekli, evdekilerin aşı-bulaş durumu; COVID-19 sonrası sağlık sorunları ve açık uçlu sorularla yaşantısındaki değişiklikler, stres, hastalıkla savaşıırken yaptıkları) ile ilgili sorulardan araştırmacıların geniş literatür taramasıyla oluşturduğu 54 soruluk veri toplama formu yüz yüze uygulanmıştır.

İstatistiksel analizler IBM SPSS 25.0’la (IBM Corporation, New York, Armonk, Amerika Birleşik Devletleri) yapılmıştır. Normal dağılımda, histogram grafikleri ve Kolmogorov-Smirnov testi; karşılaştırmada, kategorik değişkenlere ki-kare, nonparametrik değişken gruplarına Mann Whitney U testleri yapılmıştır. Ortalama, standart sapma, ortanca, IQR, min-maks değerleri verilmiştir. P değeri 0,05’in altındaysa istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Örneklem büyüklüğü G*Power 3.1.9.4 (Heinrich Heine Üniversitesi, Düsseldorf, Almanya) güç analizinde hata payı $\alpha=0,05$, orta etki büyüklüğü ($d=0,30$) ve %80 güç için en az 143 kişi olarak belirlenmiştir.

COVID-19 sürecine etki edebilecek sağlıklı yaşam davranışları hakkındaki veri toplama formundaki 8 sorunun cevapları araştırmacılar tarafından skorlanmış, alınabilecek maksimum puan olan 8’in yarısından fazlaysa (toplam puan 5 ve üzerindeyse) sağlıklı yaşam davranışını benimseyen şekilde kabul edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Sağlıklı yaşam davranışı için skorlama sistemi

Sorular	Cevaplar	Puan
Öksürürken neye dikkat edersiniz?	Ağzını dirseğiyle/kağıt mendille kapatma	1
	Diğerleri	0
Günlük ne kadar su tüketirsiniz?	1.5-2 lt ve üzerindeyse	1
	Diğerleri	0
Dışarıdan yemek sipariş eder misiniz?	Hayır	1
	Evet	0
Yemeklerinizi kendiniz mi pişirirsiniz?	Evet	1
	Hayır	0
Besinlerin hangilerini günlük tüketirsiniz?	Tümünü	1
	Diğerleri	0
Günlük fiziksel aktivite ne kadar yaparsınız?	0,5 saat ve üzerindeyse	1
	Diğerleri	0
Günlük uyku süreniz?	6-8 saat	1
	Üstü ve altındaki değerler	0
Günlük stres yaşar mısınız?	Hayır	1
	Evet	0

BULGULAR

Keçiören 66 nolu aile hekimliği birimine kayıtlı erişkinlerin 620’sinin 11.03.2020-01.06.2022’de COVID-19 geçirdiği, 6’sının (%0,96) hayatını kaybettiği saptanmıştır. Çalışmaya 18-78 yaş, 83 erkek

ve 144 kadın katılmıştır. Süreğen hastalığı olan 121 (%53,3) ve sürekli ilaç kullananlar 105 (%46,26) olarak saptanmıştır. Tanımlayıcı özellikler Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Katılımcıların tanımlayıcı özellikleri

Özellik	n/ort±SS	%/Medyan (Min-Maks)	Özellik	n/ort±SS	%/Medyan (Min-Maks)
Yaş	44,8±15,9	42 (18-78)	Beden kitle indeksi		
Cinsiyet			Düşük kilolu	3	1,32
Erkek	83	36,56	Normal	68	29,96
Kadın	144	63,44	Fazla kilolu	90	39,65
Eğitim			Artmış yüksek obezite I	46	20,26
Okuryazar değil	10	4,41	Çok yüksek obezite II	14	6,17
Okuryazar	7	3,08	Çok yüksek morbid obezite III	6	2,64
İlkokul	76	33,48	Sigara		
Ortaokul	31	13,66	Yok	168	74,01
Lise	47	20,70	Var	41	18,06
Önlisans	13	5,73	Bırakmış	18	7,93
Lisans	39	17,18	Süreğen hastalık		
Yüksek Lisans	4	1,76	Hipertansiyon	58	25,55
Kan grubu			Diğer hastalık*	55	24,23
AB Rh (-)	2	0,88	Diyabetes mellitus	40	17,62
AB Rh (+)	19	8,37	Hiperlipidemi	28	12,33
A Rh (-)	11	4,85	Koroner arter hastalığı	21	9,25
A Rh (+)	81	35,68	Daha az görülen hastalıklar**	-	-
B Rh (-)	3	1,32	Sürekli ilaç		
B Rh (+)	44	19,38	Antihipertansif	57	25,11
O Rh (-)	3	1,32	Diğer ilaç ***	43	18,94
O Rh (+)	64	28,19	Oral antidiyabetik	36	15,86
			Aspirin-antiplatelet ilaç	31	13,66
			Astım-KOAH ilacı	23	10,13
			Daha az kullanılan ilaçlar****	-	-

*Beden kitle indeksi(BKİ) sınıflaması:<18,5 düşük kilolu,18,5-24,9 normal, 25-29,9 fazla kilolu, 30-34,9 artmış yüksek obezite I, 35-39,9 çok yüksek obezite II, ≥40 ise çok yüksek morbid obezite III (Not:Bu sınıflama obezite kılavuzlarından alınmıştır).

*Diğer hastalık (örneklemede en sık görülen hastalıklara eşlik eden hastalıklar): Nöropati, anksiyete, kuru göz, prostat hiperplazisi, migren, fibromiyalji, allerji, psöriazis vb. **Daha az görülen hastalıklar (örneklemede en sık görülen beş hastalıktan sıklığı daha az olanlar): Astım, tiroid ve mide hastalığı, KOAH, romatizma hastalığı. kanser ***Diğer ilaç (en sık kullanılan ilaçlarla eş zamanlı kullanılan diğer ilaçlar): Prostat, depresyon, demans, üriner inkontinans ilaçları, kolşisin, suni göz yaşı, antihistaminik, NSAİİ vb.) ****Daha az kullanılan ilaçlar (örneklemede en sık kullanılan beş ilaçtan kullanım sıklığı daha az olanlar): Antihiperlipidemik, kalp-damar ilacı, kanser ve tiroid ilacı, proton pompa inhibitörü, insülin, diüretik.

COVID-19 geçirdiği sırada COVID-19 aşısı tam, eksik, grip, zatürre aşısı olanlar sırasıyla 99 (%43,6), 128 (%56,4), 29 (%12,8), 31 (%13,7) bulunmuştur.

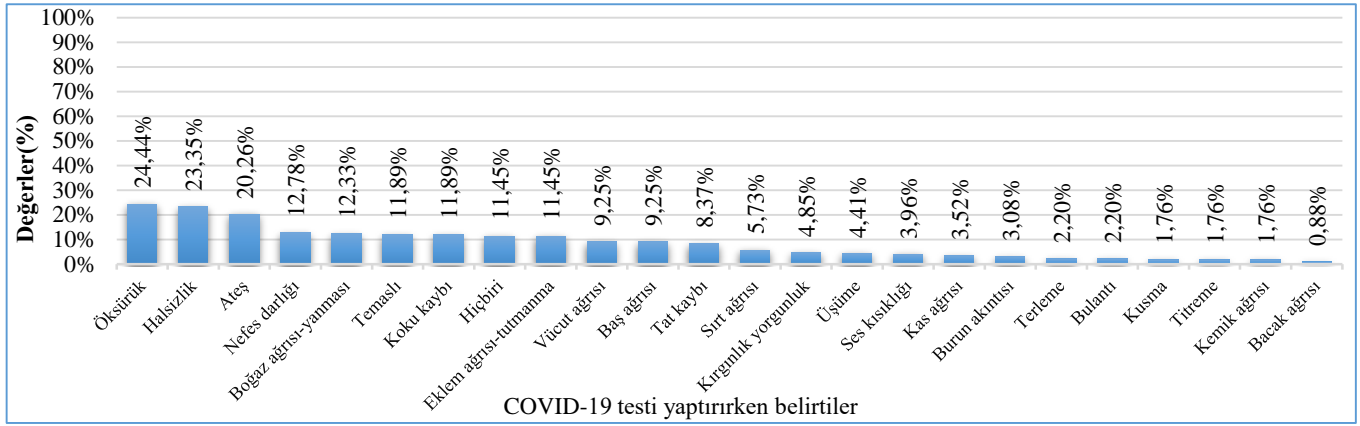
Maske, eldiven, siperlik kullananlar sırasıyla 202 (%88,99), 18 (%7,9), 2 (%0,88); hijyen için el yıkayan, kolonya, dezenfektan, ıslak mendil kullananlar sırasıyla 223 (%98,2), 136 (%59,9), 106 (%46,7), 97 (%42,7) bulunmuştur.

Sağlıklı yaşam davranışlarını benimseyen 141 (%62,1); öksürme-aksırma alışkanlığı doğru olan 131 (%57,7); 1,5 metre sosyal mesafeye dikkat eden 201 (%88,5); 1,5 litre/gün ve üzerinde su içen 148 (%65,2); dışarıdan

yemek sipariş eden 84 (%37,0); yemeklerini kendi pişiren 195 (%85,9); günlük tüm besin gruplarından tüketen 52 (%22,9); 0,5 saat/gün ve üzeri fiziksel aktivite yapan 120 (%52,9); 6-8 saat/gün uyuyan 147 (%64,8); gün içinde stres yaşayan 95 (%41,9) bulunmuştur.

COVID-19 bulaş yerini tahmin edebilenler 167 (%73,6) bulunmuştur. Karantina sürecini evde, hastanede, evde-hastanede geçirenler sırasıyla 212 (%93,4), 3 (%1,3), 12 (%5,3) saptanmıştır.

COVID-19 testini yaptırırken en sık belirtiler öksürük, halsizlik, ateş saptanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. COVID-19 testi yaptırırken belirtiler ve oranları

COVID-19’da besin, bitki çayı vs. tüketimi 140 (%61,67) artmıştır. COVID-19 geçirirken en sık kullanılan ilaç ve besinler Tablo 3’te özetlenmiştir.

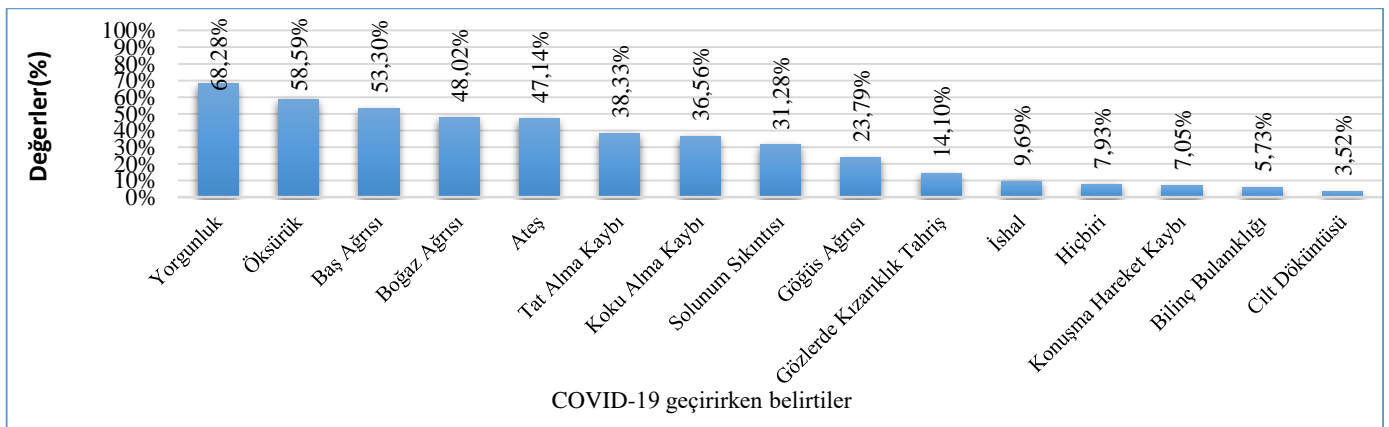
Kullanılan vitaminler, C vitamini 30 (%35,71), D vitamini 17 (%20,23), multivitamin 3 (%3,57) olarak belirlenmiştir.

COVID-19’da evdekilerle aynı sofrada yemek yiyen 66 (%37,89), yemekleri bir kişi pişirip ayrı ayrı yiyen 173 (%76,21), kilo değişikliği olan 88 (%38,76), karantinada evdekilere bulaş olan 87 (%38,32) bulunmuştur.

COVID-19 geçirirken en sık görülen belirtiler yorgunluk, öksürük, baş ağrısı, boğaz ağrısı, ateş saptanmıştır (Şekil 2).

Tablo 3. COVID-19 geçirirken kullanılan ilaç ve besinler

COVID-19 geçirirken kullanılanlar	Kişi sayısı (n)	Değerler (%)
İlaçlar		
Filyasyon ekibi ilaçları	116	51,10
Ek ilaç/takviye	184	81,06
Ağrı kesici	127	55,95
Vitamin	84	37,00
Aspirin	34	14,98
Çinko	19	10,32
Mide ilacı	14	7,60
Besinler		
Çay(en sık ıhlamur)	8	57,14
Meyve(en sık limon)	49	35,00
Baharat(en sık kekik)	35	25,00
Sebze(en sık sarımsak)	17	11,14
Bal	14	10,00
Su-sıvı	14	14,00



Şekil 2. COVID-19 geçirirken belirtiler ve oranları

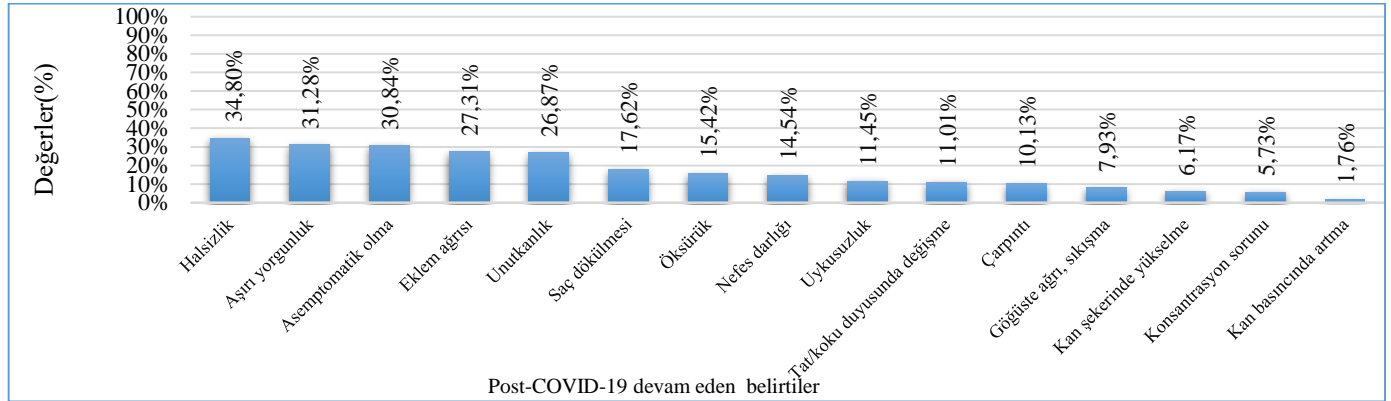
COVID-19 geçirdikleri sırada hissettiklerini 188 (%82,81) kişi, en sık halsizlik-kırgınlık-yorgunluk 48 (%25,53), ağrı-acı 40 (21,27), farklı-zor 18 (%9,57), korku 17 (%9,04), huzursuzluk-bilinmezlik-kaygı-stres

16 (%8,51) olarak belirtmiştir. COVID-19 geçirirken yaptıklarını 188 (%82,81) kişi, en sık dinlenme-yatma 97 (%51,59), temizliğe önem verme 31 (%16,48), beslenmeye dikkat etme 27 (%14,36), evden dışarı çıkma-

mama 20 (%10,63), ilaçlarını kullanma 17 (%9,04) olarak belirtmiştir.

Post-COVID-19 dönemde devam eden belirtiler en sık halsizlik, aşırı yorgunluk, eklem ağrısı, unutkanlık iken,

asemptomatik olanlar 70 (%30,84) saptanmıştır (Şekil 3).



Şekil 3. Post-COVID-19 devam eden belirtiler ve oranları

COVID-19'la yaşantı değişikliği olanlar 90 (%39,65) kişi, değişikliği en sık sosyal izolasyon 19 (%21,11), halsizlik yorgunluk güçsüzlük 16 (%17,77), hijyen aşırı temizlik 10 (%11,11), stres 7 (%7,77), unutkanlık 6 (%6,66) olarak belirtmiştir.

COVID-19 döneminde stres yaşayan 125 (%55,06) kişi, stres nedenini en sık korku (hastalık, yoğun bakım hastaneye yatma, yatalak olma, iyileşememe, ölüm) 63 (%50,40), bulaş korkusu 23 (%18,40), kapalı-yalnız kalma 23 (%18,40), endişe-kaygı (gelecek aile için) 23 (%18,40) olarak belirtmiştir. Hastaneye yatan 23 (%10,13), yoğun bakım gereken 3 (%1,32) saptanmıştır. COVID-19 döneminde stres yaşayan 125 (%55,06) kişi, stres nedenini en sık korku (hastalık, yoğun bakım hastaneye yatma, yatalak olma, iyileşememe, ölüm) 63 (%50,40), bulaş korkusu 23 (%18,40), kapalı-yalnız kalma 23 (%18,40), endişe-kaygı (gelecek aile için) 23 (%18,40) olarak belirtmiştir.

Hastaneye yatan 23 (%10,13), yoğun bakım gereken 3 (%1,32) saptanmıştır. Hipertansiyon, kanser, DM, koroner arter veya diğer kalp damar hastalığı bulunanların; antihipertansif, kalp-damar ilacı, diüretik, proton pompa inhibitörü (PPI), aspirin-antiagregan ilaç, oral antidiyabetik, insülin veya filyasyon ekibi ilacını kullananların; BKİ veya yaşı artan, sigarayı bırakmış olan, okuryazar olmayan, COVID-19 eksik aşılı olan, zatürre aşısı olan, gün içinde stres yaşayan, kırgınlık yorgunlukla COVID-19 testi yaptıran veya COVID-19 geçirirken solunum sıkıntısı yaşayanların hastaneye yatışları bu şartları taşımayanlardan yüksek bulunmuştur. COVID-19 geçirirken vitamin kullanan veya post-COVID-19 dönemde asemptomatik olanların

hastaneye yatışları bu şartları taşımayanlardan düşük bulunmuştur (Tablo 4).

Tablo 4. Hastalık, ilaç ve özelliklerle hastane yatışının karşılaştırılması

Hastalık, ilaç ve özellikler	p değeri
Hastalık	
Hipertansiyon	0,038
Koroner arter hastalığı	0,029
Diğer kalp damar hastalığı	<0,001
Diyabetes mellitus	0,004
Kanser	0,001
Kullanılan ilaç	
Antihipertansif	0,008
Kalp-damar ilacı	0,003
Diüretik	0,008
Proton pompa inhibitörü	<0,001
Aspirin-antiagregan ilaç	<0,001
Oral antidiyabetik	<0,001
İnsülin	0,025
Özellik	
Okuryazar olmayan	<0,001
Beden kitle indeksi arttıkça	<0,001
Yaş arttıkça	0,019
Sigarayı bırakma	0,049
COVID-19 eksik aşılı olma	0,002
Zatürre aşısı olma	0,013
Gün içinde stres yaşama	0,012
Kırgınlık yorgunlukla test yaptıрма	0,003
Filyasyon ekibi ilacını kullanma	0,021
Solunum sıkıntısı yaşama	<0,001
COVID-19 geçirirken vitamin alma	0,040*
Post-COVID-19 asemptomatik olma	0,015*

* Katılımcılar hastaneye yatanlar ve yatmayanlar şeklinde iki gruba ayrılmıştır. Her p değeri hastalık, ilaç veya özelliklerle hastaneye yatışın karşılaştırıldığı ki-kare veya Mann Whitney U testlerinden elde edilmiştir. *işareti ters yönlü ilişkiyi göstermektedir.

Post-COVID-19 devam eden belirtilerle; hastaneye yatma, COVID-19 aşısı, sigarayı bırakma, süregelen

hastalık, hipertansiyon, DM, astım, tiroid ve romatizma hastalığı ilişkili bulunmuştur (Tablo 5).

Tablo 5. Post-COVID-19 devam eden belirtileri etkileyen özellikler

Post-COVID-19 devam eden belirtiler	Karşılaştırılan özellikler (p değerleri)									
	Hastane yatışı	COVID-19 aşısı			Süregelen hastalık	Hipertansiyon	Diyabetes mellitus	Astım	Tiroid hastalığı	Romatizma
		Eksik	Tam	Sigara						
Saç dökülmesi	< 0,001	0,009	^	^	^	^	^	^	^	^
Öksürük	^	^	^	^	^	^	0,042	^	^	^
Halsizlik	^	^	^	^	^	^	^	^	^	^
Unutkanlık	^	^	^	^	0,011	^	^	^	^	^
Aşırı yorgunluk	0,023	0,010	^	^	^	^	0,009	^	^	^
Nefes darlığı	0,023	^	^	^	^	^	0,004	0,049	^	^
Çarpıntı	^	^	^	^	^	^	^	^	^	^
Göğüste ağrı, sıkışma	0,010	^	^	^	^	^	0,027	^	0,040	^
Konsantrasyon sorunu	^	^	^	^	^	^	^	^	^	^
Uykusuzluk	^	0,002	^	^	^	^	0,034	^	^	^
Tat-kokuda değişme	^	^	^	^	^	^	^	^	^	^
Eklem ağrısı	^	^	^	^	^	^	0,040	^	^	^
Kan şekerinde artma	^	^	0,006	^	0,012	0,030	0,001	0,005	^	^
Kan basıncında artma	^	^	^	^	^	0,001	0,002	^	^	^
Asemptomatik olma	0,015*	^	0,014	^	^	^	^	^	^	^

TARTIŞMA

Hipertansiyon, kanser, DM, koroner arter veya diğer kalp damar hastalığı olması; antihipertansif, kalp-damar ilacı, diüretik, PPI, aspirin-antiagregan ilaç, oral antidiyabetik, insülin veya filyasyon ekibi ilacının kullanılması; BKİ veya yaşta artma, sigarayı bırakmış olma, okuryazar olmama, eksik COVID-19 aşılı olma, zatürre aşısı olma, gün içinde stres yaşama, kırgınlık yorgunlukla COVID-19 testi yaptıрма veya COVID-19 geçirirken solunum sıkıntısı yaşama durumları hastaneye yatışa pozitif etkili saptanmıştır. COVID-19 geçirirken vitamin kullanma veya post-COVID-19 dönemde asemptomatik olma hastaneye yatışa negatif etkili saptanmıştır. COVID-19 sonrası devam eden belirtilere hastaneye yatış, aşı, sigarayı bırakma, sürekli hastalık, hipertansiyon, DM, astım, tiroid ve romatizma hastalığı etkili bulunmuştur.

COVID-19 hastalarının özellik ve hastalık süreçleri hakkında çalışmalar çoğunlukla 2. veya 3. basamak sağlık kuruluşlarında yapılmıştır. Bu çalışmanın birinci basamak araştırmalarına örnek olması orijinal yönü olarak değerlendirilebilir. Yine, hasta özelliklerinin

COVID-19'un başlangıç, geçirilme ve post-COVID-19 döneme etkilerinin eş zamanlı incelenmesi çalışmanın ayırıcı bir özelliği olarak değerlendirilebilir. Gelecekte yaşanabilecek farklı salgınlarda benzer çalışmalar için örnek olabilir.

Çalışmamızda DSÖ'ye göre Türkiye'de COVID-19 nedeniyle ölüm oranı %0,59'dan yüksek değerlendirilmiştir.⁶ Buradaki ölümlerin çoğu pandeminin ilk zamanlarında gerçekleşmiştir. Pandemide epidemiyolojik araştırmalarla riskli grupların belirlenmesi ve erken müdahale ölüm oranlarını azaltabilir.

Yapılan çalışmalarda COVID-19'un, hafif (%40) veya orta (%40) hastalık, yaklaşık %15'inde oksijen desteği gerektiren ciddi hastalık(hastaneye yatış) ve %5'inde solunum yetmezliği, ARDS, sepsis ve septik şok, tromboembolizm ve/veya akut böbrek hasarı ve kalp hasarı dahil olmak üzere çoklu organ yetmezliği gibi komplikasyonlarla kritik hastalık (yoğun bakım ihtiyacı) şeklinde geçirildiği belirtilmiştir.²⁷ Çalışmamızda hastane yatışı ve yoğun bakım ihtiyacı düşük bulunmuştur (%10,13, %1,32).

Literatürde COVID-19 kliniğinde ateş ve solunum sistemi belirtilerinin sık olduğu, başvuruda ateş sıklığının değiştiği belirtilmiştir.¹ Çalışmamızda benzer şekilde, ateş test başvurusunda üçüncü, geçirirken beşinci sırada; öksürük test başvurusunda birinci, geçirirken ikinci sırada saptanmıştır.

Bulaş yeri için buldukları riskli ortamları belirterek çoğu katılımcı tahminde bulunmuştur. Bu ise, katılımcıların COVID-19 bulaşı konusunda bilgiye sahip olduğunu düşündürmüştür.

Yapılan bir çalışmada Türkiye’de A, O, B ve AB kan grubu dağılımını sırası ile %42,84, %32,67, %16,46, %8,03 ve Rh pozitifliği %88,54 saptanmıştır.³⁰ Çalışmamızda, kan grubu A, O, AB biraz düşük, B yüksek ve Rh pozitifliği yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda literatürde belirtilen kan grubu COVID-19 süreci ilişkisi saptanmamıştır.^{25,26} Kan grubunun COVID-19 sürecine etkisi daha geniş örneklerde araştırılabilir.

Çalışmamızda obezite sıklığı ülkemiz için belirtilen %29,9’la benzer bulunmuştur.³¹ Literatürde şiddetli ve fatal COVID-19 komplikasyonu görülenlerin üçte ikisinin obez veya fazla kilolu olduğu, obezitede ağır hastalık riskinin arttığı belirtilmiştir.¹⁴ Çalışmamızda, BKİ artışının hastaneye yatışa etkili bulunması benzer değerlendirilmiştir.

Ülkemizde genel sigara içme oranı %27,1, kadınların sigara içme oranı %13,1’dir. Çalışmamızda sigara içme oranı düşük bulunmuş olup katılımcıların çoğunun kadın olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.³¹

Yapılan çalışmalarda, sigara içenlerin COVID-19 geçirme riski değişirse de, sigara içenlerde hastalığın daha ağır geçtiği belirtilmiştir.³ Çalışmamızda sigarayı bırakmışların hastaneye yatışının hiç içmeyenlerden fazla olması benzer değerlendirilmiştir. Literatürde COVID-19’un, ileri yaşta daha ağır seyrettiği belirtilmektedir.²⁹ Çalışmamızda, yaşla hastaneye yatışın artması benzer bulunmuştur.

Okuryazar olmayanlarda hastaneye yatış fazla olup okuryazar olmayanlar kendini ifade edene kadar hastalık ilerlemiş ve hastaneye yatışların artmış olabileceği düşünülmüştür. COVID-19 sağlık okuryazarlığının artması gerektiği söylenebilir. Örnekte en sık beş süreğen hastalık hipertansiyon, diğer hastalık, DM, hiperlipidemi, koroner arter hastalığı (KAH) dır. Yapılan çalışmalarda ülkemizde hipertansiyon %33,3, DM %13,6, hiperlipidemi %76,34, KAH erkeklerde %3,8, kadınlarda %2,3 görüldüğü belirtilmektedir.^{31,32}

Çalışmamızda ülke verilerine göre hipertansiyon, hiperlipidemi, KAH’ın az, DM’nin fazla olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda literatürle benzer şekilde hipertansiyon, KAH, diğer kalp damar hastalığı, DM, kanser hastaneye yatışa etkili bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda ileri yaş ve kardiyovasküler hastalık, DM, hipertansiyon, kronik akciğer hastalığı, kronik böbrek yetmezliği, obezite gibi komorbiditelerin COVID-19 için ciddi risk faktörü olarak değerlendirildiği belirtilmiştir.^{10,12,13,27}

Çalışmamızda antihipertansif, kalp damar, diüretik, oral antidiyabetik, insülin, PPI ve aspirin-antiplatelet ilaç kullanımında hastaneye yatış daha yüksek bulunmuştur. Bu durumun, hastalıklara ikincil ilaç kullanımı nedeniyle hastalıkların etkisinin yansımaları olabileceği ve ilaçların da risk gruplarını belirlemede kullanılabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, ilaçlarla eş zamanlı çoğunlukla PPI kullanılmaktadır.

COVID-19 tam aşılanlarda hastaneye yatış az bulunmuştur, literatürle benzer olarak aşının ağır kliniği önlediğini desteklemektedir.³³ DSÖ’ye göre Türkiye’de COVID-19 tam aşı oranı %33 olup çalışmamızda COVID-19 tam aşı oranı yüksek bulunmuştur.⁶ Çalışmamızda zatürre aşısı oranı, yapılan bir çalışmada belirtilen Türkiye’de zatürre aşısı oranıyla benzer %3-14,4 arasında bulunmuştur.³⁴

COVID-19 ve zatürre aşı oranlarının pandemide aşı bilgilendirmelerinden yükseldiği düşünülmüştür. Zatürre aşısı olanlarda hastane yatışının arttığı bulunmuştur, bunun aşının 65 yaş üstü eşlik eden hastalığı olanlara yapılmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Çalışmamızda grip aşısı oranı, bir çalışmada belirtilen Türkiye’de grip aşısı oranıyla benzer %10-31,4 arasında bulunmuştur.³⁴

Maske %88,98, mesafe %88,54, hijyen (el yıkama %98,23, öksürürken ağzını kapatan %57,70), sağlıklı yaşam davranışlarını benimseme %62,11 saptanmıştır. COVID-19’da genel eğilim evdekilerle aynı sofrada yemek yememe, yemekleri bir kişinin pişirip ayrı ayrı yenmesi olduğu söylenebilir. COVID-19’dan korunma için bilgilendirmelerinin toplum farkındalığını artırdığı düşünülmüştür.

Pandeminin belirsizliği, bedene tehdit olması depresyon, travma sonrası stres bozukluğu, alkol kullanımı gibi zihinsel davranışsal bozukluk riskini artırmıştır. COVID-19’da insan biyopsikososyal ele alınmalıdır.²² Çalışmamızda gün içinde stres yaşayanlarda hastaneye yatış yüksek bulunmuştur. Strese yatkın olanlara yakın takip gerektiği ve bağışıklık

sistemini zayıflatan stresin, COVID-19 kliniğini kötüleştirebileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda COVID-19 testini kırgınlık yorgunlukla yaptırılarda hastaneye yatış yüksek bulunmuştur, bu belirtiyyle hastane yatış arası ilişkiyi değerlendiren benzer çalışmaya rastlanmamıştır. COVID-19'un bazı özelliklerine ait literatür bulunamaması, COVID-19 araştırmalarının hâlâ gerektiğini düşündürmüştür. Çalışmamızda, COVID-19'da solunum sıkıntısı olanlarda hastaneye yatış yüksek bulunmuş, COVID-19'un ağır kliniğine en sık solunum yetmezliğinin eşlik etmesine paralel değerlendirilmiştir. Test için başvuruda kırgınlık yorgunluk ve geçirirken solunum sıkıntısının hastaneye yatışı artırdığının tespit edilmesi nedeniyle bunlar, yakın takip için uyarıcı olabilir.

Çalışmamızda, filyasyon ekibi ilaçlarını kullananlarda, hastane yatışının arttığı bulunmuştur. Bu ilaçların yaşlı ve ek hastalığı olan risk gruplarına dağıtılmasından hastane yatışının yüksek olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda vitamin kullananların hastaneye yatışı düşük bulunmuştur, ayrıca katılımcılarda ek ilaç ve takviye kullanımının arttığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda Dvitaminin, morbidite ve mortaliteyi azaltabileceği ve hastanede kalış süresini kısaltabileceği, C vitamininin COVID-19'da yüksek dozlarda bile hiçbir etkisi olmadığı belirtilmiştir.³⁵

Yapılan bir çalışmada COVID-19'da D vitamini %23,0, C vitamini %20,6, multivitamin-mineral %9,7 kullanıldığı belirtilmiştir.²⁰ Çalışmamızda, C vitamini kullanımı daha yüksek, D vitamini ve multivitamin kullanımı daha düşük bulunmuştur.

Çalışmamızda besin, bitki çayı vs. tüketiminin arttığı, artırılan besinler sırasıyla ıhlamur çayı, limon, kekik, bal, su, sıvı şeklinde saptanmıştır. Bazı çalışmalarda bitkisel ürünler ve diğer besin destekleri sırasıyla kuşburnu, sumak, zencefil, ekinezya ve adaçayı, Afrika sardunyası, biberiye, çarkıfelek, defne, hibiskus, kekik, melisa, mürver, nar, okaliptus, zerdeçal ve zeytin (yaprak) olduğu belirtilmiştir.³⁶

Yapılan çalışmalarda post-COVID-19 dönemde en sık semptom yorgunluktur.²⁸ Bir çalışmada, post-COVID-19 en sık belirtiler miyalji, halsizlik/yorgunluk belirtilmiştir.³⁷ Çalışmamızda, post-COVID-19 dönemde katılımcılar %30,84 asemptomatik iken, en sık görülen belirtiler halsizlik, aşırı yorgunluk, eklem ağrısı, unutkanlık olmuştur, halsizlik ve aşırı yorgunluk benzer saptanmıştır.

Post-COVID-19 devam eden belirtilerle özellikler karşılaştırılmıştır. Epidemiyolojik çalışmalarda, bazı

grupların (35-50 yaş arası kadınlar, sosyoekonomik durumu kötü bireyler), bazı hastalıkları olanların (DM, alerjiler, geçmişte post-viral yorgunluk, astım, KOAH, kalp yetmezliği ve kronik böbrek hastalığı gibi), şiddetli akut hastalığı olanların, BKİ'si yüksek olanların ve aşısızların uzun COVID-19 riskinin diğerlerinden yüksek ve şiddetli semptom olasılığının fazla olduğu belirtilmiştir.³⁸ Hastaneye yatış ve post-COVID-19 devam eden belirtilere hipertansiyon, DM, sigara, COVID-19 aşısı literatürle benzer o etkili bulunmuştur. Hastaneye yatışa etkili olmayıp sadece post-COVID-19 belirtilere literatüre benzer olarak etkili bulunanlar, süreğen hastalık, astım, tiroid ve romatizma hastalığıdır. Post-COVID-19 devam eden belirtilere etkili olmayıp sadece hastaneye yatışa etkili bulunanlar, obezite, KAH, diğer kalp damar hastalıkları, kanserdir, literatürde belirtilen risk gruplarıyla benzer değerlendirilmiştir.^{1,9,10,12-14}

Post-COVID-19 kan şekeri yükselmesinin, COVID-19 tam aşılı, sigarayı bırakmış, DM, süreğen hastalığı olan veya hastaneye yatanlarda daha sık görüldüğü saptanmıştır. Post-COVID-19 aşırı yorgunluğun, COVID-19 eksik aşılı, hastaneye yatan veya astım olanlarda daha sık görüldüğü saptanmıştır. Post-COVID-19 nefes darlığının, tiroid hastalığı olan, astım olan veya hastaneye yatanlarda daha sık görüldüğü saptanmıştır.

Çalışmamızda, test başvurusunda en sık belirti öksürük; geçirirken en sık belirti yorgunluk; COVID-19 sonrası en sık halsizlik saptanmıştır. Kayıtlı kişilere her şartta, her yönüyle, sınırsız temaslı aile hekimleri, salgınlarda risk gruplarını daha erken belirleyebilir; koruyucu hekimlikte önlemleri, sağlıklı yaşam davranışlarını uygulayarak örnek ve danışman olabilir.

Bu çalışmanın en önemli sınırlılığı bir aile hekimliği birimini kapsamasıdır, çalışma çok merkezli tekrarlanarak sonuçları ülkeye genellenebilir, COVID-19 için algoritmalar geliştirilebilir. Bu çalışmanın diğer bir sınırlılığı, COVID-19 belirtileri ve açık uçlu soruları katılımcılar, hatırladıklarıyla cevapladığından eksikler olabilir.

SONUÇ

Öğrenim, obezite, yaş, sigara, süreğen hastalık, sürekli ilaç, aşılarda, kırgınlık yorgunlukla test yaptırma, solunum sıkıntısı, gün içinde stres yaşama, vitaminler, post-COVID-19 asemptomatik olma kliniğe; aşılarda, sigara, hastaneye yatış, sürekli hastalık, hipertansiyon, DM, astım, tiroid hastalığı, romatizma hastalığı post-COVID-19 değişikliklere etki etmektedir. Bu çalışma,

COVID-19 hastalığı için korunma, takip ve riskli grupların tespitini kolaylaştırabilir, çalışmalara ışık tutabilir.

Yazarlık katkı beyanı

Konsept ve dizayn: ZA, TA.

Verilerin eldesinde: ZA.

Verilerin analizinde ve yorumlanmasında: TA, ZA.

Makale yazımında: ZA, TA.

Makale revizyonu ve entelektüel katkı: ZA, TA.

Gözetiminde: ZA, TA.

Yazar çıkar çatışması

Yazarlar potansiyel çıkar çatışmalarına sahip değildir.

Etik Onay

Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 25.1.2022 tarihinde 2465 nolu karar ile onaylanmıştır.

Veri ve materyallerin mevcudiyeti

Bu çalışma sırasında oluşturulan veya analiz edilen tüm veriler bu yayınlanan makaleye dahil edilmiştir.

Fon

Bu araştırma için herhangi bir maddi destek alınmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Yıldız PA, Dizbay M. COVID-19'un klinik bulguları ve tedavisi. *Gazi Medical Journal*. 2020;31:255-259. doi:10.12996/gmj.2020.66
2. Biçen Ç, Ertürk E. COVID-19 pandemi sürecinde sağlık çalışanlarında maske kullanımının etkilerinin değerlendirilmesi. *Electronic Turkish Studies*. 2020;15(6):205-218. doi:10.7827/TurkishStudies.44128
3. Durmaz A, Yılmaz M. The effects of being infected with COVID-19 in smokers on their smoking habits. *ADYÜ Sağlık Bilimleri Derg*. 2023;9(2):59-67. doi:10.30569.adiyamansaglik.1188014
4. Kutlu R. What we have learned about the new coronavirus pandemic, current diagnostic and therapeutic approaches and the situation in Turkey. *TJFMPC*. 2020;14(2): 329-344. doi:10.21763/tjfmpe.729917
5. Sönmezer MÇ, İnkaya AÇ. COVID-19: Viroloji, patogenezi, klinik özellikler ve tedavi. *Apraş Bilgen Ş, editör. COVID-19 Pandemisi ve Romatolojik Hastalıklar*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2020. s.1-8.
6. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. <https://COVID-19who.int/> Publication date: September 2024 Asses date: 20.9.2024.
7. Durmuş C, Guner NG, Yurumez Y. Hastane öncesi acil sağlık hizmetleri ve COVID-19 hasta yönetimi. *Phoenix Medical Journal*. 2021;3(2):51-63. doi:10.38175/phnx.895507
8. Kubat GO, Şahin C. Koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19) klinik bulguları. *Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi*.2020;8(Suppl):s14-19. doi:10.24179/kbbbbc.2020-75703
9. Teker AG, Emecen AN, Girgin S, et al. Türkiye'de bir üniversite hastanesinde COVID-19 olgularının epidemiyolojik özellikleri. *Klimik Journal/Klimik Dergisi*. 2021;34(1):61-68. doi:10.36519/kd.2021.11
10. Durmaz A. Birinci basamakta, erken dönem COVID-19'lu hastalarda, şüphe uyandırabilecek markerlar olabilir mi? *International Journal of Medicine Sciences Academic Researches*. 2021;1:15-23.
11. Çerçi P, Bayav M, Akarsu M, et al. COVID-19 hastalarının klinik ve radyolojik özellikleri: Eskişehir'de tek merkez deneyimi. *Eskişehir Med J*. 2021;2(3):194-205. doi:10.48176/esmj.2021.40
12. Günel Ö, Türe E, Bayburtlu M, et al. COVID-19 tanılı hastaların risk faktörleri açısından değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*. 2020;54(4):575-582. doi:10.5578/mb.69811
13. Yu C, Lei Q, Li W, et al. Clinical characteristics, associated factors, and predicting COVID-19 mortality risk: a retrospective study in Wuhan, China. *Am J Prev Med*. 2020;59(2):168-175. doi:10.1016/j.amepre.2020.05.002
14. Özkan E. "COVID-19 yaş, cinsiyet, obezite ile mortalite ilişkisi", *Journal of Social, Humanities and Administrative Sciences*. 2021;7(37):293-296.
15. Şen P, Demirdal T. COVID-19 enfeksiyonunda Mayıs-Ağustos 2020 döneminde yoğun bakıma yatış ve mortalite ile ilişkili faktörler. *Klimik Journal/Klimik Dergisi* 2022;35(2):68-3. doi:10.36519/kd.2022.3998
16. Üçgün AB, Yavuz C. COVID-19 pandemisinin hatırlattıkları: temizlik ve dezenfeksiyon. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*. 2021;30(5):351-357. doi:10.17942/sted.831360
17. KLİMİK derneğinden COVID-19'a karşı güncel bağışıklama önerileri tablosu. https://www.klimik.org.tr/wpcontent/uploads/2022/07/KLI%CC%87MI%CC%87K.Derneg%CC%86inden.COVID19a.Kars%CC%A7i.Gu%CC%88ncel.Bag%CC%86is%CC%A7iklama.O%CC%88nerileri_11.Temmu z.2022_.pdf Yayın tarihi: 11 Temmuz 2022 Erişim tarihi:20.9.2024.
18. Çubukçu M, Yazıcıoğlu B. COVID-19 ve fiziksel aktivite. *Kavukcu E, editör. Kronik Hastalıkların Tedavisinde Spor ve Fiziksel Aktivitenin Yeri*. 1.Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2022. p.88-90.
19. Ghiasee A, Arslan H. COVID-19 pandemisinde fiziksel aktivitenin önemi. *Anasay*.2022;(19):205-212. doi:10.33404/anasay.1060611

20. Demir G, Kılıçkalkan B, Takak MK. COVID-19 pandemisi sürecinde yetişkinlerin besin destekleri kullanımlarının incelenmesi. Genel Tıp Dergisi. 2021;31(4):430-439. doi:0.54005/geneltip.988805
21. Yiğitoğlu ET, Karadede H, Karadede Ö. COVID-19 tanılı bireylerin anksiyete ve depresyon düzeylerinin belirlenmesi. Yoğun Bakım Hemşireliği Dergisi. 2021;25(2):51-59.
22. Baltacı NN, Coşar B. COVID-19 pandemisi ve ruh beden ilişkisi. Coşar B, editör. Psikiyatri ve COVID-19. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2020. s.1-6.
23. Karaköse M, Tarsuslu B, Durat G. COVID-19 pozitif tanısıyla yatan hastaların uyku kalitesinin incelenmesi. Sakarya Üniversitesi Holistik Sağlık Dergisi. 2022; 5(1):19-28. doi:10.54803/sauhsd.1033966
24. Timurtaş E, Avcı EE, Ayberk B. COVID-19 pandemisi sırasında üniversite öğrencilerinin fiziksel aktivite, depresyon, stres, uyku ve yaşam kalitesi düzeylerinin incelenmesi. Ergoterapi ve Rehabilitasyon Dergisi. 2022; 10(1): 17-26. doi:10.30720/ered.1039882
25. Göker H, Aladağ-Karakulak E, Demiroğlu H, et al. The effects of blood group types on the risk of COVID-19 infection and its clinical outcome. Turkish journal of medical sciences. 2020;50(4): 679-683. doi:10.3906/sag-2005-395
26. Liu N, Zhang T, Ma L, et al. The impact of ABO blood group on COVID-19 infection risk and mortality: A systematic review and meta-analysis. Blood reviews. 2021;48:1-9. doi:10.1016/j.blre.2020.100785
27. World Health Organization. Clinical management of COVID-19 Living Guideline. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-clinical-2023.2> Publication date:August, 2023 Asses date:20.9.2024.
28. Aslan R. COVID-19: tam tanımlanamamış risk. Göller Bölgesi Aylık Ekonomi ve Kültür Dergisi Ayrıntı. 2020; 8(91):59-65.
29. Samadzadeh S, Masoudi M, Rastegar M. COVID-19: Why does disease severity vary among individuals?. Respiratory Medicine. 2021;180:1-8. doi:10.1016/j.rmed.2021.106356
30. Eren C. İstanbul ilinde ABO ve Rh kan grupları dağılımının analizi. Dicle Tıp Dergisi. 2019;46(2):241-246. doi:10.5798/dicletip.539989
31. Türkiye Bulaşıcı Olmayan Hastalıklar Çok Paydaşlı Eylem Planı 2017-2025. https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0006/346695/BOH_TR.pdf. Yayın tarihi:2017 Erişim tarihi: 20.9.2024.
32. Civek S, Akman M. Dünyada ve Türkiye’de kardiyovasküler hastalıkların sıklığı ve riskin değerlendirilmesi. Jour Turk Fam Phy. 2022;13(1):21-28. doi:10.15511/tjtfp.22.00121
33. Chi WY, Li YD, Huang HC, et al. COVID-19 vaccine update: vaccine effectiveness, SARS-CoV-2 variants, boosters, adverse effects, and immune correlates of protection. Journal of biomedical science. 2022;29(1):1-27. doi:10.1186/s12929-022-00853-8
34. Kahraman H. Erişkin Bağışıklamada Kaçan Fırsatlar. Osmangazi Tıp Dergisi. 2024;46(4):585-591.
35. SeyedAlinaghi S, Shahidi R, Mojdeganlou H, et al. The effect of macronutrient and micronutrient supplements on COVID-19: an umbrella review. J Health Popul Nutr. 2024;43(1):16. Published 2024 Jan 29. doi:10.1186/s41043-024-00504-8
36. Akkaş S, Koyu EB, Karaalp C. COVID-19 Pandemisi Öncesinden Günümüze Vitamin-Mineral ve Bitkisel Ürünlerin Kullanımı Nasıl Değişti?. İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi, 2024;9(2):207-217.
37. Bilgin S, Yamanoglu A, Kayalı A, et al. Long COVID symptoms among outpatients with COVID-19: a descriptive study. Cukurova Med J. 2023;48(1):243-252. doi: 10.17826/cumj.1216943
38. Greenhalgh T, Sivan M, Perlowski A, et al. Long COVID: a clinical update. The Lancet. 2024;404(10453):707-724. doi:10.1016/S0140-6736(24)01136-X
- To Cite:** Albayrak Z, Acar T. Features and Disease Progresses who Diagnosed with COVID-19 in a Family Health Unit. Farabi Med J. 2024;3(3):85-95. doi:10.59518/farabimedj.1540666

Skin Spiradenocarcinoma in an Adult Patient: A Case Report

Yetişkin Bir Hastada Cilt Spiradenokarsinomu: Bir Olgu Sunumu

Fatma Rana Yesilyurt^{1,a,*}, Rumeysa Beyzanur Gulcebi^{2,b}, Safak Ersoz^{2,c}, Mustafa Kandaz^{1,d}

¹Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Department of Radiation Oncology, 61080, Trabzon, Türkiye

²Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Department of Medical Pathology, 61080, Trabzon, Türkiye

*Corresponding author e-mail: franasahin@gmail.com

^a<https://orcid.org/0009-0004-2552-3139>

^b<https://orcid.org/0009-0002-6927-4352>

^c<https://orcid.org/0000-0001-5521-7133>

^d<https://orcid.org/0000-0003-1106-6227>

ABSTRACT

This case report provides important information about spiradenocarcinoma, a rare skin tumor. It underscores the importance of understanding and recognizing this rare malignant tumor, particularly given its potential for aggressive behavior and metastasis. The fact that spiradenocarcinoma often arises from pre-existing benign tumors like spiradenoma highlights the significance of monitoring and evaluating such lesions for any signs of malignant transformation. The case of the 73-year-old male patient with spiradenocarcinoma, especially occurring after the diagnosis of two separate skin cancers, underscores the need for vigilance in patients with a history of skin malignancies. Additionally, the presentation of nodular lesions on the left lower eyelid demonstrates the potential variability in the location of these tumors, which can occur in various sites across the body. The aggressive nature of spiradenocarcinoma, coupled with its high recurrence rate, emphasizes the challenges in managing this condition. While wide local excision is typically recommended as the primary treatment modality, the uncertain effectiveness of adjuvant therapies underscores the need for further research to optimize treatment strategies and improve outcomes for patients with spiradenocarcinoma. Overall, this case report contributes valuable insights into the clinical characteristics and management of spiradenocarcinoma, highlighting the importance of early detection, thorough evaluation, and multidisciplinary management of this rare malignant tumor.

Keywords: Skin cancer, Spiradenocarcinoma, Treatment

ÖZET

Bu olgu sunumu nadir görülen bir deri tümörü olan spiradenokarsinom hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. Özellikle agresif davranış ve metastaz potansiyeline sahip olan bu nadir malign tümörün anlaşılması ve tanınmasının önemini vurgulamaktadır. Spiradenokarsinomun sıklıkla spiradenoma gibi mevcut iyi huylu tümörlerden kaynaklanması bu lezyonların malign dönüşüm belirtileri açısından izlenmesi ve değerlendirilmesinin önemini ortaya koyar. 73 yaşındaki erkek hastanın spiradenokarsinomuyla ilişkili olarak, özellikle iki ayrı cilt kanseri teşhisi konulduktan sonra ortaya çıkan durum, cilt maligniteleri öyküsü olan hastalarda dikkatli olunması gerektiğini vurgulamaktadır. Ayrıca, sol alt göz kapağında nodüler lezyonların olması, bu tümörlerin vücudun çeşitli bölgelerinde meydana gelebilecekleri potansiyel çeşitliliği göstermektedir. Spiradenokarsinomun agresif doğası, yüksek nüks oranıyla birleştiğinde, bu durumun yönetilmesindeki zorlukları ortaya koymaktadır. Genellikle ana tedavi modalitesi olarak geniş yerel eksizyon önerilse de, adjuvan tedavilerin belirsiz etkinliği, spiradenokarsinomlu hastaların tedavi stratejilerini optimize etmek ve sonuçları iyileştirmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu ortaya koyar. Genel olarak bu vaka raporu, spiradenokarsinomun klinik özelliklerine ve tedavisine ilişkin değerli bilgiler sunarak, bu nadir malign tümörün erken teşhisinin, kapsamlı değerlendirmesinin ve multidisipliner yönetiminin önemini vurgulamaktadır.

Ahahtar Kelimeler: Cilt kanseri, Spiradenokarsinom, Tedavi

Geliş Tarihi/Received Date: 21.03.2024

Kabul Tarihi/Accepted Date: 13.07.2024

INTRODUCTION

Eccrine glands, also known as cholinergic sweat glands in the skin, play a crucial role in thermoregulation. In 1956, Kersting and Helwig identified a benign tumor of these sweat glands, termed eccrine spiradenoma.¹ Typically presenting as solitary skin tumors, spiradenomas can also manifest as multiple small skin nodules. While these benign lesions commonly emerge in early adulthood, they may display an aggressive clinical course. Although rare, malignant transformation can occur in longstanding, isolated spiradenomas.² Terms used to denote this transformation include malignant eccrine spiradenoma (MES), eccrine carcinoma ex-adenoid spiradenoma, and eccrine spiradenocarcinoma (SPC). This exceedingly uncommon malignant tumor, primarily originating from benign spiradenoma, seldom arises *de novo* from dermal appendages.³ The English literature has reported 102 cases of MES in all. According to recent accounts, there appears to be little gender predisposition and that the tumor primarily affects older people.⁴

MES represents a rare and aggressive tumor emerging from the eccrine sweat glands, although apocrine markers have been detected in some cases.^{3,5} Typically affecting regions such as the head and neck, extremities, or trunk, MES tends to manifest more frequently in older individuals, with a mean onset age of approximately 59 years, and it occurs equally in both sexes.⁶ One of the notable features of MES is its aggressive nature, with a tendency to metastasize to nearby lymph nodes and distant sites such as bones, lungs, and even the brain.^{6,7}

The duration required for malignant transformation of a skin lesion like MES can vary considerably, ranging from as swiftly as 6 months to as protracted as 70 years.³ Malignant transformation denotes the process whereby a previously stable or benign skin lesion undergoes changes culminating in malignancy, often accompanied by symptoms such as pain and ulceration.^{3,6}

The rarity and diverse presentation of MES render staging and diagnostic processes particularly challenging. While advancements in imaging techniques have facilitated diagnosis and staging, histopathological examination remains pivotal for confirmation. Typically, a biopsy of the lesion is indispensable for obtaining tissue samples for histological analysis, which can unveil the malignant

nature of the lesion and furnish critical insights for staging and treatment planning. Histopathological analysis for confirmation can be intricate. High-grade carcinomas may exhibit an abrupt transition between benign spiradenoma and SPC areas, whereas lower-grade carcinomas may necessitate ancillary tests like immunohistochemical staining for markers such as Ki-67, p53, and S100.^{6,8,9} MRI and FDG PET-CT are commonly advocated imaging modalities for staging MES, furnishing comprehensive information about tumor extent and potential metastases.^{6,10}

As for the prognosis of high-grade SPC, it carries a notable mortality rate. Local tumor recurrence rates post-initial treatment can surpass 20%, with a median recurrence time of approximately 12 months.^{6,7,11,12} However, it's crucial to acknowledge that the literature on SPC primarily comprises case reports, short case series, and reviews due to its rarity, precluding the establishment of definitive treatment standards.

While treatment strategies for high-grade SPC remain ill-defined owing to the scarcity of cases, surgical excision is commonly advocated as the primary treatment modality.^{6,7,13-15} The role of adjuvant external beam radiotherapy, chemotherapy, and/or regional lymph node dissection remains uncertain and may hinge on individual case characteristics.

Given its rarity and aggressive nature, treatment of MES can pose clinical challenges and often requires a multidisciplinary approach including surgical excision, radiation therapy, and sometimes chemotherapy. Given the risk of recurrence, meticulous monitoring and multidisciplinary management involving oncologists, surgeons, and other specialists are often recommended to tailor treatment plans to each patient's specific needs. Careful monitoring and timely intervention are mandatory for effective management of this condition.

CASE REPORT

The patient, aged 73, with a medical history including bypass surgery in 2012, diabetes mellitus, hyperlipidemia, and arrhythmia, presented with non-healing wound-like lesions on the left eyebrow skin area in 2007 and excisional biopsy was performed. The pathology report indicated SCC with clear surgical margins, and no adjuvant therapy was considered; the patient was put under follow-up. In 2009, an excisional biopsy was performed on a lesion in the lower left eyelid. The pathology revealed carcinoma *in situ* with a 1 mm surgical margin. In 2023, due to recurrence in the

lower left eyelid, another excisional biopsy was performed, and the pathology report indicated a basaloid malignant epithelial tumor. One year later, on March 22, 2024, the recurrent mass was excised again, and the pathology was reported as spiradenocarcinoma. Since the surgical margin was 1 mm, the patient was referred to the Radiation Oncology clinic, and post-operative radiotherapy was planned.

According to the pathology report, the histopathological characteristics of neoplastic cells were as follows: BerEp4 (+), EMA (+), CK20 (-), INSM-1 (-), CEA-mono (-), CK7 (-), p63 (+), AR (-), Adipophilin (-), p53 (-), S100 (-) (figure 1). In the FDG PET-CT scan performed on the patient, no evidence of distant metastasis was detected. Due to SPC's rarity and aggressiveness, comprehensive treatment planning is necessary. A multidisciplinary approach involving surgical oncologists, radiation oncologists, medical oncologists, and other specialists is often essential. Treatment may require surgical excision, radiation therapy, and possibly chemotherapy, considering disease extent, metastasis, and patient factors. Treatment objectives include local disease control, relapse prevention, and survival improvement, considering the patient's age, medical history, and overall health. The patient underwent 50 Gray radiotherapy and received close monitoring and regular follow-up to assess treatment outcome, detect recurrence or metastasis, and provide supportive care (figure 2).

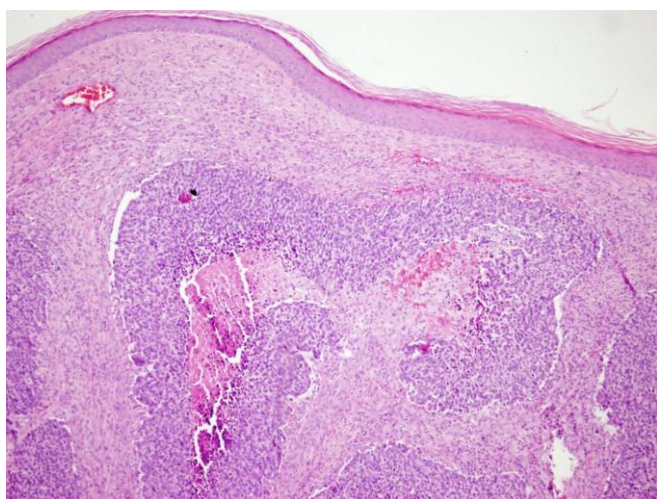


Figure 1. Regions of spiradenoma free of atypia and displaying its characteristic nodular appearance

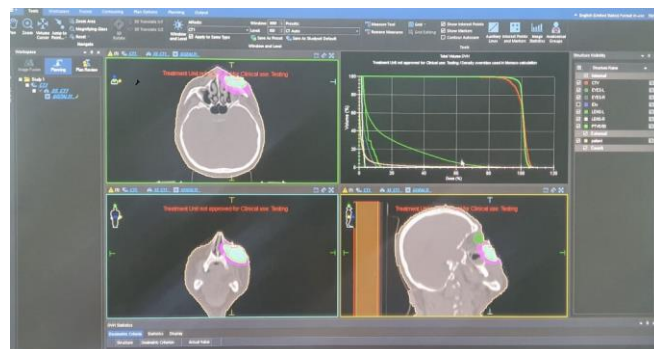


Figure 2. Treatment planning

DISCUSSION

SPC is indeed an exceptionally rare malignant tumor originating from the eccrine sweat glands. It was first described by Dabska et al. in 1971.² Typically, SPC arises from a benign precursor lesion known as spiradenoma, although there have been sporadic reports of de novo development without a preceding benign lesion. Histologically, SPC is characterized by the malignant transformation of eccrine cells.³ However, it's noteworthy that in some cases, apocrine markers have also been identified, indicating a possible differentiation towards apocrine sweat glands. Due to the rarity of SPC and its varied histological features, accurate diagnosis often requires a combination of clinical, histopathological, and sometimes immunohistochemical examinations. Additionally, given the aggressive nature of SPC, prompt diagnosis and appropriate management are crucial for optimizing patient outcomes. Treatment typically involves a multidisciplinary approach, including surgical excision, radiation therapy, and possibly chemotherapy, tailored to the individual patient's needs and disease characteristics.

SPC typically manifests as nodular lesions on the trunk, extremities, or head and neck region.³ While the incidence of this malignancy is comparable between genders, it tends to occur more frequently in older individuals, with a typical age of onset around 59 years.¹⁶ The malignant transformation of spiradenoma into SPC is associated with aggressive behavior. It often exhibits a high recurrence rate and has the potential to develop fatal metastases.¹⁷ Due to its aggressive nature, SPC requires prompt diagnosis and appropriate management to optimize patient outcomes.

Treatment usually involves a multidisciplinary approach, including surgical excision, radiation therapy,

and possibly chemotherapy, tailored to the individual patient's needs and disease characteristics. Close monitoring and regular follow-up are essential to assess treatment response, detect any recurrence or metastases early, and provide timely intervention as needed.

Metastases in SPC typically involve sites such as the bone, lung, liver, and brain, but lymphatic infiltration can significantly worsen the prognosis.^{7,11} While metastases may not be initially detected, the likelihood of their occurrence increases if sarcomatous changes are found on histopathological analysis. Sarcomatous changes have been reported in 21–57% of SPC cases and are associated with a higher risk of metastasis and poorer prognosis.^{18,19} In the case you mentioned, the absence of sarcomatous foci or syringoma on histopathological analysis is a positive finding, as it suggests a lower likelihood of metastasis. However, it's essential to remain vigilant for any signs of recurrence or metastasis during follow-up evaluations. Regular monitoring, including clinical examinations and possibly imaging studies, will be crucial to detect any potential disease progression early and initiate appropriate treatment interventions if necessary. Additionally, a multidisciplinary approach involving oncologists, radiologists, and other specialists may be necessary to ensure comprehensive management and optimize patient outcomes.

Surgical excision with wide margins is indeed considered the mainstay of treatment for SPC. This approach aims to achieve complete removal of the tumor and surrounding tissue to minimize the risk of local recurrence. Several studies, including those by Andreoli et al. have reported a 100% survival rate with wide surgical excision in cases where there is no evidence of metastasis.⁷ The role of adjuvant treatments such as external beam radiotherapy and chemotherapy in the management of SPC remains unclear and controversial. Some studies suggest that chemotherapy is typically reserved for cases where the cancer has spread to other organs such as the brain.^{7,11} However, the decision to use adjuvant therapies should be made on a case-by-case basis, taking into consideration factors such as the extent of the disease, tumor characteristics, and the patient's overall health status. Further research and clinical trials are needed to better understand the role of adjuvant treatments in improving outcomes for patients with SPC.

The diagnosis of SPC typically requires histopathological analysis, as it can be challenging to

distinguish between benign and malignant lesions based solely on clinical presentation. Histological examination allows for the evaluation of cellular characteristics and tissue architecture, which are crucial for accurate diagnosis. Immunohistochemical staining for specific markers can also be helpful in distinguishing SPC from benign lesions such as spiradenoma. Markers commonly used in this context include Ki-67, p53, and S100. Ki-67 is a marker of cellular proliferation and can help assess the growth fraction of the tumor.³ Elevated Ki-67 expression may indicate increased cellular proliferation and thus suggest malignancy. p53 is a tumor suppressor gene that plays a role in regulating cell cycle progression and apoptosis. Abnormal expression or mutation of p53 protein is associated with many malignancies, including SPC. S100 is a marker commonly expressed in cells derived from the neural crest, including sweat gland cells. While S100 staining alone may not differentiate between benign and malignant lesions, its expression pattern in conjunction with other markers can provide additional diagnostic information. The combination of histopathological analysis and immunohistochemical staining helps pathologists accurately diagnose SPC and differentiate it from benign lesions. This information is crucial for guiding treatment decisions and predicting prognosis in patients with suspected SPC.

Indeed, imaging methods such as MRI (Magnetic Resonance Imaging) and FDG PET-CT (Positron Emission Tomography with Fluorodeoxyglucose) are commonly recommended for tumor staging in SPC.^{7,16} These modalities provide valuable information about the extent of the tumor and the presence of any metastases. High-grade SPC is characterized by a high rate of local recurrence and metastasis. Due to the rarity of SPC, treatment guidelines are currently lacking. Management strategies are generally based on case reports, small case series, and reviews, as mentioned by Andreoli and Gupta et al. (2000).^{7,17} Given the limited evidence and variability in clinical presentations, more research is needed to establish standardized treatment protocols and improve outcomes for patients with SPC. Multidisciplinary collaboration among oncologists, surgeons, radiologists, and other specialists is essential to tailor treatment plans to individual patients and optimize their care. Clinical trials and prospective studies may help to further elucidate the optimal management strategies for SPC. This case report highlights the presentation, diagnosis, and management

of SPC, a rare skin tumor. The presence of nodular lesions on the left lower eyelid in the patient's history is significant, as it raises suspicion for malignancy. The evolution of the tumor and treatment options described in the literature support the clinical findings observed in this case. Wide local excision is highlighted as a primary treatment option, but it's noted that treatment standards for SPC have not been firmly established due to its rarity. This underscores the importance of individualized treatment plans based on the patient's specific circumstances and tumor characteristics.

The case report also suggests that SPC should be considered in the differential diagnosis of eyelid tumors. Additionally, it acknowledges that in certain cases where there is a low risk of metastasis or a short life expectancy, observation rather than aggressive surgical intervention may be a viable option. Furthermore, the challenges in managing SPC are highlighted, emphasizing the need for further research to better understand the optimal diagnostic and treatment strategies for this rare malignancy. This case serves as a reminder of the complexity involved in managing rare skin tumors like SPC and the importance of ongoing research efforts to improve patient outcomes.

Authorship contribution statement

Concept and design: MK, FRY.

Acquisition of data: MK, FRY.

Analysis and interpretation of data: MK, FRY, ŞE, RBG.

Drafting of the manuscript: MK, FRY, ŞE, RBG.

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: MK, FRY.

Ethical approval/Informed Consent

Written informed consent was obtained from the patient who participated in this case.

Declaration of competing interest

None of the authors have potential conflicts of interest to be disclosed.

Availability of data and materials

All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

Funding

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

REFERENCES

1. Kersting DW, Helwig EB. Eccrine spiradenoma. *AMA Arch Derm.* 1956;73(3):199-227. doi:10.1001/archderm.1956.01550030001001
2. Dabska M. Malignant transformation of eccrine spiradenoma. *Pol Med J.* 1972;11(2):388-396.
3. Ribeiro-Silva A, Shaletich C, Careta RS, Kazava DK, Siqueira MC, Ponton F. Spiradenocarcinoma of the breast arising in a long-standing spiradenoma. *Ann Diagn Pathol.* 2004;8(3):162-166. doi:10.1016/j.anndiagpath.2004.03.007
4. Hantash BM, Chan JL, Egbert BM, Gladstone HB. De novo malignant eccrine spiradenoma: a case report and review of the literature. *Dermatol Surg.* 2006;32(9):1189-1198. doi:10.1111/j.1524-4725.2006.32265.x
5. Ahluwalia BK, Khurana AK, Chugh AD, Mehtani VG. Eccrine spiradenoma of eyelid: case report. *Br J Ophthalmol.* 1986;70(8):580-583. doi:10.1136/bjo.70.8.580
6. Staiger RD, Helmchen B, Papet C, Mattiello D, Zingg U. Spiradenocarcinoma: A Comprehensive data review. *Am J Dermatopathol.* 2017;39(10):715-725. doi:10.1097/DAD.0000000000000910
7. Andreoli MT, Itani KM. Spiradenocarcinoma: A case report and review of the literature. *Eplasty.* 2010;10:e65.
8. Huang A, Vyas NS, Mercer SE, Phelps RG. Histological findings and pathologic diagnosis of spiradenocarcinoma: A case series and review of the literature. *J Cutan Pathol.* 2019;46:243-250. doi:10.1111/cup.13408
9. Satturwar S, Wakely PE Jr, Lott Limbach A. Fine needle aspiration cytopathology of eccrine spiradenoma. *J Am Soc Cytopathol.* 2022;11(5):274-280. doi:10.1016/j.jasc.2022.05.002
10. Sanchez Pettito G, Sarwari NM, Jain P, Swaby M, Bhattacharjee M. FDG PET/CT in Malignant eccrine spiradenoma. *Clin Nucl Med.* 2017;42(2):125-126. doi:10.1097/RLU.0000000000001501
11. Nyame TT, Mattos D, Lian CG, Granter SR, Laga AC, Caterson EJ. Malignant eccrine spiradenoma of the face. *J Craniofac Surg.* 2015;26(5):1711-1712. doi:10.1097/SCS.0000000000001857
12. Chow W, Griffiths M. A malignant eccrine spiradenoma of the scalp. *BMJ Case Rep.* 2014;2014:bcr2013202524. doi:10.1136/bcr-2013-202524
13. Wagner K, Jassal K, Lee JC, Ban EJ, Cameron R, Serpell J. Challenges in diagnosis and management of a spiradenocarcinoma: A comprehensive literature review. *ANZ J. Surg.* 2021;91:1996-2001.
14. Wargo JJ, Carr DR, Plaza JA, Verschraegen CF. Metastatic spiradenocarcinoma managed with PD-1 inhibition. *J. Natl. Compr. Cancer Netw.* 2022;20(4):318-320. doi:10.6004/jnccn.2021.7119
15. You D, Ma Z, Liu J, Song X, Dong W. Malignant eccrine spiradenoma of the external auditory canal: A case report and literature review. *Front Oncol.* 2021;10:574112. doi:10.3389/fonc.2020.574112
16. Tay TK, Lee YS, Ahchong AK. Malignant eccrine spiradenoma of the scalp. *Ann Acad Med Singapore.* 1997; 26: 233-235.
17. Gupta S, Radotra BD, Kaur I, Handa S, Kumar B. Multiple linear eccrine spiradenomas with eyelid involvement. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2001;15(2):163-166. doi:10.1046/j.1468-3083.2001.00234.x

18. Chou SC, Lin SL, Tseng HH. Malignant eccrine spiradenoma: a case report with pulmonary metastasis. *Pathol Int.* 2004;54(3):208-212. doi:10.1111/j.1440-1827.2004.01609.x
19. Biernat W, Wozniak L. Spiradenocarcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of three cases. *Am J Dermatopathol.* 1994;16(4):377-382.

To Cite: Yesilyurt FR, Gulcebi RB, Ersoz S, Kandaz M. Skin Spiradenocarcinoma in an Adult Patient: A Case Report. *Farabi Med J.* 2024;3(3):96-101. doi:10.59518/farabimedj.1456392

Glenfatik Sistem

The Glymphatic System

İlknur Çöllü^{1,a,*}, Ozan Turamanlar^{1,b}

¹İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İzmir, Türkiye

*Sorumlu yazar e-posta: ilknurcollu1@gmail.com

^a<https://orcid.org/0000-0003-1605-6327>

^b<https://orcid.org/0000-0002-0785-483X>

ÖZET

Glenfatik sistem, periferik dokudaki lenfatik sisteme benzerliğine ve glial aquaporin-4 kanallarının sıvı taşınmasındaki önemli rolüne dayalı olarak adlandırılmıştır. On sekizinci yüzyılın sonlarına doğru insan vücudundaki lenfatik sistem tanımlanmış olmasına rağmen uzun yıllar boyunca beyinde lenfatik sistem varlığı göz ardı edilmiştir. Yirminci yüzyılın ikinci yarısından itibaren merkezi sinir sistemi içinde fonksiyonel bir lenfatik sistemin olduğu açıklanmaya çalışılmıştır. Yakın dönemde yapılan deneysel çalışmalarda, farenin cisterna magna'sına enjekte edilen floresan desktrandan oluşan izleyicinin takip ettiği yol gözlemlenerek, merkezi sinir sistemi içinde beyin omurilik sıvısı ve hücreler arası sıvının perivasküler değişim hareketi gösterilmiş ve bu sistemin "glymphatic" yol olarak adlandırılmasını önerilmiştir. Son zamanlarda glenfatik akımı yönlendiren mekanizmalar açıklanmaya çalışılmıştır. Glenfatik sistemin kardiyak ve solunum siklus ile ilişkisinin yanında vazodinamik değişiklikler, uyku ve vücut duruşuna bağlı değişikliklerle olan ilişkisi yapılan deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Bunun yanında son yıllarda subaraknoid kanama, yaşlanma, küçük damar hastalığı ve hipertansiyon, Alzheimer, Parkinsonizm, depresyon ve obezite gibi birçok patolojik durum, hastalık ve sendromlarda glenfatik sistem ile olan ilişkisi ve glenfatik sistem yoluyla tedavi seçenekleri üzerine oldukça fazla sayıda araştırma yapılmıştır. Bu derlememizin amacı, glenfatik sistemi tanıtmak, bu sistemin tarihsel gelişiminden başlayarak günümüze kadar süregelen gelişimini, fizyolojik ve patolojik mekanizmalardaki rolünü, tıbbi görüntüleme yöntemleri ve tedavi yaklaşımlarında glenfatik sistemin önemini belirtmektir.

Anahtar Kelimeler: Aquaporin-4, Astrosit, Glenfatik sistem, Perivasküler boşluk

ABSTRACT

The glymphatic system was named based on its similarity to the lymphatic system in peripheral tissue and the important role of glial aquaporin-4 channels in fluid transport. Although the lymphatic system in the human body was described towards the end of the eighteenth century, for many years the existence of a lymphatic system in the brain was ignored. Since the second half of the twentieth century, attempts have been made to explain the existence of a functional lymphatic system within the central nervous system. In recent experimental studies, the perivascular exchange movement of cerebrospinal fluid and intercellular fluid within the central nervous system was demonstrated by observing the path of a fluorescent dextrans tracer injected into the cisterna magna of the mouse, and it was suggested that this system should be called the "glymphatic" system. Recently, the mechanisms directing the glymphatic flow have been tried to be explained. The relationship of the glymphatic system with the cardiac and respiratory cycles as well as with vasodynamic changes, sleep and body posture-related changes has been demonstrated by experimental studies. In addition, in recent years, a large number of studies have been conducted on the relationship between the glymphatic system and many pathological conditions, diseases and syndromes such as subarachnoid hemorrhage, aging, small vessel disease and hypertension, Alzheimer's disease, Parkinsonism, depression and obesity and treatment options through the glymphatic system. The aim of this review is to introduce the glymphatic system, its historical development, its role in physiological and pathological mechanisms, the importance of the glymphatic system in medical imaging methods and treatment approaches.

Keywords: Aquaporin-4, Astrocyte, Perivascular space, The glymphatic system

GLENFATİK SİSTEM

Beyin omurilik sıvısı (BOS) ve hücreler arası sıvının değişimi, periarteriyel boşluk boyunca BOS'un akışı ile kolaylaştırılır. BOS; arteriyel basınç, solunum ve BOS basıncın birlikte olan etkisiyle spatium subarachnoideum'da akar. Astrositler, sitoplazmik uzantılarıyla nöronları ve kan damarlarını kuşatan bir glial hücre türüdür. Astrositler ve astrositik uç ayaklar, glenfatik sistemde hücreler arası sıvının taşınması için geçirgen bir bariyer oluşturmak üzere perivasküler boşlukların etrafında sonlanır. BOS'un beyin parankimine taşınması, astrositik uç ayaklardaki aquaporin-4 (AQP4) tarafından kolaylaştırılır. Parankim içindeki BOS hareketi hücreler arası sıvı akışını perivenöz boşluklara doğru yönlendirir. Hücreler arası sıvı, perivenöz boşluklardan servikal lenfatik sisteme doğru bir akış gerçekleşir. İşlevsel olarak periferik dokudaki lenfatik sisteme benzerliğine ve glial AQP4 kanallarının sıvı taşınmasındaki önemli rolünden dolayı perivasküler sıvı hareketinin afferent ve efferent bir işlev göstermesine glenfatik sistem denilmiştir.¹ Glenfatik sistemin işlevi, AQP4'ün astrositik uç ayakların vasküler tarafına doğru yönelerek dizilmesine(kutuplaşmasına) büyük ölçüde bağlıdır. 2012 yılında, glenfatik sistem ilk kez in vivo olarak farelerde iki fotonlu mikroskopi kullanılarak gözlenmiştir.²

GLENFATİK SİSTEMİN TARİHÇESİ

İtalyan anatomist Giovanni Paolo Mascagni (1755-1815), yapmış olduğu çalışmalarda beyin içindeki lenfatik sistemi tanımlamıştır.³ 1787'de Vasorum Lymphaticorum Corporis Humani Historia et Iconographia (İnsan Vücudunun Lenfatik Damarlarının İkonografisi ve Tarihi) başlıklı monografiyi yayınlamış insandaki lenfatik sistemin ilk sistematik ve kesin tanımını yapmıştır. Ancak Mascagni'nin yapmış olduğu çalışmalar İngilizce literatüre çevrilmemiş ve dolayısıyla da gözardı edilmiştir. İsveçli anatomist Magnus Gustaf Retzius ve patolog Axel Key tarafından 1875'te yazılan "Studien in der Anatomie des Nerven systems und des Bindegewebes" başlıklı makalede ise beyinde lenfatik dolaşım olmadığı belirtilmiştir. Böylece bu makale ile birlikte yüzyılı aşan süre boyunca nöroimmünoloji ile ilgili yanlış bir algı oluşur.⁴ Prineas'ın 1979'da nörolojik bozukluğu olan bireylerin beyin parankimi içinde lenfatik damarlara benzeyen yapıları bildirdiği bir çalışmanın dışında, beyinde lenfatik damarların olmadığı kabul edilmiştir.⁵

Literatürde, beyin omurilik sıvısı (BOS) ile ekstrakranial lenf kompartmanları arasında fizyolojik bir ilişki olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. BOS ile lenf sıvısı arasındaki ilişki ilk olarak yüzyılı aşkın bir süre önce yapılan araştırmalarda belirtilmiştir. Schwalbe, köpeklerde ve tavşanlarda spatium subarachnoideum ile nodi lymphatici cervicales arasında bir bağlantı olduğunu Berlin mavisini kullanarak göstermiştir.⁶ Yapılan çalışmalar, BOS'a veya beyin parankimine enjekte edilen çeşitli izleyicilerin kafatasının dışındaki lenfatik damarlara, baş ve boyundaki çeşitli lenf düğümlerine girdiğini göstermiştir. 1960'larda, Földi ve ark. merkezi sinir sistemi (MSS) ile periferik lenfatik sistem arasında, MSS metabolitlerinin atılımında yer alan lenfatik bağlantıların varlığını tanımlamıştır.⁷ 1985 yılında Patricia A. Grady, perivasküler boşluklardaki BOS akışının aslında bir tür dolaşım oluşturduğunu gösteren yeni bir bulgu yayınlamıştır. Bu dolaşım, spatium subarachnoideum'dan gelen BOS, penetran arteriyollerin çevresindeki perivasküler boşluklar aracılığıyla nöropile giriş yapar ve ardından kılcal damarların bazal laminasından geçerek venleri çevreleyen perivasküler boşluklar boyunca nöropilden çıkmaktadır. Histolojik olarak boyanmış beyin kesitlerinde, izleyicinin infüzyonundan sadece 10 dakika sonra yayılmasını gözlemleyerek, basit difüzyonla elde edilemeyecek kadar hızlı bir akışın olduğu gösterilmiştir.⁸ Son yüzyılda başlayan ve devam eden çalışmalar ile MSS kaynaklı antijenlerin, nodi lymphatici cervicales profunda'da bir immün yanıtı indüklediği ve meninksler içinde hücreler ve çözünür bileşenleri beyin omurilik sıvısından nodi lymphatici cervicales profunda'ya boşaltan fonksiyonel bir lenfatik sisteme sahip olduğu gösterilmiştir.⁹ 2012'de Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Rochester Üniversitesi Tıp Merkezi'nden Iliff ve ark. tüm serebral kan damarlarını görselleştirmek için farelerin cisterna magna'sına floresan desktrandan oluşan izleyici enjekte ettiler. Burada, BOS bazlı izleyicinin perivasküler boşlukların içine girdiğini gözlemlediler. BOS periarteriyel boşluktan beyne akmakta ve AQP4 aracılığıyla hücreler arası sıvı ile değişmektedir. Bu tür bir değişim, metabolitleri ve hücreler arası sıvıyı perivenöz boşluğa daha sonrasında BOS dolaşımına veya doğrudan lenfatik kılcal damarlar yoluyla nodi lymphatici cervicales'lere yönlendirebilir.² Glial sıvı akışına bağlı olması ve hücreler arası sıvı klirensinde lenfatik bir fonksiyona bağlı olması

nedeniyle, bu sistemin "glymphatic" yol olarak adlandırılması önerildi.²

2015 yılında Louveau ve ark. meningeal lenfatik damarların varlığını doğrulamıştır.¹⁰ Bunu da tüm meninksleri boyayarak ve BOS'u nodi lymphatici cervicales profunda'ya boşaltan lenfatik damarları keşfederek kanıtlamışlardır. Bu damarlar beyni metabolitlerden temizler ve T hücrelerinin göçünden sorumludur. Dura mater'deki konumları nedeniyle bu lenfatik damarlara dural lenfatik damarlar da denir. Aynı yıl Aspelund ve ark. fare meninkslerinde lenfatik damarlar bulmakla kalmamış, aynı zamanda lenfatik damarların dağılımını ayrıntılı olarak da incelemiştir.¹¹

GLENFATİK SİSTEMİN GELİŞİMİ

Glenfatik sistemin gelişimi, perivasküler alanları kaplayan astrositik uç ayakların bir örtüsünün oluşumuna ve aquaporin-4 (AQP4)'ün astrositik uç ayakların vasküler tarafına doğru kutuplaşmasına bağlıdır. Glenfatik sistemin gelişimi ve olgunlaşması, perisitlerdeki bir sinyal molekülü olan platelet kaynaklı büyüme faktörü B (PDGF-B) tarafından büyük ölçüde etkilenir. Farelerde yapılan çalışmalarda PDGF-B'nin yok edilmesi, AQP4'ün kutuplaşmasını ortadan kaldırır. Glenfatik sistemin doğum sonrası gelişimi, kan beyin bariyerinin olgunlaşması ile birlikte olmaktadır.¹² Erişkin memelilerde BOS, meningeal lenfatikler ve perinöronal kılıflar aracılığıyla servikal lenfatik sisteme veya granulationes arachnoideae'lar yoluyla kan dolaşımına geçer. Dura mater'deki lenfanjiyogenez; vasküler düz kas hücreleri ile glandula pituitaria ve glandula pinealis'ten vasküler endotelial büyüme faktörü-C'nin (VEGF-C) salınmasına bağlıdır.¹³ Bazı raporlar, insanda embriyonik 26. haftada ilkel bir granulationes arachnoideae ortaya çıktığını ve 35. haftadan itibaren anatomik olarak olgun granulationes arachnoideae'ların oluştuğunu göstermektedir.¹⁴ İnsan fetus beyninin histolojik incelemesinde sinus sagittalis superior'a paralel lacunae laterales'ler tespit edilmiştir. İntratekal gadobutrol uygulamasını takiben MRG izleyici çalışmaları, erişkinlerde bu yapıların BOS'u spatium subarachnoideum'dan dura mater'e drene ettiğini ortaya koymaktadır.¹⁵

Farelerde tanımlanan glenfatik sistemin farklı bileşenleri, BOS'un perivasküler akışı, astrositik uç ayaklardaki AQP4 kutuplaşması, BOS izleyicilerinin perivenöz akışı insanlarda da tespit edilmiştir. Bunun yanında uyku sırasında artan beyin temizliği, yaşlanma ile değişen AQP4 kutuplaşması, yaşlanma ile azalan

beyin temizliği gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik benzerlikler bulunmaktadır. Beyin yüzeyindeki BOS akışı açısından kemirgenler ve insanlar arasında farklılıklar vardır. Glenfatik sistemin ilk tanımlandığı fare ve sıçan gibi kemirgenler, lissencephalic beyinlere sahipken, insanlar ve diğer birçok büyük memeli gyrus ve sulcus'lar ile katlanmış kortekslerle karakterize edilen gyrencephalic beyinlere sahiptir. Beyin sıvısı klirensi açısından bakıldığında, gyrencephalic beyinler sulcus ve gyrus'lar yoluyla dorsal korteksler üzerinden spatium subarachnoideum'da nispeten daha büyük BOS akışını destekleyerek BOS ile beyin ekstraselüler boşluk arasında daha verimli sıvı alışverişini sağlar.¹⁶

GLENFATİK AKIMI YÖNLENDİRENLER

BOS'un periarteriyel boşluklar boyunca glenfatik sistem yoluyla taşınması, ardından beyin parankimi boyunca akışı ve hücreler arası sıvının perivenöz boşluk boyunca servikal lenf sistemine çıkışı çok sayıda mekanizma tarafından yönlendirilen enerji gerektiren bir süreçtir. Plexus choroideus tarafından üretilen BOS, ventriküler sistemden spatium subarachnoideum'a sıvı akışının yönünü belirleyen bir basınç oluşturur.¹⁶

Kardiyak Siklus

Perivasküler boşluktaki BOS akış hızının dinamikleri kan akışına benzer, yani hızı periyodik bir şekilde kardiyak siklus ile senkronize olarak artar ve azalır. Maksimum BOS akış hızı kalp atışınıkiyle eşleşir ve bu da arter boyunca yayılan kardiyak nabız dalgasının BOS akışının ana itici gücü olduğunu gösterir. Kalp siklusunun BOS'u periarteriyel boşluklara pompalamadaki önemi, kardiyovasküler dinamikleri değiştiren farmakolojik ajanların BOS akışını etkileyebileceği gözlemleriyle de gösterilmiştir.¹⁶ Mestre ve ark. perivasküler boşluktaki BOS akışının kalp siklusuyla aynı frekansta ve kan akışıyla aynı yönde olduğunu doğrulamaktadır. Hipertansiyonun perivasküler pompayı bozduğunu ve perivasküler boşlukta BOS taşınmasını yavaşlattığını göstermişlerdir.¹⁷

Solunum Siklusu

Beyin ve kranial damarlarda kapak mekanizmasının olmaması nedeniyle beyindeki venöz basınç merkezi, venöz basınca oldukça duyarlıdır ve bu da solunum siklusu boyunca intratorasik basınçtaki değişiklikleri takip eder. İntraventriküler BOS akışı, inspirasyonla ilişkili olarak intratorasik basınç değişiklikleri ile değişebilmektedir. Bu nedenle zorlu inspirasyon BOS akışını arttırılabilir, nefes tutma ise azaltabilir.

İnspirasyonda intratorasik basınçtaki düşüş, venöz kan çıkışında ve dolayısıyla ventriküllere BOS girişinde artışa neden olur.¹⁶

Vazodinamik Değişiklikler

Damar çapındaki değişiklikler, kardiyak siklus ile birlikte aynı zamanda damar tonusunun otoregülasyonundan da kaynaklanır. Böylece vazokonstriksiyon ve vazodilatasyon, beyin arterleri ve arteriyollerinin duvarlarındaki vasküler düz kas hücrelerinin tonusundaki değişikliklerden etkilenir. Damar düz kas hücre tonus otoregülasyonunun neden olduğu arteriyel ve arteriolar çaptaki değişiklikler hem intraventriküler BOS akışı hem de beyin klirensi ile ilişkilendirilmiştir. İntraserebral kan hacmi azaldığında, BOS ventriküllere akar.¹⁶

Glenfatik Akım ve Uyku

Uyanık durumdaki deneklerde BOS akışının, anestezi uygulanmış farelere kıyasla azaldığını göstermektedir.¹⁸ Bunun anestezi etkiden mi yoksa kullanılan anesteziğin bir yan etkisine mi özgü olduğunu test etmek için aynı deney doğal olarak uyuyan farelerde yapılmıştır. BOS akışının bu analizi, doğal uyku ile anestezi uygulanarak uyutulan fareler arasında benzerlik gösterdiği görülmüştür. Uyanık durumda %13-15 olan hücreler arası boşluğun hacim fraksiyonu hem uyku hem de anestezi uygulanmış farelerde %22-24'e genişlediğini gösterilmiştir. Bu uykunun metabolitlerin temizlenmesine elverişli olduğunu gösterir. Glenfatik fonksiyonunun, uyanık farelerde çok az aktif olduğu, ancak anestezi altındaki farelerde ve doğal olarak uyuyan farelerde çok aktif olduğu gözleminin, glenfatik aktivitesinin düzenlenmesinde uyku halinin önemli olduğu sonucuna varılmıştır. Uyanık farelere lokal olarak verilen norepinefrin reseptör antagonistlerinin, uyku veya anestezi altında gözlemlendiği gibi neredeyse eşdeğer olan bir BOS akışı olduğu saptanmıştır.¹⁸ Uyku durumunda hücreler arası hacmin artması, akıma karşı doku direncini azaltarak BOS-hücreler arası sıvı değişimine izin vermektedir. Bu nedenle, uyanık durumda norepinefrin salınımı hücresel hacim fraksiyonunu artırarak hücreler arası alanı azaltır. Norepinefrin ayrıca plexus choroideus'daki epitel hücrelerine doğrudan etki eder ve BOS üretimini inhibe eder. Bunun tersine, uyku durumunu taklit eden norepinefrin sinyalinin kaldırılması, BOS üretimini artırır.¹

Hablitz ve ark. anestezi altında 6 anestezi ajanla farelerde glenfatik akışı sistematik olarak karşılaştırmışlar.¹⁹ Analizleri sonucunda glenfatik

akışın, kortikal delta dalga aktivitesinin gücüyle doğru orantılı, kalp hızıyla ters orantılı olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada, anestezi ajan seçiminin BOS akışını büyük ölçüde etkileyebileceğini göstermişlerdir. 1 ve 4 Hz arasındaki yavaş dalga delta salınım gücünün, özellikle beyne yüksek BOS akışı ile ilişkili olduğunu gösterdiler. Hablitz ve ark. test ettikleri altı anestezi ajanından izofluran ve deksmedetomidin klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Tek başına izofluran ile anestezinin glenfatik akışı engellediği, deksmedetomidinin ise zıt etkiye sahip olduğunu gösterilmiştir. Sonuç olarak, delta gücünü artıran ve kalp atış hızlarını azaltan uygun bir anestezi seçiminin glenfatik işlevi optimize etmek için gerekli olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, uygun perivasküler sıvı akışını desteklemenin yollarını anlamak, klinikte anesteziyi takiben hızlı bilişsel iyileşme için önemli olabileceği sonucunu da belirtmişlerdir.¹⁹

Vücut Duruşu ve Glenfatik Akım

Lee ve ark.'nın yaptığı çalışmada prone, supin ve lateral dekübit pozisyonlarında bulunan sıçanlarda glenfatik akışı izlemek için dinamik kontrastlı MRG ve gerçek zamanlı olarak hem izleyici tutmayı hem de klirensi izlemek için kinetik modellemeyi kullanmışlardır. Çalışmanın ana bulgusu, beyindeki glenfatik akışın, lateral dekübit pozisyonundayken prone ve supin pozisyonlara kıyasla en verimli olduğudur.²⁰

GLENFATİK SİSTEMİN FİZYOLOJİK FONKSİYONLARI

Glenfatik sistem molekülleri ve sıvıyı beyinden uzaklaştırmak için efferent, aynı zamanda molekülleri ve sıvıyı beyne iletebilen afferent bir yol olarak işlev görür. Glenfatik sistem beyin parankimini hücre dışı metabolitlerden ve atık ürünlerden temizler. BOS'un periarteriyel boşluklar boyunca beyne akışı beyni besler ve bu sayede glenfatik sistem glikozu nöronlara ve astrositlere dağıtır. Bunun yanında plexus choroideus'da ortaya çıkan lipitleri ve apolipoprotein E izoformlarını ve folat ve askorbat gibi belirli vitaminleri BOS aracılığıyla beyin parankimine iletir.²¹

BOS VE İNTRAKRANİYAL ÇÖZÜNENLERİN PERİFERİK DOLAŞIMA ÇIKIŞI

BOS, spatium subarachnoideum'dan birçok farklı yoldan drene olabilir. Genel olarak, BOS çıkışı ya nodi lymphatici cervicales'e ya da doğrudan venöz kan dolaşımına dökülme yoluyla gerçekleşir. Nodi lymphatici cervicales'e drenaj, birkaç farklı yoldan

gerçekleşebilir. BOS ve hücre dışı sıvı çıkışı perinöronal drenaj, dural lenfatikler, granulationes arachnoideae'lar, dura'daki parasagittal boşluklar ve büyük serebral kan damarlarının adventisya tabakası içinde gerçekleşir.²¹

Spatium subarachnoideum'a enjekte edilen bir çeşitli izleyicilerin perinöronal drenajı I, II, V, VII, IX, X ve XII kranial sinirler için tarif edilmiştir. N. olfactorius boyunca BOS'un çıkışının büyüklüğü, diğer kranial sinirlerinkinden fazladır. Spatium subarachnoideum'dan gelen BOS, foramina cribrosa'lerden cavitas nasi'ye drene olur ve sonunda servikal lenfatiklere geçer. İnsanda n. olfactorius boyunca perinöronal BOS drenaj yolunun varlığını, pozitron emisyon tomografisi (PET) izleyicisinin concha nasalis'lere çıkışını bulan klinik çalışmalarda,²² cavitas nasi içindeki n.olfactorius etrafındaki perinöronal boşluklarda²³ ve postmortem izleme çalışmaları²⁴ ile gösterilmiştir.

Beyin hücreler arası sıvısının, BOS ve venöz dolaşım arasında granulationes arachnoideae yoluyla sıvı alışverişi yapıldığı bilinmesine rağmen, ekstrakranial lenfatik damarlarda ve lenf nodlarında subaraknoid sıvısının bulunması, beynin drenaj sisteminde glenfatik sistemden daha fazlası olduğunu düşündürmüştür. Çalışmalar, BOS'un önemli bir kısmının ayrıca ekstrakranial lenfatik damarlara ve lenf nodlarına drene olduğunu tespit etmiştir. Aspelund ve ark.¹¹ ile Louveau ve ark.¹⁰ bu lenfatik damarların varlığını ve işlevselliğini araştırdılar. Aspelund ve ark. lenfatik damarların dura mater'de bulunduğunu ve arterler, venler ile kranial sinirlerin yanı sıra kafatası tabanındaki deliklerden dışarı çıktığını ve böylece nodi lymphatici cervicales'e taşıdığını göstermişlerdir. Dural lenfatik damarlar beyinden makromoleküllerin temizlenmesine katkıda bulunur.¹¹

Kranial BOS, medulla spinalis'ten özellikle radix'ler çevresinde çıkış yolları bulur. Bu yol ilk olarak Brierley ve Field tarafından ventriculus lateralis'lere Hindistan mürekkebi enjekte edilen tavşanlarda tanımlanmıştır.²⁵ Mürekkep, medulla spinalisin radix posterior ve radix anterior'larının yanı sıra paravertebral lenf düğümleri ve toraks, abdomen ve pelvisteki lenf düğümlerinde birikmiştir. İzleyicilerin lomber ponksiyon yoluyla intratekal uygulanmasıyla yapılan insan PET çalışmaları da medulla spinalis sinir kökleri boyunca BOS çıkışı göstermiştir.²⁶

GLENFATİK AKIMIN GÖRÜNTÜLENMESİ

Glenfatik yolun keşfi, kemirgen korteksindeki aktivasyonu için iki fotonlu lazer mikroskopunun

kullanılmasıyla mümkün olmuştur.² Transkranial makroskopik görüntüleme, dorsal korteksin büyük bir bölümünün bozulmamış bir kranyum aracılığıyla aynı anda görüntülenmesini sağlayan, geniş görüş alanına sahip düşük büyütme bir objektif aracılığıyla epifloresan görüntülemeyi sağlar. BOS'un manyetik rezonans görüntülemesi (MRG) kontrastlı veya kontrastsız olabilir. Kontrastlı MRG'da paramanyetik bir izleyici, genellikle kemirgenlerde cisterna magna yoluyla veya insanlarda lomber ponksiyon yoluyla intratekal olarak iletilir. Alternatif olarak, kan-beyin bariyerini geçen bir ajan, intravasküler olarak BOS'a iletilir. Pozitron emisyon tomografisi (PET) ve tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi (SPECT), intratekal olarak verilen radyoizotopların tüm vücut dinamik görüntülemesine izin verir. Bilgisayarlı tomografi (BT), *in vivo* olarak çok yüksek (100 µm) çözünürlükte tüm beyin ve vücut görüntülemesi sağlar. Floresan izleyici enjekte edilmiş hayvanlardan alınan beyin kesitlerinin histolojik analizi, histokimyasal ve immünohistokimyasal boyama ve epifloresan veya konfokal mikroskopi ile görüntüleme ile birleştirilebilen beyin sıvısı bölmelerinde tutulumu ortaya çıkarabilir. İnvaziv olmayan bir yaklaşım olan perivasküler boşluk boyunca difüzyon tensör görüntü analizinin (ALPS) glenfatik sistem aktivitesini değerlendirebildiği bildirilmiştir. ALPS Alzheimer, Parkinsonizm ve normal basınçlı hidrosefali teşhisinde kullanılmaktadır.²⁷

Glenfatik yolu klinik olarak değerlendirebilmek için uygun bir metodoloji ile glenfatik yol fonksiyonunun değerlendirilebileceği bir görüntüleme yöntemi kullanılması gerekmektedir. Yapılan bir analiz, sıçanlarda intrasisternal gadolinyum bazlı kontrast infüzyonunu takiben kontrastlı MRG kullanılarak glenfatik sistemin değerlendirilebileceğini göstermiştir.²⁸ Ancak, intrasisternal infüzyonlar travmatik doku hasarı dahil olmak üzere iatrojenik komplikasyon riski yüksek olduğu için klinik ortamlarda nadiren kullanılmaktadır. Kontrast maddenin kan-beyin bariyerini aşarak beyne ulaştırılmasıyla ilgili zorluklar, intratekal yolla kontrast infüzyonu kullanılarak aşılabilmektedir. Lomber intratekal yöntem, BT-miyelografi için kontrast madde uygulaması, spinal anestezi ve postoperatif analjezikler ve kemoterapötik ajanlar gibi uygulamalarda rutin olarak kullanılmaktadır. Lomber intratekal kontrast uygulaması, insanlarda glenfatik yol fonksiyonunu değerlendirmek için kontrastlı MRG ile birlikte kullanılabilir faydalı bir yaklaşımdır.²⁹

BEYİN SIVI TAŞIMA SİSTEMLERİNDE PATOLOJİ

Subaraknoid Kanama

Subaraknoid kanamadaki glenfatik defektin nedeni, ekstrasvaze kan plazmasından türetilen fibrin ve fibrinojenin hücre dışı birikmesi nedeniyle perivasküler boşluğun tıkanmasından dolayıdır. Doku plazminojen aktivatörünün (tPA) glenfatik yoldan verilmesiyle yapılan tedavi, insan olmayan primatlarla yapılan prelinik bir modelde BOS klirensini ve glenfatik akışı düzeltmiştir.³⁰

Yaşlanma ve Glenfatik Aktivite

Glenfatik fonksiyon bebeklikte başlar, genç erişkinlikte zirveye ulaşır ve geri kalan yaşam süresi boyunca azalarak devam eder.¹ İntratekal olarak uygulanan ajanın yaşlı hastalarda genç hastalardan çok daha yavaş bir oranda beyin parankiminden temizlendiği kontrastlı MRG çalışmalarında deneysel olarak gösterilmiştir. Glenfatik fonksiyonda yaşa bağlı düşüşe neden olan çeşitli faktörler arasında astrogliosis sırasında AQP4 mislokasyonu ve arteriyoskleroz nedeniyle arter duvar esnekliği azalmıştır. Bu iki süreç bağımsız olarak sıvının astositik uç ayaklar boyunca ve beyin hücre dışı boşluğuna taşınmasının azalmasına yol açar ve damar hareketinin ve arteriyel duvar pulsatilitesinin zayıflamasına bağlı olarak da periarteriyel boşluk BOS akışını azaltır. Yaşlanmayla birlikte glenfatik aktivitenin azalmasına neden olan diğer faktörler, BOS üretimindeki ve BOS basıncındaki azalmadır. Glenfatik aktivitede yaşa bağlı düşüşün gözlemlenmesi önemlidir çünkü nörodejeneratif hastalıklar için tanımlanan en yüksek risk faktörü, yaşlanmadır. Yanlış katlanmış ve hiperfosforile edilmiş proteinlerin birikmesine katkıda bulunabilir. Böylece beyni nörodejeneratif bir patoloji geliştirmeye karşı daha savunmasız hale getirebilir ve bilişsel işlev bozukluğunun ilerlemesini hızlandırabilir.¹ Ayrıca yaşlanan farelerde dural lenfatik fonksiyon bozukluğu gözlenmiştir. Bu da glenfatik sistemin disfonksiyonuna katkıda bulunabilir.²⁷ Yaşlı farelerin vasküler endotelial büyüme faktörü-C (VEGF-C) ile tedavisi, nodi lymphatici cervicales profunda'ya BOS izleyicilerinin daha iyi drenajını sağlamış ve gelişmiş glenfatik fonksiyon ve bilişsel fonksiyonun kurtarılması ile ilişkili olan lenfatik damar çapındaki azalmaları tersine çevirmiştir.³¹

Yaşlanmayla birlikte perivasküler boşlukların sağlıklı yaşlılarda bile genişlediği bilinmektedir. Yaşlanma ile ortaya çıkan beyin dokusu atrofisi; arterlerin

büzülmesine, arteriyel duvar geçirgenliğinin değişmesine ve vasküler demiyelinizasyona neden olup perivasküler boşlukların genişlemesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Perivasküler boşlukların genişlemesi Alzheimer, multipl skleroz gibi çeşitli hastalıklarla da ilişkilidir.³² Perivasküler boşlukların görüntülenmesi, glenfatik sistem disfonksiyonunu yansıtabilir.³³

Küçük Damar Hastalığı ve Hipertansiyon

Arter duvarının esnekliğini ve reaktivitesini bozan hastalıklar damar pulsatilitesini azaltarak periarteriyel boşluklardaki BOS akışını yavaşlatacaktır. Küçük damar hastalığı ve hipertansiyon küçük damarların vasküler duvarının kalınlaşması ile ilişkilidir. Sağlıklı yaşlanma, serebral amiloid anjiyopati, mikro enfarktüsler, kronik böbrek hastalığı ve inme dahil olmak üzere çeşitli durumlarda ve hastalıklarda glenfatik disfonksiyon veya AQP4 mislokasyonu bildirilmiştir.³⁴⁻³⁶

Alzheimer

BOS drenaj yolları Alzheimer hastalığından etkilenmektedir. İnsanlarda, kan-beyin bariyerini geçebilen intravenöz olarak uygulanan bir PET izleyicinin drenajı, Alzheimer hastalığı olan hastalarda aynı yaştaki kontrollere göre %66 oranında azalmıştır.²² Ayrıca yaşlılarda anosmi gelişimi, Alzheimer hastalığı ve diğer nörodejeneratif bozuklukların gelişimi için bir risk faktörüdür.³⁷

Parkinsonizm

Parkinson hastalığında glenfatik bozukluğun prelinik bulguları, perivasküler boşlukların difüzyon tensör görüntülemesi ile desteklenmiştir. Burada perivasküler boşluklarda daha düşük glenfatik akımın, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında parkinson hastalarının bir özelliği olduğu bulundu.³⁸ BOS ve hücre dışı sıvının beyinden dural lenfatiklere ve servikal lenfatik sisteme drenajı da Parkinson hastalığında bozulmaktadır. Katılımcılara gadobutrolün intravenöz enjeksiyonları uygulandığı bir MRG çalışmasında, izleyicinin dural lenfatiklerden akışı sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında Parkinson hastalarında daha yavaş olduğu bulunmuştur.³⁹

Depresyon ve Diğer Psikiyatrik Bozukluklar

Majör depresyon bozukluğu öyküsü olan hastaların otopsi örneklerinde fare modellerine benzer anormal AQP4 ekspresyonu, orbitofrontal kortekste azalmış AQP4 ekspresyonu ve hipokampusta ve locus coeruleus'ta AQP4 mRNA'nın daha düşük ekspresyon seviyeleri saptanmıştır.⁴⁰

Obezite

Obeziteye bağlı hipertansiyon gelişimi, artan lipoliz ile anjiyotensin II ve renin gibi vasküler tonusu olumsuz etkileyen adipokinlerin yüksek salgılanmasıyla bağlantılıdır. Ayrıca, normalde iştahı bastırma işlevi gören leptin, obezitede kronik olarak yükselir ve sempatik sinir sistemini aşırı uyarak hipertansiyon riskini artırır. Hipertansiyona aynı zamanda obeziteye bağlı bozulmuş endotel hücre fonksiyonu da neden olmaktadır. Delle ve ark.nın yaptığı çalışmada uzun süreli yüksek yağlı diyetle ilgili obezite ve hipertansiyona sahip farelerde, glenfatik fonksiyon belirteçleri kontrol grubuyla karşılaştırarak ölçülmüştür. Bu çalışmada yüksek yağlı diyetin obeziteye, yüksek kan basıncına, artmış kalp atış hızına ve hiperglisemiye neden olduğu nöroenflamasyon belirtileri geliştiğini gösterilmiştir.⁴¹

GLENFATİK SİSTEM YOLUYLA İNTRATEKAL TEDAVİ

Glenfatik sistem, ilaçların uygulanması ve gen terapisi için kullanılma potansiyeline sahiptir. Anestezikler, antineoplastikler ve antibiyotikler dahil olmak üzere çeşitli ilaç türleri intratekal olarak uygulanılmaktadır. Glenfatik sistemi ilaçlarla veya intravenöz hipertonic salin infüzyonuyla manipüle etmek, immünooglobulinler, oksikodon ve nalokson gibi intratekal olarak verilen ilaçların beyine iletimini artırabilir. Kan-beyin bariyeri, ilaçların doğrudan beyin omurilik sıvısına intratekal olarak uygulanmasıyla atlanabilir. BOS ile hücreler arası boşluk arasındaki sıvı değişimini destekleyen perivasküler boşluklardan oluşan bir ağ olan glenfatik sistem, BOS'tan parankime ilaç dağıtımını arttırmak için kullanılabilir.^{16,42,43}

Lilius ve ark.nın yaptığı çalışmada kütle spektrometresi ve floresan görüntüleme teknikleri kullanarak verilen α 2-adrenerjik agonist deksmedetomidinin, EEG yavaş dalga aktivitesini arttırdığını, farelerde ve sıçanlarda intratekal olarak uygulanan ilaçların beyin ve medulla spinalis'e ilaç maruziyetini arttırdığını göstermişlerdir. Oksikodon, nalokson ve IgG boyutunda bir antikor kullanarak glenfatik akışın modülasyonunun intratekal olarak uygulanan terapötiklerin dağılımı üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğunu gösterdiler. Bu bulgular ile intratekal olarak uygulanan terapötiklerin etkinliğini ve güvenliğini arttırmak için klinikte kullanılabilirliğini belirtmişlerdir.⁴²

Plog ve ark.nın yaptığı çalışmada BOS izleyici giriş, kan-beyin bariyerini bozmadan plazma ozmolalitesini artırarak yaklaşık 3 kat arttırıldı. BOS taşınmasının

invaziv olmayan ve dinamik ölçümlerini sağlayan bir transkraniyal optik görüntüleme ile sonuçları elde edildi. Hipertonik salin (HTS) veya mannitol ile artan plazma ozmolalitesinin ve dolayısıyla kafa içi basıncın (ICP) düşürülmesinin Kan beyin bariyerine zarar vermeden glenfatik akışı artırabileceği sonucuna ulaşmışlardır. Çalışmalarında hiperosmolar tedavinin Alzheimer fare modelinde bozulmuş glenfatik sistemi düzeltebileceğini, amiloid- β ($A\beta$) antikorunun dağılımını arttırdığını ve amiloid- β ($A\beta$) antikorunun amiloid- β ($A\beta$) plaklarına bağlanmasında artış olduğunu buldular. Plog ve ark. Yaptıkları çalışmanın immunoterapide kullanılabilirliğini, beyinden amiloid- β ($A\beta$) temizlenmesinde deneysel olarak kullanılan monoklonal antikorların KBB'ne geçişini artırabileceğini düşünmüşlerdir.⁴³

SONUÇ

Hızla gelişen bilimsel bilginin yanında son yıllara kadar göz ardı edilmiş olan glenfatik sistem üzerine yapılacak çok yönlü araştırmalar ile şimdiye kadar patogenezi açıklanamayan ya da tam olarak belirtilmemiş lokal veya sistemik birçok hastalığın mekanizmasını anlamaya ve tedavisi üzerine olumlu sonuçlar almaya katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca hastalıkların tanısı ve tedavisinin haricinde uyku ile glenfatik sistem arasında önemli bir ilişki olduğu da göz önünde bulundurulduğunda; hem uykunun insan fizyolojisi üzerindeki etkilerinin hem de bazı uyku patolojilerinin ileri safhalarda detaylı şekilde aydınlatılabileceğine inanıyoruz.

Yazarlık katkı beyanı

Konsept ve dizayn: İÇ.

Verilerin elde edilmesinde: İÇ.

Verilerin analizi ve yorumlanmasında: İÇ, OT.

Makale yazımında: İÇ.

Makale revizyonu ve entelektüel katkı: İÇ, OT.

Gözetiminde: OT.

Yazar çıkar çatışması

Yazarların arasında potansiyel çıkar çatışmaları yoktur.

Fon

Bu araştırma için maddi destek alınmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Jessen NA, Munk ASF, Lundgaard I, Nedergaard M. The Glymphatic System: A beginner's guide. *Neurochem Res.* 2015;40(12):2583-2599. doi:10.1007/s11064-015-1581-6
2. Iliff JJ, Wang M, Liao Y, et al. A paravascular pathway facilitates csf flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Sci Transl Med.* 2012;4(147):147ra111. doi:10.1126/scitranslmed.3003748

3. Di Matteo B, Tarabella V, Filardo G, et al. Art in Science: Giovanni Paolo Mascagni and the Art of Anatomy. *Clinical Orthopaedics & Related Research*. 2015;473(3):783-788. doi:10.1007/s11999-014-3909-y
4. Sandrone S, Moreno-Zambrano D, Kipnis J, van Gijn J. A (delayed) history of the brain lymphatic system. *Nat Med*. 2019;25(4):538-540. doi:10.1038/s41591-019-0417-3
5. Prineas JW. Multiple Sclerosis: Presence of Lymphatic Capillaries and Lymphoid Tissue in the Brain and Spinal Cord. *Science*. 1979;203(4385):1123-1125. doi:10.1126/science.424741
6. Schwalbe G. Der Arachnoidalraum ein Lymphraum und sein Zusammenhang mit dem Perichoroidalraum. *Centralbl med Wiss*. 1969;7:465-467.
7. Földi M, Gellért A, Kozma M, Poberai M, Zoltán OT, Csanda E. New contributions to the anatomical connections of the brain and the lymphatic system. *Acta Anat (Basel)*. 1966;64(4):498-505. doi:10.1159/000142849
8. Rennels ML, Gregory TF, Blaumanis OR, Fujimoto K, Grady PA. Evidence for a “paravascular” fluid circulation in the mammalian central nervous system, provided by the rapid distribution of tracer protein throughout the brain from the subarachnoid space. *Brain Res*. 1985;326(1):47-63. doi:10.1016/0006-8993(85)91383-6
9. Louveau A, Harris TH, Kipnis J. Revisiting the Mechanisms of CNS Immune Privilege. *Trends in Immunology*. 2015;36(10):569-577. doi:10.1016/j.it.2015.08.006
10. Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*. 2015;523(7560):337-341. doi:10.1038/nature14432
11. Aspelund A, Antila S, Proulx ST, et al. A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *Journal of Experimental Medicine*. 2015;212(7):991-999. doi:10.1084/jem.20142290
12. Munk AS, Wang W, Bèchet NB, et al. PDGF-B is required for development of the Glymphatic System. *Cell Rep*. 2019;26(11):2955-2969.e3. doi:10.1016/j.celrep.2019.02.050
13. Antila S, Karaman S, Nurmi H, et al. Development and plasticity of meningeal lymphatic vessels. *Journal of Experimental Medicine*. 2017;214(12):3645-3667. doi:10.1084/jem.20170391
14. Gómez DG, DiBenedetto AT, Pavese AM, Firpo A, Hershan DB, Potts DG. Development of arachnoid villi and granulations in man. *cells tissues organs*. 1981;111(3):247-258. doi:10.1159/000145473
15. Ringstad G, Eide PK. Cerebrospinal fluid tracer efflux to parasagittal dura in humans. *Nat Commun*. 2020;11(1):354. doi:10.1038/s41467-019-14195-x
16. Rasmussen MK, Mestre H, Nedergaard M. Fluid transport in the brain. *Physiological Reviews*. 2022;102(2):1025-1151. doi:10.1152/physrev.00031.2020
17. Mestre H, Tithof J, Du T, et al. Flow of cerebrospinal fluid is driven by arterial pulsations and is reduced in hypertension. *Nat Commun*. 2018;9(1):4878. doi:10.1038/s41467-018-07318-3
18. Xie L, Kang H, Xu Q, et al. Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science*. 2013;342(6156):373-377. doi:10.1126/science.1241224
19. Hablitz LM, Vinitzky HS, Sun Q, et al. Increased glymphatic influx is correlated with high EEG delta power and low heart rate in mice under anesthesia. *Sci Adv*. 2019;5(2):eaav5447. doi:10.1126/sciadv.aav5447
20. Lee H, Xie L, Yu M, et al. The effect of body posture on brain glymphatic transport. *J Neurosci*. 2015;35(31):11034-11044. doi:10.1523/JNEUROSCI.1625-15.2015
21. Louveau A, Plog BA, Antila S, Alitalo K, Nedergaard M, Kipnis J. Understanding the functions and relationships of the glymphatic system and meningeal lymphatics. *J Clin Invest*. 2017;127(9):3210-3219. doi:10.1172/JCI90603
22. De Leon MJ, Li Y, Okamura N, et al. Cerebrospinal fluid clearance in alzheimer disease measured with dynamic PET. *J Nucl Med*. 2017;58(9):1471-1476. doi:10.2967/jnumed.116.187211
23. Johnston M, Zakharov A, Papaiconomou C, Salmasi G, Armstrong D. Evidence of connections between cerebrospinal fluid and nasal lymphatic vessels in humans, non-human primates and other mammalian species. *Cerebrospinal Fluid Res*. 2004;1(1):2. doi:10.1186/1743-8454-1-2
24. Löwhagen P, Johansson BB, Nordborg C. The nasal route of cerebrospinal fluid drainage in man. A light-microscope study. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1994;20(6):543-550. doi:10.1111/j.1365-2990.1994.tb01008.x
25. Brierley JB, Field EJ. The connexions of the spinal subarachnoid space with the lymphatic system. *J Anat*. 1948;82(Pt 3):153-166.
26. Verma A, Hesterman JY, Chazen JL, et al. Intrathecal 99m Tc-DTPA imaging of molecular passage from lumbar cerebrospinal fluid to brain and periphery in humans. *Alzheimer’s & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2020;12(1). doi:10.1002/dad2.12030
27. Dai Z, Yang Z, Chen X, et al. The aging of glymphatic system in human brain and its correlation with brain charts and neuropsychological functioning. *Cerebral Cortex*. Published online March 16, 2023:bhad086. doi:10.1093/cercor/bhad086
28. Iliff JJ, Lee H, Yu M, et al. Brain-wide pathway for waste clearance captured by contrast-enhanced MRI. *J Clin Invest*. 2013;123(3):1299-1309. doi:10.1172/JCI67677
29. Yang L, Kress BT, Weber HJ, et al. Evaluating glymphatic pathway function utilizing clinically relevant intrathecal infusion of CSF tracer. *Journal of Translational Medicine*. 2013;11(1):107. doi:10.1186/1479-5876-11-107
30. Goulay R, Flament J, Gauberti M, et al. Subarachnoid hemorrhage severely impairs brain parenchymal cerebrospinal fluid circulation in nonhuman primate. *Stroke*. 2017;48(8):2301-2305. doi:10.1161/STROKEAHA.117.017014
31. Da Mesquita S, Louveau A, Vaccari A, et al. Functional aspects of meningeal lymphatics in ageing and Alzheimer’s disease. *Nature*. 2018;560(7717):185-191. doi:10.1038/s41586-018-0368-8
32. Perivascular (Virchow–Robin) spaces. *Kastamonu Med J*. Published online September 1, 2021:86-89. doi:10.51271/KMJ-0021
33. Sugai Y, Niino K, Shibata A, et al. Association between visualization of the perivascular space and morphological changes in the brain among the community-dwelling

- elderly. *European Journal of Radiology*. 2023;162:110792. doi:10.1016/j.ejrad.2023.110792
34. Venkat P, Chopp M, Zacharek A, et al. White matter damage and glymphatic dysfunction in a model of vascular dementia in rats with no prior vascular pathologies. *Neurobiology of Aging*. 2017;50:96-106. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2016.11.002
 35. Viggiano D, Wagner CA, Martino G, et al. Mechanisms of cognitive dysfunction in CKD. *Nat Rev Nephrol*. 2020;16(8):452-469. doi:10.1038/s41581-020-0266-9
 36. Gaberel T, Gakuba C, Goulay R, et al. Impaired glymphatic perfusion after strokes revealed by contrast-enhanced MRI: A new target for fibrinolysis? *Stroke*. 2014;45(10):3092-3096. doi:10.1161/STROKEAHA.114.006617
 37. Roberts RO, Christianson TJH, Kremers WK, et al. Association between olfactory dysfunction and amnesic mild cognitive impairment and alzheimer disease dementia. *JAMA Neurol*. 2016;73(1):93. doi:10.1001/jamaneurol.2015.2952
 38. Chen HL, Chen PC, Lu CH, et al. Associations among cognitive functions, plasma DNA, and diffusion tensor image along the perivascular space (DTI-ALPS) in patients with parkinson's disease. Lloret A, ed. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021:1-10. doi:10.1155/2021/4034509
 39. Ding XB, Wang XX, Xia DH, et al. Impaired meningeal lymphatic drainage in patients with idiopathic Parkinson's disease. *Nat Med*. 2021;27(3):411-418. doi:10.1038/s41591-020-01198-1
 40. Rajkowska G, Miguel-Hidalgo JJ. Glial pathology in major depressive disorder: An approach to investigate the coverage of blood vessels by astrocyte endfeet in human postmortem brain. In: Di Benedetto B, ed. *Astrocytes*. Vol 1938. *Methods in Molecular Biology*. Springer New York; 2019:247-254. doi:10.1007/978-1-4939-9068-9_17
 41. Delle C, Cankar N, Digebjerg Holgersson C, et al. Long-term high-fat diet increases glymphatic activity in the hypothalamus in mice. *Sci Rep*. 2023;13:4137. doi:10.1038/s41598-023-30630-y
 42. Lilius TO, Blomqvist K, Hauglund NL, et al. Dexmedetomidine enhances glymphatic brain delivery of intrathecally administered drugs. *Journal of Controlled Release*. 2019;304:29-38. doi:10.1016/j.jconrel.2019.05.005
 43. Plog BA, Mestre H, Olveda GE, et al. Transcranial optical imaging reveals a pathway for optimizing the delivery of immunotherapeutics to the brain. *JCI Insight*. 2018;3(20):e120922. doi:10.1172/jci.insight.120922

To Cite: Collu I, Turamanlar O. The Glymphatic System. *Farabi Med J*. 2024;3(3):102-110. doi:10.59518/farabimedj.1420088

Güncel Epigenetik Tedaviler

Current Epigenetic Treatments

Didem Seven^{1,a,*}

¹Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

*Sorumlu yazar e-posta: didem.seven@yeditepe.edu.tr

^a<https://orcid.org/0000-0003-3406-5905>

ÖZET

Epigenetik mekanizmalar, histon modifikasyonları, DNA metilasyonları ve kodlanmayan RNA'lar aracılığı ile DNA dizisinde herhangi bir değişiklik göstermeksizin, gen ifade düzeylerinin değişmesi olarak tanımlanmaktadır. Yapılan araştırmalar, epigenetik değişikliklerin birçok hastalığın patogeneğinde etkin olduğunu göstermiş, bazı hastalıkların tanı ve prognozunda etkili biyobelirteçler tespit edilmiştir. Belirlenen biyobelirteçlerin hedeflenerek klinik çalışmalarda araştırılması devam ederken, kimi epigenetik tedavi araçları FDA onayı ile tedavide kullanılmaktadır. Histon deasetilaz inhibitörleri, DNA metil transferaz inhibitörleri ve kodlanmayan RNA'lar başta kanser olmak üzere tekli veya kombine olarak birçok hastalığın patogeneğinde tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Her ne kadar epigenetik tedavilerin kabul görmesi zaman almış olsa da, etkinliği kanıtlanmıştır ve günümüzde tek veya kombine terapi olarak klinikte uygulanmaktadır. Bu sebeple epigenetik mekanizmaların aydınlatılarak hedeflerinin ve düzenleyicilerinin belirlenmesi ve bu hedeflerin işlevlerinin araştırılması önem arz etmektedir. Bu derlemede rutin klinik uygulamada kullanılan, FDA onayı almış ve klinik araştırmalarda sıklıkla kullanılan epigenetik terapiler özetlenecektir.

Anahtar Kelimeler: DNA metil transferaz inhibitörleri, FDA onaylı epigenetik tedaviler, Histon deasetilaz inhibitörleri, siRNA ilaçları

ABSTRACT

The epigenetic mechanisms are defined as alterations in gene expression levels through histone modifications, DNA methylations and non-coding RNAs without any change in DNA sequence. Studies conducted at the molecular level have shown that epigenetic regulations are key players in the pathogenesis of many diseases, and effective biomarkers have been identified in the diagnosis and prognosis of some diseases. While the research of the identified biomarkers in clinical trials carry on, some epigenetic treatment tools are started to be used in treatment with FDA approval. Histone deacetylase inhibitors, DNA methyl transferase inhibitors and non-coding RNAs are used for therapeutic purposes in the pathogenesis of many diseases, especially cancer. Although it took time for epigenetic therapies to be approved, their effectiveness has been shown and is now applied in the clinic as a single or combined therapy. For this reason, it is important to elucidate and investigate epigenetic targets and their functions and cross-talk between epigenetic mediator, modulator and regulator proteins. This review will summarise the epigenetic therapies that are used in routine clinical practice, have received FDA approval, and are frequently used in clinical trials.

Keywords: DNA methyl transferase inhibitors, FDA approved epigenetic therapies, Histone deacetylase inhibitors, siRNA drugs

GİRİŞ

Epigenetik tedaviler, DNA dizisini değiştirmeden gen ekspresyonunun düzenlenmesine olanak sağlayan yenilikçi bir tedavi yaklaşımıdır. Genlerin açılıp kapanmasında kritik rol oynayan DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve kodlamayan RNA aktivitesi gibi epigenetik mekanizmaları hedef alan bu tedaviler, kanserler, nörolojik bozukluklar ve otoimmün hastalıklar da dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Epigenetik tedavilerle, sadece semptomları hafifletmek yerine, normal gen fonksiyonunu yeniden sağlamak amaçlanmaktadır. Bu tedaviler kişiselleştirilmiş tıp için umut vaat etmektedir. Bu derleme makalede, epigenetik mekanizmaları hedefleyen FDA onayı almış ve klinik araştırmalarda yer alan ilaçlardan bahsedilecektir.

DNA Metilasyonu

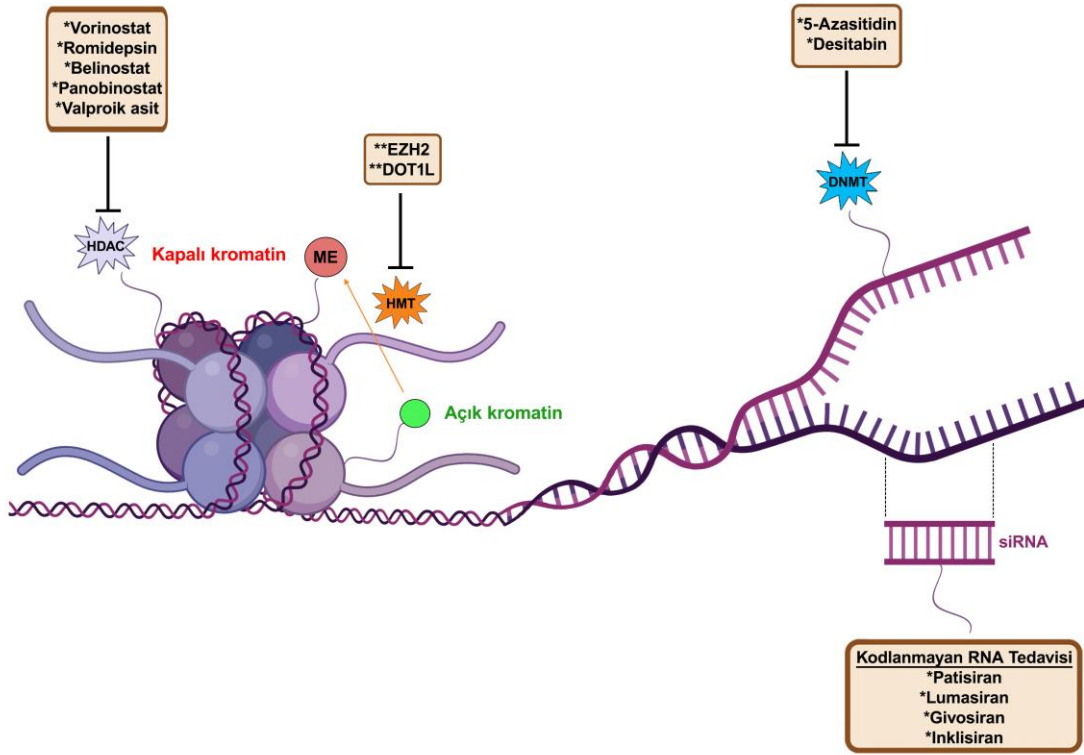
DNA metilasyonu ilk tanımlanan epigenetik değişimdir. Bir metil grubunun sitozin nükleotidinde eklenmesi sonucu 5mC'in (C-5 pozisyonunda) oluşması ile DNA metilasyonu gerçekleşir. 5mC'nin ise enzimatik olarak 5-hidroksimetilsitosine (hmC) oksitlenebileceği gösterilmiştir. Bu değişim de hidroksimetillenme olarak adlandırılmaktadır.¹ Yine 5mC'nin oksitlenmesi ile meydana gelen ve TET enzimleri tarafından kontrol edilen bir başka değişim 5-formil-2-deoksisisitindir (5fdC).² Sıklıkla genlerin promotor bölgelerinde veya Sitozin- Guanin adacıklarında oluşan metillenme sonucunda genlerin ifadesinde değişiklikler meydana

gelir. Genom çapında yapılan metilom çalışmaları metilasyonun meydana geldiği bölgenin gen kontrolünde rolü olabileceğini vurgulamaktadır. Örneğin; transkripsiyon başlama bölgelerinin hemen yakınında gerçekleşen metilasyon transkripsiyon başlamasını inhibe eder. Gen gövdesinde meydana gelen metilasyon gen anlatımını etkilemezken, uç birleştirmede etkili olabileceği öne sürülmektedir.³ Sentromer bölgelerinde meydana gelen metilasyonların kromozomal stabiliteyi etkilediği bilinmektedir.⁴ Yakın zamanda gerçekleştirilen bir çalışmada transkripsiyon faktörlerinin bağlanma bölgelerinde meydana gelen metilasyonların evrimsel ve fonksiyonel olarak ilişkilendirilebileceği ortaya konmuştur.⁵ Bir hücrede metilasyon, gen anlatımında indüklemeye veya baskılamaya yol açabileceği için hücrede farklı streslere yol açabilir. DNA'nın metilasyonunu katalizleyen enzim grubu DNA metiltransferazlar (DNMT) iken, demetilasyonundan TET (Ten eleven translocation) enzimleri sorumludur. DNA metilasyonunda meydana gelen değişiklikler, prostat, meme, gastrik, karaciğer, akciğer, glioblastoma ve lösemi gibi farklı kanser türlerinde bildirilmiştir.⁶

Tümör baskılayıcı genlerin promotor bölgelerinin aşırı metilasyonu sonucu ifade edilememesi tedavi için bir hedef olarak değerlendirilmiş ve metillenmenin geri dönüşebilen özelliği kullanılarak bazı tedaviler geliştirilmiştir. 2 sitidin analogu had VİDAZA adıyla (AZA) ve 5-aza-2'-deoksisisitidin Dacogen (DAC) adıyla miyelodisplastik sendrom tedavisinde kullanılmak üzere FDA tarafından onaylanmıştır (Tablo 1, Şekil 1).

Tablo1. FDA tarafından onaylanan epigenetik tedaviler

Epigenetik Hedef	Ticari İsim	Kimyasal Adı	Hastalık
DNMT inhibisyonu	Vidaza	Azasitidin	Myelodisplastik Sendrom, AML, KML
	Dacogen	Desitabin	Myelodisplastik Sendrom
Kodlanmayan RNA	Onpattro	Patisiran	Amiloidoz
	Leqvio	Inklisiran	Hiperkolesterolemi ve Aterosklerotik Kardiyovasküler Hastalık
	Oxlumo	Lumasiran	Primer Hiperoksalüri Tip1
	Givlaari	Givosiran	Akut Hepatik Porfiri
Histon Modifikasyonları	Zolinza	Vorinostat	Kutanöz T Hücreli Lenfoma
	Istodax	Romidepsin	Kutanöz T Hücreli Lenfoma, Periferik T hücreli Lenfoma
	Beleodaq	Belinostat	Tekrarlayan veya Dirençli Periferik T Hücreli Lenfoma
	Farydak	Panobinostat	Multipl miyeloma
	Depacon	Valproik Asit	Epilepsi Nöbeti, Bipolar Bozukluk, Migren



Şekil 1. Güncel Epigenetik Tedaviler

*FDA Onaylı Epigenetik Tedaviler

**Klinik Araştırmalarda Faz Çalışmalarında Aktif Kullanılan İlaçlar

Her iki bileşik de, DNMT'ler ile geri dönüşümsüz bir kovalent bağ oluşturur ve sonuçta proteozom aracılı DNMT1 bozunmasını tetikler. Bu DNMT inhibitörlerinin miyelodisplastik sendromlu hastalar ve akut miyeloid lösemi hastalarının %15'inden fazlasında kötü huylu tümörü azalttığı, kan hücresi sayılarını ve sağkalımı arttırdığı gösterilmiştir.⁷ Azasitidin kullanımı solid tümörlü hastalarda toksisite, kemik iliği baskılanması, tedavi etkinliğinin sınırlı olması ile sonuçlandığından henüz rutin tedavide uygulanmamaktadır.⁸ İkinci nesil guadecitabine analogu ve desitabinin aktif metaboliti olan SGI-110 ise hipometilleyici bir ilaçtır.³ Geliştirilmiş farmakolojik ve farmakodinamik etkileri olan bu epigenetik hedefli ilacın, MDS, lösemi, testis ve over kanseri hastalarının tedavisinde tekli ve yaygın kemoterapötiklerle kombine uygulamalarına dair klinik çalışmalar devam etmektedir.⁹ Hodgkin Lenfomalarında yapılan bir çalışmada hedefe yönelik ilaçlardan kamrelizumabın desitabin ile kombine uygulanmasında sadece kamrelizumab uygulanan hastalara oranla tedaviye tam yanıt yüzde 39 artış göstermiştir.¹⁰ Desitabinin solid tümörlerde kemoterapötik ilaçlarla kombine kullanımı klinik

çalışmalarda yer alsada henüz rutin tedavide kullanılmamaktadır.⁸

Nazofarengeal kanserli hastalarda yapılan bir Faz I çalışmasında, azasitidin ağz yoluyla alınan formu CC-486, tekli ve carpolatinli veya paklitaksel ile kombine olarak uygulanmıştır. Monoterapi uygulanan hastalarda kısmi yanıt alınmışken, bir kısmında hastalık stabil olarak devam etmiştir. Monoterapideki etkisinin immün hücre etkinliğini artırmasından dolayı immün kontrol noktası inhibitörleri ile kombine uygulanmasının umut vaadedici bir gelişme olarak bildirilmiştir.¹¹

5-azasitidin ve entinostatın kombine uygulaması meme kanserli hastalarda daha uzun bir sağkalım sağlamış ve Faz I-II çalışmasında yerini almıştır.¹² Bu ilaç kombinasyonu *HER2* negatif hastalarda tolere edilebilir düzeyde olsa da, üçlü negatif meme kanseri hastalarında herhangi etki göstermemiştir. Klinik yanıt hormon dirençli hastalığı olan kadınların yalnızca bir alt grubunda gözlenmiş, bununla birlikte, *ESR1* DNA hipometilasyonu ve gen ekspresyonu aktivasyonu, tedavi edilen hormona dirençli hastaların yaklaşık yarısında tespit edilmiştir. Böylece, bu hastaların hem

endokrin, hem epigenetik terapiden faydalanabileceğini göstermiştir.¹³

Over kanserinde de hipometilleyici ajanlar klinik olarak test edilmiştir. Over kanseri rutin tedavisinde platinyum bazlı terapiler rutin olarak uygulanıyor olsa da, hastaların platinyum tedavisine direnç göstermeleri sıklıkla karşılaşılan bir durumdur. Platinyum dirençli over kanseri hastalarına, 5-Aza-CR'i takiben verilen carboplatin, hastaların platinyum direncinin üstesinden gelmesini sağlayarak karaciğer metastazının gelişimini engellemiştir ve over kanseri hastalarının tedavisi için bir ışık olmuştur.¹⁴

DNMT inhibitörleri tümör baskılayıcı genlerin yeniden aktivasyonunu sağlamanın yanı sıra, onkogenlerin aktivasyonunu sınırlayabilmektedir.¹⁵ DNMT inhibitörlerinin klasik kemoterapi, immünterapi ve hedeflenmiş terapilerle birlikte uygulanması klinik öncesi araştırmalarda yer almaktadır ve kanser hastalarının rutin tedavisine kazandırılması önem taşımaktadır.

Histon Modifikasyonları

DNA, hücre çekirdeği içerisinde histon proteinleri ile paketlenmiş bir şekilde bulunur. Yaklaşık 160 bazlık DNA zincirinin bağlı olduğu bir H2A-H2B tetrameri ve iki H3-H4 dimerinden oluşan nukleozom, kromatin yapısının en küçük birimidir.¹⁶ Histon proteinlerinin posttranslasyonel modifikasyonları arasında metilasyon, asetilasyon, ubikitinasyon, SUMOasyon ve fosforilasyon yer alır. Bu değişimler DNA'ya bağlı olan histon proteinlerinin elektrik yükünü değiştirerek, histon proteinlerinin DNA'ya bağlanma affinitelerini etkiler ve kromatin kondensasyonunun değişimine neden olarak, gen ifade düzeylerini negatif veya pozitif yönde regüle eder.¹⁷ Kromatin kondensasyonu ve ayrışması DNA replikasyonu, tamiri, apoptoz gibi işlevlerde yer alan genlerin ifade düzeylerini değiştirerek kanser oluşumu ve prognozu ile ilişkilendirilmiştir.¹⁸

Histon asetilasyonu ve deasetilasyonu sıklıkla çalışılan epigenetik değişimlerdir.¹⁹ Genomda, hücre döngüsü, proliferasyon, farklılaşma, hücre ölümü, DNA replikasyonu ve mitoz olmak üzere birçok biyolojik işlevde aktif olarak görev alan 18 adet histon deasetilaz (HDAC) bulunur. Kanserde aşırı ifade edilen HDAC'lar umut verici bir hedef olarak tedavide yerini almıştır. Histon asetilazların (HAT) değişen ifadeleri veya bu genlerde meydana gelen mutasyonlar, tümör baskılayıcı genlerin susturulmasına veya aşırı ifadesine

neden olabilir. HDAC'lar asetil gruplarını elimine ederek, transkripsiyonel baskılayıcı olarak işlev görürler. Histon H4K16 asetilasyonu ve H4K20 trimetilasyonu kanser biyobelirteci olarak tanımlanmıştır.²⁰ Hücre farklılaşmasında bir grup hibrid polar bileşiğin HDAC'ları inhibe ettiği, lösemide yapılan tarama çalışmasında gösterilmiştir.²¹ Hidroksamik asit, kısa zincir yağ asitleri, benzamidler, siklik tetrapeptidler ve sirtuin inhibitörleri antikanser ajan olarak kullanılan HDAC inhibitörleridir. Bunlardan HDAC sınıf I ve II'yi hedef alan Zolinza (Merck) isimli Suberoylanilid hidroksamik asit (SAHA) olarak da bilinen Vorinostat ve Istodax adıyla Celgene tarafından çıkarılan Romidepsin ve Beleodaq isimli belinostat, Kutanoz T hücre lenfoma tedavisinde kullanılan FDA onaylı histon deasetilaz inhibitörleridir ve epigenetik tedavide kullanılan ilk terapötikleridir (Tablo1, Şekil 1).²² Yine bir histon deasetilaz inhibitörü olan Farydak (Novartis) isimli panobinostatın ise proteazom inhibitörü bortezomib ile kombine kullanımı ilaç dirençli multipl miyelomlarda klinikte yerini almıştır.²³ Kombine tedavilere yönelik çalışmalar küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastaları için de devam etmektedir. Vorinostat, Romidepsin, Pivanex ve CI-994 histon deasetilaz inhibitörleri küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastaları için tekli tedavi olarak denenmiş ancak sağkalımı etkileyen bir faydası görülmediği için sonlandırılmıştır (NCT00045006, NCT00565227, NCT00126451, NCT00020202). HDAC inhibitörleri kemoterapötiklerle kombine olarak da faz çalışmalarında yer almıştır. Ancak hasta sayısının azlığı nedeniyle bir sonuca varılamamıştır. Bunlardan ileri küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastalarında entinostat HDAC inhibitörünün erlotinibe eklenmesi, tek başına erlotinibe kıyasla genel bir fayda sağlamadıysa da, E-kadherin düzeyi yüksek olan bir alt grubunda sağkalımı artırdığı gözlenmiştir.¹⁹ HDAC inhibitörlerinin tedavide kullanımını sınırlayan dezavantajlar da bulunmaktadır. Bunlardan biri, yarılanma ömürlerinin kısa olması ve hızlı metabolize olmaları nedeniyle farmakokinetiklerinin zayıf olmasıdır. Hedef dışı oluşan sekonder etkiler, çözünme ve geçirgenlik özelliklerinin düşük olması, intra tumor gönderimde de engel oluşturabilmektedir. Bu sınırlamalar HDAC inhibitörlerinin hücrelere gönderilmesi için farklı araçlar geliştirilmesi gerekliliğini ortaya koymuştur.²⁴

Değişen histon lizin metilasyonu da kanserlerde sıklıkla karşılaşılan bir durumdur. H3K4me2'nin azalan seviyeleri böbrek ve akciğer kanseri hastalarında düşük sağkalım ile orantılı iken, küçük hücre dışı akciğer kanseri, meme ve karaciğer kanserlerinde kötü prognozla ilişkili bulunmuştur.²⁵ Lizin metil transferazların değişen seviyeleri veya lizin demetilazların, histon/histon olmayan proteinlerin metilasyonu ile tümör oluşumunu desteklediği bildirilmiştir.²⁶ H3K27me3'ün düzensiz ifade edilmesi bazı kanserlerde gösterilmiştir. EZH2'nin aşırı ifade edilmesi veya SET bölgesinde meydana gelen mutasyonlar, lösemide H3K27me3'ün aşırı ifadesine neden olmaktadır.⁶ H3K27 metilasyonunun UNC1999 ile inhibisyonunun kolorektal kanserli hücrelerde 5-fluorourasil hassasiyetini arttırdığını ve H3K27 seviyesinin düşmesi ile kolorektal kanseri başlatan hücrelerin kendini yenileme özelliğini azalttığı gösterilmiştir.²⁷

Her ne kadar histon modifikasyonları ve kromatin düzenlenmesini hedef alan terapötiklerden bazıları hematolojik kanserler için klinikte uygulanmaktadır. Solid tümörler için aynı başarı elde edilememiştir ancak çalışmalar halen devam etmektedir.

Kodlanmayan RNA tedavileri

Gen ifadesinin düzenlenmesini temel alan kodlanmayan RNA uygulamaları, her geçen gün artan klinik öncesi ve klinik çalışmalar sayesinde tedavide yerini almıştır. Hastalığa neden olan mRNA'ya spesifik olarak tasarlanan kodlanmayan RNA'lar, hedef mRNA'nın ifadesini sınırlar. Kodlanmayan RNA'lar, mikroRNA'lar ve siRNA'lar, uzun kodlanmayan RNA'lar, sirküler RNA'lar ve antisens oligonükleotidler olarak epigenetik tedavilerde sıklıkla çalışılmaktadır. Kodlanmayan RNA'lar translasyonu inhibe ederek veya degradasyonu artırarak hücrenin sağkalımını etkileyebildiğinden değişen ifadeleri hedeflenen biyobelirteçler olarak karşımıza çıkmaktadır.

FDA onayı almış ilk kodlanmayan RNA, patisiran adıyla kalıtsal transtiretin aracılı amiloidoz hastalarının tedavisinde kullanılmak üzere 2018 yılında piyasaya sürülmüştür. Bu siRNA, bir RNA interferans kullanılarak gerçekleştirilen ilk terapi olması nedeniyle yeni bir dönem başlatmıştır. Güncel olarak kullanılan 4 adet FDA onaylı siRNA ilacı bulunmaktadır (Tablo 1, Şekil 1) ve onlarca klinik çalışmada araştırılmaya devam etmektedir.²⁸ Kalıtsal transtiretin

aracılı amiloid, moleküler olarak, transiterin proteinin yanlış katlanması sonucu amiloid fibrillerin birikmesi ile karakterize edilmiştir. Biriken amiloid plakları, otonomik nöropati, kardiyomyopati, aritmi, dispne, nefes darlığı, ödem, karpal tünel sendromu, böbrek yetmezliği, vitreus opasiteleri, glokom ve/veya gözbebeği bozuklukları kendini gösterebilir. Patisiran, lipid nanopartikülün içerisinde hücreye gönderilen, 21 nükleotit uzunluğunda bir moleküldür ve yanlış katlanma gösteren transiterini hedefleyerek parçalar.²⁹ Patisiran'ı 2019 yılında akut hepatik porfiri tedavisinde Givosiran takip etmiştir. Akut hepatik porfiri hastalığı, şiddetli karın ağrısı, hipertansiyon, taşikardi, kusma ve nöropati, kronik böbrek hastalığı ve karaciğer hastalığı ile karakterizedir. *ALAS1* geninin aşırı ifadesi ile demir metabolizmasındaki düzensizlik sonucu karaciğer işlevini gerçekleştirilemez. Tedavisi için 23 nükleotid uzunluğunda karaciğere seçici iletimi gerçekleştirmesi için tri-N-asetilgalaktozamin aracılığı ile Givosiran subkutan olarak hastalara uygulanarak *ALAS1* ifadesini azaltmaktadır.³⁰ Hastaların %74'ünde ağrıların azaldığı ve yaşam kalitelerinin arttığı gösterilmiştir.³¹

Lumasiran primer hiperoksalüri Tip1 tedavisi için 2020'de FDA onayı alan üçüncü siRNA ilacıdır.³² Primer hiper oksalüri, glikosilat metabolizmasının inhibe olmasına neden olan peroksizomal enzim alanin glioksilat aminotransferazın azalması ile kalsiyum oksalatın böbreklerde ve idrar yollarında birikmesine neden olan karaciğer kaynaklı otozomal resesif nadir bir hastalıktır. Lumasiran 23 nükleotid uzunluğunda antisens zincirine sahip, tri-N-asetilgalaktozamin aracılı subkutan olarak uygulanır. Hidroksiasit oksidaz 1 (*HAOI*)'i hedef alarak ifadesinin azalmasını sağlayarak şikayetlerin yaştan bağımsız olarak azaldığı gösterilmiştir.³³

Son olarak, 2021 yılında FDA onayı almış siRNA ilacı İnkisiran, heterozigot ailesel hiperkolesterolemi ve aterosklerotik kardiyovasküler hastalık tedavisinde kullanılmaktadır. Her iki hastalıkta da, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyesi artar. İnkisiran ilacı LDL'ye bağlanan LDL reseptörü (LDLR) ile ilişkili, *PCSK9* geninin mRNA'sını hedefleyerek, LDL düzeylerini arttıran kolesterol ve sitoplazmik Apolipoprotein B'yi düzenler. *PCSK9* üretiminin engellenmesi, LDLR bozunmasını azaltır ve LDL alımını azaltır. İnkisiran 23 nükleotidlik uzun antisens zinciri ile 21 nükleotidlik sens zincirinden oluşan Galnac aracılığı ile hücrelere gönderilir ve subkutan olarak uygulanır.³⁴

FDA onayı almış olan dört siRNA'ya ek olarak çalışmaları aktif olarak devam eden ve ön çalışmaları tamamlanmış siRNA'lar da bulunmaktadır. Bunlardan Faz III çalışmasına kadar ulaşanlar hemofili hastalığını hedefleyen Fitusiran³⁵, primer hiperoksalüri tedavisi için Nedosiran³⁶, akut böbrek yetmezliği tedavisinde Teprasiran³⁷, kuru göz hastalığı ve oküler hastalıklar için Tivanisiran³⁸ ve kalıtsal transtiretin amiloidosis kaynaklı polinöropatiler için hedeflenmiş olan Vutrisiran'dır.³⁹

Kanser alanında gerçekleştirilen kodlanmayan RNA tedavileri aktif bir şekilde klinik çalışmalarda yerini almış ve umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Bazı miRNA tabanlı tedavilerden mezotelioma tedavisinde TargomiR (mir-16 terapisi)⁴⁰, T hücre lenfoma için Cobomarsen (anti-miR-155)⁴¹, Hepatit C enfeksiyonu tedavisi için Miravirsen (anti-miR-122)⁴² kullanılarak Faz II aşamasına geçilmiştir.⁴³

Kodlanmayan RNA'lara yenilikçi çözümlerin sunulduğu bir diğer yaklaşım dCas9 olarak bilinen ölü Cas9 (dead Cas9)'dur. Katalitik olarak aktif olmayan Cas9, çift sarmallı DNA kırılmalarının gerçekleşmediği ancak kılavuz RNA bağlanma aktivitesinin korunduğu bir sistemdir.⁴⁴

Transkripsiyonel aktivatör ve baskılayıcılarla bir araya gelen dCas9 füzyonları hedef gen ifadelerini düzenleyerek terapötik bir yaklaşım olarak sunulabilmektedir.⁴⁵ Aynı anda çok sayıda geni hedefleyebilmesi ve gen düzenlemesini DNA'yı kırmadan gerçekleştirebilmesi nedeniyle araştırmada kullanımı uygundur. Diğer DNA makasları olarak bilinen ZFN'leri ve TALEN'leri oluşturmak için gereken karmaşık ve pahalı protein mühendisliğiyle karşılaştırıldığında, CRISPR-dCas, çok yönlülüğü, azaltılmış maliyetleri ve daha geniş kullanımı nedeniyle daha etkili ve çok yönlü bir teknolojidir.⁴⁶

Tedavide kullanımını sınırlayan faktörler arasında ise, hedef dışı gerçekleşen yan etkiler, sgRNA tasarım listelerinde var olan eksiklikler, hedef bölgelerinin seçiminin zorluğu ve sgRNA-cas9 dağıtım sistemlerindeki yetersizlik sıralanabilir.⁴⁷

Son yıllarda elde edilen umut verici gelişmelere rağmen, kodlanmayan RNA tedavilerinin özgün yapısından kaynaklanan bazı faktörler klinik kullanımını sınırlamaktadır. RNaz'lar tarafından hızlı degradasyon, yetersiz doku ve hücre penetrasyonu, zayıf endozomal kaçış, bağışıklık yanıtının uyarılması, yan etkilere neden olan hedef dışı etkileşimler bu faktörlerden bazılarıdır.^{43,48}

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu derleme makalede, epigenetik tedavilerin çeşitli hastalıklarda umut verici bir tedavi yaklaşımı sunduğu ve kişiselleştirilmiş tıp için önemli bir potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir. Histon modifikasyonları, DNA metilasyonu ve kodlanmayan RNA'lar gibi epigenetik mekanizmaları hedef alan ilaçlar, özellikle kanser, nörolojik bozukluklar ve otoimmün hastalıkların tedavisinde dikkate değer başarılar elde etmiştir. Ancak, bu tedavilerin tam olarak etkinliğini artırmak ve geniş bir hasta kitlesine ulaştırmak için daha fazla araştırma ve geliştirme çalışması gerekmektedir.

Epigenetik tedavilerden daha fazla yararlanılabilmesi için, yeni epigenetik ilaçların geliştirilmesi, kombinasyon tedavilerin uygulanması, farmakokinetik ve farmakodinamik iyileştirmelerin yapılması gerekmektedir. Konu ile ilgili klinik araştırmaların artırılması, tedavi geliştirilmesi ile ilgili multidisipliner yaklaşımların benimsenmesi önem taşımaktadır. Bu alanda yapılacak ileri araştırmalar ve klinik uygulamalar, epigenetik tedavilerin pratikte daha geniş bir yer bulmasına katkı sağlayacaktır.

Teşekkür

Çizimler için Ceren Orhan'a teşekkürlerimi sunarım.

Yazarlık katkı beyanı

Konsept ve dizayn: DS.

Verilerin elde edilmesinde: DS.

Verilerin analizi ve yorumlanmasında: DS.

Makale yazımında: DS.

Makale revizyonu ve entelektüel katkı: DS.

Yazar çıkar çatışması

Yazar potansiyel çıkar çatışması yoktur.

Fon

Bu araştırma için maddi destek alınmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Kriaucionis S, Heintz N. The nuclear DNA base 5-hydroxymethylcytosine is present in Purkinje neurons and the brain. *Science*. 2009;324(5929):929-930.
2. Zhang Y, Zhou C. Formation and biological consequences of 5-Formylcytosine in genomic DNA. *DNA Repair (Amst)*. 2019;81:102649.
3. Jones PA, Issa JP, Baylin S. Targeting the cancer epigenome for therapy. *Nat Rev Genet*. 2016;17(10):630-641.
4. Smith ZD, Hetzel S, Meissner A. DNA methylation in mammalian development and disease. *Nat Rev Genet*. Published online August 12, 2024. doi:10.1038/s41576-024-00760-8.
5. Rimoldi M, Wang N, Zhang J, et al. DNA methylation patterns of transcription factor binding regions characterize their functional and evolutionary contexts. *Genome Biol*. 2024;25(1):146.

6. Park JW, Han JW. Targeting epigenetics for cancer therapy. *Arch Pharm Res.* 2019;42(2):159-170.
7. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *The lancet oncology.* 2009;10(3):223-232.
8. Hu C, Liu X, Zeng Y, Liu J, Wu F. DNA methyltransferase inhibitors combination therapy for the treatment of solid tumor: mechanism and clinical application. *Clin Epigenetics.* 2021;13(1):166.
9. Papadatos-Pastos D, Yuan W, Pal A, et al. Phase 1, dose-escalation study of guadecitabine (SGI-110) in combination with pembrolizumab in patients with solid tumors. *J Immunother Cancer.* Jun 2022;10(6).
10. Nie J, Wang C, Liu Y, et al. Addition of Low-Dose Decitabine to Anti-PD-1 Antibody Camrelizumab in Relapsed/Refractory Classical Hodgkin Lymphoma. *J Clin Oncol.* 2019;37(17):1479-1489.
11. Von Hoff DD, Rasco DW, Heath EI, et al. Phase I Study of CC-486 Alone and in Combination with Carboplatin or nab-Paclitaxel in Patients with Relapsed or Refractory Solid Tumors. *Clin Cancer Res.* 2018;24(17):4072-4080.
12. Connolly RM, Li H, Jankowitz RC, et al. Combination Epigenetic Therapy in Advanced Breast Cancer with 5-Azacitidine and Entinostat: A Phase II National Cancer Institute/Stand Up to Cancer Study. *Clin Cancer Res.* 2017;23(11):2691-2701.
13. Liang G, Weisenberger DJ. DNA methylation aberrancies as a guide for surveillance and treatment of human cancers. *Epigenetics.* 2017;12(6):416-432.
14. Fu S, Hu W, Iyer R, et al. Phase 1b-2a study to reverse platinum resistance through use of a hypomethylating agent, azacitidine, in patients with platinum-resistant or platinum-refractory epithelial ovarian cancer. *Cancer.* 2011;117(8):1661-1669.
15. Laranjeira ABA, Hollingshead MG, Nguyen D, Kinders RJ, Doroshow JH, Yang SX. DNA damage, demethylation and anticancer activity of DNA methyltransferase (DNMT) inhibitors. *Sci Rep.* 2023;13(1):5964.
16. Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature.* 2000;403(6765):41-45.
17. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell.* 2007;128(4):693-705.
18. Fullgrabe J, Kavanagh E, Joseph B. Histone onco-modifications. *Oncogene.* 2011;30(31):3391-3403.
19. Bajbouj K, Al-Ali A, Ramakrishnan RK, Saber-Ayad M, Hamid Q. Histone Modification in NSCLC: Molecular Mechanisms and Therapeutic Targets. *Int J Mol Sci.* 2021;22(21):11701. doi:10.3390/ijms222111701
20. Fraga MF, Ballestar E, Villar-Garea A, et al. Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer. *Nature genetics.* 2005;37(4):391-400.
21. Falkenberg KJ, Johnstone RW. Histone deacetylases and their inhibitors in cancer, neurological diseases and immune disorders. *Nature reviews Drug discovery.* 2014;13(9):673-691.
22. Audia JE, Campbell RM. Histone Modifications and Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016;8(4):a019521.
23. San-Miguel JF, Hungria VT, Yoon SS, et al. Panobinostat plus bortezomib and dexamethasone versus placebo plus bortezomib and dexamethasone in patients with relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma: a multicentre, randomised, double-blind phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014;15(11):1195-1206.
24. Shanmugam G, Rakshit S, Sarkar K. HDAC inhibitors: Targets for tumor therapy, immune modulation and lung diseases. *Transl Oncol.* 2022;16:101312.
25. Chen Y, Ren B, Yang J, et al. The role of histone methylation in the development of digestive cancers: a potential direction for cancer management. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):143.
26. Colon-Bolea P, Crespo P. Lysine methylation in cancer: SMYD3-MAP3K2 teaches us new lessons in the Ras-ERK pathway. *Bioessays.* 2014;36(12):1162-1169.
27. Lima-Fernandes E, Murison A, da Silva Medina T, et al. Targeting bivalency de-represses Indian Hedgehog and inhibits self-renewal of colorectal cancer-initiating cells. *Nat Commun.* 2019;10(1):1436.
28. Zhang C, Zhang B. RNA therapeutics: updates and future potential. *Sci China Life Sci.* 2023;66(1):12-30.
29. Kristen AV, Ajroud-Driss S, Conceicao I, Gorevic P, Kyriakides T, Obici L. Patisiran, an RNAi therapeutic for the treatment of hereditary transthyretin-mediated amyloidosis. *Neurodegener Dis Manag.* 2019;9(1):5-23.
30. Debacker AJ, Voutila J, Catley M, Blakey D, Habib N. Delivery of Oligonucleotides to the Liver with GalNAc: From Research to Registered Therapeutic Drug. *Mol Ther.* 2020;28(8):1759-1771.
31. Balwani M, Sardh E, Ventura P, et al. Phase 3 Trial of RNAi Therapeutic Givosiran for Acute Intermittent Porphyria. *N Engl J Med.* 2020;382(24):2289-2301.
32. Garrelfs SF, Frishberg Y, Hulton SA, et al. Lumasiran, an RNAi Therapeutic for Primary Hyperoxaluria Type 1. *N Engl J Med.* 2021;384(13):1216-1226.
33. Scott LJ, Keam SJ. Lumasiran: First Approval. *Drugs.* 2021;81(2):277-282.
34. Lamb YN. Inclisiran: First Approval. *Drugs.* 2021;81(3):389-395.
35. Machin N, Ragni MV. An investigational RNAi therapeutic targeting antithrombin for the treatment of hemophilia A and B. *J Blood Med.* 2018;9:135-140.
36. Kletzmayer A, Ivarsson ME, Leroux JC. Investigational Therapies for Primary Hyperoxaluria. *Bioconjug Chem.* 2020;31(7):1696-1707.
37. Gallagher KM, O'Neill S, Harrison EM, Ross JA, Wigmore SJ, Hughes J. Recent early clinical drug development for acute kidney injury. *Expert Opin Investig Drugs.* 2017;26(2):141-154.
38. Moreno-Montanes J, Bleau AM, Jimenez AI. Tivanisiran, a novel siRNA for the treatment of dry eye disease. *Expert Opin Investig Drugs.* 2018;27(4):421-426.
39. Habtemariam BA, Karsten V, Attarwala H, et al. Single-Dose Pharmacokinetics and Pharmacodynamics

- of Transthyretin Targeting N-acetylgalactosamine-Small Interfering Ribonucleic Acid Conjugate, Vutrisiran, in Healthy Subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 2021;109(2):372-382.
40. van Zandwijk N, Pavlakis N, Kao SC, et al. Safety and activity of microRNA-loaded minicells in patients with recurrent malignant pleural mesothelioma: a first-in-man, phase 1, open-label, dose-escalation study. *Lancet Oncol.* 2017;18(10):1386-1396.
 41. Foss FM, Querfeld C, Kim YH, et al. Ph 1 study of MRG-106, an inhibitor of miR-155, in CTCL: *Journal of Clinical Oncology.* 2018;36(15):2511-2511. doi:10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.2511
 42. Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ, et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N Engl J Med.* 2013;368(18):1685-1694.
 43. Kara G, Calin GA, Ozpolat B. RNAi-based therapeutics and tumor targeted delivery in cancer. *Adv Drug Deliv Rev.* 2022;182:114113.
 44. Griazeva ED, Fedoseeva DM, Radion EI, et al. Current Approaches to Epigenetic Therapy. *Epigenomes.* 2023;7(4):23. doi:10.3390/epigenomes7040023
 45. Winkle M, El-Daly SM, Fabbri M, Calin GA. Noncoding RNA therapeutics - challenges and potential solutions. *Nat Rev Drug Discov.* 2021;20(8):629-651.
 46. Rabaan AA, AlSaihati H, Bukhamsin R, et al. Application of CRISPR/Cas9 Technology in Cancer Treatment: A Future Direction. *Curr Oncol.* 2023;30(2):1954-1976.
 47. Sharma G, Sharma AR, Bhattacharya M, Lee SS, Chakraborty C. CRISPR-Cas9: A Preclinical and Clinical Perspective for the Treatment of Human Diseases. *Mol Ther.* 2021;29(2):571-586.
 48. Segal M, Slack FJ. Challenges identifying efficacious miRNA therapeutics for cancer. *Expert Opin Drug Discov.* 2020;15(9):987-992.

To Cite: Seven D. Current Epigenetic Treatments. *Farabi Med J.* 2024;3(3):111-118. doi:10.59518/farabimedj.1542765