

**KOCATEPE TIP DERGİSİ**

***KOCATEPE MEDICAL JOURNAL***

***Yayımlayan / Published by***

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri University

**Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Adına Sahibi**

**On Behalf of Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri University**

**Owner and Responsible Manager**

Prof.Dr. Adem ASLAN

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dekan V.  
Dean of Faculty of Medicine, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri University

**BAŞ EDITÖR/EDITOR IN CHIEF**

Prof.Dr. Ümit DÜNDAR

**BAŞ EDITÖR YARDIMCISI/ASSOCIATE EDITOR IN CHIEF**

Doç.Dr. Saliha Handan YILDIZ

Doç.Dr.Mustafa KÖROĞLU

**EDITÖR YARDIMCILARI/ASSOCIATE EDITORS**

Prof. Dr. Ahmet KAHRAMAN

Doç. Dr. İbrahim KELEŞ

Doç. Dr. Mükrem UYSAL

Doç. Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN

Doç. Dr. Kürşad ZENGİN

Dr. Öğr. Üyesi Hayri DEMİRBAŞ

Dr. Öğr. Üyesi Serhat YILDIZHAN

Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem ÖZER GÖKASLAN

**BİLİMSEL SEKRETERYA/SCIENTIFIC SECRETARIAT**

Dr. Öğr. Üyesi Hilal YEŞİL

Dr. Öğr. Üyesi Nuray VAROL

Dr. Öğr. Üyesi Evrim Suna ARIKAN TERZİ

Dr. Öğr. Üyesi Murat KORKMAZ

**Cilt/Volume :19**

**Sayı/Number : 3**

**Temmuz / July 2018**

*Üç ayda bir yayınlanır / Published per three months*

**KOCATEPE TIP DERGİSİ**

***KOCATEPE MEDICAL JOURNAL***

**Yazışma adresi/Correspondence address:**

Prof.Dr. Ümit DÜNDAR  
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Dekanlığı  
Zafer Sağlık Külliyesi  
Dört Yol Mah. 2078 Sok. No:3  
03200, AFYONKARAHİSAR  
Tel: 0 272 246 33 01  
0 272 246 33 03  
e-posta: [ktd@aku.edu.tr](mailto:ktd@aku.edu.tr)  
<http://kocatepetipdergisi.aku.edu.tr/>

**ISSN 1302-4612**  
**e-ISSN 2149-7869**

## İÇİNDEKİLER/*CONTENTS*

- Memenin Taşlı Yüzük Hücreli Karsinomu  
**Serkan AKIN** .....79-81
- Primer Retroperitoneal Tümörlerde Klinik Deneyimlerimiz  
**Tamer SEKMENLİ, İlhan ÇİFTÇİ, Doğan KÖSE, Yavuz KÖKSAL, Nevin SEKMENLİ,**  
.....82-85
- Romatoid Artritte Bilişsel Bozukluğun Değerlendirilmesi Eklem Yıkımı ve Hastalık Aktivitesinin Belirleyici Değeri  
**Derya GÜZEL, Sinem SAĞ, Mustafa Serdar SAĞ, İbrahim TEKEOĞLU, Ayhan KAMANLI, Kemal NAS**.....86-92
- Total Diz Replasmanı Uygulanan Steril Hazır Turnike İle Pnömotik Turnikenin Ameliyat Sonrası Dönemde Derin Ven Trombozu Oluşumu Yönünden Karşılaştırılması  
**Tansel MUTLU, Uygur DAŞAR**.....93-97
- Possible Regulatory Effects of Application of Alpha Lipoic Acid and Insulin Against Cadmium Exposed Diabetic Rats  
**Neşe KILIÇ, Fahrettin AKYÜZ, Neslihan TEKİN**.....98-108
- Geldanamisin ve Trikostatin A'nın İnsan Mesane Kanseri Hücreleri Üzerine Sinerjistik Etkisi  
**Nuray VAROL, Nuran ÇOBAN**.....109-113
- Safra Kesesinin Pür Müsinöz Adenokarsinomu: Olgu Sunumu  
**Mehmet Nuri KOŞAR, Nuray Ayper ÖNGEN, Mani HABİBİ, Faruk GÜLEÇ, Osman Zekai ÖNER**.....114-116
- Posterior İnterosseöz Sinirin Kısmi Felci  
**Mehlika PANPALLI ATEŞ, Hayat GÜVEN, Sevgi FERİK, Selim Selçuk ÇOMOĞLU**.....117-120
- Opere Lomber Disk Hernisi Sonrası Vertebral Osteomyelit  
**Serhat YILDIZHAN, Mehmet Gazi BOYACI**.....121-125

ARAŞTIRMA YAZISI / RESEARCH ARTICLE

## MEMENİN TAŞLI YÜZÜK HÜCRELİ KARSİNOMU SIGNET RING CELL CARCINOMA OF BREAST

Serkan AKIN

Hacettepe Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Tıbbi Onkoloji Bölümü

### ÖZ

**AMAÇ:** Memenin taşlı yüzük hücreli karsinomu agresif klinik gidişatı olan nadir bir alt gruptur. Meme kanserlerinin %2-4.5'ini oluştururlar. Bu çalışmada taşlı yüzük hücreli meme kanseri olgularının klinik ve patolojik özelliklerini analiz ettik.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** 2007-2014 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü'nde meme kanseri tanısı alan ve tedavi edilen 3587 hastaya ait veriler incelendi. Hastaların demografik özellikleri ve patoloji raporları, klinik sonuçlarla birlikte değerlendirildi.

**BULGULAR:** Taşlı yüzük hücreli meme karsinomu olan 25 hasta bulundu (%1). Ortanca yaşları 53 olan bu hasta grubunun %48'i premenapozal dönemde tanı almıştı. Tanı anında 4 hastanın metastatik, diğer 21 hastanın ise lokal hastalığı vardı. Tümörler genellikle grade 2, ER pozitif ve HER2 negatif idi. Mikst histoloji tespit edilen hastalardan 9'unda invaziv duktal karsinom, 6'sında invaziv lobüler karsinom eşlik etmekteydi. Ortalama takip süresi 27 ay idi. Yedi hastada nüks gözlemlendi (1 lokal, 1 hem lokal hem uzak, 5 uzak). Kemik, karaciğer ve overler en sık uzak nüks saptanan organlar idi (sırasıyla 3, 2 ve 2).

**SONUÇ:** Bu çalışmada, taşlı yüzük hücreli meme karsinomu prevalansı literatürden daha düşük olarak bulunmuştur (%0.7). İnvaziv duktal karsinom en sık eşlik eden tiptir. Uzak nüksü olan 7 hastadan 2'sinde tutulan organ overdir. Taşlı yüzük hücreli karsinom olgularında over metastazı ile karşılaşılabılır.

**ANAHTAR KELİMELER:** Taşlı yüzük hücreli karsinom, Meme kanseri, Metastaz

### ABSTRACT

**OBJECTIVE:** Signet ring cell carcinoma (SRCC) of breast is a rare subtype with aggressive clinical course. The prevalence of signet ring features is between 2 to 4.5% of total breast cancers. Here we analyzed clinical and pathological features and outcomes of our patients with SRCC of breast.

**MATERIAL AND METHODS:** We investigated retrospectively medical charts of 3587 patients with breast cancer diagnosed and treated in Hacettepe University Cancer Institute between 2007-2014. Patient demographics, pathology reports were assessed along with clinical outcomes.

**RESULTS:** Twenty five patients with SRCC were identified (1%) Median age was 53 years and 48% of them were premenopausal. At initial diagnosis, metastatic disease was seen in 4 patients, other 21 patients have localized disease. Tumors were mostly grade 2, ER positive and HER2 negative. In patients with mixed histology, co-existed histology was invasive ductal carcinoma in 9 patients and invasive lobular carcinoma in 6 patients. Median follow up was 27 months. Seven patients had recurrence (1 local, 1 both local and distant, 5 distant). Most common site of distant relapses were bone, liver and ovaries (3, 2 and 2 patients, respectively).

**CONCLUSIONS:** In this study, the prevalence of SRCC was found 0.7 %, which is lower than that reported in the literature. Invasive ductal carcinoma is the most common accompanying subtype. Ovarian metastases were found in 2 of 7 distant failures. Signet ring cell histology may have a predilection for ovarian metastases.

**KEYWORDS:** Signet ring cell carcinoma, Breast cancer, Metastasis

Geliş Tarihi / Received: 20.10.2017

Kabul Tarihi / Accepted: 20.11.2017

Yazışma Adresi / Correspondence: Dr. Öğr. Üyesi Serkan AKIN  
Hacettepe Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Tıbbi Onkoloji Bölümü  
drserkanakin@gmail.com

## GİRİŞ

Birçok farklı kanser türünde taşlı yüzük hücreleri gözlenebilir. Tanımı net olarak ortaya konulmasa da intraselüler aşırı münin birikimi ile karakterize taşlı yüzük hücresi adı verilen hücrelerin varlığında bu varyanttan bahsedilebilir. Özellikle mide, kolon ve memenin taşlı yüzük hücreli tümörü sık görülmektedir. Tüm meme kanserlerinin %2-4.5'ini oluştururlar (1).

Taşlı yüzük hücreli meme kanseri daha önceden memenin müninöz karsinomunun bir varyantı olarak kabul edilmekteyken daha sonraları lobüler karsinomun bir alt grubu olarak düşünülmüştür. 1976 da Steinbrecher ve arkadaşları %20 den fazla taşlı yüzük hücresi içeren meme tümörlerini farklı bir anatomo-patolojik antite olarak tanımlamışlardır (2). Günümüzde ise ayrı bir antite olarak kullanılabilirdiği gibi hem invaziv duktal karsinom, hem invaziv lobüler karsinomun içerdikleri taşlı yüzük hücre oranı da belirtilebilir. Çalışmalarda bu hücrelerin varlığı negatif prognostik faktör olarak bulunmuştur (3, 4).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmada 2007-2014 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü'nde meme kanseri tanısı alan ve tedavi edilen 3587 hastaya ait veriler retrospektif olarak incelendi. Taşlı yüzük hücreli komponenti %20'nin üzerinde olan hastalar taşlı yüzük hücreli karsinom olarak kabul edilip çalışmaya dâhil edildi. Taşlı yüzük hücre oranı %90'ın üzerinde ise saf taşlı yüzük hücreli meme kanseri olarak sınıflandırıldı. Taşlı yüzük hücreli meme karsinomu olan hastaların demografik özellikleri ve patoloji raporları, klinik sonuçlar ile birlikte değerlendirildi.

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS.18 kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel ve analitik yöntemler kullanılarak (Kolmogrov-Smirnov) kullanılarak incelendi. Tanımlayıcı istatistikler normal dağılım değişkenler için ortalama ve standart sapma, normal dağılmayan değişkenler için ortanca ve çeyrekler arası aralık kullanılarak verildi. Sağkalım analizi için Kaplan-Meier sağkalım analizi kullanıldı.

Çalışmanın etik kurul onayı, 08/07/2015 tarihinde Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan

Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan GO 15/ 408 – 07 sayılı yazı ile alınmıştır.

## İSTATİSTİK:

Hastalardan elde edilen veriler SPSS 20.0 (IL, USA) istatistik programı kullanılarak analiz edildi. Elde edilen veriler tanımlayıcı istatistikler (aritmetik ortalama, standart sapma) ile değerlendirildi. İki grubun ortalaması karşılaştırılırken parametrik koşulların sağlandığı durumlarda Bağımsız Grup T Testi parametrik koşulların sağlanmadığı durumlarda Mann Withney U testi kullanıldı. Kategorik verilerin gruplar arası karşılaştırılmasında ki kare testi kullanıldı. Değişkenler arası ilişki incelenirken Spearmann korelasyon testi kullanıldı. p değerinin <0.5 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Taşlı yüzük hücreli karsinom 3587 meme kanseri vakasından 25'inde tespit edildi (%1). Ortanca yaşları 53 olan bu hasta grubunun %48'i premenapozal dönemde tanı almıştı. Tanı anında 4 hastanın metastatik, diğer 21 hastanın ise lokal hastalığı vardı. Tanı anında metastatik hastalığı olan hastalardan 2'sinde sadece kemik, 1'inde akciğer ve kemik, diğer hastada ise karaciğer, periton ve over metastazı mevcuttu. (Tablo 1)'de diğer demografik ve klinik özellikler verilmektedir. Üç hastada fibrokistik hastalık veya fibroadenom gibi benign meme hastalığı hikâyesi mevcuttu. Birinci derece akrabasında meme kanseri olan üç hasta tespit edildi. Sekiz (%32) hastada oral kontraseptif kullanım hikâyesi varken, 6 (%24) hasta hormon replasman tedavisi almıştı.

Taşlı yüzük hücreli tümörler genellikle grade 2 (%68) idi. ER pozitif olan 19 hasta (%76) bulunurken HER2 pozitifliği 7 hastada (%28) tespit edildi. Altı hastada saf taşlı yüzük hücreli karsinom bulunurken, mikst histoloji tespit edilen hastalardan 9'unda invaziv duktal karsinom, 6'sında invaziv lobüler karsinom eşlik etmekteydi. Lokal hastalığı olan 19 hasta, adjuvant veya neoadjuvan kemoterapi alırken, toplamda 22 hastanın radyoterapi aldığı belirlendi. Ortalama takip süresi 27 ay idi. Yedi hastada nüks gözlemedi (1 lokal nüks, 1 hem lokal hem uzak nüks, 5 uzak nüks). Kemik, karaciğer ve overler en sık

uzak nüks saptanan organlar idi (sırasıyla 3,2 ve 2). Ortalama sağkalım 71 ay (37-105 ay, %95 GA) idi. Lokal hastalıkta ortalama hastalısız sağkalım ise 42 ay (1.5-83 ay, %95 GA) olarak bulundu.

**Tablo 1:** Taşlı yüzük hücreli meme karsinomu hastalarının klinikopatolojik özellikleri

Ortanca yaş (aralık)		53 (31, 70)
Menapoz	Pre-menapozal	12 (%48)
	Post-menapozal	13 (%52)
Vücut kitle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )		27.9 ± 4.6
Histoloji	Saf	6 (%24)
	Mikst	19 (%76)
Lenfovasküler invazyon		10 (%40)
Grade	2	17 (%68)
	3	8 (%32)
Evre (T)	T1	5 (%20)
	T2	11 (%44)
	T3	5 (%20)
	T4	3 (%12)
Evre (N)	N0	7 (%28)
	N1	6 (%24)
	N2	5 (%20)
	N3	7 (%28)
Evre (TNM)	1	2 (%8)
	2	7 (%28)
	3	12 (%48)
	4	4 (%16)
ER		19 (%76)
PR		14 (%56)
Her2		7 (%28)

## TARTIŞMA

Tüm kanserlerde taşlı yüzük hücrelerinin varlığı kötü prognostik belirteç olarak bilinmektedir. Meme kanserinde de histolojik tanı ne olursa olsun daha agresif seyir gösteren taşlı yüzük hücrelerinin özellikle lobüler ve duktal karsinom ile beraber görüldüğü takdirde oranın verilmesi prognoz açısından faydalı olacaktır. Merino ve arkadaşları 24 hastalık taşlı yüzük hücreli meme kanseri serisinde yedi yıl içinde %60'ının öldüğünü bildirmişlerdir (3). Patolojik açıdan müsinöz meme kanseri ile taşlı yüzük hücreli meme kanseri arasında ayırım yapılması önemlidir, zira müsinöz karsinom çok daha iyi bir klinik gidişat sergilerken, taşlı yüzük hücreli karsinom daha agresif bir klinik seyirle ve sonuçta daha kötü bir prognoz ile ilişkilidir (5).

Literatürde daha sık olarak invaziv lobüler karsinom ile birliktelik gözlenirse de invaziv duktal karsinom ile de taşlı yüzük hücreleri bildirilmiştir (6). Bizim yaptığımız retrospektif analizde ise

invaziv duktal karsinom ve taşlı yüzük hücreli karsinom birlikteliğine lobüler karsinomdan daha sık rastlanmıştır.

Memenin taşlı yüzük hücreli karsinomunun karakteristik özelliklerinden bir diğeri de metastaz yaptığı bölgelerdeki farklılıklardır. Bu tümörler genellikle gastrointestinal, akciğer, periton ve jinekolojik organlara metastaz yaparlar (7). Literatürde intestinal metastazlar olabileceği bildirilmiştir (8). Çalışmamızda klinik seyir esnasında karaciğer metastazı 3 hastada, over metastazı 3 hastada görülmüştür. Bu oranlar genel popülasyona göre yüksek olarak bilinmektedir. Çalışmamız hasta sayısının az olması ve retrospektif yapılmasından dolayı kısıtlılıklara sahiptir.

Memenin taşlı yüzük hücreli karsinomu diğer organlardaki taşlı yüzük hücreli karsinomlar gibi agresif bir seyir sergilemektedir. Cerrahi ve gerekirse radyoterapi gibi standart tedaviler uygulanmalıdır. Hormon reseptörleri ve HER2 varlığı diğer meme kanserleri gibi hormonal tedavi ve HER2'yi hedefleyen ajanlar için önem taşır. Sıra dışı metastatik özellikler ve kötü prognoz nedeniyle taşlı yüzük hücreli meme kanseri konusunda daha fazla araştırma yapılmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Middleton LP, Palacios DM, Bryant BR, Krebs P, Otis CN, Merino MJ. Pleomorphic lobular carcinoma: morphology, immunohistochemistry, and molecular analysis. *Am J Surg Pathol.* 2000;24(12):1650-1656.
2. Steinbrecher JS, Silverberg SG. Signet-ring cell carcinoma of the breast. The mucinous variant of infiltrating lobular carcinoma? *Cancer.* 1976;37(2):828-840.
3. Merino MJ, Livolsi VA. Signet ring carcinoma of the female breast: a clinicopathologic analysis of 24 cases. *Cancer.* 1981;48(8):1830-1837.
4. Hull MT, Seo IS, Battersby JS, Csicsko JF. Signet-ring cell carcinoma of the breast: a clinicopathologic study of 24 cases. *Am J Clin Pathol.* 1980;73(1):31-35.
5. Wu X, Zhang Z, Li X et al. Poorer prognosis of primary signet-ring cell carcinoma of the breast compared with mucinous carcinoma. *PLoS One.* 2016;11(9):e0162088.
6. Liu SM, Chen DR. Signet-ring cell carcinoma of the breast. *Pathol Int.* 2000;50(1):67-70.
7. Kondo Y, Akita T, Sugano I, Isono K. Signet ring cell carcinoma of the breast. *Acta Pathol Jpn.* 1984;34(4):875-880.
8. Koos L, Field RE. Metastatic carcinoma of breast simulating Crohn's disease. *Int Surg.* 1980;65(4):359-362.

## PRİMER RETROPERİTONEAL TÜMÖRLERDE KLİNİK DENEYİMLERİMİZ CLINICAL EXPERIENCES IN PRIMARY RETROPERITONEAL TUMORS

Tamer SEKMENLİ<sup>1</sup>, İlhan ÇİFTÇİ<sup>1</sup>, Doğan KÖSE<sup>2</sup>, Yavuz KÖKSAL<sup>2</sup>, Nevin SEKMENLİ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Onkolojisi Anabilim Dalı

<sup>3</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi Konya SUAM Radyoloji Anabilim Dalı

### ÖZ

**AMAÇ:** Bu çalışmada Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi 2011-2013 tarihleri arasında Çocuk Onkoloji Anabilim Dalı'nda takipli ve Çocuk Cerrahisi Kliniğinde opere edilen toplam 22 retroperitoneal tümörlü hastanın kayıtları retrospektif olarak değerlendirildi.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Retroperitoneal tümör nedeniyle 2011-2013 arasında cerrahi girişim yapılan olgular geriye dönük olarak incelendi. Primer retroperitoneal tümörü kontrol altına alınan, başka uzak organ metastazı olmayan cerrahi tedavi uygulanan olgular çalışmaya dahil edildi. Yaş, cinsiyet, primer tanı anında tümör evresi, cerrahi tedavi yöntemi, patolojik tanı ve takip açısından olguların dosyaları retrospektif olarak değerlendirildi.

**BULGULAR:** Olgularımızın 9'u (%40) erkek, 13'ü (%60) kadındı. Ortalama yaş erkeklerde 71 ay (3-132), kadınlarda 37 ay (6-204) idi. Histopatolojik olarak olguların 15 (%68)'i nöroblastom, 4'ü (%18.5) Wilms tümörü, 1'i (%4.5) embriyonal rabdomyosarkom, 1'i (%4.5) berrak hücreli sarkom, 1'i (%4.5) malign sinir kılıfı tümörü olarak değerlendirildi. Tanı anında olguların 8'i (%36) evre I, 7'si (%32) Evre III, 7'si (%32) evre IV safhasındaydı.

**SONUÇ:** Olgularımızın %68'i nöroblastom olup, tanı anında hastaların %64'ü evre III ve evre IV idi. Anatomik lokalizasyonları nedeniyle ileri evrelere kadar sessiz tümörler olan retroperitoneal tümörlerin çoğu nöroblastomdur ve genellikle ileri evrelerde tanı alırlar.

**ANAHTAR KELİMELELER:** Retroperitoneal tümör, Nöroblastoma, Pediatrik

### ABSTRACT

**OBJECTIVE:** In this study, Selçuk University Faculty of Medicine between 2011 - 2013 follow-up at the Department of Pediatric Oncology and Pediatric Surgery clinic was operated by a total of 22 patients with retroperitoneal tumors were evaluated retrospectively.

**MATERIAL AND METHODS:** Retroperitoneal tumors were evaluated retrospectively during 2011-2013. The cases treated with primary retroperitoneal tumor, surgical treatment without other distant organ metastasis were included in the study. The files of the cases were primary diagnosis in terms of age, sex, tumor stage at the time of diagnosis, surgical treatment method, pathological diagnosis and follow-up reviewed retrospectively.

**RESULTS:** Nine out of 22 cases (40%) male and 13 (60%) were female. Male mean age of 71 months ( 3-132 ) in the girls 37 months ( 6-204 ). The histological results, 15 (68%) of neuroblastoma, 4 (18.5%) Wilms, 1 (4.5%) Embryonal Rhabdomyosarcoma, 1 (4.5%) Clear cell sarcoma, 1 (4.5%) malignant nerve sheath tumors were evaluated. Eight of the cases (36%) were stage I, 7 (32%) were stage III, 7 (32%) stage IV.

**CONCLUSIONS:** In conclusion, 68% of our cases were neuroblastoma and 64% of the patients were stage III and stage IV at the time of diagnosis. Retroperitoneal tumors are generally diagnosed in advanced stages. We think that this is due to the anatomical localizations and the silent as far as the clinically advanced stage.

**KEYWORDS:** Retroperitoneal tumor, Neuroblastoma, Pediatric



## GİRİŞ

Birçok farklı kanser türünde taşlı yüzük hücreleri gözlenebilir. Tanımı net olarak ortaya konulmasa da intraselüler aşırı münin birikimi ile karakterize taşlı yüzük hücresi adı verilen hücrelerin varlığında bu varyanttan bahsedilebilir. Özellikle mide, kolon ve memenin taşlı yüzük hücreli tümörü sık görülmektedir. Tüm meme kanserlerinin %2-4.5'ini oluştururlar (1).

Taşlı yüzük hücreli meme kanseri daha önceden memenin müninöz karsinomunun bir varyantı olarak kabul edilmekteyken daha sonraları lobüler karsinomun bir alt grubu olarak düşünülmüştür. 1976 da Steinbrecher ve arkadaşları %20 den fazla taşlı yüzük hücresi içeren meme tümörlerini farklı bir anatomo-patolojik antite olarak tanımlamışlardır (2). Günümüzde ise ayrı bir antite olarak kullanılabilirdiği gibi hem invaziv duktal karsinom, hem invaziv lobüler karsinomun içerdikleri taşlı yüzük hücre oranı da belirtilebilir. Çalışmalarda bu hücrelerin varlığı negatif prognostik faktör olarak bulunmuştur (3, 4).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Retrospektif olarak hazırlanan bu çalışmada, 01.01.2011 - 31.12.2013 tarihleri arasında Çocuk Cerrahisi ve Çocuk Onkolojisi kliniklerince ortak takip edilen ve opere edilen 22 PRPT'li hasta geriye dönük olarak değerlendirildi.

Hastaların klinik öyküleri, muayene bulguları, incelemeleri ve tedavi detayları hastane kayıtlarından elde edildi. Hasta kayıtları; yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, tanı yöntemi, tedavi ve sonuçları açısından incelendi. Ameliyat öncesi değerlendirme abdominal ultrasonografi sonrası kontrastlı bilgisayarlı tomografi (BT) ve/veya kontrastlı manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile yapıldı. Çalışma kapsamındaki tüm hastaların hematolojik inceleme sonuçları ve serum alfa-fetoprotein (AFP) değerleri mevcuttu. Tüm olgularda cerrahi tedavi transperitoneal yaklaşımla yapıldı. Tümör ekzizyonu sonrası dokular histopatolojik olarak incelendi ve sınıflandırıldı.

## SONUÇLAR

Çalışma kapsamındaki 22 olgunun yaşları 3 ay

ila 17 yaş arasında idi (**Tablo 1**). Olguların 9'u (% 40) erkek, 13'ü (% 60) kadındı. Ortalama yaş, kadınlarda 37 ay (6-204), erkeklerde 71 ay (3-132) idi. Olguların 7'si (% 31) nöroblastom, 4'ü (% 18) ganglionörom, 4'ü (% 18) Wilms tümörü, 2'si (% 9) matür teratom, 1'i (% 4.8) malign sinir kılıfı tümörü, 1'i (% 4.5) berrak hücreli karsinom, 1'i (% 4.5) embriyonal rabdomiyosarkom, 1'i (% 4.5) kistik nefroma, 1'i (% 4.5) adrenokortikal adenokarsinom idi (**Resim 1 ve Tablo 2**).

**Tablo 1:** Demografik özellikleri

<b>Toplam hasta sayısı (N)</b>	<b>22</b>
<b>Cinsiyet</b>	<b>N</b>
	<b>Erkek 9</b>
	<b>Kız 13</b>
<b>Lokalizasyon</b>	<b>N</b>
	<b>Sağ 14</b>
	<b>Sol 8</b>
<b>Yaş</b>	<b>(ortalama, ay)</b>
	<b>Erkek 71 (3-132)</b>
	<b>Kız 37 (6-204)</b>



Resim 1

**Tablo 2:** Olguların histopatolojik tanıları

	Olguların Dağılımı	Evreleri	Yaş (min-max)	Cinsiyet Oranları
Nöroblastom	7(%31)	I,I,IV,I, IV,III,I	(6ay-11yaş)	6K/1E
Ganglionörom	4(%18)	III,IV, IV,III	(1-8)yaş	Tamamı E
Wilms	4(%18)	I,IV,IV,I	(2-5)yaş	Tamamı K
Matür teratom	2(%9)	I	(3,6)ay	E,K
Malign sinir kılıfı tümörü	1(%4.8)	III	16yaş	E (Operasyondan 19 ay sonra kaybedildi)
Berrak hücreli sarkom	1(%4.8)	III	12yaş	E (18 ay sonra ikincil ameliyat yapıldı)
Kistik Nefrom	1(%4.8)	III	1yaş	K
Embriyonal rabdomiyosarkom	1(%4.8)	IV	8yaş	E

Tanı sırasında 22 olgunun 8'i (%36) evre I, 7'si (%32) Evre III, 7'si (%32) evre IV idi. Postoperatif dönemde ortalama takibimiz 15,6 (1-35) ayda yapıldı. Tanı anında hastaların 14'ü (%64) evre III ve evre IV safhasında idi (**Tablo 3**). Berrak hücre-



**Tablo 3:** Teşhis Evreleri

Evre	Hastaların Dağılımı	Cinsiyet Dağılımı
I	8(%36)	1 E, 7 K
III	7(%32)	4 E, 3K
IV	7(32)	4 E, 3 K

reli sarkoma olan bir hasta, cerrahi tedaviden 18 ay sonra nüks nedeniyle tekrar opere edildi. Üç yıllık takip süresinde sadece malign sinir kılıfı tümörlü hastamız cerrahi sonrası 19. ayında kaybedildi.

Olguların çoğunda hastaneye gelişte, palpe edilen karın kitlesiyle birlikte abdominal distansiyon, kilo kaybı ve anoreksiya mevcuttu. Büyük boyutlu tümörlere rağmen, tüm hastaların genel durumu iyi idi. Ultrasonografik incelemede bazıları kalsifik alanlar içeren, çoğu büyük boyutlu, internal vasküler yapılar bulunduran, birçoğu oldukça heterojen yapıda solid kitleler izlendi. Daha sonra elde olunan BT ve/veya MRG incelemede kistik/nekrotik alanlar ve kalsifik bileşenler bulunduran, bazılarında yağ doku elemanları izlenen, çoğu oldukça yoğun ve heterojen kontrastlanan, büyük boyutlu kitlesel lezyonlar kaydedildi. Ayrıca olgular kesitsel incelemede retroperitoneal patolojik boyutlu lenf nodları, lokal invazyon bulguları, lezyonların böbrek ve çevre dokularla ilişkisi, uzak organ metastazları açısından değerlendirildi. Uzak organ metastazı rapor edilmiş olgular çalışma dışı bırakıldı.

Evreleme sonrası cerrahi tedavi planlanan olgulara çoğunlukla supraumbilikal transvers transperitoneal insizyonla yaklaşıldı. Olgularımızın 21'inde tümörün tamamı eksize edilebildi. Total rezeksiyona uygun olmayan sadece bir olguda cerrahi girişim açık biyopsi sonrası sonlandırıldı, histopatolojik olarak malign sinir kılıfı tümörü tanısı alan bu hasta 19 ay sonra kaybedildi. Takip sırasında berrak hücreli sarkom tanılı hastamız 18 ay sonra nüks nedeniyle tekrar opera edildi.

## TARTIŞMA

PRPT'in cerrahi tedavisinde kitle ile birlikte rezeksiyonu gereken organların başında % 20 sıklıkta böbrek gelir. Sinir kökü tutulumu, pelvis yan duvar tutulumu, malign asit, uzak metastaz varlığı, rezeke edilemeyen durumlar olarak cerrahi tedaviye kabul edilmeme nedenlerin-

dendir (3). Bizim serimizdeki toplam beş olguda kitle nedeniyle böbrek alınmak zorunda kalındı. Sindirim sistemi obstruksiyon ve ağrı varlığı değerlendirilmesi gereken önemli konulardır. Palpatif cerrahilerde mortalite %9 iken hastaların %29'unda komplikasyon geliştiği bildirilmiştir (4).

Retroperitoneal tümörlü hastalar, sinsi davranışlarından dolayı genellikle 10 cm'den daha büyük tümör ile başvururlar. Retroperitoneal tümörlerin yönetimi, büyük boyut ve anatomik konum nedeniyle genellikle zorlayıcıdır. Doğrudan tümöre dahil organlar rezeksiyona dahil edilir. Çalışmamız, rezeksiyonun tam yapılmasının lokal rekürrens ve hayatta kalma oranını önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymuştur. Literatürde tümörün tamamen çıkarılmasının önemi defalarca vurgulanmıştır (5-8).

Ultrasonografi, retroperitoneal kitlelerin tespiti, lokalizasyonu, kistik ve solid natürü, komşu vasküler yapılarla ilişkisi gibi bilgilerle tanıya yardımcıdır. BT ve MRG incelemeler kitlenin ağırlıklı köken aldığı lokalizasyonu, uzanımları, vaskülaritesi, lokal invazyon bulguları, uzak organ metastazı, mevcut böbrek dokusunun fonksiyonu, varsa vasküler tromboz durumu gibi bulgularla evreleme olanağı sağlar, cerrahi tedaviye yön verir (9). Bu incelemeler yağ doku içeriği, kalsifikasyon içeriği, kistik bileşen varlığı gibi kitle natürünün belirlenmesinde ve hastaya yaklaşımda klinik açıdan ayırıcı tanı listesini daraltır.

Tümörün rezüdü kalmaksızın komple eksizyonu, tek küratif yöntemdir (10). Tümör tamamen çıkarılırsa, prognoz genellikle iyi ve iyileştirici olur. Bu yüzden en önemli prognostik faktör, kitlenin tümüyle çıkarılmasıdır. Ancak histolojik açıdan olgunlaşmış tümörün malign bir klinik seyir izlemesi mümkün olduğu için, bu hastalarda dikkatli takip gereklidir (11). Takipte kontrol AFP, ultrason, şüpheli olgularda kontrastlı tomografi klinisyeni aydınlatacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Liles JS, Tzeng CW, Short JJ, Kulesza P, Heslin MJ. Retroperitoneal and intra-abdominal sarcoma. Curr Probl Surg 2009;46(6):445-503.

2. Lewis JJ, Leung D, Woodruff JM, Brennan MF. Retroperitoneal soft-tissue sarcoma: analysis of 500 patients treated and followed at a single institution. *Ann Surg* 1998;228(3):355-65.
3. Karakousis CP, Velez AF, Gerstenbluth R, Driscoll DL. Resectability and survival in retroperitoneal sarcomas. *Ann Surg Oncol* 1996;3(2):150-8.
4. Yeh JJ, Singer S, Brennan MF, Jaques DP. Effectiveness of palliative procedures for intra-abdominal sarcomas. *Ann Surg Oncol* 2005;12(12):1084-9.
5. An JY, Heo JS, Noh JH, Sohn TS, Nam SJ, Choi SH, et al. Primary malignant retroperitoneal tumors: analysis of a single institutional experience. *Eur J Surg Oncol* 2007;33(3):376-82.
6. Xu YH, Guo KJ, Guo RX, Ge CL, Tian YL, He SG. Surgical management of 143 patients with adult primary retroperitoneal tumor. *World J Gastroenterol* 2007;13(18):2619-21.
7. Huelman MT, Herman JM, Ahuja N. Management of retroperitoneal sarcomas. *Surg Clin North Am* 2008;88(3):583-97, vii.
8. Mussi C, Colombo P, Bertuzzi A, Coladonato M, Bagnoli P, Secondino S, et al. Retroperitoneal sarcoma: is it time to change the surgical policy? *Ann Surg Oncol* 2011;18(8):2136-42.
9. Xu Y, Wang J, Peng Y, Zeng J. CT characteristics of primary retroperitoneal neoplasms in children. *Eur J Radiol* 2010;75(3):321-8.
10. Chaudhary A, Misra S, Wakhlu A, Tandon RK, Wakhlu AK. Retroperitoneal teratomas in children. *Indian J Pediatr* 2006;73(3):221-3.
11. Jones NM, Kiely EM. Retroperitoneal teratomas--potential for surgical misadventure. *J Pediatr Surg* 2008;43(1):184-6; discussion 187.

ARAŞTIRMA YAZISI / RESEARCH ARTICLE

ROMATOİD ARTRİTTE BİLİŞSEL BOZUKLUĞUN DEĞERLENDİRİLMESİ:  
EKLEM YIKIMI VE HASTALIK AKTİVİTESİNİN BELİRLEYİCİ DEĞERİ

**EVALUATION OF COGNITIVE IMPAIRMENT  
IN RHEUMATOID ARTHRITIS: PREDICTIVE VALUE OF  
JOINT DESTRUCTION AND DISEASE ACTIVITY**

Derya GÜZEL<sup>1</sup>, Sinem SAĞ<sup>2</sup>, Mustafa Serdar SAĞ<sup>2</sup>, İbrahim TEKEOĞLU<sup>2</sup>,  
Ayhan KAMANLI<sup>2</sup>, Kemal NAS<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology, Sakarya University, Faculty of Medicine

<sup>2</sup>Division of Rheumatology, Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Sakarya University, Faculty of Medicine

**ÖZ**

**AMAÇ:** Romatoid Artrit (RA), oryantasyon, dikkat ve bellek zayıflığı gibi azalmış bilişsel işlevlere neden olur. Sunulan bu çalışmanın amacı RA'da bilişsel işlevlerin bir belirleyicisi olarak eklem yıkımını ve hastalığın diğer parametrelerini değerlendirmektir.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Bu kesitsel çalışma, 45 hasta ve 40 sağlıklı kontrol içermektedir. RA'lı hastalarda radyolojik progresyon skoru ( $\geq 0.5$ , modifiye Sharp / van der Heijde skorları- MTS'ler), 28 eklem hastalık aktivite skoru (DAS-28) ve 44 eklem hastalık aktivite skoru (DAS-44) değerlendirildi. Mini Mental Test (MMSE) ve Hastane Anksiyete Depresyon Ölçeği (HADÖ) değerlendirildi. Sonuçlar, bilişsel işlevleri belirlemek için hasta ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldı.

**BULGULAR:** MMSE skorları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ( $p=0.003$ ). RA ve kontrol grupları arasında anksiyete ve depresyon düzeyleri açısından anlamlı farklılık yoktu. MMSE skoru; hastalık süresi ( $p=0.011$ ,  $r=-0.371$ ), Sharp skoru ( $p=0.018$ ,  $r=-0.350$ ) ve DAS-28 ( $p=0.044$ ,  $r=-0.296$ ) skoru ile ilişkilendirildi. Depresyon skoru da DAS ile ilişkiliydi ( $p=0.004$ ,  $r=0.425$ ). Romatoid faktör düzeyleri, anti-siklik sitrullinat peptid düzeyleri ve bilişsel işlev testleri arasında herhangi bir ilişki bulunamadı.

**SONUÇ:** Sonuçlar, uzun süredir RA olan hastalarda inflamatuvar mediatörlere maruz kalmanın, eklemleri etkilediği sürece merkezi sinir sisteminde de bozulmaya neden olabileceğini göstermektedir. Bilişsel bozulma, hastalık şiddeti ve eklem yıkımı ile ilişkili idi. Dolayısıyla, radyografik eklem hasarı, RA'daki bu kronik süreç boyunca nöronal hasarın ve bilişsel bozulmanın boyutunu yansıtan pozitif bir ön belirteç olabilir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Romatoid artrit, Sharp skoru, Bilişsel bozulma

**ABSTRACT**

**OBJECTIVE:** Rheumatoid Arthritis (RA) cause poor cognitive functions including reduced memory, orientation and attention. The aim of the present study is to evaluate joint destruction and other parameters of disease as a predictor of cognitive functions in RA.

**MATERIAL AND METHODS:** This cross-sectional study included forty five patients and forty healthy controls. Radiological progression score ( $\geq 0.5$  the modified Sharp/ van der Heijde scores- MTSs), disease activity score of 28 joints (DAS-28) and disease activity score of 44 joints (DAS-44) were evaluated in patients with RA. Mini Mental State Examination (MMSE) and Hospital Anxiety Depression Scale (HADS) were evaluated and the results were compared between patients and control groups to determinate cognitive functions.

**RESULTS:** There was a statistically significant difference between groups in terms of MMSE scores ( $p=0.003$ ). There were no significant differences in terms of anxiety and depression levels between RA and control groups. MMSE score was correlated with disease duration ( $p=0.011$ ,  $r=-0.371$ ), Sharp score ( $p=0.018$ ,  $r=-0.350$ ) and DAS-28 score ( $p=0.044$ ,  $r=-0.296$ ). Depression score was also correlated with DAS ( $p=0.004$ ,  $r=0.425$ ). No relationship was found between Rheumatoid factor levels, anti-cyclic citrullinated peptide levels and the cognitive function tests.

**CONCLUSIONS:** The results indicate that exposure to inflammatory mediators in patients with long standing RA may lead to deterioration on central nervous system as long as affecting joints. Cognitive deterioration was correlated with disease severity and joint destruction. Thus, the radiographic joint destruction can be a positive predictor of reflecting the extent of neuronal damage and cognitive deterioration during this chronic process in RA.

**KEYWORDS:** Rheumatoid arthritis; Sharp score; Cognitive decline

**Geliş Tarihi / Received:** 06.03.2018

**Kabul Tarihi / Accepted:** 18.04.2018

**Yazışma Adresi / Correspondence:** Derya Güzel, MD  
Department of Physiology, Sakarya University, Faculty of Medicine Sakarya-Turkey  
deryaguzel@sakarya.edu.tr

## INTRODUCTION

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, autoimmune disease that causes activation of pro-inflammatory pathways, resulting in systemic inflammation (1-4). The presence of the blood-brain barrier restricts the passage of dissolved mediators and leukocytes from the periphery to the nervous system. In inflammatory conditions such as RA, the passage of leukocytes into central nervous system (CNS) facilitates and causes the formation of oxygen radicals and cytokines. In such cases, blood brain barrier functions get affected either directly or indirectly and enzymes facilitate the migration of cytokines (5).

Cognitive impairment and mood disorders is one of the most complications in RA patients. Pain, physical disability, loss of social activities are the major symptoms and all together can lead to mood disorders (6, 7). The prevalence of depression in RA patients is reported as 5% to 42% (8) and it is associated with a higher risk of suicide (9). The neurological symptoms can be as high as up to 70% when all neurological involvements are included (10, 11). Although currently increasing evidence suggests that RA significantly contributes to the pathogenesis of neuropsychiatric disorders such as depression, there is a lack of evidence about the link between disease severity, joint destruction and cognitive impairment. Furthermore, the aim of the present study is to evaluate the relationship between disease activity, severity of joint destruction and cognitive functions in patients with RA.

## MATERIALS AND METHODS

### Participants

Fourty-five RA patients (according to the 2010 ACR/EULAR Rheumatoid Arthritis diagnostic criteria) and fourty healthy controls were included (12). Study protocol was approved by the Local Ethics Committee and written consents of the participants were obtained. Patients with neurological, psychiatric, inflammatory or immunological disorders; pregnant women; antiepileptic drug users and those aged under 18 years and over 70 years were excluded.

## Assessment Measures

### -Disease outcomes:

Rheumatoid factor (RF) and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (anti-CCP) were measured by collecting each RA patients venous blood samples and results were considered positive if the level was above the cut-off values. Radiological progression score (modified Sharp/van der Heijde scores- MTSS), disease activity score of 28 joints (DAS-28) and disease activity score of 44 joints (DAS-44) were assessed in patients with RA. Demographic and descriptive data were collected.

### - Assessment of Cognitive Decline:

Self-administered scales (Mini Mental State Examination-MMSE and Hospital Anxiety Depression Scale-HADS) were administered in order to assess cognitive functions and the results were compared between rheumatoid arthritis patients and control groups.

Minimental test, which is used to determine global mental status, consists of two parts. The first part includes some questions to evaluate orientation, memory, and attention with a maximum score of 21. The second part tests ability to name, follow verbal and written commands, write a sentence spontaneously and the maximum score that can be received from this part is 9. The cut off scores was evaluated as score below 21 was abnormal for 8 th grade education; below 23 was abnormal for high school education, below 24 was abnormal for collage education (13, 14).

HADS was designed by Zigmond and Snith (15) in 1983 and is used to determine the anxiety and depression and patient experiences. It is the most appropriate tool to determine the psychological anxiety of patients with physical problems and is under the least influence of other physical ailments. The questionnaire consists of 14 questions, 7 of which relate to anxiety (HADS-A) and 7 relate to depression (HADS-D), respectively. Participants may receive a score ranged between 0-3 (0=never, 1=seldom, 2=sometimes & 3= always) from each question which indicates that each individu-

al's score on anxiety or depression might have a range of 0-21. Scores of 11 or more on the anxiety and depression subscales of this scale indicate anxiety and depression, while scores between 8 and 10 represent a borderline score and scores between 0-7 represent no depression/anxiety. The questionnaire was confirmed in relation to its validity and reliability by Montazeri et al. (16, 17).

## Statistical Analysis

All analyses were performed using a commercial software (IBM SPSS Statistics, Version 22.0.; IBM Corp., New York, USA). All continuous data were presented as the mean±standard deviation. All categorical data were presented as frequencies and percentages. Categorical variables were analyzed using Chi square test to determine significant differences between groups. The MMSE was evaluated. Correlation was established using Pearson correlation coefficient.  $p < 0.05$  was considered to be significant.

## RESULTS

### a) General characteristics and cognitive mental status of RA patients and control groups.

The study included forty five RA patients (35 female, 10 male) and forty healthy control groups (30 female, 10 male). The mean age of the RA patients was  $53.73 \pm 10.36$  years and mean age of the control group was  $53.23 \pm 13.70$  years, respectively. MMSE score was  $23.38 \pm 3.12$ , HADS-D score was  $8.93 \pm 3.72$ ; HADS-A score was  $7.98 \pm 3.88$  in patients with RA. MMSE score was  $25.62 \pm 2.95$ , HADS-D score was  $7.92 \pm 3.29$ ; HADS-A score was  $9.10 \pm 3.56$  in healthy controls. The educational level of RA patients and healthy controls were summarized in (Table 1). There were no significant differences between

**Table 1:** Comparisons of general characteristics between RA patients and control groups.

Patients Characteristics	RA (n=45)	Control (n=40)	p values*
Age (mean, SD)	55.73±10.36	53.23 ±13.70	0.341
Gender (n, %)			
- Female	35 (77.8%)	30 (75%)	0.776
- Male	10 (22.2%)	10 (25%)	
Educational Status (n, %)			
- No education or just primary studies	31 (68.9%)	26(65%)	0.759
- Secondary school	10 (22.2%)	11 (27.5%)	
- High school and university	4 (8.9%)	3 (7.5%)	

\*: There were no significant differences between the groups in terms of mean age, educational status or gender distribution ( $p > 0.05$ ).

the groups in terms of mean age, educational status or gender distribution ( $p > 0.05$ ).

### b) Sociodemographic attributes and clinical features of RA patients and control groups.

Serum RF value was positive in 55.6% and Anti-CCP value was positive in 53.3% of patients with RA. Twenty-two (48.9%) patients have no comorbidity. Co-morbidity's characteristics are summarized in (Table 2).

**Table 2:** Disease characteristics and medications data of RA patients

Patients Characteristics	n=45	%*
Serum Rheumatoid Factor (RF)		
- RF Positive	25	55.6
- RF Negative	20	44.4
Anti-Cyclic Citrullinated Peptide (anti-CCP)		
- Anti-CCP Positive	24	53.3
- Anti-CCP Negative	21	46.7
Comorbidity		
- Hypertension	9	20
- Diabetes	2	4.4
- Hypertension+Diabetes	2	4.4
- Thyroid Dysfunction	5	11.1
- Cardiological disorders	4	8.9
- Other	2	4.4
	1	2.2
Treatment of RA		
- csDMARD (n,%)	2	4.4
- Steroid (n,%)	2	4.4
- csDMARD+Steroid (n,%)	31	68.9
- bDMARD(n,%)	10	22.2

\* Percentages refer to the percentage of patients with data available. csDMARD: conventional synthetic disease-modifying antirheumatic drug; bDMARD: biologic DMARD.

The mean of disease duration was  $10.62 \pm 9.49$  years in RA patients. Disease activity scores (DAS-28 and DAS-44) and Total Sharp Score of these patients are also presented in (Table 3).

**Table 3:** Disease activity and radiological progression parameters of RA patients

RA Patients Characteristics (n=52)	Mean± SD	Min-Max
Disease duration (year)	10.62±9.49	0.5- 40
Disease activity score of 28 joints (DAS-28)	2.89±1.10	1.46- 5.85
Disease activity score of 44 joints (DAS-44)	3.01±1.07	1.46-5.62
Van der Heijde modified total Sharp score (MTSs)	53.24±42.88	3.00- 181.00

### c) Determination of cognitive status.

There are 30 RA patients whose mean score indicates depression and 9 patients whose test score indicates anxiety. According to MMSE



score in the reference range 18 patients have abnormal MMSE scores. There was a statistically significant difference between groups in terms of MMSE scores ( $p=0.003$ ). Test scores and comparisons are summarized for each group in (Table 4).

**Table 4:** The comparisons of cognitive status between groups

Patients Characteristics	RA (n=45)	Control (n=40)	p values
<b>Depression-related scores</b>			
- (HADS-Depressive, n, %)	30 (%66.6)	21 (%52.5)	0.267
- HADS-Normal, n, %)	15 (%33.3)	19 (%47.5)	
<b>Anxiety-related scores</b>			
- (HADS-Anxiety, n, %)	9(%20)	13(%32.5)	0.287
- HADS-Normal, n, %)	36(%80)	27 (%67.5)	
<b>Mini Mental State Examination Scores (education-adjusted)</b>			
- MMSE-Abnormal (n, %)	18(%40)	4 (%10)	0.003*
- MMSE-Normal (n, %)	27(%60)	36 (%90)	

\*: Correlation is significant at the 0.01 level (two-tailed)

#### d) Correlation of radiographic progression, disease activity with cognitive mental status in RA patients

There was a significant correlation between disease activity score-28 and depression-related scores (HADS-D) in patients diagnosed with RA ( $p=0.004$ ,  $r=0.425$ ). There was also a significant correlation between disease duration ( $p=0.011$ ,  $-r=0.371$ ), Total Sharp Score ( $p=0.018$ ,  $-r=0.350$ ) and DAS-28( $p=0.044$ ,  $-r=0.296$ ) with Mini Mental State Examination. There were no significant correlation between serum RF, anti CCP and cognitive status of the patients (Table-5)

**Table 5:** The correlations between disease outcomes and clinical scales

Patients Characteristics	Mini Mental State Examination Scores (MMSEs)	Depression-related Scores (HADS-D)	Anxiety-related Scores (HADS-D)
<b>Disease duration (years)</b>			
- p values	0.011*	0.741	0.547
- r values	-0.371	-0.051	0.066
<b>Serum Rheumatoid Factor</b>			
- p values	0.964	0.097	0.722
- r values	-0.007	0.251	0.046
<b>Anti-Cyclic Citrullinated Peptide</b>			
- p values	0.454	0.059	0.631
- r values	-0.114	0.283	0.062
<b>Disease activity score of 28 joints (DAS-28)</b>			
- p values	0.044*	0.004**	0.083
- r values	-0.296	0.425	0.262
<b>Disease activity score of 44 joints (DAS-44)</b>			
- p values	0.438	0.007**	0.657
- r values	-0.119	0.397	0.047
<b>Van der Heijde modified Total Sharp Score</b>			
- p values	0.018*	0.867	0.629
- r values	-0.350	-0.026	-0.052

\*: Correlation is significant at the 0.05 level (two-tailed).

\*\* : Correlation is significant at the 0.01 level (two-tailed).

## DISCUSSION

In present study; statistically significant difference

was found between RA groups and controls in terms of MMSE scores. There were no significant differences in terms of anxiety levels between RA and control groups. Significant negative correlation was found between Sharp score, DAS-28 and MMSE score of the patients. Disease activity scores were also correlated with HADS-D score. No relationship was found between RF levels, anti-CCP levels and cognitive function tests.

RA is a chronic inflammatory disease that suppresses the spontaneous locomotor activity, leads fatigue, and decreases the quality of life. It causes inability for daily activities, managing and planning in patients with RA (18). Although peripheral nervous system pathologies are detected widely in RA, there are many studies regarding changes in the CNS. Clinical presentation of neuropsychiatric disorders may vary from cognitive deficits to fatigue (19, 20). Simos et al., which performed with one hundred RA patients, evaluated anxiety, depression, effect of disease on daily activities and pain severity by using battery of 6 neuropsychological tests yielding 14 cognitive indices and self-reported neuropsychological tests. They found a cognitively impaired in twenty percent of RA patients and they showed a negative association between cognitive function and measures of perceived disease severity (pain level, impact of disease on daily functionality, and overall health quality). Appenzeller et al., evaluated the frequency of cognitive impairment in patients with RA and according their results cognitive impairment was detected in 30% of patients with RA and in 7.5% of healthy controls (21). The results of our study about cognitive impairment is in line with previous studies. Functional neuroimaging investigations (MRI and SPECT) used in some studies to evaluate behavioral manifestations and cognitive performances in patients affected by RA (21, 22). According to a study conducted by Bartolini M et al., impairment was found in visual-spatial tasks in 71% of the patients with RA and there was a high correlation between Ritchie and Lee index (an index for evaluation of cognitive functions) and disease severity in these patients (22). According to whole literature cognitive impairment



are more frequently observed in visual-spatial and planning functions in RA (22). Although direct comparisons among literature may not be possible due to different assessment methods used, these results underline the significance of cognitive impairment in RA. Also there are some supporting studies about RA leads cognitive decline by causing premature immunosenescence (23). According to Petersen's study, although here were no significant differences in terms of anxiety levels between RA and control groups, patients were reported more depressed, they had lower MMSE scores and logical and working memories.

Inflammatory processes are in an even more prominent condition over the years and aging present with dementia, depression and such cognitive impairment (24, 25). Most of diseases promote inflammatory process and lead to a disturbance of homeostasis. RA is a one of the chronic inflammatory disorder and its pathogenesis occurs because of genetic and environmental factors leading to innate and adaptive immune response and to systemic inflammation (26, 27). RA causes systemic inflammation and this inflammatory situation is responsible for all articular deformities especially bone and joint erosion, synovitis and other extra-articular complications such as mood disorders and poor cognitive performance (2, 24). All manifestations are associated with disease duration and severity and other comorbidities (21, 27). Radiographic scoring methods are gold standard to measure and determine deformations in RA (28). Radiographic progression in RA has been shown to happen early, and because the first erosions are more often found in the feet than in the hands (29). The best of our knowledge this is the first study using radiographic progression for assessing erosion and it is indicating a negatively significant correlation between cognitive status and erosion scores.

There is some strong evidence about changes in T-cell homeostasis that was accelerated in patients with RA. Recent studies showed that CD4+CD28-T cells express NK-cell surface receptors, which provide the ability to produce larger amounts of cytokines. They have been

implicated the rheumatoid arthritis pathogenesis (30) and they indicated that reduced memory performance was correlated with B cells and memory CD8+CD45RO+ T cells reduced (23).

Most of the studies in the literature lead to brain, spinal and peripheral nervous system involvement in patients with RA (10, 31). Clinical manifestations of neuropsychiatric symptoms can be various in these patients. Psychiatric symptoms was reported very often especially depressive manifestations occur directly (because of disease symptoms such as fatigue, pain) or indirectly (cumulative use of corticosteroids) in the literature (10). Possible causes for depression in RA include aging, disease severity, incapacity for work (11, 32). The prevalence of depression in RA may be higher than our knowledge due to there are accompanied the comorbidity and disease severity in it (11, 33). In line with the earlier studies in the literature, there was a positive correlation between DAS-44 score and depression.

According to the recently conducted studies, there is a poor cognitive performance that is frequently seen in patients diagnosed with RA. First, RA diseased by itself caused inflammation, fatigue, weight loss, insomnia and lack of appetite pain and such neuropsychiatric disorders (34). RA causes inflammation and released mediators, cytokines such as TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 and they have a major role on psychiatric disorders like depression and anxiety (35). Many studies indicate that proinflammatory cytokine causes affective disorders by impaired neurotransmitter metabolism, neuroendocrine function and regional brain activity (36, 37). Secondly; the systemic inflammation affects all the tissue, especially neural tissue (38). Animal and human studies suggest that antioxidant supplementation might be expressed as improvements in motor and cognitive behaviors (39, 40). Third; cytokines, mediators that are released from inflammatory process can pass the Blood-Brain Barrier and cause neuropsychiatric disorders. Forth; blood brain barrier functions get affected either directly or indirectly because of the inflammatory conditions and enzymes

facilitating the migration of inflammatory cells, cytokines and oxygen radicals (6, 41).

The limitation of our study is initially anti-inflammatory drugs like corticosteroids may contribute moods disorders such as depression. The other limitation is that our cross sectional study indicates that we could not rule out RA patients born with cognitive dysfunctions.

## CONCLUSION

Our results emphasized that parameters reflecting the acute process like disease activity and inflammatory markers were mostly correlated with depressive moods. However, erosion/destruction is a result of chronic process. Joint erosion was positively correlated with poor cognitive performance. For this reason, the correlation between MMSE score and joint erosion is an indicator of the chronic inflammation that seems to be more important. Because of this chronic process, the radiographic joint destruction can be a positive predictor of reflecting the extent of neuronal damage and cognitive decline in patients with RA. The findings of our study suggest that the burden of cognitive impairment in RA correlates with joint erosion and future studies should focus on identifying specific etiologic contributors to determine the link exactly.

We thank the staff members of Division of Rheumatology, Department of Physical Medicine and Rehabilitation of Faculty of Medicine at Sakarya University for their self-denying works for the treatment of patients and their support to this study.

**Funding:** No funding was received for this study.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflicts of interest.

**Ethical approval:** All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical

standards. Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

## REFERENCES

1. SCOTT D. L., WOLFE F. Huizinga TW, Rheumatoid arthritis Lancet 2010; 376: 1094-1108.
2. SÖDERLIN M. K., HAKALA M., NIEMINEN P. Anxiety and depression in a community-based rheumatoid arthritis population, Scandinavian journal of rheumatology 2000; 29: 177-183.
3. DEL GRANDE M., DEL GRANDE F., CARRINO J., BINGHAM C. O., LOUIE G. H. Cervical spine involvement early in the course of rheumatoid arthritis. Seminars in arthritis and rheumatism: Elsevier; 2014, p. 738-744.
4. HANLY J. G., FISK J. D., MCCURDY G., FOUGERE L., DOUGLAS J.-A. Neuropsychiatric syndromes in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis, The Journal of Rheumatology 2005; 32: 1459-1466.
5. WERNER L., STOVER J. C., SCHWIEGERLING J., DAS K. K. Light scattering, straylight, and optical quality in hydrophobic acrylic intraocular lenses with subsurface nanoglistenings, Journal of Cataract & Refractive Surgery 2016; 42: 148-156.
6. LAROCHELLE C., ALVAREZ J. I., PRAT A. How do immune cells overcome the blood-brain barrier in multiple sclerosis?, FEBS letters 2011; 585: 3770-3780.
7. CALDERON-GARCIDUENAS L., REED W., MARONPOT R. R., HENRIQUEZ-ROLDÁN C., DELGADO-CHAVEZ R., CALDERON-GARCIDUENAS A. et al. Brain inflammation and Alzheimer's-like pathology in individuals exposed to severe air pollution, Toxicologic pathology 2004; 32: 650-658.
8. MOTIVALA S. J., SARFATTI A., OLMOS L., IRWIN M. R. Inflammatory markers and sleep disturbance in major depression, Psychosomatic medicine 2005; 67: 187-194.
9. SHIN S. Y., KATZ P., WALLHAGEN M., JULIAN L. Cognitive impairment in persons with rheumatoid arthritis, Arthritis care & research 2012; 64: 1144-1150.
10. COVIC T., CUMMING S. R., PALLANT J. F., MANOLIOS N., EMERY P., CONAGHAN P. G. et al. Depression and anxiety in patients with rheumatoid arthritis: prevalence rates based on a comparison of the Depression, Anxiety and Stress Scale (DASS) and the hospital, Anxiety and Depression Scale (HADS), BMC psychiatry 2012; 12: 6.
11. WOLFE F., MICHAUD K. Predicting depression in rheumatoid arthritis: the signal importance of pain extent and fatigue, and comorbidity, Arthritis Care & Research 2009; 61: 667-673.
12. ALETAHA D., NEOGIT, SILMAN A. J., FUNOVITS J., FELSON D. T., BINGHAM C. O. et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative, Arthritis & Rheumatology 2010; 62: 2569-2581.
13. FOLSTEIN M. F. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician, J Psychiatr res 1975; 12: 189-198.

- 14.** CRUM R. M., ANTHONY J. C., BASSETT S. S., FOLSTEIN M. F. Population-based norms for the Mini-Mental State Examination by age and educational level, *Jama* 1993; 269: 2386-2391.
- 15.** ZAZZALI J. L., MARSHALL G. N., SHETTY V., YAMASHITA D.-D. R., SINHA U. K., RAYBURN N. R. Provider perceptions of patient psychosocial needs after orofacial injury, *Journal of oral and maxillofacial surgery* 2007; 65: 1584-1589.
- 16.** MONTAZERI A., VAHDANINIA M., EBRAHIMI M., JARVANDI S. The Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS): translation and validation study of the Iranian version, *Health and quality of life outcomes* 2003; 1: 14.
- 17.** AYDEMIR Ö., GUVENIR T., KUEY L., KULTUR S. Validity and reliability of Turkish version of hospital anxiety and depression scale, *Turk Psikiyatri Derg* 1997; 8: 280-287.
- 18.** ABEARE C. A., COHEN J. L., AXELROD B. N., LEISEN J. C., MOSLEY-WILLIAMS A., LUMLEY M. A. Pain, executive functioning, and affect in patients with rheumatoid arthritis, *The Clinical journal of pain* 2010; 26: 683.
- 19.** SIMOS P., KTISTAKI G., DIMITRAKI G., PAPASTEFANAKIS E., KOUKAS N., FANOURIAKIS A. et al. Cognitive deficits early in the course of rheumatoid arthritis, *Journal of clinical and experimental neuropsychology* 2016; 38: 820-829.
- 20.** DURES E., KITCHEN K., ALMEIDA C., AMBLER N., CLISS A., HAMMOND A. et al. "They didn't tell us, they made us work it out ourselves": Patient perspectives of a cognitive-behavioral program for rheumatoid arthritis fatigue, *Arthritis care & research* 2012; 64: 494-501.
- 21.** APPENZELLER S., BERTOLO M., COSTALLAT L. Cognitive impairment in rheumatoid arthritis, *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology* 2004; 26: 339-344.
- 22.** BARTOLINI M., CANDELA M., BRUGNI M., CATENA L., MARI F., POMPONIO G. et al. Are behaviour and motor performances of rheumatoid arthritis patients influenced by subclinical cognitive impairments? A clinical and neuroimaging study, *Clinical and experimental rheumatology* 2002; 20: 491-498.
- 23.** PETERSEN L. E., GRASSI-OLIVEIRA R., SIARAT., DOS SANTOS S. G. R., ILHA M., DE NARDI T. et al. Premature immunosenescence is associated with memory dysfunction in rheumatoid arthritis, *Neuroimmunomodulation* 2015; 22: 130-137.
- 24.** JOSEPH J. The putative role of free radicals in the loss of neuronal functioning in senescence, *Integrative physiological and behavioral science* 1992; 27: 216-227.
- 25.** BICKFORD P. Motor learning deficits in aged rats are correlated with loss of cerebellar noradrenergic function, *Brain research* 1993; 620: 133-138.
- 26.** PICERNO V., FERRO F., ADINOLFI A., VALENTINI E., TANI C., ALUNNO A. One year in review: the pathogenesis of rheumatoid arthritis, *Clin Exp Rheumatol* 2015; 33: 551-558.
- 27.** PRETE M., RACANELLI V., DIGIGLIO L., VACCA A., DAMMACCO F., PEROSA F. Extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis: an update, *Autoimmunity reviews* 2011; 11: 123-131.
- 28.** BOINI S., GUILLEMIN F. Radiographic scoring methods as outcome measures in rheumatoid arthritis: properties and advantages, *Annals of the rheumatic diseases* 2001; 60: 817-827.
- 29.** VAN DER HEIJDE D. M., LEEUWEN M. A. V., VAN RIEL P. L., KOSTER A. M., HOF M. A., RIJSWIJK M. H. V. et al. Biannual radiographic assessments of hands and feet in a three-year prospective followup of patients with early rheumatoid arthritis, *Arthritis & Rheumatology* 1992; 35: 26-34.
- 30.** GORONZY J. J., WEYAND C. M. Ageing, autoimmunity and arthritis: T-cell senescence and contraction of T-cell repertoire diversity—catalysts of autoimmunity and chronic inflammation, *Arthritis Res Ther* 2003; 5: 225.
- 31.** UGUZ F., AKMAN C., KUCUKSARAC S., TUFEKCI O. Anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  therapy is associated with less frequent mood and anxiety disorders in patients with rheumatoid arthritis, *Psychiatry and clinical neurosciences* 2009; 63: 50-55.
- 32.** JOAQUIM A. F., APPENZELLER S. Neuropsychiatric manifestations in rheumatoid arthritis, *Autoimmunity reviews* 2015; 14: 1116-1122.
- 33.** TIMONEN M., VIILIO K., HAKKO H., SÄRKIOJA T., YLIKULJU M., MEYER-ROCHOW V. B. et al. Suicides in persons suffering from rheumatoid arthritis, *Rheumatology* 2003; 42: 287-291.
- 34.** ZYRIANOVA Y., KELLY B., GALLAGHER C., MCCARTHY C., MOLLOY M., SHEEHAN J. et al. Depression and anxiety in rheumatoid arthritis: the role of perceived social support, *Irish journal of medical science* 2006; 175: 32-36.
- 35.** SÜß P., KALINICHENKO L., BAUM W., REICHEL M., KORNHUBER J., LOSKARN S. et al. Hippocampal structure and function are maintained despite severe innate peripheral inflammation, *Brain, behavior, and immunity* 2015; 49: 156-170.
- 36.** DANTZER R., O'CONNOR J. C., FREUND G. G., JOHNSON R. W., KELLEY K. W. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain, *Nature reviews neuroscience* 2008; 9: 46-56.
- 37.** SCHIEPERS O. J., WICHERS M. C., MAES M. Cytokines and major depression, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2005; 29: 201-217.
- 38.** MUHAMMED N., CAMPBELL P., SMITH I. Peripheral nerve entrapment syndromes: diagnosis and management, *British journal of hospital medicine* 1995; 53: 141-146.
- 39.** LAU F. C., SHUKITT-HALE B., JOSEPH J. A. Nutritional Intervention in Brain Aging. Inflammation in the pathogenesis of chronic diseases: Springer; 2007, p. 299-318.
- 40.** JOSEPH J. A., SHUKITT-HALE B., CASADESUS G. Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds, *The American Journal of Clinical Nutrition* 2005; 81: 313S-316S.
- 41.** MÖSSNER R., MIKOVA O., KOUTSILIERI E., SAOUD M., EHLIS A.-C., MÜLLER N. et al. Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers: biological markers in depression, *The world journal of biological psychiatry* 2007; 8: 141-174.

# TOTAL DİZ REPLASMANI UYGULANAN STERİL HAZIR TURNİKE İLE PNÖMOTİK TURNİKENİN AMELİYAT SONRASI DÖNEMDE DERİN VENTROMBOZU OLUŞUMU YÖNÜNDEN KARŞILAŞTIRILMASI

COMPARISON OF DEEP VENOUS THROMBOSIS BETWEEN USING READY TO USE STERILE  
TOURNIQUET AND PNEUMATIC TOURNIQUET AT TOTAL KNEE ARTHROPLASTY SURGERY

Tansel MUTLU, Uygur DAŞAR

Karabük Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

## ÖZ

**AMAÇ:** Total diz replasmanında kullanılan steril elastik hazır turnike ile pnömotik turnikenin ameliyat sonrası dönemde gelişebilen derin ven trombozu oluşumuna etkisini incelemek ve sonuçlarını bildirmek.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** 2005-2012 yılları arasında total diz replasmanında (TDR) uygulanan 754 hasta çalışmaya alındı. Hasta sayısı, cinsiyet ve ağırlıkları göz önünde bulundurularak 2 ayrı grup oluşturuldu. 1. gruptaki 377 vakaya pnömotik turnike, 2. gruba aynı sayıda hazır steril turnike kullanıldı. Her iki grup pıhtılaşmayı etkileyen biyokimyasal değerler yönünden incelendi. Pıhtılaşmaya etkileyen ilaç kullanımı, faktör eksikliği, geçirilmiş derin ven trombozu veya riskine sahip hastalar çalışmaya alınmadı. Tüm hastalara aynı cerrahi grup tarafından operasyon gerçekleştirilmiş olup ortalama operasyon süresi 60,2±4,12 (45-100) dakika olarak tespit edildi. Tüm hastalar ortalama 19,5±2,18 (10-28) saat sonra mobilize edildi, motor blok bitiminde ayak fleksiyon-ekstansiyon hareketleri uygulandı. Hastalar ortalama 5,14±0,92 (3-9) gün hospitalize edildi. Taburcu sonrası 1-4. haftalarda kontrole çağrıldı. Bu süre zarfında hastalar derin ven trombozu açısından klinik ve ultrasonografik olarak alt ekstremitte venöz doppler tetkiki uygulandı. Derin ven trombozu (DVT) pozitif olan hastalara Kardiyovasküler cerrahi tarafından tedavi başlandı.

**BULGULAR:** İncelenen 754 hasta içinde 165'inde (%21.8) DVT tespit edildi. Bunlardan 1. grupta 124 (%32.8) 2. grupta ise 41(%10.8) di. Pulmoner emboli 21 (%2.7) hastada teşhis edilirken 1. grupta 19 (%5) 2. grupta ise sadece 2 (%0.5) hastada saptandı. İki grup DVT ve pulmoner emboli gelişimi açısından anlamlı bulundu. (p<0.05). Her iki grupta incelenen demografik özellikler benzerdi.

**SONUÇ:** Pnömotik turnike uygulanması esnasında alt ekstremitede yaklaşık 30-40 cm lik bir segmentte sirküler kompresif güçlere bağlı spazm oluşmaktadır, buna karşılık hazır steril turnikedeki bu genişlik yaklaşık 2 cm dir. Etki altında kalan segment uzunluğu arttıkça damar intimasında olası hasarlanma nedeniyle venöz tromboz riskinin artabildiği görülmektedir. Hazır steril turnikelerin DVT açısından daha az riskli olduğu görülmektedir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Steril turnike, total diz artroplastisi, derin ven trombozu

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** We aimed to compare the incidence of deep vein thrombosis (DVT) after total knee arthroplasty with the use of sterile elastic tourniquet and the pneumatic tourniquet.

**MATERIAL AND METHODS:** From 2005 to 2012, 754 patients undergoing Total knee prosthesis (TKP) were included in this study. Two groups have been formed considering patient number, sex and weight. At the first group, 377 patients have been operated using pneumatic tourniquet. Sterile tourniquet was also used in 377 patients at the second group. Both groups were evaluated for biochemical tests which related to clotting.

Patients showing preoperative DVT or receiving anticoagulants were excluded. Patients with known factor deficiency were also excluded from this study. All patients were operated by same surgeon group and mean operation time was 60 (45-100) minutes. All of the patients were mobilised after 19 (10-28) hours. Ankle flexion and extension exercises was performed after following motor block. Mean hospitalization time was 5 (3-9) days. Patients were controlled in the first and fourth weeks after discharge from the hospital. During this time, patients have been evaluated with clinical findings and lower extremity doppler ultrasonography for DVT. Patients who had developed DVT, have been treated by cardiovascular surgery department.

**RESULTS:** 165 (21.8%) of the 754 patient had DVT. 124 (32.8%) of these patients was in the first group and 41 (10.8%) was in the second group. 21 (2.7%) patients had pulmonary embolism, 19 (5%) patients were in the first group and 2 (0.5%) of these were in the second group. We observed a significant difference between the groups, with a frequency of DVT and pulmonary embolism. (p<0.05). Demographic characteristics were similar in both groups.

**CONCLUSIONS:** When pneumatic tourniquet was used, spasms had been developed in 30-40 centimeter segment at lower extremity because of circular compressive forces. On the other hand, this segment was only two centimeters when sterile tourniquet was preferred. When affected segment was larger, increasing venous thrombosis risk were shown because of venous intima damage. We thought that the use of a sterile tourniquet decreased the incidence of DVT.

**KEYWORDS:** Sterile tourniquet, Total knee arthroplasty, Deep venous thrombosis

Geliş Tarihi / Received: 01.10.2017

Kabul Tarihi / Accepted: 28.05.2018

Yazışma Adresi / Correspondence: Tansel MUTLU

Karabük Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı  
tanselmumlu@yahoo.com



## GİRİŞ

Turnike, ekstremitte ameliyatlarında kanama kontrolü amaçlı, 1878 de Dr. Esmark ile kullanıma girmiş ve o günden günümüze çeşitlendirilmiş ve geliştirilmiştir. Total diz replasmanında (TDR) sıklıkla turnike kullanılarak yapılan bir ameliyattır. Hatta yakın tarihli bir araştırma, Amerikan kalça ve diz cerrahları birliği üyelerinin % 95' inin TDR için bir turnike kullandığını bildirmiştir (1). Günümüzde TDR ameliyatlarında yaygın olarak kullanılan iki çeşit turnike ön plana çıkmaktadır. Bunlardan ilki Dr. Cushing tarafından 1908 yılında geliştirilen pnömotik turnike (PT) ikincisi, geçmişi 10 yıl öncesine dayanan silikon halka turnike (SRT) (hemaclear veya s-mart, ohkmedical devices, haifa, israil) dir.

SRT nin klinik kullanıma girmesinin ardından birçok yazar bu iki turnikeyi birçok parametreyi baz alarak ameliyat esnasında ve ameliyat sonrasında karşılaştırmış ve sonuçlarını yayınlamıştır. Kliniğimizde son zamanlarda SRT kullanımına geçilmiş olup PT yerine SRT tercih etmemizde arteriyel akım okluzyonu sağlama-sı, opere ekstremitede insizyon alanı dışındaki sahada steril duvar oluşturma-sı ve opere ekstremitedeki kanın uzaklaştırılmasını (eksangu-nasyon) sağlama-sı etken olmuştur (2). Yapılan çalışmalarda DVT oluşumu açısından çalışmaya rastlanmamaktadır. DVT ve ilişkili patoloji olan pulmoner emboli TDR sonrası mortalitesi ve morbiditesi yüksek riskli komplikasyonlardır. Bu amaçla TDR de uygulanan SRT ile PT arasında DVT yönünden ilişki olup olmadığını araştırarak, DVT ve pulmoner emboliyi azaltan yöntemi bulmayı amaçladık.

## GEREÇ VE YÖNTEM:

Etik Kurul Onayı: Çalışmamız Karabük Üniversitesi girişimsel olmayan klinik araştırmalar etik kurul onayı almış olup sözlü bilgilendirme sonrası yazılı onam alınan hastalarla yapılmıştır.

Prospektif kohort olarak yapılan araştırmamız çalışmaya dahil edilen hastaların operasyon günü ve üç ay sonrasına kadar olan sürede, haftalık poliklinik takipleriyle elde edilen verilerin toplanmasıyla oluşmuştur. Hastaların çalışmaya alınma kriteri, kliniğimizde TDP

ameliyatı geçirmeleriydi. Bu hastalar içinde DVT riski taşıyan (3), daha önce serebrovasküler olay geçiren, vasküler ve kan hastalıklarına sahip ve pıhtılaşma sürecine etki eden ilaç kullanım öyküsü olan, sigara kullanan hastalar çalışmaya alınmadı. Bu kriterler doğrultusunda 2005-2012 yılları arasında TDP uygulanan 754 hasta çalışmaya dahil edildi.

Hastalara ameliyat öncesi tam kan sayımı, kan biyokimyası, pıhtılaşma profilleri, elektrokardiyografi, diz ve göğüs radyografisi tetkikleri yapıldı. Tüm hastalara vücut kitle indeksine bakıldı. Hastalar ameliyat masasına supin pozisyonda yatırıldı. Ameliyat öncesi sistolik basınçları ölçüldü ve pnömatik turnike için uygulanacak ekstremitte en az 3 dakika yükseltildikten sonra sistolik basıncın 100 mmhg üstü uygulandı (4,5). Ameliyat sonrasında hastalara hemovac dren yerleştirildi, jones bandajı yapıldı. Postoperatif 10. güne kadar 60 mg enoksaparin sodyum subkutan uygulandı, vücut kitle endeksi fazla olan hastalarda doz artırımı yapıldı. Tüm hastalar ortalama 19,5 (10-28) saat sonra mobilize edildi, motor blok bitiminde ayak fleksion-ekstansiyon hareketleri uygulandı, fizyoterapist eşliğinde post-operatif bir gün quadriceps egzersizleri yapıldı. Hemovac drenler, postoperatif 1. gününde çıkarıldı. Profilaktik antibiyoterapi 1 gr sefazolin ile sağlandı. Postoperatif antibiyotik olarak 8 saat ara ile 1 gr sefazolin üç gün boyunca uygulandı. Oral günlük 3000 cc sıvı tüketene kadar intravenöz hidrasyon uygulandı. Hastalar ortalama 5,14±0,92 (3-9) gün hospitalize edildi. Çalışmaya alınan hastalar haftalık poliklinik kontrolüne çağırıldı. Bu kontrollerde hastalar DVT açısından değerlendirildi ve 15-20. Günlerde venöz dopler usg ile değerlendirildi. Ağrılı şişlik, homans işareti pozitifliği, ciltte renk değişikliği, dizde efüzyonu müspet olanlar 5 gün ara ile daha sık takibe alındı ve faktör eksikliği yönünden kan değerlerine bakıldı. DVT pozitif olan hastalara kalp damar cerrahi tarafından tedavi başlandı. Riskli hastalar 3 ay boyunca haftalık poliklinik kontrolüne çağırıldı. Her kontrolde DVT riski klinik açıdan değerlendirildi. Pulmoner emboli düşünülen hastalara ise multi-rowdedektör pulmoner anjiyografi BT yapıldı.

## BULGULAR

Tüm hastaların operasyonunu aynı cerrahi grup gerçekleştirdi ve ortalama operasyon süresi 60,2 (100-45) dakika olarak tespit edildi. Her iki gruptaki olguların %4'üne genel anestezi %75'ine kombine spinal-epidural ve %21'ine spinal anestezi uygulandı 1. gruptaki vakaların %35'i bilateral TDR ameliyatı olup , pnömotik turnike uygulandı, 2. grubun %32'si bilateral TDR ameliyatı olup hazır steril turnike kullanıldı.

Gruplar	Sodyum	Potasyum	Kalsiyum	Bun	Kreatinin	ALT	AST	Vücut
	136-146 mmol/L	3,5-5,5	8,4-10,2	7,9 - 21	0,81	- 0 -45 U/L	0 - 35 U/L	Kitle indeksi
I	140,3±2,3	4,34±0,3	8,61±0,31	16,43±2,2	9,22±1,15	38,16±5,71	31,73±7,16	29,67±4,8
II	139,4±2,8	4,29±0,2	8,82±0,36	15,24±1,8	9,39±1,67	41,32±3,43	32,12±6,21	28,52±5,3
Pdeğeri	p>0,921	p>0,938	p>0,856	P>0,904	P>0,895	P>0,683	P>0,909	p>0,91

Hemogram değerleri her iki grup arasında fark bulunmadı

Gruplar	Wbc	Hemogram	Trombosit	Inr	Ptz	Ptt	Crp	Sedimentasyon
	X 1000		X 100.000	08-1,1	10-14	30-40	0-7	0-20
				saniye	saniye			
I	7,45±1,2	10,13±1,4	112,34±15,7	9,1±0,8	11,6±1,1	36,5±3,9	6,1±1,1	22,1±7,34
II	7,29±2,1	9,92±2,1	118,54±13,2	8,9±0,7	12,1±1,2	34,7±4,1	5,7±1,7	24,6±8,9
Pdeğeri	P>0,813	p>0,714	p>0,891	p>0,838	p>0,876	p>0,731	p>0,789	p>0,677

Riskli hastalardan 1. grupta 4, 2. Grupta ise 5 hastada metilen tetrahidrofolat redüktaz geninde homozigot mutasyon tespit edildi, iki grup arasında anlamlı fark yoktu (p<0,005)

TDR de pnömatik turnike kullanımı ve SRT kullanımına göre hastalar iki gruba ayrıldı. Hasta sayısı, cinsiyet ve ağırlıkları göz önünde bulundurularak 2 ayrı grup oluşturuldu.1. gruba pnömatik turnike ile yapılan TDR hastaları dahil edilirken 2. gruba SRT ile ameliyat edilen TDR hastaları alındı. Ortalama yaş her iki grupta 61(47-86) idi. Her iki grupta 188 erkek hasta ve 189 bayan hasta bulunmaktaydı (**Tablo 1**).

**Tablo 1:** Pnömatik turnike uygulanan grup (1.grup) ile SRT uygulanan grubun (2.grup) özellikleri

GRUP	ERKEK	BAYAN	YAŞ	BOY	KİLO (kg)	BMI	BACAK (ORT)
1.GRUP	188	189	61±10,8	166±10,73	83±15,27	29±4,53	56±13,57
2.GRUP	188	189	63±14,3	172±13,26	86±13,6	31±3,52	58±11,47
Total	376	378	61	170	84,67	29,57	57,61

Araştırmaya katılan 754 hasta içinde 165 (%21.8) hastada DVT tespit edildi. 1. gruptaki 124 (%32.8) hastada DVT teşhis edildi, 2. grupta ise bu sayı 41 (%10.8) hastaya geriledi. Yine araştırmaya katılan 21 (%2.7) hastada pulmoner emboli teşhis edilirken 1. grupta 19 (% 5) hastada pulmoner emboliye rastlandı. 2. gruptakiler de ise sadece 2 (%0.5) hastada pulmoner emboli saptandı. 2 grup DVT ve pulmoner emboli gelişimi açısından değerlendirildiğinde gruplar arasındaki farklar anlamlı bulundu. (p<0.05) (**Tablo 2**). Elektrokardiografiye göre 2 grup arasında patolojik bulgulara ve normal sınırlara göre benzer bulgular vardı. (p>0,692) Diz grafilerinde patolojik bulgu görülen 17 hasta çalışmadan sonuçları etkileyebilme olasılığına karşı çıkarılmıştır. Anterior posterior çekilen akciğer radyografisine göre 2 hastada akciğer karsinomu ve 5 hastada KOAH ön tanısı ile çalışmadan çıkarıldı.

**Tablo 2:** Pnömatik turnike uygulanan grup (Grup 1) ile SRT uygulanan grupta (Grup 2) DVT ve pulmoner emboli görülme oranları

	Grup 1	Grup 2	p değeri
DVT	124 (%32,8)	41 (%10,8)	<0,05
Pulmoner emboli	19 (% 5)	2 (% 0,5)	<0,05

## TARTIŞMA

TDR sonrasında DVT insidansı batı toplumlarında %72 (%50-%72) iken postoperatif pulmoner emboli oranı %1.3 olarak bildirilmiştir (6-7). Hong Kong'da 15 yıllık bir dönem boyunca geriye dönük postmortem bir çalışmada, Asya popülasyonlarında bildirilen serilerde DVT görülme sıklığı %2.6' dan %76.5'e, pulmoner emboli insidansı %0.58' den % 2.08' e yükselmiştir (8-9). Araştırmamızda ise DVT görülme oranı %21.8, pulmoner emboli görülme oranı ise %0.5 dir. Bu oranlar batı toplumlarıyla kıyaslandığında daha düşük gözükmeyle birlikte teşhis için kullanılan yöntemler bu oranlarda etkili olmaktadır.

Travma, immobilizasyon ve cerrahi operasyonlar DVT için predispozan faktörler olmakla birlikte oluşan trombusun embolizasyonunda mekanik stresler rol oynamaktadır. TDR de bu streslerden biri de turnike kullanımımızdır (11). Parmet ve ark. hastalarda turnike kullanımının, turnike kullanılmayan TDR ye kıyasla emboli riskini 5.33 kat arttırdığını rapor etmişlerdir (12).



Turnikenin basınç uygulaması ve basıncının sona ermesinden hemen sonra meydana gelen pulmoner emboli atakları, basınç artması sırasında oluşan pulmoner embolide, turnike şişirildiğinde ekstremitelerde turnike bölme basıncının artmasıyla açıklanır ve bu trombozu çıkarmak için yeterli olabilir. Turnike basınç uygulaması sonlandıktan sonra pulmoner emboli oluştuğunda genel varsayım, bir venöz staz döneminin lokal tromboz ile ve bunu takiben embolizasyon ile sonuçlanmasıdır (13). Bu mekanizmalara ek olarak turnike; venöz staza, direkt travma yoluyla endotel hasarına ve kalsifiye kan damarlarının olası hasarlarına neden olmaktadır. Zahavi ve ark. turnike kullanımından kaynaklanan iskeminin, plazma beta-tromboglobülin ve plazma tromboksan-b2 düzeylerini artırdığını ve böylece TDR uygulanan hastalarda tromboz riskinin arttırdığını bildirmiştir (14). Katsumata ve ark. TDR sırasında turnike kullanımına bağlı, nötrofil elastazın nötrofillerden lokal olarak salınmasını ve buna reaktif oksijen türevleri eşlik etmesi neticesinde DVT gelişimi, pulmoner emboli ve doku hasarı oluştuğunu belirtmişlerdir (15). Bu nedenlerden dolayı ameliyatta tercih edilen turnike çeşidi DVT ve pulmoner emboli gelişiminde önemli bir yer tutmaktadır.

SRT yeni bir ürün olup kullanımı pnömatik turnikeye göre daha kolay, daha hızlı ve arteriyel okluzyon etkisi daha başarılıdır. Steril halka proksimale yuvarlanarak uygulandığı için başarılı bir exangunasyon sağlar. Önemli başka bir avantajı da SRT nin pnömatik turnikeye göre daha ince bir alana etki etmesidir (11). Bu nedenle daha az endotel hasarı ve daha az nötrofil elastaz salınımını sağlayarak DVT riskini ve pulmoner emboli riskini azaltacaktır.

Çalışmamızda gruplar DVT ve pulmoner emboli gelişimi açısından değerlendirildiğinde aradaki farklar anlamlı bulundu. ( $p < 0.05$ ) Brin Y.S ve arkadaşları 145 hastada pnömatik turnike kullanarak TDR yapmış ve 1 olguda DVT tespit etmiş, 166 hastada ise SRT kullanarak TDR ameliyatı yapmış olup 2 olguda DVT tespit etmişlerdir (16). Bu sonuçlar bizim araştırmamıza zıt gibi gözükse de bu çalışmada

DVT tanısı için yapılan tetkik ve hastaların DVT açısından takip edilmediği ile ilgili bir veri bulunmadığından istatistiksel olarak anlamlı olmadığını düşünüyoruz. Çalışmamızda DVT teşhisinde sensitivitesi %94, spesifitesi %98 olan renkli dopler ultrasonografi (RDUS) yi kullandık. Tekrarının kolay olması, iyonizan radyasyon kullanılmaması, noninvaziv ve ucuz bir yöntem olması nedeniyle bu yöntemi tercih ettik. Günümüzde DVT teşhisi için en yaygın tetkik olarak RDUS kullanılsa da, tanıda altın standart olarak venografi kabul edilmektedir. Biz invaziv ve ağırlı olması, uygulamanın zor olması, iyonizan radyasyon kullanılması, tekrarının kolay olmaması nedeniyle venografiyi tercih etmedik.

Pnömotik turnike uygulanması esnasında alt ekstremitelerde yaklaşık 30-40 cm lik bir segmentte sirküler kompresif güçlere bağlı spazm oluşmaktadır, buna karşılık hazır steril turnikedeki bu genişlik yaklaşık 2 cm dir. Etki altında kalan segment uzunluğu arttıkça damar intimasında olası hasarlanma nedeniyle venöz tromboz riski arttığından, hazır steril turnikelerin DVT açısından daha az risk taşıdığı kanatındeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Berry DJ, Bozic KJ. Current practice patterns in primary hip and knee arthroplasty among members of the American association of hip and knee surgeons. *J Arthroplasty* 2010; 25(6 Suppl):2-4.
2. Norman D, Greenfield I, Ghayeb N, et al. Use of a new exsanguination tourniquet in internal fixation of distal radius fractures. *Tech Hand Up Extrem Surg* 2009;13(4):8.
3. Silverstein MD, Heit JA, Mohr DN, et al. Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a 25-year population-based study. *Arch Intern Med.* 1998;158(6):585-93.
4. David H. Green. *Green's Operative Hand Surgery*. Ed.3 Vol: 1, New York: Churchill-Livingstone, 1993: 5-11.
5. Shaw JA, Murray DG. The relationship between tourniquet pressure and underlying soft-tissue pressure in the thigh. *J Bone Joint Surg Am.* 1982;64(8):1148-52
6. Barnes RW, Nix ML, Barnes CL, et al: Perioperative asymptomatic venous thrombosis: role of duplex scanning versus venography. *J Vasc Surg* 1989;9:250-61.
7. Woolson ST. The resolution of deep venous thrombosis that occurs after total joint arthroplasty. A study of thrombi treated with anticoagulation and observed by repeat venous ultrasound scans. *Clin Orthop* 1994;299:86-91.

8. Cheng KK, Lai ST, Yu TJ, et al. Postoperative deep vein thrombosis in the Taiwanese Chinese population. *Am J Surg* 1987;153:302–5.
9. Nandi P, Wong KP, Wei WI, et al. Incidence of postoperative deep vein thrombosis in Hong Kong Chinese. *Br J Surg* 1980;67:251–3.
10. Chau KY, Yuen ST, Ng TK, et al. An autopsy study of pulmonary thromboembolism in Hong Kong Chinese. *Pathology* 1991;23:181–4.
11. Feldman V, Biadsi A, Slavin O, et al. Pulmonary Embolism After Application of a Sterile Elastic Exsanguination Tourniquet. *Orthopedics*. 2015;38(12):e1160-3.
12. Parment JL, Horrow JC, Berman AT, et al. The incidence of large venous emboli during total knee arthroplasty without pneumatic tourniquet use. *Anesth Analg* 1998, 2(87):439–444.
13. Desai S, Prashantha PG, Torgal SV, et al. Fatal pulmonary embolism subsequent to the use of Esmarch bandage and tourniquet: a case report and review of literature. *Saudi J Anaesth*. 2013; 7(3):331-335.
14. Zahavi J, Price AJ, Westwick J, et al. Enhanced in-vivo platelet release reaction, increased thromboxane synthesis, and decreased prostacyclin release after tourniquet ischaemia. *Lancet* 1980; 8196(2):663–667.
15. Katsumata S, Nagashima M, Kato K, et al. Changes in coagulation-fibrinolysis marker and neutrophil elastase following the use of tourniquet during total knee arthroplasty and the influence of neutrophil elastase on thromboembolism. *Acta Anaesthesiol Scand* 2005; 4(49):510–516.
16. Brin YS, Feldman V, Ron Gal I, et al. The Sterile Elastic Exsanguination Tourniquet vs. the Pneumatic Tourniquet for Total Knee Arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2015;30(4):595-9

KADMIYUMA MARUZ BIRAKILAN DİYABETİK RATLARA ALFA LİPOİK ASİT VE İNSÜLİN UYGULANMASININ  
OLASI DÜZENLEYİCİ ETKİLERİ

**POSSIBLE REGULATORY EFFECTS OF APPLICATION OF ALPHA LIPOIC ACID AND  
INSULIN AGAINST CADMIUM EXPOSED DIABETIC RATS**

Neşe KILIÇ<sup>1</sup>, Fahrettin AKYÜZ<sup>1</sup>, Neslihan TEKİN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Eskisehir Osmangazi University

<sup>2</sup>Department of Biotechnology and Molecular Biology, Faculty of Science and Letters, Aksaray University

**ÖZ**

**AMAÇ:** Kadmiyuma (Cd) çevresel maruziyet hiperglisemi ve azalmış serum insülini ile ilişkilidir. Bu çalışma, Cd'ye maruz kalmış diyabetik ratlarda Lipoik Asit (LA) ve insülinin glikolitik enzimler, karaciğer marker enzimleri ve lipidler üzerindeki etkilerini değerlendirmek için tasarlanmıştır.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Erkek Wistar sıçanları 7 gruba ayrıldı (n = 8). Gruplar kontrol, diyabetik kontrol, diyabet + CdCl<sub>2</sub>, diyabet + insülin, diyabet + CdCl<sub>2</sub> + insülin, diyabet + CdCl<sub>2</sub> + LA ve diyabet + CdCl<sub>2</sub> + insülin + LA gruplarından oluştu. Tip 1 diyabet, 6 gruba intraperitoneal (i.p.) streptozotosin (STZ) (65 mg / kg) enjeksiyonu ile indüklendi. İnsülin (4 IU/kg/gün), insülin ile tedavi edilen gruplara subkutan (s.c.) verildi. CdCl<sub>2</sub> (1,2 mg/kg/gün), CdCl<sub>2</sub> ile tedavi edilen gruplara s.c. verildi. LA (100 mg/kg/gün), LA ile tedavi edilen gruplara i.p. verildi. CdCl<sub>2</sub> ve insülin tedavisi, intraperitoneal STZ enjeksiyonundan 2 gün sonra başlatıldı ve 3 hafta sürdürüldü. Serum glukoz, AST, ALT, ALP, BUN, LDL, HDL ve TG düzeyleri, tam kan HbA1c düzeyi ve karaciğer heksokinaz (HK), piruvat kinaz (PK) ve Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPaz aktivitesi değerlendirildi.

**BULGULAR:** Diyabetik grupta serum glukoz, HbA1c, TG, LDL, AST, ALT, ALP ve BUN düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu, ancak HDL daha düşüktü. Diyabetik kontrol grubu karaciğer dokusunda Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPaz, HK ve PK aktivitesi azaldı. Diyabetik + CdCl<sub>2</sub> ve Diyabetik+İnsülin+CdCl<sub>2</sub> gruplarında karaciğerde PK, HK ve Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPaz aktivitesi arttı. İnsülin ve LA ile tedavi edilen gruplarda HK, PK ve Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPaz aktivitelerinde diyabetik kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artış saptandı.

**SONUÇ:** Bu sonuçlar insülin ve LA uygulamasının Cd ve STZ'nin neden olduğu karaciğer hasarına karşı etkili bir terapötik müdahale olabileceğini düşündürmektedir.

**ANAHTAR KELİMELE:** Lipoik asit, Kadmiyum, Heksokinaz, Piruvat kinaz, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPaz

**ABSTRACT**

**OBJECTIVE:** Environmental exposure to the cadmium (Cd), is associated with hyperglycemia and reduced serum insulin. This investigation was planned to assess the effects of Lipoic Acid (LA) and insulin on glycolytic enzymes, liver marker enzymes and lipids in Cd exposed diabetic rats.

**MATERIAL AND METHODS:** Male Wistar rats were separated into 7 groups (n=8 in each group). Groups were designed as control, diabetic control, diabetic + CdCl<sub>2</sub>, diabetic + insulin, diabetic + CdCl<sub>2</sub> + insulin, diabetic + CdCl<sub>2</sub> + LA, and diabetic + CdCl<sub>2</sub> + insulin + LA groups. Type 1 diabetes was established by intraperitoneal (i.p.) injection of streptozotocin (STZ) (65 mg/kg) into 6 groups. Insulin (4 IU/kg/day) was given subcutaneously (s.c.) to insulin treated groups. CdCl<sub>2</sub> (1,2 mg/kg/day) was given s.c. to CdCl<sub>2</sub> treated groups. LA (100 mg/kg/day) was given i.p. to LA treated groups. CdCl<sub>2</sub>, LA, and insulin treatment were started 2 days after intraperitoneal STZ injection and continued for 3 weeks. Serum glucose, AST, ALT, BUN, LDL, HDL, and TG levels and liver hexokinase (HK), pyruvate kinase (PK), whole blood HbA1c level, and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activity were evaluated.

**RESULTS:** In diabetic group, serum glucose, HbA1c, TG, LDL, AST, ALT, ALP, and BUN levels were higher than control, but HDL was lower. In liver tissue, activities of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase, HK and PK activities were decreased in diabetic control group. PK, HK and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activities were increased in liver in diabetic+CdCl<sub>2</sub> and Diabetic+Insulin+CdCl<sub>2</sub> groups. An increase was determined in activities of HK, PK, and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase in insulin and LA treated groups compared with diabetic control group.

**CONCLUSIONS:** These results suggest that application of insulin and LA could be an effective therapeutic intervention against liver injury caused by Cd and STZ.

**KEYWORDS:** Lipoic acid, Cadmium, Hexokinase, Pyruvate kinase, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase

**Geliş Tarihi / Received:** 18.05.2018

**Kabul Tarihi / Accepted:** 20.06.2018

**Yazışma Adresi / Correspondence:** Asst. Prof. Neslihan Tekin

Department of Biotechnology and Molecular Biology, Faculty of Science and Letters, Aksaray University, Aksaray, Turkey  
neslihan\_tekin@hotmail.com

## INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM) is one of the toughest health problems of the 21st century and influences 347 million people in the world. It is expected that this number will increase gradually and diabetes will be the 7th top reason of death worldwide in 2030.

DM is a multifaceted metabolic illness, characterized by hyperglycemia and impaired carbohydrate, protein and lipid metabolism resulting from failure in insulin action, insulin secretion or both (1). This change in the metabolism of energy molecules is due to alterations in the activities of enzymes or proteins included in glucose metabolism or in the transport of target tissues, for example muscle, liver, and adipose. Therefore, these main enzymes and proteins are significant control points in glucose homeostasis (2). The most prominent feature of diabetes is associated with abnormal glucose metabolism because of insulin deficiency. It has been revealed that the activities of the enzymes in the glycolytic and pentose phosphate pathways are reduced, while the activities of the glycogenolytic and gluconeogenic pathways are increased. For the protection of normoglycemia, coordinated regulation and integration of various metabolic pathways containing gluconeogenesis and glycolysis are required (3).

Cadmium (Cd) is a toxic transition metal considered by the Agency for Toxic Substances and Disease Registry as one of the most dangerous environmental pollutants. In the non-occupational community, the main sources of Cd intoxication are drinking water, contaminated food items and smoking tobacco. Cd is regarded greatly toxic and is increasingly bioaccumulated in organism with a biological half-life in people, which is estimated in decades (4). Chronic exposure to Cd results in metal accumulation in tissues and organs, especially in the liver and kidney and causes many histological and metabolic changes, altered gene expression, membrane damage, and apoptosis (5). Cd toxicity is furthermore connected to changing of redox state and antioxidant system of cells, lipid

peroxidation, altered expression of various proteins, and modification in protein structure (6). Epidemiologic studies indicate a positive association between high blood glucose levels and occurring of diabetes when exposed to environmental Cd. When exposed to cadmium, damage to the pancreas, liver, adrenal gland, and adipose tissue occurs. As a result of this, altered glucose uptake and/or glucose metabolism results in an increase in blood glucose. In studies, it has been shown that Cd increased hyperglycemia and nephrotoxicity in experimentally induced diabetic animals. It has also been shown in these studies that Cd decreases insulin levels and has direct cytotoxic efficacy on the pancreas (5, 7).

Type 1 diabetic patients are dependent on exogenous insulin (8). Treatment with insulin provides effective glycemic control but causes such as short shelf life, constant cooling requirement, ineffectiveness on oral administration and lethal hypoglycaemia in case of overdose limit the use of insulin (9). In recent times, an increasing concern has led to the return of traditional and alternative medicines that take the place of synthetic in the treatment of diabetes. The results obtained in the previous report clearly demonstrate that in addition to traditional antidiabetic therapy, antioxidant therapy would be beneficial (10). In this context, a series of bioactive molecules contained within vegetables, fruits, food components, and other natural resources are being continually investigated for their direct or indirect utility in inhibiting and/or administration of diabetes (3).

Lipoic acid (LA), or 1,2-dithiolane-3- pentanoic acid, is a naturally consisting dithiol substance, essential for the functions as a cofactor for some mitochondrial enzymes, cause the manufacture of ATP. It is known that LA has strong antioxidant potency and is influential in both oxidative stress inhibition and management in a number of models or clinical conditions, including diabetes (11). LA is a powerful compound with amphipathic properties, is capable of extinguishing free radical, chelating metal and regenerating other antioxidants (6).

As previous investigation, exposure to Cd is increasing depending on the development of industry and urbanization. On the other hand, there is connection with Cd exposure and diabetes as previous reports (4). Some research has demonstrated that the application of exogenous antioxidants can be supportive therapy to treat diabetes in mammals (11). In light of the above insight, the object of our study was to explore the potential influence of insulin and LA which is an antioxidant that has been clinically tested as a treatment for diabetes, against the Cd exposure in type I diabetic rats.

## MATERIALS AND METHODS

### Animals

Male Wistar rats (3-4 months old; 250-300 g) were preserved under controlled conditions of temperature and humidity, with free access to water and food. The rats were obtained from Eskisehir Osmangazi University Experimental Research Center. They were maintained on a reversed 12:12 h light:dark cycle with temperature at  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ .

**Ethical approval:** This intervention was approved by the Animal Care and Use Committee (Ethical number: 932009), Faculty of Medicine, Eskisehir Osmangazi University.

### Induction of diabetes and experimental design

Fifty six rats were separated into 7 main groups of 8 rats each (**Table 1**). Diabetes was induced in 6 group rats ( $n = 48$ ) by i.p. injection of 65 mg/kg STZ (Sigma–Aldrich, St Louis, MO) in pH 4.5 sodium citrate buffer. Eight rats were injected with buffer, which used as a healthy control. Two days after treatment with STZ, blood glucose levels of overnight fasting rats were monitored in samples obtained from the tail vein of rats using accutrend strips. Rat whose blood glucose levels exceeded 12 mM were considered diabetic (12). Insulin (4 IU/day) was given s.c. to the rats for 3 weeks after 2 days the injection of STZ. The rats were administered with CdCl<sub>2</sub> (1,2 mg/kg/day, s.c.) and LA (100 mg/kg/day, i.p.) for five times a week during 3 consecutive weeks after 2 days the injection of STZ (**Table 1**).

**Table 1:** Experimental groups, administered substances with the amounts and applications

Experimental Groups (n=8)	Applications
Control Group	sodium citrate buffer (i.p.)+ Physiological Saline (s.c)
Diabetic Control	STZ (65 mg/kg, i.p.) + Physiological Saline (s.c)
Diabetic+Insulin	STZ (65 mg/kg, i.p.) + Insulin (4 IU/day, s.c.)
Diabetic +CdCl <sub>2</sub>	STZ (65 mg/kg, i.p.) + CdCl <sub>2</sub> (1,2 mg/kg/day, s.c.)
Diabetic +Insulin+CdCl <sub>2</sub>	STZ (65 mg/kg, s.c.) + Insulin (4 IU/day, s.c.) + CdCl <sub>2</sub> (1,2 mg/kg/day, s.c.)
Diabetic +CdCl <sub>2</sub> +Lipoic Acid	STZ (65 mg/kg, i.p.) + CdCl <sub>2</sub> (1,2 mg/kg/day, s.c.) + Lipoic Acid (100 mg/kg/day, i.p.)
Diabetic +CdCl <sub>2</sub> +Insulin+Lipoic Acid	STZ (65 mg/kg, i.p.) + CdCl <sub>2</sub> (1,2 mg/kg/day, s.c.) + Insulin (4 IU/day, s.c.) + Lipoic Acid (100 mg/kg/day, i.p.)

### Sample preparations

At the end of the experimental period, rats were killed by cervical dislocation following ketamine and xylazine anesthesia. Blood was collected by cardiac puncture, before the cervical dislocation. Blood samples were separated into two different tubes, one tube for biochemical analysis in serum and the other tube which is containing EDTA for the measurement of HbA1c. Serum was collected after 3500g centrifugation at  $4^\circ\text{C}$  for 10 min to determine glucose, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP), blood Urea Nitrogen (BUN), low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), and triglyceride (TG) levels. The other whole blood samples were used for HbA1c analysis. Liver tissue samples were cleaned using an ice-cold solution of isotonic NaCl at ice cold for the removal of bloody spots, and then they were dried with blotting paper. Liver tissue were separated into three parts for determine the enzyme activities and kept at  $-80^\circ\text{C}$  until analysis.

### Determination of Biochemical Parameters

Serum glucose, AST, ALT, ALP, BUN, LDL, HDL, and TG levels were measured with a Roche Diagnostic Modular Analyser using Cobas Roche/Hitachi kit and expressed as mg/dL, U/L, U/L, U/L, mg/dL, mg/dL, mg/dL, and mg/dL, respectively. HbA1c level was measured via Cobas Roche/Hitachi kit via Hitachi 911 Modular Analyzer and specified as %.



### Determination of Hexokinase Activity

To determine the hexokinase (HK) activity, liver tissues were homogenized in 3 mM sodium phosphate buffer (containing 5 mM EDTA and 5 mM  $\beta$ - mercaptoethanol, pH 7.0) and centrifuged at 30000 g for 30 min (13). HK activity was measured spectrophotometrically by the method described by Beutler (14). Protein content was determined using the Biuret method (15). Results were expressed as units per milligram protein.

### Determination of Pyruvate Kinase Activity

To determine the PK activity, liver tissues were homogenized in 50 mM Tris HCl buffer (containing 0,1 mM EDTA, pH 7.6) and centrifuged at 8000 g for 30 min (16). PK activity was assayed by the method described by Beutler (14). Protein content was determined using the Biuret method (15). Results were specified as units per milligram protein.

### Determination of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase Activity

To determine Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activity, liver tissues were homogenized in 10 mM Tris HCl buffer (containing 1 mM EDTA and 0,25 M sucrose, pH 7.6) and centrifuged at 20000 g for 20 min (17). The activities of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase was assayed by the method described by Matteucci (12, 18). Protein content in the tissue homogenate was determined using the Biuret method (15). Results were specified as units per milligram protein.

### Statistical analysis

Statistical Package for Social Sciences version 15.0 software was used for statistical analysis. Statistical differences between control and experimental groups were determined by one-way analysis of variance followed by Tukey post hoc comparison test. Data are presented as mean  $\pm$  SD. A p values less than 0.05 were found as statistically significant.

## RESULTS

### Serum glucose, HbA1c, and BUN levels

The glucose, HbA1c, and BUN levels were significantly elevated in the diabetic control in comparison with the control group ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ). Glucose level was significantly increased in the serum of diabetic control compared with the other groups ( $p < 0.001$ ). Glucose level was decreased diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin+LA groups when compared to the diabetic+insulin group ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$ ). The HbA1c levels were significantly increased in the diabetic control group in comparison with the diabetic+insulin, diabetic+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA, and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin+LA groups ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ). The HbA1c level was decreased diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA group when compared to the diabetic+insulin group ( $p < 0.01$ ). BUN levels in diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin+LA groups were significantly lower than diabetic group ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ,) (**Table 2**).

**Table 2:** Serum glucose, HbA1c, creatinine, and BUN levels (mean  $\pm$  SD)

	Glucose(mg/dL)	HbA1c(%)	BUN(mg/dL)
Control	147 $\pm$ 11,6	3,76 $\pm$ 0,28	20 $\pm$ 2,26
Diabetic control	532 $\pm$ 32,4**	6,55 $\pm$ 0,21**	36,38 $\pm$ 3,54**
Diabetic+Insulin	388 $\pm$ 18,2***	6,08 $\pm$ 0,29**	33,38 $\pm$ 4,50**
Diabetic + CdCl <sub>2</sub>	456 $\pm$ 28,9***	6,11 $\pm$ 0,23**	38,75 $\pm$ 1,23**
Diabetic + Insulin+CdCl <sub>2</sub>	416 $\pm$ 50,9***	5,80 $\pm$ 0,24***	32 $\pm$ 4,69**
Diabetic + CdCl <sub>2</sub> +LA	123 $\pm$ 15,2***aa	5,52 $\pm$ 0,31***aa	29 $\pm$ 4,10**
Diabetic + Insulin+CdCl <sub>2</sub> +LA	333 $\pm$ 37,8***a	5,70 $\pm$ 0,20***	26,13 $\pm$ 2,47***aa

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.001$ ; (compared to control)

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$  (compared to diabetic control)

\*  $p < 0.05$ ; aa  $p < 0.01$ ; aaa  $p < 0.001$  (compared to Diabetic+Insulin)

\*\*\*  $p < 0.05$ ; (compared to Diabetic+Insulin+CdCl<sub>2</sub>)

### Serum AST, ALT, and ALP levels

We determined increased AST ( $p < 0.001$ ), ALT ( $p < 0.001$ ), and ALP ( $p < 0.001$ ) levels in all experimental groups when compared to control group. We found increased AST ( $p < 0.001$ ) and ALT ( $p < 0.001$ ) levels in the diabetic+CdCl<sub>2</sub> group when compared to the other experimental groups. CdCl<sub>2</sub> treatment significantly increased the AST levels in diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA groups when compared to diabetic control group ( $p < 0.001$ ). AST level was lower in diabetic+insulin than diabetic control,



diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA, and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin+LA groups ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ). We determined increased ALT levels ( $p < 0.001$ ) in the diabetic control group when compared to the diabetic+insulin, diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA, and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin+LA groups ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ). The ALT level was decreased in both diabetic+insulin and diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub> groups as compared with the diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin+LA groups ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ). We found increased ALP levels ( $p < 0.001$ ) in the diabetic control group when compared to the other experimental groups. The ALP level was also higher in diabetic+CdCl<sub>2</sub> group than in diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub> and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin+LA groups ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ) (**Table 3**).

**Table 3:** Serum AST, ALT, and ALP levels (mean  $\pm$  SD)

	AST(U/L)	ALT(U/L)	ALP(U/L)
Control	142 $\pm$ 4.4	51 $\pm$ 6.9	278 $\pm$ 29.9
Diabetic control	231 $\pm$ 5.6*	158 $\pm$ 13.5*	2126 $\pm$ 43.4*
Diabetic+Insulin	216 $\pm$ 3.2 <sup>+</sup> **	116 $\pm$ 3.9 <sup>+</sup> **	1922 $\pm$ 72.6 <sup>+</sup> **
Diabetic+CdCl <sub>2</sub>	510 $\pm$ 9.1 <sup>+</sup> **	194 $\pm$ 5.8 <sup>+</sup> **	1688 $\pm$ 63.4 <sup>+</sup> **
Diabetic+Insulin+CdCl <sub>2</sub>	236 $\pm$ 10.4 <sup>+</sup> ***	126 $\pm$ 4.7 <sup>+</sup> ***	1271 $\pm$ 45.8 <sup>+</sup> ***
Diabetic+CdCl <sub>2</sub> +LA	360 $\pm$ 9.0 <sup>+</sup> ***	71 $\pm$ 4.8 <sup>+</sup> ***	1626 $\pm$ 72.7 <sup>+</sup> **
Diabetic+Insulin+CdCl <sub>2</sub> +LA	226 $\pm$ 8.6 <sup>+</sup> ***	85 $\pm$ 5.1 <sup>+</sup> **	1308 $\pm$ 81.8 <sup>+</sup> **

\*  $p < 0.001$  (compared to control)

<sup>+</sup> $p < 0.01$ ; <sup>+</sup> $p < 0.001$  (compared to diabetic control)

\*\* $p < 0.001$  (compared to Diabetic+CdCl<sub>2</sub>)

\*\*\* $p < 0.001$  (compared to Diabetic+Insulin)

<sup>+</sup> $p < 0.001$  (compared to Diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA)

### Serum LDL, HDL, and TG levels

The LDL and TG levels were significantly elevated in the diabetic control group in comparison with the control group ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$ ). We determined increased TG level in the diabetic control group when compared to the diabetic+insulin, diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA, and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin+LA groups ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ).

We found decreased LDL level in the diabetic+insulin group when compared to

diabetic+CdCl<sub>2</sub> and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA groups ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ). The HDL level was decreased in the diabetic control group in comparison with the control group ( $p < 0.001$ ). We determined decreased HDL level in the diabetic+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA, and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin+LA groups when compared to the diabetic control group ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ) (**Table 4**).

**Table 4:** Serum LDL, HDL, and TG levels (mean  $\pm$  SD)

	LDL(mg/dL)	HDL(mg/dL)	TG(mg/dL)
Control	7.25 $\pm$ 1.03	39.5 $\pm$ 1.85	64 $\pm$ 3.06
Diabetic control	11.75 $\pm$ 1.66 <sup>***</sup>	33 $\pm$ 1.92 <sup>***</sup>	75 $\pm$ 3.02*
Diabetic+Insulin	7.50 $\pm$ 0.92 <sup>+++a</sup>	34.13 $\pm$ 1.80 <sup>+++a</sup>	226 $\pm$ 5.99 <sup>+++</sup>
Diabetic+CdCl <sub>2</sub>	9.75 $\pm$ 0.70 <sup>+++</sup>	25.63 $\pm$ 1.40 <sup>+++*</sup>	62 $\pm$ 3.10 <sup>#</sup>
Diabetic+Insulin+CdCl <sub>2</sub>	7.88 $\pm$ 1.35 <sup>a</sup>	26.63 $\pm$ 1.68 <sup>+++*</sup>	202 $\pm$ 12.95 <sup>+++</sup>
Diabetic+CdCl <sub>2</sub> +LA	9.38 $\pm$ 0.51 <sup>+++*</sup>	26.25 $\pm$ 1.49 <sup>+++*</sup>	44 $\pm$ 3.19 <sup>+++</sup>
Diabetic+Insulin+CdCl <sub>2</sub> +LA	7.75 $\pm$ 0.88 <sup>+++aa</sup>	24.5 $\pm$ 1.77 <sup>+++*</sup>	71 $\pm$ 4.14 <sup>+++</sup>

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$  (compared to control)

<sup>+</sup> $p < 0.05$ ; <sup>+</sup> $p < 0.01$ ; <sup>+</sup> $p < 0.001$  (compared to diabetic control)

<sup>+</sup> $p < 0.05$ ; <sup>+</sup> $p < 0.01$ ; <sup>+</sup> $p < 0.001$  (compared to Diabetic+CdCl<sub>2</sub>)

<sup>#</sup> $p < 0.05$ ; <sup>#</sup> $p < 0.001$  (compared to Diabetic+Insulin)

<sup>+++</sup> $p < 0.001$  (compared to Diabetic+Insulin+CdCl<sub>2</sub>)

### Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase, hexokinase, and pyruvate kinase activities in liver

The liver Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activity was decreased in the diabetic group and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin+LA group when compared to the control group ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$ ) (**Table 5**). The Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activity was higher in diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub> and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA groups than in control group ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ). We determined increased Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activity in the diabetic+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA, and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin+LA groups when compared to the diabetic group ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ). The Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activity was decreased in diabetic+insulin group as compared with the diabetic+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA, and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin groups ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ). Activity of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase was decreased in the diabetic+CdCl<sub>2</sub> group in comparison with the diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA, and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin groups ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ) (**Table 5**).

We determined decreased HK activity in the diabetic control group when compared to the control group ( $p < 0.001$ ). The HK activity was lower in diabetic control group when compared

to the other groups ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ). HK activity was lower in diabetic+insulin group than diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA, groups ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ) (**Table 5**).

**Table 5:** Liver HK, PK, and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase activities (mean  $\pm$  SD)

	Hexokinase Activity (U/mg protein)	Pyruvate Kinase Activity (U/mg protein)	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPase Activity (U/mg protein)
Control	5.79 $\pm$ 0.32	0.122 $\pm$ 0.006	0.791 $\pm$ 0.06
Diabetic control	1.74 $\pm$ 0.23***	0.097 $\pm$ 0.005***	0.641 $\pm$ 0.08***
Diabetic+Insulin	3.27 $\pm$ 0.12***	0.126 $\pm$ 0.006*	0.696 $\pm$ 0.08
Diabetic+CdCl <sub>2</sub>	3.26 $\pm$ 0.16***	0.111 $\pm$ 0.008**,-,###	0.826 $\pm$ 0.06-,,+
Diabetic+Insulin+CdCl <sub>2</sub>	3.97 $\pm$ 0.20***,-,++	0.147 $\pm$ 0.006-,-,###,###	0.995 $\pm$ 0.06***,-,###,###
Diabetic+CdCl <sub>2</sub> +LA	7.90 $\pm$ 0.25***,-,###	0.095 $\pm$ 0.005***,-,###,###	1.130 $\pm$ 0.04***,-,###,###
Diabetic+Insulin+CdCl <sub>2</sub> +LA	2.44 $\pm$ 0.13***,-,###	0.101 $\pm$ 0.004***,-,###,###	0.678 $\pm$ 0.07*

\* p<0.05; \*\* p<0.01; \*\*\* p<0.001 (compared to control)

\*P<0.001; (compared to diabetic control)

\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001 (compared to Diabetic+CdCl<sub>2</sub>)

\*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001 (compared to Diabetic+Insulin)

\*p<0.05 (compared to Diabetic+Insulin+CdCl<sub>2</sub>)

The PK activity decreased in diabetic+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA, and diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub>+LA group when compared to the control group ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ). We determined increased PK activity in the diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub> group when compared to the control group ( $p < 0.001$ ). The PK activities increased in diabetic+insulin, diabetic+CdCl<sub>2</sub>, and diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub> groups as compared with diabetic+CdCl<sub>2</sub> ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ). The PK activities were significantly increased in the diabetic+insulin group in comparison with the diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA, and diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin+LA groups ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ) (**Table 5**).

## DISCUSSION

There is little information about the evolution and complications of metabolic disorders caused by modern environmental health hazards. Cd has in recent times appeared as a most important concern not only in environmental toxicology but also in metabolic illnesses like diabetes and its complications (19). In the current study, we explored the possible ameliorative effects of combine administration of LA and insulin against experimental Cd exposed diabetic rats. For this reason, serum levels of lipids, liver marker enzymes, liver HK, PK, and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activities were evaluated in this study.

STZ was used in our study for induction of experimental diabetes in rats. STZ-induced diabetes is caused by the specific destroy of the pancreatic islet  $\beta$ -cells leading insulin deficiency and hyperglycaemia. The mechanism involved in the induction of STZ induced diabetes is related to the excessive production of free radical causing toxicity in pancreatic cells which decreases the release and the synthesis of insulin, while influencing organs for example, kidney, hematopoietic system, and liver (20). In our study, the blood glucose levels of diabetic rats increased. Increased glucose level is mainly the outcome of the disruption of either peripheral or liver tissues to metabolize glucose and the activation of gluconeogenesis in the kidney and the liver (21).

On the other hand, epidemiological studies show that there is a positive relationship among exposure to environmental pollutants Cd and the frequency and intensity of diabetes. In experimental studies, it has been determined that Cd application caused the diabetogenic effects in both acute and subchronic exposure model (22). For instance, in one study, Cd was shown to elevate plasma glucose levels when compared non-fasted rats (22, 23). Additionally, Cd has been demonstrated to aggravate diabetic hyperglycemia. In the alloxan-induced diabetic animals exposed to cadmium, the fasting blood glucose level was found to be 4-fold higher, whereas in the alloxan-alone-treated animals only a 2-fold increase was detected (22, 24). In a distinct research study operating STZ-induced diabetic animals, determined that fasting blood glucose levels were 5 fold upper in the diabetic animals. In this study, no additional effect on blood glucose levels was observed in diabetic rats given Cd with drinking water for 75 days (22, 25). On the contrary, in our study, the level of glucose decreased in Cd treated diabetic rats according to the diabetic group. In some studies, blood glucose reduction was detected in Cd-administered groups (26). Some studies have also presented that heavy metals can reduce the glycogen reserves in fish and invertebrates by affecting the activities of enzymes involved in carbohydrate metabolism. It has been stated that the reduction in blood glucose may be due to a decrease in the liver glycogen concentration

or impairment of intestinal glucose absorption (27). This might suggest that Cd may alter blood glucose levels and glycogen reserves by affecting the activities of liver enzymes involved in carbohydrate metabolism such as gluconeogenesis and glycolysis.

Significant reductions in serum glucose levels were observed after LA was administered in studies performed (28). Gradually the ability of different LA formulas to enhance glucose uptake and glycogen synthesis in both in vitro and animal models has been tested. The molecule tries to improve insulin sensitivity by increasing glucose uptake and modulating signal transduction (29).

Early research has shown that LA increases insulin sensitivity and ameliorates impaired glucose tolerance. When rats are given LA, insulin-stimulated glucose transport increases throughout the body and skeleton (30). Numerous mechanisms have been suggested to demonstrate the hypoglycemic effect of LA, such as the inhibition of hepatic gluconeogenesis, the accelerated use of glucose by peripheral tissues through the translocation of glucose carriers in plasma membranes, autophosphorylation of insulin receptors and increased insulin sensitivity due to the oxidation of thiol groups in the beta subunit of the insulin receptor by the oxidized form of LA. It has also been reported that LA decreases the gluconeogenic enzyme activities, thereby lowering blood glucose and stimulating glycolysis (28). In this study, LA treatment decreased the glucose level. This might propose that LA can be inhibit harmful effect of STZ on blood glucose. Our outcomes support that antioxidant supplementation has a positive effect in regeneration of pancreatic islet cells, increasing insulin release and reducing blood glucose concentration in STZ-induced diabetic rats. On the other hand, glucose level was decreased in diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA group compared to the diabetic+CdCl<sub>2</sub>+Insulin+LA group. According to these data, the administration of LA alone has been shown to have a more beneficial effect than the combination with insulin.

In general, glycosylated hemoglobin (HbA<sub>1c</sub>), advanced glycation end products formation, elevated blood glucose levels, decreased insulin levels, and body weight loss are characterized by STZ-induced diabetes. HbA<sub>1c</sub> values were reported to be close to normal after insulin treatment. Also, it was reported that LA treatment reduced blood glucose and HbA<sub>1c</sub> levels (31). It was found that HbA<sub>1c</sub> increased in diabetic condition and the quantity of increase was directly proportional to the fasting blood glucose level (32). We determined increased HbA<sub>1c</sub> level in all experimental groups when compared to control group. According to the diabetic control group, there was a significant reduction in diabetic+insulin, diabetic+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub>, diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA, and diabetic+insulin+CdCl<sub>2</sub>+LA groups.

DM is usually related to irregular lipid metabolism. Hyperlipidemia is a complication associated with hyperglycemia in diabetics and is characterized by changes in TG's, C, and lipoproteins (33). The current work showed important increase in the TG and LDL levels and important decrease in the HDL level in the diabetic group compared to the control rats. Our study is compatible with other studies which show abnormal lipid pattern in diabetic subjects, suggesting the reasonableness of our results.

With the administration of LA to groups, the levels of serum TG and LDL were reduced; however, no improvement in HDL in this group was observed which was comparable with diabetic group. As in our study, other studies have reported lipid lowering effects of LA. LA can improve lipid profile through decreasing hydroxymethyl-glutaryl-Co-A reductase activity, and/or by increasing lecithin cholesterol acyl transferase and lipoprotein lipase activities. Also LA may normalize blood and liver TG by inhibition of hepatic lipogenic gene expressions and stimulation of TG-rich lipoproteins clearance. Recently It has been proposed that probably through activation of AMP-activated protein kinase, LA causes blocking of acetyl-CoA carboxylase, leading to enhanced mitochondrial fatty acid  $\beta$ -oxidation

(34). As another mechanism, it has been postulated that LA, by its anti-inflammatory functions, may downregulate the endothelial lipase, which could result in improvement of HDL levels (35).

Numerous experimental and epidemiological researches further propose that chronic exposure of Cd and STZ induced changes of lipid metabolism leads to diabetic nephropathy (36). TG level was lower in diabetic+CdCl<sub>2</sub> group as compared to diabetic control groups. The values of our work are compatible with other studies (37). However, LDL was lower for diabetic+CdCl<sub>2</sub> group as compared to diabetic control group.

During the impairment of carbohydrate metabolism, the liver and kidneys also play vital roles in the glucose metabolism of diabetic rat. Clinically, several enzymes and substance levels are used as biochemical markers for early diagnosis of diabetes and its complications, including AST, ALT, and BUN. In our study, rats displayed liver damage as revealed by noticeably raised enzymatic activities of serum ALT and AST indicating that diabetes can cause liver damage (38). Also, increased serum analysis of BUN level in diabetic rats has been used to reflect the impaired physical status of the kidney. On the other hand, application of Cd to diabetic rats increased the AST and ALT levels. Once Cd is taken up by the cells, it induces oxidative stresses, inflammation, and lipid peroxidation thus causing liver damage (39). From our work, the administration of insulin, LA and insulin+LA to Cd exposed diabetic rats had significant effects on the suppression of ALT and AST activities as well as BUN level in serum, suggesting that insulin and LA had potential protective effects against Cd and STZ-toxicity to the liver and kidneys (38). This might be dealing with the curative influence of insulin and LA on blood glucose levels. These results propose that LA may be an influential therapeutic application against liver damage caused by Cd and STZ.

The liver is an insulin sensitive tissue that has an important role in glucose metabolism by regulating the interplay among glucose usage

and gluconeogenesis. A partial or total lack of insulin production decreases PK, HK, and glucose-6-phosphate dehydrogenase activity and causes degradation of glucose metabolism, leading to disturbed peripheral glucose utilization and increased hepatic glucose production (40).

In general, elevated glucose production, reduced glycolysis and hepatic glycogen synthesis appear to be a consequence of low HK and high glucose-6-phosphatase activities in the diabetic state (33). HK is the first key enzyme of the glycolytic pathway that catalyzes the phosphorylation of glucose for its activation to glucose-6-phosphate. (41). The restoration of HK activity may play a role in normalizing glucose levels. Insufficient HK activity in diabetic state could cause reduced usage of glucose for energy manufacture. (33). Some studies have shown a decrease in HK activity in the diabetes group compare to the control (42, 43). In experimental diabetes, a relative insulin deficiency causes a decrease in the activity of this enzyme (41). In our study, decreased HK activity was determined in STZ-induced rats. This might be because the cells are not getting enough insulin. Furthermore, hepatic HK is an inducible enzyme and its synthesis is directly or indirectly induced by insulin. Glucose phosphorylation in the liver is reduced in diabetics and it returns to its normal value by insulin therapy (44). We observed increased HK activity from insulin treated groups. The significant increase in HK activity in our study indicated that the efficiency of insulin in glycemic control. Researchers have found that Cd affects the mechanisms or rates of action of certain enzymes by activation, inactivation, ligand-releasing reactions, or by mechanisms that are not yet known (26). Cd exposure has also been shown to increase carbohydrate metabolism in the liver (45). In the study performed by Sastry et al., HK activity decreased after administration of 96 hours, 60 and 120 days of Cd in the liver, while activity increased at 15 and 30 days of exposure (27). In accordance with this, in our work, HK activities were higher in Cd applied groups when compared with diabetic control group. The LA and insulin treated Cd exposed diabetic rats



displayed increased HK activity that may cause activation of glycolysis and elevate the usage of glucose for energy manufacture. We have supplied new evidence that LA can make better glucose metabolism through the modulation of glycolytic enzymes such as HK. This work further suggested that the modest increase in HK activity in the liver improves glucose metabolism and support glucose homeostasis. PK irreversibly catalyses the transfer of the phosphoryl group from phosphoenolpyruvate to ADP, forming pyruvate and ATP. Its altered activity in the course of diabetic states may be expected to reduce the metabolism of glucose and ATP production. Thus, the reduction in PK activity in the liver of STZ-induced diabetic rats is responsible for decreased glycolysis and enhanced gluconeogenesis, indicating that these two pathways are distorted in diabetes. (40). In our work, in accordance with this, the activity of PK was reduced in liver tissue of diabetic control group. However, administration of insulin improved the activity of PK. It can be suggested that diabetic rats treated with insulin could increase glucose utilization by increasing the activity of PK. The finding proposed that the insulin was ameliorating the glucose metabolism by elevate the use of glucose. On the other hand, researcher reported that Cd has been shown to increase PK activity depending on dose. As their report the activation of PK was seen after adrenergic stimulation associated with  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  modifier activity in vertebrate erythrocytes. Cd-stimulated signal pathways are similar to those seen after hormone treatment in the cell (46). Similarly, in our study, Cd treated group demonstrated a net increase in PK activity in liver. This increase suggests that liver cells change with Cd administration and require more energy to maintain metabolic balance. According to these results, our study had also showed that the levels of PK activity in liver was not affected from the LA treatment.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase is a membrane-bound enzyme necessary for the active transport of diverse ions, and are very sensitive to free radical reactions. These enzyme is very sensitive to structural alterations caused by lipid peroxidation. (47). The activity of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase in STZ-induced

diabetic animals is reduced in many tissues. (48). In our work, a decrease in  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity was detected in STZ induced diabetic rats. Reduced liver  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity may cause in the decrement of physiological function of liver tissue. However, these outcomes suggest that high glucose levels may cause a decrease in  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity. In a study by Carageorgiou et al.,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity was found to be increased due to long-term administration of Cd. It has been reported that metal ions can activate  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity in both short and long term exposures. As a consequence, they have indicated that the possible mechanism of chronic adaptation induced by Cd may have developed (49). Also, in our study, treatment with Cd elevated the  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity in liver. Insulin stimulates the  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity. It is known that insulin causes translocation of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase from intracellular area to the surface of the cell. Many interventions have demonstrated that insulin directly improves  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity in liver, skeletal muscle, kidney, lymphocytes, and adipocytes many other cells and organs (50). Similarly, in our study, Diabetic+CdCl<sub>2</sub>+insulin group showed increased  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity compared with diabetic and Diabetic+CdCl<sub>2</sub> groups. When cells were treated with insulin, the toxic effects of STZ and Cd were abolished, proposing the insulin ameliorates cell degenerations and modulate of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity. Treatment with LA significantly increased the  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity in Diabetic+CdCl<sub>2</sub>+LA group. LA may be preventing the inhibition of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity by causing detoxification of free radicals (47).

The mechanism by which LA affects our measured parameters may involve maintaining membrane integrity or preventing the accumulation of oxidative compounds generated as metabolic by-products in the liver cell. As a result, we can postulate that LA and insulin have a curative influence in Cd exposed diabetic liver tissue, may be owing to regulation of glycolytic enzymes and lipids via antioxidant mechanism and reduction of tissue injury.

## REFERENCES

1. Moodley K, Joseph K, Naidoo Y, Islam S, Mackraj I. Antioxidant, antidiabetic and hypolipidemic effects of *Tulbaghia violacea* Harv. (wild garlic) rhizome methanolic extract in a diabetic rat model. *BMC Complement Altern Med* 2015; 17;15:408.
2. Atangwho JJ, Yin KB, Umar MI, Ahmad M, Asmawi MZ. *Vernonia amygdalina* simultaneously suppresses gluconeogenesis and potentiates glucose oxidation via the pentose phosphate pathway in streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Complement Altern Med* 2014; 30;14:426.
3. Srinivasan S, Sathish G, Jayanthi M, Muthukumaran J, Muruganathan U, Ramachandran V. Ameliorating effect of eugenol on hyperglycemia by attenuating the key enzymes of glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem* 2014;385(1-2):159-68.
4. Treviño S, Waalkes MP, Flores Hernández JA, León-Chavez BA, Aguilar-Alonso P, Brambila E. Chronic cadmium exposure in rats produces pancreatic impairment and insulin resistance in multiple peripheral tissues. *Arch Biochem Biophys* 2015; 1;583:27-35.
5. Singh PK, Baxi D, Diwedi R, Ramachandran AV. Prior cadmium exposure improves glucoregulation in diabetic rats but exacerbates effects on metabolic dysregulation, oxidative stress, and hepatic and renal toxicity. *Drug Chem Toxicol* 2012;35(2):167-77.
6. Lobato RO, Nunes SM, Wasielesky W, et al. The role of lipoic acid in the protection against of metallic pollutant effects in the shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2013;165(4):491-7.
7. Edwards JR, Prozialeck WC. Cadmium, diabetes and chronic kidney disease. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2009; 238(3):289-93.
8. Szkudelski T, Szkudelska K. Anti-diabetic effects of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci*. 2011 Jan;1215:34-9.
9. Abdulrazaq NB, Cho MM, Win NN, Zaman R, Rahman MT. Beneficial effects of ginger (*Zingiber officinale*) on carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Br J Nutr* 2012;108(7):1194-201.
10. Saravanan G, Ponmurugan P, S-allylcysteine Improves Streptozotocin-Induced Alterations of Blood Glucose, Liver Cytochrome P450 2E1, Plasma Antioxidant System, and Adipocytes Hormones in Diabetic Rats. *Int J Endocrinol Metab* 2013;1;11(4):e10927.
11. Al-Rasheed NM, Al-Rasheed NM, Attia HA, et al. Adverse cardiac responses to alpha-lipoic acid in a rat-diabetic model: possible mechanisms?. *J Physiol Biochem* 2013;69(4):761-78.
12. Tekin N, Akyüz F, Temel HE. NO levels in diabetes mellitus: Effects of l-NAME and insulin on LCAT, Na(+)/K(+) ATPase activity and lipid profile. *Diabetes Metab Syndr* 2011;5(4):191-5.
13. Gahr, M. Isoelectric focusing of hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase isoenzymes in erythrocytes of newborn infants and adults. *Br J Haematol* 1980;46(4), 529–535.
14. Beutler E, Blume KG, Kaplan JC, Löhr GW, Ramot B, Valentine WN. International Committee for Standardization in Haematology: Recommended Methods for Red-Cell Enzyme Analysis. *Br J Haematol* 1977; 35(2): 331–340.
15. Kingsley FGR. The direct biuret method for the determination of serum proteins as applied to photoelectric and visual colorimetry. *J Lab Clin Med* 1942; 27:840-845.
16. Yilmaz S, Karahan D, Kandemir FM. Effects of Some Nitrosamines on Pyruvate Kinase Activity in Tissues of Rats. *Firat Üniv Sağlık Bil Derg* 2008;22(3):163–168.
17. Schweitzer JB, Smith RM, Jarett L. Differences in organizational structure of insulin receptor on rat adipocyte and liver plasma membranes: Role of disulfide bonds. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980;77(8):4692-4696.
18. Matteucci C, Cocci FF, Pellegrini L, Gregori G, Giampietro O. Measurement of ATPases in red cells: setting up and validation of a highly reproducible method. *Enz Protein* 1995;48:115–9.
19. Anetor JI, Uche CZ, Ayita EB, et al. Cadmium Level, Glycemic Control, and Indices of Renal Function in Treated Type II Diabetics: Implications for Polluted Environments. *Front Public Health* 2016;13;4:114.
20. Schmatz R, Perreira LB, Stefanello N, et al. Effects of resveratrol on biomarkers of oxidative stress and on the activity of delta aminolevulinic acid dehydratase in liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochimie* 2012;94(2):374-83.
21. Valera A, Rodriguez-Gil JE, Bosch F. Vanadate treatment restores the expression of genes for key enzymes in the glucose and ketonebodies metabolism in the liver of diabetic rats. *J Clin Invest* 1993;92(1):4-11.
22. Edwards JR, Prozialeck WC. Cadmium, Diabetes and Chronic Kidney Disease. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009;238(3): 289-93.
23. Bell RR, Early JL, Nonavinakere VK, Mallory Z. Effect of cadmium on blood glucose level in the rat. *Toxicol Lett* 1990;54:199–205.
24. Chandra SV, Kalia K, Hussain T. Biogenic amines and some metals in brain of cadmium-exposed diabetic rats. *J Appl Toxicol* 1985;5:378–381.
25. Bernard A, Schadeck C, Cardenas A, Buchet JP, Lauwerys R. Potentiation of diabetic glomerulopathy in uninephrectomized rats subchronically exposed to cadmium. *Toxicol Lett* 1991;58:51–57.
26. Ithakissios DS, Ghafghazi T, Mennear JH, Kessler WV. Effect of multiple doses of cadmium on glucose metabolism and insulin secretion in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1975;31(1):143-149.
27. Sastry KV, Shukla V. Acute and chronic toxic effects of cadmium on some haematological, biochemical, and enzymological parameters in the fresh water teleost fish *Channa punctatus*, *Acta Hydrochimica Et hydrobiologica* 1994;22(4):171-176.
28. Winiarska K, Malinska D, Szymanski K, Dudziak M, Bryla J. Lipoic acid ameliorates oxidative stress and renal injury in alloxan diabetic rabbits, *Biochimie* 2008;90(3):450-459.
29. Scaramuzza A, Giani E, Redaelli F, et al. Alpha-Lipoic Acid and Antioxidant Diet Help to Improve Endothelial Dysfunction in Adolescents with Type 1 Diabetes: A Pilot Trial. *J Diabetes Res* 2015;2015:474561.
30. Yang Y, Li W, Liu Y, Li Y, Gao L, Zhao JJ. Alpha-lipoic acid attenuates insulin resistance and improves glucose metabolism in high fat diet-fed mice. *Acta Pharmacol Sin* 2014;35(10):1285-92.



- 31.** Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Effects of  $\alpha$ -lipoic acid on biomarkers of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats, *J Nutr Biochem* 2003;14(5):288–294.
- 32.** Sellamuthu PS, Muniappan BP, Perumal SM, Kandasamy M. Antihyperglycemic effect of mangiferin in streptozotocin induced diabetic rat. *Journal of Health Science* 2009;55(2):206-214.
- 33.** Amalan V, Vijayakumar N, Indumathi D, Ramakrishnan A. Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of p-coumaric acid in diabetic rats, role of pancreatic GLUT 2: In vivo approach. *Biomed Pharmacother* 2016;84:230-236.
- 34.** Chen WL, Kang CH, Wang SG, Lee HM.  $\alpha$ -Lipoic acid regulates lipid metabolism through induction of sirtuin 1 (SIRT1) and activation of AMP-activated protein kinase. *Diabetologia* 2012; 55: 1824-35.
- 35.** Mirtaheeri E, Gargari BH, Kolahi S, Asghari-Jafarabadi MA, Hajaliloo M. Effect of Alpha-lipoic Acid Supplementation on Serum Lipid Profile in Women with Rheumatoid Arthritis. *Nutr Food Sci Res* 2014;1(1): 11-18.
- 36.** Kandasamy N, Ashokkumar N. Reno protective effect of myricetin restrains dyslipidemia and renal mesangial cell proliferation by the suppression of sterol regulatory element binding proteins in an experimental model of diabetic nephropathy. *Eur J Pharmacol* 2014; 15;743:53-62.
- 37.** Yargıçođlu P, Agar A, Edremitliođlu M, Kara C. The effects of cadmium and experimental diabetes on vep spectral data and lipid peroxidation. *Int J Neurosci* 1998;93(1-2):63-74.
- 38.** Liu M, Song X, Zhang J, et al. Protective effects on liver, kidney and pancreas of enzymatic- and acidic-hydrolysis of polysaccharides by spent mushroom compost (*Hypsizigus marmoreus*). *Sci Rep* 2017;24(7):43212.
- 39.** Cao Z, Fang Y, Lu Y, et al. Melatonin alleviates cadmium-induced liver injury by inhibiting the TXNIP-NLRP3 inflammasome. *J Pineal Res* 2017;62(3).
- 40.** Srinivasan S, Sathish G, Jayanthi M, Muthukumaran J, Muruganathan U, Ramachandran V. Ameliorating effect of eugenol on hyperglycemia by attenuating the key enzymes of glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem* 2014;385(1-2):159-68.
- 41.** Stanley Mainzen Prince P, Kamalakkannan N. Rutin Improves Glucose Homeostasis in Streptozotocin Diabetic Tissues by Altering Glycolytic and Gluconeogenic Enzymes. *J Biochem Mol Toxicol* 2006;20(2):96-102.
- 42.** Rana S, Sing, R, Verma S. Protective effects of few antioxidants on liver function in rats treated with cadmium and mercury. *Indian J Exp Biol* 1996;34(2):177-179.
- 43.** Rathi SS, Grover JK, Vats V. The effect of *Momordica charantia* and *Mucuna Pruriens* in experimental diabetes and their effect on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism, *Phytother Res* 2002;16(3):236-243.
- 44.** Salas M, Viñuela, E, Sols A. Insulin-dependent synthesis of liver glucokinase in the rat, *J Biol Chem* 1963;238(11):3535-3538.
- 45.** Newairy, A. A., El-Sharaky, A. S., Badreldeen, M. M., Eweda, S. M., Sheweita, S. A. The hepatoprotective effects of selenium against cadmium toxicity in rats. *Toxicology* 2007;242, (1-3), 23–30.
- 46.** Dailianis S, Kaloyianni M. Cadmium induces both pyruvate kinase and Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger activity through protein kinase C mediated signal transduction, in isolated digestive gland cells of *Mytilus galloprovincialis* (L.). *J Exp Biol* 2004;207(10):1665-1674.
- 47.** Sacan O, Turkyilmaz IB, Bayrak BB, Mutlu O, Akev N, Yanardag R. Zinc supplementation ameliorates glycoprotein components and oxidative stress changes in the lung of streptozotocin diabetic rats. *Biometals* 2016;29(2):239-48.
- 48.** Vague P, Coste TC, Jannot MF, Raccach D, Tsimaratos M. C-peptide, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, and Diabetes. *Exp Diabetes Res* 2004;5(1):37-50.
- 49.** Carageorgiou H, Tzotzes V, Pantos C, Mourouzis C, Zarros A, Tsakiris S. In vivo and in vitro effects of cadmium on adult rat brain total antioxidant status, acetylcholinesterase, (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>)-ATPase and Mg<sup>2+</sup>-ATPase activities: protection by L-cysteine. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2004;94(3):112-8.
- 50.** Fehlmann M, Freychet P. Insulin and glucagon stimulation of (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)-ATPase transport activity in isolated rat hepatocytes. *J Biol Chem* 1981;256(14):7449-53.

## GELDANAMİSİN VE TRİKOSTATİN A'NIN İNSAN MESANE KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNE SİNERJİSTİK ETKİSİ

THE SYNERGISTIC EFFECT OF GELDANAMYCIN AND TRICHOSTATIN A  
ON HUMAN BLADDER CELLS

Nuray VAROL, Nuran ÇOBAN

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

### ÖZ

**AMAÇ:** Isı şok protein 90 (İŞP), ATP-bağımlı moleküler bir şaperon olup kanserin temel özellikleri olarak tanımlanan çok sayıdaki onkogenik sinyal proteinlerinin stabilitesi ve fonksiyonu için gereklidir. Bu nedenle, İŞP90 kanserin önlenmesi ve tedavisi için moleküler bir terapötik hedef olarak görülür. Geldanamisin (GA) ilk doğal İŞP90 inhibitörüdür. İŞP90 inhibisyonu, kanser hücrelerinde apoptosisin indüklenmesine neden olur ve kemoterapi direncinde bir azalmaya eşlik edebilir. Bu çalışmada amacımız, Geldanamisin (GA) ve Trikostatin A (TSA)'ın tek başlarına ve/veya kombinasyonlarının kullanımının, insan mesane kanser hücre hattı T24'de transkripsiyonel ve protein düzeyinde apoptotik yolak üzerindeki sinerjik etkilerini araştırmaktır.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Geldanamisin (0–30 µM)'nin hücre canlılığı üzerine olan etkisi WST1 aracılığıyla belirlenmiştir. Belirtilen ilaçların tek başlarına ve birlikte kullanımlarının CASP3 geninin transkripsiyonel ifade düzeylerindeki farklılıklar kantitatif eş zamanlı PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Kaspaz3, Bax ve Bcl2 genlerinin transkripsiyonel ifade düzeyleri ise western blot yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

**BULGULAR:** Antiapoptotik gen Bcl2 ifadenmesi, GA ve GA+TSA kombinasyonu kullanımı sonrasında önemli derecede azalmakta iken, kaspaz-3 ve Bax ifadenmesi kontrole göre transkripsiyonel düzeyde artmıştır. Aynı zamanda, Cas3 mRNA düzeyi de kontrole göre artmıştır (p<0.05).

**SONUÇ:** GA+TSA kombinasyonu hücre proliferasyonunu azaltmakta ve apoptoza indüklediği görülmüştür. Bu nedenle, İŞP90 inhibitörlerinin mesane kanseri tedavisinde yeni bir yaklaşım sunabileceğini düşünmekteyiz.

**ANAHTAR KELİMELEER:** İŞP90 inhibitörü, Geldanamisin, Apoptoz, Mesane Kanseri

### ABSTRACT

**OBJECTIVE:** Heat shock protein 90 (HSP90) is an ATP-dependent molecular chaperone required for the stability and function of numerous oncogenic signaling proteins that determine the hallmarks of cancer. Therefore, HSP90 is known as a molecular therapeutic target for the prevention and treatment of cancer. Geldanamycin (GA) was the first identified natural Hsp90 inhibitor. Inhibition of Hsp90 results in the induction of apoptosis in cancer cells, and may be accompanied by a reduction in chemotherapy resistance. This study is aimed to investigate, on transcriptional and protein levels, the synergic effects of unaccompanied and/or combined use of Geldanamycin (GA) and Trichostatin A (TSA) on the apoptotic pathway of human bladder cancer cell line T24.

**MATERIAL AND METHODS:** The effect of geldanamycin (0–30 µM) on cell viability were determined by WST-1. The variation in the expression levels of CASP3 genes was transcriptionally determined by quantitative real-time PCR. The translational expressional levels of caspase-3, Bax and Bcl2 genes were performed by western blot method.

**RESULTS:** The use of GA alone and GA+TSA combination significantly down-regulated the antiapoptotic gene Bcl2 while Caspase-3 and Bax expression were increased at translational levels. Cas3 mRNA level was also increased with respect to control (p<0.05).

**CONCLUSIONS:** The use of geldanamycin+TSA combination reduced cell proliferation and induced apoptosis. Therefore, it can be suggested that HSP90 inhibitors may offer a new approach to consider in the treatment of bladder cancer.

**KEYWORDS:** HSP90 inhibitor, Geldanamycin, Apoptosis, Bladder Cancer

## GİRİŞ

Mesane (idrar kesesi) kanseri, dünyada görülme sıklığı açısından beşinci sırada yer almakta olup kanser türlerinin %4'ünden fazlasını oluşturmaktadır. Erkeklerde prostat kanserinden sonra en sık rastlanan genitoüriner kanser türüdür. (1,2). Mesane kanser patogenezi bakıldığında tek bir tümör hücresinde çok sayıda genetik ve epigenetik alterasyonlar çoklu sinyal yollarının deregülasyonuna yol açmaktadır (2,3). Hücre proliferasyonundan sorumlu sinyal yollarındaki aberasyonlara ilaveten mesane kanserinin de içerisinde yer aldığı çok çeşitli kanser türünde ısı şok proteinleri (İŞP) aşırı ifadenmektedir. Hücresel homeostazinin sürdürülmesinde önemli rol oynayan bu proteinler primer olarak protein katlanmasından sorumludur. Normal fizyolojik şartlar altında düşük düzeyde ifadelenen bu proteinler, hipertermi, ağır metal iyonlarına maruziyet, hipoksi gibi hücresel stres şartlarında ifadelenmeleri hızlı bir şekilde artar. Böylece bu proteinler, mesane kanser hücrelerinin çeşitli hücresel stres şartları altında yaşamasına ve çoğalmasına önemli katkı sağlar. Isı şok proteinlerinin aşırı ifadenmesi genomik mutasyonun varlığına rağmen kanser hücrelerini apoptoza karşı korur. Diğer kanser türlerinde olduğu gibi normal ürotelyum ile karşılaştırıldığında mesane kanser hücrelerinde ısı şok proteinlerinin ifadenme düzeyi oldukça artmıştır. Bu nedenle araştırmacılar ısı şok proteinlerinin mesane kanserinin tanı ve prognozu için bir biyobelirteç olarak kullanılabilirliğine odaklanmışlardır. Isı şok proteinleri, immun sistemin önemli modülatörleri olmasından dolayı yeni mesane kanser tedavi stratejilerinin belirlenmesinde İŞP'leri önemli hedefler haline gelmektedir, özellikle modern kemoterapötikler ve radyoterapötikler ile birlikteki sinerjistik etkilerine odaklanılmıştır (2,4,5). Bu çalışmamızda amacımız, İŞP90 inhibitörü olan Geldanamisin'in (GA) tek başına ve/veya histon deasetilaz inhibitörü Trikostatin-A (TSA) ile birlikte kullanımının mesane kanser hücre hattı T24 hücreleri üzerine apoptotik etkisini incelemektir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Hücre Kültürü

Bu çalışmadaki, T24 insan mesane hücre hatları, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Ece KONAÇ'tan temin edilmiştir. T24 hücreleri, %10 FBS içeren McCoy's 5A besiyerinde %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda kültüre edildi. Her bir deney 3 kere tekrar edildi.

### Hücre Canlılığının Belirlenmesi

T24 hücreleri 96 kuyulu hücre kültür kaplarına 105 hücre/ kuyu olacak şekilde ekildi, bir gece %1'lik McCoy's 5A besiyerinde inkübe edilerek hücrelerin yapışmasını takiben besiyeri uzaklaştırıldı. Daha sonra Geldanamycin (CST; Kat. No: 9843S) birlikte çeşitli konsantrasyonları (0-30 µM) ile hazırlanmış %10'luk McCoy's 5A besiyerinde 0-24 saat süreyle 370C'de %5 CO<sub>2</sub>'li etüvde inkübe edildi. Belirtilen sürenin sonucunda her 100 µl için her bir kuyucuğa 10 µl WST-1 solüsyonu (Roche; Kat. No: 001 644 807) eklendi ve formazan ürününün oluşturduğu renk değişimi 4 saat sonunda spektrofotometre ile 450 nM dalga boyunda belirlendi. Negatif kontroller kör olarak kullanıldı.

### Hücrelerden total RNA izolasyonu

6 kuyulu kültür kaplarına 1x10<sup>6</sup> hücre/kuyu şeklinde ekilen T24 hücreleri inkübasyon sürelerinin ardından Tripure Isolation Reagent (Roche, Almanya) ile total RNA izolasyonu gerçekleştirildi. İzole edilen RNA'lar Nanodrop cihazı ile miktar (ng/µl) ve saflık ölçümleri yapıldı ve kullanılabildiği kadar -800 °C'ye kaldırıldı. kaldırıldı.

### Komplementer DNA (cDNA) sentezi

Elde edilen 1 mg total RNA'lar, RT2 HT First Strand cDNA sentez kiti (Qiagen, Almanya) kullanılarak cDNA'ya çevrildi. Reaksiyon sonucu cDNA örnekleri üzerine 91 µl steril H<sub>2</sub>O-PCR grade (Qiagen, Almanya) eklendi ve Real-Time PCR'da kullanılmaya kadar -200 °C'lik derin dondurucuda saklandı.

### Genlerin İfade Edilmesinin Real-Time PCR ile Ölçümü

CASP3 geninin mRNA miktarları, Real-Time PCR yöntemi ile Rotor Gene Q cihazı kullanılarak yapıldı. Amplifikasyonlar 25 µL toplam tepkime hacmi içerisinde; cDNA, bölgeye özgü primerler ve RT2 SYBR Green Mastermix karışımı (Qiagen, Almanya) ve steril H<sub>2</sub>O-PCR grade kullanılarak gerçekleştirildi. CASP3 geninin ifadenmesini normalize etmek için GAPDH mRNA düzeyi referans olarak alındı. Erime eğri analizi tek bir ürünü doğruladı.

### Total Protein İzolasyonu

GA ve/veya TSA kombinasyonları belirlenen sürelerin dolmasını takiben T24 hücrelerinden total protein izolasyonu yapılmıştır. Kısaca, inkübasyon sürelerinin dolmasını takiben hücreler 1 mM PMSF içeren 1X Ripa Lizis Buffer (Cell Signaling, Technology; USA) ile lizise uğratıldı. Sonrasında buz üzerinde sonike edildikten sonra 14.000 x g'de 10 dk santrifüjden edildi. Süpernatant yeni tüplere aktarıldı, BCA ile miktar tayini yapıldı ve western blot aşamasına kadar -800 °C'ye saklandı.

### Western blot yöntemi ile protein düzeylerinin belirlenmesi

Eşit miktardaki protein örnekleri SDS-PAGE ile ayrıldıktan sonra ıslak transfer aracılığıyla PVDF membrana aktarıldı. Membranlar, oda sıcaklığında 1 saat süreyle bloke edici tampon [Tris-tamponlu salin (TBS),% 0.1 Tween-20 ve % 5 düşük yağlı kuru süt] içinde inkübe edildi, ardından primer antikolar anti-Kaspaz-3 ve anti-β-aktin (yükleme kontrolü) antikoları (1: 1.000 dilüsyon; Cell Signaling Technology, USA) ile bir gece 4 °C'de hibridizasyona bırakıldı. TBS /% 0.1 Tween 20'deki üç yıkamanın ardından, membran 1 saat boyunca oda sıcaklığında sekonder antikor (1: 5,000 seyreltme, Cell Signaling Technology, USA) ile hibridizasyona tabi tutuldu. TBS/% 0.1 Tween 20'deki yoğun yıkamadan sonra, sinyaller, Luminata Forte Western HRP Substrate Kemilümenans Substrat (Merck Millipore, Almanya) kullanılarak, Chemidoc (BioRad) cihazında görüntüledi.

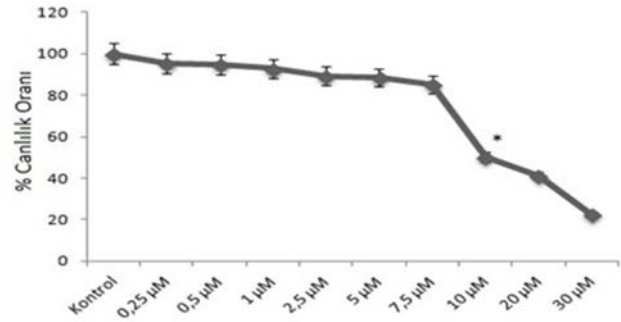
### İstatistiksel Analiz

Kaspaz-3 mRNA düzeylerindeki doza ve zamana bağlı değişimler REST 2009 V2.0.13 istatistiksel programı ile karşılaştırıldı. P değerlerinin 0.05'den küçük olduğu değerler istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

### **BULGULAR**

#### Geldanamisin'in hücre canlılığı sonuçlarının değerlendirilmesi

24 saat inkübasyon sonucunda T24 hücrelerinin IŞP90 inhibitörü Geldanamisin'e olan cevabının hücre canlılığı üzerine etkisi (**Şekil 1**) 'de gösterilmiştir. Buna göre Geldanamisin ile 24 saat muamele edilmiş T24 hücrelerinin doza bağlı olarak hücre proliferasyonunun azaldığı belirlenmiştir. Kullandığımız 1µM Geldanamisin konsantrasyonunda T24 hücrelerinin hücre canlılığını %90,7 iken 10 µM konsantrasyonunda ise %54,3 azaldığı görülmektedir. Sonuçlarımıza göre Geldanamisin için 24 saat için IC<sub>50</sub> dozunun 10µM olduğu belirlendi.



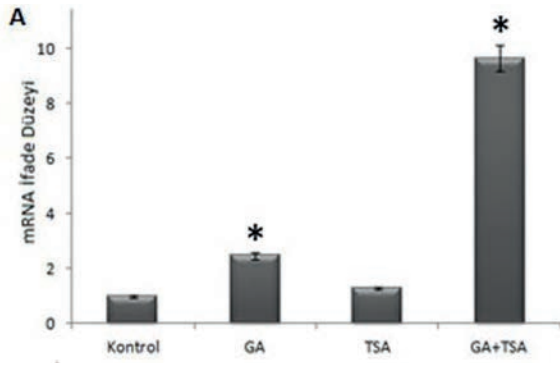
**Şekil 1:** T24 hücrelerinin (10.000 hücre/kuyu) Geldanamisin ile 24 saat inkübasyonu sonunda belirlenen hücre canlılık oranları.\*; IC<sub>50</sub> değeri.

#### Geldanamisin uygulaması sonrasında Kaspaz-3 mRNA ve protein düzeyi

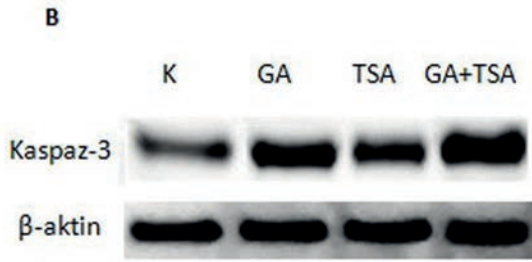
T24 mesane kanser hücrelerinin 24 saat 10 µM Geldanamisin uygulaması sonrasında CASP3 mRNA düzeyinde kontrole nazaran 2.46 katlık bir artış belirlenmiştir (p<0.05). 300 nM 24 saat TSA (6) uygulaması sonrasında ise kontrole nazaran 1,45 katlık bir artış olduğu belirlendi fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu. GA ve TSA'nın birlikte 24 saat uygulaması sonrasında ise CASP3 düzeyindeki artış kontrole göre 9.65 kat olarak belirlendi (p<0.05) (**Şekil 2A**).

GA ve GA+TSA 24 saat uygulaması sonrasında mRNA düzeyine paralel olarak Kaspaz3 protein düzeyinde de artma olduğu belirlendi (**Şekil 2B**).



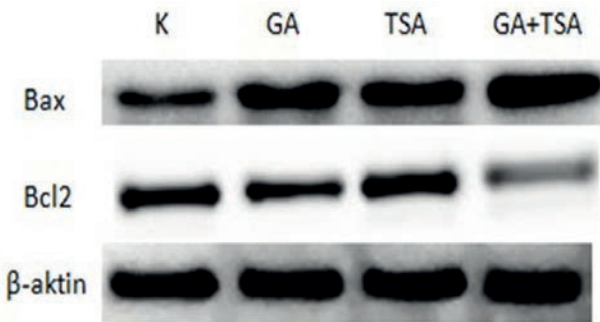


**Şekil 2A:** GA, TSA ve GA+TSA ile inkübasyonu sonrasında CASP3 mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri GAPDH mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi,\*;  $p < 0,01$ .



**Şekil 2B:** GA, TSA ve GA+TSA ile inkübasyonu sonrasında Kaspaz-3 protein düzeyindeki değişimler. β-aktin, western blot yükleme kontrolü olarak kullanıldı. GA, Geldanamisin; TSA, Trikostatin A, K, Kontrol.

GA+TSA hariç diğer örneklerde Bcl-2 düzeyinde önemli bir değişim gözlemlenmemiştir. GA+TSA 24. saat uygulaması sonrasında kontrole nazaran Bcl-2 protein düzeyinde azalma belirlenmiştir (**Şekil 3**).



**Şekil 3:** T24 hücrelerinin süre ve doz-bağımlı GA, TSA ve GA+TSA ile inkübasyonu sonrasında Bax ve Bcl-2 protein düzeyindeki değişimler. β-aktin, western blot yükleme kontrolü olarak kullanıldı. GA, Geldanamisin; TSA, Trikostatin A, K, Kontrol.

## TARTIŞMA

IŞP90 ifadenmesi kanser hücrelerinde önemli

ölçüde artmaktadır. IŞP90'nın yüzlerce hedef proteini vardır ve hem yabancıl tip hem de mutant formlarına bağlanabilmesinden dolayı kanserogeneze önemli rol oynamaktadır. IŞP90'nın kanser hücrelerinde fonksiyonlarından biri apoptozu inhibe etmektir ve özellikle kemoterapötiklere dirençte de önemli rol oynamaktadır (2,4). Bu nedenle bu çalışmamızda ki hedefimiz Geldanamisin uygulaması sonrasında kanser hücrelerinin apoptotik mekanizmasında nasıl bir değişiklik meydana geldiğini araştırmaktır. Bu amaçla, GA ve/veya TSA uygulaması sonrasında T24 hücrelerinde apoptozu değerlendirmek için CASP3 mRNA'sı, kaspaz-3 ve Bax/Bcl2 protein oranını inceledik. Geldanamisin uygulaması sonrasında kontrole nazaran 24. saatlerde CASP3 mRNA'sı, Kaspaz-3 ve BAX protein düzeylerinde artış olmasına karşın aynı süre ve doz GA uygulaması sonrasında kontrole nazaran Bcl2 düzeyinde bir değişim gözlemlenmedi. GA+TSA uygulama sonrasında Bcl2 düzeyinde önemli azalma gözlemlenirken Bax ve Kaspaz-3 düzeylerinde kontrole nazaran bir artış gözlemlenmemiştir. Çalışmamızın sonucunda Geldanamisin uygulaması sonrasında aynı dozda aynı zaman aralıklarında BAX düzeyindeki artış veya BCL2 düzeyinde azalış gözlemlenmemiz Bax/Bcl2 oranı birden büyük olduğunu yani hücrelerin apoptoza yöneldiğini göstermektedir. Benzer şekilde TSA ile birlikte kombinasyonu sinerjistik olarak daha etkin bir şekilde hücrelerin apoptozu indüklemektedir. Bizim çalışmamızla uyumlu olarak Lee ve ark.'larında (7) over kanser hücrelerinde geldanamisin uygulaması sonrasında kontrole nazaran sitoplazmik ve mitokondrideki BAX oranında artış, sitoplazmik Bcl2 düzeyinde ise azalma belirlemiştir. Kolon kanseri hücre hattı HT29 hücrelerinde de benzer şekilde GA uygulaması sonrasında Bax düzeyinde artış ve Bcl2 düzeyinde azalma belirlenmiştir (8). Başka bir kolon kanseri hücre hattında (HCT116), GA uygulama sonrasında p53+/+ ve p53-/- hücrelerinde Bcl2 düzeyinde azalma belirlenmiştir (9). Karkoulis ve ark. (1)'ları çalışmada ise mesane kanser hücrelerinde (T24 ve RT4) Geldanamisin apoptozu hangi yolla indüklediğini araştırmışlardır. Bu amaçla, Kaspaz-3, Kaspaz-8 ve Kaspaz-9 proteinlerinin düzeyindeki değişimleri incelemiştir. 24



saat 1  $\mu$ M ve 10  $\mu$ M GA uygulaması sonrasında aktif kaspaz-8 ve aktif kaspaz-3 düzeyinde artış belirlenirken aktif kaspaz-9 düzeyinde önemli bir azalış belirlenememiştir. Bu sonuçlar göstermektedir ki, Geldanamisin hücreleri apoptoza dışsal yolak aracılığıyla indüklemektedir.

Sonuç olarak, Geldanamisin tek başına veya TSA ile birlikte kullanımı insan mesane kanser hücrelerinde apoptoza dışsal yolak aracılığıyla indüklemektedir. IŞP90 inhibitörlerinin kombinasyonel kullanımı mesane kanseri tedavisinde yeni bir yaklaşım olarak kullanılabilir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından BAP 16.SAĞ.20 proje numarası ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Karkoulis, P.K., Stravopodis, D.J., Konstantakou, E.G., Voutsinas, G.E. (2013). Targeted inhibition of heat shock protein 90 disrupts multiple oncogenic signaling pathways, thus inducing cell cycle arrest and programmed cell death in human urinary bladder cancer cell lines. *Cancer Cell International*, 2013;13(1):11.
2. Chehab, M., Caza, T., Skotnicki, K., et al. Targeting HSP90 in urothelial carcinoma. *Oncotarget* 2015;6(11):8454-73.
3. Mitra, A.P., Cote, R.J. Molecular pathogenesis and diagnostics of bladder cancer. *Annual Review of Pathology* 2009; 4:251-85.
4. Ischia, J., So, A.I. The role of heat shock proteins in bladder cancer. *Nature Reviews Urology* 2013; 10(7):386-95.
5. Ma, L., Sato, F., Sato, R., et al. Dual targeting of heat shock proteins 90 and 70 promotes cell death and enhances the anticancer effect of chemotherapeutic agents in bladder cancer. *Oncology Reports* 2014;31(6):2482-92.
6. Kiliccioglu I., Konac E., Varol N., Bilen CY. Proteasome and HDAC Inhibition Changes the Expression Levels of Bcl-2, Bcl-XL, Bim and Bik Proteins in Androgen-Independent PC-3 Cell Line. *Gazi Medical Journal* 2015;26:155-157.
7. Lee, C.S., Kim, Y.J., Lee, S.A., Myung, S.C., Kim, W. Combined effect of HSP90 inhibitor geldanamycin and parthenolide via reactive oxygen species-mediated apoptotic process on epithelial ovarian cancer cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2012;111(3):173-81.
8. Mohammadi, A., Yaghoobi, M.M., Gholamhoseynian-Najar, A., Kalantari-Khandani, B., Sharifi, H., Saravani, M. HSP90 inhibitor enhances anti-proliferative and apoptotic effects of celecoxib on HT-29 colorectal cancer cells via increasing BAX/BCL-2 ratio. *Cell Mol Biol* 2016;62(12):62-67.
9. Mcnamara, A.V., Barclay, M., Watson, A.J., Jenkins, J.R. HSP90 inhibitors sensitise human colon cancer cells to topoisomerase I poisons by depletion of key anti-apoptotic and cell cycle checkpoint proteins. *Biochem Pharmacol*, 2012;83(3):355-67.

## SAFRA KESESİNİN PÜR MÜSİNÖZ ADENOKARSİNOMU: OLGU SUNUMU PURE MUCINOUS CARCINOMA OF THE GALLBLADDER: CASE REPORT

Mehmet Nuri KOŞAR<sup>1</sup>, Nuray Ayper ÖNGEN<sup>2</sup>, Mani HABİBİ<sup>3</sup>, Faruk GÜLEÇ<sup>4</sup>, Osman Zekai ÖNER<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği

<sup>2</sup>Lara Anadolu Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, Antalya,

<sup>3</sup>Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Alanya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği

<sup>4</sup>Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Bölümü

### ÖZ

Safra kesesi tümörlerinin de %90'ını adenokarsinomlar oluşturur ve bunların da çoğunluğu iyi veya orta derecede differansiye tümörlerdir. Pür müsinöz adenokarsinomlar ise oldukça nadir görülmekte olup literatürde oldukça sınırlı sayıda olgu sunumu bildirilmiştir. Bu yazımızda, ileri yaşta akut kolesistit kliniği ve sağ alt kadranda ele gelen kitle bulgusuyla takibe alınan ancak takiplerinde kliniğin ilerlemesi üzerine acil operasyona alınarak kolesistektomi ve periportal lenf nodu örneklemesi yapılan patolojik değerlendirilmesinde pür müsinöz adenokarsinom tanısı olan bir olguyu sunmayı amaçladık.

**ANAHTAR KELİMELELER:** Adenokarsinom, Müsinöz, Safra kesesi kanserit

### ABSTRACT

Adenocarcinomas constitute 90 % of gallbladder tumors and most of them are well or moderately differentiated tumors. Pure mucinous adenocarcinoma is rarely seen, and very limited number of related case reports have been reported in the literature. In this article, we aimed to present a case which a 89 year old female presented with clinics symptoms of acute cholecystitis and with the finding a palpable mass in the right lower quadrant. She had emergent cholecystectomy and periportal lymph node sampling because of the clinic progression and diagnosed with pure mucinous adenocarcinoma in pathologic assessment.

**KEYWORDS:** Adenocarcinoma, Mucinous, Gallbladder cancer

**Geliş Tarihi / Received:** 06.01.2016

**Kabul Tarihi / Accepted:** 22.03.2016

**Yazışma Adresi / Correspondence:** Mani Habibi

Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Alanya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, Antalya, TURKEY  
manihabibi@gmail.com

## GİRİŞ

Safra kesesi karsinomu tüm gastrointestinal sistem tümörleri arasında beşinci sırada görülen malign tümörlerdir (1). Safra kesesi tümörlerinin de %90'ını adenokarsinomlar oluşturur ve bunların da çoğunluğu iyi veya orta derecede differansiye tümörlerdir (1). Safra kesesi kanserlerinin %5 kadarını papiller adenokarsinoma, squamoz hücreli karsinoma ve müsinöz adenokarsinoma gibi subtipler oluşturur (2). Pür müsinöz adenokarsinomlar ise oldukça nadir görülmekte olup literatürde müsinöz adenokarsinomların insidans, klinik ve biyolojik özellikleri ile ilgili yeterli veri yoktur ve sınırlı sayıda olgu sunumu bildirilmiştir (3, 4).

Bu yazımızda, karın ağrısı şikâyeti ve sağ alt kadranda kitle bulgusu ile acil servise başvuran ve yapılan kolesistektomi operasyonu sonrası patolojik değerlendirmesinde pür müsinöz adenokarsinom tanısı olan bir olguyu irdledik.

## OLGU SUNUMU

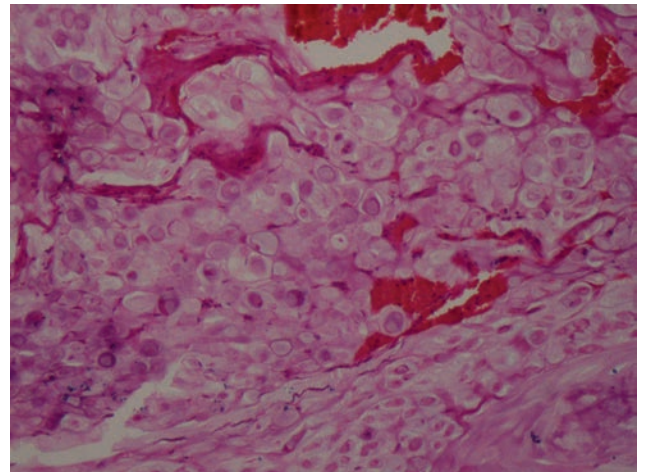
Şiddetli karın ağrısı şikâyeti ile acil servise başvuran 89 yaşındaki kadın hastanın ilk muayenesinde sağ alt ve üst kadranda hassasiyet ve sağ alt kadranda ele gelen kitle mevcuttu. Karın ağrılarının uzun süredir olduğu ancak son 24 saattir şiddetlendiği öğrenildi. İlk başvurusu sırasında yapılan laboratuvar incelemelerinde beyaz küre değeri ve karaciğer enzimleri normaldi. Karın ultrasonografisi ve bilgisayarlı tomografi görüntüleme sonucunda safra kesesi lümeni içinde 23 mm boyutunda taş ekojenitesi ve kese duvarından lümeneye uzanımı izlenen ~51x40 mm boyutunda heterojen düzensiz konturlu ve kese boynunda lümeneye uzanım izlenen ~11x16 mm boyutunda hiperekojen lezyon saptandı. Ayrıca portal hilusta, epigastrik bölgede, pankreas komşuluğunda büyüğü 45x23 mm boyutunda multipl lenfadenopatiler saptandı.

Hastanın aynı gün içerisindeki fizik muayene bulgularında progresyon olması ve beyaz küre değerinin yükselmesi üzerine acil operasyona alındı. Eksplorasyonda sağ alt kadrana kadar inmiş özellikle fundusda duvar kalınlığı ileri derecede artmış safra kesesi ve multipl en büyüğü 3 cm çaplı periportal, parakaval, paraçölyak lenf nodları izlendi (**Resim 1**). Hastaya kolesistektomi



**Resim 1:** Safra kesesinin müsinöz adenokarsinom intraoperatif görüntüsü

mi ve periportal lenf nodu örnekleme yapıldı. Postoperatif sorunu olmayan hasta beşinci gününde şifa ile taburcu edildi. Patolojik inceleme sonucunda fundusta eozinofilik sitoplazmalı ve pleomorfik hiperkromatik nükleuslu hücrelerden oluşan bez benzeri yapılar yapmış bunun yanında geniş alanda ekstrasellüler müsin gölcükleri oluşturmuş tümör dokusu izlendi. Müsin gölcükleri içerisinde intrasitoplazmik müsin içeren taşlı yüzük görünümünde hücrelerin varlığı ve tümörün perimüsküler bağ dokusuna invaze olduğu izlendi. Pansitokeratin immun boyama yönteminde pozitif boyanma saptandı. Bu bulgularla en büyük çapı 5,5 cm olan fundus yerleşimli iyi differansiye pür müsinöz adenokarsinom ve periportal lenf nodunda metastatik tutulum olarak değerlendirildi (**Resim 2**). Hastanın yaşı gözönüne alınarak postoperatif dönemde kemoterapi verilmedi. Hasta 1. yıl kontrollerinden sonra takipten ayrıldı.



**Resim 2:** Eozinofilik sitoplazmalı ve pleomorfik hiperkromatik nükleuslu hücreler yanında geniş alanda ekstrasellüler müsin oluşturmuş tümör dokusu (HE X 200)

## TARTIŞMA

Safra kesesi kanserleri gastrointestinal sistem kanserleri arasında beşinci sırada yer alır ve sıklıkla 65 yaş üzerinde ve kadınlarda görülür (5). Safra kesesi tümörlerinin çoğunluğunu adenokarsinomlar oluşturur ve müsinöz adenokarsinomlar oldukça nadir görülen subtiplerden biridir (1,2).

Birçok safra kesesi karsinomu pankreatikobiliyer tip konvensiyonel adenokarsinomlardır (3). Safra kesesinde pankreatikobiliyer tip dışında meydana gelen karsinom tipleri sınırlıdır (3). Müsinöz karsinomlarda literatürde oldukça az görülen safra kesesinin diğer tip karsinomlarından birisidir (3). Üç farklı merkezden toplanan 606 safra kesesi karsinom olgusunun incelendiği çok merkezli bir çalışmada 15 müsinöz karsinomlu hasta saptanmıştır. Bu hastalarda ortalama yaş 65 ve kadın/erkek oranı 1:1 olarak bulunmuştur. Bu 15 hastanın ikisi pür müsinöz, 8 tanesi miks-müsinöz tip ve 5 tanesi %50 den fazla müsin içeren taşlı yüzük hücreli karsinom olarak saptanmıştır (3).

Safra kesesi kanserleri olan hastalarda spesifik bir semptom yoktur. Hastalar safra kesesi taşına bağlı semptomlar gösterir. Bu nedenle tanı konması gecikir ve ancak ameliyat sırasında veya postoperatif dönemde histopatolojik inceleme sonucu konur (6).

Safra kesesi kaynaklı müsinöz adenokarsinomlu olguların sunulduğu üç ayrı olgu sunumunda yaş ortalamasının 45 üstü olduğu ve hastaların 2'sinin erkek, birinin kadın olduğu görülmektedir. Olguların ikisinde kolelitiazis, birinde porcelen kese mevcudiyeti vardır. İki olguda tümör diffüz infiltratif olarak izlenirken diğerinde ise fundusa lokalize izlenmiştir (7, 8, 9). Bizim olgumuzda ise akut kolesistit kliniği ile presente olmuş ve fizik muayenede sağ alt kadranda palpabl kitle tespit edilmiş takiben yapılan kolesistektomi sonucunda fundusda 5 x 5,5 cm ülsere polipoid tümöral alan bulunan ve duvar kalınlığı 1,5 cm olan pür müsinöz karsinom olduğu görülmüştür.

Bu olguda, ileri yaşta akut kolesistit kliniği ve sağ alt kadranda ele gelen kitle bulgusuyla na-

diren de olsa pür müsinöz safra kesesi kanseri ile karşılaşabileceğimizi vurgulamak ve bu hastalığın özelliklerini tartışmak istedik.

## KAYNAKLAR

1. Bazan F, Sanchez J, Aguilar G. Metastatic gallbladder adenocarcinoma with signet-ring cells: A case report. *J Med Case Rep* 2011;5:458.
2. Misra S, Charturvedi A, Misra NC. Carcinoma of the gallbladder. *Lancet Oncol* 2003; 4:167-76.
3. Dursun N, Roa J, Bastürk O. Mucinous Carcinomas of the Gallbladder. *Arch Pathol Lab Med* 2012; 136: 1347-58.
4. Gupte Prajakta A, Rachana C. Pure mucinous [colloid] adenocarcinoma of the gallbladder- a rare fenotype. *Oncol gastroenterol hepatol Reports* 2013; 2:1: 27-9.
5. Young-eun J, Hyun-soo K, Sung-kyu C. Case of mucinous adenocarcinoma with porcelain gallbladder. *J of Gastroent and Hepatol* 2003; 18: 995-8.
6. Pudasainin S, Subedi N. Signet ring adenocarcinoma of the gallbladder. *Nepal Med Coll J*; 2011; 13(4): 308-10.
7. Barcia JJ, Rodriguez A, Siri L. Gallbladder carcinoma in the 'Hospital de Clinicas' of Uruguay. A clinicopathologic study of five cases in 802 cholecystectomies. *Ann Diagn. Pathol.* 2004;8:1-5.
8. Joo YE, Kim HS, Choi SK. Case of mucinous adenocarcinoma with porcelain gallbladder. *J Gastroenterol Hepathol*; 2003;18:995-8.
9. Yamamoto A, Ozeki Y, Horita R. A case of well differantiated mucinous carcinoma of the gallbladder. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi* 2010;107:1821-7.

OLGU YAZISI / CASE REPORT

## POSTERİOR İNTEROSSEÖZ SİNİRİN KISMİ FELCİ PARTIAL PARALYSIS OF POSTERIOR INTEROSSEOUS NERVE

Mehlika PANPALLI ATEŞ<sup>1</sup>, Hayat GÜVEN<sup>1</sup>, Sevgi FERİK<sup>2</sup>, Selim Selçuk ÇOMOĞLU<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniği  
<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı

### ÖZ

Radial sinirin dirsek düzeyindeki etkilenimi; radial tünel sendromu ve posterior interosseöz sinir sendromu olarak iki farklı klinik tabloya neden olur. Radial tünel sendromu motor güçsüzlük oluşturmadan ağrı ve nadiren duyu bozukluğuna yol açarken; posterior interosseöz sinir sendromu elin ekstansör kaslarında güçsüzlük ile bulgu verir ve duyu bozukluk izlenmez. Bu yazıda önkola travma sonrası sağ el üçüncü parmakta ekstansiyon kaybı gelişen ve elektromiyografide posterior interosseöz sinir tuzaklanması saptanan bir hasta sunulmuş ve oldukça nadir karşılaşılan parsiyel posterior interosseöz sinir sendromunun, radial sinir tuzaklanmalarının ayırıcı tanısında akılda tutulmasının önemi vurgulanmıştır.

**ANAHTAR KELİMELER:** Sinir basısı sendromları; Radial Sinir; Elektromiyografi; Posterior İnterosseöz Sinir Sendromu

### ABSTRACT

Radial tunnel syndrome and posterior interosseous nerve syndrome is a clinical picture of the radial nerve is affected at the elbow level. Radial tunnel syndrome without causing motor weakness, led to pain and rarely led to sensory impairment while posterior interosseous nerve syndrome can present with hand extensor muscle weakness and without sensory impairment. In this article, we presented a patient, who exposed to forearm trauma and right and third finger extension loss developing and consequently electromyography was determined the posterior interosseous nerve entrapment. The differential diagnosis is emphasized the importance of keep in mind, rarely encountered partial posterior interosseous nerve syndrome radial nerve entrapments.

**KEYWORDS:** Nerve Compression Syndromes; Radial Nerve; Electromyography; Posterior Interosseous Nerve Syndrome

**Geliş Tarihi / Received:** 23.06.2016  
**Kabul Tarihi / Accepted:** 01.08.2017

**Yazışma Adresi / Correspondence:** Mehlika Panpallı Ateş, Uzman Dr.

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği, 06110, Dışkapı /Ankara  
muefhulkika@gmail.com



## GİRİŞ

Radial sinirin motor dalı olan posterior interosseöz sinir (PİS)'in felci median ve ulnar sinirlerin tuzaklanmalarına göre daha nadir görülür. Posterior İnterosseöz Sinir Sendromu (PİSS) üst ekstremitate periferik sinir tuzaklanma sendromlarının %0,7'sinden daha azını oluşturur ve tahmini insidansı %0,003'tür (1).

Radial sinir brakial pleksus posterior kordunun devamı olup, C5-T1 spinal sinirlerden köken alır. Radial sinir aksiler çukurun lateral duvarında ilerler, humerusun medialinden oblik şekilde humerusun arkasına ve aşağı doğru inerek spiral oluktan geçer. Triceps kasını innerve eder ve triceps kasının iki başı arasından geçerek ilerler. Daha sonra önkola kadar uzanan anconeus kasını; kolun distalinde ise brakioradialis, ekstansör karpi medialis longus ve brevis kaslarını innerve eder. Böylece ön kol ve el bileği ekstansiyonu, nötral pozisyonda ön kol fleksiyonu, önkol supinasyonu ve başparmak ekstansiyonu ve abduksiyonunu sağlar. Radial sinirin duysal bileşeni kol posteriorundan, önkol ve elden kutanöz afferent dalları taşır (2,3,4). Radial sinir önkol hizasında supinator kastan önce ikiye ayrılarak PİS (saf motor) ve superficial radial siniri (saf duyu) oluşturur. PİS'in ilk innerve ettiği kas supinatör kastır ve bu kasın altından geçerek ekstansör digitorum komminis (EDC), ekstansör karpi ulnaris (ECU) ve ekstansör digiti minimi (EDM) kaslarını innerve eder (2). Hastaların çoğunda radial sinirin ekstansör karpi radialis longus ve brevis kaslarını innerve ettikten sonra basıya uğraması ile PİSS gelişir. PİSS'de klinik bulgular elin ekstansör kaslarında güçsüzlük ve bazen önkol ve el dorsal yüzünde künt veya batıcı tarzda ağrıyı içerir, duyu korunmuştur. PİSS komplet ya da parsiyel olabilir. Parsiyel PİSS'de el bileği ekstansörlerinden çok parmak ekstansörleri etkilenir. Bu yazıda travma sonrası gelişen PİSS'lu bir hasta sunularak, tanıda ENMG'nin önemi vurgulanmıştır.

## OLGU

Yetmişbir yaşında, erkek hasta, kol ve ön kola şiddetli, künt travmaya neden olan trafik kazasından sonra sağ elinin ikinci ve üçüncü parmaklarında uyuşma olduğunu, travmayı izleyen beşinci günde ise bu parmaklarını yukarı

doğru kaldıramadığını fark etmiş. Üç gün sonra ikinci parmağındaki güçsüzlük düzelmiş, ancak üçüncü parmağındaki yakınması devam etmiş. Hipertansiyon öyküsü olan hastanın soygeçmişinde özellik yoktu. Hastanın nörolojik muayenesinde üçüncü parmak metakarpofalangeal (MP) eklemünde aktif ekstansiyon kaybı saptandı. İkinci parmak ekstansiyonu korunmuştu (**Resim 1**). Kol, önkol ve elin duyu muayenesi normaldi. Elektronöromyografi (ENMG)'de sağ ekstansör indicis proprius kasından kayıt alın-



**Resim 1:** Sağ el-bilek dorsifleksiyonu ve tüm el parmaklarında, digit III-V'te belirgin olan metakarpofalangeal eklemde ekstansiyonda güç kaybı izlenmektedir.

rak yapılan sağ radial sinir birleşik kas aksiyon potansiyeli (BKAP) amplitüdü düşük ve motor iletim hızı yavaşlamış olarak bulundu. Duyu iletimi ve sağ median ve ulnar sinir iletimleri normal sınırlardaydı (**Tablo 1**). İğne EMG'sinde ekstansör digitorum komminis kasında fibrilasyon potansiyelleri ve pozitif keskin dalgalar izlendi,

**Tablo 1:** Sinir İletim Çalışması Bulguları

Sinir			
Radial motor, sağ			
BKAP amplitüd (mv)	6,31	2,26	
Distal latans (m/s)			46,3
SIH (m/s)			
Radial duyu, sağ			
BSAP amplitüd (µV)	25,3		
SIH (m/s)	46,2		

Anormal değerler koyu tonda izlenmektedir.  
BKAP: Birleşik kas aksiyon potansiyeli BSAP: Birleşik sinir aksiyon potansiyeli SIH: Sinir iletim hızı  
PV: Potansiyel Yok

istemli motor ünite potansiyeli (MÜP) elde edilemedi (**Tablo 2**). Ekstansör karpi radialis, brakiyoradialis, triceps ve abduktor pollicis longus kaslarında elektrofizyolojik bulgular normaldi. Median ve ulnar sinir iletim çalışmaları normal sınırlarda bulundu.

**Tablo 2:** İğne EMG Çalışması Bulguları

Kas	
Ekstansör Indisis Proprius, sağ	
Fibrilasyon	-
Pozitif Keskin Dalga	-
Normal MÜP	+4
MÜP amplitüd (µV)	0,5-2
MÜP süresi (m/s)	5-15
Rekrütman	Tam
Ekstansör Digitorum Komminis, sağ	
Fibrilasyon	+3
Pozitif Keskin Dalga	+3
Normal MÜP	*
MÜP amplitüd (µV)	*
MÜP süresi (m/s)	*
Rekrütman	*
Ekstansör Karpi Radialis, sağ	
Fibrilasyon	-
Pozitif Keskin Dalga	-
Normal MÜP	+4
MÜP amplitüd (µV)	0,5-1,5
MÜP süresi (m/s)	5-15
Rekrütman	Tam
Brakioradialis, sağ	
Fibrilasyon	-
Pozitif Keskin Dalga	-
Normal MÜP	+4
MÜP amplitüd (µV)	0,5-1,5
MÜP süresi (m/s)	5-15
Rekrütman	Tam
Triceps, sağ	
Fibrilasyon	-
Pozitif Keskin Dalga	-
Normal MÜP	+4
MÜP amplitüd (µV)	0,5-1,5
MÜP süresi (m/s)	5-15
Rekrütman	Tam
Abduktor Pollis Longus, sağ	
Fibrilasyon	-
Pozitif Keskin Dalga	-
Normal MÜP	+4
MÜP amplitüd (µV)	0,5-1,5
MÜP süresi (m/s)	5-15
Rekrütman	Tam

Anormal değerler koyu tonda izlenmektedir. \*: İstemi kasi elde edilemedi. MÜP: Motor Ünite Potansiyeli

Sağ üst ekstremitte direk grafisi normal olan hastanın ön kol manyetik rezonans görüntüleme (MRG)'sinde sinir basısına ya da tendon rüptürüne ait patoloji saptanmadı. Hasta el rehabilitasyonu programına alındı. Bu sunum için olgudan bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

## TARTIŞMA

Radial sinir brakial pleksus posterior kordunun devamı olup, C5-T1 spinal sinirlerden köken alır. Radial sinir aksiler çukurun lateral duvarında ilerler, humerusun medialinden oblik şekilde humerusun arkasına ve aşağı doğru inerek spiral oluktan geçer. Triceps kasını innerve eder ve triceps kasının iki başı arasından geçerek ilerler. Daha sonra önkola kadar uzanan anconeus kasını; kolun distalinde ise brakioradialis, ekstansör karpi medialis longus ve brevis kaslarını innerve eder. Böylece ön kol ve el bileği ekstansiyonu, nötral pozisyonda ön kol fleksiyonu, önkol supinasyonu ve başparmak ekstansiyonu ve abduksiyonunu sağlar. Radial sinirin duysal bileşeni kol posteriorundan, önkol ve elden kutanöz afferent dalları taşıır (2,3,4). PİS, radial sinirin pür motor dalıdır; ekstansör digitorum komminis (EDC), ekstansör karpi ulnaris (ECU) ve ekstansör digiti minimi (EDM) kaslarını innerve eder. PİS felci etyolojisinde, travma, brakial nörit, yer kaplayıcı lezyon, elin tekrarlayıcı aşırı kullanımı, diyabetes mellitus ve romatoid artrit gibi siste-

mik hastalıklar ve daha nadiren de motor nöron hastalığı, multifokal motor nöropati, hereditör brakial pleksopati, monomelik amyotrofi, Monteggia fraktürünün (ulna 1/3 proksimali kırığı ile radius başı dislokasyonu) komplikasyonu gibi birçok neden bulunmaktadır (1).

PİSS'li hastalarda başparmak ve işaret parmağında daha sık olmak üzere ilk üç parmağın ekstansiyonunda güçsüzlük vardır, ancak el bilek ekstansiyonu korunmuştur. Çünkü ekstansör karpi radialis tuzaklanmanın proksimalinde kalmıştır. Elektrodagnostik çalışmalar, sinir hasarının lokalize edilerek tanının doğrulanması açısından önemlidir. Aynı zamanda kas denervasyonunun şiddeti hakkında bilgi verir (5). ENMG'de ekstansör indicis proprius kasından kayıtlanan radial sinir birleşik kas aksiyon potansiyeli (BKAP) amplitüdü düşüktür veya BKAP elde edilemez. Duyu iletimi normal sınırlardadır. Ekstansör digitorum komminis (EDC), ekstansör karpi ulnaris (ECU) ve ekstansör digiti minimi (EDM) kaslarında denervasyon bulguları izlenir. Triceps, brakioradialis, ekstansör carpi radialis longus ve brevis, supinator kasları etkilenmez. Radial Tünel Sendromu (RTS) ve PİSS sanki birbirinin yerine kullanıyor olsa da klinikleri farklıdır. RTS motor güçsüzlük oluşturmadan ağrı ve sıklıkla duyu bozukluklarına neden olurken, PİSS düşük bilek olarak adlandırılan ekstansör kas grup güçsüzlüğü ile bulgu vermektedir ve bu sendromda duyuda bir bozukluk olmamaktadır.

Parmak ekstansör güçsüzlüğü gibi motor işaretler PİSS'i RTS'ndan ayırır. Yine de PİSS'te ekstansör karpi radialis longus kas fonksiyonu ve ekstansiyon yapabilmesi ve bileğin radial deviasyonu korunmuştur. Ekstansör karpi radialis longus kasının fonksiyonu, bileğin ekstansiyon ve radyal deviasyonu korunur. Bunun yanında PİSS genellikle ağrı ile presente olmazken RTS'li hastalarda ağrı baskın olarak görülür (6,7).

Ekstansör tendon yırtılmaları PİSS'i taklit edebilir, ancak klinik muayene ve ENMG ve ön kol MRG bulguları ayrımlarını sağlar. Ayrıca ön kol MRG'si PİS'i sıkıştırarak tuzaklanmasına sebep olan lipom veya başka yer kaplayıcı lezyonların belirlenmesinde yardımcı olur (5).

Hastamızda semptomların travma sonrası gelişmiş olması; sağ el üçüncü parmakta ekstansiyon kaybı varken, ön kol ekstansiyonu ve supinasyonunun, el bileği ekstansiyonunun etkilenmemesi ve duyu kaybının bulunmaması nedeniyle PİSS tanısı öncelikle düşünüldü ve yapılan ENMG ile tanı doğrulandı. ENMG'deki rejenerasyon bulgularının, hastanın semptomlarındaki kısmi düzelme ile uyumlu olduğu düşünüldü. Hastamızın rehabilitasyon programına alınarak izlenmesine karar verildi.

PİSS'li hastalarda görüntüleme çalışmalarında sinire bası oluşturan yer kaplayıcı bir lezyon bulunmadığı durumlarda; aktivitenin düzenlenmesi, splintleme, fizik tedavi, anti-inflamatuvar ilaçlar ve/veya kortikosteroid enjeksiyonları gibi konservatif tedavi yöntemleri önerilmektedir. Altı ay içinde bulgularda herhangi bir düzelme olmazsa, iyileşme olasılığı daha düşüktür ve bu durumda hastaların cerrahiye yönlendirilmesi uygundur (1,3). Kapalı yaralanmalarda bazı yazarlar, cerrahiden önce en az 8 hafta hastanın takibini tercih etmekteyken; diğerleri ise sinirin eksplorasyon ve dekompresyonunun akut dönemde daha iyi sonuç vermesi nedeniyle erken cerrahi önermektedirler (8).

Bu olgu sunumu ile; PİSS tuzaklanmalarının çeşitliliğine ve hastamızda olduğu gibi sadece üçüncü parmak ekstansiyon kaybıyla da klinik tablonun ortaya çıkabileceğine dikkat çekilmiş; nadir görülen PİSS'nun üst ekstremitte tuzak nöropatilerinin ayırıcı tanısında akılda tutulmasının önemi ve ENMG'nin tanısal katkısı vurgulanmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Bevelacqua AC, Hayter CL, Feinberg JH, Rodeo SA. Posterior Interosseous Neuropathy: Electrodiagnostic Evaluation. *HSS J.* 2012;8(2):184-9.
2. Ertekin C. Pleksus Brakialisten Çıkan Sinirler: Sentral ve Periferik EMG Anatomi-Fizyoloji-Klinik. *Meta basım matbaacılık, Bornova-İzmir* 2006:387-453.
3. Dumitru D. Focal Peripheral Neuropathies. In: Dumitru D, ed. *Electrodiagnostic Medicine.* Hanley&Belfus, Philadelphia 2002:1043-126.
4. Han BR1, Cho YJ1, Yang JS1, Kang SH1, Choi HJ1. Clinical features of wrist drop caused by compressive radial neuropathy and its anatomical considerations. *J Korean Neurosurg Soc.* 2014;55(3):148-51.

5. Knutsen EJ1, Calfee RP. Uncommon upper extremity compression neuropathies. *Hand Clin.* 2013;29(3):443-53.
6. Moradi A, Ebrahimzadeh MH, Jupiter JB. Radial Tunnel Syndrome, Diagnostic and Treatment Dilemma. *Arch Bone Jt Surg.* 2015;3(3):156-62.
7. Tsai P1, Steinberg DR. Median and radial nerve compression about the elbow. *J Bone Joint Surg Am.* 2008;90(2):420-8.
8. Uraloğlu M, Livaoğlu M, Karaçal N. Posterior İnterosseöz Sinirin Kısmi Felci. *Türkiye Klinikleri Journal of MedicalSciences.* 2012; 32(3):874-877.

OLGU YAZISI / CASE REPORT

## **OPERE LOMBER DİSK HERNİSİ SONRASI VERTEBRAL OSTEOMYELIT GEÇ KALINMIŞ VAKA: OLGU SUNUMU**

### **OPERATION LOMBER DISCONTINUOUS VERTEBRAL OSTEOMYELITE LATE INCIDENT: CASE REPORT**

Serhat YILDIZHAN, Mehmet Gazi BOYACI

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı

#### **ÖZ**

Lomber disk hernileri (LDH) günümüzde birçok insanı etkileyen, yaşam kalitesini bozan en temel hastalıklardan biridir. Konservatif tedavilerden fayda görmeyen hastalarda cerrahi tedavi planlanır. Cerrahi sonrası görülen sık komplikasyonlardan bir tanesi spinal enfeksiyonlardır. Spinal enfeksiyonlar disk mesafesini ve vertebra gövdesini etkileyebilir, lomber abse oluşturabilir. Enfeksiyon klinik olarak bel ve sırt ağrısı ile başlar, daha sonra hareket kısıtlılığı, bacak ağrısı ve ateş görülür. Bu olgumuzda daha önce 2 kez lomber operasyon geçiren, abse ve fistül oluşmasına rağmen 2 yıl boyunca medikal olarak takip edilen hasta sunarak spinal enfeksiyonlara yaklaşım konusuna dikkat çekmek istedik.

**ANAHTAR KELİMELER:** Lomber disk hernisi, Osteomyelit, Cerrahi tedavi

#### **ABSTRACT**

Lomber disc hernias (LDH) are one of the most basic illnesses that affect many people today. Surgical treatment is planned in patients who do not benefit from conservative treatment. One of the common complications after surgery is spinal infections. Spinal infections can affect disc spacing and vertebral body, and may create lumbar abscesses. Infection begins clinically with low back and back pain, then movement limitation, leg pain and fever are seen. We wanted to draw attention to the approach to spinal infections by presenting a patient who had undergone a lomber operation twice in our present circumstance and who was followed up for 2 years despite medical abcess and fistula formation.

**KEYWORDS:** Lomber disc hernia, Osteomyelitis, Surgical treatment

**Geliş Tarihi / Received:** 17.01.2018

**Kabul Tarihi / Accepted:** 25.05.2018

**Yazışma Adresi / Correspondence:** Dr. Öğr. Üyesi Serhat Yıldızhan  
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı  
serhatyildizhan07@gmail.com



## GİRİŞ

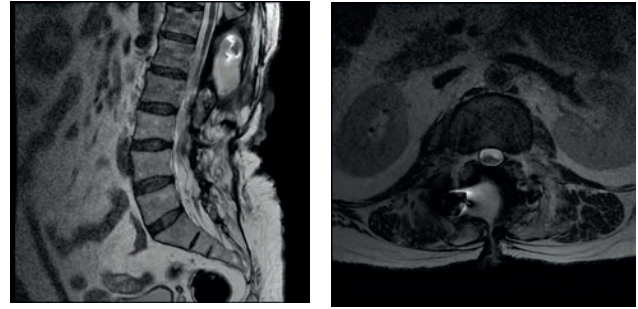
Günümüzde LDH de ilk yaklaşım konservatif yöntemlerdir. Konservatif tedaviye rağmen şikayetlerin devam etmesi, ilerleyici motor kayıp gelişmesi, kauda equina sendromu gibi nedenlerle cerrahi kararı alınabilir. Günümüzde cerrahi olarak en sık klasik mikrodisektomi tercih edilmektedir. Disektomi sonrası komplikasyon olarak yüzeysel yara enfeksiyonu, derin enfeksiyon, artmış motor defisit, Bos fistülü ve rekürrent disk hernileri sayılabilir (1). Bu komplikasyonlar içinde yer alan spinal enfeksiyonlar; hastayı fiziksel, sosyal ve psikolojik olarak olumsuz etkiler ve bu durum hem hasta için hem de ülke için büyük bir ekonomik sorun oluşturur (2). Enfeksiyondan şüphe edilen vakalarda bir an önce tanı konulmalı ve tedavi sürecine vakit kaybetmeden başlanmalıdır.

**ONAM:** Hastadan vaka sunumu için onay alınmıştır.

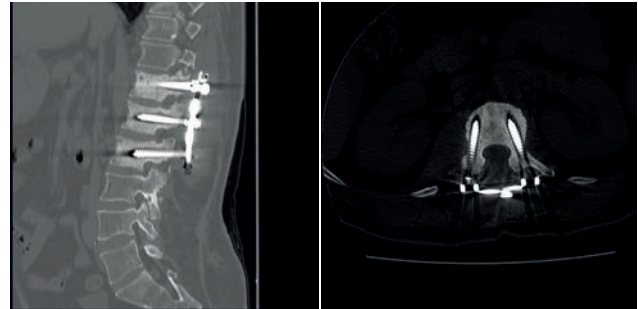
## OLGU

55 yaşında, 3 yıl önce başlayan bel ve sağ bacak ağrısı nedeniyle LDH tanısı konularak opere edilen, fakat operasyondan 2 ay sonra şikayetlerinde belirgin düzelme olmaması üzerine nüks LDH tanısı konularak diskektomi+spinal enst-rumantasyon yapılan erkek hasta kliniğimize lomber bölgede fistülize olmuş abse nedeniyle başvurdu. Özgeçmiş sorgulamasında son operasyonun 2 yıl önce uygulandığı ve operasyondan 20 gün sonra yara yeri akıntısı olduğu öğrenildi. Hasta bu şikayetler ile yaklaşık 2 yıl boyunca takip edildiğini ve her 20 günde bir lomber bölgeden ponksiyon yapıp abse boşaltıldığını ve antibiotik kullandığını ifade etti. Yapılan nörolojik muayenesinde şiddetli bel ağrısı, intervertebral spazm, yürümede güçlük, lomber bölgede L1 lokalizasyonunda fistülize olmuş ve pürülan akıntı gelen açıklık mevcut idi. Laboratuvar incelemelerinde WBC:20100, Hb:12,2 g/dl, Sedimantasyon:83 mm/saat CRP:14,5 mg/dL, Brucella aglütinasyon negatif idi. Hastadan gönderilen yara kültüründe üreme olmadı. Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve Magnetik Rezonans Görüntüleme (MRG) yapıldı. Görüntüleme sonucunda T12, L1, L2 vertebralar düzeyinde posteriora paraspinal alanda yaklaşık 68x32 mm boyutlarında T1 AG hipointens,

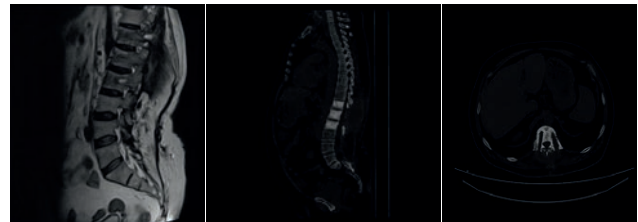
T2 AG de hiperintens, IVKM takiben inferiorunda hafif kontrastlanma gösteren koleksiyon (**Şekil 1**) ve T12, L1, L2 vertebra korpuslara yerleştirilen metalik vidaların çevrelerinde gevşeme ile uyumlu hipodens trakt görünümü izlenmiştir. Yine T12-L1, L2 vertebra korpuslarda yaygın tüm korpusu tutan ve posterior elemanlara uzanım gösteren skleroz izlendi (**Şekil 2**). Hastaya operasyon kararı verilerek posterior girişim ile abse boşaltıldı ve metalik fiksatorler söküldü (**Şekil 3**). Abse materyallerinden yara yeri kültürü, mantar ve tüberküloz kültürleri gönderildi. Kültürler sonucunda herhangi bir üreme olmadı. Operasyondan 20 gün sonra yara yerinde koleksiyon oluşması üzerine reopere edilerek



**Şekil 1:** Preoperatif MRG görüntüleme. T12, L1, L2 vertebralar düzeyinde posteriora paraspinal alanda yaklaşık 68x32 mm boyutlarında T1 AG de hipointens, T2 AG de hiperintens, IVKM takiben inferiorunda hafif cidarsal kontrastlanma gösteren koleksiyon



**Şekil 2:** Preoperatif BT görüntüleme. T12, L1, L2 vertebra korpuslara yerleştirilen metalik vidaların çevrelerinde gevşeme ile uyumlu hipodens trakt görünümü ve T12-L1,L2 vertebra korpuslarda yaygın tüm korpusu tutan ve posterior elemanlara uzanım gösteren skleroz görüntüsü



**Şekil 3:** Postoperatif 3.ay çekilen Lumbosakral BT ve MRG görüntüleri



abse boşaltıldı. Hastaya teikoplanin 1x400 mg ve siprofloksasin 2x2 mg başlandı ve yaklaşık 2 ay bu tedavi devam ettirildi. Takipler esnasında eritrosit sedimentasyon hızı 58 mm/saat ve CRP değeri 1,62 mg/dL 'ye kadar geriledi. Klinik olarak ağrılarında belirgin bir gerileme olan hasta 2 ay sonra oral amoksisilin-klavulanik asit 3x625 mg dozda 1 ay kullanmak önerisiyle taburcu edildi. 1 ay sonraki kontrollerinde CRP değerleri normale geldi ve antibiyoterapi sonlandırıldı. 3. ay kontrollerinde klinik ve laboratuvar olarak patoloji izlenmedi.

## TARTIŞMA

Spinal enfeksiyonlar günümüzde iş yükü kaybının en önemli nedenlerinden birisidir. Patogeneze, enfeksiyonun kronikliğine, tutulumun boyutlarına ve hastanın özelliklerine göre çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir (3). Genel olarak spontan veya postoperatif spinal enfeksiyonlar olarak gruplandırılabilir.

Postoperatif enfeksiyon gelişme riski yaklaşık %4 tür. Nüks disk hernilerinde enfeksiyon riski daha da artarken, enstrumantasyonun cerrahiye eklenmesi ile bu risk daha da artar. Postoperatif spinal enfeksiyonların tedavileri uzun süreli ve pahalıdır. Aynı zamanda hastada ciddi fiziksel ve psikolojik hasarlar bırakır. Bu riskleri azaltmak için uygun cerrahi yöntem tercih edilmesi, ameliyat ortamının sterilizasyonuna özen gösterilmeli, operasyon süresi olabildiğince kısa tutulmalı ve operasyon öncesi profilaktik antibiyotik kullanımına dikkat edilmelidir.

Enstrumantasyon kullanımının enfeksiyona etkisi ile ilgili birçok çalışma vardır. Bydon ve ark nın yaptığı bir çalışmada primer spinal enfeksiyon nedeniyle opere edilen 118 hasta, 10 yıl boyunca takip edilmiş (4). Bu hastalar sadece dekompresyon yapılan ve dekompresyon+enstrumantasyon yapılan hastalar olarak 2 gruba ayrılmış. Takip sonucunda sadece dekompresyon uygulanan grupta, hastaların %8.33'ünde osteomyelit veya diskit devam ederken, enstrü-mante edilmiş gruptaki hastaların ise % 9.76'sında enfeksiyonun devam ettiği bulunmuştur.

Alonso ve ark nın yaptığı bir çalışmada opere olan 81 adet spondilodiskitli hasta in-

celenmiş (5), hastalar debridman yapılan, debridman+enstrumantasyon yapılan ve debridman+eski enstrumantasyonu bırakılan hastalar olarak 3 gruba ayrılmış ve 2 yıl süre ile takip edilmiştir. Takip sonucunda 3 grupta da iyileşme oranları benzer bulunmuştur. Bu çalışmalardan sonra özellikle spondilodiskitte uzamış ve spesifik antibiyotik tedavisinin hala tedavinin ana dayanağı olduğu, ameliyatın mikrobiyolojik doğrulama ve histopatolojik çalışma için örnekler sağladığını, bulaşıcı odakların debridmanına izin verdiğini belirtmişlerdir. Metalik fiksasyon materyalinin kullanımının da instabil omurgada iyileşmeyi hızlandırdığını ve kronik enfeksiyona yakınlık yaratmadığını bildirmişlerdir.

Enfeksiyonlar operasyondan sonra çeşitli zamanlarda ortaya çıkabilir. Kern, lomber cerrahiden 2,5 yıl sonra vertebral osteomyelit, diskitis ve menenjit gelişen bir olgu yayınlamıştır (6). Aydın ve arkadaşlarının çalışmasında bu süre ortalama 36 gündür (7). Bizim olgumuzda enfeksiyon bulguları 20. günde ortaya çıkmıştır.

Tanıda spesifik bir muayene bulgusu olmadığı için laboratuvar testleri ve görüntüleme yöntemleri ön plana çıkar. Lökosit sayısı, sedimentasyon hızı, CRP değeri, kültürler, direkt grafi, BT ve MRG tanıda bize yardımcı parametrelerdir. Sedimentasyon hızının her türlü cerrahiden sonra da erken dönemde yükselmesi nedeniyle CRP tetkiki daha ön plandadır (8,9). CRP, enfeksiyon gelişen hastada postoperatif erken dönemde yükselir ve tedavi sonrası erken dönemde normale iner. Bizim olgumuzda da CRP postoperatif erken dönemde hızla azaldı. Direkt grafi erken dönemde tanıda yetersizdir, kemik pencerede ki değişiklikler BT, yumuşak doku ve disk mesafesindeki patolojiler ise MRG ile daha ayrıntılı değerlendirilir. Bizim olgumuzda çekilen BT ve MRG ile tanı rahatlıkla kondu.

Tüm yöntemlerin yanında enfeksiyon bölgesinden etkenin üretilmesi büyük öneme sahiptir. Uygun tekniklerle kültür alınsa bile etkenin tespiti çok az vakada mümkün olmaktadır. Bizim olgumuzda da enfeksiyon başlangıcından sonra uzun zaman geçmesi ve bu sürede sürekli antibiyotik tedavisi almasının da etkisiyle etken üretilmedi.

Bazı bakteriler ürettikleri bir biyofilm ile implant yüzeyine daha kolay tutunabilirler. Biyofilm tabakası içerisindeki bakteriler birbirlerine ve alt katmanlara daha sıkı bir şekilde bağlanırlar. *S. aureus*, koagülaz negatif *Staphylococcus* ve *Propionibacterium*, biyofilm oluşturarak spinal enstrümantasyondan sonra postoperatif enfeksiyonlarda rol oynayan en yaygın organizmalardır. Günümüzde bakterilerin bu biyofilm tabakası ile enstrümanlara tutulmasını önlemek amacıyla gümüş iyonlarla kaplı antibakteriyel vida sistemleri geliştirilmeye başlanmıştır. Yapılan deneylerde gümüşün spinal cerrahide kullanılan stabilizasyon sistemlerini bu ve buna benzer bakterilerin etkilerinden %91.6 gibi yüksek bir oranda koruduğu ve hatta bu ölümcül bakterileri öldürdüğü belirlenmiştir. Yine omurga cerrahisinde kullanılan implantların hidrojen peroksit ile önceden işlenmiş titanyum granüllerin enfeksiyon ile ilişkili bakterilerin büyümesini engellediği bulunmuştur (10).

Enfeksiyon gelişikten sonra izlenilmesi gereken prosedür araştırmalarla kanıtlanmış protokoller çerçevesinde olmalıdır. Aksi halde, osteomyelit, abse, menenjit, sepsis veya mesafe enfeksiyonunun devam etmesi gibi ilerlemiş komplikasyonlar kaçınılmaz olacaktır. Postoperatif enfeksiyonunun tedavisinde öncelikle konservatif tedavi uygulanmalıdır. Uzun süreli istirahat, analjezik ve antienflamatuvar, uygun ve en az dört hafta sürecek intravenöz antibiyotik tedavisi, sonrasında 3-6 hafta oral antibiotik tedavisi önerilir. Bizim olgumuzda da 8 hafta intravenöz antibiotik tedavisi sonrası 4 hafta oral antibiotik ile tedavi sonlandırıldı.

Medikal tedavinin etkili olmadığı, ilerleyici nörolojik defisit gelişen veya segmenter instabilitesi bulunan hastalarda, cerrahi tedavi önerilir (11, 12). Nörolojik durumdan bağımsız olarak, epidural abse mevcudiyeti cerrahi tedavi gerektirir. Instabilite yaratmayan bir epidural abse, sadece laminektomi ile de tedavi edilebilir (11, 13). Cerrahide amaç abse boşaltılması, geniş debridman yapılması, etkenin üretilmesi ve varsa deformatörlerin düzeltilmesidir. Temel kabul gören görüş spinal enfeksiyon bulunan bir hastada 1 yıldan kısa süreli enstrümantasyon varsa sadece abse boşaltılması ve debridman yapılarak kültür sonucuna uygun antibiyoterapi yapılması,

1 yıldan uzun süreli enstrümantasyon mevcut ise sistemin sökülebileceği gerektirir. Spinal enfeksiyona bağlı instabilite varsa enstrümantasyon yapılmalıdır.

Sonuç olarak komplikasyon cerrahi branşların her zaman karşılaştığı bir durum ve bilimsel bir gerçektir. Komplikasyon yönetiminin hangi protokollerde olacağı bilimsel olarak belirlenmiştir. Bizlerin yapacağı komplikasyon geliştiğinde ondan kaçmak değil, bilimin gerektirdiği ilkeler doğrultusunda hızlı tanı ve tedavi protokollerini uygulamaya koymak olmalıdır. Böylece oluşabilecek daha büyük komplikasyonların da önüne geçmiş olabiliriz.

## KAYNAKLAR

1. Shekman A, Granick M S, Solomon M P, et al.; Management of infected laminectomy wounds. *Neurosurgery* 35:307-9, 1994.
2. Naderi S: İyatrojenik disk aralığı enfeksiyonları, *Spinal Enfeksiyonlar*, ed: Palaoğlu S. İzmir: Türk Nöroşirürji Derneği Spinal Cerrahi Grubu Yayınları Yayın No 1: 211-214
3. Hancı Murat, Omurga ve Omurga enfeksiyonları Temel Nöroşirürji Cilt 2 1337-1348,2010.
4. Mohamad Bydon, Rafael De la Garza Ramos Mohamed Macki, Matthew Naumann, Daniel M. Sciubba, Jean-Paul Wolinsky, Ali Bydon, Ziya L. Gokaslan, Timothy F. Witham, *World Neurosurgery* December 2014 Volume 82, Issue 6, Pages e807–e814
5. Martín-Alonso J, Delgado-López PD, Castilla-Díez JM, Martín-Velasco V, Galacho-Harriero AM, Ortega-Cubero S, Araus-Galdós E, Rodríguez-Salazar A. *Neurocirugia (Astur)*. 2018 Mar - Apr;29(2):64-78. doi: 10.1016/j.neucir.2017.09.001. Epub 2017 Oct 19. Spanish.
6. Kern RZ, Houpt JB: Pyogenic vertebral osteomyelitis: diagnosis and management. *Can Med Assoc J*. 15;130(8):1025-1028, 1984
7. Aydın A, Aydın Ö.A. , Toplamaoğlu H, *Türk Nöroşirürji Dergisi*, 2004, Cilt:14, Sayı:3, 158-165.
8. Jönsson BO, Söderholm R, Strömqvist B: Erythrocyte sedimentation rate after lumbar spine surgery. *Spine* 16(9): 1049-1050, 1991
9. Whalen JL, Brown ML, McLeot R, Fitzgerald GL: Limitations of indium leucocyte imaging for the diagnosis of spine infections. *Spine* 16(2): 193-197, 1991
10. Acke Ohlin, Emma Mattsson, Matthias Mörgelin, Julia R. Davies, Gunnel Svensäter, Stéphane Corvec, Pentti Tengvall, Kristian Riesbeck, *European Spinal Journal* <https://doi.org/10.1007/s00586-018-5619-8>.

**11.** Ogden AT, Kaiser MG. Single-stage debridement and instrumentation for pyogenic spinal infections. *Neurosurg Focus* 2004;17(6):E5.

**12.** Hee HT, Majd ME, Holt RT, Pienkowski D. Better treatment of vertebral osteomyelitis using posterior stabilization and titanium mesh cages. *J Spinal Disord Tech* 2002;15(2):149–56.

**13.** Boody BS, Jenkins TJ, Maslak J, Hsu WK, Patel AA. Vertebral Osteomyelitis and Spinal Epidural Abscess: An Evidencebased Review. *J Spinal Disord Tech* 2015;28(6):E316–27.