

# Turkish Journal of Clinics and Laboratory



*Türk Klinik ve Laboratuvar Dergisi*

Şubat 2020, Cilt:11 Sayı:1





# TURKISH JOURNAL of CLINICS and LABORATORY

## Türk Klinik ve Laboratuvar Dergisi

### Editors in Chief / Baş Editörler

Mustafa ALTINBAS, Prof Dr

Serdar GUNAYDIN, Prof Dr

### Associate Editor / Yardımcı Editör

Orhan Eren GUNERTEM, Dr

### Editorial Board/ Yayın Kurulu

Berkant OZPOLAT, Prof Dr

Mehmet ILERI, Prof Dr

Fevzi TORAMAN, Prof Dr

Hatice Gul HATIPOGLU, Prof Dr

Bulent OZKURT, Prof Dr

Elvan ISERI, Prof Dr

Zubeyde NUR, Prof Dr

Isil OZKOCAK, Prof Dr

Kanat OZSİK, Prof Dr

Erkan DIKMEN, Prof Dr

Pinar OZSİK, Prof Dr

Mehmet Ali ONUR, Prof Dr

Zeliha Gunnur DIKMEN, Prof Dr

Hakan TUZ, Prof Dr

Tolga Resat AYDOS, Associate Prof

Tayfun IDE, DVM

Berrin GUNAYDIN, Prof Dr

Gokturk FINDIK, Prof Dr

Koray AYDOĞDU, Dr

Salih CESUR, Associate Prof

Mehmet GUMUS, Prof Dr

### Franchise Owner / İmtiyaz Sahibi

Eyüp ÖZEREN

### Manager In Charge / Sorumlu Yazı İşleri Müdürü

Metin ÖZSOY

E-mail: mozsoy@ada.net.tr

### General Coordinator / Genel Koordinatör

Cihan SEVİM

### Graphic Design / Grafik Tasarım

Öznur ÖZYALIM

E-mail: oznurortadogu@gmail.com

Yayın İdare Merkezi

DNT ORTADOĞU YAYINCILIK A.Ş.

dntortadoguyayincilik.com

TURKISH JOURNAL of CLINICS and LABORATORY

Şubat 2020, Cilt: 11, Sayı: 1 Üç Ayda Bir Yayınlanır

Makale gönderim adresi: <http://dergipark.gov.tr/tjcl/>



## INTERNATIONAL ADVISORY BOARD / ULUSLARARASI DANIŞMA KURULU

Kevin McCUSKER, Prof Dr, (USA)

Terrence GOURLAY, Prof Dr, (England)

Youry OSTROVSKY, Prof Dr, (Belarus)

Konstadinos PLESTIS, Prof Dr. (Greece)

Nikos KOSTOMITSOPOULOS, MD, (Greece)

Quirino PIACEVOLI, Prof Dr, (Italy)

Mustafa CIKRIKIOGLU, Prof Dr, (Switzerland)

Ingp KUTSCHKA, Prof Dr, (Germany)

Thomas MODINE, Prof Dr, (France)

Thomas HIRNLE, Prof Dr, (Poland)

## PUBLICATION BOARD / YAYIN KURULU

Aydın ACAR (Ankara)

Zekeriya ALANOĞLU (Ankara)

Nermin AKDEMİR (Sakarya)

Ramazan AKDEMİR (Sakarya)

Murat ALBAYRAK (Ankara)

Didem ALİEFENDİOĞLU (Kırıkkale)

Murat ALTAY (Ankara)

Mustafa ALTAY (Ankara)

Fevzi ALTUNTAŞ (Ankara)

Ergin AYAŞLIOĞLU (Kırıkkale)

Koray AYDOĞDU (Ankara)

Özlem Gül UTKU (Kırıkkale)

Mehmet Ali BABADEMEZ (Ankara)

Lütfü BEKAR (Çorum)

Rasim BENGİ (Çorum)

Serap BİBEROĞLU (Karabük)

Murat BOZLU (Mersin)

Salih CESUR (Ankara)

İsmail CEYHAN (Ankara)

Mehmet ÇITIRIK (Ankara)

Selim ÇOLAK (Kırıkkale)

Figen ÇOŞKUN (Kırıkkale)

Cemile DAYANGAN SAYAN (Kırıkkale)

Seher DEMİRER (Ankara)

Turgut DENİZ (Kırıkkale)

Adem İlkay DİKEN (Çorum)

Neslihan DİKMENOĞLU FALKMARKEN (Ankara)

Nermin DİNDAR BADEM (Kırıkkale)

Mete DOLAPÇI (Çorum)

Koray DURAL (Kırıkkale)

Can ERGİN (Ankara)

Salim ERKAYA (Ankara)

Burcu ERSÖZ ALAN (Kırıkkale)

Göktürk FİNDİK (Ankara)

Metin GÖRGÜ (Bolu)

Ümit GÖRKEM (Çorum)

Ülker GÜL (Antalya)

Osman GÜLER (Ankara)

Serdar GÜLER (Çorum)

Nesimi GÜNAL (Kırıkkale)

Yunus GÜRBÜZ (Ankara)

Meltem GÜLHAN HALİL (Ankara)

Selçuk HAZİNEDAROĞLU (Ankara)

Eyüp HORASANLI (Ankara)

Mehmet İBİŞ (Ankara)

Mehmet İLERİ (Ankara)

Erdem KARABULUT (Ankara)

Serdar KARACA (Ankara)

Asım KALKAN (Rize)

Esra Dilek KESKİN (Kırıkkale)

Göksal KESKİN (Ankara)

Orhan Murat KOÇAK (Kırıkkale)

Mitat KOZ (Ankara)

Turgut KÜLTÜR (Kırıkkale)

Suna OĞUZOĞLU (Ankara)

Mustafa ÖĞDEN (Kırıkkale)

Kürşat Murat ÖZCAN (Ankara)

Muhit ÖZCAN (Ankara)

Hacı Mustafa ÖZDEMİR (İstanbul)

Özden ÖZEN ALTUNDAĞ (Ankara)

Adem ÖZKARA (Çorum)

Mustafa ÖZŞAHİN (Düzce)

Oğuzhan ÖZŞAY (İzmir)

Mustafa ÖZTÜRK (Ankara)

Mustafa PAÇ (Ankara)

Cem Kaan PARSAK (Adana)

Faruk PEHLİVANLI (Kırıkkale)

Remzi SAĞLAM (Ankara)

Meral SAYGUN (Kırıkkale)

Hakan SEYİTHANOĞLU (İstanbul)

Mehmet ŞAHİN (Isparta)

Dilek ŞENEN (Antalya)

İbrahim Tayfun ŞAHİNER (Çorum)

Neriman ŞENGÜL (Bolu)

Gökçe ŞİMŞEK (Kırıkkale)

Özgür TATLI (Trabzon)

Selami Koçak TOPRAK (Ankara)

Mehmet TÜRKER (Sakarya)

Serhat ÜNAL (Ankara)

Ramazan Erkin ÜNLÜ (Ankara)

Özge VERGİLİ (Kırıkkale)

Aydın YAĞMURLU (Ankara)

Bülent YALÇIN (Ankara)

Soner YAVAŞ (Ankara)

Neziha YILMAZ (Yozgat)

Esra YÜRÜMEZ SOLMAZ (Ankara)

Sinan ZEHİR (Çorum)

Tevfik ZİYPAK (Erzurum)

İbrahim DOĞAN (Ankara)

Tuğba SARI (Denizli)

# INDEX

## İÇİNDEKİLER

### ORJİNAL MAKALE/ ORIGINAL ARTICLE

- Acil servise başvuran migren hastalarının özürüllük, anksiyete ve depresyon oranlarının belirlenmesi.....1**  
Determination of disability, anxiety and depression rates of migraine patients admitted to emergency department  
Şenol ARSLAN, Orhan DELİCE
- Ağız kokusu farkındalığının anket uygulayarak belirlenmesi ve farklı diş macunlarının ağız kokusuna etkisinin halim-  
eter ile ölçülerek değerlendirilmesi.....7**  
Determination of oral malodor awareness by applying a questionnaire and evaluation of the effect of different toothpastes on  
the oral malodor by halimeter  
Şafak Necati DÖNERTAŞ, İbrahim Levent TANER
- Bir eğitim ve araştırma hastanesinde takip edilen Hepatit B ile enfekte gebelerin değerlendirilmesi.....13**  
Evaluation of hepatitis b infected pregnant followed at a research and training hospital  
Esra Kaya KILIÇ, Şerife Altun DEMİRCAN, Çiğdem Ataman HATİPOĞLU, Kader ARSLAN, Cemal BULUT, Salih CESUR, Sami KINIKLI
- N6-methyladenosine-modifying enzymes are deregulated in multiple myeloma.....18**  
Multipl miyelomda N6-metiladenozin modifiye edici enzimlerin düzensizliği  
Dilara AKCORA YILDIZ
- Effect of serum osmolality on 6-year survival rates in patients with acute myocardial infarction.....24**  
Akut miyokard enfarktüsü geçiren hastalarda serum osmolalitesinin 6 yıllık sağkalım oranlarına etkisi  
Selçuk KANAT, Hakan DEMIRCI, Yasemin USTUNDAG, Fatma Ezgi CAN, Ufuk AYDIN, Gokhan OCAKOGLU
- Fatty liver in patients with acromegaly.....33**  
Akromegali hastalarında yağlı karaciğer  
Aynur ARSLAN, Emine KARTAL BAYKAN, Nazligul KARAUZUM YALCIN, Mustafa UTLU, HavvaTugba KIPER YILMAZ, Alperen Akan-  
sel CAGLAR, Emre DEVE, Emrah DOGAN, Ayse CARLIOGLU
- Serum levels of Pentraxin-3, Vaspin, Apelin and troponin in decompensated heart failure patients.....39**  
Serum pentraxin-3, vaspin, apelin ve troponinin dekompanze kalp yetersizliği hastalarındaki seviyeleri  
Bedri Caner KAYA, Recep DEMİRBAG
- The association of thiol/disulphide homeostasis with 6-month mortality in patients with acute ST-elevation myo-  
cardial infarction .....47**  
Akut ST-elevasyonlu miyokart infarktüsü hastalarında 6 aylık mortalite ve thiol / disulfid ilişkisi  
Mustafa CELIK, Erdoğan SOKMEN, Murat ERER, Serkan SIVRI1, Alp YILDIRIM , Yalçın BODUROGLU, Kenan GUCLU, Sinan  
Cemgil OZBEK

# INDEX

## İÇİNDEKİLER

### **Üçüncü basamak bir hastanede çocukların büyümelerine etkili faktörlerinin retrospektif değerlendirilmesi.....55**

Retrospective evaluation of determinants of young children growth status in a tertiary care hospital

Ayşe KAMAN, Emine POLAT, Can Demir Karacan

### **Value of tissue Doppler imaging and peak acceleration time in prediction of paroxysmal atrial fibrillation in patients with paroxysmal atrial fibrillation .....61**

Paroksizmal atriyal fibrilasyonu olan hastalarda paroksizmal atriyal fibrilasyonun öngörülmesinde doku Doppler görüntüleme ve zirve hızlanma süresi

Fikret KELES, Mustafa CELIK, Recep KARATAS, Ahmet ERSECGIN, Ahmet YILMAZ, Nazif AYGUL, Ahmet AVCI

### **DERLEME/ REVIEW**

### **Çocuklarda akut periodontal hastalıkların teşhis ve tedavisi .....68**

Diagnosis and treatment of acute periodontal diseases in children

Aycan DAL, Şafak Necati DÖNERTAŞ

### **Analysis of Protein C Inhibitor/ SERPINA5 .....75**

Protein C İnhibitörü/SERPİNA5 analizi

Didem Torun OZKAN, Nejat AKAR

### **Çok işlevli proteinler: Moonlight proteinler.....80**

Multifunctional Proteins: Moonlight Proteins

Birşen BİLGİCİ, Sebati Sinan ÜRKMEZ, Yeşim CİVİL

### **OLGU SUNUMU/ CASE REPORT**

### **Life-saving endovascular aortic repair in spontaneous ruptures: Report of two emergency cases.....89**

Spontan aort rüptürlerinde hayat kurtaran endovasküler aortik onarım: İki acil olgu

Elif Coskun SUNGUR, Levent ALTINAY, Anil TEKIN, Ufuk TUTUN

■ Original Makale

## Acil servise başvuran migren hastalarının özürllülük, anksiyete ve depresyon oranlarının belirlenmesi

### *Determination of disability, anxiety and depression rates of migraine patients admitted to emergency department*

Şenol ARSLAN\* , Orhan DELİCE 

Sağlık Bakanlığı Üniversitesi Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Acil Servis, Erzurum/Türkiye.

#### Öz

**Amaç:** Çalışmamızın amacını acil servise başvuran migren hastaları ile sağlıklı kontrol grubu arasındaki anksiyete, depresyon ve özürllülük oranlarının belirti düzeylerinin karşılaştırılması ve bu düzeylerin hastalık süresi ve atak sıklığı ile ilişkisinin incelenmesi olarak belirledik.

**Gereç ve Yöntemler:** Migren tipi baş ağrısı olan hastalara Hastane anksiyete ve depresyon ölçeği (HAD) ve Migren Özürllülük Değerlendirme Ölçeği (MIDAS) kullanılarak hazırlanmış olan form dolduruldu. Kontrol grubuna ise Hastane anksiyete ve depresyon ölçeği dolduruldu. Daha sonrasında bu hastaların ve kontrol grubunun anksiyete, depresyon ve özürllülük oranları tespit edilip demografik verilerle beraber karşılaştırmalar yapıldı.

**Bulgular:** Çalışmamızda cinsiyet ve atak sıklığı ile midas skorları arasında anlamlı pozitif bir ilişki bulunmuştur. Deney ve kontrol grubunda, anksiyete ile depresyon açısından anlamlı bir farklılık olup olmadığına bakılmış olup, analiz sonucunda, 0.00 anlamlılık seviyesinde, bağımsız değişkenin hem anksiyetehem de depresyon için etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Deney grubunda anksiyete, depresyon ve Midas skorları kendi aralarında değerlendirildi. Analiz sonucunda, Midas ile anksiyete ve depresyon arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. Deney ve kontrol grubunda depresyon ve anksiyete arasındaki ilişkiye bakıldı. Analiz sonucunda; Her iki grupta da depresyon ve anksiyete arasında 0.00 düzeyinde pozitif anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

**Sonuç:** Migreni olan hastaların depresyon ve anksiyetelerini kontrol edersek, bu hastaların hayat standartlarını artırıp migrenden kaynaklanan özürllülük oranlarını azaltacağımızı düşünüyoruz. Bu nedenle migren tanısı olan hastaların psikiyatrik komorbiditeler açısından mutlaka sorgulanması ve bu hastalar için multidisipliner bir yaklaşım modeli sergilenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** migren; anksiyete; depresyon

Sorumlu Yazar\*: Şenol Arslan, Sağlık Bakanlığı Üniversitesi Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Acil Servis, Erzurum/Türkiye

E-mail: drsenolarslan@gmail.com

ORCID: 0000-0002-6636-5307

Gönderim: 23.05.2019 Kabul: 08.10.2019

Doi: 10.18663/tjcl.569249

## Abstract

**Aim:** The aim of our study was to compare the symptom levels of anxiety, depression and disability rates between migraine patients and the healthy control group presenting to the emergency department, and to investigate the relationship between these levels and duration of disease.

**Material and Methods:** Patients with migraine headache were filled in the form prepared using the Hospital Anxiety and Depression Scale (HAD) and the Migraine Disability Assessment Scale (MIDAS). The hospital anxiety and depression scale was filled in the control group. Then, anxiety, depression and disability rates of these patients and control group were determined and comparisons were made with demographic data.

**Results:** In our study, a significant positive relationship was found between sex and attack frequency and midas scores. In the experimental and control groups, a positive significant correlation was found between the levels of anxiety and depression at the level of 0.00. In the experimental group, anxiety, depression and Midas scores were evaluated. As a result of the analysis, a positive relationship was found between Midas and anxiety and depression. The relationship between depression and anxiety was examined in the experimental and control groups. As a result of the analysis; In both groups, a positive correlation was found between depression and anxiety at a level of 0.00.

**Conclusion:** If we control the depression and anxiety of patients with migraine, we believe that we will increase the living standards of these patients and decrease the disability rates caused by migraine. Therefore, we think that patients with migraine should be questioned in terms of psychiatric comorbidities and a multidisciplinary approach model should be exhibited for these patients.

**Keywords:** migraine; anxiety; depression

## Giriş

Baş ağrısı toplumda sık görülen önemli bir sağlık sorunudur. Primer baş ağrıları içinden sık görülenleri gerilim tipi baş ağrısı ve migrendir [1,2]. Migren genetik, hormonal, çevresel, diyet, uyku ve her bireyde farklı psikolojik durumların eşlik ettiği çok faktörlü biyodavranışsal bir hastalık olarak bilinir [3]. Toplumlar da %12-18 görülme sıklığı olan migren, özürülük ve performans kaybına sebep olan ciddi bir halk sağlığı sorunudur [1,2]. Migren sıklıkla kardiyovasküler, nörolojik ve psikiyatrik bozukluklarla beraber görülebilmektedir [4]. Normal popülasyona göre migren hastalarında anksiyete ve depresyon sık görülen psikiyatrik rahatsızlıklardır. Bu duygu-durum bozukluklarında migren hastalarının tedavisini güçleştirip hayat kalitesini olumsuz anlamda etkiler [5,6]. Depresyon ve anksiyete gibi durumlar migren hastalarında atak sıklığını artırabilir ve hastalığın kronikleşmesine neden olabilir [7,8]. Auralı migren ile aurasız migrenlileri karşılaştıran çalışmalar, psikiyatrik bozuklukların auralı migreni olan hastalarda daha sık olduğunu göstermiştir [9]. Migren ile depresyon arasındaki bu ilişki iki taraflıdır. Yani depresyon hastalarında migrenin ortaya çıkma riski; depresyonu olmayan kişilere göre üç kat daha fazladır. Benzer şekilde migreni olan hastalarda da depresyonun ortaya çıkma riski, migreni olmayanlardan üç kat daha fazladır [10].

Migren hastalarında ortaya çıkan özürülük, anksiyete ve depresyon gibi durumlar hastalar tarafından ifade

edilemeyebilir, bazen de klinisyenler tarafından sorgulanmaz. Bundan dolayı migrenin tedavisi eksik ve yetersiz kalmaktadır. Tedavideki bu eksikliğin en önemli nedeni olarak; çoğu migren hastasının tanı aldıktan sonra rutin kontrollerini yaptırmayıp sadece migren atakları sırasında analjezi için acil servise başvurmaları, gösterilebilir. Sonuç olarak migren birçok açıdan ele alınıp tedavi edilmelidir. Çalışmamızın amacını acil servise başvuran migren hastalarında özürülük, anksiyete ve depresyon belirti düzeylerinin kontrol grubu ve migren alt grupları (auralı ve aurasız) ile karşılaştırılması ve bu düzeylerin migren atak sıklığı ve hastalık süresi ile olan ilişkisinin araştırılması olarak belirledik. Böylelikle migren hastalarına multidisipliner bir yaklaşım modeli sergilenerek yaşam kalitesinde artış, özürülük oranlarında azalma olacağını düşünmekteyiz.

## Yöntemler

Bu araştırma Erzurum Bölge Eğitim Araştırma Hastanesi Acil Tıp kliniğinde migren hastalarında kesitsel tipte tanımlayıcı bir araştırma olarak yapılmıştır. Yerel Etik Kurul onayı (Karar No 2019/02-25) alınmıştır ve 1964 Helsinki Bildirgesi'nde ve daha sonraki değişikliklerinde belirtilen etik standartlara uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmadan önce tüm alt gruplardan bilgilendirilmiş onam alındı. Çalışmaya kayıtlı tüm hastalar Şubat ile Mayıs 2019 arasında Acil Servisimize ardışık olarak başvurdu. Çalışmaya migren tanısı olan 100 hasta, cinsiyet ve yaşa göre hasta olgularla eşleştirilen 100 sağlıklı

gönüllü aldık.Çalışmaya Uluslararası Baş Ağrısı Topluluğu'nun tanı kriterlerine göre daha önceden bir nörolog tarafından migren tanısı konulmuş yetişkin (18 yaş üstü) hastalar ile kontrol grubu olarak sağlıklı gönüllüler dahil edildi. Sekonder baş ağrısı olan vakalar (Hipertansiyonu, kafa travması vb... ), gebe ve emziren kadınlar ile 18 yaş altındaki hastalar çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca daha önce bir serebral kanama, serebrovasküler olay, geçici iskemik atak, hemorajik enfarktüs, beyin travması, enflamatuvar veya enfeksiyöz hastalık, tümör, hematolojik bozukluk, otoimmün bozukluk, hepatik veya böbrek hastalığı, hiper veya hipotiroidi rahatsızlıkları ve koopere olmayan hastalar çalışma dışı bırakıldı.Araştırmaya dâhil edilen hastalar için oluşturulan formda demografik ve klinik verileri şunları içermiştir: yaş, cinsiyet, eğitim seviyesi, özgeçmiş (anksiyete, depresyon öyküsü), ateş, nabız, tansiyon arteriyel, baş ağrısı için ilaç kullanımı, baş ağrısının şiddeti (Ulusal ağrı skalası ölçeği kullanılarak ölçüldü), migren için profilaksi alıp almadığı, atak sıklığı, hastalığın süresi ve baş ağrısının tipi (auralı yada aurasız migren ). Ayrıca bu formda özürüllük oranı ile anksiyete ve depresyonu ölçmek için ölçeklere yer verildi. Hastalardan anket şeklinde hazırlanan ölçekleri doldurması istenildi. Hastalar bu ölçekleri ağrısız dönemlerinde doldurdu. Ölçek olarak; Hastane anksiyete ve depresyon ölçeği (HADÖ) ve Migren Özürüllük Değerlendirme Ölçeği (MIDAS) kullanıldı.

#### **Hastane anksiyete ve depresyon ölçeği:**

1983 yılında Zigmond ve arkadaşları toplum ve hastane örnekleminde kolayca uygulanabilen, tıbbi bir hastalığı olan topluluklardaki psikiyatrik bozuklukları tespit etmek için hastane anksiyete ve depresyon ölçeğini geliştirmişlerdir. Hastane anksiyete ve depresyon ölçeğinin ondört maddesi olup hastalar tarafından kolaylıkla doldurulabilir. Depresyon ve anksiyeteyi ölçen iki alt ölçek şeklinde tasarlanmıştır. Depresyon alt ölçeği yedi maddeden oluşmakla beraber 0-21 arasında skorlanmaktadır, 0-7= Normal, 8-10= Hafif, 11ve üstü anormalbir duygudurum bozukluğuna işaret etmektedir [11].

#### **Migren Özürüllük Değerlendirme Ölçeği (MIDAS):**

Migren Özürüllük Değerlendirme Ölçeği okul, ev ve işyeri ile alakalı beş sorudan oluşur. MIDAS skoru ağrıdan dolayı çalışılmayan günler ve %50 performans kaybının olduğu günlerin sorgulanması neticesinde alınan puanlar ile elde edilir. MIDAS ölçeği hastaları dört gruba ayırır. Grup 1: 0-5 gün kayıp (özürüllük çok az yada hiç yok),Grup II: 6-10 gün kayıp (Hafif düzeyde Özürüllük), Grup III: 11-20 gün kayıp (Orta düzeyde Özürüllük) ve Grup IV : 21+ gün kayıp(Ciddi düzeyde Özürüllük) demektir [12].

## **Bulgular**

Çalışmaya, migren tanısı olan 100 hasta ve 100 kontrol olmak üzere toplam 200 denek alındı. Hasta grubunun cinsiyet, yaş, profilaksi alıp almadığı, ağrı skalası, atak sıklığı, hastalığın süresi, auralı yada aurasız olup olmamasına göre dağılımları ile bu değişkenlerin anksiyete, depresyon ve MIDAS skorlarıyla ilişkisi incelendi (Tablo 1).

**Tablo 1.**Hasta grubunda bazı değişkenlerin(cinsiyet, yaş, proflaksi, aura, ağrı skalası, hastalığın süresi ve atak durumu) MIDAS, anksiyete ve depresyonla karşılaştırılması

Değişkenler	MIDAS			Anksiyete		Depresyon	
	N	X <sup>2</sup>	P	X <sup>2</sup>	P	X <sup>2</sup>	P
<b>Cinsiyet</b>							
Erkek	70	10,40	0,01*	3,66	0,16	165	0,921
Kadın	30						
<b>Yaş</b>							
	34	5,41	0,797	1,688	0,946	7,332	0,291
18-27	32						
28-37	28						
38-47	6						
48 ve üzeri							
Profilaksi	72	2,94	0,401	975	0,614	,326	0,850
Yok	28						
<b>Var</b>							
Auralı	55	3,43	0,487	,389	0,823	,421	0,810
Yok	45						
<b>Var</b>							
Atak Sıklığı	67	10,69	0,01*	3,20	0,202	3,19	0,202
4	33						
5							
Ağrı Skalası	4	26,192	0,09	11,38	0,496	7,69	0,808
4	17						
5	9						
6	15						
7	25						
8	14						
9	16						
10							
Hastalık Süresi	60	8,64	0,471	2,849	0,828	5,329	0,502
1-5	19						
6-11	10						
12-17	11						
18 ve üzeri							

\* ki-kare test sonuçlarına göre 0,01 düzeyinde anlamlı ilişki

Verilerin analizinden önce, yaş ve hastalık süresi uygun şekilde gruplandırılmıştır. Analizler sonucunda tablo 1 de görülebileceği gibi, sadece cinsiyet ve atak sıklığı ile MIDAS skorları arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Kikare testi sonuçlarına göre cinsiyet ile MIDAS arasında ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır ( $\chi^2(3) = 10,404, p=0,01$  ). Oluşan



bu anlamlı ilişkinin MIDAS değerlerinin hangi grubunda oluştuğunu belirlemek için Post-hoc analizi yapılmış ve p değerleri oluşturulmuştur. Buna göre, “Hiç kayıp yok ya da çok az” ( $p=0,01$ ) ve “Ciddi kayıp” ( $p=0,03$ ) gruplarının bu farkı oluşturduğu görülmüştür.

Benzer şekilde atak sıklığı ile MIDAS arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır ( $\chi^2(3) = 10,694$ ,  $p=0,01$ ). Sonuçlar MIDAS grupları açısından incelendiğinde ise sadece “Ciddi kayıp” ( $p=0,02$ ) grubunda bu farkın oluştuğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda deney ve kontrol grubunda, anksiyete ile depresyon açısından anlamlı bir farklılık olup olmadığına bakıldı (Tablo 2).

**Tablo 2.** Deney ve Kontrol grubunda anksiyete ve depresyonun karşılaştırılması

Bağımlı Değişkenler	Hasta			Kontrol			p
	N	X	SS	N	X	SS	
Anksiyete	100	10,63	3,42	100	7,12	3,99	0,000*
Depresyon	100	10,14	3,91	100	6,39	3,38	0,000*
Anksiyete							
Normal	20			63			0,000**
Sınırdaki	26			19			0,487**
Anormal	54			18			0,000**
Depresyon							
Normal	26			64			0,000**
Sınırdaki	23			29			0,607**
Anormal	51			7			0,000**

\* Tek yönlü ANOVA test sonuçlarına göre 0.01 düzeyinin altında anlamlı ilişki  
\*\* ki-kare test sonucuna bağlı post-hoc analizi

Depresyon ve anksiyete üzerine grup etkisini araştırmak için tek yönlü ANOVA uygulanmış ve analizlerden önce test için gerekli bütün varsayımlar kontrol edilmiştir. Analiz sonucunda, 0,00 anlamlılık seviyesinde, bağımsız değişkenin hem anksiyete [ $F(1,198) = 50,155$ ,  $p = 0,000$ ] hem de depresyon [ $F(1,198) = 60,926$ ,  $p = 0,000$ ] için etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu anlamlı farkın anksiyete ve depresyonun hangi grupları arasında olduğunu belirlemek için ki-kare test kullanılmıştır. Ki-kare sonuçlarına göre, anksiyete ile hasta ve kontrol grubu arasındaki ilişki, normal ( $p=0,00$ ) ve anormal ( $p=0,00$ ) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Diğer taraftan, sınırdaki grubunda yer alanlar için ilişki anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,487$ ). Benzer bir durum depresyon içinde gözlenmiştir. Buna göre, deney ve kontrol grubu ile depresyon skorları arasındaki fark sadece normal ve anormal grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Yine sınırdaki grubunda yer alanlar için fark/ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Deney grubunda anksiyete, depresyon ve MIDAS skorları kendi aralarında değerlendirildi (Tablo 3).

**Tablo 3.** Depresyon, anksiyete ve MIDAS skorlarının ortalama, standart sapma ve korelasyonlar sonuçları

Değişkenler	X	SS	Korelasyonlar	
			1.	2.
1. MIDAS	31,46	22,03		
2. Anksiyete	10,63	3,424	196*	
3. Depresyon	10,14	3,913	236*	446**

\* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$

MIDAS skorlarının depresyon ve anksiyete ile ilişkisini belirlemek için Pearson's r korelasyon analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda, MIDAS ve anksiyete arasında 0.05 anlamlılık düzeyinde pozitif ilişki bulunurken [ $r = ,196$ ,  $n = 100$ ,  $p = 0,04$ ], midas ve depresyon arasında ki anlamlılık düzeyin 0,01 olarak tesbit edilmiştir [ $r = ,236$ ,  $n = 100$ ,  $p = 0,01$ ]. Buna göre, MIDAS skorları yükseldikçe, hem anksiyete hem depresyon skorlarının yükseldiği gözlemlenmiştir.

Deney grubunda depresyon ve anksiyete arasında yine 0,00 düzeyinde pozitif anlamlı bir ilişki bulunmuştur [ $r = ,446$ ,  $n = 100$ ,  $p = 0,00$ ]. Benzer şekilde kontrol grubunda da anksiyete ve depresyon arasında ki ilişkiye bakılmış ve 0,00 anlamlılık düzeyinde pozitif bir ilişki bulunmuştur. [ $r = ,578$ ,  $n = 100$ ,  $p = 0,00$ ].

## Tartışma

Migren hastalarında özürülük şiddetini belirlemek, hastaların tedavi planlamasında ve tedaviye verdikleri yanıtın gözlenmesi aşamasında önemlidir. Bu nedenle ülkemizde migren hastalarında tedavi yöntemini ve hastalığın şiddetini belirlemede güvenilir bir ölçek olduğu yapılan çalışmalar ile bilinen MIDAS skoru kullanılmaktadır. MIDAS son 3 ay içindeki migren ile ilişkili özürülülüğü belirler [13]. Çalışmamızda migren hastaları cinsiyet, yaş, profilaksi alıp almadığı, ağrı skalası, atak sıklığı, hastalığın süresi, auralı yada aurasız olup olmamasına göre dağılımları ile bu değişkenlerin anksiyete, depresyon ve midas skorlarıyla ilişkisi incelenmiş olup sonuçta erkek cinsiyet ile atak sıklığının Midas skoruyla pozitif anlamda ilişkili olduğu gözlemlendi.

Bazı çalışmalarda cinsiyet ile MIDAS arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken bizim çalışmamızda erkek cinsiyet ile MIDAS skorları ilişkiliydi. Birçok çalışma bizim çalışmamıza benzer şekilde atak sıklığı ile MIDAS arasında pozitif ilişki olduğunu göstermiştir. Buna göre atak sıklığı arttıkça özürülük oranı artmaktaydı. Buda bize atak sıklığının hastalığının şiddetini belirleyen önemli bir etken olduğunu gösteriyor [14,15].

Çalışmamızda birçok migren hastasının artmış atak sıklığına rağmen her hangi bir profilaktik ilaç kullanmadığı gözlemlendi.

Acil servise sık sık atak ile başvuran migren hastaları, sosyal ve ekonomik anlamda ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Bu veriler ışığında hastalarda iş gücü kaybına, artmış tedavi masraflarına ve sosyal aktivitelerinde azalmaya neden olan migren ile ilişkili özür lülüğün başarılı bir tedaviyle düzletilebileceğini düşünürüz.

Atak sıklığı ve auralı migrenin, depresyonla pozitif bir ilişkisinin olduğunu gösteren çalışmalar vardır [9,16,]. Ancak biz çalışmamızda böyle bir ilişki saptamadık.

Migren hastalarında major depresif bulgular, anksiyete ve panik bozukluk oldukça sıktır [17,18,19]. Migren hastalarında depresyon düzeylerinin kontrol grubuna göre 2,5 kat arttığını gösteren çalışmalar vardır[20]. Ayrıca depresyon ve migren ile alakalı yapılan bir meta analiz çalışması, depresyonun migren hastalarında % 8,6 ile % 47,9 gibi oldukça değişken oranda olduğunu göstermiştir [6]. Bir başka çalışmada ise migren ve depresyonun birbirlerinin sıklığını arttırdığı gösterilmiştir [21]. Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak depresyon düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. (Tablo 2)

Kronik birağrıyasebepolan migren depresyon gibiduygudurum bozukluklarıyla direkt alakalı olmayabilir. Bazı çalışmalarda diğer baş ağrısı nedenleri ile migren arasında psikiyatrik hastalıklar açısından anlamlı farklılık olmadığı gösterilmiştir [22,23]. Ağrı ve depresyon benzer nörotransmitterleri ve biyolojik yolları kullanır [24]. Migrende kronik ağrıya neden olan bir durum olduğundan, migren ile depresyon arasında bu nedenden dolayı direkt ilişkili olmasada indirek bir ilişki olduğu düşünülebilir. Ayrıca trisiklik antidepressanların migrenin önlenmesindeki etkinliği, depresyon ve migren için ortak bir nedensel mekanizma olduğunu ortaya koymaktadır [19].

Migren hastalarında anksiyete bozuklukları genel popülasyona göre 2 ila 5 kat fazla görülür. Bu durumun kronik migren hastalarında daha yaygın olduğu [25] ve migren ile anksiyete arasında çift yönlü bir ilişki olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Yani anksiyete hastalarında migren görülme sıklığının, migren hastalarında anksiyete görülme sıklığıyla benzer olduğunu gösteren çalışmalar[26]. Bu ilişki de çeşitli hipotezler ile aydınlatılmaya çalışılmıştır[27]. Literatürle uyumlu olarak bizim çalışmamızda da anksiyete düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. (Tablo 2)

Yapılan bazı çalışmalarda[18] hastalık süresi ile anksiyete ve depresyon arasında pozitif ilişki saptanmıştır ancak, bizim çalışmamızda anlamlı bir ilişki saptanmadı. Çalışmamızda anksiyete, depresyon ve MIDAS skorlarının kendi arasındaki ilişkisine bakılmış olup sonuçlar Tablo 3 de gösterilmiştir. Analizler neticesinde MIDAS skoru yükseldikçe anksiyete ve depresyon oranlarının yükseldiği gözlemlendi.

Literatüre bakıldığında migren hastalarında anksiyete ve depresyon birlikteliği sık olup, bu ikili arasında pozitif anlamlı bir ilişki olduğu gözlenmiştir[25]. Benzer şekilde bizde çalışmamızda anksiyete ve depresyon arasında da pozitif anlamlı ilişki bulduk.

## Sonuç

Depresyon ve anksiyete migrende sık görülen duygu durum bozuklukları olup migren hastalarının etkili tedavilerini zorlaştırmaktadır. Çalışmamızda depresyon ve anksiyete düzeylerinin migren hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu tesbit ettik. Ayrıca hasta grubunda bakılan MIDAS, anksiyete ve depresyon skorları birbiriyle ilişkiliydi. Migren hastalarında anksiyete ve depresyonu tanıyıp tedavi etmek çok önemlidir. Çünkü anksiyete ve depresyon migrenin kronikleşmesinin nedenlerindedir(28). Migren mortaliteye neden olmadığından dolayı, halk sağlığı açısından önemini gözden geçiriyor olabiliriz. Oysaki çalışmamızda da görüldüğü gibi migren çalışmayı ve sosyal aktiviteleri ciddi anlamda etkilemektedir. Migreni olan hastaların depresyon ve anksiyetelerini kontrol edersek, bu hastaların hayat standartlarını artırıp migrenden kaynaklanan özür lülük oranlarını azaltacağımızı düşünürüz. Böylelikle migrenin daha etkin bir şekilde tedavi edileceği kanaatindeyiz. Bu nedenle migren tanısı olan hastaların psikiyatrik komorbiditeler açısından mutlaka sorgulanması ve bu hastalar için multidisipliner bir yaklaşım modeli sergilenmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Sonuç olarak hasta ve biz hekimlere yönelik, migrenin etkili tedavisinin önemini hatırlamak ve öğrenmek için küresel ölçekte eğitimler yapılabilir. Böylelikle migrene bağlı özür lülükleri azaltıp etkili tedavilerini sağlayabiliriz.

## Çıkar çatışması / finansal destek beyanı

Bu yazıdaki hiçbir yazarın herhangi bir çıkar çatışması yoktur. Yazının herhangi bir finansal desteği yoktur.

## Kaynaklar

1. Adoukonou T, Houinato D, Kankouan J et al. Migraine among university students in Cotonou (Benin). Headache 2009; 49: 887-93.
2. Yalug I, Selekler M, Erdogan A et al. Correlations between alexithymia and pain severity, depression, and anxiety among patients with chronic and episodic migraine. Psychiatry Clin Neurosci 2010; 64: 231-38.
3. Goadsby PJ. Decade in review—migraine: incredible progress for an era of better migraine care. Nat Rev Neurol 2015; 11: 621.
4. Radat F, Swendsen J. Psychiatric comorbidity in migraine: a review. Cephalalgia 2005; 25: 165-78.
5. Senaratne R, Van Ameringen M, Mancini C, Patterson B, Bennett

- M. The prevalence of migraine headaches in an anxiety disorders clinic sample. *CNS Neurosci Ther* 2010; 16: 76-82.
6. Antonaci F, Nappi G, Galli F, Manzoni GC, Calabresi P, Costa A. Migraine and psychiatric comorbidity: a review of clinical findings. *J Headache Pain* 2011; 12: 115.
  7. Oh K, Cho SJ, Chung YK, Kim JM, Chu MK. Combination of anxiety and depression is associated with an increased headache frequency in migraineurs: a population-based study. *BMC Neurol* 2014; 14: 238.
  8. Buse DC, Silberstein SD, Manack AN, Papapetropoulos S, Lipton RB. Psychiatric comorbidities of episodic and chronic migraine. *J Neurol* 2013; 260: 1960-69.
  9. Samaan Z, Farmer A, Craddock N et al. Migraine in recurrent depression: case-control study. *Br J Psychiatry* 2009; 194: 350-54.
  10. Torelli P, D'Amico D. An updated review of migraine and comorbid psychiatric disorders. *Neurol Sci* 2004; 25: 234-35.
  11. Zigmond AS, Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand* 1983; 67: 361-70.
  12. Ertaş M, Siva A, Dalkara , et al. Validity and reliability of the Turkish Migraine Disability Assessment (MIDAS) questionnaire. *Headache* 2004; 44: 786-93.
  13. Boylu E, Adigzel T, Zden T. Migrenli Olgularda Dizabilitenin Midas Ölçeği ile Değerlendirilmesi. *Duzce Medical Journal* 2012; 14: 10-13.
  14. D'Amico D, Genco S, Perini F. Workplace disability in migraine: an Italian experience. *Neurol Sci* 2004; 25: 251-52.
  15. Stewart WF, Lipton RB, Kolodner K. Migraine disability assessment (MIDAS) score: relation to headache frequency, pain intensity, and headache symptoms. *Headache* 2003; 43: 258-65.
  16. Breslau N, Schultz LR, Stewart WF, Lipton RB, Lucia VC, Welch KMA. Headache and major depression: is the association specific to migraine? *Neurology* 2000; 54: 308.
  17. Senaratne R, Van Ameringen M, Mancini C, Patterson B, Bennett M. The prevalence of migraine headaches in an anxiety disorders clinic sample. *CNS Neurosci Ther* 2010; 16: 76-82.
  18. Hung CI, Liu CY, Cheng YT, Wang SJ. Migraine: a missing link between somatic symptoms and major depressive disorder. *J Affect Disord* 2009; 117: 108-15.
  19. Yaşar H, Balıbey H, Alay S, Tekeli H, Türker T, Bayar N. Migren hastalarında anksiyete, depresyon ve obsesif-kompulsif belirti düzeyleri. *Journal of Mood Disorders* 2013; 3: 156-61.
  20. Minen MT, De Dhaem OB, Van Diest AK et al. Migraine and its psychiatric comorbidities. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2016; 87: 741-49.
  21. Breslau N, Lipton RB, Stewart WF, Schultz LR, Welch KMA. Comorbidity of migraine and depression: investigating potential etiology and prognosis. *Neurology* 2003; 60: 1308-12.
  22. Guidetti V, Galli F, Fabrizi PA, et al. Headache and psychiatric comorbidity: clinical aspects and outcome in an 8-year follow-up study. *Cephalalgia* 1998; 18: 455-62.
  23. Karwautz A, Wöber C, Lang TA, et al. Psychosocial factors in children and adolescents with migraine and tension-type headache: a controlled study and review of the literature. *Cephalalgia* 1999; 19: 32-43.
  24. Croft PR, Papageorgiou AC, Ferry S, Thomas E, Jayson MI, Silman AJ. Psychologic distress and low back pain. Evidence from a prospective study in the general population. *Spine* 1995; 20: 2731-37.
  25. Baskin SM, Lipchik GL, Smitherman TA. Mood and anxiety disorders in chronic headache. *Headache* 2006; 46: 76-87.
  26. Smitherman TA, Kolivas ED, Bailey JR. Panic disorder and migraine: comorbidity, mechanisms, and clinical implications. *Headache* 2013; 53: 23-45.
  27. Lucchetti G, Peres MF, Lucchetti AL, Mercante JP, Guendler VZ, Zukerman E. Generalized anxiety disorder, subthreshold anxiety and anxiety symptoms in primary headache. *Psychiatry Clin Neurosci* 2013; 67: 41-49.
  28. Ashina S, Serrano D, Lipton RB et al. Depression and risk of transformation of episodic to chronic migraine. *J headache and pain* 2012; 13: 615.

■ Original Makale

## Ağız kokusu farkındalığının anket uygulayarak belirlenmesi ve farklı diş macunlarının ağız kokusuna etkisinin halimeter ile ölçülerek değerlendirilmesi

### *Determination of oral malodor awareness by applying a questionnaire and evaluation of the effect of different toothpastes on the oral malodor by halimeter*

Şafak Necati DÖNERTAŞ\*<sup>ID</sup>, İbrahim Levent TANER <sup>ID</sup>

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı Ankara/TÜRKİYE

#### Öz

**Amaç:** Halitosis, her yaşta bireyleri etkileyebilen yaygın bir problemdir. Bu çalışmayla ağız kokusu farkındalığını anket ve halimeter ölçümlerini birlikte değerlendirerek tespit etmeyi ve farklı etken madde içeren diş macunlarının ağız kokusu üzerine etkilerini incelemeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde öğrenim gören 1-2 ve 3. sınıftan toplam 308 öğrenci dahil edildi. Çalışma öncesi tüm hastalardan sözlü ve yazılı onamları alındı. Anket sonrası farklı derecede ağız kokusuna sahip olduğunu düşünen 100 birey iki eşit gruba ayrıldı. Etken maddesi çinko ve kalay olan iki diş macunu grubu elliser bireyden oluştu. Bu bireylerden başlangıç (t1), bir ay sonra (t2) ve üç ay sonra (t3) olmak üzere üç kez periodontal ölçümler ve ağız kokusu ölçümleri tekrarlandı. Ağız kokusunun belirlenmesinde organoleptik yöntem ve portatif sülfür monitörü (Halimeter®) kullanıldı. Elde edilen tüm veriler istatistiksel yöntemlerle incelendi.

**Bulgular:** Ağız kokusunun var olduğunu düşünen ve hissedilen ağız kokusu seviyesini 0-5 arasında derecelendiren hastalarda, organoleptik skorlar (OLS) ve halimeter değerleri (HMD) anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p<0,001$ ). Ağız kuruluğu olan hastalarda OLS ve HMD daha yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). Ağız solunumu yapan hastalarda HMD yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). DMFT ile OLS ve HMD arasında anlamlı bir ilişki saptandı ( $p<0,001$ ). Farklı macun kullanan iki test grubundan elde edilen indeksler ve ağız kokusu ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı ( $p>0,05$ ).

**Sonuç:** Çalışma grubumuzun ağız kokusu farkındalıkları yüksek bulundu. Çinko ve kalay içeren diş macunları ağız kokusu seviyelerini azaltmada etkili olduğu istatistiksel olarak biri diğerine göre daha üstün bulunamadı.

**Anahtar kelimeler:** ağız kokusu; halitosis; halimeter; çinko; kalay

Sorumlu Yazar\*: Şafak Necati Dönertaş Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı Ankara/TÜRKİYE

E-mail: safak\_necati@gmail.com

ORCID: 0000-0002-8291-6500

Gönderim: 23.05.2019 Kabul: 09.10.2019

Doi: 10.18663/tjcl.569377

## Abstract

**Aim:** Halitosis is a common problem that can affect individuals of all ages. In this study, we aimed to determine the awareness of halitosis by evaluating the questionnaires and halimeter measurements together and to determine the effects on the halitosis level of toothpastes containing different active substances.

**Material and Methods:** A total of 308 students from the 1st, 2nd and 3rd year students of Gazi University Faculty of Dentistry were included in the study. Oral and written informed consent were obtained from all patients before the study. After the questionnaire was applied, 100 students were divided into two equal groups. The toothpaste group consisting of active substance zinc and the toothpaste group with active substance stannous consisted of 50 individuals. Periodontal measurements and halitosis measurements were repeated three times, from these individuals at the beginning (t1), at one month (t2) and at three months (t3). Organoleptic method and portable sulfur monitor (Halimeter®) were used to determine the halitosis. All data were analyzed with statistical methods.

**Results:** Organoleptic scores (OLS) and halimeter values (HMD) were found significantly higher in patients who thought to halitosis ( $p < 0.001$ ). OLS and HMD were higher in patients who felt dryness in their mouth ( $p < 0.05$ ). HMD was higher in mouth breathing patients ( $p < 0.05$ ). There was a significant relationship between DMFT and OLS and HMD ( $p < 0.001$ ). No significant difference was found between the periodontal indices and halitosis measurements obtained from two test groups using different toothpastes ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** In our study group, halitosis awareness was found to be high. Although toothpastes containing zinc and stannous are effective in reducing halitosis levels, it is not possible to mention that one is more effective than the other.

**Keywords:** bad breath; halitosis; halimeter; zinc; stannous

## Giriş

Kötü ağız kokusu dünyanın birçok yerinde yaşanan ortak bir problemdir ve nefes kokusunun bozuk veya hoş olmaması olarak tanımlanmaktadır [1]. Halitosis, breath odor, malodor, oral malodor, bromopnea, fetor ex ore, fetor oris, ozostomia, stomatodysodia ve bad breath terimleri ağız kokusunu tanımlamak için sıklıkla kullanılmaktadır [2]. Ağız kokusunun etiolojisinde hem ağız içi (intraoral) hem de ağız dışı (extraoral) etkenler yer alır. Ağız kokusu çoğunlukla ağız içi nedenlere bağlı olarak oluşmaktadır [3]. Ağız kaynaklı halitosisin nedenleri genel olarak kötü ağız hijyeni, dili kaplayan eklentilerin varlığı, periodontal hastalıklar, peri-implant hastalıklar, derin çürük lezyonları, ekspoz olmuş nekrotik diş pulpaları, perikoronitis, mukozal ülserasyonlar, iyileşmekte olan yaralar, food impaction varlığı, plak birikimi, hatalı yapılmış restorasyonlar, gece boyunca ağızda kalan ve temiz olmayan protezler, tükürük akış hızını azaltan faktörlerdir [4]. Ağız kokusu periodontitis ile ilişkili olsa da periodontal sağlıklı bireyler de önemli seviyede ağız kokusuna sahiptir. Son zamanlarda dil sırtı ağız kokusunun ana kaynağı olarak gösterilmiştir. Bu, dilin deskuame epitel hücrelerini ve ölü lökositleri tutan papiller yapısıyla ve geniş yüzey alanıyla ilişkilidir [5]. Halitosisin oluşumunda aminoasitlerin bakteriyel yıkımı sonucu oluşan uçucu sülfür bileşikleri (USB); hidrojen sülfür, metil merkaptan ve dimetil sülfür en önemli rolü oynar [1]. USB üretimi özellikle tükürükteki, dişeti oluştuktaki, dildeki ve ağızın diğer alanlarındaki mevcut mikroorganizmaların serbest olarak bulunan sistein, sistin ve methionin gibi sülfür

içeren aminoasit veya protein substratlarının proteolizisi sonucunda olur. Ağız boşluğunda yer alan eksofoliyel epitel hücreleri ve dağılmış lökositler bu gibi substratların en önemli kaynağıdır [6]. Halitosis her yaşta insanı etkileyebilen, yaygın bir problemdir. Şiddetli veya uzun süreli olduğu durumlarda, kişinin kendine güveninin ve sosyal etkileşimlerinin azalmasına yol açabilir [7]. Günümüzde sosyal ilişkiler bu kadar ön plandayken ağız kokusu önemli bir sosyal problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle hem sosyal hem de tıbbi açıdan, ağız kokusunun doğru teşhisi ve altta yatan nedenin tedavisi için kesin bir çözüm üretilmesi gerekmektedir.

Yaptığımız bu çalışma ile Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde okuyan öğrencilerin ağız kokusu farkındalığını tespit etmeyi ve aynı zamanda çinko ve kalay içeren diş macunlarının ağız kokusu üzerine etkilerini gözlemsel olarak incelemeyi amaçladık.

## Gereç ve Yöntemler

### Çalışma Popülasyonu

Bu çalışmaya Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde öğrenim görmekte olan, ağız kokusu şikayeti olan veya olmayan 1,2 ve 3. sınıftaki 308 birey dahil edildi. Araştırmaya katılan tüm bireylere çalışmanın nedeni ile birlikte gerekli tüm bilgiler detaylı olarak anlatıldıktan sonra çalışmaya başlamadan önce hastaların yazılı onamları alındı. Tüm bireylere oral hijyen eğitimi ve yumuşak diş fırçası verildi. Araştırmamız için Gazi Üniversitesi Etik Komisyonu tarafından onay verilmiştir. (19

Aralık 2017 tarih ve 10 sayılı toplantısı / araştırma kod no: 2017-497)

### **Anket Planlanması**

Tüm katılımcıların rahatlıkla anlayacağı bir dilde anket hazırlandı. Uygulanan anket formu ile hastaların cinsiyet, yaş gibi temel bilgilerle beraber ağız kokusu şikayetinin varlığı ya da yokluğu, var ise ilk ne zaman farkedildiği ve ne derecede hissedildiği gibi hastaların farkındalığını ölçecek sorular soruldu. Ağız kuruluğu ya da ağız solunumu problemi olup olmadığı kaydedildi. Anketin devamında diş fırçalama sıklığı, dil temizleme, diş ipi ve gargara kullanımı gibi oral hijyen alışkanlıkları sorgulandı.

### **Ağız Kokusunun Ölçümü**

Çalışmaya katılan bireylerden ağız kokusu ölçümü yapılırken organoleptik yöntemler ile taşınabilir bir sülfür monitörü olan halimeter cihazı kullanıldı. Tüm hastalardan ağız kokusu ölçümleri sabah 08:30-12:30 saatleri arasında yapıldı. Ölçüm yapılacak bireyler, son 48 saat içinde ağız kokusuna sebep olabilecek gıdaları tüketmemeleri, son 12 saatte alkol almamaları ve 2 saat içerisinde herhangi bir gıda ürünü, sigara, çay, kahve tüketmemeleri konusunda uyarıldılar.

### **Klinik Muayene**

Yapılan işlemlerin ağız kokusunu etkileme olasılığı göz önünde bulundurularak, klinik muayeneler halitozis değerlendirilmelerinden sonra yapıldı. Tüm periodontal indeks ölçümleri kaydedildi. Ağız içi muayenede WHO kriterleri esas alınarak DMFT (Decayed, Missing and Filled Teeth Index) indeksi alındı. Dili kaplayan eklenti (DKE) miktarları belirlenirken Miyazaki ve arkadaşlarının 1995 yılında tanımladıkları dil kaplama indeksinden (Tongue Coating Index, TCI) faydalanıldı.

### **İstatistiksel Analiz**

Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edildi. Normal dağılıma uygunluk Shapiro Wilk ile incelendi. Normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırılmasında bağımsız örnekler t testi ile tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Normal dağılmayan verilerin karşılaştırılmasında ise Mann Whitney U testi ile Kruskal Wallis testi kullanıldı. Kategorik veriler kıkare testi ile incelendi. Değişkenler arasındaki ilişki ise Spearman sıra korelasyonu ile incelendi. Analiz sonuçları normal dağılan veriler için ortalama  $\pm$  s.sapma, normal dağılmayan veriler için ortanca (min-mak) olarak sunuldu. Kategorik veriler ise frekans (yüzde) olarak ifade edildi. Önem düzeyi  $p < 0,05$  olarak alındı.

### **Bulgular**

Çalışma popülasyonu yaş ortalaması 20 olan 308 katılımcıdan oluşmaktadır. Katılımcılar ankette verilen tüm soruları yanıtladılar. Ankete katılan 308 bireyin %66,2'si kadındır.

Katılımcıların %39'u ağız kokusundan şikayetçidir. 0 ile 5 arasında değişen ağız kokusu yoğunluğu seçeneklerinden katılımcıların %51'i mevcut ağız kokusu yoğunluğunu 2 olarak düşünmektedirler. Katılımcıların %96,4'i ağız kokusunun kesintili olduğunu, %92,9'u ağız kokusunu kendisi fark ettiğini ifade etmiştir. Katılımcıların %89,6'sında ağız kokusu sabah saatlerinde olmaktadır. Katılımcıların %33,4'ü ağız kuruluğu hissetmektedir. Katılımcıların %52,3'ü ağızdan nefes alıp vermektedir. (Tablo 1)

**Tablo 1.**Anket sorularının frekans dağılımı

	Frekans	Yüzde
<b>Cinsiyet</b>		
Erkek	104	33,8
Kadın	204	66,2
<b>Size göre ağızınız kokuyor mu?</b>		
Evet	120	39,0
Hayır	188	61,0
<b>Ağız kokunuzun ne kadar yoğun olduğunu düşünüyorsunuz?</b>		
1	59	19,2
2	157	51,0
3	70	22,7
4	22	7,1
<b>Ağız kokunuz başladığından bugüne kadar sürekli mi var yoksa kesintili olarak mı devam ediyor?</b>		
Sürekli var	11	3,6
Kesintili	297	96,4
<b>Ağız kokunuz olduğunu nasıl öğrendiniz?</b>		
Birilerinin söylemesiyle	22	7,1
Kendim fark ettim	286	92,9
<b>Koku günün en çok hangi saatlerinde oluyor?</b>		
Sabah	276	89,6
Öğlen	24	7,8
Akşam	8	2,6
<b>Sabahları uyandımanızda duyduğunuz ağız kokusu iki saat içerisinde kayboluyor mu?</b>		
Evet	289	93,8
Hayır	19	6,2
<b>Ağız kuruluğunuz var mı?</b>		
Evet	72	23,4
Hayır	236	76,6
<b>Ağızdan nefes alıp veriyor musunuz?</b>		
Evet	147	47,7
Hayır	161	52,3

**Tablo 2.** Anket sorularının OLS-t1 ve HMD-t1 değerlerine göre karşılaştırılması

	Ortanca(min-mak)	
	OLS-t1	HMD-t1
<b>Cinsiyet</b>		
Erkek	2 (1 - 3)	140 (68- 328)
Kadın	2 (0 - 3)	138 (38- 275)
Test istatistiği	U=1021,5	U=1021
p	0,359	0,400
<b>Size göre ağızınız kokuyor mu?</b>		
Evet	3(0-3)	180,89 ± 61,81
Hayır	2(0-3)	122 ± 32,97
Test istatistiği	U=767	T=68,28
p	<0,001	<0,001
<b>Ağız kokunuzun ne kadar yoğun olduğunu düşünüyorsunuz?</b>		
1	2 (1 - 3)a	107,1 ± 30,5a
2	2 (0 - 3)a	124,3 ± 30,1a
3	3 (1 - 3)b	185,2 ± 58,9b
4	3 (2 - 3)b	215,1 ± 50,8b
Test istatistiği	U=36,481	F=14,955
p	<0,001	<0,001
<b>Ağız kuruluğunuz var mı?</b>		
Evet	3 (1 - 3)	166 (63 - 272)
Hayır	2 (0 - 3)	131,5 (38 - 328)
Test istatistiği	U=786	U=680
p	0,030	0,005
<b>Ağızdan nefes alıp veriyor musunuz?</b>		
Evet	3(1-3)	152 (67 - 328)
Hayır	2(0-3)	131,5 (38 - 275)
Test istatistiği	U=992	T=952,5
p	0,058	0,045

**Tablo 3.** DMFT ile OLS-t1, HMD-t1 arasındaki ilişkinin incelenmesi

	OLS-t1	HMD-t1
DMFT	r	0,518
	p	<0,001
	N	100

**N:** Kişi sayısı r: Spearman korelasyon katsayısı

OLS-t1 ve HMD-t1 cinsiyete göre farklılık göstermemektedir. (p değerleri sırasıyla 0,359, 0,400). OLS-t1 ve HMD-t1, ağız kokusu şikayetinin varlığına göre farklılık göstermektedir (p değerleri sırasıyla <0,001, <0,001). Ağız kokusu olduğunu söyleyen kişilerde OLS-t1 ortalama değeri 3, HMD-t1 ortalama

değeri 180,89 olarak elde edilmiştir. Ağız kokusu olmadığını söyleyen kişilerde OLS-t1 ortalama değeri 2, HMD-t1 ortalama değeri 122 olarak elde edilmiştir. OLS-t1 ve HMD-t1, hissedilen mevcut ağız kokusu yoğunluğuna göre farklılık göstermektedir (p değerleri sırasıyla <0,001, <0,001). Bu farklılıklar 1 ve 2 diyen grubun OLS-t1 ve HMD-t1 ortalama değerlerinin 3 ve 4 diyenlere göre daha düşük elde edilmesinden kaynaklanmaktadır. OLS-t1 ve HMD-t1 ağız kuruluğu varlığına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (p değerleri sırasıyla 0,030, 0,005). Ağız kuruluğu olan kişilerde OLS-t1 ortalama değeri 3, olmayanlarda ise 2 olarak elde edilmiştir. Ağız kuruluğu olan kişilerde HMD-t1 ortalama değeri 166, olmayanlarda 131,5 olarak elde edilmiştir. OLS-t1 ağızdan nefes alıp verme durumuna göre farklılık göstermemektedir (p=0,058). HMD-t1 ise ağızdan nefes alıp verme durumuna göre farklılık göstermektedir (p=0,045). Ağızdan nefes alıp verenlerde ortalama değer 152, ağızdan nefes alıp vermeyenlerde 131,5 olarak elde edilmiştir. (Tablo 2) DMFT ile OLS ve HMD arasında pozitif yönlü orta düzey anlamlı bir ilişki saptanmıştır. (Tablo 3)

Periodontal indeksler ve DKE ile OLS ve HMD'ler arasında tüm ölçüm zamanlarında istatistiksel olarak pozitif yönlü (zayıf, orta ya da güçlü düzeyde) anlamlı bir ilişki bulunmuştur. (Tablo 4)

Etkin maddesi çinko ve kalay olan diş macunu kullanan çalışma grupları incelendiğinde 3. Ay sonunda başlangıç ölçüm değerlerine göre hem periodontal parametrelerde hem de ağız kokusu ölçüm değerlerinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. (Tablo 5)

**Tablo 4.** Periodontal indeksler ve DKE ile OLS ve HMD'ler arasındaki ilişkinin incelenmesi

Pİ-t1	OLS-t1	OLS-t2	OLS-t3	HMD-t1	HMD-t2	HMD-t3
Pİ-t2	0,557*			0,635*		
Pİ-t3		0,493*			0,584**	
Gİ-t1			0,508*			0,454*
Gİ-t2	0,531*			0,614*		
Gİ-t3			0,318*			0,203*
CD-t1	0,304*			0,341*		
CD-t2		0,221*			0,235**	
CD-t3			0,335*			0,247*
SK-t1	0,791*			0,819*		
SK-t2		0,650*			0,721*	
SK-t3			0,560*			0,601*
DKE-t1	0,591*			0,727*		
DKE-t2		0,634*			0,723*	
DKE-t3			0,573*			0,631*

\*\*Pearson korelasyon katsayısı \* Spearman korelasyon katsayısı

**Tablo 5.** Gruplara göre parametrelerin karşılaştırılması

	Grup1 (Çinko)	Grup2 (Kalay)	Test İstatistiği	p
Pİ-t1	1,14 ± 0,34	0,96 ± 0,3	t=2,713	0,008
Pİ-t2	0,74 ± 0,27	0,64 ± 0,25	t=1,855	0,067
Pİ-t3	0,41 (0,13- 0,96)	0,34 (0,11- 0,84)	961,5	0,047
Gİ-t1	1,03 (0,56 - 1,29)	0,96 (0,48 - 1,48)	1168	0,572
Gİ-t2	0,76 ± 0,15	0,72 ± 0,19	t_1,026	0,307
Gİ-t3	0,61 (0,29 - 0,83)	0,44 (0,26 - 0,72)	695,5	<0,001
CD-t1	1,78 (1,42 - 2,21)	1,81 (1,44 - 2,17)	1360	0,448
CD-t2	1,64 ± 0,16	1,65 ± 0,14	t=-0,552	0,582
CD-t3	1,52 (1,16 - 1,79)	1,51 (1,16 - 1,73)	1169	0,576
SK-t1	3,57 (0,89 - 6,25)	2,67 (0 - 5,35)	963,5	0,043
SK-t2	1,78 (0 - 4,46)	1,78 (0 - 3,57)	1018,5	0,101
SK-t3	0,89 (0 - 2,67)	0,89 (0 - 2,89)	1169	0,545
OLS-t1	2 (0 - 3)	2 (0 - 3)	1122,5	0,336
OLS-t2	2 (0 - 3)	2 (0 - 3)	1129,5	0,336
OLS-t3	1 (0 - 2)	1 (0 - 2)	1245,5	0,972
HMD-t1	155,9 ± 65,69	143,46 ± 45,93	t=1,097	0,275
HMD-t2	98,48 ± 41,62	114,14 ± 38,73	t=-1,948	0,054
HMD-t3	75,02 ± 35,94	90,96 ± 34,35	t=-2,267	0,026

## Tartışma

Çalışmamızda ağız kokusu seviyesini belirlemek için, organoleptik değerlendirme ile beraber Halimeter cihazı kullanılmıştır. Halimeter taşınması, uygulaması ve değerlendirilmesi kolay olduğundan dolayı çalışmamızda tercih edilmiştir. Organoleptik değerlendirmelerde ise Rosenberg tarafından tanımlanmış olan organoleptik ölçüm skalasına göre skorlama yapılmıştır [8]. Lu ve ark., Quirynen ve ark. yaptıkları çalışmalarda organoleptik değerlendirme ile halimeter ölçümleri arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir [9, 10].

Halitozis her yaşta insanı etkileyebilmektedir. Ağız kokusunun görülme sıklığı ve şiddetinin sağlıklı bireylerde yaşa bağlı olarak arttığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Miyazaki ve arkadaşlarının 2672 katılımcıyla yaptıkları bir çalışmada USB değerleri ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ancak farklı yaş gruplarında tespit edilen ağız kokusu seviyeleri anlamlı farklılık göstermiştir. Ağız kokusu değerlerini en düşük 15-34 yaş, en yüksek 35-64 yaş grubu bireylerde tespit etmişlerdir [11]. Bizim çalışmamızda ise yaş ortalaması 20 olan diş hekimliği öğrencileri araştırmaya dahil edilerek yaş farkından doğabilecek olan farklılıklar standardize edilmeye çalışılmıştır.

Bireyler bazen ağız kokusu olduğu halde bunun farkında olmayabildiği gibi ağız kokusu olmadığı halde sürekli bir ağız kokusundan şikayet edebilmektedirler. Bu durum bireylerin ağız kokusu farkındalıkları ile ilgilidir. Rosenberg ve ark., Bornstein ve ark. yaptıkları çalışmalarda bireylerin ağız kokusu şikayeti ile organoleptik skorlar ve USB değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edememişlerdir [12, 13]. Çalışmamızın sonuçlarına göre ağız kokusunun var olduğu düşüncesi ile OLS

ve HMD arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0,05$ ). Aynı şekilde hissedilen ağız kokusu yoğunluğu ile OLS ve HMD arasında da anlamlı bir ilişki vardır ( $p < 0,05$ ). Iwanicka-Grzegorek ve ark. yaptıkları çalışma ile bulgularımızı destekleyecek şekilde ağız kokusu şikayeti ile USB'ler arasında anlamlı ilişki bulmuşlardır [14].

Amir [15] ve Nalçacı [16] ağız kokusu ve DMFT indeksleri arasında pozitif bir ilişki bulmuşlardır. Liu ve ark. ile Miyazaki ve ark. ise DMFT indeksi ile yüksek USB değerleri arasında bir ilişki tespit edememişlerdir [4, 11]. Bizim çalışmamızda DMFT değerleri ile hem OLS-t1 hem de HMD-t1 arasında pozitif yönlü orta düzey anlamlı bir ilişki bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Bu durum kavite oluşmuş çürüklerin ve uygun yapılmamış restorasyonların ağızdaki plak ve gıda retansiyon alanlarını artırmasının bir sonucu olabilir.

Literatürde ağız solunumu ve ağız kuruluğunun halitozis oluşumunda etkili olduğunu savunan birçok çalışma bulunmaktadır. Çiçek ve ark. ile Nalçacı ve ark. yapmış oldukları çalışmaların sonucunda ağız kuruluğu ve ağız solunumunun ağız kokusu üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir [17, 18]. Suzuki ve ark. ise ağız solunumu ile USB ve OLS arasında herhangi bir ilişki olmadığını belirtmişlerdir [19]. Bizim çalışmamızın sonucuna göre ağız kuruluğu ile OLS ve HMD arasında anlamlı bir ilişki vardır ( $p < 0,05$ ). Ağız solunumu ile OLS arasında anlamlı bir sonuç bulunmamasına karşın ( $p > 0,05$ ), ağız solunumu ve HMD arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).

Periodontal hastalık ve ağız kokusu ilişkisi en çok tartışılan konulardan biridir. Ağız kokusu oluşumunda etkili olan USB'lerin periodontal hastalığın patogenezinde önemli rol oynaması, her ikisinin de ileri yaşa bağlı olarak artış göstermesi, etiyojilerindeki bakteriyel komponentlerden dolayı aralarında kuvvetli bir ilişki bulunmaktadır. Çalışmamıza katılan bireyler periodontal olarak sağlıklı ya da gingivitisli hastalardır. Hastalardan başlangıçta, 1 ay sonra ve 3 ay sonra olmak üzere üç kez plak indeksi (Pİ), gingival indeks (Gİ), cep derinliği (CD), sondlamada kanama (SK) ve DKE ile beraber OLS ve HMD'leri kayıt altına alınmıştır. İstatistiksel analizler sonucunda her üç ölçüm zamanında da periodontal parametreler ile ağız kokusu seviyeleri arasında pozitif yönlü anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Bu sonuç bize periodontal durumun ağız kokusu üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. Tonzetich, 1978 yılında yaptığı çalışmada USB üretiminin, periodontal cep derinliği ve 3mm'den derin periodontal ceplerin bulunma sıklığı ile ilişkili olduğunu bildirmiştir [20]. Pham ve ark. ise yaptıkları bir çalışmayla dental plak, SK ve DKE'nin ağız kokusu oluşumuna neden olduğunu ileri sürmüşlerdir [21].

İki pozitif yüke sahip çinko iyonu, iki negatif yüklü sülfür radikale bağlanarak USB oluşumunu azaltır. Çinko, daha az toksik olduğundan ve dişler üzerinde renklenme yapmadığından dolayı ağız kokusunun kontrolünde en çok incelenen bileşenlerden biridir. Schmidt ve Tabet yaptıkları çalışma ile çinko içeren bir



gargaranın hem OLS (% 40 azalma) hem de USB (% 80 azalma) değerlerini düşürmede 3 saat boyunca etkili olduğunu bildirmiştir [22]. Feng ve ark. yaptıkları randomize kontrollü bir klinik çalışma sonucunda kalay içeren diş macununun kontrol diş macununa göre sabah hissedilen kötü nefesi önlemede daha üstün olduğunu göstermişlerdir [23]. Çalışmamızda etken maddesi çinko ve kalay olan diş macunu kullanan hasta gruplarında periodontal parametrelerde ve ağız kokusu seviyelerinde belli bir düzeyde azalma olduğu gözlenmiştir. Bu gruplar birbirlerine göre kıyaslandıklarında aralarında ağız kokusu seviyelerini azaltma ve periodontal durumu iyileştirme açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Yalnızca GI-t3 ortanca değerleri gruplara göre göre farklılık göstermektedir ( $p < 0,001$ ). Her iki grupta da çalışmanın sonunda periodontal indeksler ve ağız kokusu seviyelerinde başlangıca göre daha iyi sonuçlar elde edilmiş olsa da çinko kalaydan ya da kalay çinkodan üstün değildir. Sonraki çalışmalarda bu parametreler ile ağız kokusu arasındaki ilişkinin detaylı olarak incelenmesi faydalı olacaktır.

## Sonuç

Çalışma grubumuzun ağız kokusu farkındalık düzeyleri yüksektir. Ağız kokusu DMFT, ağız kuruluğu, ağız solunumu ve periodontal durum ile ilişkilidir. Çinko ve kalay içeren diş macunları ağız kokusu şikayeti olanlara önerilebileceği gibi bu konuyla ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu kanısındayız.

## Çıkar çatışması / finansal destek beyanı

Bu yazıdaki hiçbir yazarın herhangi bir çıkar çatışması yoktur. Yazının herhangi bir finansal desteği yoktur.

## Kaynaklar

1. Tonzetich J. Production and origin of oral malodor: a review of mechanisms and methods of analysis. *Journal of periodontology* 1977; 48:13-20.
2. Scully C et al. Breath odor: etiopathogenesis, assessment and management. *European journal of oral sciences* 1997; 105: 287-93.
3. Delanghe G et al. An inventory of patients' response to treatment at a multidisciplinary breath odor clinic. *Quintessence international* 1999; 30 (5).
4. Liu, X.N et al. Oral malodor-related parameters in the Chinese general population. *Journal of clinical periodontology* 2006; 33: 31-36.
5. De Boever, E.H, Loesche W.J. Assessing the contribution of anaerobic microflora of the tongue to oral malodor. *The Journal of the American Dental Association* 1995; 126: 1384-93.
6. Sanz M., Roldan S., Herrera D. Fundamentals of breath malodour. *J Contemp Dent Pract* 2001; 2:1-17.
7. Morita M., Musinski D.L., Wang H.L., Assessment of newly developed tongue sulfide probe for detecting oral malodor. *Journal of clinical periodontology* 2001; 28: 494-96.
8. Rosenberg M., McCulloch C.A. Measurement of oral malodor: current methods and future prospects. *Journal of periodontology* 1992; 63: 776-82.
9. Lu H.X et al. Characteristics of patients complaining of halitosis and factors associated with halitosis. *Oral diseases* 2014; 20: 787-95.
10. Quirynen M et al. Characteristics of 2000 patients who visited a halitosis clinic. *Journal of clinical periodontology* 2009; 36: 970-75.
11. Miyazaki H et al. Correlation between volatile sulphur compounds and certain oral health measurements in the general population. *Journal of periodontology* 1995; 66: 679-84.
12. Rosenberg M et al. Self-assessment of oral malodor 1 year following initial consultation. *Quintessence international* 1999; 30(5).
13. Bornstein, M.M et al. Prevalence of halitosis in young male adults: a study in Swiss army recruits comparing self-reported and clinical data. *Journal of periodontology* 2009; 80: 24-31.
14. Iwanicka-Grzegorek K et al. Comparison of ninhydrin method of detecting amine compounds with other methods of halitosis detection. *Oral diseases* 2005; 11: 37-39.
15. Amir E, Shimonov R, Rosenberg M., Halitosis in children. *The Journal of pediatrics*, 1999; 134: 338-43.
16. Nalçacı R, Sönmez I.S. Evaluation of oral malodor in children. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 2008. 106: 384-88.
17. Çiçek Y et al. Effect of tongue brushing on oral malodor in adolescents. *Pediatrics international* 2003; 45: 719-23.
18. Nalcaci R, Baran I. Oral malodor and removable complete dentures in the elderly. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 2008; 105: 5-9.
19. Suzuki N et al. The relationship between alcohol consumption and oral malodour. *International dental journal* 2009; 59: 31-34.
20. Tonzetich J. Oral malodour. An indicator of health status and oral cleanliness. *Int Dent J* 1978; 28: 309-19.
21. Pham T.A et al. Factors affecting oral malodor in periodontitis and gingivitis patients. *Journal of investigative and clinical dentistry* 2012; 3: 284-90.
22. Schmidt, N.F. and W.J. Tarbet, The effect of oral rinses on organoleptic mouth odor ratings and levels of volatile sulfur compounds. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 1978; 45: 876-83.
23. Feng X et al. Breath malodor reduction with use of a stannous-containing sodium fluoride dentifrice: a meta-analysis of four randomized and controlled clinical trials. *Am J Dent* 2010; 23: 27-31

■ Original Makale

## Bir eğitim ve araştırma hastanesinde takip edilen Hepatit B ile enfekte gebelerin değerlendirilmesi

### *Evaluation of hepatitis b infected pregnant followed at a research and training hospital*

Esra Kaya KILIÇ<sup>1\*</sup> , Şerife Altun DEMİRCAN<sup>1</sup> , Çiğdem Ataman HATİPOĞLU<sup>1</sup> , Kader ARSLAN<sup>1</sup> , Cemal BULUT<sup>2</sup> , Salih CESUR<sup>1</sup> , Sami KINIKLI<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara/TÜRKİYE

<sup>2</sup> Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara/TÜRKİYE

#### Öz

**Amaç:** Kronik hepatit B önemli bir sağlık sorunudur. İmmünoprofilaksiye rağmen, anneden çocuğa hepatit B virüs (HBV) bulaşı yüksek oranda viremi olan annelerin % 1-10' unda görülür. Gebelerin bu nedenle HbsAg pozitifliği yönünden taranması ve takibi önerilir. Bu çalışmada kliniğimizde izlenen hepatit B ile enfekte gebe kadınların yönetimi ve tedavisi değerlendirildi.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya 85 HBV ile enfekte gebe dahil edildi. Gebeler, gebelik süresince ve doğum sonrasında periyodik olarak takip edildi. Üç aylık aralıklarla hastaların HBV-DNA ve karaciğer fonksiyon testleri değerlendirildi.

**Bulgular:** Hastaların yaş ortalaması 29,04±5,6 (17-38) yaş, başvuru sırasındaki gebelik haftası ortalaması 17,39±9,3 (5-38) idi. Hastaların 14' ü (%16,4) gebelik sırasında yapılan taramalarla HbsAg pozitif olduğunu öğrendi. Gebelerin 25'inde (%29,4) Anti-HAV IgG pozitifliği. Onüç hastaya (%15,3) antiviral tedavi başlandı. Onüç (%15,3) hastaya tedavi başlandı, tedavi başlanan hastaların 12' si (%92,3) tenofovir disoproksil fumarat alırken, bir hasta telbivudin almaktaydı. Hiçbir hastada tedaviye bağlı yan etki gözlenmedi. Bebeklerin doğum sonrası takiplerinde antiviral tedavi ile ilişkili problemler izlenmedi. Takibi yapılabilen 25 (%29,4) bebeğin hiçbirinde HbsAg pozitifliği saptanmadı.

**Sonuç:** Hepatit B bulaşında önemli bir yol olan vertikal bulaşların engellenmesi için, gebelik taramalarının ve gebelerin yakın takibinin yapılması gerekmektedir.

**Anahtar kelimeler:** gebelik; yenidoğan; hepatit B; antiviral tedavi

Sorumlu Yazar\*: Esra Kaya Kılıç Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara/TÜRKİYE

E-mail: esrakayakilic@gmail.com

ORCID: 0000-0002-3270-4841

Gönderim:01.07.2019 Kabul: 03.02.2020

Doi: 10.18663/tjcl.584867

## Abstract

**Aim:** Chronic hepatitis B is an important health problem. Despite immunoprophylaxis, hepatitis B virus (HBV) transmission from mother to child is seen in 1-10% of mothers with high rates of viremia. Therefore, screening and follow-up of pregnant women is recommended for HBsAg positivity.

**Material and Methods:** In this study, the management and treatment of hepatitis B infected pregnant women were evaluated in our clinic. 85 HBV infected pregnant women were included in the study. The pregnant women were followed periodically during pregnancy and after delivery. HBV-DNA and liver function tests were evaluated at three-month intervals.

**Results:** The mean age of the patients was  $29.04 \pm 5.6$  years (range, 17-38 years), and the mean gestational age at admission was  $17.39 \pm 9.3$  (5-38). 14 of the patients (16.4%) learned that HbsAg was positive by screening during pregnancy. Anti-HAV IgG was positive in 25 (29.4%) of the pregnant women. Thirteen patients (15.3%) underwent antiviral therapy. Thirteen (15.3%) patients were started on treatment and 12 (92.3%) patients received tenofovir disoproxil fumarate and one patient was receiving telbivudine. No side effect was observed in any patient. There were no problems about infants, associated with antiviral treatment in the postpartum period. There were no HbsAg positivity in 25 (29.4%) infants.

**Conclusion:** In order to prevent vertical transmission, which is an important pathway in the transmission of hepatitis B, it is necessary to follow up pregnancy screenings and pregnant women closely.

**Key words:** Pregnancy; newborn; hepatitis B; antiviral treatment

## Giriş

Hepatit B karaciğeri enfekte ederek, akut ve kronik enfeksiyona neden olan ve hayatı tehdit eden viral bir enfeksiyondur. Global bir sağlık problemi olarak yaklaşık 257 milyon insanı etkilemiş ve 2015 yılında 887000 ölüme neden olmuştur. Hepatit B prevalansı World Health Organization (WHO) Africa Bölgesinde en yüksek %6,2 iken, WHO Doğu Akdeniz, Güney-Doğu Asya ve Avrupa bölgelerinde prevalansı sırasıyla %3,3, %2,0 ve %1,6 olarak saptanmıştır (1). Bu oranlar Hepatit B enfeksiyonunun neden global bir sağlık problemi olduğunun göstermektedir.

Önemli bulaş yollarından biri maternal geçiştir. Anne HbeAg pozitif ise doğum sonrasında bebek için kronik enfeksiyon gelişme ihtimali %80-90' dur (2). Aşı ile önlenebilen ancak enfekte olduğunda kronikleşen bu hastalık için 1980' li yılların başından bu güne kadar etkili ve güvenilir bir HBV aşısı mevcuttur (3, 4). Bu bağlamda, WHO önerisi ile hepatit B ile enfekte anneden doğan bebeklere standart hepatit B immunglobulini ve hepatit B aşısı doğumdan hemen sonraki 12 saat içinde ve takip eden 2. ve 6. aylarda iki doz uygulaması ile bebeğe immunizasyon yapılır. Standart aşı ve immunglobulin uygulamaları ile maternal bulaşın engellenmesinde %95 etkinlik bildirilmesine rağmen yüksek viremik annelerden doğan bebeklerde %8-30 oranında aşı başarısızlığı saptanmıştır (5). Annenin yüksek viremi düzeyi, intrauterin enfeksiyon ya da HBV yüzey proteinindeki mutasyonlar immunoproflaksidedeki başarısızlıkların nedeni olarak sayılabilir (6, 7). Bu nedenlerle gebelik süresince HbsAg pozitif bireylerde HBV-DNA ve karaciğer fonksiyon testlerinin düzenli takibi önerilir. Gebelik döneminde verilen

antiviral tedavinin esas amacı, annenin hepatik fonksiyonlarını kontrol altında tutmak ve bebeğe Hepatit B virus bulaşını engellemektir (8). Lamivudin, telbivudin ve tenofovir tedavilerinin bulaşı azalttığını ve güvenilir olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (9, 10, 11). Gebelerde viral yükün yüksek olması (>108 kopya/mL veya  $2 \times 10^7$  IU/mL) anneden bebeğe HBV geçiş riskini artırmaktadır. Viral yükün  $2 \times 10^5$  IU/mL ve  $2 \times 10^7$  IU/mL aralığında olması durumunda bulaş riski düşüktür (12). Ancak American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) tedavi başlama önerisi viral yükün  $>2 \times 10^5$  IU/mL olduğu durumlardır (13).

Bu çalışmada amacımız kliniğimizde takip ve tedavi edilen hastaların epidemiyolojik verilerini ve vertikal bulaşta antiviral ajanların etkinliklerini değerlendirmektir.

## Gereç ve Yöntemler

Şubat 2012-Ağustos 2018 yılları arasında HbsAg pozitifliği bilinen ya da yeni saptanan gebelerin verileri retrospektif olarak incelendi. Kliniğimizde HbsAg pozitifliği nedeni ile takipli iken gebe kalan ve obstetrik polikliniğince HbsAg pozitifliği saptandıktan sonra kliniğimize yönlendirilen 113 hasta tespit edildi. Gebeliği süresince birden fazla kere enfeksiyon hastalıkları polikliniğine kontrole devam eden 85 hasta çalışmaya dahil edildi. Hepatit C, Hepatit D, HIV koenfeksiyonu olanlar, bilinen kronik karaciğer hastalığı olanlar ve gebeliğin yağlı karaciğeri gibi gebelik komplikasyonu olan hastalar çalışmaya alınmadı.

Gebeler, gebelik süresince ve doğum sonrasında periyodik olarak takip edildi. Üç aylık aralıklarla hastaların HBV-DNA ve karaciğer fonksiyon testleri değerlendirildi. Hastaların başvuru sırasında Anti-Delta, Hbe Ag, Anti Hbe, Anti HAV IgG değerleri, yaş, gebelik

sayısı, gebelik haftası, var olan çocukların HbsAg ve Anti-HBs durumları, HBV için tedavi alma hikayesi bilgileri kaydedildi.

Doğum sonrası hemen, yenidoğanların hepsine 0,5 mL Hepatit B immunglobulini tek doz ve 0,5 mL Hepatit B aşısı (24 saat içinde) intramuskuler yolla uygulandı. Ulusal aşı takvimi uyarınca bebeklere 1. ve 6. aylarda Hepatit B aşısı önerildi. Üçüncü doz Hepatit B aşısından sonra maternal geçişi değerlendirmek amacı ile HBsAg ve AntiHbs tetkikleri istendi.

İstatistiksel analizler SPSS 20.0 paket programı kullanılarak, kategorik değişkenler sayı ve yüzde verilerek değerlendirildi.

## Bulgular

HbsAg pozitif olan 85 hasta çalışmaya alındı. Hastaların yaş ortalaması  $29,04 \pm 5,6$  (17-38) yaş, başvuru sırasındaki gebelik haftası ortalaması  $17,39 \pm 9,3$  (5-38) idi. Üç (%3,5) hastada HbeAg pozitifliği. Anti-Hbe pozitif hasta sayısı 46 (%54,1) idi. Gebelerin 25'inde (%29,4) Anti-HAV IgG pozitifliği. Hastaların demografik özellikleri tablo 1'de gösterilmiştir.

(%92,3) tenofovir disoproksil fumarat alırken, bir hasta telbivudin almaktaydı. Anti viral tedavi başlanma haftasının ortancası  $20,6 \pm 9,2$  hafta idi. Tedavi başlanan gebelerin hiçbirine 28 haftadan daha sonra tedavi başlanmadı. Doğum sonrası her bebeğe Hepatit B aşısı ve immunglobulin birlikte uygulandı. Anti viral tedavi alan gebelerin trimesterlerine göre HBV-DNA değerleri tablo 2'de gösterilmiştir.

Tedavi alan hastaların birinde (%7,7) HbeAg pozitifken, 12 (%92,3) hastada AntiHbe pozitifliği. Bu gruptaki hastaların ALT ortancası  $116,8 \pm 298,2$  (min 10-max 1056) olarak belirlendi. Tedavi almayan grubun ALT ortancası  $18,8 \pm 6,34$  (min 8-max 33) idi.

Anti viral tedavi başlamayan gebelerin başlangıçta HBV-DNA ortancaları  $797,17$  IU/mL (min 0-max 5472) idi. Bu hastaların trimesterlere göre HBV-DNA değerleri tablo 3'te özetlenmiştir.

Hastaların hiçbirinde ilaçlara bağlı yan etki gözlenmedi. Gebelik süresince antiviral tedaviyi tolere edemeyen bir hasta tedaviyi bıraktı. Doğum sonrası kontrollerine devam eden 25 (%29,4) hastanın 12' sinin (%14,1) bebeğinde Anti HBs pozitifliği saptandı, diğerlerinin hepatit serolojisi bilgilerine ulaşamadı. Gebelik süresince antiviral

**Tablo 1.** Hastaların demografik özellikleri

	Minimum	Maksimum	Ortanca	Std. Deviasyon
Yaş	17	38	29,04	5,634
Gebelik haftası	5	38	17,39	9,384
Başlangıç HBV-DNA (IU/mL)	0	327343730	8431741,58	52410920,102
ALT	8	1056	52,03	176,213
Doğum sonrası HBV-DNA (IU/mL)	0	9612	1810,68	3309,779
Doğum sonrası ALT (IU/L)	14	42	24,73	9,382

ALT: alaninamino transferaz

**Tablo 2.** Antiviral tedavi alan hastaların viral yüklerinin gebelik öncesi, gebelik sırasında ve doğum sonrasındaki dağılımı

	Minimum	Maksimum	Ortanca	Std. Deviasyon
Başlangıç HBV-DNA (IU/mL)	0	327343730	25293730,85	90755166,243
İkinci trimester HBV-DNA (IU/mL)	9450	1468053	738751,50	1031388,072
Üçüncü trimester HBV-DNA (IU/mL)	20	6075549	1283570,20	2680890,524
Doğum sonrası HBV-DNA (IU/mL)	0	6402	2473,00	3093,153

**Tablo 3.** Antiviral tedavi almayan hastaların viral yüklerinin gebelik öncesi, gebelik sırasında ve doğum sonrasındaki dağılımı

	Minimum	Maksimum	Ortanca	Std. Deviasyon
Başlangıç HBV-DNA (IU/mL)	0	5472	797,17	1433,407
İkinci trimester HBV-DNA (IU/mL)	0	2666	512,83	983,702
Üçüncü trimester HBV-DNA (IU/mL)	0	3114	515,40	1032,677
Doğum sonrası HBV-DNA (IU/mL)	0	9612	1664,17	3894,267

Gebelerin diğer çocuklarındaki HbsAg pozitifliklerine bakıldığında, sadece iki annenin, iki çocuğunda HbsAg pozitifliği olduğu belirlendi. Hastaların 14' ü (%16,4) gebelik sırasında yapılan taramalarla HbsAg pozitif olduğunu öğrenmişti.

Hastaların 25'i (%29,4) doğum sonrası kontrole geldi. Onüç (%15,3) hastaya tedavi başlandı, tedavi başlanan hastaların 12' si

tedavi alma durumu ile bebeklerinin AntiHbs pozitiflikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ( $p > 0,01$ ). Doğum sonrası ulaşılan bebeklerin hiçbirinde HBsAg pozitifliği saptanmadı. Takibi yapılabilen bebeklerin hiçbirinde erken doğum, düşük doğum ağırlığı, konjenital anomaliler ve renal disfonksiyon saptanmadı.

## Tartışma

Hepatit B virüsünün perinatal bulaşı özellikle hiperendemik bölgelerde yaygın bir bulaş yoludur. Geçmiş dekatta etkili antivirallerin kullanılması, üçüncü trimesterde viral supresyonun sağlanması ile de bulaş riski azaltılmıştır (12). Türkiye, HBV enfeksiyonu için orta endemisiteli (%2-8) bir ülkedir (14). Bu çalışmada HBV enfeksiyonu tanısı olan ya da gebelik sırasında tanısı konulan, antiviral tedavi alan ve almayan hastalar retrospektif olarak değerlendirildi.

Anneden bebeğe HBV bulaşı gebelik sırasında, doğumda, emzirme döneminde, doğum sonrasında ve bebeğin günlük bakımı sırasında olabilmektedir (15, 16). Takip ettiğimiz gebelerden ikisinde takibimizden önceki gebeliklerinden doğan iki bebekte HbsAg pozitifliği saptanmış. Bu durum vertikal bulaşta halen bazı yetersizliklerin olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda takip edilen gebelerden ve doğum sonrası kontrollerine gelmeye devam ederek bilgilerine ulaşılan annelerin 12' sinin (%14,1) bebeğinde AntiHbs pozitif saptandı. Tüm gebelerin doğumları sırasında bebeklere immunglobulin ve hepatit B aşısı uygulandı. Doğum sonrası takiplerde saptayabildiğimiz kadarı ile hiçbir bebekte HbsAg pozitifliği gelişmedi. Ancak biz tüm bebeklerin hepatit serolojilerini, hastaların doğum sonrası takiplere gelme oranı az olduğu ve kontrole gelen hastaların hepsinin de bebeklerin hepatit B serolojilerini test edemediğimiz için değerlendiremedik. Tayvanlı ve Amerikalı 972 çocuğun 10 yıllık takiplerinin yapıldığı bir çalışmada doğumda aşılardan çocukların %85' inin aşı ile antikor geliştirdiği, sadece üç çocukta 10 yaş civarında kronik hepatit B enfeksiyonu geliştiği bulunmuştur. Bununla birlikte aynı kohortta aşı başarısızlığı gelişen hastalarda kronik hepatit gelişme yaşı 12 aya kadar düşmektedir (17). Bu çalışmada, imünizasyonun anneden bebeğe bulaş engellemediği durumlarda da kronik hepatit gelişme süresinin uzattığı görülmektedir. Aşı başarısızlığının nedenleri olarak intruterin enfeksiyon, annenin viral yükünün yüksek olması ve HbeAg pozitifliği gösterilmektedir (6, 7, 18).

Antiviral ajanlar annenin viral yükünü azaltarak, perinatal geçişi azaltmakta ve intruterin enfeksiyon oranlarını azaltmayı hedeflemektedir (19). Lamivudin, tenofovir disoproksil fumarat ve telbivudin gebelikte güvenle kullanılacak etkin antiviral ajanlardır. Çalışmamızda hastalarımızın 13' ü (%15,3) antiviral tedavi aldı. Bunların da 12'si (%92,3) tenofovir disoproksil fumarat ile, sadece bir hastamız telbivudin ile tedavi edildi. Bir hasta antiviral tedaviyi tolere edemediği için tedaviyi bıraktı ve hastanın takiplerinde HBV DNA değerlerinin bu nedenle <2000 IU/mL saptanmadığı tespit edildi. Altı çalışmanın incelendiği, plesebo ile telbivudinin karşılaştırıldığı bir metaanalizde, telbivudinin pleseboya kıyasla viral yükte düşme sağladığı ve yan etki değerlendirmesinde plesebodan

farklı olmadığı gösterilmiştir (20). Afrika' da HIV mono enfeksiyonu olan ya da HIV-HBV koenfeksiyonu olan hastalarla yapılan çalışmada, gebelik öncesi ve sırasında tenofovir disoproksil fumarat kullanan gebeler değerlendirilmiş. İki yıllık izlemde erken doğum, konjenital anomaliler, infant renal disfonksiyonu ya da düşük doğum ağırlığı ile tenofovir arasında bir ilişki saptanmamıştır (21). Daha küçük bir grupta yapılan retrospektif bir çalışmada HBV viral yükü yüksek, HbeAg pozitif 11 gebe, gebeliğin son trimesterinde tenofovir ile tedavi edilmiş. Gebelerin viral yüklerinin anlamlı oranda düştüğü ve 11 bebeğin 7-9 aylık takiplerinde HbsAg pozitifliği gelişmediği belirlenmiştir (22). Çalışmamızda etkinliği ve güvenilirliği kanıtlanmış antivirallerle hastalarımızı tedavi ettik. Ancak tedavi alan hasta grubumuzun küçük olması ve doğum sonrasında gebelerin ve bebeklerin tamamının takibinin yapılamamış olması nedenleri ile bulduğumuz sonuçlarla genelleme yapmak mümkün görünmemektedir.

Çalışmamızda hastaların HbsAg taraması sayesinde, gebelikte hepatit B virusu ile enfekte olduklarını öğrendiklerini belirledik. Gebelikte HbsAg taramalarının yapılması bu hastaların tespiti ve anneden bebeğe bulaşın önlenmesinde çok büyük önem taşımaktadır. Literatürde anne viral yükünün yüksek olması, intrauterin enfeksiyon, mutant suşlarla enfeksiyon olunması ve HbeAg pozitifliği gibi nedenlerle aşı başarısızlıkları bildirilmektedir. Ancak çalışmamızda immunizasyon sonrasında, aşı başarısızlığı saptamadık. Bu durum, takip süresinin kısa olması ve tüm bebeklerin doğum sonrasında takiplerinin yapılamamış olması ile ilişkili olabilir. Vertikal bulaşın önlenmesi için gebelik süresince ve sonrasında anne ve bebeklerin yakın takip edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

## Sonuç

Sunduğumuz çalışmada kronik hepatit B'li anneye gebelik döneminde uygulanan antiviral tedavinin bebeğe zarar vermeksizin vertikal geçişi önlediği gözlemlendi.

## Çıkar çatışması / finansal destek beyanı

Bu yazıdaki hiçbir yazarın herhangi bir çıkar çatışması yoktur. Yazının herhangi bir finansal desteği yoktur.

## Kaynaklar

1. <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>, erişim 01/12/2018.
2. Hyams K. Risk of cronicity following acute hepatitis B virus infection: a review. Clin Infect Dis 1995; 20: 992-1000.
3. Szmunn W, Steven CE, Harley E, Zang E, Oleszko W, William D, Sadovsky R et al. Hepatitis B vaccine: demonstration of efficacy in controlled clinical trial in a high-risk population in United States. N Engl J Med 1980; 303: 833-41.
4. Francis D, Hadler S, Thompson S, Maynard J, Ostrow D, Altman



- N, Braff E et al. The prevention of hepatitis B with vaccine. Report of the Centre for Disease Control multi-center efficacy trial among homosexual men. *Ann Intern Med* 1982; 97: 362-66.
5. Pan CQ, Duan ZP, Bhamidimarri KR, et al. An algorithm for risk assessment and intervention of mother to child transmission of hepatitis B virus. *Clin J Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 452-59.
  6. Stevens CE, Beasley RP, Tsui J et al. Vertical transmission of hepatitis B antigen in Taiwan. *N Engl J Med* 1975; 292:771-4.
  7. Ngui SL, O'Connell S, Eglin RP et al. Low detection rate and maternal provenance of hepatitis B virus S gene mutants in cases of failed postnatal immunoprophylaxis in England and Wales. *J Infect Dis* 1997; 176:1360-65.
  8. Han G-R, Cao M-K, Zhao W et al. A prospective and open label study for the efficacy and safety of telbivudine in pregnancy for the prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus infection. *J Hepatology* 2011; 55: 1215-21.
  9. Han GR, Xu CL, Zhao W, Yang YF. Management of chronic hepatitis B in pregnancy. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4517-21.
  10. Pan CQ, Han GR, Jiang HX et al. Telbivudine prevents vertical transmission from HBeAg-positive women with chronic hepatitis B. *Clin Gastroenterol* 2012; 10:520-6.
  11. Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM et al. AASLD practice guidelines for the treatment of hepatitis B. *Hepatology* 2016; 63: 261-83.
  12. Tram TT. Hepatitis B in pregnancy. *CID* 2016; 62: 314-17.
  13. Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM et al. AASLD practice guidelines for the treatment of hepatitis B. *Hepatology* 2016; 63: 261-83.
  14. Toy M, Onder FO, Wörmann T et al. Age- and region-specific hepatitis B prevalence in Turkey estimated using generalized linear mixed models: A systematic review. *BMC Infect Dis* 2011; 12: 337.
  15. Hamdani-Belghiti S, Bouazzaou NL. Mother-child transmission of hepatitis B virus. State of the problem and prevention. *Arch Pediatr* 2000; 7: 879-882.
  16. Shi Z, Yang Y, Wang H et al. Breastfeeding of newborns by mothers carrying hepatitis B virus: A meta-analysis and systematic review. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2011; 165: 837-46.
  17. Wu J, Hwang L, Goodman K, Beasley R. Hepatitis B vaccination in high-risk infants: 10 year follow-up. *J Infect Dis* 1999; 179:1319-25.
  18. Saho Z, Zhang L, Xu J, Xu D, Men K, Zhang J, Cui H et al. Mother-to-infant transmission of hepatitis B virus: a Chinese experience. *J Med Virol* 2011; 83: 791-5.
  19. Shi Z, Li X, Ma L, yang Y. Hepatitis B immunoglobulin injection in pregnancy to interrupt hepatitis B virus mother-to-child transmission - a meta-analysis. *Int J Infect Dis* 2010; 14: 622-34.
  20. Deng M, Zhou X, Gao S, Yang S, Wang B, Chen H, Ruan B. The effects of telbivudine in late pregnancy to prevent intruterine transmission of the hepatitis B virus: a systematic review and meta-analysis. *Virol J* 2012; 9: 185.
  21. Gibb D, Kizito H, Russell E, Chidziva E, Zalwango E, Nalumeya R, Spyer M et al. Pregnancy and infant outcome among HIV-infected taking long-term ART with and without tenofovir in DART trail. *PloS Med* 2012; 9: e1001217.
  22. Pan C, Mi L, Bunchorntavakul C, Karsdon J, Huang W, Singhvi G, Ghany M et al. Tenofovir disoproxil fumarate for prevention of vertical transmission of hepatitis B virus infection by highly viremic pregnant women: a case series. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2423-29.

## ■ Original Article

## N6-methyladenosine-modifying enzymes are deregulated in multiple myeloma

### *Multipl miyelomda N6-metiladenozin modifiye edici enzimlerin düzensizliği*

Dilara AKCORA YILDIZ\* 

Mehmet Akif Ersoy University Science & Art Faculty Biology Department, Burdur, TURKEY

#### Abstract

**Aim:** N6-methyladenosine (m6A) mRNA modification plays essential roles in various cellular processes including regulation of gene expression. However, its role in Multiple Myeloma (MM) biology remains largely unknown. Therefore, the aim of this study is to investigate the expression levels of m6A-regulating enzymes in MM.

**Material and Methods:** The expression of m6A-regulating enzymes was investigated in monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), smouldering MM (SMM), MM and in their normal counterparts using publicly available Gene Expression Omnibus datasets, GSE6477 and GSE47552.

**Results:** By analyzing GEO DataSets GSE6477 and GSE47552, the expression levels of METTL3, METTL14 and FTO were found to be downregulated in MM, whereas no significant change was found for WTAP, ALKBH5, YTHDF1 and YTHDF2. YTHDF3 expression showed a reduction in MM based on GSE6477 data.

**Conclusion:** The expression of m6A-modifying genes is deregulated in MM plasma cells compared to normal plasma cells. Altered expression of m6A-modifying genes seems to play a role in the promotion of MM.

**Keywords:** Multiple myeloma; epitranscriptome; m6A; gene expression; METTL3; FTO

## Öz

**Amaç:** N6-metiladenozin (m6A) mRNA modifikasyonu, gen ekspresyonunun düzenlenmesi dahil olmak üzere çeşitli hücresel işlemlerde önemli rol oynamaktadır. Bununla birlikte, Multipl Miyelom (MM) biyolojisindeki rolü büyük ölçüde bilinmemektedir. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı MM'da m6A düzenleyici enzimlerin ekspresyon düzeylerini araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntemler:** M6A düzenleyici enzimlerin ekspresyonu kamuya açık Gene Expression Omnibus veri kümeleri GSE6477 ve GSE47552 kullanılarak, anlamı belirsiz monoklonal gamopati (MGUS), smouldering MM (SMM), MM ve normal muadillerinde araştırılmıştır.

**Bulgular:** GEO data setleri GSE6477 ve GSE47552 analiz edilerek, METTL3, METTL14 ve FTO ekspresyon seviyelerinin MM'da downregüle olduğu bulunurken WTAP, ALKBH5, YTHDF1 ve YTHDF2 için anlamlı bir değişiklik bulunmadı. YTHDF3 ifadesi, GSE6477 verisine dayalı olarak MM'de bir azalma gösterdi.

**Sonuç:** M6A değiştirici genlerin ifadesi, normal plazma hücrelerine kıyasla MM plazma hücrelerinde deregüle edildiği bulunmuştur. M6A'nın modifiye edici genlerinin değişmiş ifadesi, MM'nin oluşumunda rol oynar gibi görünmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Multipl miyelom; epitranskriptom; m6A; gen ekspresyonu; METTL3; FTO

## Introduction

Multiple Myeloma (MM) arises from the proliferation of abnormal plasma cells that secrete monoclonal antibodies in the bone marrow and accounts for approximately 15% of all hematologic malignancies (1). This malign disease emerges from a pre-malignant stage termed monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and more advanced pre-malignant stage termed smouldering (or indolent) MM (SMM) (2). The progression from MGUS and SMM to MM is determined by the presence of different amounts of serum monoclonal proteins and the symptoms of hypercalcemia, renal failure, anaemia, and bone destruction (2,3). Despite the dramatic improvements in the treatment of MM including the introduction of proteasome inhibitors, immunomodulatory agents and monoclonal antibodies, MM remains still incurable due to many patients inevitably becoming refractory to the current treatments. Therefore, a better understanding of genomic, epigenomic and proteomic pathways in this disease is needed to define new therapeutic targets, specifically to evaluate the various agents targeting tumor cells and tumor microenvironment, and to overcome the development of resistance to antimyeloma agents.

The recent insights into the regulation of gene expression have had a prominent impact on the molecular mechanisms underlying the biology of MM. Gene expression is mainly adjusted by transcription factors and then post-transcriptional modifications. Post-transcriptional modifications including direct chemical modification, editing or nontemplated nucleotide additions have opened a new field of

'epitranscriptome' which involves RNA maturation, stability, transportation, and yield of the protein translation (4). Although all cellular RNAs from all living organisms can be post-transcriptionally modified by more than 100 distinct chemical modifications (5), major mRNA modifications in eukaryotic transcriptome consist of N6-methyladenosine, N6,2'-O-dimethyladenosine, 5-methylcytidine, 5-hydroxymethylcytidine, inosine, pseudouridine and N1-methyladenosine (6). Among these modifications the methylation of adenines at the N6 position called N6-methyladenosine (m6A) is the most abundant modification. m6A can change the secondary structure of the mRNA that leads to an alteration in its splicing, translation, and cytoplasmic degradation (7).

m6A has been reported to be a more extent in 5' untranslated regions (UTRs) and near stop codons in the 3' end of the mRNA, while a lesser extent in introns and long internal exons (7-9). The recent mapping of m6A sites throughout the transcriptome of human cells by high-throughput sequencing revealed that 118000 m6A peaks are found in over 12000 genes (4,10). m6A modification can vary between cell types and be dynamically regulated by several highly conserved enzymes. These enzymes are the m6A 'writers' which attach methyl to the specific adenines on the target RNAs, 'erasers' which reversibly removes the methyl group from m6A and 'readers' that regulate the fate of modified mRNAs by binding to m6A.

m6A 'writers' in mammalian cells include a methyltransferase complex with both catalytic and regulatory units including METTL3 (methyltransferaselike 3) shown to be the main methyltransferase responsible for m6A modification (11);



METTL14 the other catalytic subunit, and WTAP (Wilms tumor 1 associated protein) the controller of the process (12,13). m6A 'erasers' consist 2 demethylases, fat mass and obesity-associated (FTO) and alkylated DNA repair protein alkB homolog 5 (ALKBH5). The best characterized of m6A 'readers' are the YTH domain-containing proteins, YTHDF1, YTHDF2, and YTHDF3 that selectively bind m6A-modified RNAs (14,15). The identification of the contributors of m6A modification and the development meRIP-sequencing (m6A-seq) technology shed a light into defining the roles of m6A mRNA modification in cancer biology. The involvement of the writers, readers, and erasers of m6A modification in the promotion of tumorigenesis was reported by many recent studies (16). However, the functional roles of the contributors of m6A modification in MM progression need to be determined. Therefore, the aim of this study is to examine the expression levels of the writers, readers, and erasers of m6A modification using MM patient datasets GSE6477 and GSE47552 (17,18).

## Materials and Methods

Publicly available Gene Expression Omnibus datasets (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>; accession numbers GSE6477 and GSE47552) (17,18) were analyzed using GEO2R (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>) to study gene expression of the contributors of m6A modification which are METTL3, METTL14, WTAP, FTO, ALKBH5, YTHDF1, YTHDF2, and YTHDF3 in plasma cells derived from MGUS, SMM and MM patients and healthy subjects. GEO datasets [GSE6477 (Normal plasma cells (NPC): N = 15; Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS): N = 21; smoldering MM (SMM): N = 24; newly-diagnosed MM (NDMM): N = 69; relapsed/refractory MM (RRMM): N = 55) and GSE47552 (NPC: N = 5; MGUS: N = 20; SMM: N = 33; MM: N = 41)] were analyzed using the gene chips of Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array and Affymetrix Human Gene 1.0 ST Array [transcript (gene) version], respectively. The probe IDs for each transcript on the Affymetrix Human Genome U133A Array and Affymetrix Human Gene 1.0 ST Array were displayed in Table 1. Default settings were applied when using GEO2R website and the results were obtained by using the function 'Save all results' and were further analyzed. Fold change obtained in the normal plasma cells (NPCs) was set to 1. Statistical analysis was performed with one-way Anova Dunnett's multiple comparisons test using GraphPad Prism 6.0. This study was based on data analysis of GEO datasets GSE6477 and GSE47552 using GEO2R. All the experimental conditions in these

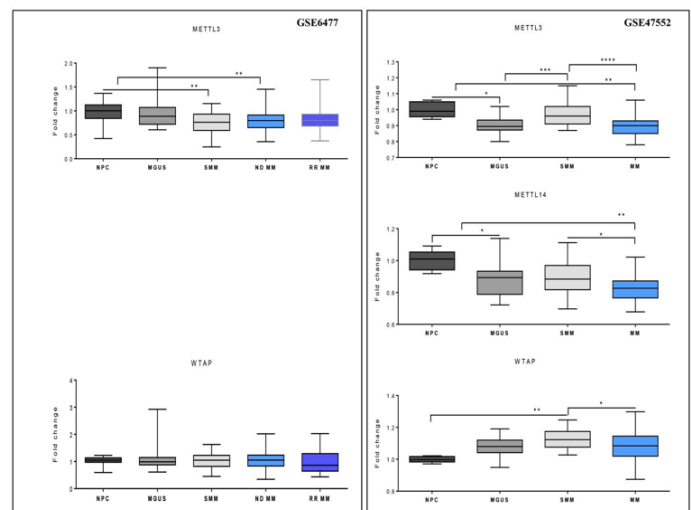
datasets were approved by the research ethic committees. Therefore, this study did not involve ethics approval and consent to participate.

**Table 1.** Probe IDs for each gene on the Affymetrix Human Genome U133A Array and Affymetrix Human Gene 1.0 ST Array

Gene Symbol	Probe ID for the Affymetrix Human Genome U133A Array (Platform GPL96)	Probe ID for the Affymetrix Human Gene 1.0 ST Array [transcript (gene) version] (Platform GPL6244)
METTL3	209265_s_at	7977749
METTL14	-	8097066
WTAP	203137_at	8123129
FTO	209702_at	7995655
ALKBH5	-	8005399
YTHDF1	221741_s_at	8067593
YTHDF2	217812_at	7899519
YTHDF3	221749_at	8146637

## Results

Gene expression levels of m6A-metabolizing enzymes were analyzed in plasma cells derived from MGUS, SMM and MM patients as well as in their normal counterparts using GEO datasets, GSE6477 (17) and GSE47552 (18). METTL3 the main m6A writer was found to be significantly downregulated in MM plasma cells compared to NPCs by the analysis of two datasets (17,18) (Figure 1).

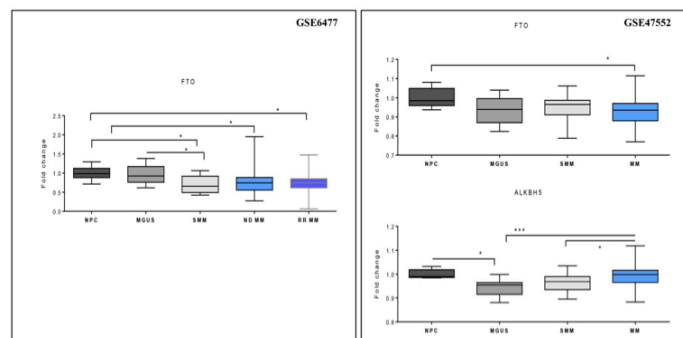


**Figure 1.** METTL3 and METTL14 expressions are downregulated in MM. By analyzing GEO DataSets GSE6477 and GSE47552, expression levels of individual m6A writers (i.e., METTL3, METTL14, and WTAP) illustrated by Box-whisker plots were determined in MM. NPC: Normal Plasma Cells (n=15 in GSE6477; n=5 in GSE47552); MGUS: Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (n=21 in GSE6477; n=20 in GSE47552); SMM: Smoldering Multiple Myeloma (n=24 in GSE6477; n=33 in GSE47552). In GSE47552 study, MM stands for Multiple Myeloma (n=41); In GSE6477

study, ND MM stands for Newly Diagnosed Multiple Myeloma, (n=69) and RR MM stands for Relapsed/Refractory Multiple Myeloma, (n=27). One-way Anova Dunnett's multiple comparisons test was performed used to determine the significance. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ ; \*\*\*\* $p < 0.0001$ .

Furthermore, analysis of GSE6477 dataset showed a decrease in the expression of METTL3 in SMM plasma cells compared to NPCs, while the same result was not observed by the interpretation of GSE47552. Analysis of GSE6477 dataset revealed that METTL3 expression is higher in SMM cells compared to those derived from MGUS and MM patients (Figure 1). METTL14 the other m6A writer was also significantly decreased in both MGUS and MM plasma cells compared to normal counterpart by the analysis of GSE47552, whereas METTL14 could not be found in the list of genes in GSE6477 (Figure 1). The expression of WTAP the stabilizer of the writing complex was found to be similar between NPCs and MGUS, SMM and MM cells by the interpretation of the dataset GSE6477 (Figure 1). However, WTAP expression was notably overexpressed in SMM plasma cells but not in MM plasma cells compared to NPCs and a decrease in WTAP expression between SMM and MM cells was found to be significant by the analysis of GSE47552 (Figure 1).

m6A demethylase FTO was found to be significantly downregulated in MM cells compared to normal NPCs by the analysis of two datasets (17,18) (Figure 2).

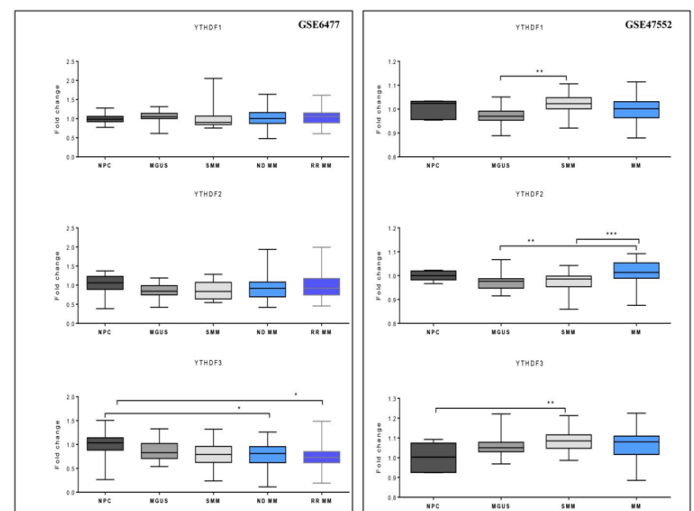


**Figure 2.** Decreased expression of FTO in MM. Expression of m6A erasers FTO and ALKBH5 was analyzed using GSE6477 and GSE47552. Compared to NPCs, the expression of FTO was decreased in MM, whereas no significant change was found for ALKBH5. NPC: Normal Plasma Cells (n=15 in GSE6477; n=5 in GSE47552); MGUS: Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (n=21 in GSE6477; n=20 in GSE47552); SMM: Smoldering Multiple Myeloma (n=24 in GSE6477; n=33 in GSE47552). In GSE47552 Dataset, MM: Multiple Myeloma (n=41); In GSE6477 Dataset, ND MM: Newly Diagnosed MM, (n=69); RR MM: Relapsed/Refractory MM, (n=27). \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ ; \*\*\*\* $p < 0.0001$ ; One-way Anova.

Analysis of GSE47552 dataset showed that the expression of another m6A

demethylase ALKBH5 is comparable between NPCs and MM cells. Furthermore, a significant decrease in the expression of ALKBH5 was only observed in MGUS cells compared to NPCs. Of note, ALKBH5 could not be found in the list of genes in GSE6477.

The expression of YTHDF1 and YTHDF2 which are the first two of methyl readers was not altered in MM cells compared to NPCs by the analysis of two datasets (17,18) (Figure 3).



**Figure 3.** Altered expression of YTHDF3 in MM. m6A readers YTHDF1 and YTHDF2 expressions were similar between NPCs and MM, while YTHDF3 expression was deregulated in MM. NPC: Normal Plasma Cells (n=15 in GSE6477; n=5 in GSE47552); MGUS: Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (n=21 in GSE6477; n=20 in GSE47552); SMM: Smoldering Multiple Myeloma (n=24 in GSE6477; n=33 in GSE47552). In GSE47552 Dataset; MM: Multiple Myeloma (n=41); In GSE6477 Dataset; ND MM:

Compared to NPCs, the expression of YTHDF3 the third one of the methyl readers was significantly reduced in both newly diagnosed (ND) and relapsed/refractory (RR) MM cells according to the analysis of GSE6477. However, YTHDF3 expression was similar between NPCs and MM cells by the interpretation of GSE47552.

Thus, the expression of m6A methyltransferases METTL3 and METTL14 was significantly decreased, whereas WTAP expression was comparable in MM cells. m6A demethylase FTO was also significantly reduced in MM. However, the expressions of ALKBH5, YTHDF1 and YTHDF2 were found to be similar between NPCs and MM cells. When these two datasets were compared for YTHDF3 expression, the result found to be contradictory. The results were summarized in Table 2.

**Table 2.** m6A-regulating enzymes expression in MGUS, SMM and MM compared to NPCs using publicly available GSE6477 and GSE47552

Gene expression level compared to NPCs							
Protein	Function	Dataset	MGUS	SMM	ND MM	RR MM	MM
METTL3	m6A writer	GSE6477	No change	Decrease	Decrease	No change	-
		GSE47552	Decrease	No change	-	-	Decrease
METTL14	m6A writer	GSE6477	-	-	-	-	-
		GSE47552	Decrease	No change	-	-	Decrease
WTAP	m6A writer	GSE6477	No change	No change	No change	No change	No change
		GSE47552	No change	Decrease	-	-	No change
FTO	m6A eraser	GSE6477	No change	Decrease	Decrease	Decrease	-
		GSE47552	No change	No change	-	-	Decrease
ALKBH5	m6A eraser	GSE6477	-	-	-	-	-
		GSE47552	Decrease	No change	-	-	No change
YTHDF1	m6A reader	GSE6477	No change	No change	No change	No change	-
		GSE47552	No change	No change	-	-	No change
YTHDF2	m6A reader	GSE6477	No change	No change	No change	No change	-
		GSE47552	No change	No change	-	-	No change
YTHDF3	m6A reader	GSE6477	No change	No change	Decrease	Decrease	-
		GSE47552	No change	Decrease	-	-	No change

## Discussion

By analyzing publically available GEO datasets, this study shows that the expressions of METTL3 and METTL14 m6A methyltransferases and m6A demethylase FTO were decreased in MM cells. Furthermore, the expression of ALKBH5, YTHDF1 and YTHDF2 were not significantly changed in MM cells, while based on the analysis of GSE6477 data, YTHDF3 expression was found to be reduced in MM cells compared to NPCs.

m6A mRNA methylation plays essential roles in various bioprocesses such as cell proliferation and differentiation (19). Study of m6A mRNA modification and its regulation in cancer biology has attracted great interest in recent years and showed its important role in cancer initiation and progression (16). The m6A methylase complex termed as m6A 'writers' has mainly consisted of METTL3, METTL14 and WTAP. The m6A demethylases called m6A 'erasers' consist FTO and ALKBH5. The best characterized of m6A 'readers' are YTHDF1, YTHDF2, and YTHDF3 that selectively bind m6A-modified RNAs (12-16).

To my knowledge, for the first time, this study uncovered the expression levels of m6A mRNA modifying enzymes in MM biology. This study displayed an important decrease in METTL3 and METTL14 expressions in MM, suggesting a role in MM development. METTL3 was reported to be an important controller of human myeloid differentiation and its deletion in myeloid leukemia cells led to an increase in cell differentiation and apoptosis (20). METTL14 likewise METTL3 is downregulated during myeloid differentiation and eminently expressed in AML cells which have t(11q23), t(15;17), or t(8;21) (20). Knockdown

of METTL3 or METTL14 induced an alteration in mRNA m6A enrichment and changed mRNA expression of genes that lead to promote glioblastoma stem cell (GSC) growth and tumorigenesis (21). Bansal and colleagues reported that WTAP expression was increased in AML patients and knockdown of WTAP in a leukemia cell line led to a reduced proliferation, increased differentiation, and elevated apoptosis (22). However, in this study the expression of WTAP was found to be similar between NPCs and MM.

Increased expression of FTO is related to the progression of various cancers, including AML cells carrying t(11q23)/MLL, t(15;17)/PML-RARA and FLT3-ITD (23). In addition, ALKBH5, an another m6A demethylase, was found to demethylate forkhead box protein M1 (FOXO1) nascent transcripts and be highly expressed in GSCs (24). ALKBH5. However, in this study FTO expression was found to be notably decreased in MM plasma cells compared to NPCs, while ALKBH5 expression was found unchanged in MM cells.

This study also showed that expression levels of YTHDF1 and YTHDF2, m6A "reader" proteins, were not significantly altered in MM plasma cells compared to NPCs. However, Chen et al. showed that human pancreatic cancer cells have increased expression of YTHDF2 that plays an important role in proliferation and epithelial-mesenchymal transition (EMT) (25). YTHDF3 expression was found to be decreased in plasma cells derived from both ND and RR MM patients compared to their normal counterparts. Although, the current study revealed a decrease expression in METTL3, METTL14, FTO and YTHDF3, these m6A-modifying genes appear to have no effect on MM progression. In summary, decreased m6A methylation seem to play a role in MM development.

## Conclusion

The analysis reported here shows that the expression of m6A-modifying genes is deregulated in MM plasma cells compared to NPCs. Altered expression of m6A-modifying genes appears to play a role in the development of MM. Further investigation to determine the level of m6A modification on mRNAs in MM cells is required.

### Declaration of conflict of interest

The authors received no financial support for the research and/or authorship of this article. There is no conflict of interest.

## References

1. Kumar SK, Callander NS, Alsina M et al. Multiple Myeloma, Version 3. 2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2017; 15: 230-69.
2. Moreau P, San Miguel J, Sonneveld P et al. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2017; 28(suppl\_4): iv52-iv61.
3. Nakaya A, Fujita S, Satake A et al. Impact of CRAB Symptoms on Survival of Patients with Symptomatic Myeloma in Novel Agent Era. *Hematol Rep* 2017; 9: 6887.
4. Engel M, Chen A. The emerging role of mRNA methylation in normal and pathological behavior. *Genes Brain Behav* 2018; 17: e12428.
5. Machnicka MA, Milanowska K, Osman Oglou O et al. MODOMICS: a database of RNA modification pathways– 2013 update. *Nucleic Acids Res* 2013; 41, D262–D267.
6. Li X, Xiong X, Yi C. Epitranscriptome sequencing technologies: decoding RNA modifications. *Nat Methods* 2016; 14: 23-31.
7. Maity A, Das B. N6-methyladenosine modification in mRNA: machinery, function and implications for health and diseases. *FEBS J* 2016; 283(9): 1607-30.
8. Dominissini D, Moshitch-Moshkovitz S, Schwartz S, Salmon-Divon M, Ungar L, Osenberg S et al. Topology of the human and mouse m6A RNA methylomes revealed by m6A-seq. *Nature* 2012; 485: 201–06.
9. Meyer KD, Saletore Y, Zumbo P, Elemento O, Mason CE, Jaffrey SR. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3'UTRs and near stop codons. *Cell* 2012; 149: 1635–1646.
10. Sun WJ, Li JH, Liu S, Wu J, Zhou H, Qu LH, et al. RMBase: a resource for decoding the landscape of RNA modifications from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res* 2016; 44: D259–D265.
11. Bokar JA, Shambaugh ME, Polayes D, Matera AG, Rottman FM. Purification and cDNA cloning of the AdoMet-binding subunit of the human mRNA (N6-adenosine)-methyltransferase. *RNA* 1997; 3, 1233–47.
12. Liu J, Yue Y, Han D, et al. A METTL3-METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N6-adenosine methylation. *Nat Chem Biol* 2014; 10: 93–95.
13. Ping XL, Sun BF, Wang L, Xiao W, Yang X, Wang WJ et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N6-methyladenosine methyltransferase. *Cell Res* 2014; 24: 177–89.
14. Zhao BS, Roundtree IA, He C. Post-transcriptional gene regulation by mRNA modifications. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017; 18: 31-42.
15. Yue Y, Liu J, He C. RNA N6-methyladenosine methylation in post-transcriptional gene expression regulation. *Genes Dev* 2015; 29: 1343–55.
16. Pan Y, Ma P, Liu Y, Li W, Shu Y. Multiple functions of m(6)A RNA methylation in cancer. *J Hematol Oncol* 2018; 11: 48.
17. Chng WJ, Kumar S, Vanwier S et al. Molecular dissection of hyperdiploid multiple myeloma by gene expression profiling. *Cancer Res* 2007; 67: 2982-89.
18. López-Corral L, Corchete LA, Sarasquete ME, et al. Transcriptome analysis reveals molecular profiles associated with evolving steps of monoclonal gammopathies. *Haematologica* 2014; 99: 1365-72.
19. Sibbritt T, Patel HR, Preiss T. Mapping and significance of the mRNA methylome. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2013; 4: 397–422.
20. Vu LP, Pickering BF, Cheng Y et al. The N(6)-methyladenosine (m(6)A)-forming enzyme METTL3 controls myeloid differentiation of normal hematopoietic and leukemia cells. *Nat Med* 2017; 23: 1369-76.
21. Cui Q, Shi H, Ye P, Li L, Qu Q, Sun G et al. m(6)A RNA Methylation Regulates the Self-Renewal and Tumorigenesis of Glioblastoma Stem Cells. *Cell Rep* 2017; 18: 2622-34.
22. Bansal H, Yihua Q, Iyer SP, Ganapathy S, Proia DA, Proia D et al. WTAP is a novel oncogenic protein in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2014; 28: 1171–74.
23. Su R, Dong L, Li C, Nachtergaele S, Wunderlich M, Qing Y et al. R-2HG exhibits anti-tumor activity by targeting FTO/m6A/MYC/CEBPA signaling. *Cell* 2018; 172: 90–105.e23.
24. Zhang S, Zhao BS, Zhou A et al. m6A demethylase ALKBH5 maintains tumorigenicity of glioblastoma stem-like cells by sustaining FOXM1 expression and cell proliferation program. *Cancer Cell* 2017; 31: 591–606.
25. Chen J, Sun Y, Xu X et al. YTH domain family 2 orchestrates epithelial-mesenchymal transition/proliferation dichotomy in pancreatic cancer cells. *Cell Cycle* 2017; 16: 2259–71.

To cite this article: Kanat S, Demirci H, Üstündağ Y, Can FE, Aydın U, Ocakoglu G. Effect of serum osmolality on 6-year survival rates in patients with acute myocardial infarction. Turk J Clin Lab 2020; 1:24-32.

## ■ Original Article

# Effect of serum osmolality on 6-year survival rates in patients with acute myocardial infarction

## *Akut miyokard enfarktüsü geçiren hastalarda serum osmolalitesinin 6 yıllık sağkalım oranlarına etkisi*

Selçuk KANAT<sup>1\*</sup>, Hakan DEMIRCI<sup>2</sup>, Yasemin USTUNDAG<sup>3</sup>, Fatma Ezgi CAN<sup>4</sup>, Ufuk AYDIN<sup>5</sup>, Gokhan OCAKOGLU<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Health Sciences University Bursa Yuksek İhtisas Training and Research Hospital, Department of Cardiology, Bursa/TURKEY

<sup>2</sup> Health Sciences University Bursa Yuksek İhtisas Training and Research Hospital, Family Medicine, Bursa/TURKEY

<sup>3</sup> Health Sciences University Bursa Yuksek İhtisas Training and Research Hospital, Biochemistry Department Bursa/TURKEY

<sup>4</sup> Uludag University, Department of biostatistics, Bursa/TURKEY

<sup>5</sup> Health Sciences University Bursa Yuksek İhtisas Training and Research Hospital, Department of Cardiovascular Surgery, Bursa/TURKEY

### Abstract

**Aim:** In the present study, we aimed to evaluate the potential relationship between serum osmolality and mortality rates in a six year of follow-up in patients with a history of acute myocardial infarction.

**Material and Methods:** A retrospective study was designed. Participants were the patients with a first attack AMI, who were referred to our tertiary referral center for angiography. The relationship between the biochemical values of patients who were hospitalized between the period January 2008 - June 2009 and their survival in six years was investigated. Clinical variables of baseline characteristics, in-hospital management, and in-hospital adverse outcomes were recorded.

**Results:** Two hundred and four patients, 174 men (85%) and 30 women (15%), were included in the study. Median serum osmolality was 295.87 mOsm/kg. Mean follow-up time was 61.31±1.68 months. The best cut-off value of the plasma osmolality to predict the 6-year mortality was 303.94 mOsmol/kg.

**Conclusion:** The higher the osmolality, the worse the six-year survival is in patients with first episode AMI even in the absence of diabetes mellitus and chronic kidney disease. We believe that hyperosmolality can be targeted in treatment and prevention efforts as well as its use when evaluating outcomes of the cardiac diseases.

**Keywords:** cardiac risk; chronic kidney disease; cut-off point; mortality; osmolality

Corresponding Author\*: Selçuk Kanat, Health Sciences University Bursa Yuksek İhtisas Training and Research Hospital, Department of Cardiology, Bursa/TURKEY

E-mail: drselcukkanat@gmail.com

ORCID: 0000-0002-1211-6532

Received: 20.04.2019 Accepted : 08.01.2020

Doi: 10.18663/tjcl.556360

## Öz

**Amaç:** Bu çalışmada akut miyokard enfarktüsü öyküsü olan hastalarda altı yıllık takipte serum osmolalite ve mortalite oranları arasındaki potansiyel ilişkiyi değerlendirmeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntemler:** Retrospektif bir çalışma tasarlandı. Katılımcılar, anjiyografi için üçüncü basamak sevk merkezimize yönlendirilen, ilk atak AMI atağı olan hastalardı. Ocak 2008 - Haziran 2009 arasında yatan hastaların biyokimyasal değerleri ile altı yıl içinde hayatta kalmaları arasındaki ilişki araştırıldı. Başlangıç özellikleri, hastane içi yönetim ve hastane içi olumsuz sonuçların klinik değişkenleri kaydedildi.

**Bulgular:** İki yüz dört hasta, 174 erkek (% 85) ve 30 kadın (% 15) çalışmaya dahil edildi. Ortalama serum osmolalitesi 295.87 mOsm / kg idi. Ortalama takip süresi  $61.31 \pm 1.68$  ay idi. Plazma osmolalitesinin 6 yıllık mortaliteyi tahmin etmek için en iyi kesme değeri 303.94 mOsmol / kg idi.

**Sonuç:** Osmolalite ne kadar yüksek olursa, diyabetes mellitus ve kronik böbrek hastalığı olmasa bile ilk atak AMI'si olan hastalarda altı yıllık sağkalım daha kötüdür. Hiperosmolalitenin, kalp hastalıklarının sonuçlarını değerlendirirken kullanımının yanı sıra tedavi ve önleme çabalarına da hedeflenebileceğine inanıyoruz.

**Anahtar kelimeler:** kardiyak risk; kronik böbrek hastalığı; kesme noktası; mortalite; ozmolalite

## Introduction

Cardiovascular diseases including coronary artery disease, acute myocardial infarction, and heart failure is the leading cause of mortality worldwide (1,2).

Increased serum osmolality is considered a risk for coronary artery disease (3,4). The presence and severity of coronary artery disease confirmed by angiography was found to be related with the serum osmolality (5).The negative effect of diabetes mellitus, renal insufficiency and both hyponatremia and hypernatremia on coronary arteries is well documented and they have long been known as a risk factor for coronary artery disease (6-9).

Osmolality is a useful marker of hydration status and it can be calculated using fasting blood glucose, blood urea nitrogen (BUN) and sodium (Na) values (5,10,11).Studies suggested that in patients presenting with Acute Myocardial Infarction (AMI), hyperglycemia at admission is associated with increased mortality (12,13).Moreover, the relationship between impaired renal function and long-term mortality is well established (14). And, elevated BUN level is highly predictive of mortality, independent of creatinine in a heterogeneous critically ill population (15). In the literature a limited number of sources have shown the relationship of serum osmolality with mortality (16,17).

In the present study, we aimed to assess serum osmolality in patients with AMI; to evaluate the potential relationships between other biochemical factors and mortality rates in a six year of follow-up.

## Material and Methods

A retrospective study of 204 patients with a first attack AMI, who were referred to our tertiary referral centre for angiography between the period January 2008 - June 2009 were included; informed consent was not assumed necessary because of the retrospective observational nature of the study and all steps were taken to ensure the anonymity of the data. The study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the local ethics committee.

Definition of AMI is made when there is a rise /fall of cardiac biomarkers, with the evidence of symptoms, suggestive electrocardiographic changes, or imaging evidence of new loss of viable myocardium or regional abnormality of wall motion (18).

Exclusion criteria are anemia, alcohol intake in 24 hours, acute infections, recent major trauma, systemic inflammatory disease, cancer, and end-stage kidney disease.

The relationship between the biochemical values of patients who were hospitalized in 2010 and their survival over the past 6 years were investigated. Clinical variables of baseline characteristics, in-hospital management and in-hospital adverse outcomes were recorded. Mortality was evaluated by hospital records and follow-up interviews by consecutive telephone contacts. Laboratory results, clinical characteristics, cardiovascular risk factors, co-morbidities, coronary morphology, and medication at hospital discharge were noted for all patients. The authors collecting the data did not interfere with the management process.

Complete blood cells were analyzed in an automated hematology analysis system (Coulter LH-780 hematology analyzer; Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA) which measures platelet size and platelet count using aperture-impedance technology. Fasting Blood Glucose, BUN, Sodium, Potassium, Creatinine, AST, ALT, T Chol, HDL, Tg, GGT, Uric acid were analyzed using commercial kits with auto-analyzer (ADVIA® 2400 Clinical Chemistry System, Siemens, USA).

Plasma osmolality at admission were calculated with the following formula:

$$\text{Osmolality} = 1.86 \times \text{sodium mmol/l} + (\text{glucose mg/dl}/18) + (\text{BUN mg/dl}/2.8) + 9$$

### **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.

### **Statistical analysis**

Descriptive statistics were reported as mean±standard deviation for normally distributed variables, median (min-max) for not normally distributed variables and frequency and percentage for categorical variables. One-way ANOVA, Kruskal Wallis, Pearson chi-square Fisher Freeman Halton tests were used to compare osmolality groups. The log-rank test was used to determine the difference between Kaplan-Meier curves for survival time and mean survival time was reported. To determine the prognostic factors that affect overall survival time Cox proportional hazard regression analysis with backward selection procedure was performed and results of the final step was reported. Results were reported as hazard ratios with 95% confidence intervals (CI) and related p-values. Receiver operating characteristic curve analysis was used to assess the ability of the plasma osmolality to predict the 6-year mortality.  $p < 0.05$  was considered statistically significant. IBM SPSS v.20 was used for statistical analysis.

### **Results**

Two hundred and four patients, 174 men (85%) and 30 women (15%), were included in the study. The mean age of participants was  $58.60 \pm 9.86$ . Median serum osmolality was  $295.87 (269.54-358.41)$  mOsm/kg. Patients were divided based on osmolality into low ( $< 285$ ,  $n=26$ ), normal ( $285$  to  $300$ ,  $n=103$ ), and high ( $> 300$ ,  $n=75$ ) groups.

Age, hypertension and presence of diabetes mellitus were

associated with high osmolality but smoking was not associated with osmolality (Table1).

Use of drugs containing Angiotensin Converting Enzyme (ACE) inhibitor, acetylsalicylic acid (ASA), Statins and Oral Antidiabetic Drugs was also associated with high osmolality (Table2).

Mean follow-up time was  $61.31 \pm 1.68$  months. Sixteen cases died while in hospital. In total, 25 cases died within 1 year, 28 cases within 2 years, 32 cases within 3 years, 34 cases within 4 years, 36 cases within 5 years and 38 cases within 6 years. Of the 16 deaths in the hospital, 15 were in the group with high osmolality ( $> 300$  mOsm). Similarly, in the following years mortality was higher in the group with higher osmolality. In the high osmolality group, heart rate was higher in this group and the mean blood pressure was lower than the other groups. In addition, high osmolality was associated with rales, stable angina pectoris presence and low ejection fraction. Number of effected vessels increased with high osmolality (Table3).

High osmolality was associated with hemogram and biochemical parameters (Table4). Fasting glucose level, BUN and sodium are the parameters we calculated the osmolality in the formula. In addition, creatinine, AST, ALT, total cholesterol, LDL and uric acid were associated with osmolality. Hemoglobin decreased with high osmolality, but WBC increased with high osmolality. Platelet count was the highest in the normal osmolality group. Sedimentation and cardiac biomarkers were high in the group with high osmolality. Hs-CRP values were more than 5-fold higher in the high osmolality group than in the other groups.

Osmolality and Hs-CRP were considered for cox regression, moderate osmolality was found protective factor and reduced death risk %87.10 ( $p=0.007$ ). Hs-CRP was found as a risk factor and one unit increase in Hs-CRP will increase death risk 1.02 time ( $p=0.002$ ).

Kaplan Meier analysis results showed high osmolality was associated with decreased mortality compared with low or normal osmolality ( $p=0.001$ ). In addition sodium and fasting blood glucose values were also associated with mortality ( $p=0.031$  and  $p < 0.001$  respectively) (Table5 and Figure1).

Table 6 demonstrates cox regression analysis results of the patients ( $n=181$ ) for mortality, excluding the patients with a history of diabetes mellitus and chronic kidney disease ( $n=23$ ). BMI  $> 25$  was defined as a risk factor for 6-year mortality. In the case of BMI  $> 25$ , the risk of mortality was 3.01 times greater.



**Table 1.** Baseline characteristics by osmolality groups

	<285mOsm (n=26)	285-300 mOsm (n=103)	>300 mOsm (n=75)	p-value
Age (years)	53.23±7.53	57.04±9.68	62.60±9.41	<0.001
Gender (Female/Male)	5/21	14/89	14/61	0.598
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26.38(21.55-30.09)	25.95(18.49-32.01)	25.40 (21.01-30.12)	0.285
Waist Circumference	91 (74-112)	92 (60-119)	90 (68-121)	0.202
Hypertension	7 (26.90%)	18 (17.50%)	31 (41.30%)	0.002
Diabetes Mellitus	5 (19.20%)	19 (18.40%)	28 (37.30%)	0.012
Smoking Habits	16 (61.50%)	65 (63.10%)	43 (57.30%)	0.736

Data were presented as mean ± st. deviation, median (min.-max.) and n(%).

**Table 2.** Osmolality and the drugs used by the participants

	<285mOsm (n=26)	285-300 mOsm (n=103)	>300 mOsm (n=75)	p-value
ACE Inhibitors	4 (15.40%)	12 (11.70%)	20 (26.70%)	0.033
ASA	5 (19.20%)	23 (22.30%)	30 (40%)	0.019
Beta-blockers	1 (3.80%)	9 (8.70%)	12 (26%)	0.144
Statins	3 (11.50%)	7 (6.80%)	16 (21.30%)	0.016
Nitrates	1 (3.80%)	6 (5.80%)	8 (10.70%)	0.362
Oral Antidiabetic Drugs	3 (11.50%)	11 (10.70%)	23 (30.70%)	0.002
Insulin	2 (7.70%)	6 (5.80%)	12 (16%)	0.073

Angiotensin Converting Enzyme (ACE), Acetylsalicylic Acid (ASA), Data were presented as n (%)

**Table 3.** The relationship between serum osmolality and some cardiac parameters

	<285 mOsm (n=26)	285-300 mOsm (n=103)	>300 mOsm (n=75)	p-value
Congestive Heart Disease	1(3.80%)	0	6(8%)	0.007
Mean Blood Pressure	100(45-130)	90(45-150)	80(30-150)	0.004
Heart Rate	68.50(54-121)	72(30-111)	80(30-122)	0.016
Rales	1(3.80%)	2(1.90%)	25(33.30%)	<0.001
Stable Angina Pectoris	4(15.40%)	25(24.30%)	32(42.70%)	0.006
Ejection Fraction(on admission)	45(30-60)	45(35-60)	40(20-55)	<0.001
Vessel occlusion (%)	100(80-100)	99(30-100)	98(60-100)	0.433
Number of effected vessels	1.50(1-3)	2(1-3)	2(1-3)	0.048
Intervention				
pPCI	25(96.20%)	81(78.60%)	64(85.30%)	
CABG	0	17(16.50%)	5(6.70%)	0.058
Medical Treatment	1(3.80%)	5(4.90%)	6(8%)	
Stent needed	25(96.20%)	83(80.60%)	64(85.30%)	0.142
Stent length	16(0-69)	16(0-42)	18(0-46)	0.056
Stent diameter	3(0-4)	3(0-4)	3(0-4)	0.335
Residual occlusion	2(7.70%)	14(13.60%)	18(24%)	0.078
In-hospital mortality	0	1(1%)	15(20%)	<0.001

pPCI: primary percutaneous coronary intervention, CABG: coronary artery bypass grafting, Data were presented as median(min.-max.) and n(%).



**Table 4.** Osmolality and laboratory findings

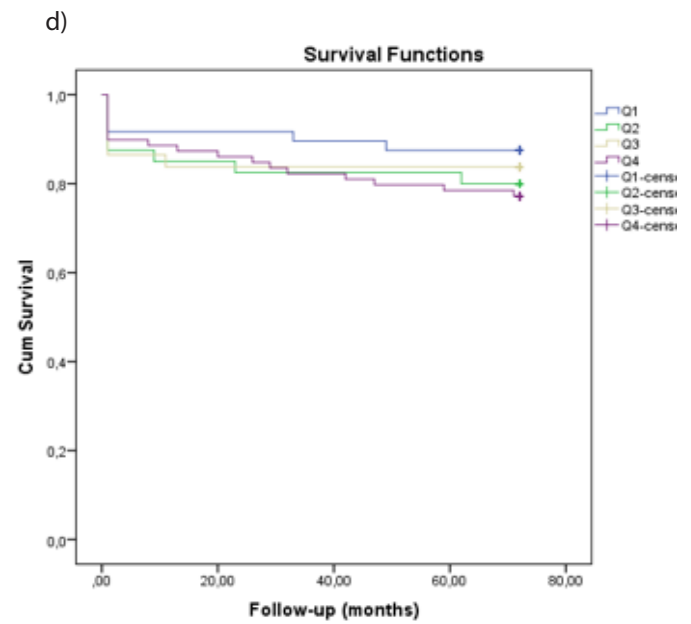
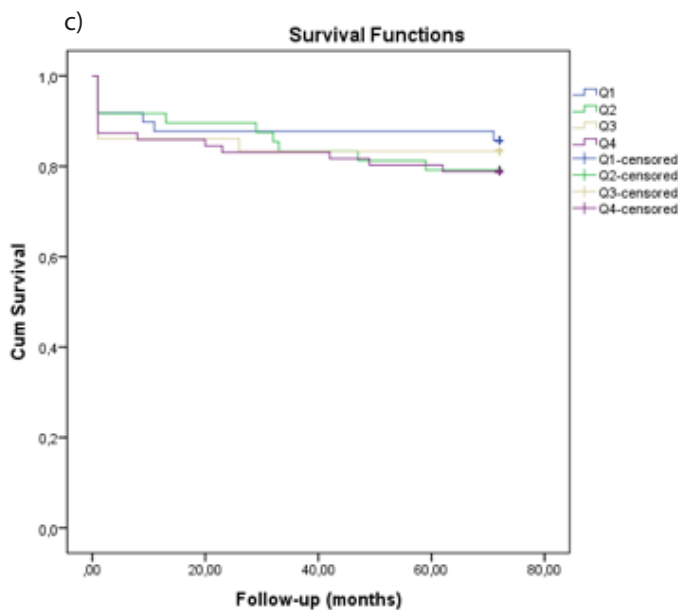
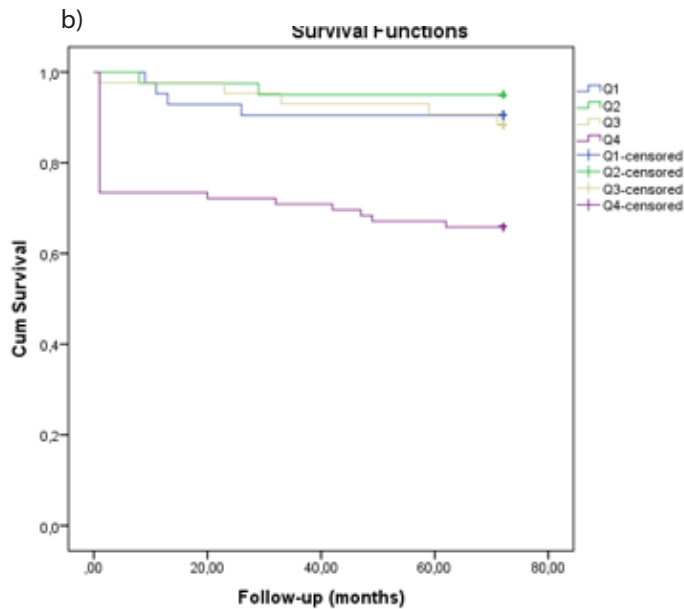
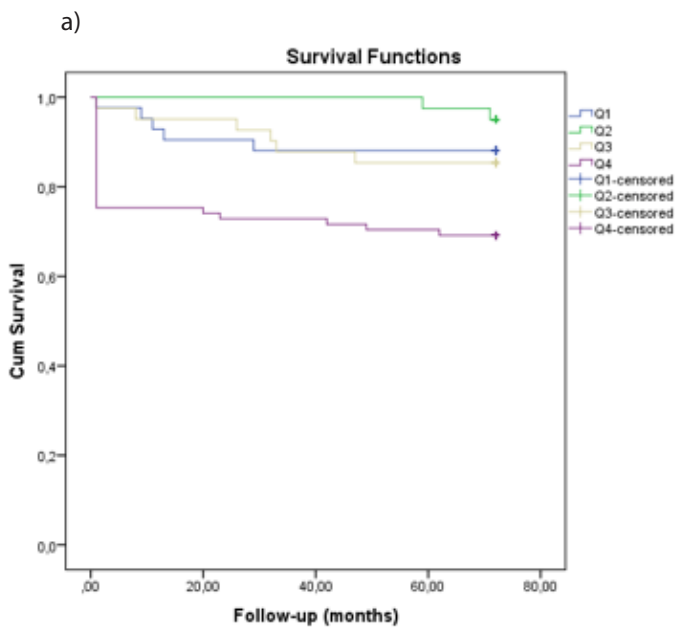
	<285 mOsm (n=26)	285-300 mOsm (n=103)	>300 mOsm (n=75)	p-value
Fasting Blood Glucose	101.50(78-163)	108(72-194)	113(72-210)	0.003
Blood Urea Nitrogen	20.50(16-72)	23(13-58)	41(16-190)	<0.001
Sodium	133.50(119-136)	138(133-143)	143(135-153)	<0.001
Potassium	4.20(3.30-5.70)	4(3.30-5.70)	3.90(3.10-5.60)	0.083
Creatinine	0.71(0.45-2.10)	0.75(0.40-1.70)	1.02(0.40-6.14)	<0.001
AST	165.50(11-698)	152(19-421)	198(16-1544)	0.001
ALT	60(7-320)	48(10-178)	81(8-511)	<0.001
Total Cholesterol	184.69±30.36	189.83±31.47	169.93±37.42	0.001
LDL	115.50(62-174)	121(60-205)	100(54-172)	0.002
HDL	33(19-47)	34(23-51)	33(17-62)	0.292
Triglycerides	145.50(62-464)	148(39-351)	130(42-302)	0.188
GGT	28.40(13-87)	28.25(8.90-161)	31(7.80-188)	0.135
Uric acid	5(2.90-7)	5.04(2-12.20)	5.50(1.85-17)	0.005
Hemoglobin	13.20(11.30-14.80)	13.40(7.90-15.60)	12.50(9.10-120)	0.001
White Blood Cell	11.35(6.90-18.10)	10.50(5.80-18)	14(5.80-21.60)	<0.001
Neutrophile	7.95(4.20-13.70)	6.90(3.20-13.80)	9.40(3.10-16.70)	<0.001
Monocyte	0.43(0.20-1)	0.41(0.14-1.10)	0.60(0.20-2.20)	0.007
Lymphocyte	2.35(1.30-3.42)	2.30(1.10-4.10)	2.80(0.90-4)	0.063
Platelets	292.08±76.02	311.43±81.38	269.95±80.81	0.004
PDW	13.49±1.20	13.21±1.43	13.21±1.39	0.642
RDW	14(11.80-18.10)	13.80(9.60-19.80)	14.10(11-114.40)	0.566
MPV	8.69±0.81	8.43±0.93	8.69±0.99	0.184
Sedimentation	19.50(3-64)	21(4-68)	38(4-94)	<0.001
hs-CRP	3.05(0.20-36.60)	3(0.05-119)	17(0.63-112)	<0.001
CK-MB	54(11-566)	49(9-417)	81(8-455)	0.001
Troponine	1.25(0.01-96)	1.80(0.01-100)	3.30(0.02-100)	0.013

Data were presented as mean ± st. deviation, median (min.-max.) and n (%).

**Table 5.** Kaplan-Meier analysis results

Risk Factor	Number of patients at risk (%)	Number of events (%)	Duration of Survival in Months	p-value
<b>Osmolality</b>				
<285	26(12.70%)	1(3.80%)	69.27	<0.001
285-300	103(50.50%)	2(1.90%)	70.62	
>300	75(36.80%)	19(25.30%)	54.01	
<b>Sodium</b>				
≤145	178(87.30%)	16(9%)	65.62	
>145	26(12.70%)	6(23.10%)	55.62	
<b>Fasting Blood Glucose</b>				
≤125	148(72.50%)	6(4.10%)	69.12	<0.001
>125	56(27.50%)	16(28.60%)	51.71	

Analysis for BUN couldn't be performed because of the small number of the cases



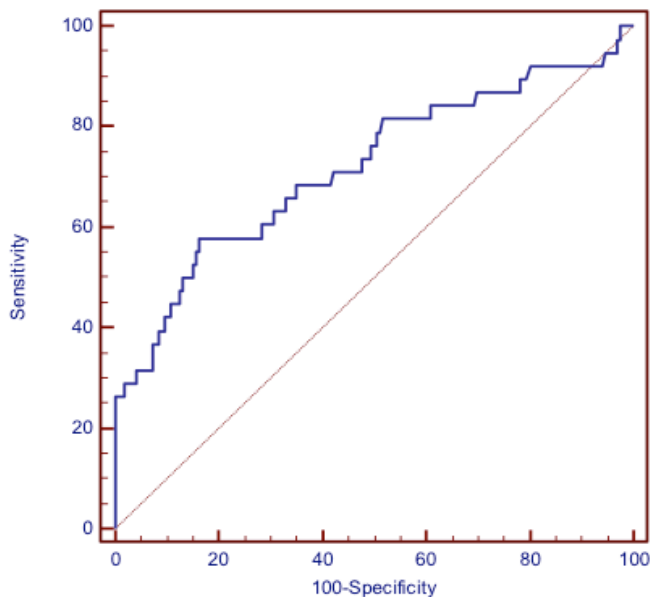
**Figure 1.** Kaplan–Meier curve for overall survival in patients with a first attack acute myocardial infarction (n=204) stratified by admission plasma osmolality (a), bun (b), sodium (c), and fasting blood glucose (d) levels, respectively. Cum, cumulative; Q, quartile.

Table 6. Cox Regression analysis results for mortality			
Variable	B	HR(95%CI)	p-value
BMI (ref. cath.: ≤25)	1.10	3.01(0.86:10.47)	0.084
Sodium (ref. cath.: >145)	2.07	7.95(1.96:32.23)	0.004
Hypertension (ref. cat.: YOK)	1.15	3.16(1.10:9.08)	0.032
Troponin on admission	-0.03	0.97(0.94:0.99)	0.047
CK-MB on admission	0.01	1.01(1.01:1.06)	<0.001
Osmolality	0.08	1.08(1.05:1.11)	<0.001

Cox regresyon model significance (p<0.001); BMI: Body mass index; ref.cath: referans category

Sodium level >145 was defined as a risk factor for 6-year mortality. If the sodium level was >145, the risk of mortality was 7.95 times more than if it was ≤145. Hypertension was defined as a risk factor for 6-year mortality. The risk of mortality was 3.16 times higher in case of hypertension.

After receiver operating characteristic curve analysis, the best cut-off value of the plasma osmolality to predict the in-hospital mortality was 303.94 mOsmol/kg with 57% sensitivity and 83% specificity (area under the curve: 0.719; 95% CI: 0.615–0.823; p<0.001) (Figure 2).



**Figure 2.** Receiver operating characteristic curve analysis showed that the best cutoff value of the plasma osmolality to predict the 6 years mortality was 303.94 mOsmol/kg with 57% sensitivity and 83% specificity.  $AUC=0.719$ ; 95% CI 0.625-0.823;  $p<0.001$ .

## Discussion

The present study demonstrated us that osmolality increases the mortality risk in patients without a history of diabetes mellitus and chronic kidney disease. Previous studies suggested that osmolality is a risk factor for mortality (16, 17, 19) but the risk might be originated from concomitant renal insufficiency. We have shown that six year survival was better in patients with lower osmolality even in the absence of diabetes mellitus or chronic kidney disease.

Moderate osmolality was found as a protective factor and it resulted in a reduced death risk. In a recent study by Tatlisu et al. investigated the association of plasma osmolality with all-cause mortality in ST-segment elevation in 3748 myocardial infarction patients treated with a primary percutaneous coronary intervention (19). They followed of patients for a mean period of 22 months and found that plasma osmolality was a predictor of both in-hospital and long-term all-cause mortality. They found that patients with higher plasma osmolality had 3.7 times higher long-term all-cause mortality rates than patients with lower plasma osmolality. In the present study, the patients with a first attack AMI followed up for six years. The patients with the highest osmolality values had a poor prognosis in both studies. The underlying mechanisms that influence osmolality and its trajectory are likely related to neuro-hormonal abnormalities.

White blood cell, neutrophile count, monocyte count, and lymphocyte count were higher in high osmolality group while hemoglobin levels were low. Rasouli et al. found that indicators of dehydration and haemoconcentration are associated with coronary artery disease and its severity. In that study, white blood cells and its subgroups and hemoglobin levels were positively related to prevalence and severity of coronary artery disease. In the current research, there was no control group, but white blood cells counts were associated with high osmolality. Only hemoglobin levels were low in the osmolality group. Low hemoglobin levels may be considered as a sign of malnutrition. Elevated levels of osmolality and cardiac risk can be expected in poorly fed cases.

C - reactive protein has also been identified as independent risk marker for mortality also in patients with AMI (20). CRP levels predict the risk for death or AMI within 30 days among patients undergoing percutaneous coronary intervention (21-24). CRP has been suggested to indicate generalized inflammation and participates directly in cardiovascular events (25). The high levels of CK-MB and troponin in the high osmolality group seem to support the idea that osmolality can be a reliable cardiac marker. Osmolality can be useful in risk estimates because it is a non-invasive method that is easy to calculate. Estimating the osmolality of sodium, BUN and glucose in routine tests will provide a cost-effective risk prediction.

Several limitations have to be considered. Data from the present study were collected in a single centre. Patients were the subjects with a cardiovascular problem and the results obtained were not suitable for making a generalization for the community. Patients' biochemical and hemogram measurements were measured only at the time of referral. If we were able to repeat these measurements over a 6-year follow-up, we could reach more useful data. Similarly, in this study, only the mortality of patients was evaluated at 6-year follow-up. If recurrent coronary events were also observed, the relationship between osmolality and coronary artery disease could be discussed in depth.

## Conclusion

The higher the osmolality, the worse the six-year survival is in patients with first episode AMI even in the absence of diabetes mellitus and chronic kidney disease. Osmolality is a cheap, noninvasive and reliable parameter to guess long-term survival in patients with coronary heart disease. We

believe that hyperosmolality can be targeted in treatment and prevention efforts as well as its use when evaluating outcomes of the cardiac diseases.

### **Acknowledgement**

The authors thank to Mrs Nazli Demirci for her contribution to the study.

### **Declaration of conflict of interest**

The authors received no financial support for the research and/or authorship of this article. There is no conflict of interest.

### **References**

1. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Heart disease and stroke statistics-update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2014; 129: e28-e292.
2. Preis SR, Hwang SJ, Coady S, Pencina MJ, D'agostino RB, Savage PJ et al. Trends in all-cause and cardiovascular disease mortality among women and men with and without diabetes mellitus in the Framingham Heart Study, 1950 to 2005. *Circulation* 2009; 119: 1728-35.
3. Demirci H, Cinar Y. Serum osmolality is elevated in metabolic syndrome cases. *Turk Neph Dial Transpl* 2013; 22: 154-57.
4. Demirci H, Aydin U, Budak YU, Cinar Y. Estimated serum osmolality value as a risk predictor for coronary heart disease. *Turkish Journal of Family Practice* 2015; 19: 31-36.
5. Rasouli M, Kiasari AM, Arab S. Indicators of dehydration and haemoconcentration are associated with the prevalence and severity of coronary artery disease. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2008; 35: 889-94.
6. Huxley R, Barzi F, Woodward M. Excess risk of fatal coronary heart disease associated with diabetes in men and women: meta-analysis of 37 prospective cohort studies. *BMJ* 2006; 332: 73-78.
7. Fox CS, Matsushita K, Woodward M, et al. Associations of kidney disease measures with mortality and end-stage renal disease in individuals with and without diabetes: a meta-analysis. *Lancet* 2012; 380: 1662-73.
8. Bae MH, Kim JH, Jang SY, Park SH, Lee JH, Yang DH, Park HS, Cho Y, Chae SC. Hyponatremia at discharge as a predictor of 12-month clinical outcomes in hospital survivors after acute myocardial infarction. *Heart Vessels* 2017; 32: 126-133.
9. Muhsin SA, Mount DB. Diagnosis and treatment of hypernatremia. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2016; 30: 189-203.
10. Rasouli M, Nesarhosseini V, Kiasari AM, Arab S, Shariati R, Kazemi D, Daneshpour N, Heidari S. The multiplicative interactions of leukocyte counts with some other risk factors enhance the prognostic value for coronary artery disease. *Cardiology journal* 2011; 18: 246-53.
11. Rasouli, M. Basic concepts and practical equations on osmolality: Biochemical approach. *Clinical Biochemistry* 2016; 49: 936-41.
12. Wernly B, Lichtenauer M, Franz M et al. Differential Impact of Hyperglycemia in Critically Ill Patients: Significance in Acute Myocardial Infarction but Not in Sepsis? Cai L, ed. *International Journal of Molecular Sciences* 2016; 17: 1586.
13. Liang H, Guo YC, Chen LM, Li M, Han WZ, Zhang X, Jiang SL. Relationship between fasting glucose levels and in-hospital mortality in Chinese patients with acute myocardial infarction and diabetes mellitus: a retrospective cohort study. *BMC Cardiovasc Disord* 2016; 2;16: 156.
14. Choi JS, Kim YA, Kim MJ, Kang YU, Kim CS, Bae EH, Ma SK, Ahn YK, Jeong MH, Kim SW. Relation between transient or persistent acute kidney injury and long-term mortality in patients with myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2013 1;112: 41-45.
15. Beier K, Eppanapally S, Bazick HS, Chang D, Mahadevappa K, Gibbons FK, Christopher KB. Elevation of blood urea nitrogen is predictive of long-term mortality in critically ill patients independent of "normal" creatinine. *Crit Care Med.* 2011; 39: 305-13.
16. Kaya H, Yücel O, Ege MR, Zorlu A, Yücel H, Güneş H, Ekmekçi A, Yılmaz MB. Plasma osmolality predicts mortality in patients with heart failure with reduced ejection fraction. *Kardiol Pol* 2016; 13
17. Rohla M, Freynhofer MK, Tentzeris I, Farhan S, Wojta J, Huber K, Weiss TW. Plasma osmolality predicts clinical outcome in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care.* 2014; 3: 84-92.
18. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Jaffe AS, Apple FS, Galvani, Met al. Universal definition of myocardial infarction: Kristian Thygesen, Joseph S. Alpert and Harvey D. White on behalf of the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. *European Heart Journal*, 2007; 28: 2525-38.
19. Tatlisu MA, Kaya A, Keskin M, Uzman O, Borklu EB, Cinier G, Hayiroglu MI, Tatlisu K, Eren M. Can we use plasma hyperosmolality as a predictor of mortality for ST-segment elevation myocardial infarction? *Coronar Artery Dis* 2017; 28: 70-76.



20. Suleiman M, Khatib R, Agmon Y et al. Early inflammation and risk of long-term development of heart failure and mortality in survivors of acute myocardial infarction: predictive role of C-reactive protein. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 962–968.
21. Chew DP, Bhatt DL, Robbins MA et al. Incremental prognostic value of elevated baseline C-reactive protein among established markers of risk in percutaneous coronary intervention. *Circulation*. 2001; 104: 992–97.
22. Heeschen C, Hamm CW, Bruemmer J, Simoons ML. Predictive value of C-reactive protein and troponin T in patients with unstable angina: a comparative analysis. CAPTURE Investigators. Chimeric c7E3 Antiplatelet Therapy in Unstable angina Refractory to standard treatment trial. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 35: 1535–42.
23. Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, Venge P, Wallentin L. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* 2000; 343: 1139–47.
24. Biasucci LM, Liuzzo G, Grillo RL et al. Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability. *Circulation* 1999; 99: 855–60.
25. Lee S, Kim IT, Park HB, Hyun YK, Kim YJ, Song SO, Kim H. High-sensitivity C-reactive Protein Can Predict Major Adverse Cardiovascular Events in Korean Patients with Type 2 Diabetes. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 1322–27.

■ Original Article

## Fatty liver in patients with acromegaly

### *Akromegali hastalarında yağlı karaciğer*

Aynur ARSLAN<sup>1\*</sup>, Emine KARTAL BAYKAN<sup>2</sup>, Nazligul KARAUZUM YALCIN<sup>3</sup>, Mustafa UTLU<sup>3</sup>, HavvaTugba KIPER YILMAZ<sup>3</sup>, Alperen Akansel CAGLAR<sup>3</sup>, Emre DEVE<sup>3</sup>, Emrah DOGAN<sup>3</sup>, Ayse CARLIOGLU<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Istinye State Hospital, Department of Internal Medicine, Istanbul /TURKEY

<sup>2</sup> Erzurum Regional Education and Research Hospital, Department of Endocrinology, Erzurum/TURKEY

<sup>3</sup> Erzurum Regional Education and Research Hospital, Department of Internal Medicine, Erzurum/TURKEY

#### ABSTRACT

**Aim:** Patients with acromegaly are at risk of metabolic diseases, such as diabetes mellitus, insulin resistance and hypertriglyceridemia. We aimed to investigate what is effective in the development of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in patients with acromegaly.

**Materials and Methods:** 60 (33 female, 27 male) patients with acromegaly, and a healthy control group of 52 persons (27 female and 25 male) were retrospectively studied. Mean age of the patients and the control group were 44.11 ±13.83 and 39.12±14.99 respectively. Body mass index (BMI), liver ultrasound and laboratory findings were taken from the records in the files. Statistical analyzes were performed using SPSS statistical software package version 22 (IBM Corporation, USA).

**Results:** Fasting blood sugar, triglyceride, insulin like growth factor, growth hormone(GH) and CRP levels were significantly higher, HDL levels were significantly lower in acromegaly group. BMI and NAFLD were similar between groups. We found that, BMI and GH are the most important two factors in the presence of NAFLD in patients with acromegaly. NAFLD correlates significantly positively with the patient's BMI, weight and age; significantly negatively with the GH levels.

**Conclusion:** In people with acromegaly, BMI and GH levels are the things that affect development of NAFLD.

**Keywords:** acromegaly; non-alcoholic fatty liver disease; body mass index

Corresponding Author\*: Aynur Arslan, Istinye State Hospital, Department of Internal Medicine, Istanbul /TURKEY

E-mail: aynurarslan2001@yahoo.com

ORCID: 0000-0001-5968-5823

Received: 10.08.2019 Accepted : 14.11.2019

Doi: 10.18663/tjcl.604304

## ÖZ

**Amaç:** Akromegali hastalarında, diabetes mellitus, insülin direnci ve hipertrigliseridemi gibi metabolik durumlara sıklıkla rastlanır. Bizim amacımız, akromegali hastalarında, non alkolik yağlı karaciğer (NAFLD) gelişmesinde etkili olan faktörleri saptamaktır.

**Gereç ve Yöntemler:** 60 (33 kadın, 27 erkek) akromegali hastası ve 52 sağlıklı kişiden (27 kadın ve 25 erkek) oluşan kontrol grubu retrospektif olarak incelendi. Hastaların ve kontrol grubunun ortalama yaşı sırasıyla  $44.11 \pm 13.83$  ve  $39.12 \pm 14.99$ 'du. Beden kitle indeksi (BKİ), karaciğer ultrasonografisi ve laboratuvar sonuçları dosyalarındaki kayıtlardan alındı. İstatistik analizlerde IBM SPSS Versiyon 22.0 istatistiksel paket programı (IBM Corporation, USA) kullanıldı.

**Bulgular:** Akromegali hastalarında açlık kan şekeri, trigliserid, insülin benzeri büyüme faktörü, büyüme hormonu (GH) ve CRP seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek, HDL düzeyleri anlamlı derecede düşük bulundu. Grupların BKİ ve NAFLD oranları benzerdi. Akromegali hastalarında BKİ ve GH'un NAFLD gelişmesinde en önemli iki faktör olduğu sonucuna ulaştık. NAFLD, hastanın BKİ, kilo ve yaşı ile anlamlı derecede pozitif, GH düzeyi ile anlamlı derecede negatif korelasyon gösterdi.

**Sonuç:** Akromegali hastalarında, NAFLD gelişmesini etkileyen faktörler BKİ ve GH'dur.

**Anahtar kelimeler:** akromegali; non alkolik yağlı karaciğer hastalığı; beden kitle indeksi

## Introduction

Growth hormone (GH) is produced by anterior pituitary gland. GH hypersecretion is usually caused by a GH-secreting pituitary adenoma and leads to acromegaly. GH hypersecretion leads to overproduction of insulin-like growth factor 1 (IGF-1). IGF-1 is a polypeptide hormone which has functional homology with proinsulin and can be synthesized by liver and many tissues and stimulates growth in specific cells through paracrine and autocrine mechanisms. IGF-1 is widely involved in inflammation, glucose and lipid metabolism, stimulates free fatty acid (FFA) use in muscle [1]. Mature hepatocytes and adipocytes have abundant insulin receptors, while virtually no IGF-1 receptors. Vascular smooth muscle cells have abundant IGF-1 receptors and minimal insulin receptors.

Acromegaly is a slowly developing disease and often diagnosed in 10 years or more after its onset. The mean age at diagnosis of acromegaly ranges from 40–47 years, with a prevalence of 28–137 per million and an incidence of 2–11 cases / year [2]. Overgrowth on the acral parts of the skeleton, soft tissue swelling and periarticular and cartilaginous thickening occurs. Deep voice, hyperhidrosis, proximal muscle weakness and fatigue, joint pain, arthropathy, sleep apnea, generalized visceromegaly, diabetes mellitus, hypertension, coronary artery disease, heart and respiratory failure can be seen clinically. Hypertension is caused by plasma volume overload, increased cardiac output and structural changes in

the vascular system. GH acts at the distal nephron and has antinatriuretic effects. Epithelial sodium channel subunit transcription in the cortical collecting duct is induced by GH. There is insulin resistance (IR) due to GH elevation, decreased peripheral glucose utilization, increased gluconeogenesis and lipolysis. GH stimulates lipid oxidation [3] and white adipose tissue (AT) lipolysis [4] which leads reduced visceral AT and FFA release into the muscles [3] and increases FFA oxidation in the liver [1]. In acromegaly, body fat depots are diminished. GH in skeletal muscle increases lipoprotein lipase activity. At supraphysiological levels, GH induces IR in liver and muscle. FFA released from AT can lead to IR in the liver. In acromegaly, increased lipolysis and IR theoretically have opposite effects on the NAFLD. Lipid accumulation occurs in the liver in cases of GH abundance or deficiency [5]. GH stimulates triglyceride (TG) uptake and storage in the muscle and liver by inducing LPL and/or hepatic lipase (HL) expression. GH promotes intra hepatic TG storage by repressing lipolysis, or lipid oxidation, or by promoting lipogenesis [6].

In the diagnosis, clinical features of acromegaly, elevated IGF-1 levels, and nadir postglucose GH levels are important. IGF-1 levels are stable, and reflect elevated GH levels. IGF-1 enhances glucose uptake in peripheral tissues.

Metabolic complications of acromegaly which closely linked to the increased cardiovascular risk are impaired FBS, impaired glucose tolerance, diabetes mellitus, IR, reduced TC, increased TG, increased nitrogen retention [7].

The liver is the central organ for fatty acid metabolism, participates in TG synthesis, export, uptake and oxidation. Fatty acids are collected in the liver by both hepatocellular uptake from plasma and biosynthesis in the liver. In healthy persons, small amounts of fatty acids are stored as triglycerides in liver. Persistent dysfunctions in liver metabolism lead to the accumulation of TG within hepatocytes, namely NAFLD [8]. It is considered to be the hepatic manifestation of the IR, metabolic syndrome and its components (diabetes mellitus, hypertension, obesity, dyslipidemia). Prevalence of NAFLD is 25% to 45% in the Western population [9]. NAFLD is considered a predominant hepatopathy worldwide and a leading cause of chronic liver disease in not only United States but much of the world. In USA, NAFLD affects nearly a third of the population and the 10-year cost of managing NAFLD complications can bring an economic burden of US\$908 billion [10].

We aimed to investigate what is effective in the development of NAFLD in patients with acromegaly.

## Material and Methods

60 (33 female, 27 male) patients with acromegaly who were followed in Erzurum Regional Education and Research Hospital endocrinology outpatient clinic were retrospectively evaluated and the findings which they were first diagnosed were compared with a healthy cross-matched control group of 52 persons (27 female and 25 male). 27 out of 60 acromegaly patients were men. Mean age of the patients and the control group were  $44.11 \pm 13.83$  and  $39.12 \pm 14.99$  respectively. All patients, had the clinical features of acromegaly, their IGF-1 levels were high for age and serum GH concentration  $>1$  ng/mL during 75 g oral glucose tolerance test at the time of acromegaly diagnosis. Who had accompanying infectious or inflammatory diseases and other malignities were excluded. Serum glucose was measured with a standard spectrophotometric method. Serum total IGF-1, high-sensitivity CRP, thyroid stimulating hormone, insulin were determined by solid-phase, enzyme-labeled chemiluminescent immunometric assays (Immulite 1000 immunoassay system, Siemens medical solutions Diagnostics, Los Angeles, CA, USA). Plasma lipid levels including low-density lipoprotein (LDL), high-density lipoprotein (HDL), TG, and TC were measured using standardized enzymatic methods.

Statistical analyzes were performed using SPSS statistical software package version 22 (IBM Corporation, USA).

Descriptive statistics were performed, continuous variables are expressed as mean  $\pm$  standard deviation. The Kolmogorov–Smirnov test was used to assess normality. Student's t-test and Mann–Whitney U-test were used to compare normally distributed and non-normal distributed continuous variables, respectively. The relationships between variables were assessed using Spearman correlation coefficient for non-normally distributed data. Multivariate logistic regression analysis was used to determine the effects of FBS, BMI, HDL, LDL, TG and TC on NAFLD. For all comparisons,  $P < 0.05$  was accepted as significant.

Local Ethics Committee for Clinical Research approved this study. World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects were applied in this study. Informed consent was obtained from all involved persons prior to study inclusion.

## Results

Mean FBS ( $97.42 \pm 13.10$  and  $88.21 \pm 6.87$  mg/dL), TG ( $137.62 \pm 84.02$  and  $102.92 \pm 43.06$  mg/dL), IGF-1 ( $562.92 \pm 408.75$  and  $163.57 \pm 77.85$  ng/mL) and CRP levels ( $3.50 \pm 3.31$  and  $1.32 \pm 1.24$  mg/L) were significantly higher, HDL levels ( $41.55 \pm 10.51$  and  $50.57 \pm 10.69$  mg/dL) were significantly lower in acromegaly group than the control group respectively,  $p < 0.05$ .

Mean weight of the acromegaly group was significantly higher than the control group ( $82.60 \pm 16.83$  and  $73.52 \pm 19.56$  kg respectively),  $p < 0.05$ , but BMI ( $29.66 \pm 5.49$  and  $26.93 \pm 7.16$  kg/m<sup>2</sup>) and NAFLD (29.03 and 41.90 %) were similar between groups,  $p > 0.05$ .

Characteristics and biochemical test results of patients with acromegaly and controls are summarized in Table 1.

In table 2, multiple logistic regression analysis of parameters affecting NAFLD in acromegaly is shown.

BMI and GH are the most important factors in the presence of NAFLD in patients with acromegaly.

Correlation analysis of NAFLD with BMI, weight, age and GH in acromegaly is seen in Table 3.

In patients with acromegaly, NAFLD disease correlates positively with the patient's BMI, weight and age; negatively with the GH levels.



**Table 1.** Characteristics and biochemical test results of patients with acromegaly and controls.

	Acromegaly (Mean±Std. Deviation)	Control (Mean±Std. Deviation)	P value	
Number	31	31	>0.05	
Age (years)	44.11± 13.83	39.12± 14.99	,081	
Gender	female	33 (55%)	27 (51.9%)	>0.05
	male	27 (45%)	25 (48.1%)	>0.05
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	29.66± 5.49	26.93± 7.16	,051	
Weight (kg)	82.60± 16.83	73.52± 19.56	,028	
Height (m)	1.67±.10	1.65±.10	,490	
FBS (mg/dL)	97.42± 13.10	88.21± 6.87	,000	
LDL (mg/dL)	125.52±31.55	115.60±30.48	,174	
T Chol (mg/dL)	194.02±44.33	177.52±42.77	,113	
HDL (mg/dL)	41.55± 10.51	50.57± 10.69	,001	
TG (mg/dL)	137.62±84.02	102.92±43.06	,035	
IGF-1 (ng/mL)	562.92±408.75	163.57±77.85	,000	
TSH (μIU/ML)	1.18±.93	1.54±1.03	,120	
CRP (mg/L)	3.50±3.31	1.32±1.24	,002	
Insulin (μU/mL)	20.10±19.30	8.47±6.74	,071	
GH (ng/mL)	3.33±4.47	-	,000	
NAFLD (number)	9	13	0,28	

BMI: body mass index, FBS: fasting blood sugar, LDL: low density lipoprotein, T Chol: total cholesterol, HDL: high density lipoprotein, TG: triglyceride, IGF-1: insulin-like growth factor, TSH: thyroid stimulating hormone, CRP: C-reactive protein, GH: growth hormone, NAFLD: Non-alcoholic Fatty Liver

**Table 2.** Multiple logistic regression analysis of parameters affecting non-alcoholic fatty liver in acromegaly.

	B	p value	Odd ratio
FBS	-,093	,145	,911
BMI	,428	,024	1,534
HDL	-,028	,621	,973
LDL	,028	,295	1,028
TG	-,010	,376	,990
T Chol	-,003	,846	,997
Growth hormone	-,182	,045	,834
IGF 1	,003	,225	1,003

FBS: fasting blood sugar, BMI: body mass index, HDL: high density lipoprotein, LDL: low density lipoprotein, TG: triglyceride, T Chol: total cholesterol

**Table 3.** Correlation analysis of nonalcoholic fatty liver disease with BMI, weight, age and GH in acromegaly.

		BMI	weight	age	GH
Fatty liver	r	0.514**	0.544**	0.394**	-0.428*
	p	0.000	0.000	0.002	0.042

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed), \* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

BMI: body mass index, GH: growth hormone

## Discussion

This is the first study to determine the risk factors of NAFLD in patients with acromegaly. The multiple regression analysis of NAFLD and other risk factors was performed (Table 2). BMI and GH were independent predictive factors of NAFLD in patients with acromegaly.

We found that, mean FBS, TG, IGF-1 and CRP levels were significantly higher, HDL levels were significantly lower in acromegaly group than the control group respectively,  $p < 0.05$ . TC, LDL and insulin levels were similar. A study in 2013 in Greece showed that TC, LDL and TG levels were increased in patients with acromegaly as opposed to the control group, while HDL cholesterol was decreased [11]. In some studies, patients with acromegaly were found to have hypertriglyceridemia [11, 12]. As TG levels are high, there is a risk of developing NAFLD [13]. When 62 patients with acromegaly were compared with 36 healthy persons, patients with acromegaly were found to have significantly higher mean values of FBS, TC, LDL, TG as well as lower mean levels of HDL; CRP levels were similar [14]. In 2002, in a study it was found that patients with acromegaly had lower CRP and higher insulin levels than healthy controls [15].

In our study, at ultrasound imaging, the frequency of NAFLD was found similar in acromegaly and control groups. In a study, of twenty-four newly diagnosed acromegalic patients, 45.8% was found to have high visceral adiposity index which shows early metabolic risk [16]. In another study, whole-body magnetic resonance imaging of 24 patients with acromegaly showed that, visceral AT was less than control group [17]. Unlike this, seven patients with acromegaly and cross matched healthy volunteers were enrolled in a study and magnetic resonance spectroscopy was used to assess in vivo lipid deposition of liver and found markedly elevated liver fat content in acromegaly [18].

In our study, NAFLD correlates negatively with the GH levels in acromegalic patients. Ciresi et al found that, in acromegaly, hepatic steatosis index is related with the reduction of GH

and IGF-1 levels [5]. GH directly acts as a promoter in lipolytic signaling and in contrast, GH might promote lipid synthesis and storage by induction of IGF-1 [19]. 55 patients with NAFLD were enrolled in a study, and decreased GH was found associated with hepatic steatosis [20]. GH deficiency found to be associated with dyslipidemia and NAFLD [13, 21].

We found that, mean weight ( $82.60 \pm 16.83$  and  $73.52 \pm 19.56$  kg) of the acromegaly group was significantly higher than the control group respectively,  $p < 0.05$ , but BMI ( $29.66 \pm 5.49$  and  $26.93 \pm 7.16$  kg/m<sup>2</sup>) was similar between groups,  $p > 0.05$ . In some studies, body weight and BMI in patients with acromegaly were higher compared to healthy controls [22, 23].

A higher BMI increases the prevalence of NAFLD in population [24]. The prevalence of NAFLD increases with age, overweight/obesity and hypertriglyceridemia in general population [25]. In patients with acromegaly, we found that, NAFLD correlates positively with the patient's BMI, weight and age, just as normal population.

In conclusion, BMI and GH were found to be independent predictive factors of NAFLD in patients with acromegaly.

### Declaration of conflict of interest

The authors received no financial support for the research and/or authorship of this article. There is no conflict of interest.

### References

1. Clemmons DR. Metabolic Actions of Insulin-Like Growth Factor-I in Normal Physiology and Diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2012; 41: 425–43.
2. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Hipofiz Çalışma Grubu. Hipofiz Hastalıkları Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. ANKARA: 2018. p. 29–35.
3. Rabinowitz D, Klassen GA, Zierler KL. Effect of Human Growth Hormone on Muscle and Adipose Tissue Metabolism. *J Clin Invest* 1965; 44: 51–61.
4. Moøller N, Joørgensen JOL. Effects of growth hormone on glucose, lipid, and protein metabolism in human subjects. *Endocr Rev* 2009; 30: 152–77.
5. Ciresi A, Guarnotta V, Campo D, Giordano C. Hepatic Steatosis Index in Acromegaly: Correlation with Insulin Resistance Regardless of the Disease Control. *Int J Endocrinol*. 2018; 5421961.
6. Vijayakumar A, Novosyadlyy R, Wu YJ, Yakar S, LeRoith D. Biological effects of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. *Growth Horm IGF Res* 2010; 20: 1–7.
7. Colao A, Ferone D, Marzullo P, Lombardi G. Systemic Complications of Acromegaly: Epidemiology, Pathogenesis, and Management. *Endocr Rev* 2004; 25: 102–152.
8. Alves-Bezerra M, Cohen D. Triglyceride Metabolism in the Liver. *Compr Physiol* 2017; 8: 1–8.
9. Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease a systematic review. *JAMA - J Am Med Assoc* 2015; 313: 2263–73.
10. Ofosu A, Ramai D, Reddy M. Non-alcoholic fatty liver disease: Controlling an emerging epidemic, challenges, and future directions. *Ann Gastroenterol* 2018; 31: 288–95.
11. Kostoglou-Athanassiou I, Gkountouvas A, Keramidas I, Xanthakou E, Chatjimarkou F, Kaldrymidis P. Lipid levels in acromegaly. In: *Endocrine Abstracts* 32. 2013. p. 172.
12. Nikkilä EA, Pelkonen R. Serum lipids in acromegaly. *Metabolism* 1975; 24: 829–38.
13. Marino L, Jornayvaz FR. Endocrine causes of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 11053–76.
14. Vilar L, Naves L, Costa S, Abdalla L, Coelho C, Casulari L. Increase of Classic and Nonclassic Cardiovascular Risk Factors in Patients with Acromegaly *Endocr Pract*. 2013; 13: 363–72.
15. Sesnilo G, Fairfield WP, Katznelson L et al. Cardiovascular risk factors in acromegaly before and after normalization of serum IGF-I levels with the GH antagonist pegvisomant. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1692–99.
16. Ciresi A, Amato MC, Pizzolanti G, Giordano Galluzzo C. Visceral adiposity index is associated with insulin sensitivity and adipocytokine levels in newly diagnosed acromegalic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 2907–15.
17. Freda PU, Shen W, Heymsfield SB et al. Lower visceral and subcutaneous but higher intermuscular adipose tissue depots in patients with growth hormone and insulin-like growth factor I excess due to acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 2334–43.
18. Szendroedi J, Zwettler E, Schmid AI et al. Reduced basal ATP synthetic flux of skeletal muscle in patients with previous acromegaly. *PLoS One* 2008; 3: e3958.
19. Wolf P, Winhofer Y, Krššák M, Krebs M. Heart, lipids and hormones. *Endocr Connect* 2017; 6: 59–69.
20. Ichikawa T, Nakao K, Hamasaki K et al. Role of growth hormone, insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor-binding protein 3 in development of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Int* 2007; 1: 287–94.

21. Nishizawa H, Iguchi G, Murawaki A et al. Nonalcoholic fatty liver disease in adult hypopituitary patients with GH deficiency and the impact of GH replacement therapy. *Eur J Endocrinol* 2012; 167: 67–74.
22. Kozakowski J, Rabijewski M, Zgliczynski W. Lowered ghrelin levels in acromegaly-normalization after treatment. *Endokrynol Pol* 2005; 56: 862–70.
23. Dimopoulou C, Sievers C, Wittchen HU et al. Adverse anthropometric risk profile in biochemically controlled acromegalic patients: Comparison with an age- and gender-matched primary care population. *Pituitary* 2010; 13: 207–14.
24. Hashimoto E, Tokushige K. Prevalence, gender, ethnic variations, and prognosis of NASH. *J Gastroenterol* 2011; 46: 63–9.
25. Ratzia V, Bellentani S, Cortez-Pintoc H, Dayd C, Marchesinie G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol* 2010; 53: 372–84.

■ Original Article

## Serum levels of Pentraxin-3, Vaspın, Apelin and troponin in decompensated heart failure patients

### *Serum pentraxin-3, vaspın, apelin ve troponinin dekompanze kalp yetersizliği hastalarındaki seviyeleri*

Bedri Caner KAYA<sup>1\*</sup> , Recep DEMİRBAG<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Department of Cardiology, University of Health Sciences, Şanlıurfa Mehmet Akif İnan Research and Training Hospital Şanlıurfa/TURKEY

<sup>2</sup> Harran University, Faculty of Medicine, Department of Cardiology, Şanlıurfa/ TURKEY

#### ABSTRACT

**Aim:** The aim of the present study is to evaluate the levels of these biomarkers in decompensated heart failure (HF) patients.

**Material and Methods:** 44 decompensated HF patients and 32 healthy individuals were enrolled in the study as patient and control groups. Transthoracic echocardiography and serum troponin I, vaspın, apelin, and PTX-3 levels besides routine laboratory analysis were performed for both groups.

**Results:** Troponin I and vaspın were higher, apelin was lower in patient group (for all,  $p < 0.05$ ). PTX-3 levels were higher in patient group, but it was not statistically significant ( $p = 0.133$ ). Troponin I and PTX-3 levels were significantly decreased (for both,  $p < 0.05$ ) with in-hospital-HF treatment. Vaspın and apelin levels did not show any significant change ( $p = 0.938$ ,  $p = 0.121$ , respectively). Vaspın had an independent relationship with troponin, apelin had an independent relationship with PTX-3, troponin and apelin had independent relationship with vaspın, and finally troponin, PTX-3, and vaspın had independent relationship with apelin in decompensated HF patients.

**Conclusion:** Troponin I and vaspın levels were elevated, and serum apelin levels were reduced in decompensated HF patients. PTX-3 levels were higher in HF patients, but it was not statistically significant. Vaspın and apelin levels did not change with HF stabilization in HF patients, but troponin I and PTX-3 levels were significantly decreased.

**Keywords:** troponin I; vaspın; apelin; pentraxin-3; biomarker; decompensated heart failure

Corresponding Author\*: Bedri Caner Kaya, Department of Cardiology, University of Health Sciences, Şanlıurfa Mehmet Akif İnan Research and Training Hospital Şanlıurfa/TURKEY

E-mail: bckaya23@gmail.com

ORCID: 0000-0002-7913-6423

Received: 21.10.2019 Accepted : 03.02.2020

Doi: 10.18663/tjcl.635524

## ÖZ

**Amaç:** Vaspın, apelin ve Pentraxin-3 (PTX-3), kardiyovasküler fonksiyonların, sıvı hemostazının, vasküler oluşumun, hücre proliferasyonunun, glukoz metabolizmasının ve inflamasyonun düzenlenmesinde etkili olduğu gösterilmiş biyobelirteçlerdir. Bu çalışmanın amacı, dekompanse kalp yetersizliği (KY) hastalarında bu biyobelirteçlerin düzeylerini değerlendirmektir.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya 44 dekompanse KY hastası ve 32 sağlıklı birey, hasta ve kontrol grubu olarak dahil edildi. Her iki grup için de transtorasik ekokardiyografi ve rutin laboratuvar analizlerinin yanında serum troponin I, vaspın, apelin ve PTX-3 düzeyleri analiz edildi.

**Bulgular:** Troponin I ve vaspın hasta grubunda daha yüksekti, apelin hasta grubunda daha düşüktü (hepsi için,  $p < 0.05$ ). PTX-3 düzeyleri hasta grubunda daha fazlaydı, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p = 0.133$ ). Troponin I ve PTX-3 düzeyleri hastane içi KY tedavisi ile anlamlı olarak azaldı (her ikisi için de,  $p < 0.05$ ). Vaspın ve apelin düzeyleri anlamlı bir değişiklik göstermedi (sırasıyla  $p = 0.938$ ,  $p = 0.121$ ). Vaspın troponin ile bağımsız bir ilişkiye sahipti, apelinin PTX-3 ile bağımsız bir ilişkisi vardı, troponin ve apelin vaspın ile bağımsız bir ilişkisi vardı ve son olarak troponin, PTX-3 ve vaspın dekompanse KY hastalarında apelin ile bağımsız bir ilişkiye sahipti.

**Sonuç:** Troponin I ve vaspın düzeyleri dekompanse KY hastalarında daha yüksekti serum apelin düzeyleri daha düşüktü. PTX-3 düzeyleri KY hastalarında daha yüksekti, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. KY hastalarında vaspın ve apelin düzeyleri KY stabilizasyonu ile değişmedi, ancak troponin I ve PTX-3 düzeyleri anlamlı olarak azaldı.

**Anahtar kelimeler:** troponin I; vaspın; apelin; pentraxin-3; biyobelirteç; dekompanse kalp yetersizliği

## Introduction

Despite improvements in diagnosis and treatment of heart failure (HF), it still has high morbidity and mortality. Ventricular dysfunction, hemodynamic overload and increased neurohumoral activation occur in HF. Increased neurohumoral activation leads to increased renal-angiotensin system activation, increased adrenergic activity, and cytokine release [1]. Medical history, physical examination, electrocardiography, telegraphy, and biochemical parameters are the first step diagnostic tests which should be evaluated in HF patients. Biochemical parameters have a pivotal role in early diagnosis, early treatment and prognosis. Troponin levels are known to increase in acute HF or acute exacerbations of chronic HF [2]. There is also an increment in both BNP and ANP release due to increased myocardial tension and stress [3].

Pentraxin-3 (PTX-3) is an acute phase reactant member of the C-reactive protein (CRP) family and expressed by a variety of cell types in response to various inflammatory stimuli. PTX-3 levels were found to be higher in patients with normal ejection fraction of diastolic heart failure, even though the brain natriuretic peptide was within normal limits. It has also been emphasized that PTX-3 may be used as an indication of significant inflammation in heart failure [4].

Vaspın and apelin are found in the adipocytokine family. Apelin has been shown to be effective in regulation

of cardiovascular functions, fluid hemostasis, vascular formation and cell proliferation [5]. Other studies in this area suggest that vaspın may be related to metabolic syndrome and coronary artery disease [6].

According to the current literature, there is no study in which vaspın was studied in heart failure patients. In addition, PTX-3 and apelin were found to have different results. In this study, troponin I, vaspın, apelin, and PTX-3 levels in acute exacerbations of heart failure and their changes before and after treatment were investigated.

## Materials and Methods

### Study population

44 patients who were admitted to cardiology clinic of our university with the diagnosis of HF (New York Heart Association [NYHA] class II-IV) and 33 healthy individuals as control group were enrolled in the study between the date of January 2009 and December 2010. This prospective case-control study has been approved by the ethics committee of the faculty of medicine. Informed consent was received from both patients and control groups included in the study. This study was conducted according to the principles of the World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects".

All patients' and control groups' medical history, anthropometric



measurements, physical examinations, transthoracic echocardiographic measurements, and laboratory tests were recorded. Additionally, they were recorded for age, sex and smoking. HF patients received standard medical treatment including ACE inhibitors, angiotensin receptor and aldosterone blockers, and loop diuretics for the stabilization while hospitalization. Since these patients were in the decompensated period, furosemide infusion (50 mg-100 mg/hour infusion) and beta-blocker dose titration (metoprolol 50-200 mg/day) were provided to compensate. Hypertension (HT) was defined as 140 mmHg and above for SBP, 90 mmHg and above for DBP, or usage of antihypertensive medications. Diabetes mellitus (DM) was defined as a fasting glucose value >126 mg/dL, with or without hemoglobin A1c >6.5 %, or current use of medication for DM.

Patients with reduced or preserved left ventricular ejection fraction presented with acute HF or acute exacerbation of the chronic HF were accepted in the patient group according to the current HF guidelines [7, 8]. The patients included in the study were our follow-up patients and their coronary angiography was performed at their previous hospitalization. During this hospitalization, a possible acute coronary syndrome was excluded considering the findings of electrocardiography, creatinin kinase, creatinin kinase-MB and physical examination. The control group was defined as no history of coronary artery disease (CAD), HT, hyperlipidemia, DM, smoking, and other causes of HF. These individuals were diagnosed as normal by physical examinations, telegrams, electrocardiography, and transthoracic echocardiography. Patients with acute coronary syndrome, uncontrolled HT, renal failure, stroke, intermittent claudication, chronic obstructive pulmonary disease, obstructive sleep apnoea syndrome, severe systemic inflammatory and hematological diseases, oral contraceptive and estrogen replacement therapy, insulin treatment, malignancy, and inadequate echocardiographic image quality were excluded from the study.

### ***Transthoracic echocardiography***

A two-dimensional transthoracic echocardiography was performed to both patient and control groups with a GE Vivid 7 device (GE Healthcare Inc. Milwaukee, Wisconsin, USA) with 6T, 5 MHz probe lying supine in the left lateral position. LVEF was calculated using Simpson's biplane method. All the patients had undergone to echocardiographic evaluation in the same hospitalization.

### ***Laboratory and biomarker analysis***

We obtained venous 12-hour fasting blood samples, and then centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes at room temperature, processed the serum and ethylene diaminetetra-acetic acid plasma aliquots within 2 hours. Samples were stored at -80 °C for later biomarker measurements. Total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), triglyceride were measured by the technique described by Friedewald et al [9]. Urea and creatinine were studied in the same day of blood samples received. The parameters were measured in the automatic chemistry analyzer (Aeroset, Abbott Labs.).

Commercially available enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) were used for measuring pentraxin-3 (Human PTX-3 ELISA system, Adipobioscience, USA), apelin (Apelin-36, Phonex Pharma Ceuticals, Belmont, USA), and vaspin (Vaspin, Adipobioscience, USA). Stability value of apelin was 0.05 ng/mL, the intra-assay variability was <5%, the inter-assay variability value was <14% and normal range was between 0 and 100 ng/mL. The sensitivity was determined as 0.156 ng/mL, the intra-assay variability was 4-6%, the inter-assay variability was 8-10% and the normal range was 0.312-20 ng/mL for vaspin; the intra-assay variability value was 4-6%, the inter-assay variability value was 8-10%, the normal range was 0.219-14 ng/mL, and the sensitivity was 0.02 ng/mL for PTX-3.

### ***Statistical analysis***

SPSS software 21.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used for all statistical analysis. Categorical variables are presented as counts and percentages. Continuous variables were evaluated for normal distribution assumption using the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilks tests and were reported as mean plus standard deviation in brackets or median with interquartile range.

Fasting blood glucose and triglyceride were not normally distributing. These parameters were compared by using Mann-Whitney U test. Other parameters were compared by using Student-t test. Categorical variables such as gender, HT, CAD, smoking, DM were compared by using chi-square test. Troponin I, PTX-3, vaspin, and apelin were compared with first day of the hospitalization and just before discharge by using the paired-two test.

Spearman Rank correlation test was used for correlation analysis. Linear regression analysis was used to determine independent predictors in multivariate analysis. Variables with a p value <0.10 in univariate analysis were included in multivariate regression analysis. All p-values were two-sided and considered statistically significant when they were <0.05.

## Results

In the patient group, 9 (20%) patients were NYHA class II, 28 (64%) patients were NYHA class III, and 7 (16%) patients were class IV. 34 (77%) patients were ischemic cardiomyopathy and 10 (23%) patients were non-ischemic cardiomyopathy. The patient group consisted of older and more male gender individuals compared with control group. BMI was higher in the control group. HDL-C, triglyceride, LDL-C, total cholesterol levels were lower in the patient group. LVEF was lower and systolic PAB was higher in the patient group. Troponin and vaspin were higher, but apelin was lower in the patient group (for all,  $p < 0.05$ ). Additionally, PTX-3 levels were higher in the patient group, but it was not statistically significant ( $p = 0.133$ ). Other demographic, clinical and laboratory findings of the patient and control groups are shown in Table 1.

When we compared the biomarker levels of the HF patients between the first day of the hospitalization (pre-treatment) and just before the discharge (post-treatment), troponin I and PTX-3 levels were significantly decreased (for both,  $p < 0.05$ ) with the HF treatment. Vaspin levels did not show any significant change. Apelin levels were increased, but it was not statistically significant ( $p = 0.938$ ,  $p = 0.121$ , respectively) (Table 2, Figure 1).

Parameters effecting pre-treatment troponin I levels in HF patients are presented in Table 3. Vaspin, apelin, age, smoking, LVEF, FBG, total cholesterol, triglyceride, HDL-C, and LDL-C levels were significantly correlated with troponin I in the binary correlation analysis. Vaspin, smoking, and LVEF showed independent relationship with troponin I in the linear regression analysis (Table 3).

**Table 1.** Demographic, clinical, and laboratory findings of the patient and control groups

Variables	Patient group (n=44)	Control group (n=33)	P
Male, n (%)	25 (57)	8 (24)	<0.001
Age (years)	64.2±12.5	55.4±5.7	<0.001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.1±3.3	28.9±3.8	0.014
SBP (mmHg)	122.4±19.6	125.9±8.3	0.433
DBP (mmHg)	80.5±15.7	81.3±4.8	0.569
Heart rate (bpm/min)	84.2±15.1	78.3±9.6	0.058
CAD, n (%)	33 (75)	0	<0.001
DM, n (%)	19 (43)	0	<0.001
Hyperlipidemia, n (%)	12 (27)	0	<0.001
HT, n (%)	30 (68)	0	<0.001
Smoking, n (%)	28 (57)	0	<0.001
FBG (mg/dL)	136.5 (90.0-239.0)	93.6 (70.0-124.0)	<0.001
Total Cholesterol (mg/dL)	154.3±41.4	207.1±31.2	<0.001
HDL-C (mg/dL)	32.5±10.4	41.9±9.8	0.001
LDL-C (mg/dL)	97.0±34.5	135.7±26.4	<0.001
Triglyceride (mg/dL)	123.2 (41.2-169.6)	153.1 (33.0-175.2)	0.033
LVEF (%)	39.9±13.4	62.3±14.5	<0.001
Systolic PAB (mmHg)	44.7±18.1	22.1±11.6	<0.001
Troponin I (ng/mL)	3.15±0.95	0.02±0.01	<0.001
Pentraxin-3 (ng/mL)	5.50±2.64	4.51±1.94	0.133
Vaspin (ng/mL)	2.04±0.46	0.84±0.07	0.001
Apelin (ng/mL)	0.77±0.43	1.13±0.35	0.001

BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; CAD: coronary artery disease; DM: diabetes mellitus; HT: hypertension; FBG: fasting blood glucose; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL: low density lipoprotein cholesterol; LVEF: left ventricular ejection fraction; PAB: pulmonary artery pressure

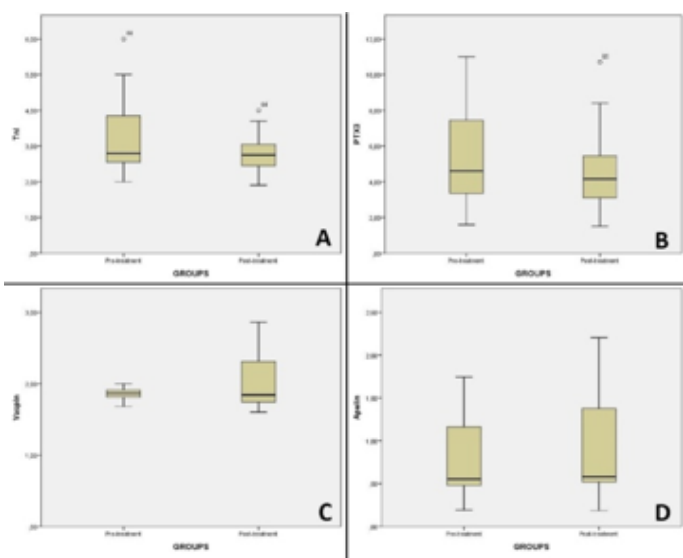
Data are presented as noun (percentile), mean±standard deviation, median (interquartile range)

Mann Whitney U and Student t test were used for statistical analysis

**Table 2.** Comparison of the biomarker levels between first day of the hospitalization (pre-treatment) and before the discharge (post-treatment)

Variables	Pre-treatment (n=44)	Post-treatment (n=44)	P
Troponin I (ng/mL)	3.15±0.95	2.78±0.43	0.023
Pentraxin-3 (ng/mL)	5.50±2.64	4.49±1.94	0.043
Vaspin (ng/mL)	2.04±0.46	2.06±0.53	0.938
Apelin (ng/mL)	0.77±0.43	0.95±0.64	0.121

Data are presented as mean±standard deviation, Paired two tests was used for statistical analysis



**Figure 1:** Box plot analysis of compared biomarker levels of the HF patients between the first day of the hospitalization (pre-treatment) and just before the discharge (post-treatment).A: for Troponin I; B: for pentraxin-3; C: for vaspin; D: for apelin. Abbreviations: Tnl: troponin I; PTX-3: pentraxin-3

Parameters effecting pre-treatment PTX-3 levels in HF patients are presented in Table 4. Only apelin was significantly correlated with PTX-3 in the binary correlation analysis, and only apelin showed an independent relationship with PTX-3 in the linear regression analysis (Table 4).

Parameters effecting pre-treatment vaspin levels in HF patients are presented in Table 5. Troponin I, apelin, age, smoking, LVEF, FBG, HDL-C, and LDL-C were significantly correlated with vaspin in the binary correlation analysis, and these parameters showed independent relationship with vaspin in the linear regression analysis, too (Table 5).

Parameters effecting pre-treatment apelin levels in HF patients are presented in Table 6. Troponin I, PTX-3, vaspin, age, smoking, total cholesterol, HDL-C, and LDL-C were significantly correlated with apelin in the binary correlation analysis, and these parameters showed independent relationship with apelin in the linear regression analysis, too (Table 6).

**Table 3.** Parameters related with pre-treatment troponin levels

Variables	Rho	P	Multivariate regression	P
Pentraxin-3	-0.179	0.127		
Vaspin	0.830	<0.001	0.560	0.001
Apelin	-0.378	0.001	0.016	0.887
Age	0.394	<0.001	0.010	0.899
BMI	-0.196	0.088		
Smoking	0.389	<0.001	0.222	0.014
SBP	-0.132	0.268		
DBP	-0.137	0.235		
Heart rate	0.151	0.212		
LVEF	-0.687	<0.001	-0.430	0.014
FBG	0.597	<0.001	0.091	0.415
Total cholesterol	-0.522	<0.001	-0.457	0.751
Triglyceride	-0.213	0.063		
HDL-C	-0.309	0.006	0.227	0.544
LDL-C	-0.497	<0.001	0.413	0.716

BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; LVEF: left ventricular ejection fraction; FBG: fasting blood glucose; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL: low density lipoprotein cholesterol  
Spearman correlation test and linear regression analysis were used for statistical analysis

**Table 4.** Parameters related with pre-treatment pentraxin-3 levels

Variables	Rho	P	Multivariate regression	P
Troponin	-0.179	0.127		
Vaspin	-0.185	0.115		
Apelin	0.310	0.017	0.184	0.007
Age	-0.133	0.160		
BMI	0.068	0.564		
Smoking	-0.163	0.166		
SBP	-0.002	0.990		
DBP	-0.019	0.869		
Heart rate	-0.032	0.797		
LVEF	0.025	0.857		
FBG	-0.072	0.559		
Total cholesterol	0.071	0.549		
Triglyceride	-0.089	0.451		
HDL-C	-0.035	0.768		
LDL-C	0.119	0.373		

BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; LVEF: left ventricular ejection fraction; FBG: fasting blood glucose; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL: low density lipoprotein cholesterol  
Spearman correlation test and linear regression analysis were used for statistical analysis



**Table 5.** Parameters related with pre-treatment vaspin levels

Variables	Rho	P	Multivariate regression	P
Troponin	0.830	0.001	0.467	0.001
Pentraxin-3	0.185	0.115		
Apelin	-0.388	<0.001	-0.013	0.900
Age	0.394	<0.001	0.179	0.087
BMI	-0.193	0.093		
Smoking	0.610	<0.001	0.278	0.010
SBP	-0.032	0.790		
DBP	-0.025	0.826		
Heart rate	0.198	0.100		
LVEF	-0.668	<0.001	-0.218	0.204
FBG	0.617	<0.001	0.157	0.148
Total cholesterol	-0.494	<0.001	0.302	0.319
Triglyceride	-0.207	0.071		
HDL-C	-0.427	<0.001	-0.110	0.405
LDL-C	-0.431	<0.001	-0.230	0.406

BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; LVEF: left ventricular ejection fraction; FBG: fasting blood glucose; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL: low density lipoprotein cholesterol  
Spearman correlation test and linear regression analysis were used for statistical analysis

**Table 6.** Parameters related with pre-treatment apelin

Variables	Rho	P	Multivariate regression	P
Troponin	-0.378	0.001	-0.161	0.502
Pentraxin-3	0.310	0.007	0.150	0.189
Vaspin	-0.388	<0.001	-0.065	0.819
Age	-0.407	<0.001	-0.257	0.057
BMI	0.040	0.732		
Smoking	-0.263	0.021	-0.138	0.356
SBP	0.094	0.433		
DBP	-0.001	0.993		
Heart rate	-0.108	0.372		
LVEF	0.257	0.061		
FBG	-0.130	0.252		
Total cholesterol	0.251	0.028	-0.152	0.731
Triglyceride	0.020	0.824		
HDL-C	0.007	0.954		
LDL-C	0.291	0.010	0.299	0.455

BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; LVEF: left ventricular ejection fraction; FBG: fasting blood glucose; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL: low density lipoprotein cholesterol. Spearman correlation test and linear regression analysis were used for statistical analysis, A p value under 0.05 is accepted as statistical significant

## Discussion

The present study found that serum troponin and vaspin levels were higher, serum apelin levels were lower in acute decompensated HF patients than controls. PTX-3 levels were higher in acute decompensated HF patients, but these relationships were not statistically significant. With the treatment of the decompensated HF, troponin and PTX-3 levels were significantly decreased. Vaspin and apelin levels were increased, but these relationships were not statistically significant. Vaspin had an independent relationship with troponin, apelin had an independent relationship with PTX-3, troponin and apelin had independent relationship with vaspin, and finally troponin, PTX-3, and vaspin had independent relationship with apelin in decompensated HF patients.

Higher cardiac troponin levels are associated with depressed LVEF and HF with high sensitivity and specificity. Elevated troponin levels are especially associated with non-coronary myocardial damage in HF [10]. Troponin levels may be highly traced in both acute decompensation and chronic compensation of HF. Elevated troponin levels may have a predictive value on depressed LVEF, impaired hemodynamic parameters, mortality and morbidity [11]. Left ventricular hypertrophy, myocarditis, concomitant renal insufficiency, ischemia or neurohumoral changes occur during HF process, cause myocyte integrity to be impaired, lead to elevation of troponin [12]. In the present study, troponin levels were significantly higher in acute decompensated HF patients and decreased at the end of the treatment. These findings are consistent with the results previously reported in the literature.

Inflammation, oxidative stress, and extracellular matrix remodeling have been considered to play a key role in the pathophysiology of the HF. Elevations in the blood levels of the biomarkers such as tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), C-reactive protein, interleukin 6 (IL-6) are correlated with HF severity and prognosis [13]. Recently, PTX-3 has been thought to be a marker of vascular inflammation and was found to facilitate risk stratification of HF patients. Additionally, it was considered that PTX-3 might have a pathophysiological role in the development of acute decompensated HF [14]. It was observed in the present study that PTX-3 levels did not significantly differ between patient and control groups. But, the levels of the PTX-3 were significantly decreased after the treatment of HF.

Vaspin (visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor) is a unique insulin-sensitizing adipokine that has been demonstrated to improve glucose tolerance and

insulin resistance in obese mice [15]. A relation has been found between visceral vaspin expression in humans and their body mass indexes, body fat percentage, and plasma glucose levels [16]. Vaspin was firstly isolated from OLETF guinea pigs with type 2 DM animal models characterized abdominal obesity, insulin resistance, HT, and dyslipidemia [17]. Previous studies have supposed that the effects of the vaspin were inhibiting inflammatory factors secretion from vascular smooth muscle cells, and antagonizing endothelial apoptosis induced by free fatty acid [18]. It is accepted as vaspin has anti-inflammatory and anti-atherosclerotic properties via the enhancement of eNOS expression and activity, decrease of ADMA level, increase expression of dimethylarginine dimethylamino hydrolase 2, decrease of TNF-alpha, increase migration and proliferation of EPCs [19]. Actually, vaspin protects endothelial cells from inflammation and apoptosis. In our study, serum vaspin levels were significantly higher in DCHF patients than controls, and there was no significant change with the stabilization treatment. Our study may be the first to demonstrate that HF patients exhibited significant higher vaspin levels compared to healthy controls. As a result of previous studies data, it may be thought that vaspin release may be increased in order to suppress inflammation as a contra-regulated mechanism in HF characterized by chronic inflammation, to decrease increased blood glucose level and insulin resistance.

Apelin is an adipocyte affecting the APJ receptor system found in the heart, lung, kidney, vascular endothelium, and fatty tissue. The apelin/APJ system is a novel neurohormonal pathway that is widely represented in the heart and is an important regulator of cardiovascular hemostasis. Apelin is a strong endogenous inotrope that causes nitric oxide dependent vasodilatation, reduces ventricular preload and afterload, increases coronary blood flow and cardiac contractility [20]. Moreover, it has an antagonistic effect on the renin angiotensin aldosterone system which plays an important role in the development and progression of HF [21]. In a previous study, apelin level found to be increased at early and acute stage of HF, but progressively decreased in the advanced stages of the HF. Additionally, its predictive role has been studied in several studies [22, 23]. In our study, lower serum levels of apelin were observed in the HF patients in parallel with the previous studies.

Our study has some limitations. Relatively small number of patients was consisted in the study. Comparison of the serum markers vaspin and apelin levels with the known markers of HF such as brain natriuretic peptide, or other inflammation

parameters such as C-reactive protein were not done. Baseline clinical differences of the groups may be another limitation. Additionally, diuretic tolerance and baseline significant dosage differences in the usage of the medical treatment (ACE inhibitors, angiotensin receptor blockers, aldosterone blockers, and loop diuretics) could have independently influenced biomarker levels. However, the medical treatment in the hospital for stabilization was standard to all HF patients.

## Conclusion

We measured the serum troponin I and vaspin levels elevated, and serum apelin levels reduced in decompensated HF patients. Decompensated HF patients tended to have higher levels of troponin I and PTX-3. No significant change was observed in vaspin and apelin levels with the acute HF stabilization. Finally, more multicenter studies with a large population derived from different countries must be performed to confirm that these parameters could be considered as a universal risk factor or marker like natriuretic peptides in HF patients, especially with vaspin and PTX-3.

## Declaration of conflict of interest

The authors received no financial support for the research and/or authorship of this article. There is no conflict of interest.

## References









1. Nishio Y, Sato Y, Taniguchi R, Shituzs S, Doi T, Morimoto T et al. Cardiac troponin T vs other biochemical markers in patients with congestive heart failure. *Circ J* 2007; 71:631-35.
2. Peacock WF 4th, De Marco T, Fonarow GC, Diercks D, Wynne J, Apple FS et al; ADHERE Investigators. Cardiac troponin and outcome in acute heart failure. *N Engl J Med* 2008; 358: 2117-26.
3. Maisel A. Understanding B-type natriuretic peptide and its role in diagnosis and monitoring congestive heart failure. *Clin Cornerstone* 2005; 7:7-17.
4. Matsubara J, Sugiyama S, Nozaki T, Sugamura K, Konishi M, Ohba K et al. Pentraxin 3 is a new inflammatory marker correlated with left ventricular diastolic dysfunction and heart failure with normal ejection fraction. *J Am Coll Cardiol* 2011; 57:861-9.
5. Falcão-Pires I, Leite-Moreira AF. Apelin: a novel neurohumoral modulator of the cardiovascular system. Pathophysiologic importance and potential use as a therapeutic target. *Rev Port Cardiol* 2005; 24:1263-76.
6. Kobat MA, Celik A, Balin M, Altas Y, Baydas A, Bulut M et al. The investigation of serum vaspin level in atherosclerotic coronary artery disease. *J Clin Med Res* 2012; 4:110-3.

7. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Bohm M, Dickstein K et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail* 2012; 14: 803-69.
8. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey Jr DE, Drazner MH et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62:147-239.
9. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
10. Nakagomi A, Seino Y, Endoh Y, Kusama Y, Atarashi H, Mizuno K. Upregulation of monocyte proinflammatory cytokine production by C-reactive protein is significantly related to ongoing myocardial damage and future cardiac events in patients with chronic heart failure. *J Card Fail* 2010; 16: 562-71.
11. Hudson MP, O'Connor CM, Gattis WA, Tasissa G, Hasselblad V, Holleman CM et al. Implications of elevated cardiac troponin T in ambulatory patients with heart failure: a prospective analysis. *Am Heart J* 2004; 147: 546-52.
12. Jolly SS, Shenkman H, Brieger D, Fox KA, Yan AT, Eagle KA et al. Quantitative troponin and death, cardiogenic shock, cardiac arrest and new heart failure in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes (NSTE ACS): insights from the Global Registry of Acute Coronary Events. *Heart* 2011; 97:197-202.
13. Koller L, Kleber M, Goliash G, Sulzgruber P, Scharnagl H, Silbernagel G et al. C-reactive protein predicts mortality in patients referred for coronary angiography and symptoms of heart failure with preserved ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2014; 16:758-66.
14. Abernethy A, Raza S, Sun JL, Anstrom KJ, Tracy R, Steiner J et al. Pro-Inflammatory Biomarkers in Stable Versus Acutely Decompensated Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *J Am Heart Assoc* 2018; 12;7(8).
15. Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, Seida A et al. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:10610-5.
16. Seeger J, Ziegelmeier M, Bachman A, Lössner U, Kratzch J, Blüher M et al. Serum levels of the adipokine vaspin in relation to metabolic and renal parameters. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 247-51.
17. Kawano K, Hirashima T, Mori S, Saitoh Y, Kurosumi M, Natori T. Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) strain. *Diabetes* 1992; 41:1422-8.
18. Zhang B, Peng W, Li H, Lu Y, Zhuang J, Wang K, et al. Plasma vaspin concentrations are decreased in acute coronary syndrome, but unchanged in patients without coronary lesions. *Clinical Biochemistry* 2013; 46:1520-25.
19. Sun N, Wang H, Wang L. Vaspin alleviates dysfunction of endothelial progenitor cells induced by high glucose via PI3K/Akt/eNOS pathway. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8: 482-89.
20. Folino A, Montarolo PG, Samaja M, Rastaldo R. Effects of apelin on the cardiovascular system. *Heart Fail Rev* 2015; 20: 505-18.
21. Chandrasekaran B, Dar O, McDonagh T. The role of apelin in cardiovascular function and heart failure. *Eur J Heart Fail* 2008; 10: 725-32.
22. Goidescu CM, Anton FP, Leucuța DC, Mircea PA, Vida-Simiti LA. Serum level of apelin-13 negatively correlated with NT-pro BNP in heart failure patients. *Rev Rom Med Lab* 2016; 24: 399-412.
23. Dalzell JR, Jackson CE, Chong KS, McDonagh TA, Gardner RS. Do plasma concentrations of apelin predict prognosis in patients with advanced heart failure? *Biomarkers Med* 2014; 8:807-13.

■ Original Article

## The association of thiol/disulphide homeostasis with 6-month mortality in patients with acute ST-elevation myocardial infarction

### *Akut ST-elevasyonlu miyokart infarktüsü hastalarında 6 aylık mortalite ve thiol /disulfid ilişkisi*

Mustafa CELIK<sup>1\*</sup> , Erdoğan SOKMEN<sup>1</sup> , Murat ERER<sup>1</sup> , Serkan SIVRI<sup>1</sup> , Alp YILDIRIM<sup>1</sup> ,  
Yalçın BODUROGLU<sup>1</sup> , Kenan GUCLU<sup>2</sup> , Sinan Cemgil OZBEK<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Department of Cardiology, Ahi Evran University Training and Research Hospital, Kirsehir, TURKEY

<sup>2</sup>Department of Biochemistry, Ahi Evran University Training and Research Hospital, Kirsehir, TURKEY

#### ABSTRACT

**Aim:** Acute ST-elevation myocardial infarction (STMI) is significant determinant of mortality and long-term mortality rates has not changed significantly over the last two decades. Thiols are an important anti-oxidant mechanism in the body, and excessive reactive oxygen species oxidize the thiol into their disulphide forms. Hence, higher level of disulphide is regarded as an indicator of oxidative stress. In the present paper, we sought to investigate any probable relationship between thiol/disulphide homeostasis and 6-month all-cause mortality among STMI survivors.

**Material and Methods:** 238 consecutive patients with STMI undergoing percutaneous coronary intervention were included. Blood samples for thiol/disulphide homeostasis were drawn on admission. Syntax I and II scores were calculated using the cineangiographic views and relevant patient demographics.

**Results:** 6-month mortality occurred in 25 patients (mortality group), while 213 patients remained alive (non-mortality group). Total thiol, native thiol, disulphide, disulphide/total thiol, disulphide/native thiol and native thiol/total thiol were not different between the mortality and non-mortality groups ( $p > 0.05$ ). Syntax I and II scores were significantly greater in mortality group ( $26.11 \pm 8.06$  vs  $19.129.80$ ,  $p = 0.029$  for Syntax I;  $50.1314.59$  vs  $30.639.79$ ,  $p < 0.001$  for Syntax II).

**Conclusion:** Syntax II score, glomerular filtration rate (GFR) and white blood cell count (WBC) were found to predict 6-month mortality.

**Keywords:** thiol disulfide; acute myocardial infarction; mortality

Corresponding Author\*: Mustafa Celik, Department of Cardiology, Ahi Evran University Training and Research Hospital, Kirsehir, TURKEY

E-mail: muscelik50@gmail.com

ORCID:0000-0003-4102-1564

Received: 16.05.2019 Accepted : 08.10.2019

Doi: 10.18663/tjcl.563306

## ÖZ

**Amaç:** Akut ST yükselmeli miyokard infarktüsü (STMI) mortalitenin önemli bir belirleyicisidir ve uzun dönem ölüm oranları son yirmi yılda önemli ölçüde değişmemiştir. Tiyoller vücutta önemli bir antioksidan mekanizmadır ve aşırı reaktif oksijen türleri tiyolü disülfür formlarına okside eder. Bu nedenle daha yüksek seviyedeki disülfid oksidatif stresin bir göstergesi olarak kabul edilir. Bu yazıda STMI sağ kalanları arasında tiyol / disülfid homeostazı ve 6 aylık tüm nedenlere bağlı ölüm arasındaki olası ilişkiyi araştırmaya çalıştık.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya perkütan koroner girişim uygulanan STMI' li 238 hasta dahil edildi. Giriş sırasındaki tiyol / disülfid homeostazı için kan örnekleri alındı. Syntax I ve II skorları sineanjyografik görüntüler ve ilgili hasta demografik özellikleri kullanılarak hesaplandı.

**Bulgular:** 25 hastada (mortalite grubu) 6 aylık takibinde mortalite izlendi, 213 hastada mortalite izlenmedi (mortalite dışı grup). Total tiyol, nativ tiyol, disülfid, disülfid / toplam tiyol, disülfid / nativ tiyol ve nativ tiyol / toplam tiyol, mortalite ve mortalite dışı gruplar arasında farklı değildi ( $p > 0.05$ ). Syntax I ve II skorları mortalite grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ( $26.11 \pm 8.06 - 19.12 \pm 9.80$ , Syntax I için  $p = 0.029$ ; Syntax II için  $50.13 \pm 14.59$  ve  $30.63 \pm 9.79$ ,  $p < 0.001$ ).

**Sonuç:** Syntax II skoru, glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ve beyaz kan hücre sayımının (WBC) 6 aylık mortaliteyi öngördüğü bulundu.

**Anahtar kelimeler:** tiol disulfid; akut miyokard infarktüsü; mortalite

## Introduction

For many years, acute myocardial infarction (AMI) has proved to be a significant determinant of both the morbidity and mortality worldwide, despite advances in interventional cardiology and medical therapy. Although a prominent amelioration in the 30-day mortality rates was achieved in AMI, long-term mortality rates however did not change significantly over the last two decades [1]. Acute ST-elevation myocardial infarction (STMI) is one of the entities comprising the term "AMI", and constitutes nearly one third of the patient population worldwide who admit to the hospital with an AMI [2,3]. Accordingly, new measures and predictors are warranted in order for the physicians to anticipate better the long-term mortality rates among the survivors of an acute STMI, and provide a closer-follow up for them.

Oxidative stress occurs when the generation of reactive oxygen species exceeds the dealing capability of bodily anti-oxidant defense mechanisms [4]. Oxidative stress and AMI are not mutually exclusive. In this regard, oxidative stress was previously proposed as a major contributor to both the development and progression of vascular atherosclerosis [5]. On the other hand, the ischemic state incited by an acute STMI also generates another milieu of oxidative stress which in turn gives rise to a further impairment in the antioxidant defense mechanisms.

Thiols are sulfhydryl (-SH) containing organic molecules, in which the sulfhydryl is bound to a carbon atom [6]. Moreover, albumin and protein thiols comprise the major source of total thiol mass in the plasma [6]. Thiols serve as a potent anti-oxidant mechanism in the body. Excessive reactive oxygen species can readily oxidize the thiol groups to transform them into the disulphide forms. Thereby, emergence of higher levels of disulphide forms is regarded as a robust indicator of exposure to oxidative stress [7]. Additionally, this process is reversible, and any tempering in the magnitude of the oxidative stress is likely to initiate the convert the disulphide forms back into their former thiol forms, thus keeping a stable thiol/disulphide homeostasis [8].

Considering the above-mentioned premises, we sought in the present study to investigate any probable relationship between thiol/disulphide homeostasis and 6-month all-cause mortality among the survivors of acute STMI.

## Materials and Methods

### Study Population

Our prospective study included a total of 238 consecutive patients (64 female and 174 male) who presented to our hospital with the diagnosis of acute STMI and underwent PCI between January 2018 and October 2018. Acute STMI was defined as the presence of the pertinent criteria as follows: detection of rise and/or fall of cardiac troponins with at least

one value above the 99th percentile of the upper reference limit and with at least one of the following features such as ischemia-related symptoms; new or presumably new ST segment elevation in  $\geq 2$  contiguous leads with the cutoff point of  $\geq 0.2$  mV in the anterior leads or new left bundle branch block; development of pathological Q waves in the electrocardiogram; imaging evidence of new loss of viable myocardium, or new regional wall motion abnormality; and identification of an intracoronary thrombus by angiography [9].

The exclusion criteria for our study were set as follows: the patients with a history of a recent myocardial infarction; those who had received any thrombolytic agent as a pretreatment; those with active infection or chronic inflammatory disease; those with severe hepatic, renal, hematological disease; and, those with any history of neoplasm or rheumatologic disease.

All the study participants underwent a scrutiny including a detailed medical history and a thorough physical examination and recording such baseline demographic features as age, sex, hypertension, chronic obstructive pulmonary disease, peripheral arterial disease, chronic obstructive pulmonary disease, smoking habit, diabetes mellitus, and coronary arterial disease.

Either a written or an oral-witnessed informed consent was obtained from all of the participating patients provided at the emergency service. Our study was performed by complying with the principals by the Declaration of Helsinki and was approved by the local ethics committee.

### **Echocardiography**

Transthoracic echocardiographic evaluation of the enrolled patients were performed using Vivid S5 (GE Vingmed Ultrasound AS, Horten, Norway). Left ventricular ejection fraction was calculated using the modified Simpson's rule. All the conventional echocardiographic examination were performed according to the standards of the American Society of Echocardiography [10].

### **Coronary Angiography and Percutaneous Coronary Intervention**

All patients were treated by complying with the recommendations of the STMI guideline [11]. Once the written informed consent for cardiac catheterization was obtained, an emergency coronary angiography was performed in all patients using the standard techniques. Glycoprotein IIb/IIIa inhibitor (tirofiban) was administered

to the patients in the catheterization laboratory at the operator's discretion. Decision regarding the implementation of percutaneous coronary intervention (PCI), coronary artery bypass graft surgery or medical treatment was given by a heart team comprising two cardiologist and one cardiovascular surgeon. All PCIs performed in eligible patients were performed using the standard clinical practice and choice between the alternatives of drug-eluting stent or bare metal stent was at the operator's discretion. Stenting of infarct-related artery was successfully fulfilled in all patients.

### **Blood Samples and Laboratory Analysis**

Blood samples were obtained through venipuncture on admission to the emergency department. The collected blood samples were centrifuged at 1500 g for 10 min to separate the serum. Serum was stored at  $-80$  °C until analysis of thiol/disulfide homeostasis tests.

Routine serum biochemical parameters were measured by using an automated clinical chemistry analyzer (Roche Hitachi Cobas c8000 autoanalyzer, Roche Diagnostic Corp., Mannheim, Germany).

Thiol/disulfide homeostasis test levels were measured using a newly developed, fully-automated and spectrophotometric method by Erel and Neşelioğlu [12]. After determining native and total thiols, the concentration of disulfide was determined using the formula: Disulfide = (total thiol – native thiol) / 2

The ratios of disulfide/total thiol (%), disulfide/native thiol (%) and native thiol/total thiol (%) were calculated using the concentrations of disulfide, native thiol and total thiol, which were previously determined.

### **Calculation of the SYNTAX I and SYNTAX II Scores**

Assessment of the cineangiographic views was performed using Axiom (Siemens Medical Solution, Erlangen, Germany) workstation by two experienced cardiologist blinded to the study data. Each lesion with a diameter stenosis  $\geq 50\%$  in coronary vessels  $\geq 1.5$  mm in diameter was scored using the online SYNTAX score calculator (<http://www.syntaxscore.com>). If the cardiologists conflict about the lesions, the ultimate score was decided by averaging the scores calculated by each cardiologist. SS1 and SS2 scores were obtained for each patient.

### Statistical Analyses

The continuous variables were investigated using Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests to determine whether or not they are normally distributed. Data was expressed as mean  $\pm$  standard deviation for continuous variables and number and/or percentage for categorical variables. The univariate analysis of the study parameters, on the basis of their types and the fulfillment of the assumptions, were implemented using respective Chi Square, Continuity correction or independent t-test. For the multivariate analysis, the possible factors identified with univariate analysis were further entered into binary logistic regression to determine independent predictors of mortality. Hosmer-Lemeshow goodness of fit statistics were used to assess model fit. Finally, the receiver operating characteristics (ROC) curve analysis was implemented so as to assess whether the variables obtained through logistic regression analysis have any diagnostic role or not. In all statistical tests,  $p < 0.05$  was considered to indicate statistical significance. Statistical analysis of the study data was performed using SPSS version 21.0 software for Windows (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp., USA).

### Results

Demographic and clinical characteristics of the study population were given in Table 1. A total of 238 patients acute STMI patients was included in the study. Mortality occurred within the 6-month of study period in 25 patients (10.5%), while 213 patients (89.4%) remained alive at the 6th post-AMI month. There was statistically significant difference regarding gender distribution between the two groups ( $p = 0.023$ ). Male predominance was evident in the group without mortality [161 male (76%), 52 female (24%)]. On the other hand, gender distribution in the group with mortality was homogeneous [13 male (52%), 12 female (48%)]. The mean age of the group with mortality was greater than that of the group without mortality ( $68.11 \pm 19.87$  years and  $60.49 \pm 11.28$  years, respectively;  $p = 0.006$ ). Glomerular filtration rate (GFR) was lower in the group with mortality, while white blood cell count (WBC), neutrophil count, C-reactive protein, Syntax I score and Syntax II score were significantly greater in the group with mortality, compared to the group without mortality ( $p < 0.05$ ). There was no significant difference with regard to the other demographic and clinical characteristics

between the two groups ( $p > 0.05$ ). Native thiol, total thiol, disulphide levels, and disulphide/native thiol, disulphide/total thiol and native thiol/total thiol ratios did not display any statistically significant difference between the two groups ( $p > 0.05$ ).

CAD, coronary arterial disease, GFR, glomerular filtration rate. WBC, white blood cell. Cholesterol Hgb, hemoglobin. Plt, platelet. C-RP, C-reactive protein. Hs-troponin High-Sensitivity Cardiac Troponin T Ck-Mb creatine kinase myocardial isoenzyme PCT: Plateletcrit TG, triglyceride. T-Chol, total cholesterol. LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol. HDL-C, high-density lipoprotein.

As for the cause of mortality, it was multiorgan system failure including acute renal insufficiency in two patients (0.8%), sudden cardiac death in 10 patients (4.2%), and cardiogenic shock in 13 patients (5.4%). In-hospital mortality occurred in 10 patients (4.2%), while post-discharge mortality occurred in 15 patients (6.3%).

The demographic and the clinical variables revealed to be different between the two groups were analyzed further via bivariate logistic regression analysis with backward elimination, wherein Syntax II score, GFR and WBC emerged in the fifth step of the logistic regression analysis as the variables which predicted the mortality most precisely within the study population. Table 2 represents the results of the logistic regression analysis, together with pertinent odds ratios. The percentage correct score of the regression model was 92.4%. Moreover, according to the Hosmer and Lemeshow test, the positive predictive value of this regression model was found to be very strong ( $\chi^2 = 1.448, p > 0.05$ ).

These three variables, namely the Syntax II score, GFR and WBC, which had been found to be significant predictor of mortality, were further evaluated through ROC curve analysis regarding whether we could obtain a cut-off value in the prediction of mortality among the study population. According to the ROC curve analysis, the optimal cut-off value to predict mortality was 42.7 for the Syntax II score (Figure 1). With this cut-off value, the Syntax II score had 79% sensitivity and 88.8% specificity to predict 6-month mortality among the survivors of acute STMI (AUC: 0.846; 95% CI: 0.681-0.902;  $p < 0.01$ ). Contrary to the Syntax II score, however, GFR and WBC were not anticipated to confer any cut-off value of diagnostic significance, as the area under curve for these variables did not reach the level of statistical



**Table 1.** Demographic and clinical characteristics of the study population

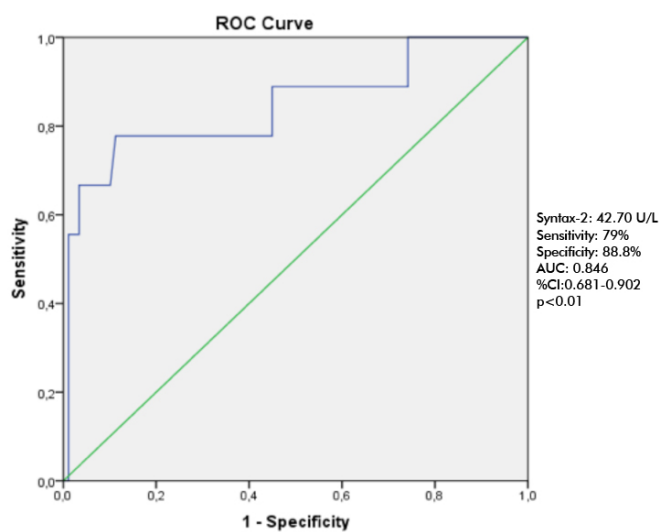
Variables	Group without mortality(n=213)	Group with mortality (n=25)	p
Gender(male,female ,%)	161(76%)/52(24%)	13(52%)/12(48%)	0.023
Age (Years)	60.49±11.28	68.11±19.87	0.006
Diabetes Mellitus (n,%)	66 (30%)	8(32%)	0.917
CAD (n,%)	31(14%)	3(12%)	0.966
Hypertension (n,%)	94(44%)	12(48%)	0.876
Hyperlipidemia (n,%)	54(25%)	6(24%)	0.882
Smoking(n,%)	106(49%)	12(48%)	0.867
Glucose (mg/dL)	129.6±67.2	165.8±91.5	0.088
GFR (mL/min/1,73-m <sup>2</sup> )	82.13±18.68	63.11±39.44	0.012
WBC (x10 <sup>9</sup> /L)	9.51±2.96	12.64±7.65	0.016
Hgb (gr/dL)	13.91±1.74	13.46±2.74	0.526
Plt (x10 <sup>9</sup> /L)	263.5±91.4	276.3±121.4	0.695
Neutrophil (x10 <sup>9</sup> /L)	6.25±2.69	9.67±7.38	0.004
Lymphocyte (x10 <sup>9</sup> /L)	2.27±0.91	1.87±1.38	0.235
Monocyte (x10 <sup>9</sup> /L)	0.77±0.27	0.96±0.78	0.111
C-RP (mg/dL)	1.28±2.09	7.39±8.83	<0.001
Hs-troponin pg/mL	3395±10977	4930±3806	0.696
Ck-Mb ng/mL	51.37±71.29	56.81±75.64	0.848
PCT (%)	0.27±0.09	0.24±0.04	0.407
Calcium mg/dL	9.27±0.52	9.40±1.28	0.575
Albumin gr/dL	4.02±0.46	3.73±0.58	0.087
TG (mg/dL)	172.4±91.6	192.4±109.6	0.576
T-Chol (mg/dL)	169.3±42.2	183.4±78.3	0.413
LDL-C (mg/dL)	94.2±38.9	100.7±58.5	0.680
HDL-C (mg/dL)	41.90±10.46	44.14±16.50	0.567
Total thiol (micromol/L)	225.3±37.8	223.8±34.9	0.930
Native thiol (micromol/L)	136.2±24.5	136.8±21.9	0.984
Disulphide (micromol/L)	44.38±7.19	43.50±6.95	0.644
Disulphide/Native thiol (%)	32.75±2.35	31.85±2.59	0.298
Disulphide/ Total thiol (%)	19.76±0.86	19.43±0.94	0.293
Native thiol/total thiol (%)	60.46±1.73	61.13±1.89	0.293
Syntax-1	19.12±9.80	26.11±8.06	0.029
Syntax-2	30.63±9.79	50.13±14.59	<0.001

**Table 2.** Binary logistic regresyon analysis of mortality and affecting variables.

	Odds Ratio	95% Confidence Interval		p
		Lower	Upper	
Syntax -2	1.514	1.095	1.889	0,001
GFR	1.122	1.006	1.253	0,033
WBC	1.820	1.1168	2.836	0,008

GFR: glomerular filtration rate, WBC, white blood cell.





**Figure 1.** Receiver-operating curve depicting sensitivity and specificity of the Syntax II score in the prediction of 6-month mortality Discussion

## Discussion

The main findings of our study can be summarized as follows: the admission thiol/disulphide status does not have any significant correlation with the long-term (6 months) all-cause mortality in acute STMI patients; the Syntax II score, WBC and GFR possess predictive value in the long-term mortality in acute STMI patients according to the bivariate logistic regression analysis; and, a Syntax II score >42.7 anticipate 6-month all-cause mortality with 79% sensitivity and 88.8% specificity in patients with acute STMI. To the best of our knowledge, this study is the first to assess the relationship between thiol/disulphide homeostasis and 6-month all-cause mortality in patients with STMI.

Thiols assist the bodily systems to withstand oxidative stress. Upon encountering the ROS, thiol groups of sulfur containing aminoacids become oxidized to transform into reversible disulphide molecules, thus subsiding the detrimental effects of the ROS. Subsequently, the disulphide bonds previously formed can readily be reduced back to its original thiol form with the help of the other anti-oxidant mechanisms within the body; thereby, a dynamic thiol/disulphide homeostasis has managed to be achieved. Previous in vitro studies indicated that lower thiol/disulphide homeostasis was likely to translate into abnormal cellular apoptosis or proliferation [13,14].

Previous studies have already unfolded that acute coronary syndrome is associated with lower thiol/disulphide homeostasis [15-17]. Sivri et al. [16] demonstrated lower total and native thiol levels as well as native thiol/total thiol ratio; however, greater disulphide/total thiol and disulphide/native thiol in patients with non-ST elevation myocardial infarction

(NSTMI), compared to the healthy controls. Kavakli et al. [15] investigated thiol/disulphide status in 128 STMI patients and reported a statistically significant decrease in admission serum total thiol, native thiol and disulphide levels, compared to 30 healthy controls. In another study conducted by Kundi et al. [17] and including 300 patients with acute coronary syndrome (150 STMI, 150 NSTMI), total thiol, native thiol and disulphide were found to be lower, compared to 150 healthy controls. On the other hand, disulphide/total thiol and disulphide/native thiol were significantly greater, compared to the controls.

Aside from the acute coronary syndrome itself, some other clinical conditions as diabetes mellitus[18], hypertension[19], stable coronary arterial disease[20], chronic kidney disease[21], autoimmune diseases [22-25] implicated in the development of an acute coronary syndrome were also suggested to be associated with lower thiol/disulphide homeostasis.

There are many stress factors, such as ischemia, volume and pressure overload, that may incline the cardiovascular system towards remodeling at cellular levels[26]. Furthermore, cardiovascular remodeling may in turn be related to increased mortality, since adaptive changes in the cardiovascular and coronary arterial system may translate into myocardial fibrosis, positive or negative vascular plaque remodeling and potentially irreversible myocardial or vascular functional deterioration [27,28]. Accordingly, an altered thiol/disulphide homeostasis is very likely to remain incapable of adequately withstanding the oxidative stress milieu like an AMI, and this situation may in part be held responsible with the inappropriate adaptive changes posing an extra risk for future mortality. Previous studies, in this regard, revealed findings supportive of this premise. In their study, Sivri et al. [16] found a negative correlation between native thiol and the rate of major adverse cardiovascular events (MACE), including mortality, non-fatal MI and acute heart failure, in patients with NSTMI. However, the other thiol/disulphide homeostasis-related parameters did not show such a correlation. In another study by Kundi et al. [29], in-hospital mortality was associated with both lower native thiol/disulphide ratio and higher Syntax I score. Akkuş et al. [30] suggested in their recent study that levels of admission native thiol and total thiol served as independent predictors of MACE, which had included acute coronary syndrome, stroke, and death and target vessel revascularization, during 6 months of follow-up of STMI patients. Contrary to the study by Kundi et al. [29], however, their study failed to yield an association of in-hospital mortality with neither native and total thiol levels nor native thiol/disulphide ratio. Aside from the afore-mentioned studies, our study merely investigated all-cause mortality



during 6-month follow-up of patients with STMI, and we did not find any correlation between the mortality and admission parameters related to the thiol/disulphide homeostasis. The reason for the lack of such an association can be attributed to the fact that we only evaluated the relationship of the mortality and the admission thiol/disulphide parameters, contrary to MACE in the previous studies.

This study should be interpreted in the light of some limitations. First, our study population is relatively small and future studies conducted on larger populations may yield correlation between the long-term mortality and admission thiol/disulphide status in STMI patients. Secondly, this is a single-center study and demographic, genetic and racial features of our patient cohort display distinctions from that of other centers. Third, we did not correlate our study findings with the other oxidative stress markers.

## Conclusion

Admission serum native thiol level, total thiol level, disulphide level, native thiol/total thiol ratio, native thiol/disulphide ratio and total thiol/disulphide ratio cannot be used to identify patients with increased 6-month mortality among the patients with STMI. On the other hand, the Syntax II score, GFR and WBC show robust association with the 6-month mortality rates in the same patient population. However, further studies with larger cohorts as well as longer follow-up periods may reveal different results.

## Declaration of conflict of interest

The authors received no financial support for the research and/or authorship of this article. There is no conflict of interest.

## References

1. Roger VL, Weston SA, Gerber Y et al. Trends in incidence, severity, and outcome of hospitalized myocardial infarction. *Circulation* 2010; 121: 863-69
2. Tu JV, Austin PC, Filate WA et al. Outcomes of acute myocardial infarction in Canada. *Can J Cardiol* 2003; 19: 893-901.
3. Tu JV, Donovan LR, Lee DS et al. Effectiveness of public report cards for improving the quality of cardiac care: the EFFECT study: a randomized trial. *JAMA*. 2009; 302: 2330-37
4. Jaganjac M, Cipak A, Schaur RJ and Zarkovic N. Pathophysiology of neutrophil-mediated extracellular redox reactions. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2016; 21: 839-55.
5. Young IS and Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001; 54: 176-86.
6. Turell L, Radi R and Alvarez B. The thiol pool in human plasma: the central contribution of albumin to redox processes. *Free Radic Biol Med* 2013; 65: 244-53
7. Sen CK and Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 653-69
8. Jones DP and Liang Y. Measuring the poise of thiol/disulfide couples in vivo. *Free Radic Biol Med* 2009; 47: 1329-38
9. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Circulation* 2012; 126: 2020-35
10. Quinones MA, Otto CM, Stoddard M et al. Recommendations for quantification of Doppler echocardiography: a report from the Doppler Quantification Task Force of the Nomenclature and Standards Committee of the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2002; 15: 167-84.
11. Ibanez B, James S, Agewall S et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2018; 39: 119-77,
12. Erel O and Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin Biochem* 2014; 47: 326-32
13. Circu ML and Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radic Biol Med* 2010; 48: 749-62
14. Biswas S, Chida AS and Rahman I. Redox modifications of protein-thiols: emerging roles in cell signaling. *Biochem Pharmacol* 2006; 71: 551-64
15. Kavakli HS, Sezer AA, Yilmaz H et al. Thiol disulphide homeostasis in patients with acute myocardial infarction (AMI). *J Pak Med Assoc* 2018; 68: 1631-35.
16. Sivri S, Kasapkara HA, Polat M et al. Dynamic thiol/disulphide homeostasis and its prognostic value in patients with non-ST elevation-acute coronary syndromes. *Kardiol Pol* 2018; 76: 426-32
17. Kundi H, Ates I, Kiziltunc E et al. A novel oxidative stress marker in acute myocardial infarction; thiol/disulphide homeostasis. *Am J Emerg Med* 2015; 33: 1567-71
18. Ates I, Kaplan M, Yuksel M et al. Determination of thiol/disulphide homeostasis in type 1 diabetes mellitus and the factors associated with thiol oxidation. *Endocrine* 2016; 51: 47-51
19. Ates I, Ozkayar N, Inan B et al. Dynamic thiol/disulphide homeostasis in patients with newly diagnosed primary hypertension. *J Am Soc Hypertens* 2016; 10: 159-66
20. Altiparmak IH, Erkus ME, Sezen H et al. The relation of serum thiol levels and thiol/disulphide homeostasis with the severity of coronary artery disease. *Kardiol Pol* 2016; 74: 1346-53

21. Rodrigues SD, Batista GB, Ingberman M, Pecoits-Filho R and Nakao LS. Plasma cysteine/cystine reduction potential correlates with plasma creatinine levels in chronic kidney disease. *Blood Purif* 2012; 34: 231-37
22. Dogru A, Balkarli A, Cetin GY et al. Thiol/disulfide homeostasis in patients with ankylosing spondylitis. *Bosn J Basic Med Sci* 2016; 16: 187-92
23. Lalwani P, de Souza GK, de Lima DS, Passos LF, Boechat AL and Lima ES. Serum thiols as a biomarker of disease activity in lupus nephritis. *PLoS One* 2015; 10: e0119947
24. Ates I, Altay M, Yilmaz FM et al. Dynamic thiol/disulfide homeostasis in patients with autoimmune subclinical hypothyroidism. *Endocr Res* 2016; 41: 343-49
25. Jaswal S, Mehta HC, Sood AK and Kaur J. Antioxidant status in rheumatoid arthritis and role of antioxidant therapy. *Clin Chim Acta* 2003; 338: 123-29.
26. Frangiannis NG. The inflammatory response in myocardial injury, repair, and remodelling. *Nat Rev Cardiol*. 2014; 11: 255-65, doi: 10.1038/nrcardio.2014.28.
27. Falk E, Nakano M, Bentzon JF, Finn AV and Virmani R. Update on acute coronary syndromes: the pathologists' view. *Eur Heart J* 2013; 34: 719-28
28. Gaasch WH and Zile MR. Left ventricular structural remodeling in health and disease: with special emphasis on volume, mass, and geometry. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58: 1733-40
29. Kundi H, Erel O, Balun A, et al. Association of thiol/disulfide ratio with syntax score in patients with NSTEMI. *Scand Cardiovasc J* 2015; 49: 95-100
30. Akkus O, Topuz M, Koca H, et al. The relationship between low thiol levels and major adverse cardiovascular events after primary percutaneous coronary intervention in patients with STEMI. *Turk Kardiyol Dern Ars*. 2018; 46: 248-59

■ Original Makale

## Üçüncü basamak bir hastanede çocukların büyümelerine etkili faktörlerinin retrospektif değerlendirilmesi

### *Retrospective evaluation of determinants of young children growth status in a tertiary care hospital*

Ayşe KAMAN<sup>1\*</sup> , Emine POLAT<sup>2</sup> , Can Demir Karacan<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Dr Sami Ulus Kadın Doğum Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Enfeksiyon Kliniği, Ankara

<sup>2</sup> Dr Sami Ulus Kadın Doğum Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Kliniği, Ankara

<sup>3</sup> Dr Sami Ulus Kadın Doğum Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Acil Kliniği, Ankara

#### Öz

**Amaç:** Büyüme ve gelişmenin en hızlı olduğu 0–5 yaş arası dönem, sağlıklı gelişimi olumsuz etkileyen çok sayıda etmene karşı oldukça duyarlı bir dönemdir. Bu çalışmada 5 yaş altındaki hastaların beslenme öyküleri, büyüme parametrelerini belirlemek ve bu parametreleri etkileyebilecek faktörlerin tespiti amaçlandı.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya Aralık 2011-Mayıs 2012 ayları arasında yatırılarak tedavi edilen 5 yaş altındaki çocuklar dahil edildi.

**Bulgular:** Çalışmaya ortanca yaşları 8 ay (1-59 ay) olan 344 hasta (%54,7erkek) dahil edildi. Doğum sonrası hastaların %97,1'i anne sütü ile beslenmeye başlanmışken, çalışma sırasında bir yaştan büyük olanların %18'i 1 yıldan kısa süre emzirilmişti. Hastaların 6. ayda tek başına anne sütü ile beslenme oranı %30,8'di. Hastaların annelerinin eğitim durumu ve ailelerin aylık gelir düzeyleri Türkiye ortalamasından düşük bulundu. Anne-baba yaşı, ebeveyn eğitim düzeyi ve ailenin aylık geliri ile kilo ve boy persantilleri arasında ilişki saptanmadı. Anne yaşı ve annenin eğitim düzeyi ile tek başına anne sütü ile beslenme süresi arasında ilişki bulunmazken, ailenin aylık geliri arttıkça tek başına anne sütü alım süresini uzadığı tespit edildi ( $p<0.05$ ). Anne yaşı, annenin eğitim düzeyi ve ailenin aylık geliri ile toplam anne sütü ile beslenme süresi arasında ilişki saptanmadı. Hastaların tek başına anne sütü alımı süreleri arttıkça kilo ve boy persantillerinin istatistiksel olarak arttığı tespit edilirken ( $p<0.05$ ) toplam anne sütü alım süresi ile kilo ve boy persantil değerleri arasında ilişki bulunmadı.

**Sonuç:** Ülkemizde erkek ve kadın arasındaki eğitime katılım farklılığı halen devam etmektedir. Ailenin aylık geliri tek başına anne sütü ile beslenme süresi üzerine etkilidir. Anne sütü alım süresi büyüme parametreleri üzerine en etkili faktördür.

**Anahtar kelimeler:** Büyüme; emzirme; süt çocuğu; yetersiz beslenme

Sorumlu Yazar\*: Ayşe Kaman Doktor Sami Ulus Kadın Doğum Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Enfeksiyon Kliniği, Ankara/TÜRKİYE

E-mail: ayse092003@yahoo.com

ORCID: 0000-0002-6188-6816

Gönderim: 30.05.2019 Kabul: 08.01.2020

Doi: 10.18663/tjcl.571889

## Abstract

**Aim:** During the first five years of life, children are highly sensitive against factors that adversely affect development. The aim of this study was to determine the nutritional history and growth parameters of patients under 5 years of age and the factors that might affect these parameters.

**Material and Methods:** The study included children under 5 years of age at a tertiary care pediatric hospital between December 2011 and May 2012.

**Results:** Three-hundred and forty-four patients (54.7% male) with median age of 8 months (1-59 months) were included in study. While 97.1% of the mothers were initiated breastfed after the delivery, 18% of those older than 1 years were breastfed for less than 1 year. The rate of exclusively breastfeeding at the 6 months of age was 30.8%. Educational status of mothers and monthly family income were lower than the average in Turkey. There was no correlation between age of parents, parental education level, family income and weight and height percentile. There was no correlation between age and educational level of mother and the duration of breastfeeding, but the duration of exclusive breastfeeding was positive correlated with the monthly family income ( $p<0.05$ ). It was found that weight and height percentages were positive correlated with exclusive breastfeeding duration ( $p<0.05$ ), but there was no correlation with total breastfeeding duration.

**Conclusion:** In our country, there is still a difference in participation in education between men and women. The monthly income of the family is effective on breastfeeding alone. Exclusively breastfeeding duration is the most effective factor on growth parameters.

**Keywords:** Growth; breastfeeding; infant; undernutrition

## Giriş

Çocukların sağlık durumlarının değerlendirilmesinde en iyi gösterge büyümedir. Büyüme, genetik faktörlerin yanı sıra çevresel faktörlerden etkilenir. Yetersiz gıda alımı ve sık geçirilen enfeksiyonlar, gelişmekte olan birçok ülkede büyüme geriliğinin en önemli iki nedenidir. Çocuklarda normal büyüme ve gelişmenin bilinmesi, normal durumlardan sapmaların tanımlanması yoluyla hastalıkların belirlenmesi ve önlenmesi açısından gereklidir. Büyüme ve gelişmenin en hızlı olduğu 0-5 yaş arası dönem, sağlıklı gelişimi olumsuz etkileyen çok sayıda etmene karşı oldukça duyarlı bir dönemdir. Temel sağlık hizmetlerinin önemli bir bölümünü çocukların büyüme ve gelişmelerinin izlemi oluşturmaktadır [1]. Hastaların izleminin eksiksiz yapılabilmesi için sağlık kuruluşlarında hastaların boy, kilo ölçümlerinin ve kayıtlarının eksiksiz olması önemli bir konudur. Bu çalışmada 5 yaş altındaki hastaların beslenme öyküleri ve büyüme parametrelerinin belirlenmesi ve bu parametreleri etkileyebilecek faktörlerin tespit edilmesi amaçlandı.

## Gereç ve Yöntemler

Çalışmaya Aralık 2011- Mayıs 2012 ayları arasında hastanemizde yatırılarak takip ve tedavi edilen, 5 yaş altındaki 344 hasta dahil edildi. Hastaların dosya verilerinden yaş, cinsiyet, yaşadıkları şehir, tanı sırasındaki boy ve vücut ağırlıkları, yatış tanıları, eşlik eden kronik hastalık, hastanede yatış öyküsü, aşılanma durumu, anne ve baba yaşları, ebeveynler arasında akrabalık durumu, ebeveynlerin eğitim durumu ve ortalama aylık gelirleri, ev içi sigara teması ile anne sütü alım süreleri ve ek gıdaya geçiş zamanları ile ilgili verileri geriye dönük olarak kaydedildi. Hastaların büyüme

durumlarını belirlemek için kullanılan yaşa göre ağırlık ve yaşa göre boy persantil değerleri Neyzi ve arkadaşlarının 2008 yılı eğrileri kullanılarak hesaplandı [2]. Preterm doğum öyküsü olan hastaların persantilleri hesaplanırken düzeltilmiş yaşları esas alındı. İkili karşılaştırmalarda boy ve kilo persantil ölçümleri alınırken,  $\leq 25$  persantil, 25-50 persantil arası, 50-75 persantil, ve  $\geq 75$  persantil değerlerine göre hastalar sınıflandı. Çalışma Helsinki İlkeler Deklarasyonuna uyularak gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel analizler analizleri Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows Version 16.0 paket programında yapıldı. Sayısal değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma veya median [min- maks] değerler ile özetlendi. Nitelik değişkenler ise sayı ve yüzde ile gösterildi. Sayısal değişkenlerin normalliği Kolmogorov Smirnov testi ile incelendi. Gruplar arasında nitelik değişkenler bakımından farklılık olup olmadığı ki kare testi ile araştırıldı. Sayısal değişkenler bakımından gruplar arasında farklılık olup olmadığı ise; Kruskal Wallis testi ile incelendi. Anlamlılık düzeyi  $p<0,05$  olarak alındı.

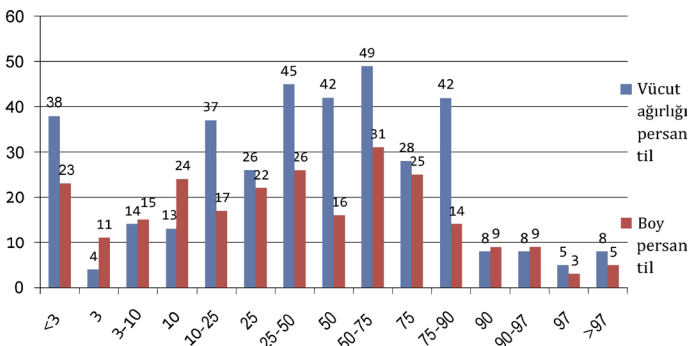
## Bulgular

Çalışmaya hastanemiz yataklı servislerinde izlenen, 5 yaş altındaki 344 hasta dahil edildi. Hastaların 188'i (%54,7) erkek, 156'sı (%45,3) kızdı. Hastalarda ortalama yaş 8 ay (1-59 ay), ortalama yaş  $15,5\pm 16$  ay olarak tespit edildi. En sık hastaneye yatış tanıları sırasıyla akut alt solunum yolu enfeksiyonu (%47), yumuşak doku enfeksiyonu ve lenfadenit (%13,3) ile ateş etyolojisi (%8,1) idi.

Gebelik haftasına göre hastaların %11'i <37 hafta, %86,3'ü 37-42 hafta, %2,7'si  $\geq 42$  hafta idi. Yedi hastanın evde doğum öyküsü mevcuttu. Hastaların %53,4'ü normal spontan vajinal yolla

doğmuştu ve %23,4'ünün anne ve babaları arasında akrabalık mevcuttu. Hastaların yaşayan kardeş sayısı ortancası 1 (0-7) ve ortalaması  $1,17 \pm 1,13$  idi. On sekiz hastanın kardeş ölümü öyküsü vardı. Çalışma döneminde yürürlükte olan aşı programına göre, hastaların %96,2'si yaşına göre eksiksiz olarak aşılanmıştı. On iki hastanın yaşına göre eksik aşıları var iken, bir hastanın hiç aşısı yapılmamıştı. Hastaların anne ve baba yaş dağılımları ile hastaların ebeveynlerinin eğitim seviyeleri ve ev içi aylık ortalama gelirleri Tablo 1'de

Çalışma değişkeni	Veri	n (%)
<b>Anne Yaşı</b>		
<18 yaş	7	2,1
18-25 yaş	102	30,4
25-35 yaş	188	56,1
≥35 yaş	38	11,3
<b>Baba Yaşı</b>		
<18 yaş	1	0,3
18-25 yaş	33	10
25-35 yaş	206	62,2
≥35 yaş	91	27,5
<b>Anne Eğitim Düzeyi</b>		
Okuma yazma bilmiyor	13	5,9
İlköğretim mezunu	67	74
Lise mezunu	18	14,2
Yüksek öğretim mezunu	13	5,9
<b>Baba Eğitim Düzeyi</b>		
Okuma yazma bilmiyor	4	1,8
İlköğretim mezunu	132	60,3
Lise mezunu	64	29,2
Yüksek öğretim mezunu	19	8,7
<b>Aylık Ortalama Gelir</b>		
<1000 TL	74	33,3
1000-1500 TL	98	44,1
1500-2000 TL	29	13,1
>2000 TL	21	9,5



Şekil 1. Hastaların kilo ve boy persantillerinin dağılımı

vücut ağırlığı ve boy persantillerine göre dağılımı Şekil 1'de gösterildi.

Annenin yaşı ve eğitim düzeyi, babanın yaşı ve eğitim düzeyi ile kilo ve boy persantilleri arasında da anlamlı bir ilişki bulunamadı. Ayrıca ailenin aylık ortalama geliri ile hastaların kilo ve boy persantilleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Yaşayan kardeş sayısı ile kilo ve boy persantil değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ( $p>0.05$ ). Çalışmaya dahil edilen hastaların %70'inin ev içinde sigara maruziyeti ile ilgili verileri mevcuttu ve bu hastaların %45,7'sinin en az bir kişi nedeniyle ev içi sigara maruziyeti vardı. Hastaların kilo ve boy persantil değerleri ile ev içi sigara maruziyeti arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p>0.05$ ). Hastaların %3,8'inin eşlik eden kronik hastalığı mevcutken, %38,1'inin daha önce çeşitli nedenlerle hastanede yatış öyküsü mevcuttu. Hastaların boy persantilleri ile hastaneye yatış öyküsü arasından anlamlı ilişki saptanmazken ( $p>0.05$ ) daha önce hastaneye yatış öyküsü olanlarda vücut ağırlığı persantillerinin yatış öyküsü olmayanlara göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı ( $p<0,05$ ).

Hastaların %88'inin anne sütü ile beslenme ile ilgili verilerine, %66,9'unun D vitamin profilaksisi kullanım süresi ve %43,3'ünün demir profilaksisi kullanım süresi ile ilgili verilerine ulaşılmıştı (Tablo 2). Doğum sonrası hastaların %97,1'i anne sütü ile beslenmeye başlamıştı ve çalışma sırasında 1 yaştan büyük olan çocukların yalnız %18'i 1 yaşından kısa süre emzirilmişti. Ancak çalışma sırasında 6 aylıktan büyük olan hastalarda, 6. ayda tek başına anne sütü ile beslenme oranı %30,8'di. Anne yaşı ve annenin eğitim düzeyi ile tek başına anne sütü ile beslenme süresi arasında ilişki bulunmazken ( $p>0.05$ ), ailenin aylık geliri arttıkça tek başına anne sütü alım süresini uzadığı tespit edildi ( $p<0.05$ ). Anne yaşı, annenin eğitim düzeyi ve ailenin aylık geliri ile toplam anne sütü ile beslenme süresi arasında ilişki saptanmadı ( $p>0.05$ ). Hastaların tek başına anne sütü alımı süreleri arttıkça kilo ve boy persantillerinin istatistiksel olarak arttığı tespit edilirken ( $p<0.05$ ) toplam anne sütü alım süresi ile kilo ve boy persantil değerleri arasında ilişki bulunmadı ( $p>0.05$ ). Ek gıdaya başlama yaşı ile kilo ve boy persantil değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamadı ( $p>0.05$ ). Anne eğitim düzeyi arttıkça bebeklerin D vitamini kullanım süresinin daha uzun olduğu tespit edildi ( $p<0.001$ ).

**Tablo 2.** Hastaların anne sütü alım, ek gıdaya başlama, D vitamini ve demir profilaksisi kullanma süreleri

Çalışma değişkeni	n	(%)
Tek başına anne sütü ile beslenme süresi	304	88,4
Hiç almamış	10	2,9
0-1 ay	41	11,9
1-6 ay	56	16,3
6 ay	95	27,6
6-12 ay	11	3,2
Hala alıyor	91	26,5
Toplam anne sütü ile beslenme süresi	306	89
Hiç almamış	10	2,9
0-1 ay	9	2,6
1-6 ay	27	7,8
6-12 ay	26	7,6
>12 ay	49	14,2
Hala alıyor	185	53,8
Ek gıdaya başlama zamanı	303	88
<6ay	33	9,3
6.ayda	119	34,5
6-12 ay	14	4
>12 ay	4	1,1
Henüz başlanmamış	133	38,6
D vitamini profilaksisi kullanım süresi	230	66,9
Hiç almamış	18	5,2
0-1 ay	2	0,6
1-6 ay	12	3,5
6-12 ay	43	12,5
Hala alıyor	155	45,1
Demir profilaksisi kullanım süresi	149	43,3
0-6ay	13	3,7
6-12 ay	17	4,9
>12 ay	4	1,1
Henüz başlanmamış	115	33,4

## Tartışma

Çocukluk çağında ayaktan tedavi edilen hastaların yaklaşık olarak dörtte biri ve hastaneye yatırılan hastaların ilk yaşta %33-50'sinin, tüm yaş gruplarında %29-38'inin pnömoni tanısı aldığı tespit edilmiştir [3]. Portekiz'de, 5 yaşından küçük 722 hastanın dahil edildiği bir çalışmada, hastaların %42'si 1 yaşından küçük, erkek/ kız oranı 1.8 ve en sık yatış tanısı solunum yolu enfeksiyonları olarak tespit edilmiştir [4]. Ülkemizde 5 yaş altındaki 3320 hastanın dahil edildiği

çalışmada ise erkek/kız oranı 1,63 ve en sık yatış tanısı ishali hastalıklar olarak bulunmuştur. Bu farklılık çalışma bölgesinde mevsimsel olarak ishali hastalıkların yaz aylarında, alt solunum yolu enfeksiyonlarının ise kış aylarında hastaneye yatışın en sık nedeni olması ile açıklanabilmektedir [5]. Beş yaş altında, hastanede yatırılarak izlenen hastaları içeren çalışmamızda da en sık yatış tanısı alt solunum yolu enfeksiyonları idi ve hastaların çoğunluğu 1 yaşından küçüktü.

Herhangi bir enfeksiyon sırasında iken normal öğün sayısından az yemek yiyen çocukların sayısının daha fazla olduğu, ancak hastalık sırasındaki yeme alışkanlığının nütrisyonel durum ile ilişkisinin olmadığı bulunmuştur [6]. Ayrıca enfeksiyon sırasında immün sistem, patojenle savaşmak için geniş bir besinsel gereksinimi kullanır ve enfeksiyonlar çocuk büyümesi üzerine beslenmenin olumlu etkisinin azalması ile sonuçlanabilir [7]. Kliniğimizde 2006-2011 yılları arasında 5 yaş altındaki malnütrisyon tanısı alan hastalarda yapılan çalışmada ise daha önce hastanede yatış oranı %54 bulunmuş ve bu hasta grubunun yatışları sırasında hem akut hem de kronik malnütrisyonun göstergesi olan yaşa göre ağırlık z-skorumlarının daha önce hiç hastanede yatmamış hastalarinkine göre anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır [8]. Bizim çalışmamızda da benzer olarak hastaların yaklaşık üçte biri daha önce çeşitli nedenlerle hastanede yatırılmıştı ve bu hastaların kilo persentilleri anlamlı olarak düşük bulunmuştu.

Ülkemizde TNSA 2008 verilerine göre sağlık kuruluşunda doğum oranları %90, prematüre doğum oranı %10 olarak bildirilmiştir [9]. TNSA-2013 araştırması sonuçlarına göre ise sağlık kuruluşunda doğum oranı %97'dir [10]. Ayrıca yürütülen genişletilmiş bağışıklama programı sonucunda 1993 yılında %77 olan aşılama oranının yıllar içinde arttığı bildirilmiştir (11). Ocak 2005 ve sonrasında doğan çocuklar için aşı takvimine göre eksiksiz aşılama oranı %81, hiç aşılammış çocuk oranı ise %2 olarak rapor edilmiştir [9]. Türkiye İstatistik Kurumu 2011 verilerine göre ise akraba evliliği oranı % 21,2 ve akraba evliliği yapanların, birinci derece akraba evliliği oranı % 51,9 olarak tespit edilmiştir [12]. Bizim çalışmamızda sağlık kuruluşunda doğum ve aşılama oranları çalışmanın yapıldığı dönemde bildirilen Türkiye ortalamasından yüksek saptanmış olup, akraba evliliği, prematüre doğum oranları ülkemiz verileri ile benzer bulunmuştur. Bu durum hastaların çoğunluğunun Ankara ilinden başvurması ve bu bölgede sağlık hizmetlerine erişilebilirliğin yüksek olması ile açıklanabilir.

Ülkemiz TNSA-2008 verilerine göre erkeklerin %25,9'u kadınların %18,2'si lise ve üzeri eğitime sahiptir [9]. 2013 yılında yapılan TNSA'na göre ise hem erkek hem de kadın cinsiyette lise ve üzeri eğitime sahip olanların oranı artarken eğitimi olmayan ya da ilkokulu bitirmemiş bireylerin oranı düşmüştür [9, 10]. Türkiye Aile Yapısı Araştırması 2011 verilerine göre Türkiye'deki

ailelerin %38,5'inin aylık ortalama geliri asgari ücret sınırının altında iken %21,5'inin aylık geliri asgari ücretin 2 katı kadardır [13]. Bizim çalışmamızda babaların eğitim düzeyleri ülkemiz verilerinden daha yüksek ancak annelerin eğitim düzeyleri ülkemiz verilerinden daha düşüktü. Ebeveynler arasında erkek ve kadın arasındaki eğitime katılım farklılıklarının halen devam ettiği görülmektedir. Bu çalışmada asgari ücret alan ailelerin oranı ülkemiz verileri ile benzerken, daha üst gelir seviyesinde olanların yüzdesi daha düşüktür. Bunun sebebi hastanemizin bulunduğu bölgenin gelir düzeyinin düşük olması olabilir.

Literatürde çocukların büyüme parametreleri üzerinde hem annenin hem de babanın eğitim seviyesinin etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [14, 15]. Brezilya'da yapılan kesitsel bir çalışmada çocukların büyüme parametreleri üzerine annenin eğitim düzeyi, kişi başına düşen aylık gelir ve evde yaşayan kişi sayısının etkili olduğu bulunmuştur [16]. Hindistan'da okul öncesi çocukların büyüme ve beslenme durumlarının sorgulandığı bir çalışmada ise annenin eğitim durumunun çocuk beslenmesini etkileyen tek değişken olduğu tespit edilmiştir [17]. Bu çalışmaların aksine çocukların büyümesi üzerine etkili sosyoekonomik faktörleri değerlendiren bir çalışmada çocukların büyüme parametreleri ile babalarının eğitim düzeyi arasında anlamlı ilişki bulunmuş; ancak anne eğitim düzeyinin, çocukların nütrisyonel durumuna pozitif etkisinin olmadığı ve yaşa göre boy ve kilo değerlerini etkilemediği bulunmuştur [18]. Ülkemizde yapılan bir anket çalışmasında ise kilo ve boy persantillerinin cinsiyet, annenin eğitimi ve sigara kullanımı durumuna göre farklılık göstermediği tespit edilmiştir [19]. Nepal'de annenin doğumdaki yaşı, doğum aralığı, babanın eğitim düzeyi, ailenin sosyoekonomik durumu, biberonla beslenme, emzirmeye başlama zamanı, tek başına anne sütü ile beslenme süresi ve ek gıdaya başlama zamanının 5 yaşın altındaki çocuklarda akut malnutrisyonun belirleyicileri olduğu bildirilmiştir [20]. Anne yaşı ve evdeki çocuk sayısının, hastaların yaşa göre boy z skorları ile negatif yönde ilişkili olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur [21]. Bizim çalışmamızda ise anne ve baba eğitim düzeyleri ve ailenin ortalama aylık geliri ile hastaların kilo ve boy persantilleri arasında ilişki saptanmadı.

Amerika Birleşik Devletleri'nde ırklar arasında belirgin farklılıklar bulunmakla birlikte emzirmeye başlama oranı %75 olarak tespit edilmiştir. Siyah ırkta emzirmeye başlama oranı %58,1 iken Latin Amerikalılarda bu oran %80,6'dı. Benzer şekilde gelir düzeyi ve annenin yaşı ile de emzirme süreleri arasında farklılık tespit edilmiştir. Buna göre 20 yaşından küçük annelerde emzirmeye başlama oranı %59,7 iken, 30 yaşın üzerindeki annelerde bu oran %79,3 olarak bulunmuştur [22]. Bangladeş'te doğumdan sonra anne sütüne başlama oranı %27,5, altı ayın altında tek başına anne sütü ile beslenme ise

%42,5 olarak saptanmıştır. Tek başına anne sütü alma oranları sosyoekonomik durumu ve anne eğitim düzeyi yüksek olanlarda daha düşük bulunmuştur [23]. Ülkemiz verilerine göre doğumdan sonra annelerin yaklaşık %97'sinin emzirmeye başladığı bilinmektedir. Yaşamlarının ilk iki ayında bebeklerin %58'inin sadece anne sütü ile beslendiği ve sadece anne sütü ile beslenme oranının yıllar içinde azaldığı gösterilmiştir. Erkek ve kız bebeklerin ortanca emzirme süreleri farklı olmakla birlikte tüm çocuklar için ortalama emzirilme süresi 16,7 aydır. Hiç emzirimemiş bebek sayısı az olmasına rağmen, yaşamın ilk aylarında çok yoğun biçimde hazır mama kullanıldığı, ilerleyen yaşla birlikte diğer süt çeşitlerinin de verildiği rapor edilmiştir. Türkiye'de emzirmeye başlama yaygın olmasına karşın tek başına anne sütü ile beslenme alışkanlığı arzu edilen seviyede değildir [9, 10]. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ortalama anne sütü alımı süresi 9,31±5,66 ay, ortalama tek başına anne sütü alım süresi ise 4,67±1,91 olarak tespit edilmiş ve kilo persantilleri ile anne sütü alma süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür. Bununla birlikte kilo persantilleri ile, tek başına anne sütü alma, formula alma, tamamlayıcı gıdalara geçiş süreleri arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır [19]. Ülkemizde emzirmeye başlama ve devam oranı endüstrileşmiş toplumlardan daha yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da emzirmeye başlama oranları Türkiye verileri ile benzerken emzirmeye devam yüzdesi daha düşük görülmektedir. TNSA-2008 verilerine göre ise ülkemizde erkek çocuklar, kırsal kesimde ve Orta Anadolu bölgesinde yaşayan çocuklar, ilköğretim birinci kademe eğitimi olan annelerin çocukları ve hane halkı refah düzeyi düşük veya orta olan çocuklar daha uzun emzirilme sürelerine sahiptirler [9]. Dünya Sağlık Örgütü 2005 verilerine göre genç, evli olmayan, eğitim düzeyi düşük ve aylık geliri düşük olan annelerin emzirme oranları daha düşük saptanmıştır [24]. Ülkemizde yapılan bir araştırmada annenin eğitim düzeyi, yaşı ve ailenin gelirinin çocukların tek başına anne sütü ile beslenme süresini etkilemediği bulunmuştur [25]. Bizim çalışmamızda anne yaşı ve annenin eğitim düzeyi ile tek başına anne sütü ile beslenme süresi ve toplam emzirme süresi arasında ilişki bulunmazken, ailenin aylık geliri arttıkça tek başına anne sütü alım süresinin uzadığı tespit edilmiştir. Hastaların tek başına anne sütü alımı süreleri ile kilo ve boy persantillerinin doğru orantılı olduğu ancak toplam anne sütü alım süresi ve ek gıdaya başlama yaşı ile kilo ve boy persantil değerlerinin değişmediği saptanmıştır.

## Sonuç

Sonuç olarak, çocukluk çağında alt solunum yolu enfeksiyonları en sık hastaneye yatış nedenidir ve hastaneye yatış gerektirecek ağırlıktaki enfeksiyonlar çocukların kilo alımının geri kalmasına neden olur. Ülkemizde ve bizim çalışma grubumuzda erkek ve kadın arasındaki eğitime katılım farklılığı halen devam



etmektedir. Ailenin aylık geliri tek başına anne sütü ile beslenme süresi üzerine etkilidir. Ebeveyn eğitim seviyesi, ebeveynlerin yaşı ve ailenin aylık ortalama geliri büyüme parametrelerini etkilemeyebilir ancak tek başına anne sütü alım süresi büyüme parametreleri üzerine etkili faktördür.

### Çıkar çatışması / finansal destek beyanı

Bu yazıdaki hiçbir yazarın herhangi bir çıkar çatışması yoktur. Yazının herhangi bir finansal desteği yoktur.


### Kaynaklar

1. Evliyaoğlu N. Sağlam çocuk izlemi. *Türk Pediatri Arşivi* 2007; 42:6-10
2. Neyzi O, Günöz H, Furman A, et.al. Türk çocuklarında vücut ağırlığı, boy uzunluğu, baş çevresi ve vücut kitle indeksi referans değerleri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2008; 51: 1-14.
3. Oliveira RR, Costa JR. Hospitalization of children under five years of age due to avoidable causes. *Rev. Latino-Am. Enfermagem* 2012; 20:135-42
4. Oliveira BR, Viera CS, Furtado MC, et. al. Profile of morbidity of children hospitalized in a public hospital: implications for nursing. *Rev Bras Enferm* 2012; 65: 586-93.
5. Kösecik M, Cebeci B, Koç A, Tatlı MM. Şanlıurfa'da 5 altı çocukların hastaneye yatırılma ve ölüm nedeleri. *Genel Tıp dergisi* 1998; 8: 37-40
6. Olack B, Burke H, Cosmas L et al. Nutritional status of under-five children living in an informal urban settlement in Nairobi, Kenya. *J Health Popul Nutr* 2011; 29: 357-63.
7. Dewey KG, Mayers DR. Early child growth: how do nutrition and infection interact? *Matern. Child Nutr* 2011; 3:129-42.
8. Kaçar Dilek. Malnütrisyon Tanısı ile 2006-2011 Yılları Arasında Hastanede Yatırılarak Takip ve Tedavi Edilen Beş Yaş Altındaki Hastaların Retrospektif Değerlendirilmesi. *Uzmanlık Tezi, ANKARA: 2012.*
9. Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü (2009). "2008 Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması". Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, Sağlık Bakanlığı Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü, Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı Müsteşarlığı ve TÜBİTAK, Ankara, Türkiye.
10. Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü (2014), "2013 Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması". Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, T.C. Kalkınma Bakanlığı ve TÜBİTAK, Ankara, Türkiye.
11. T.C Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu 2015 Faliyet Raporu: [https://www.saglikaktuel.com/d/file/thsk\\_2015\\_faaliyet\\_raporu.pdf](https://www.saglikaktuel.com/d/file/thsk_2015_faaliyet_raporu.pdf). html 30 Aralık 2018.
12. Türkiye İstatistik Kurumu Verileri 2011. T.C. Türkiye İstatistik Kurumu Başkanlığı 2011, Ankara.
13. Türkiye Aile Yapısı Araştırması 2011. T.C. Aile ve Sosyal Politikalar Bakanlığı Ankara, 2011.
14. Mushtaq MU, Gull S, Khurshid U et.al. Prevalence and socio-demographic correlates of stunting and thinness among Pakistani primary school children. *BMC Public Health* 2011;11: 790.
15. Jesmin A, Yamamoto SS, Malik AA, Haque MA. Prevalence and determinants of chronic malnutrition among preschool children: a cross-sectional study in Dhaka City, Bangladesh. *J Health Popul Nutr* 2011; 29: 494-99.
16. Leal VS, Lira PI, Menezes RC et.al. Factors associated with the decline in stunting among children and adolescents in Pernambuco, Northeastern Brazil. *Rev Saude Publica* 2012; 46: 234-41.
17. Sen P, Bharati S, Som S, Pal M, Bharati P. Growth and nutritional status of preschool children in India: a study of two recent time periods. *Food Nutr Bull* 2011; 32: 84-93.
18. Kamiya Y. Socioeconomic determinants of nutritional status of children in Lao PDR: effects of household and community factors. *J Health Popul Nutr* 2011; 29: 339-48.
19. Akova S, Yazar AS, Güven Ş et.al. Anne sütü alan bebeklerin 0-36 ay arası büyüme ve gelişmelerinin değerlendirilmesi. *Dicle Tıp Dergisi* 2012; 39: 542-46.
20. Pravara NK, Piryani S, Chaurasiya SP et.al. Determinants of severe acute malnutrition among children under 5 years of age in Nepal: a community-based case-control study. *BMJ Open* 2017; 7: e017084.
21. Muhimbula H, Kinabo J, O'Sullivan A. Determinants of infant nutrition status in rural farming households before and after harvest. *Matern Child Nutr*. 2019: e12811.
22. Section on Breastfeeding. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics*. 2012; 129: 827- 41.
23. Mihrshahi S, Kabir I, Roy SK et. al. South Asia Infant Feed-ing Research Network. Determinants of infant and young child feeding practices in Bangladesh: secondary data anal-ysis of Demographic and Health Survey 2004. *Food Nutr Bull* 2010; 31:295-313.
24. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Int. Progress in increasing breastfeeding and reducing racial/ethnic differences - United States, 2000-2008 births. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2013. Available from <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6205a1.htm>.
25. Gün İ, Yılmaz M, Şahin H et. al. Kayseri Melikgazi Eğitim ve Araştırma Bölgesi'nde 0-36 aylık çocuklarda anne sütü alma durumu. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2009; 52: 176-82.

■ Original Article

## Value of tissue Doppler imaging and peak acceleration time in prediction of paroxysmal atrial fibrillation in patients with paroxysmal atrial fibrillation

### *Paroksizmal atriyal fibrilasyonu olan hastalarda paroksizmal atriyal fibrilasyonun öngörülmesinde doku Doppler görüntüleme ve zirve hızlanma süresi*

Fikret KELES<sup>1</sup> , Mustafa CELIK<sup>2\*</sup> , Recep KARATAS<sup>3</sup> , Ahmet ERSECGIN<sup>4</sup> , Ahmet YILMAZ<sup>5</sup> , Nazif AYGUL<sup>6</sup> , Ahmet AVCI<sup>7</sup> 

<sup>1</sup> Department of Cardiology, Elazig Training and Research Hospital, Elazig/TURKEY

<sup>2</sup> Department of Cardiology, Ahi Evran University Training and Research Hospital, Kirsehir/TURKEY

<sup>3</sup> Department of Cardiology, Aksaray University Training and Research Hospital, Aksaray/TURKEY

<sup>4</sup> Department of Cardiology, Çiğli Training Hospital, İzmir/TURKEY

<sup>5</sup> Department of Cardiology, Karaman State Hospital, Karaman/TURKEY

<sup>6</sup> Department of Cardiology, Selcuk University Medical Faculty, Konya/TURKEY

<sup>7</sup> Department of Cardiology, Private Medikal Park Hospital, Bursa/TURKEY

#### ABSTRACT

**Aim:** Atrial fibrillation is the most common arrhythmia in the population and its prevalence increases with age; and also is the most morbid and mortal arrhythmia. Usually the beginning of the persistent atrial fibrillation is recurrent episodes of the paroxysmal atrial fibrillation (PAF). Prediction of the paroxysmal atrial fibrillation can cause prevention of this arrhythmia and thus prevention of the adverse outcomes. We aimed to investigate tissue Doppler imaging (TDI) and peak acceleration time (pkAcc) parameters that can predict the paroxysmal atrial fibrillation in this study.

**Material and Methods:** 20-73 years old (mean 47,5) 50 individuals that are diagnosed with PAF included the patient group. 50 individuals who have the similar baseline demographic characteristics with patient group and who have no persistent or PAF included the control group. Transthoracic echocardiographic (TTE) evaluation is applied all of the control and study groups. Tissue Doppler parameters and pkAcc is measured in TTE and statistical analyses is performed.

**Results:** In TTE evaluation, left atrium ejection fraction is lower in the patient group than the study group (%50,6 vs. %59,2,  $p < 0,001$ ). In TDI evaluation, the average of E/E' which was measured from the anterior, inferior, lateral and septal walls of the left ventricle; is found higher in the patient group compared to the control group (8,17 vs. 7,04;  $p = 0,004$ ). When two groups are compared in terms of pkAcc, it was found that patient group is higher, but this difference did not reach the statistical significance (1063 vs. 994,  $p = 0,14$ ).

**Conclusions:** TDI evaluation can play an important role in prediction of paroxysmal atrial fibrillation.

**Keywords:** paroxysmal atrial fibrillation, transthoracic echocardiography, diagnostic imaging

Correspondence Author\*: Mustafa Celik, Department of Cardiology, Ahi Evran University Training and Research Hospital, Kirsehir/TURKEY

E-mail: muscelik50@gmail.com

ORCID: 0003-4102-1564

Received: 04.09.2019 Accepted : 12.02.2020

Doi: 10.18663/tjcl.615645

## ÖZ

**Amaç:** Atriyal fibrilasyon, popülasyonda en sık görülen aritmidir ve prevalansı yaşla artar ayrıca en sık rastlanılan morbidite ve mortalite oluşturan aritmidir. Genellikle persistan atriyal fibrilasyonun başlangıcı paroksizmal atriyal fibrilasyonun (PAF) tekrarlayan bölümleridir. Paroksizmal atriyal fibrilasyonun öngörülmesi, bu aritminin önlenmesine ve dolayısıyla olumsuz sonuçların önlenmesine neden olabilir. Bu çalışmada paroksizmal atriyal fibrilasyonu öngörebilecek doku Doppler görüntüleme (TDI) ve pik hızlanma süresi (pkAcc) parametrelerini araştırmayı amaçladık.

**Gereç ve Yönetimler:** 20-73 yaşları arasında (ortalama 47,5) PAF tanısı almış 50 kişi ile hasta grubu oluşturuldu.. Hasta grubu ile benzer temel demografik özelliklere sahip olan ve persistan veya PAF bulunmayan 50 kişi ile kontrol grubu oluşturuldu. Tüm kontrol ve çalışma gruplarına transtorasik ekokardiyografik (TTE) değerlendirme yapıldı. Doku Doppler parametreleri ve pkAcc TTE'de ölçüldü ve istatistiksel analizler yapıldı.

**Bulgular:** TTE değerlendirmesinde, hasta grubunda sol atriyum ejeksiyon fraksiyonu çalışma grubundan daha düşüktü (% 50,6 vs.% 59,2, p <0,001). TDI değerlendirmesinde, sol ventrikülün anterior, inferior, lateral ve septal duvarlarından ölçülen E / E 'nin ortalaması; Hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu (8,17 ve 7,04; p = 0,004). İki grup pkAcc açısından karşılaştırıldığında, hasta grubunun daha yüksek olduğu bulundu ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (1063'e karşı 994, p = 0,14).

**Sonuç:** TDI değerlendirmesi paroksizmal atriyal fibrilasyonun öngörülmesinde önemli bir rol oynayabilir.

**Anahtar kelimeler:** zirve hızlanma süresi; paroksizmal atriyal fibrilasyon; doku Doppler görüntüleme

## Introduction

Atrial fibrillation is the most common arrhythmia worldwide and related with increased negative outcomes such as increased cerebrovascular accident rate, heart failure and all-cause mortality [1]. Paroxysmal atrial fibrillation is defined as atrial fibrillation that can relapse from time to time and always terminate in 7 days (usually in 24 hours) spontaneously or by intervention [2,3]. Patients with paroxysmal AF have the same risk of cerebrovascular accident compared to patients with persistent or permanent AF, therefore it is important that patients with paroxysmal AF must be treated properly as patients with permanent or persistent AF [4]. Tissue Doppler imaging (TDI) is widely used today and has been studied in many cardiac pathologies [5]. MYocardial Doppler In Stress Echocardiography (MYDISE) study showed that TDI velocities are predictors of angiographic illness [6]. The ratio of "E" wave velocity, which is measured from mitral inflow by conventional PW Doppler method, to "E'" velocity measured by TDI method is strongly correlated [7]. Assessment of atrial functions by conventional echocardiography has not been thoroughly investigated and is worth investigating. Modesto et al. have shown that strain parameters may be useful in assessing atrial functions in amyloidosis [8]. In a study in which patients with non-valvular AF detected and cardioversion performed were followed for 1 year, a strong correlation was found between sinus rhythm administration and peak "A" velocity after cardioversio[9].

However, a study of tissue Doppler and peak acceleration time in the presence of paroxysmal atrial fibrillation is not available in the literature.

## Materials and methods

### Study Population

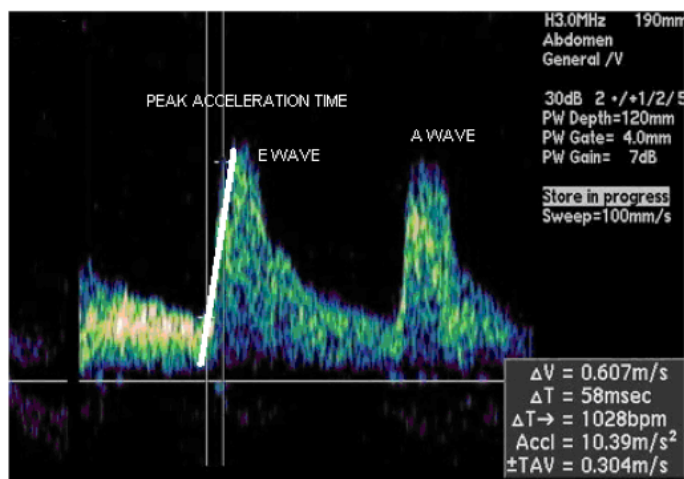
From June 2013 to December 2014, 50 consecutive adult patients (20-73 years old) with PAF who referred to Cardiology Clinic were enrolled. Fifty individuals who had similar demographic characteristics with patient group and who were found to have no persisting AF or PAF were included in the control group. Paroxysmal atrial fibrillation was defined as AF detected with a 12-lead ECG or rhythm holter monitorization, and with a short duration of 7 days. All patients had a 12-lead surface ECG. Patients' thyroid function tests were evaluated by routine biochemical methods. Exclusion criteria were left ventricular systolic dysfunction (LVEF <40%), presence of any valve disease, congenital heart disease, coronary artery disease, any abnormality in surface ECG during echocardiography, cardiomyopathy, permanent pacemaker, severe pulmonary disease, thyroid disease, chronic renal insufficiency (GFR <30 ml / min), acute coronary syndrome or cerebrovascular event in the last three months, use of class I or class III antiarrhythmic drugs.

### Transthoracic echocardiographic evaluation:

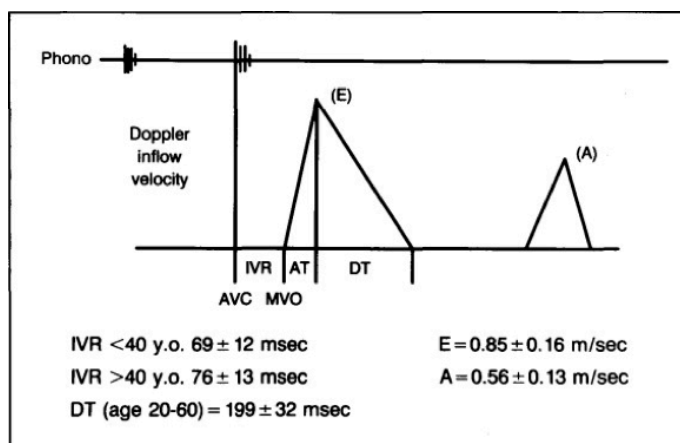
All patients were evaluated in terms of valve structure and functions, left ventricular structure and functions, aortic and

left atrial dimensions, volume, and tissue Doppler parameters using a VIVID E9-GA000940 digital ultrasound device (Vingmed Ultrasound, GE).

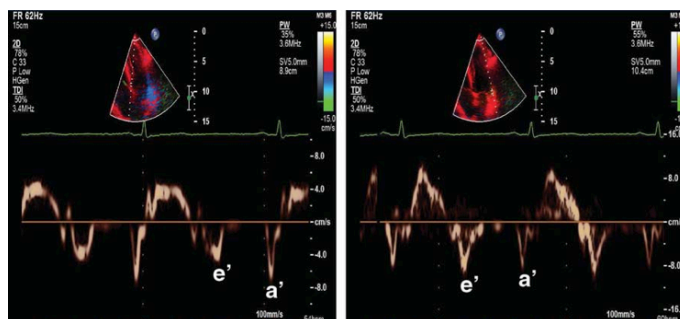
TTE was performed in the left lateral decubitus position while all the patients were in sinus rhythm by connecting ECG. The left ventricular ejection fraction (EF) of the patients was separately calculated by the modified Simpson method from the apical-4 chamber and the apical-2 chamber views and analyzed by taking the mean values. Left atrial volume was measured by modified Simpson method from apical-5 chamber and apical-2 chamber views. The electromechanical synchronization of the pulmonary artery and aorta was measured from the beginning of the QRS complex on the ECG to the end of the record-time ejection time with PW-Doppler. Pulmonary artery and aorta ejection times were measured. The cardiac output (CO) value of all patients was measured using the PW-Doppler technique from the left ventricular outflow tract. Measurements related to E wave and A wave were made by PW-Doppler on mitral inflow. The peak acceleration time (pkAcc) was measured from the slope from the beginning of the mitral E wave until peak time (**Figure 1**), (**Figure 2**). Averages of 5 consecutive waves were taken to minimize the error probability in the measurements. PW-Doppler recordings were taken and measurements were made from pulmonary vein. Tissue Doppler recording was taken from all myocardial basal segments and relationship between paroxysmal atrial fibrillation and these data was evaluated (**Figure 3**).



**Figure-1.** Measurement of pkAcc on Mitral E wave by PW-Doppler



**Figure-2.** Normal values of PW-Doppler mitral inflow velocities



**Figure-3.** Mitral septal and lateral e' and a' waves from a patient's tissue-Doppler imaging (TDI)

**Statistical analysis:**

While the findings obtained in the study were evaluated, SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois) program was used for statistical analysis. Student's t-test was used for comparison between two groups of normal distribution parameters, Mann-Whitney U test was used for comparison of two groups of non-normal distribution parameters in descriptive statistical methods (mean, standard deviation, frequency) as well as quantitative data. The results were evaluated in a confidence interval of 95% and a significance level of p <0.05.

**Results:**

Subjects on study were divided into two groups as patients with or without paroxysmal atrial fibrillation.

**Demographic and clinical features:**

The mean age, gender, height, weight, body mass index (BMI), HT, DM, smoking, cardiac drugs used (beta-blocker, ACE-inhibitors, ARB, CCB) were similar when baseline demographic characteristics of both groups were evaluated. There was no statistically significant difference between serum urea, creatinine, sodium, potassium, total cholesterol, triglyceride, HDL, LDL, WBC, Hemoglobin, TSH, ft3 and ft4 values in the groups (**table-1**)

**Table-1.** Baseline demographic characteristics of the groups

	Patient (n=50)	Control (n=50)	P value
Height (cm)	167	166	0,92
Weight (kg)	79,6	77,7	0,75
BMI	28,3	28,2	0,94
Age (years)	46,3	44,2	0,80
Female/male	23/27	27/23	0,64
Hipertension	17	14	0,42
Diabetes	9	8	0,79
Smoking	12	11	0,37
Beta-bloker	16	12	0,79
ACE-i+ARB	11	9	0,21
CCB	8	4	0,17
Urea(mg/dL)	26,5	24,9	0,08
Creatinine(mg/dL)	0,83	0,8	0,27
Sodium(mEq/L)	139,4	139,6	0,72
Potassium(mEq/L)	4,23	4,32	0,24
Total cholesterol(mg/dL)	190	187	0,70
Triglyceride(mg/dL)	163	150	0,35
HDL cholesterol(mg/dL)	38,7	41,9	0,06
LDL cholesterol(mg/dL)	118	114	0,53
WBC(x1000/uL)	8,33	8,28	0,91
Hemoglobin(g/dL)	14,0	13,5	0,06
TSH(uIU/mL)	1,81	2,09	0,11
fT3(uIU/mL)	2,68	2,67	0,88
fT4(uIU/mL)	1,41	1,49	0,22

BMI: body mass index, ACE-i: angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ARB: angiotensin receptor blocker, CCB: calcium channel blocker, HDL: high-density lipoprotein, LDL: low density lipoprotein, WBC: White blood cell, TSH: thyroid-stimulating hormone, fT3: free triiodothyronine, fT4: free thyroxine

### Echocardiographic features:

Detailed transthoracic evaluation was performed by connecting ECG to all individuals in the patient and control group. When the echocardiographic characteristics of the two groups were compared, the left ventricular end-diastolic and end-systolic diameters were similar ( $p=0,76$ ). Interventricular septum and posterior wall thicknesses were significantly higher in the patient group ( $p=0,007$  and  $p=0,016$ , respectively). Therefore, the left ventricular mass was also higher in the patient group, but this difference was not statistically significant (179.9-163.5 gr,  $p = 0.06$ ). There was no difference between the groups in terms of ejection fraction and fractional shortening (65.8-65.1%,  $p = 0.48$  and 36.3-35.8%,  $p = 0.48$ , in the patient and control groups, respectively). Left atrial end-diastolic volume was significantly higher in the patient group (41.8-

36.4 mL,  $p = 0.003$ ). Similarly, left atrial end-systolic volume was significantly higher in the patient group (20.3-14.5 mL,  $p < 0.001$ ). Ejection time measured by PW-Doppler from the left ventricular outflow tract was similar in both groups (292 ms in the patient group, 287 ms in the control group,  $p = 0.41$ ). Although the stroke volume was higher in the patient group, this difference was not statistically significant (85.3-77.7 mL,  $p = 0.051$ ). The mean heart rate was similar in both groups (72.9 in the patient group, 74.5 in the control group,  $p = 0.45$ ). Although the cardiac output was higher in the patient group, this difference was not statistically significant (6,18-5,76 L / min;  $p = 0,12$ ). In PW-Doppler recordings from the mitral inflow, the ratio of diastolic mitral "E" wave velocity to "A" wave velocity was higher in the control group (1,18-1,04;  $p = 0,03$ ). When both groups were compared in terms of peak acceleration time (pkAcc), it was found that the patient group was higher but this difference did not reach statistical significance (1063-994,  $p = 0,14$ ). The deceleration time (DT) of the mitral "E" wave was similar in both groups (**table-2**).

**Table-2.** Comparison of echocardiographic parameters in patient and control groups

	Patient group (n=50)	Control group(n=50)	P value
LVEDD (mm)	48,1	47,5	0,45
LVESD (mm)	30,6	30,4	0,76
IVS wall thickness (mm)	9,6	9,0	0,007
PW thickness (mm)	9,0	8,4	0,016
Left ventricle mass (gr)	179,9	163,5	0,06
Ejection fraction (%)	65,8	65,1	0,48
Fractional shortening (%)	36,3	35,8	0,48
Left atrial end-diastolic volume (mL)	41,8	36,4	0,003
Left atrial end-systolic volume (mL)	20,3	14,5	<0,001
Aortic diameter (cm)	2,88	2,73	0,01
LVOT diameter (cm)	2,26	2,17	0,026
LVOT ejection time (msn)	292	287	0,41
Stroke volume (mL)	85,3	77,7	0,051
Heart rate (/dk)	72,9	74,5	0,45
Cardiac output (L/dk)	6,18	5,76	0,12
E/A ratio	1,04	1,18	0,03
pkAcc	1063	994	0,14
E deceleration time (msn)	166,6	166,9	0,95

LVEDD: left ventricle end-diastolic diameter, LVESD: left ventricle end-systolic diameter, IVS: interventricular septum, PW: posterior wall, LVOT: left ventricular outflow tract, pkAcc: peak acceleration time

The ratio of the mitral "E" wave to the E' wave from the basal segment of the left ventricular anterior wall was higher in the patient group than in the control group (8,83-7,52; p = 0,014) by the tissue Doppler imaging (TDI) method. Similarly, although the E/E' ratio from the basal segment of the lateral wall was higher in the patient group, but this difference was not statistically significant (6,98- 6,50; p = 0,18). The E/E' ratio of the inferior septum basal segment was also higher in the patient group (8,68-7,77; p = 0,02). The E/E' ratio from the inferior wall basal segment was also higher in the patient group (8,17-6,36; p <0,001). There was no statistically significant difference between the two groups (5.84-5.65, p = 0.53) in the tricuspid lateral annulus E/E' ratio. When the averages of E/E' values obtained from all these segments were compared, it was found that they were significantly higher in the patient group (7,70-6,76; p = 0,007) (**table-3**).

**Table 3.** Comparison of TDI parameters in patient and control groups

	Patient group (n=50)	Control group (n=50)	P value
E/E' ratio (anterior)	8,83	7,52	0,014
E/E' ratio (lateral)	6,98	6,50	0,18
E/E' ratio (septal)	8,68	7,77	0,02
E/E' ratio (inferior)	8,17	6,36	<0,001
E/E' ratio (tricuspid)	5,84	5,65	0,53
E/E' ratio (left ventricle average)	8,17	7,04	0,004

In our study, left atrial end-diastolic and end-systolic volumes were significantly higher in patients with paroxysmal atrial fibrillation than in the control group (41.4 mL versus 36.4 mL, p = 0.003 and 20.3 mL versus 14.5 mL, P<0.001; respectively). Left atrial ejection fraction was also significantly lower in the patient group (50.6% versus 59.2%, p <0.001). As known, diastolic dysfunction increases left ventricular filling pressures and left atrial pressure. Also it is known that pressure increase in the left atrium plays a role in the pathogenesis of atrial fibrillation.

Although mean E/A ratio was in the normal range in both groups, it was higher in control group. This may be due to a greater number of patients with stage-1 diastolic dysfunction in the patient group than in the control group. E/E' ratio was significantly higher in the anterior wall, inferior septum, and inferior wall of the patient group, while it was not statistically significant in the lateral wall, but higher in the patient group. The mean E/E' ratio of all segments was also significantly higher in the patient group. PkAcc value was found higher in the patient group than in the control group, but this difference was not statistically significant.

## Discussion

Atrial fibrillation is the most common arrhythmia and causes the most morbidity and mortality, with an increasing prevalence with age. In addition, atrial fibrillation leads to heart failure and worsens existing heart failure. In a post-hoc analysis of the AFFIRM trial, patients with atrial fibrillation and heart failure (HF-PEF: heart failure with preserved ejection fraction, SHF: systolic heart failure) were followed; and lower mortality rates were found in the HF-PEF group with high morbidity rates in both groups [10]. According to the results of this study, AF and heart failure are diseases that can cause and worsen each other. In a patient with AF, left atrial pressures increase with time, followed by increased left ventricular end-diastolic pressures, eventually resulting in left ventricular diastolic dysfunction. This results in systolic or diastolic failure in the left ventricle over time. In a patient with heart failure, left ventricular filling pressures are increased, resulting in increased left atrial pressure and ultimately the ground for AF development.

Similarly, according to CHARM trial, major cardiovascular end points in patients with atrial fibrillation was higher both in the heart failure patients with low ejection fraction and preserved ejection fraction compared to patients with sinus rhythm [11]. In patients with AF, this study has shown that diastolic failure, which is often ignored, increases morbidity and mortality as well as systolic failure. Left ventricular diastolic failure is a recently developed entity, which is as morbid and mortal as systolic failure. However, it is often neglected by clinicians because of the lack of clear diagnostic criteria and the lack of effective treatment. Especially in AF patients, diastolic functions are often ignored because of limited measurement methods. In another study, the presence of atrial fibrillation in patients with heart failure with preserved ejection fraction further worsened left ventricular diastolic function; and increased hospitalization and mortality [12].

Paroxysmal atrial fibrillation should be diagnosed and treated in the same way as it is similar to persistent or permanent atrial fibrillation in terms of morbidity and mortality. Because of its importance, clinicians have done many studies to estimate it and its negative consequences. With the application of the tissue Doppler technique, the clinicians have investigated various tissue Doppler parameters in order to predict atrial fibrillation, left ventricular diastolic functions, left ventricular filling pressures and left atrial pressures. Ahmed Salah et al. [13] found that left atrial dyssynchrony measured by tissue Doppler in patients undergoing pulmonary vein isolation, was associated with subsequent atrial fibrillation recurrence. Investigators have found that patients with electromechanic dyssynchrony of 25 ms or more have a greater risk of AF recurrence and that this parameter can be measured before pulmonary vein isolation to determine which patients will benefit from the procedure.

In a retrospective study involving 840 patients over 65 years of age and greater left atrial volume, the risk of developing non-valvular atrial fibrillation was higher in patients with left ventricular diastolic dysfunction than in those without diastolic dysfunction [14]. This study is important in terms of supporting the theoretical information that left ventricular diastolic dysfunction and increased left atrial volume increase the left ventricular filling pressure, thus increase left atrial pressure and increase the risk of atrial fibrillation. However, this study was retrospective and the risk factors for atrial fibrillation such as hypertension, coronary artery disease and congestive heart failure were significantly higher in the group with atrial fibrillation. This may affect left atrial volume differences between groups. In our study, left atrial volumes were found more in the patient group and left atrial ejection fraction was found to be lower (50.6% versus 59.2%,  $p < 0.001$ ). In our study, coronary artery disease and congestive heart failure were excluded, hypertension was similar in both groups. We also found that there was no statistical difference in left ventricular end-diastolic diameter, end-systolic diameter, left ventricular mass, left ventricular ejection fraction, and fractional shortening between the two groups; and so a fairly homogeneous distribution of groups and difference between left atrial volumes and ejection fractions is significant. Again, only E/A ratio and mitral E deceleration-time were used to investigate diastolic functions in this study. This is why the study of echocardiographic data between 1990 and 1998 is limited and thus the parameters used to study diastolic functions are limited. In our study, tissue Doppler was used which gave very important information about diastolic functions.

In a publication in 2008, among the parameters that can be used to evaluate left ventricular diastolic function and left ventricular filling pressures in patients with atrial fibrillation; mitral "E" deceleration time, E/E' ratio, E' wave, E wave, E/Vp (ratio of mitral E wave to rate of flow propagation with color M-mode), PV-DT (deceleration time of diastolic pulmonary venous flow with PW-Doppler), diastolic pulmonary venous flow velocity, pkAcc (peak acceleration time), IVRT (Isovolumic relaxation time), IVRT/T E/E' (ratio of isovolumic relaxation time to the time from the beginning of the mitral E wave to the beginning of the E' wave) are accepted [15]. Again in 2009, the same parameters were proposed in the Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography, jointly published by the European Society of Echocardiography and the American Society of Echocardiography [16]. In a study of left atrial ejection fraction for first atrial fibrillation or flutter detection in people over 65 years of age; the left atrial ejection fraction was found to be highly correlated with atrial fibrillation development independent of left atrial volume, left ventricular function, and clinical risk factors [17]. In our study, the left atrial diastolic and systolic volumes were higher and the ejection fraction was lower in the patient group.

Raoul Stahrenberg et al. [18] performed a transthoracic echocardiography in patients with cerebral ischemia who had sinus rhythm during admission and were examined for paroxysmal atrial fibrillation with a 7-day rhythm holter. As a result, it was determined that the low ratio of left atrial volume index (ratio of left atrial volume to body surface area) to septal and lateral tissue Doppler A' wave may exclude paroxysmal atrial fibrillation. Sherif F. Nagueh et al. [19] have used Doppler echocardiography parameters to detect left ventricular filling pressure in patients with atrial fibrillation; and a formula was developed using peak acceleration time (pkAcc) and IVRT (isovolumic relaxation time). In our study, pkAcc was one of the parameters examined. Although there was a significant correlation between peak acceleration time (pkAcc) and mitral E/E', there was no significant difference between groups in terms of pkAcc.

In a study conducted in 2006, it was shown that E/E' ratio in patients with non-valvular atrial fibrillation is associated with survival and clinical outcomes [20]. In our study, there was a significant relationship between E/E' ratio and paroxysmal atrial fibrillation. If the E/E' ratio is below 8, it is consistent with normal left ventricular end-diastolic pressure; and if it is above 15, it is consistent with increased left ventricular end-diastolic pressure. Values between 8-15 are gray area and there is a wide range of diastolic function. In our study, the mean E/E' value of the patient group was 8.17; while the control group had 7.04. According to this, the left ventricular end-diastolic pressure of the control group was normal, but it remained outside the normal limits in the patient group. This demonstrates that this parameter, which shows diastolic functions, can also be used to predict paroxysmal atrial fibrillation. Although pkAcc was higher in the patient group, this difference did not reach statistical significance. This may be due to the fact that the study population is relatively small.

### Limitations:

The difference in pkAcc between groups did not reach statistical significance. This can happen for a variety of reasons. One of these is that the study population is relatively small. Again, although there was a significant difference in E/E' between groups, cut-off value could not be determined by ROC analysis for E/E' values. This limits use of this parameter.

### Conclusions:

The E/E' parameter used for predicting diastolic functions can also be used as a rapid, non-invasive and economical method for predicting paroxysmal atrial fibrillation in people with sinus rhythm. For this purpose, there is need for larger, randomized controlled studies in order to determine its use.

Informed consent was obtained from all the patients in the study.

**Conflict of interest:** Fikret Keles, Mustafa Çelik, Recep Karatas,

Ahmet Ersecgin, Ahmet Yılmaz, Nazif Aygül, Ahmet Avcı declare that they have no conflict of interest.

### Figure Legends

**Figure-1:** Measurement of pkAcc on Mitral E wave by PW-Doppler

**Figure-2:** Normal values of PW-Doppler mitral inflow velocities

**Figure-3:** Mitral septal and lateral e' and a' waves from a patient's tissue-Doppler imaging (TDI)

### References

1. Risk Factors for Stroke and Efficacy of Antithrombotic Therapy in Atrial Fibrillation: Analysis of Pooled Data From Five Randomized Controlled Trials. *Arch Intern Med.* 1994;154(13):1449–1457. doi:10.1001/archinte.1994.00420130036007
2. Halperin JL, Hart RG. Atrial fibrillation and stroke: new ideas, persisting dilemmas. *Stroke* 1988; 19: 937.
3. Craig T. January, L. Samuel W, et al. 2014 AHA/ACC/HRS Guideline for the Management of Patients With Atrial Fibrillation: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society, *JACC VOL. 64, NO. 21, 2014 January, 2014:2246 – 80*
4. European Heart Rhythm Association (EHRA), European Cardiac Arrhythmia Society (ECAS), American College of Cardiology (ACC), et al. HRS/EHRA/ECAS expert Consensus Statement on catheter and surgical ablation of atrial fibrillation: recommendations for personnel, policy, procedures and follow-up. A report of the Heart Rhythm Society (HRS) Task Force on catheter and surgical ablation of atrial fibrillation. *Heart Rhythm* 2007; 4:816.
5. Miyatake K, Yamagishi M, Tanaka N, et al. New method for evaluating left ventricular wall motion by color-coded tissue Doppler imaging: in vitro and in vivo studies. *J Am Coll Cardiol.* 1995; 25: 717–724.
6. Madler CF, Payne N, Wilkeshoff U, et al. Non-invasive diagnosis of coronary artery disease by quantitative stress echocardiography: Optimal diagnostic models using off-line tissue Doppler in the MYDISE study. *Eur Heart J.* 2003; 24: 1584–1594.
7. Ommen SR, Nishimura RA, Appleton CP, et al. Clinical utility of Doppler echocardiography and tissue Doppler imaging in the estimation of left ventricular filling pressures: a comparative simultaneous Doppler-catheterization study. *Circulation.* 2000; 102: 1788–1794.
8. Modesto KM, Dispenzieri A, Cauduro SA, et al. Left atrial myopathy in cardiac amyloidosis: implications of novel echocardiographic techniques. *Eur Heart J.* 2005; 26: 173–179.
9. A. V. Mattioli, D Vivoli and E Bastia. Doppler echocardiographic parameters predictive of recurrence of atrial fibrillation of different etiologic origins. *JUM* October 1, 1997 vol. 16 no. 10 695-698
10. Apurva O. Badheka, Ankit Rathod, Mohammad A. Kizilbash, et al. Comparison of Mortality and Morbidity in Patients With Atrial Fibrillation and Heart Failure With Preserved Versus Decreased Left Ventricular Ejection Fraction. (*Am J Cardiol* 2011;108:1283–1288)
11. Olsson G. L., Swedberg K, Ducharme A, et al. Atrial Fibrillation and Risk of Clinical Events in Chronic Heart Failure With and Without Left Ventricular Systolic Dysfunction. (*J Am Coll Cardiol* 2006;47: 1997–2004)
12. Jeffrey W.H. Fung, John e. Sanderson, Gabriel W.K. Yip, Qing Zhang, Cheuk M. YU. Impact of Atrial Fibrillation in Heart Failure With Normal Ejection Fraction: A Clinical and Echocardiographic Study. (*J Cardiac Fail* 2007;13:649e655)
13. Ahmed Salah, Hui Yang, Liang Tang, Xuping Li, Qiming Liu, Shenghua Zhou. Left atrial dyssynchrony time measured by tissue Doppler imaging to predict atrial fibrillation recurrences after pulmonary vein isolation. (*Anatolian J Cardiol* 2015; 15: 115-22)
14. Teresa S. M. Tsang, Bernard J. Gersh, Christopher P. Appleton, et al. Left Ventricular Diastolic Dysfunction as a Predictor of the First Diagnosed Nonvalvular Atrial Fibrillation in 840 Elderly Men and Women. (*J Am Coll Cardiol* 2002;40: 1636–44)
15. Malik A. Al-Omari, Joshua Finstuen, Christopher P. et al. Echocardiographic Assessment of Left Ventricular Diastolic Function and Filling Pressure in Atrial Fibrillation. (*Am J Cardiol* 2008;101:1759 –1765)
16. Sherif F. Nagueh, Christopher P. Appleton, et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography. *Journal of the American Society of Echocardiography* 22 (2):107–133, February 2009
17. Walter P. Abhayaratna, Kaniz Fatema, Marion E. Barnes, et al. Left Atrial Reservoir Function as a Potent Marker for First Atrial Fibrillation or Flutter in Persons >65 Years of Age. (*Am J Cardiol* 2008;101:1626 –1629)
18. Stahrenberg R, Edelmann F, Haase B, et al. Transthoracic Echocardiography to Rule Out Paroxysmal Atrial Fibrillation as a Cause of Stroke or Transient Ischemic Attack. (*Stroke.* 2011;42:3643-3645.)
19. Sherif F. Nagueh, Helen A. Kopelen, Miguel A. Quinones. Assessment of Left Ventricular Filling Pressures by Doppler in the Presence of Atrial Fibrillation. *Circulation.* 1996; 94: 2138–2145 doi: 10.1161/01.CIR.94.9.2138
20. H Okura, Y Takada, T Kubo, et al. Tissue Doppler-derived index of left ventricular filling pressure, E/E', predicts survival of patients with nonvalvular atrial fibrillation. *Heart* 2006;92:1248–1252. doi: 10.1136/hrt.2005.



■ Derleme

## Çocuklarda akut periodontal hastalıkların teşhis ve tedavisi

### *Diagnosis and treatment of acute periodontal diseases in children*

Aycan DAL<sup>1\*</sup> , Şafak Necati DÖNERTAŞ<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı, Ankara/TÜRKİYE

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı, Ankara/TÜRKİYE

#### Öz

Periodontal hastalıklar ve diş çürükleri oral kavitede karşılaştığımız iki ana hastalıktır. Bu hastalıklar her yaşta bireylerde görülebildiği gibi diş kayıplarının da temel iki nedeni olarak kabul edilir. Pedodonti kliniğine dişetleri ile ilgili akut şikayetlerle gelen pek çok hastayla karşılaşmaktadır. Karşılaşılan bu akut problemlerle ilgili bilgi sahibi olmak, klinik durumu tanımlayabilmek ve hastaya doğru medikal veya cerrahi tedaviyi uygulamak büyük önem taşımaktadır. Bu makale çocuk ve genç hastalarda sıklıkla karşılaşılan akut periodontal hastalıkların teşhis ve tedavilerini içeren klinik yaklaşımlara dikkat çekmektedir.

**Anahtar kelimeler:** akut; periodontal hastalıklar; teşhis; tedavi

#### Abstract

Periodontal diseases and dental caries are the two main diseases we encounter in the oral cavity. These diseases can be seen in individuals of all ages and are considered as the two main causes of tooth loss. There are many patients who come to the pediatric clinic with acute complaints in the gums. It is of great importance to have knowledge about these acute problems, to define the clinical situation and to apply medical or surgical treatment to the patient. This article draws attention to clinical approaches that include the diagnosis and treatment of acute periodontal diseases, which are frequently encountered in children and young patients.

**Keywords:** acute; periodontal diseases; diagnosis; treatment

Sorumlu yazar\*: Aycan Dal, Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı, Ankara/TÜRKİYE

E-posta: aycandal@outlook.com

ORCID: 0000-0002-5876-4586

Gönderim: 28.06.2019 Kabul: 29.07.2019

Doi: 10.18663/tjcl.584171

## Giriş

Akut periodontal hastalıklar her yaştan bireylerde görülmekle beraber çocuklarda sıklıkla karşımıza çıkan bir durumdur. Tedavisinde doğru tanı ve teşhis önemli yer tutmaktadır.

### Primer Herpetik Gingivostomatit

Primer herpetik gingivostomatit, Herpes Simpleks Virüs Tip 1 tarafından oral kavitede enfeksiyona neden olan bir hastalıktır. Genellikle 6 yaşından küçük çocuklar ve infantlarda görülür fakat adölesanlarda ve yetişkinlerde de görülebilir. Çoğu vakada hastalığın primer enfeksiyonu asemptomatiktir [1].

Primer herpetik gingivostomatitte virüs, nöral gangliyonlarda latent olarak kalır. Dünya popülasyonunun yaklaşık olarak 1/3 'ünde sekonder form görülür. Bu sekonder form herpes labialis, herpetik stomatitis, herpes genital, oküler herpes ve herpetik ensefaliti de içerir. Sekonder herpetik stomatit; damakta, gingivada veya mukozada dental tedavi esnasında meydana gelen travmalar veya latent virüsün içinde bulunduğu gangliyonun inerve ettiği bölgenin stimülasyonu sonucu meydana gelebilir. Karakteristik veziküller tanı için önemlidir [1].

Primer herpetik gingivostomatitte oral mukoza diffüz, eritematöz, parlak tutulumlu bir gingiva ve çeşitli derecelerde ödemli ve kanamalı görünümdeydir. Başlangıç aşaması boyunca gingivada, labial ve bukkal mukozada, yumuşak damakta, farinkste, sublingual mukozada ve dilde oluşan farklı boyutlardaki gri veziküllerle karakterizedir. Yaklaşık 24 saat sonra veziküller rüptüre olur ve ağrılı küçük ülserler, kırmızı marjinler ve sarımsak veya gri-beyaz santral kısımlı alanlar meydana gelir. Bu bulgular birbirinden ayrı geniş alanlar şeklinde veya birleşmiş kümecikler şeklinde görülebilir [1].

Herpes simpleks virüsle primer enfeksiyon sonrası akut herpetik gingivostomatit meydana gelir ve oral enfeksiyon sistemik semptomlarla beraber görülür. 7-10 gün boyunca devam eder ve skar bırakmadan iyileşir [2]. Amir ve diğerleri [3]'nin yaptığı çift kör, randomize, plasebo kontrollü çalışmada 15mg/kg asiklovir süspansiyonu günde 5 kez, 7 gün boyunca antiviral terapi olarak uygulanmıştır ve semptomların azaldığı görülmüştür.

Eğer primer herpetik gingivostomatit 3 gün içinde tanımlanabilirse asiklovir süspansiyonu reçete edilmelidir = 15 mg/kg, günde 5 kez, 7 gün boyunca. Eğer diagnoz 3 günün sonunda immün sistemi düşmüş bir hastaya konuyorsa, asiklovir tedavisi limitli değerlere indirgenmelidir. 3 gün sonra tanı konmuş hastalar da dahil olmak üzere tüm hastalara palyatif tedavi ve plak ve yiyeceklerden arta kalan debrislerin uzaklaştırılması işlemleri uygulanmalıdır. Ateşi ve ağrıyı azaltması için NSAİ ilaç (örn; ibuprofen) sistemik olarak verilebilir. Hastalar ayrıca beslenme öncesinde besin takviyesi ve topikal anestetikleri

(örn; visköz lidokain) kullanabilirler. Özellikle primer herpetik gingivostomatitin erken safhalarında periodontal tedavi, akut semptomlar geçene kadar ertelenmelidir [2].

### Akut Nekrotizan Ülseratif Gingivitis

Akut nekrotizan ülseratif gingivitis (ANUG), konak yanıtında bozulma sonucu gingivada oluşan mikrobiyal bir hastalıktır. Bu hastalık nekroz ve gingival dokuda soyulma ile karakterizedir. ANUG genellikle tedaviye gerek duyulmadan azalan bir şiddetle geçirilir. Subakut form denilen bu formda hafif klinik semptomlar gözlenir. Bu semptomlar tek bir diş, bir grup diş veya tüm ağızla ilişkili olabilir [1].

Karakteristik lezyonları, interdental papil kretinde delikli krater tarzındaki depresyon alanları şeklindedir. Çoğunlukla marjinal gingiva etkilenir. Yapışık dişeti ve oral mukoza daha az oranda etkilenmiştir. Dişetindeki krater tarzı lezyonların yüzeyi gri pseudomembranlarla çevrelenmiştir ve bu pseudomembranlar belirgin bir lineer eritemle geri kalan gingival mukozadan ayrılır. Bazı vakalarda lezyonlar, pseudomembran yüzeyinden soyulur ve ekspoze olan gingiva kırmızı, parlak, hemorajik bir şekilde açığa çıkar. Bu karakteristik lezyonlar gingivayı ve altındaki periodontal dokuları şiddetli bir harabiyete uğratar. Spontan dişeti kanaması veya hafif stimülasyonla meydana gelen belirgin kanama da karakteristik klinik bulgulardandır. Diğer bulgular ise sıklıkla kötü ağız kokusu ve artmış salivasyondur [1].

Plaut ve Vincent 1890'lı yıllarda bu hastalığın fusiform-spiroket özelliğini keşfetmişlerdir. Hastalığın tanımına dair yaptığı katkılardan dolayı ANUG, Vincent enfeksiyonu olarak bilinmekteydi [4].

İmmün sistem fonksiyonu değişiklikleri ANUG'ta predispozan faktördür. Dennison ve diğerleri [5] AIDS hastası olanlarda daha yüksek ANUG insidansı olduğunu bildirmiştir.

Barnes ve diğerlerinin [7] yaptığı çalışma sonucunda ağızda en çok etkilenen alanın mandibulanın ön tarafı, en az etkilenen alanın ise molarlar bölgesi olduğu görülmüştür. Ayrıca ANUG'un genç erişkinlerde görülen bir rahatsızlık olduğu, kötü oral hijyen ve diş taşının hastalığın oluşumunda ve artışında etkili olduğu belirlenmiştir.

### ANUG tedavisinde:

**1. seans:** İlk seansta tedavi akut alanlarla sınırlandırılır. Pamuk rulolarla izole edilip kurutulan akut ve ağrılı bölgelere topikal anestetik uygulanır, 2-3 dakika sonra bu bölgeler nemlendirilmiş bir pamuk peletle nazikçe silinir, pseudomembranlar ve non-atake yüzey debrisleri uzaklaştırılır. Kanama çok fazla olabilir. Her bir pamuk pelet küçük bir alanda kullanılıp atılır. Bu alanlar ılık suyla temizlendikten sonra yüzeysel diş taşları alınır. Ultrasonik temizleyiciler bu iş için kullanışlı aletlerdir. Subgingival temizlik ve küretaj bu seansta kontrendikedir [2].

Orta veya şiddetli ANUG'lu hastalarda ve lokal lenfodenopati veya sistemik bir semptomu olanlarda antibiyotik rejimi: Amoksisilin 500mg oral yoldan her 6 saatte bir (4x1), 10 günlük kullanım şeklindedir. Amoksisilin duyarlı hastalarda: Eritromsin 500mg 6 saatte bir veya Metronidazol 500mg günde 2 kez, 7 gün boyunca kullanılır. Sistemik komplikasyonları olmayan ANUG hastalarına antibiyotik önerilmemelidir. Şiddetli ağrısı varsa ağrı kesiciler verilebilir. Hasta, ağrısı geçtiğinde tedavinin tamamlanmış olmadığı konusunda uyarılmalı ve 1-2 gün içerisinde tekrar gelmesi söylenmelidir.

**2. seans :** Hastanın semptomlarında iyileşme gözlenir. Akut şişkinlikler azalmış veya tamamen kaybolmuştur. Gingival marjin hala hiperemik olabilir ancak pseudomembranlar kaybolmuştur. Mevcut diş taşlarının tamamı mümkünse nazikçe temizlenip detarraj işlemi bitirilir. Hastaya ilk seanstaki öneriler tekrarlanır. 1-2 gün sonrası için tekrar randevu verilir [2].

**3. seans :** Genellikle hastada semptom kalmamıştır. İlgili alan hala eritemli, dişeti dokunmaya hassas olabilir. Daha derin diş taşı temizliği, kök düzeltmesi, polisaj yapılabilir. Taşkın dolgu varsa düzeltilir. Ağız hijyeni önerileri tekrarlanır. Hastaya yeni yumuşak bir fırça önerilir. Hidrojen peroksitle ağız çalkalamasına devam edilmez ancak klorheksidinle çalkalama 2-3 hafta daha sürdürülebilir. 2-3 hafta sonrası için tekrar randevu verilir [2].

### **Rekürrent Aftöz Stomatit**

Rekürrent aftöz stomatit (RAS) lezyonları çapı 0,5 ile 1 cm arasında değişen, yuvarlak veya ovoid sığ ülserlerdir. Gri sarımsı bir merkezi alan, eritemli bir halo ile çevrelenmiş, daha büyük 1 ile 3 cm çapında oval veya düzensiz şekilli ülserler olarak da görülebilirler. Küçük lezyonlar yara izi olmaksızın 7-10 günde iyileşirken, büyük lezyonlar haftalarca devam eder ve skarla iyileşir. Etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Behçet hastalığı ve HIV enfeksiyonu olan çocuklarda RAS lezyonları sıklıkla bulunur [8].

RAS'ın 3 temel klinik türü vardır.

### **Minör Aftöz Ülserler (Mikulicz Ülseri)**

Çoğunlukla 10-40 yaş grubunda görülür ve çoğunlukla minimal semptomlara neden olur. Çapları 2-4 mm'den küçük yuvarlak veya ovoid ülserlerdir. Ülser zemini başlangıçta sarımtıraktır ancak iyileşme ve epitelleşme ilerledikçe grimsi bir renk alır. Esasen dudaklar, yanaklar, ağız tabanı, dilin sulkusu veya ventrumun keratinsiz mobil mukozasında bulunurlar. Damağın keratinleşmiş mukozasında veya dilin dorsumunda nadiren bulunurlar ve yalnızca birkaç ülser grup halinde (1-6 arası) görülürler. 7-10 gün arasında düzelirler. 1-4 aylık aralıklarla tekrarlarlar [8].

### **Majör Aftöz Ülserler (Sutton'un Ülseri)**

Daha uzun süreli, daha sık tekrarlayan, daha ağrılı ülserlerdir. Yaklaşık 1cm çapındadırlar ancak daha da büyük olabilirler. Dil

dorsumu ya da damağın keratinleşmiş kısmı da dahil olmak üzere oral mukozanın herhangi bir bölgesinde bulunabilirler. Bir defada yalnızca birkaç ülser (1-6 arası) grup halinde bulunur ve yavaş yavaş 10 ile 40 gün arasında iyileşirler. Çok fazla tekrarladıklarında skar ile iyileşebilirler [8].

### **Herpetiform Ülserler**

Çoğunlukla yaşlılarda ve kadınlarda görülür. Vezikülasyon ile başlayıp oral mukozada hızla yayılan ülserlere dönüşürler. Büyüklükleri giderek artar ve birleşirler. Aşırı derecede ağrılıdırlar. 10 gün veya daha uzun sürede iyileşirler [9].

Klorheksidin, topikal kortikosteroidler, topikal tetrasiklin, immünoregülatörler, TNF inhibitörleri, sistemik çinko sülfat, MAO inhibitörleri, sodyum kromoglikat oral ülserlerin tedavisi için kullanılmıştır. Ne yazık ki RAS için özel bir tedavi mevcut değildir. Öte yandan mevcut tedaviler RAS belirtilerini azaltabilir ancak RAS'ı tamamen tedavi edemez veya ülserlerin nüks etmesini önleyemez [10].

Volkav ve diğerlerinin [11] 2009'da yaptığı randomize çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada basit, ucuz ve düşük riskli olan vitamin B12 tedavisi, serum vitamin B12 seviyesine bakılmaksızın RAS'dan muzdarip hastalarda etkili olmuştur.

### **Akut Streptokokal Gingivitis**

Akut streptokokal gingivitis oral mukozanın akut bir inflamasyondur. Hem çocuklarda hem de yetişkinlerde görülebilir. Genel direncin düşük olduğu durumlarda ortaya çıkar. Lezyonların başlama alanı genellikle dişeti kenarı ve komşu dişeti papilidir. Akut streptokokal gingivitisin en önemli klinik özelliği dişeti kenarında ateş kırmızısı bir rengin olmasıdır. Bakteriyel smear çoğunlukla Streptokokus Viridans varlığını gösterir fakat farklı çalışmalarda A grubu beta β- hemolitik streptokokların da bulunduğu rapor edilmiştir [1].

Akut streptokokal gingivitis şişkin, parlak kırmızı, kolay kanayan bir dişeti, ağrı, ateş, rahatsızlık hissi ve submandibular lenfadenit ile karakterizedir [12,13]. Apse formasyonları da görülebilir. Mikrobiyolojik örnekleme ile hasta tanısı kesinleştirilir [14]. Streptokokal gingivitisin tedavi edilmesi oldukça önemlidir. Çünkü sepsis, menenjit, perikardit, romatizmal ateş ve pnömoni gibi sistemik sekonder infeksiyonlara sebep olma riski yüksektir [15,16]. Antimikrobiyal olarak özellikle penisilin kullanılmaktadır [12,13]. Sistemik antibiyotik kullanımı septisemi, menenjit, perikardit, romatizmal ateş ve pnömoni gibi sekonder infeksiyonları önlemek için önerilmektedir [15,16].

Tedavi semptomatiktir. Ağız hijyeninin düzeltilmelidir. İlk aşamada supragingival temizlik ve klorheksidin irigasyonu yapılmalı, gingival inflamasyondan sorumlu olabilecek tüm lokal iritanlar uzaklaştırılmalıdır. Hastaya antibiyotik (amoksisilin ve

potasyum klavulanat 1000mg, 2x1, 10 gün), analjezik (naproksen 550mg, 2x1, 5 gün) reçete edilmeli ve hasta 2 hafta boyunca %0,12'lik klorheksidinle ağız çalkalama yapılmalıdır. Hastaya oral hijyen motivasyonu yapılmalı ve yumuşak kıllı fırça önerilmelidir. 2 hafta sona gingivanın etkilenen bölgesinde daha az ağrı ve inflamasyon görülür. Hastalığın akut safhası geçtikten sonra supragingival ve subgingival temizlik, kök düzeltmesi ve polisaj yapılmalı, çürük lezyonları konservatif olarak tedavi edilmelidir. 4 hafta sonunda cerrahi olmayan periodontal tedavi ile etkilenen alanda iyileşme gözlenir [17].

### **Akut Alerjik Gingivitis**

Organizmaya giren bir antijenin, immun cevap yerine bazı doku zedelenmeleri, enflamatuvar reaksiyon ve hastalıkların ortaya çıkması şeklinde, abartılmış ve organizmaya zarar verici nitelikte oluşturduğu reaksiyonlara "aşırı duyarlılık" veya "alerji" denir. Alerji antijenle ilk temastan sonra değil, genellikle ikinci veya daha sonraki karşılaşmalarda meydana gelir [18].

Akut alerjik durumlarda dişetin renginde belirgin değişiklikler olmaktadır. Bu renk değişimi parlak kırmızı renkten mor tonuna kadar değişebilir. Eritem, ödem, hiperplazi ve ülserlere rastlanabilir. Alerjik reaksiyonun hafiflemeye başlaması ile belirtiler de ortadan kaybolur. Alerjik reaksiyonlara diş macunları, dudak boyaları, protezlerin içerisindeki metil metakrilat bileşenler, barbitüratlar, sülfonamidler, dilantin, penisilin gibi ilaçlar neden olabilir. Nikel alerjilerine de rastlanabilir [19].

### **Dental Restoratif Materyaller**

Tip 4 alerji (kontakt alerjisi), alerjenle temastan 12-48 saat sonra klinik olarak görülür. Civa, nikel, altın, çinko, krom, palyadyum ve akriliklerin alerjiye neden olduğu bilinmektedir. Alerjik reaksiyonlar oral liken planus ve lökoplaki lezyonlarına benzer. Lezyonlar kırmızımsı veya beyazımsıdır., bazen ülser olabilirler. Neden ortadan kaldırılınca, lezyonlar geçer [20].

### **Diş Macunu, Ağız Gargaraları, Sakızlar**

Nadir olarak alerji yaptıkları rapor edilmiştir. Alerjik reaksiyonların sebebi, macun ve gargara içeriklerindeki tatlandırıcılar ve koruyuculardır. Alerjik sahaların karakteristik özelliği, ateş kırmızısı ve ödematöz yapıda olmalarıdır. Bazen ülserasyonlar ve beyaz sahalar da oluşabilir. Dişetinden başka dudak, yanak ve dil mukozasında da benzer etkilenmeler görülebilir, cheilitis de tabloya eklenebilir. Alerjenin kullanımı bırakıldıktan sonra klinik görüntü geçer [20].

### **Yiyecekler**

Gıdalar tip 1 ve tip 4 alerjik reaksiyonlara neden olabilir. Oral mukozaya alerjisi olan hastaların %20'den fazlasının kivi, şeftali, elma, kestane ve salama karşı aşırı duyarlılıkla olabileceği bildirilmiştir. Bu yiyecekler yendikten sonra oral mukozada şiddetli

şişmeler meydana gelebilir. Kırmızı biberin de gingivitis, gingivostomatitis veya plazma hücreli gingivitise neden olduğu bilinmektedir. Tanıyı koymak zordur [20]. En sık labial ve bukkal mukozaya ve dilin laterali etkilenir. Ağız tabanı ve gingiva da etkilenebilir. Alerjenin kullanımı kesilince lezyonlar 1 hafta içinde kaybolur [18].

### **Lateks Alerjisi**

Latex alerjisinin bulguları subklinik seyirden ağır sistemik reaksiyona kadar değişebilir. Mukozal temas, deri temasına göre daha şiddetli reaksiyonlara neden olabilir. Lateks içeren dental ürünler; amalgam taşıyıcıları, matriks bantları ve matriksler, anestezi karpüller, enjektörler, damlalıklar, endodontik dolgu materyalleri, ölçü materyalleri, bol, maskeler/ yüz koruyucuları, eldivenler, ortodontik lastik bantlar ve elastikler, ısırma plağı, polisaj diskleri, rubber dam, sakşın başlığıdır [18,21].

### **Metal Zehirlenmeleri**

Metal zehirlenmesi görülen hastalarda dişetin kanamalı, kızamık ve yer yer ülser olduğu bildirilmiştir. Çeşitli metal zehirlenmelerinde dişetinde; arsenik koyu kırmızı, bizmut mavi-siyah, bakır mavi-yeşil, gümüş gri, kurşun mavi-siyah bant şeklinde değişikliklere neden olmaktadır [20].

### **Akut Kandidiyazis**

Kandidiyazis, oral mukozanın en yaygın mikotik enfeksiyonudur. Candida Albicans gibi yüzeysel bir fungusun normale göre fazla büyümesinden kaynaklanır. Klinik olarak diffüz, kabarık veya yumuşak kadifemsi kıvamda, uzaklaştırılabilen beyaz mukozal plaklar şeklinde görülür [8].

Kandida enfeksiyonları için predispozan faktörler: çocukluk çağındaki immünolojik eksiklikler, endokrin bozukluklar (diabetes mellitus, hipoparatiroidizm, gebelik, sistemik steroid tedavisi), topikal kortikosteroid tedavisi, kserostomi, kötü ağız hijyeni, ilerlemiş malignite, malabsorpsiyon ve malnutrisyon, sistemik antibiyotik tedavisi, kanser kemoterapisi ve radyasyon tedavisi, AIDS'tir [22].

Axell ve diğerleri [23] tarafından revize edilen Candida sınıflaması şu şekildedir:

1. Primer Oral Kandidiyazis (akut formlar, kronik formlar, kandida ilişkili lezyonlar, kandidayla süperinfekte olmuş keratinize primer lezyonlar)
2. Sekonder Oral Kandidiyazis (oral bölgede görülen sistemik mukokutanöz kandidiyazis)

### **Akut Pseudomembranöz Kandidiyazis**

Bu form, bağıışıklığı baskılanmış kişilerde en yaygın olarak ortaya çıkan formdur. Özellikle infantlarda (yeni doğanlarda) görülür. Doğum esnasında annenin vajinal kanalından bulaşma

ile oluşabilir. Bu tabloya “pamukçuk” ismi de verilebilir. Pamukçuk plakları dilde, palatinada ve bukkal mukozada süt artıkları ile karışabilen beyazımsı-krem renkte plaklardır. Kazınmaları sonrası yerlerinde kırmızı enflamasyonlu, parlak kanamalı ve eritematöz bir zemin açığa çıkar. Plaklar; nekrotik materyal, deskuame epitel hücreleri, fibrin, maya hücreleri ve hif, yiyecek artıkları ve bakterilerden oluşur. Ciddi olgularda hastalarda yanma, hassasiyet ve yutma güçlüğü gözlenir. Akut pseudomembranöz kandidiyazis yetişkinlerde kaşeksi, uzun süreli antibiyotik kullanımı, immünoşüpresyon ve kontrol altında olmayan diyabet gibi nedenlere bağlı olarak gelişebilir [24].

### **Akut Eritematöz Kandidiyazis**

Bu tip kandidiyazis, önceleri “Antibiyotik yaralı ağız” olarak bilinen, geniş spektrumlu antibiyotiklerin uzun süreli kullanımı sonucu meydana gelen formdur. Sıklıkla dilin dorsumunda ve palatinada lokalize eritematöz alanlarla karakterizedir. Bukkal mukozada daha az sıklıkta rastlanır. Eritematöz kandidiyazis, oral kandidiyazisin sürekli olarak ağrıyan tek formudur. Bu form bazen “atrofik kandidiyazis” olarak da tanımlanır [24].

Hafif lokalize oral kandidiyazis tedavisi genellikle topikal antifungallerle yapılır. Nistatin, ilaç seçiminde ilk tercihtir. Nistatinin oral süspansiyonu (100.000 IU/ml) gargara olarak 2 dakika boyunca günde 4 kez kullanılır ve sonrasında yutulur. Hastalar nistatinin oral süspansiyonunu kullandıktan sonra 20 dakika boyunca yeme içmeden kaçınmalıdır. Tedavi süresince ağız içi protezler kullanılmamalıdır. Tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesi için bir sonraki randevu, antifungal tedavinin başlangıcından 3 ila 7 gün sonrasına verilir. Tedavi süresi 7-14 gün arasında değişiklik gösterir. Son klinik bulguların görülüp lezyonların iyileşmesinden sonra 2-3 gün daha antifungal tedaviye devam edilmesi önerilmektedir. Bunun nedeni bazı yazarların [25,26] kandida seviyelerinin normal seviyeye ulaşmasının bu şekilde mümkün olduğunu önermesidir. Yüksek sakkaroz içeriği nedeniyle diabetes mellituslu hastaların tedavisinde kontrendikedir. Bu gibi durumlarda flukonazol (5mg/ml) oral süspansiyon bir tedavi seçeneği olarak kabul edilebilir [24]. Daha dirençli kandida enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan flukonazol preparatları gastrointestinal kanaldan iyi abzorbe olur ve plazma yarılanma ömrü 25-30 saattir [27].

Klorheksidin glukonat, triklosan ve uçucu yağların da içinde bulunduğu çeşitli ağız gargaraları, antikandidal aktivite gösterir. Klorheksidin glukonat ile kombinasyon halinde kullanılan nistatinin etkinliğinin azaldığı yönünde raporlar vardır. Bu yüzden klorheksidin gargara kullanımından sonra nistatin tedavisi için 30 dakikalık bekleme süresi tavsiye edilir [28-30].

### **Gingival Apse**

Gingival apse; mikrobiyal plak enfeksiyonu, travma, yabancı cisim impaksiyonu gibi çeşitli nedenlerle ortaya çıkan lokalize, akut inflamatuvar lezyondur. Klinik olarak kırmızı, pürüzsüz ve yumuşak kıvamlıdır. Bazen ağrılıdır. Sıklıkla fluktan bir şişlik gözlenir. Apseye komşu bölgelerdeki dişlerde perküsyon hassasiyeti vardır. Tedavi edilmeyen dişeti apsesi perfore olarak drene olur. Lezyon 24-48 saat içerisinde fluktan olur, baskı ile sarımsı bir iltihabi sıvı boşalması olabilir. Dişeti apsinden iltihabi sıvı boşalınca harap olan saha granülasyon dokusuyla dolar ve bu doku zamanla organize olur [31].

Gingival apse tedavisinde öncelikle akut fazın atlatılması amaçlanır, daha sonra apseye neden olan problemin hemen uzaklaştırılması gerekir. Hastayı rahatlatmak için topikal veya lokal anestezi uygulananır. Eğer mümkünse diştaşı temizliği ve kök düzleştirmesi yapılır [31]. Tedavide drenajı sağlamak için insizyon yapılır. Dişeti kenarının şeklinin bozulmasına ve dişeti çekilmesine yol açmamak için insizyon horizontal yapılmalıdır [32]. Kanama durduktan sonra, hastaya her gün 2 saatte bir ılık tuzlu suyla çalkalama yapması gerektiği hatırlatılıp hasta gönderilir. 24 saat sonra bölge yeniden değerlendirilir. Eğer apse periodontal dokulara kadar ilerlememişse, enfeksiyonu elimine etmek için antibiyotik tedavisi genellikle yeterli olur. Fakat apse periodontal dokuları etkilemişse dişeti cebinden itibaren derin temizlik (küretaj) yapılmalıdır. Eğer çok fazla kemik kaybı ve ataçman kaybı varsa dişin ekstraksiyonu gerekebilir [31].

### **Periodontal Apse**

Periodontal apse, dişin destek yapılarının hızla yıkılmasına yol açan akut bir lezyondur.

Periodontal apsenin 2 klinik tipi mevcuttur [33]:

Periodontitise Bağlı Periodontal Apse

Periodontitise bağlı periodontal apsenin enfeksiyonu 3 farklı aşamada oluşabilir [34]:

1. Tedavi edilmemiş periodontitis vakalarında
2. Periodontal tedavi esnasında
3. Periodontal bakım esnasında

### **Periodontitise Bağlı Olmayan Periodontal Apse**

Periodontal apseler, ortodontik lastik, diş ipi gibi yabancı maddelerin impaksiyonu, endodontik aletle diş duvarının perforasyonu, lateral kist enfeksiyonu ve kökün enfeksiyonunu etkileyen lokal sebeplere bağlı olarak gelişebilir [34].

Periodontal apselerin klinik olarak pulpal apselerle ayırıcı tanısının yapılabilmesi gerekir. Periodontal apseler var olan bir periodontal ceple ilişkilidir, pulpa vitaldir, şişlik genellikle gin-

gival dokuları ilgilendirir ve nadiren fistül görülür, ağrı künt-donuk ve lokalizedir, perküsyonda hassasiyet olabilir ya da olmayabilir [35].

Periodontal apsenin tedavisi için mevcut tedavi seçenekleri [34]:

1. Cep yoluyla drenaj veya insizyon
2. Diştaşı temizliği veya kök düzeltmesi
3. Periodontal cerrahi
4. Sistemik antibiyotikler
5. Diş çekimi

Periodontal enfeksiyonlardaki antibiyotik seçenekleri [35]:

Amoksisilin: 1 gram yükleme dozu, daha sonra 500mg, 3x1, 3 gün

Klindamisin: 600 mg yükleme dozu, daha sonra 300mg, 4x1, 3 gün

Azitromisin veya Klaritromisin= 1 gram yükleme dozu, daha sonra 500mg, 4x1, 3 gün

### **Perikoronitis**

Perikoronitis, erüpsiyonu tamamlanmamış bir dişin kronunu çevreleyen gingivanın inflamasyonudur. Çoğunlukla mandibular 3. molar bölgesinde meydana gelir. Akut, subakut ya da kronik formlarda bulunabilir [1].

Klinik tabloda belirgin kırmızı, hacmi artmış, süpürasyonlu ve son derece hassas bir dişeti vardır. Kulak, boğaz ve ağız tabanına yansıyan ağrı mevcuttur. Hasta; ağrı, kötü tat ve ağızını kapatamaması nedeniyle rahatsızdır. İlgili bölgede yanakta şişlik ve lenfadenopatiye de sıklıkla rastlanır. Hastada ayrıca ateş, lökositoz ve halsizlik gibi sistemik bulgular vardır [1].

Perikoronitis tedavisi iltihabın şiddetine, sistemik komplikasyonların varlığına ve ilgili dişin ağızda kalma gerekliliğine göre yapılır. Şikayeti olmayan hastalarda bile ileride akut tablo gelişmesi riski nedeniyle perikoronitis tedavi edilmelidir. Tedavi aşamaları [2]:

1. Yiyecek birikintilerinin ve eksudanın temizlenebilmesi için bölgenin ılık suyla yıkanması
2. Flebin kaldırılarak bölgenin antiseptikle temizlenmesi, alttaki eklentilerin de temizlenerek ılık suyla yıkanması

Şiddetli vakalarda hastaya antibiyotik önerilir. Eğer flep boyutu artmışsa ve fluktan ise anteroposterior insizyon ile drenaj sağlanır. Akut semptomlar elimine edildikten sonra dişin ağızda kalıp kalmayacağına karar verilir. Dişin ağızda kalacaksa, perikoronit flep periodontal cerrahi ile elimine edilir. Doku elimine edildikten sonra bölgeye periodontal pat uygulanır ve 1 hafta sonra alınır. Perikoronit flepler ANUG için "primer inkübasyon zonları" olarak bilinir ve bunların eliminasyonu, hastalığın tekrar etmemesi için alınan önemli önlemlerden biridir [2].

### **Maddi Destek ve Çıkar İlişkisi**

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların herhangi bir çıkar dayalı ilişkisi yoktur.

### **Kaynaklar**

1. Klokkevold P. R, Caranza F. A. Acute Gingival Infections. In Newman, M. G., Takei, H. H., Klokkevold, P. R., Caranza, F. A. (Eds.), Caranza's Clinical Periodontology. (Twelfth Edition). Canada. Elsevier Inc. 2015; 244-51.
2. Klokkevold PR, Caranza FA. Treatment of Acute Gingival Disease. In Newman, M. G., Takei, H. H., Klokkevold, P. R., Caranza, F. A. (Eds.), Caranza's Clinical Periodontology. (Twelfth Edition). Canada. Elsevier Inc. 2015; 460-64.
3. Amir J, Harel L, Smetana Z, Varsano I. Treatment of herpes simplex gingivostomatitis with aciclovir in children: a randomised double blind placebo controlled study. BMJ 1997; 314: 1800-1803.
4. Johnson BD, Engel D. Acute necrotizing ulcerative gingivitis. A review of diagnosis, etiology and treatment. Journal of Periodontology 1986; 57: 141-50.
5. Dennison DK, Smith B, Newland JR. Immune responsiveness and ANUG. Journal of Dental Research 1985; 64:197.
6. Horning GM, Cohen ME. Necrotizing ulcerative gingivitis, periodontitis, and stomatitis: clinical staging and predisposing factors. Journal of Periodontology 1995; 66: 990-98.
7. Barnes G. P, Bowles W.F, Carter H.G. Acute necrotizing ulcerative gingivitis: a survey of 218 cases. Journal of Periodontology 1973; 44: 35-42.
8. Oh T. J, Eber R, Wang, H. L. Periodontal diseases in the child and adolescent. Journal of Clinical Periodontology 2002; 29: 400-10.
9. Scully C, Felix D. H. Oral medicine--update for the dental practitioner. Aphthous and other common ulcers. British Dental Journal 2005; 199: 259-64.
10. Al-Omiri MK, Alhijawi M, AlZarea BK, Abul Hassan R.S, Lynch, E. Ozone treatment of recurrent aphthous stomatitis: a double blinded study. Scientific Reports 2016; 6: 27772.
11. Volkov I, Rudoy I, Freud T, Sardal G, Naimer S, Peleg R, Press, Y. Effectiveness of vitamin B12 in treating recurrent aphthous stomatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Journal of the American Board of Family Medicine 2009; 22: 9-16.
12. Gursoy MH, Altan MK, Noyan U, Kadir T, Cologlu S, Yilmaz, S. Evaluation of the effectiveness of Er:YAG laser and conventional periodontal treatment in a patient with acute streptococcal gingivitis: a 2-year follow-up. Photomedicine and Laser Surgery 2010; 28: 841-45.
13. Sukchotiratana M, Linton AH, Fletcher JP. Antibiotics and the oral streptococci of man. Journal of Applied Bacteriology 1975; 38: 277-94.



14. Dahlen G. Microbiology and treatment of dental abscesses and periodontal-endodontic lesions. *Periodontology* 2002; 28: 206-39.
15. Kennedy HF, Morrison D, Tomlinson D, Gibson BE, Bagg J, Gemmell CG. Gingivitis and toothbrushes: potential roles in viridans streptococcal bacteraemia. *Journal of Infection* 2003; 46: 67-70.
16. Gates RL, Cocke WM, Rushton TC. Invasive streptococcal infection of the periorbital and forehead. *Annals of Plastic Surgery* 2001; 47(5): 565-567.
17. Dilsiz A, Sevinc S. Therapy of a patient with acute streptococcal gingivitis: Case Report and Review of Literature. *JSM Dentistry* 2014; 2: 1025-28.
18. Oztas N, Tufekcioglu D. Diş hekimliği ve alerji. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2003; 6: 37-42.
19. Holmstrup, P. Non-plaque-induced gingival lesions. *Annals of Periodontology* 1999; 4: 20-31.
20. Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontology* 2000, 2004; 34: 9-21.
21. Nettis E, Colanardi MC, Ferrannini A, Tursi A. Reported latex allergy in dental patients. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* 2002; 93: 144-48.
22. Ak G, Unur M, Guc U. Oral kandidiyazis. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 1998; 8: 50-53.
23. Axell T, Samaranayake LP, Reichart PA, Olsen I. A proposal for reclassification of oral candidosis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* 1997; 84: 111-12.
24. Tarcin BG. Oral candidosis: Aetiology, clinical manifestations, diagnosis and management. *Marmara University Faculty of Dentistry* 2011; 1: 140-48.
25. Sherman RG, Prusinski L, Ravenel MC, Joralmon RA. Oral candidosis. *Quintessence International* 2002; 33: 521-32.
26. Zegarelli DJ. Fungal infections of the oral cavity. *Otolaryngologic Clinics of North America* 1993; 26: 1069-89.
27. Cirelli A, Rossi F, Ciardi M. Treatment of oropharyngeal and esophageal candidiasis with a new antifungal agent fluconazole in HIV-infected patients. *Current Therapeutic Research* 1990; 47: 81-87.
28. Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgraduate Medical Journal* 2002; 78: 455-59.
29. Jeganathan S, Lin CC. Denture stomatitis--a review of the aetiology, diagnosis and management. *Australian Dental Journal* 1992; 37: 107-14.
30. Williams DW, Kuriyama T, Silva S, Malic S, Lewis MA. Candida biofilms and oral candidosis: treatment and prevention. *Periodontology* 2000, 2011; 55: 250-65.
31. Melnick PR, Takei HH. Treatment of Periodontal Abscess. In Newman, M. G., Takei, H. H., Klokkevold, P. R., Caranza, F. A. (Eds.), *Caranza's Clinical Periodontology*. (Twelfth Edition). Canada. Elsevier Inc. 2015; 465-69.
32. Herrera D, Roldan S, Gonzalez I, Sanz M. The periodontal abscess (I). Clinical and microbiological findings. *Journal of Clinical Periodontology* 2000; 27: 387-94.
33. Herrera D, Roldan S, Sanz M. The periodontal abscess: a review. *Journal of Clinical Periodontology* 2000; 27: 377-86.
34. Corbet EF. Diagnosis of acute periodontal lesions. *Periodontology* 2000, 2004; 34: 204-16.
35. Parameter on acute periodontal diseases. *Journal of Periodontology* 2000; 71: 863-66.

## ■ Review

## Analysis of Protein C Inhibitor/ SERPINA5

### *Protein C İnhibitörü/SERPİNA5 analizi*

Didem Torun OZKAN<sup>1\*</sup> , Nejat AKAR<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Istanbul Okan University, Vocational School of Health Service, Istanbul/ TURKEY

<sup>2</sup>TOBB-ETU Hospital, Department of Pediatrics, Ankara, Turkey

#### Abstract

Protein C inhibitor is a non-specific serine protease inhibitor with extensive protease reactivity. Protein C inhibitor (SERPINA5, plasminogen activator inhibitor-3/PAI-3) is a secreted, extracellular clade A serpin. SERPINA5/PCI has originally been described as an inhibitor of activated protein C and independently as an inhibitor of the plasminogen activator urokinase. SERPINA5 binds glycosaminoglycans, phospholipids, and retinoic acid. Glycosaminoglycans and certain phospholipids can modulate its inhibitory activity and specificity. PCI plays role at thrombosis and fibrinolysis, regulation of fertilization, tissue regeneration, vascular permeability, tumor development, invasion, metastasis and angiogenesis. In this review; aimed to provide information about the functions of PCI and to provide guidance for studies.

**Key words:** Protein C Inhibitor; SERPINA5

#### Öz

Protein C inhibitörü (PCI), serin proteaz ailesinden (SERPINA5) α1 proteaz inhibitör prototipinde bir plazma glikoproteinidir. İlk olarak insan plazmasında aktive protein C inhibitörü olarak daha sonra ise koagülasyon ve fibrinolizisin inhibitörü olarak tanımlanmıştır. PCI, idrardan sekrete olur ve ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü (uPA) ile kompleks oluşturur. Bu nedenle plazminojen aktivatör inhibitörü 3 (PAI-3) olarak da bilinir. PCI'nin tromboz ve fibrinoliziste, fertilizasyonun düzenlenmesinde, doku rejenerasyonunda, vasküler permeabilitede, tümör gelişimi, invazyon, metastaz ve anjiyogenezin düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir. Bu derlemede; PCI'in işlevleri hakkında bilgi vermek ve ileride yapılacak çalışmalar için rehberlik sağlamak amaçlanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Protein C İnhibitörü; SERPINA5

Corresponding Author\*: Didem Torun Ozkan , Istanbul Okan University, Vocational School of Health Service, Istanbul/ TURKEY

E-mail: didemtorun@gmail.com

ORCID: 0000-0003-4210-5073

Received: 11.11.2019 Accepted : 08.01.2020

Doi: 10.18663/tjcl.645392





## Introduction

Protein C inhibitor (PCI) is a plasma glycoprotein in the alpha 1 protease inhibitor prototype from the serine protease family (SERPINA5). It was first described by Marlar and Griffin as an inhibitor of human blood plasma-activated protein C (APC) and later as an inhibitor of coagulation and fibrinolysis. PCI is secretory from the urine (250ng/ml) and complexes with the urokinase-type plasminogen activator (uPA). This is also known as plasminogen activator inhibitor 3 (PAI-3). PCI has heparin binding properties and therefore other protease inhibitors are in the class of heparin-binding serpins such as antithrombin (ATIII) and heparin cofactor II (HCII). Heparin is a negatively charged glycosaminoglycan, secreted by mast cells and a small amount of basophils. Heparin has the task of removing thrombin and complexing with antithrombin III; afterwards at the coagulation cascade of FXa, FXa, FXa and FXa and is in contact with the basic residues of PCI. Heparin does not stimulate PCI inhibition of plasma kallikrein, PSA and HGFA. [1-3] Active Protein C (APC) inhibition can be achieved with 5-10 u / ml heparin. PCI is a good inhibitor of thrombin besides being an APC inhibitor in the hemostatic system; Procoagulant with APC inhibition and anticoagulant with thrombin inhibition. PCI inhibits its target proteases by forming SDS stable 1:1 complexes.

### **Functions of Protein C Inhibitor**

In humans, PCI concentration is in plasma at approximately 4 µg/mL concentration and is thought to originate from the liver. Human PCI is expressed in many organs and tissues, and the protein is present in most body fluids and secretions. PCI expression has been shown in the liver, in the kidney, in the skin, in the heart and in the male and female reproductive tracts [4]

Studies of mice known to be extrinsic to the reproductive organs of the PCI in rodents have revealed PCI expression patterns during mouse development. According to this, it was determined that PCI expression was common in the brain ventricles, in the heart, in the urogenital system, in the skeletal muscles and cartilaginous. [5-8]

The appearance of PCI expression in lung development suggests that PCI may play a role in lung morphogenesis and angiogenesis. The demonstration that PCI plays a role in tissue growth and regeneration by acting as an inhibitor on the activator of the hepatocyte growth factor demonstrates the importance of PCI in cellular processes such as growth signaling.

### **Protein C Inhibitor at Thrombosis and Hemostasis**

Protein C is converted to active protein C (APC) by the binding of thrombin to vascular endothelium. An active protein C resistance (APCR) occurs in the presence of point mutation in the factor V gene. The mutation result is the abnormal Factor V, the factor V Leiden (3). Active protein C resistance is the most common hereditary coagulation defect associated with venous thrombosis. This molecular defect is found in 20-40% of patients with deep vein thrombosis. [9]

Patients with deep vein thrombosis and pulmonary embolism were found to have α-1 antitrypsin with APC and PCI complex, indicating that the regulation of the protein C system under pathological conditions is by PCI.

PCI; In the inhibition of coagulation enzymes, the anticoagulant acts as an inhibitor of APC-Protein C, which is activated by thrombin-thrombomodulin, and in the antifibrinolytic role in the inhibition of urokinase. [10]

Furthermore, a significant increase in plasma concentrations of active SERPINA5 has been described in people with myocardial infarction and is seen as a risk marker for acute coronary events. SERPINA5 is defined in complex with proteases, in patients with active coagulation, and in patients receiving thrombolytic therapy, demonstrating that SERPINA5 reacts in vivo with the proteases of the hemostatic system. However, it is questioned how much it contributes to the regulation of hemostasis. [11]

### **Protein C Inhibitor in Pulmonary Arterial Hypertension**

Pulmonary arterial hypertension (PAH), which causes recurrent pulmonary embolisms and heart failure, is a rare disease with a frequency of one millionth. Pulmonary arterial hypertension (PAH) is group 1 pulmonary hypertension (PH), which has nothing to do with pulmonary embolism or chronic thromboembolic pulmonary disease. Whereas chronic thromboembolic pulmonary disease may result in precapillary PH, which is group 4 PH and also called chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH). Interestingly, PAH could be associated with in situ thrombosis in the distal pulmonary arteries. [12]. The excess coagulation defect caused by protein C deficiency is a rare cause of pulmonary embolism. Nishii et al. In a study conducted with PCI transgenic mice, it has been shown that PCI reduces the effect of pulmonary hypertension through thrombin inhibition. [13]

### **PCI in Tissue Repair and Regeneration**

PCI is making tissue repair and regeneration by regulating the hepatocyte growth factor activator. Hepatocyte growth factor

(HGF) plays a critical role in tissue regeneration proliferation, providing stimulation of endothelial and epithelial motility of various cell types. HGF is synthesized in hepatocytes and is in the form of proHGF inactive form. Thrombin is responsible for the activation of proHGFA to HGFA. PCI inhibits HGFA by forming an enzyme-inhibitor complex. The role of PCI in tissue regeneration, repair and wound healing through the inhibition of HGF activity suggests that it may be a potential target for lung regeneration therapy . [14-16]

#### **PCI Role at Fertilization**

PCI concentration is in plasma at approximately 4 µg/ml; at urine (250 ng/ml) and at seminal plasma 200 µg/ml. Semen coagulation is achieved by a series of biochemical processes designed to protect and direct spermatozoa during migration, ensuring that the sperm can successfully be rubbed. Thus, semen coagulation promotes fertilization. This mechanism is similar to coagulation and fibrinolysis. There are signs of seminal blood clotting factors and fibrinolytic factors; studies on the role of these factors in shed coagulation continue . [17-18]

In vivo and in vitro fertilization studies have shown that sperm of PCI knock-out mice can not bind to the oocytes of normal female mice and that fertilization can not occur. Histological analysis in PCI knock-out mice reveals that sperm cells undergo malformation and that the normally unrealizable spermatogenesis is associated with unexpected proteolytic activity by the damage of sertoli cells in the male urogenital system. PCI inhibits many enzymes in the seminal plasma, but it still has a role in specific stages of fertilization. In theory, it can be assumed that human fertilization is linked to mutations in the PCI gene. However, Gianotten et al. Found no association between variations in the PCI gene and infertility. In relation to this, Bungum and colleagues have demonstrated that a variation in the 6th exon of the PCI gene results in unexplained loss of fertility after in vitro fertilization in 5 men. [19-20]

#### **PCI Role at Microbiology**

SERPINA5 has antimicrobial activity attributed to heparin-binding helical H. It is also known that SERPINC1 (antithrombin) with the heparin binding sequence found in the D-helix exhibits antimicrobial activity. So far, there is no in vivo data supporting the role of SERPINA5 in defense against bacteria. Interestingly, in studies conducted, SERPINA5 has been shown to have a protective role against HIV infection. SERPINA5 was defined at high concentrations in the cervicovaginal fluid of women who remained seronegative despite high-risk exposure, compared to women with

high-risk exposure, HIV-positive women and low-risk HIV exposure. [21]

#### **Non-Protein Ligands of SERPINA5**

SERPINA5 binds heparin, certain phospholipids such as phosphatidylserine, oxidized phosphatidylethanolamine, phosphoinositides, and cardiolipin and other glycosaminoglycans. Depending on the target protease binding of glycosaminoglycans and phospholipids can stimulate or suppress the inhibitory activity of serpinA5. In vivo SERPINA5 could bind to glycosaminoglycans on cell surfaces as well as to phospholipids exposed on atherosclerotic plaques on apoptotic and/or activated cells [23], and on microparticles. Another non-protein ligand of SERPINA5 is retinoic acid. Corticosteroid-binding globulin (CBG) and thyroxine-binding protein (TBG) are two non-inhibitory members of the serpin family and act as hormone carriers .According to studies ; binding of different hydrophobic hormones to inhibitory serpins, i.e. to SERPINA5, SERPINC1 (antithrombin), SERPIND1 (heparin cofactor II), and SERPINE1 (PAI) .And serpinA5 bound retinoic acid.

#### **Cancer & PCI**

It is known that PCI (Serpin A5) plays a protective role against tumor development, tumor invasion and tumor metastasis. The various single nucleotide changes (SNPs) identified in the SERPINA5 gene have been found to be associated with the risk of papillary and follicular thyroid cancer. Expression of SERPINA5 appears to be more benign in uterine cancer, while SERPINA5 is suppressed in more aggressive tumors. Several ex vivo and preclinical studies have been performed to analyze the role of SERPINA5 in tumor cell proliferation, migration, metastasis formation, and tumor angiogenesis, and SERPINA5 does not exhibit malignant behavior in these studies. However, the mechanism of these effects has not yet been met. It appears that not all activities are dependent on protease inhibition activity [24-25]

#### **PCI as a Proteomic Target**

When PCI is examined for protein technology; two types of proteomic analysis have been shown to be potential therapeutic targets for multiple sclerosis and biomarker in prostate cancer. Proteins were first identified in multiple sclerosis lesion types; lesions were classified as acute plaque, chronic active plaque and chronic plaque. Despite the fact that many protein functions can not be identified in comparative proteomic analyzes, coagulant tissue factor and protein C inhibitors have been found to be involved in the chronic plaque and have proved to be functional. [29-30]

### Genetics of Protein C Inhibitor

PCI / SERPINA5 is a single-chain glycoprotein with a molecular weight of 57 kD. It is known that a region that does not encode in the 5' primer leader structure of human PCI, a 19 amino acid signal peptide, a 387 amino acid mature protein, a termination codon (stop codon), a 839 base pair region that does not encode at the 3' end. The molecule contains 5 glycosylation sites: 3 Asn-X-Ser / Thr sequences, 2 Thr / Ser-X-X-Pro sequences. The human PCI gene is located at the long arm of chromosome 14 32.1 (14q32.13), a weight of 45702 Da, 5 exons, 4 introns. The gene contains various cis elements such as the transcription factor Sp-2 binding site at the 5' end, the activator protein (AP) binding site, the inverted A binding site but not the TATA box and CCAAT box sequences. The PCI amino acid sequences show 93%, 71%, 72%, 62%, 63% and 46% similarity in species among apes, cattle, rabbits, rats, hamsters and chickens respectively. Genetic studies on PCI are very limited and are known to be one mutation related to the subject in the literature. We have described the p.Ser188Asp mutation for the first time in a patient undergoing bone marrow transplantation in the PCI gene. This change is the only mutation in Human Gene Mutation Databae (HGMD\_CM138902) [33]

### Results

Though studies that initially identified the inhibitors of APC and fibrinolysis, and later studies have shown that Protein C inhibitor (PCI), which is known to play a role in many mechanisms ranging from fertilization to cancer, is not only effective in thrombosis and hemostasis, the underlying factors are not fully understood. This deficiency will be overcome with new research on PCI, which is known to have multifunctionality. Table 1 summarises the possible functions of PCI that have been evaluated by various in vitro, ex vivo and in vivo examinations to date.

Table 1. Possible functions of PCI	
Functions of PCI	Target Protease/Cofactor/Proteoglycan
Regulation of protein C pathway	APC/heparin// Thrombin
Regulation of coagulation	Thrombin /Heparin/ Factor Xa, XIa
Regulation of fibrinolysis	u-PA heparin, t-PA heparin
Regulation of sperm capacitation	Acrosin, PSA
Regulation of tumor invasion&metastasis	u-PA
Regulation of angiogenesis	u-PA
Regulation of tissue regeneration	HGFA
Regulation of vascular remodeling	Thrombin
Regulation of APC-mediated anti-inflammation	APC

(APC: Active Protein C, u-PA: Urokinase type plasminogen activator, HGFA: Hepatocyte Growth Factor Activator)

### Declaration of conflict of interest

The authors received no financial support for the research and/or authorship of this article. There is no conflict of interest.

### References



- Meijers JC, Kanters DH, Vlooswijk RA, van Erp HE, Hessing M, Bouma BN. Inactivation of human plasma kallikrein and factor XIa by protein C inhibitor. *Biochemistry* 1988; 27: 4231-7
- Suzuki K. Activated protein C inhibitor. *Semin Thromb Hemost* 1984; 10: 154-61
- Hayashi T, Nishioka J, Kamada H, Hamada K, Fujii K, Naka D, Nagaike K, Uemoto S, Kobayashi T, Hattori A, Suzuki K. Protein C inhibitor directly and potently inhibits activated hepatocyte growth factor activator. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1477-85.
- Li W, Adams TE, Kjellberg M, Stenflo J, Huntington JA. Structure of native protein C inhibitor provides insight into its multiple functions. *J Biol Chem* 2007; 282: 13759-68
- Esmon CT. Inflammation and the activated protein C anticoagulant pathway. *Semin Thromb Hemost* 2006; 1: 49-60
- Espana F, Medina P, Navarro S, Zorio E, Estellés A, Aznar J. The multifunctional protein C system. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents* 2005; 3: 119-31
- Tran S, Dahlbäck B. Novel APC-cleavage sites in FVa provide insights into mechanisms of action of APC and its cofactor protein S. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 129-36.
- Dahlbäck B. The discovery of activated protein C resistance. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 3-9
- Nicolaes GA, Dahlbäck B. Congenital and acquired activated protein C resistance. *Semin Vasc Med* 2003; 3: 33-46.

10. Akar N. Factor V 1691 G-A mutation distribution in healthy Turkish population. *Turk J Hematol*; 2009; 26: 9-11
11. Kemkes-Matthes B. Heterozygous protein C deficiency type 1. 1989; 58; 201-06
12. Esmon CT. Anticoagulant Protein C/ Thrombomodulin Pathway. *The Online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*; 2001; 4327-38.
13. Lannan KL, Phipps RP, White RJ. Thrombosis, Platelets, Microparticles and PAH: more than a clot. *Drug Discovery Today*; 2014; 1230-35
14. Nishii Y, Gabazza EC, Fujimoto H et al. Protective role of protein C inhibitor in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 2331-39
15. Akar N, Arsan S, Deda G, Fitöz S, Soneltur B, Uysal Z. *Pediatric inme*. Ankara: Çocuk Hastalıkları Araştırma Vakfı Yayını, 2005, Ankara
16. Fukudome, K. Esmon, C. T. Identification, cloning, and regulation of a novel endothelial cell protein C/activated protein C receptor. *J Biol Chem* 1994; 269; 26486-91.
17. Stief TW, Radtke KP, Heimbürger N. Inhibition of urokinase by protein-C inhibitor (PCI): Evidence for identity of PCI and plasminogen activator inhibitor -3. *Biol Chem Hoppe-Syler* 1987; 368:1427-33
18. Suzuki K. The multi-functional serpin, protein C inhibitor: beyond thrombosis and hemostasis. *J Thromb Hemost* 2008; 6: 2017-26
19. Meijers JCM, Herwald H. Protein C Inhibitor. *Seminars in Thromb Hemost* 2011; 37; 4; 349-54
20. Geiger M. Protein C inhibitor, a serpin with functions in- and outside vascular biology. *Thromb Haemost* 2007; 97: 343-47
21. G. Van Raemdonck et al. Increased Serpin A5 levels in the cervicovaginal fluid of HIV-1 exposed seronegatives suggest that a subtle balance between serine proteases and their inhibitors may determine susceptibility to HIV-1 infection. *Virology* 2014; 458-459: 11-21
22. Wagenaar GTM, Uhrin P, Weipoltshammer K et al. Expression patterns of protein C inhibitor in mouse development. *J Mol Histol* 2010; 41: 27-37
23. Hayashi T, Nishioka J, Nakagawa N et al. Protein C inhibitor directly and potently inhibits activated hepatocyte growth factor activator. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1477-85
24. Espana F, Vicente V, Tabernero D, Scharrer I, Griffin JH. Determination of plasma protein C inhibitor and of two activated protein C-inhibitor complexes in normals and in patients with intravascular coagulation and thrombotic disease. *Thromb Res* 1990; 59: 593-608
25. Uhrin P, Schoffer C, Zaujec J et al. Male fertility and protein C inhibitor/plasminogen activator inhibitor-3 (PCI): localization of PCI in mouse testis and failure of single plasminogen activator knockout to restore spermatogenesis in PCI-deficient mice. *Fertil Steril* 2007; 88: 1049-57
26. Gianotten J, Schimmel AW, van der Veen F, Lombardi MP, Meijers JCM. Absence of mutations in the PCI gene in subfertile men. *Mol Hum Reprod* 2004; 10: 807-13
27. Bungum M, Giwercman A, Bungum L, Humaidan P, Rastkhani H, Giwercman YL. Polymorphisms in the protein C inhibitor gene in in vitro fertilization failure. *Fertil Steril* 2010; 93: 277-79.
28. Hamada T, Kamada H, Hayashi T et al. Protein C inhibitor regulates hepatocyte growth factor activator-mediated liver regeneration in mice. *Gut* 2008; 57: 365-73
29. Han MH, Hwang SI, Roy DB et al. Proteomic analysis of active multiple sclerosis lesions reveals therapeutic targets. *Nature* 2008; 451: 1076-81
30. Rosenzweig CN, Zhang Z, Sun X et al. Predicting prostate cancer biochemical recurrence using a panel of serum proteomic biomarkers. *J Urol* 2009; 181: 1407-14
31. Suzuki K, Hayashi T. Protein C and its inhibitor in malignancy. *Semin Thromb Hemost* 2007; 33: 667-72
32. Suzuki K, Deyashiki Y, Nishioka J, Kurachi K, Akira M, Yamamoto S, Hashimoto S. Characterization of a cDNA for human protein C inhibitor. A new member of the plasma serine protease inhibitor superfamily. *J Biol Chem* 1997; 262: 611-16.
33. Torun D, Deda G, Ertem M, Uysal Z, Yılmaz E, Akar N. A novel protein C inhibitor gene mutation in pediatric stroke patients after bone marrow transplantation. *Mol Bio Rep* 2013; 40: 5465-68

## ■ Derleme

# Çok işlevli proteinler: Moonlight proteinler

## *Multifunctional Proteins: Moonlight Proteins*

Birşen BİLGİCİ\* , Sebatı Sinan ÜRKMEZ , Yeşim CİVİL 

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Samsun/TÜRKİYE

### Öz

Son yıllarda birçok proteinin birden fazla fonksiyona sahip olduğu bilgisi, bir gen - bir protein - bir fonksiyon fikrinin yerini almaya başlamıştır. Moonlight proteinler çok fonksiyonlu proteinlerin bir alt sınıfıdır. Moonlight protein kavramı, tek bir polipeptid zincirinin çoklu biyokimyasal fonksiyonları yerine getirmesini tanımlamaktadır. Bugün 300'den fazla moonlight proteini tanımlanmıştır. Bununla birlikte, veriler daha fazla moonlight proteini olabileceğini göstermektedir. Moonlight proteinlerin bilinen örnekleri arasında, reseptörler, enzimler, transkripsiyon faktörleri, adezinler ve hücre iskeleti de dahil olmak üzere çeşitli protein türleri bulunmaktadır. Bir moonlight protein, farklı hücre tiplerinde, farklı hücre içi lokasyonlarda, farklı oligomerik durumlarda bulunarak veya bir ligandın, substratın, kofaktörün ya da ürünün konsantrasyonundaki değişikliklere bağlı olarak ikinci fonksiyonunu aktive edebilir. Ancak bu mekanizmalar, özgül değildir ve fonksiyonlar arasındaki geçişlerde bu yollardan birini ya da bunların bir kombinasyonunu kullanabilmektedir. Moonlight proteinlerin, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi hastalık fenotipleri ile ilişkili olabileceği öne sürülmektedir. Bunun yanı sıra hastalık patogeneplerinde yer alarak tedavi süreçlerine bir takım zorluklar getirmekle birlikte potansiyel bir tedavi hedefi ve tedavi aracı olarak da fırsatlar sunmaktadır. Biz bu derlemede, başlıca insanlardaki mevcut moonlight proteinlerin biyokimyasal, fizyolojik ve patolojik özelliklerini ve hastalıklarla ilişkilerini tartışarak mevcut temel ve biyokimyasal bilgilerimize katkıda bulunmayı amaçladık.

**Anahtar kelimeler :** Moonlight proteinler; çok işlevli proteinler; protein fonksiyonu; metabolik düzenlenme; ilave yeni fonksiyonlar

Sorumlu yazar\*: Birşen Bilgici , Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Samsun/TÜRKİYE

E-posta: b\_bilgici@yahoo.com

ORCID: 0000-0001-7783-5039

Gönderim: 20-03-2019 Kabul: 08-01-2020

Doi:10.18663/tjcl.542346

## Abstract

**Aim:** In recent years, the knowledge that many proteins have more than one function has begun to take the place of one gene – one protein - one function idea. Moonlight proteins are a subclass of multi-functional proteins. The concept of moonlight protein describes the ability of a single polypeptide chain to carry through multiple biochemical functions. Today more than 300 moonlight proteins have been identified. However, the data indicate that there may be more moonlight proteins. Known examples of moonlight proteins include a variety of protein types including receptors, enzymes, transcription factors, adhesins, and scaffold proteins. A moonlight protein can activate the second function in different cell types, at different intracellular locations, at different oligomeric states, or depending on changes in concentration of a ligand, substrate, cofactor or a reaction product. However, these mechanisms are non-specific and the mechanism of transition between functions may use one of them or their combination. Moonlight proteins have been suggested to be associated with disease phenotypes such as neurodegenerative diseases and cancer. Moonlight proteins bring some difficulties to treatment processes by taking place in pathogenesis of diseases but also offer opportunities as a potential treatment target and treatment tool. In this review, we aimed to contribute to our current basic and biochemical knowledge by discussing the biochemical, physiological and pathological features of the present moonlight proteins and their relationships with diseases.

**Key words:** Moonlight proteins; multifunctional proteins; protein function; metabolic coordination; additional novel functions

## Giriş

Proteinler canlı organizmasında çok fazla çeşitlilikte fonksiyona sahip makromoleküllerdir. İnsan genom dizisinin anlaşılmasıyla, birçok farklı hücre tipine sahip böyle bir kompleks organizma için beklenenden çok daha az proteinin kodlandığı (19000 gen) ortaya çıkmıştır [1,2,3]. Çoğu proteinin tek bir fonksiyonu olmasına rağmen bazı proteinler multifonksiyoneldir ve her geçen gün bunlara yenileri eklenmektedir, dolayısıyla günümüzde “bir protein - birden fazla fonksiyon” fikri “bir gen - bir protein - bir fonksiyon” hipotezinin yerini almaya başlamıştır [2,3,4]. Bu çok fonksiyonlu protein tiplerinden biri de moonlight proteinlerdir. Bu derlemede, başlıca insanlardan izole edilen moonlight proteinlere odaklanılmakla birlikte, örnek çeşitliliğini arttırmak amacıyla diğer türlerden de örnekler verilmiştir.

Moonlight tanımı, tek bir polipeptid zinciri tarafından iki veya daha fazla farklı fonksiyonu gerçekleştiren proteinlere karşılık gelmektedir [5]. İlk olarak 1980'lerin sonlarında Wistow ve Piatigorsky tarafından lens kristalinlerinin, metabolik enzim fonksiyonlarının gösterilmesiyle keşfedilmiştir [7,6]. Başlangıçta Piatigorsky bu proteinleri “gen paylaşımı” proteinleri olarak adlandırmış daha sonra Constance Jeffery tarafından 1999'da “moonlight” tanımı gündüz ve gece farklı işler yapan insanlara benzerlik oluşturmak için kullanılmış ve kabul görmüştür [5,8].

Moonlight fonksiyonlar, gen füzyonlarını, ribonükleik asit (RNA) splicing varyantlarını, homolog protein ailelerini veya multipl proteolitik fragmentlere bağlı ek fonksiyonları kapsamamaktadır. Ayrıca geniş substrat spektrumuna sahip detoksifikasyon enzimleri, anormal koşullarda (örneğin; fizyolojik olmayan bir substratın yüksek konstrasyonu) farklı reaksiyonları katalizleyen karmaşık fonksiyonlu enzimler, bir biyokimyasal fonksiyonla sonuçlanan farklı yollarda veya fizyolojik süreçlerde birden fazla hücresel yolda farklı fonksiyonlara sahip pleiotropik proteinler ve farklı hücre tiplerinde veya hücre altı lokasyonlarda aynı işleve sahip proteinler, moonlight protein kapsamında değildirler [4,9,10,11].

Moonlight proteinlerin çoklu fonksiyonları birbiriyle bazı durumlarda tamamen ilgisiz bazı durumlarda ise bağlantılı olabilir. Bu durum beraberinde organizmaya bir dizi faydalar getirmektedir. Moonlight proteinler, birbiriyle ilişkili hücresel aktivitelerin koordinasyonuna aracı olabilmektedir [9]. Kistik fibrozis transmembran iletkenlik düzenleyici (CFTR) protein, hem siklik adenosin monofosfata (cAMP) bağlı bir klorür kanalı hem de bir epitelyal sodyum kanalı (ENaC) düzenleyicisidir. CFTR'nin defektif olması mukoza epitel hücresinde Cl<sup>-</sup> retansiyonu ve aşırı Na<sup>+</sup> absorpsiyonu ile sonuçlanır ki bu durum proteinin bifonksiyonel karakteriyle ilgilidir [12]. 1-cys peroksiredoksin, iki farklı aktif bölgede fosfolipaz A2 ve

glutasyon peroksidaz aktiviteleri gösteren bifonksiyonel bir enzimdir ve bu iki fonksiyonun oksidatif strese karşı birlikte hareket ettiği düşünülmektedir [13]. Trombin, koagülasyon kaskadında hem fibrinojeni fibrine çeviren bir proteaz hem de G-protein ilişkili proteaz aktive edici reseptör-1 (PAR-1) aktivasyonu ile trombosit adezyonuna neden olan bir sinyal proteindir [14]. Siklin bağımlı kinaz 1 (CDK1) hücre siklusunun geç G2 ve mitoz fazlarını kontrol eden bir serin/treonin kinazdır. Anafaz uyarıcı kompleks/siklozom (APC/C) ise CDK1 ile kompleks oluşturarak mitotik sürecin sonlanmasını kontrol eden bir düzenleyici proteindir. CDK1-APC/C kompleksinin siliyalı hücrelerde mitoz bölünmeden sonra sentriollerin üretimini, gelişimini ve siliyer yapıları farklılaşmasını sağladığı bulunmuştur [15]. Bir proteinin iki tamamlayıcı fonksiyona sahip olması, farklı yollar arasında bir geçiş görevi görebileceğini de düşündürmektedir [9]. Örneğin, ökaryotik mitokondride, Lon ATP'ye bağımlı bir proteazdır fakat aynı zamanda da bir şaperondur [16].

Moonlight kavramı sıklıkla proteinleri belirtmek için kullanılmakla birlikte güncel bir çalışmada çinko parmak (ZnF) motif içeren bir protein ailesi olan Cys2His2 (C2H2)-ZNF'ye ait mRNA'ların da sıra dışı bir özelliği keşfedilmiştir. Bu mRNA'lar üzerindeki çinko parmak motiflerindeki tekrarlı sekansların, mRNA'nın poliadenilasyon sürecini kısıtladığı ve bundan bağımsız olarak mRNA'nın nükleustan sitozole translokasyonunu inhibe ettiği tespit edilmiştir [17]. Bu durum ihtiyaç halinde kullanılmak üzere bu mRNA'ların depolanabileceğini düşündürmekle birlikte moonlight kavramının kapsamını transkript düzeyine genişletme potansiyelini de taşımaktadır.

### **Moonlight Proteinlerin Evrimi**

Gancedo ve Flores, "evrimde nihai bir amaç olmadığı ve yeni işlevlerin sadece var olanları uyarlayarak geliştiği" teorisinden yola çıkarak belirli bir yeni fonksiyonun, evrim sırasında seçilmesinin ancak organizma için avantaj sağladığında olası olduğunu belirtmişlerdir [18]. Bununla birlikte, çoklu rolleri olan proteinlerin neden evrimleştiğini açıklayan evrensel olarak kabul edilmiş bir teori yoktur [5,19]. Moonlight proteinlerin, tek fonksiyona sahip çok sayıda proteinin sentezlenmesi için gereken amino asitleri

ve enerjiyi muhafaza ederek evrimsel açıdan organizma için avantajlı bir durum yarattığı düşünülmektedir [5]. Bazı moonlight proteinlerin ise, herhangi bir sitozolik proteinin medyan uzunluğundan daha uzun ve buna bağlı olarak daha kararlı bir yapıda oldukları bulunmuştur. Bu durum hücre sitozolünden daha zorlu bir ortamda yeni bir fonksiyon için gerekli kararlılığa nasıl sahip olduklarını ve moonlight fonksiyonu için seçilme nedenlerini açıklarken, proteinin esas işlevini etkilemeden, küçük bir yüzey bölgesinin yeni bir protein bağlama bölgesi oluşturmak için evrimsel modifikasyona uğrama olasılığını yaratmaktadır [20].

### **Moonlight Protein Örnekleri ve Fonksiyonlar Arası Geçiş Mekanizmaları**

Moonlight proteinler birçok organizmada yaygın bir şekilde bulunmaktadır ve bugüne kadar 300'den fazla moonlight proteini tanımlanmıştır [21]. Bununla birlikte, veriler daha fazla moonlight proteini olabileceğini göstermektedir [20]. Moonlight proteinlerin bilinen örnekleri arasında, reseptörler, enzimler, transkripsiyon faktörleri, adezinler ve hücre iskelet proteinleri gibi çeşitli protein türleri bulunmaktadır [4,5,22]. Glikolitik yoldaki 10 enzimin 7'sinin ve trikarboksilik asit (TCA) döngüsündeki 8 enzimin 7'sinin de moonlight fonksiyonuna sahip olduğu bildirilmiştir [23,24]. Tompa ve ark., bazı moonlight proteinlerin, aslında düzensiz proteinler (IUP) olarak bilinen, iyi tanımlanmış üç boyutlu bir yapıya sahip olmayan proteinler olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Örnek: p53 proteini) [25], ancak bu görüşe fazla ilgi gösterilmemiştir [26]. Tanımlanmış bazı insan moonlight proteinleri Tablo 1 'de verilmiştir.

Bazı moonlight proteinler, her iki işlevi aynı anda yerine getirebilirken bazıları moonlight fonksiyonlarını, hücre içinde meydana gelen değişikliklere bağlı olarak gerçekleştirir. Bir moonlight protein, farklı hücre tiplerinde, farklı hücre içi lokasyonlarda, farklı oligomerik durumlarda bulunarak veya bir ligandın, substratın, kofaktörün ya da bir reaksiyon ürününün konsantrasyonundaki değişikliklere bağlı olarak ikinci fonksiyonunu aktifleştirebilir [27,28]. Bu mekanizmalar, özgül değildir, bir proteinin fonksiyonları arasındaki geçişte bunlardan biri ya da bunların bir kombinasyonu kullanılabilir [5].

**Tablo 1.** İnsanlarda tanımlanan bazı moonlight proteinler

Protein	1. Fonksiyon	2. Fonksiyon
1-Sistein Peroksiredoksin	Asidik kalsiyumdan bağımsız fosfolipaz A2 (aiPLA2)	Selenyum içermeyen glutatyon peroksidaz
Isı şok proteini 60 (Hsp60)	Proteinlerin mitokondri dışına transportu, doğru ve yeniden katlanmanın uyarılması, yanlış katlanmanın önlenmesi	Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) için apolipoprotein apo A-II reseptörü
Enolaz	Enolaz, glikoliz enzimi	Plazminojen bağlama
Laktoz sentaz	Laktoz sentaz, enzim	Galaktoziltransferaz, enzim
Delta-aminolevulinik asit dehidrataz	5-aminolevulinat dehidrataz, enzim	Proteozom inhibitörü
Lökotrien A4 hidrolaz	Lökotrien A-4 hidrolaz, enzim	Aminopeptidaz, enzim
Lizil hidroksilaz	Lizil hidroksilaz izoform 3, enzim	Kollajen glukoziltransferaz, enzim
Fosfogliserat kinaz	Fosfogliserat kinaz, glikoliz enzim	Disülfid redüktaz, enzim
Timozin beta-4	Polimorfonükleer lökositlerinde G-aktin sekestrasyonu	Salgılanabilen anti-inflamatuar ajan
Timidin fosforilaz	Pirimidin metabolizması, kurtarma yolunda dTMP biyosentezi	Trombosit kaynaklı endotel hücre büyüme faktörü
Kalretikülin	Şaperon	Adezin
Gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenaz	Glikoliz enzimi	İnterferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) ile aktive transkripsiyon inhibitörü (GAIT) kompleksi bileşeni
Ribozomal protein S7, L11, L5, L23	Ribozomun 40S (S7) ve 60S (L11, L5, L23) alt birimi bileşenleri	Ubikitin ligaz inhibisyonu
Timidilat sentaz	Pirimidin metabolizması de novo timidilat sentezi	Kendi mRNA transkripsiyonunun inhibisyonu
Dihidrofolat redüktaz	Tetrahidrofolat biyosentezi enzimi	Kendi mRNA'sına bağlanarak sentezini düzenler
Akonitaz	Sitrik asit döngüsü enzimi	Demir duyarlı element bağlayıcı protein (IRE-BP)
Band 3 anyon değiştirici	Plazma membranı boyunca inorganik anyonların taşınması	Glikolitik enzimlerin katalitik aktivitesinin düzenlenmesi
Kistik fibrozis transmembran iletkenlik düzenleyici (CFTR)	Klorid taşıyıcı; Adenozin trifosfat (ATP) bağlayan ve hidrolize eden nükleotid bağlayıcı alanlar içerir.	Bazı iyon kanallarının düzenlenmesi
Çoklu ilaç direnci protein 1 (MDR)	ATP bağımlı transmembran taşıyıcı; ilaçlar ve diğer küçük moleküllü bileşikler	Hacim ile aktive klorür kanallarının düzenlenmesi
Aldolaz	Glikoliz, enzimi	Ovumun zona pellusida proteinleri ile etkileşim
Fosfatidilinositol bağlayıcı klatrin montaj proteini	Endositozda klatrin kaplı çukur oluşumu ve klatrin ve adaptör protein kompleksi 2'yi hücre zarına taşıma	Transkripsiyon aktivasyonu
Metilglutakoniol-Koenzim A hidrataz	Lösin katabolizmasında enzim	RNA bağlama
Fruktoz-1,6-bisfosfataz	Glukoneogenez enzimi	Hipoksi indüklenebilir faktör (HIF) proteinine bağlanır ve inhibe eder
Glutatyon S-transferaz M3	Glutatyon S-transferaz enzim	Spermatozoan üzerinde bulunur ve rekombinant insan zona pellusida protein 4 (rhZP4) ile etkileşime girer
Fosforuktokinaz 1	Glikoliz enzimi	Transkripsiyon faktörleriyle etkileşim
Fosfogliserat kinaz 1	Fosfogliserat kinaz, enzim	mRNA'yı bağlayarak ürokinaz reseptörünün ekspresyonunu düzenler
Glutatyon peroksidaz 4	Fosfolipit hidroperoksit glutatyon peroksidaz	Zona pellusida proteinleri ile etkileşim
Piruvat kinaz izozim M2	Piruvat kinaz, glikoliz enzimi	Transkripsiyon düzenleyicisi
Trioz-fosfat izomeraz	Triozfosfat izomeraz, enzim	Zona pellusida proteinleri (rhZP3 ve rhZP4) ile etkileşim

\*Tablodaki veriler MOONPROT veri bankasından (<http://moonlightingproteins.org/>) elde edilmiştir [21].



### **Bazı proteinler hücre içinde ve dışında farklı fonksiyona sahiptirler**

Hücre sitozolünde fosfoglukoz izomeraz (PGI) bir glikoliz enzimidir ve birçok hücre tarafından ekstrasellüler ortama salgılanabilir ve en az dört ek fonksiyona sahiptir [5]. PGI ile amino asit dizilimi % 90 homoloji gösteren nörolokin (NLK) lektin ile stimule edilmiş T hücreleri tarafından salınan bir lenfokindir, ayrıca spinal ve sensorik nöronlar için nörotrofik etkiye sahiptir [29,30,31]. PGI ile aynı protein olduğu sekans analizi ile belirlenen otokrin motilite faktörü (AMF) in vitro hücre göçünü ve in vivo metastazı uyaran, kanser hücrelerinden salgılanan bir sitokindir [32]. İnsan myeloid lösemi hücrelerden salınan farklılaşma ve matürasyon mediatörü (DMM) amino asit sekansının PGI ve NLK ile %100 homoloji gösterdiği bulunmuştur [33].

Matriks metalloproteinazları (MMP), ekstrasellüler matriks ile bazal membran komponentlerini parçalayarak matriksin protein turnoverını sürdüren homolog bir enzim ailesidir. Hücre içinde farklı substratlar üzerinde proteolitik etkiye sahip olmakla birlikte aynı zamanda bir transkripsiyon faktörü, sinyal molekülü ve bakterisidal etkili proteinlerdir [34].

Timidin fosforilaz ile trombositten türetilmiş endotelial hücre büyüme faktörü (PD-ECGF) 120 aminoasitlik aynı sekansa sahiptir. Hücre sitozolünde timidin fosforilaz, timidin ve deoksiüridini geri dönüşümlü olarak desfosforile ederek bunları kendilerine özgül bazlara ve 2-deoksiriboz 1-fosfata ayrılmasını katalize ederken, PD-ECGF endotelial hücre gelişimini, kemotaksisi ve anjiyogenezi ekstrasellüler olarak uyarır [35].

### **Bazı proteinler ekspresyon bölgelerine göre farklı fonksiyona sahiptirler**

Moonlight proteinler, eksprese edildikleri hücre türüne göre farklı fonksiyonlar gösterebilmektedir [36]. Nöropilin, endotelial hücrelerde eksprese edildiğinde, vasküler endotelial büyüme faktörünü tanıyan ve anjiyogenezi uyaran bir hücre yüzey reseptörüdür. Aynı protein nöronlarda eksprese edildiğinde ise kollapsin/semaforini tanıyan ve aksonları uygun lokalizasyonlara yönlendiren bir hücre yüzey reseptörüdür [37].

### **Bazı proteinler, monomerik ve multimerik formlarda farklı fonksiyonlara sahiptir**

Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz, tetramer yapıda glikolitik yoldaki enzim fonksiyonunu gösterirken monomer yapıda, nükleer urasil-DNA glikozilaz fonksiyonunu göstermektedir [38]. Piruvat kinaz da yine tetramer yapıda glikolitik yoldaki metabolik aktivitesini gösterirken monomerik yapıda ise tiroid hormon bağlayıcı protein fonksiyonunu gösterir [39].

### **Bir enzimin fonksiyonu, mevcut substrat, ligand veya kofaktör miktarı ile değişebilmektedir**

Akonitaz, yüksek hücrel demir konsantrasyonlarında sitrik asit siklusunda yer alan demir bağımlı bir enzimdir. Hücrel demir konsantrasyonu azaldığında, üzerindeki Fe-S kümesini dolayısıyla akonitaz aktivitesini kaybetmekte ve demir yanıt elementi bağlayıcı protein (IRE-BP) rolünü üstlenmektedir [40]. Bu durumda demir yanıt elementine (IRE) bağlanan IRP-BP transferrinin mRNA translasyonunu artırırken, ferritinin mRNA translasyonunu inhibe ederek demir konsantrasyonu artırılmaya çalışılır.

### **Bağlanma bölgeleri ikinci fonksiyona sahip olabilir**

Bazı moonlight enzimler, farklı bağlanma bölgeleri kullanarak çoklu işlevlerini yerine getirebilmektedirler [10]. Enolaz glikoliz yolağında yer alan ubikitöz bir enzimdir. Aynı zamanda hücre dışında plazminojeni bağlama fonksiyonu göstermektedir. Plazminojen bağlayan bölgenin enolazın katalitik aktif bölgesinden farklı, molekülün C-terminalinde genellikle lizin içeren kısa bir amino asit sekansı olduğu bulunmuştur [41]. Eya proteinleri (Eyes Absent proteins) six homeoprotein (Sineoculis homeobox) ailesinin başlıca transkripsiyonel ko-aktivatörleridir ve organogenezde önemli rolleri vardır. Buna ek olarak bu proteinler, C-terminalinde iki farklı bölgede, Mg<sup>2+</sup> bağımlı tirozin fosfataz aktivitesine sahiptir [42]. Bununla birlikte bazı proteinler için mevcut aktif bölgenin kullanıldığı durumlar da vardır. Örneğin IRE-BP'nin RNA-bağlama bölgesinin akonitazın aktif bölgesinde yer aldığı gösterilmiştir [43].

### **Post translasyonel modifikasyonlar çoklu fonksiyon sağlayabilir**

Çok fonksiyonellik, post translasyonel modifikasyonların bir sonucu olarak da ortaya çıkabilmektedir [44]. Bazı hücre yüzey proteinlerinde birkaç yüzey amino asidinin veya C terminal kalıntısının lizinler ile yer değiştirmesiyle, genel protein yapısında veya orijinal işlevinde önemli değişikliklere neden olmaksızın plazminojen için bağlanma bölgeleri oluştuğu gösterilmiştir [20]. Ayrıca fosforilasyon da moonlight protein fonksiyonuna geçişe neden olabilmektedir. Örneğin, fosfoglukoz izomerazın Ser-185 kalıntısından fosforilasyonu, glikolitik enzim fonksiyonunu durdururken, proteinin otokrin motilite faktörü fonksiyonu devam eder [45]. Buna ek olarak GAPDH'nin fosforilasyon, nitrozilasyon, asetilasyon gibi posttranslasyonel modifikasyonları proteinin farklı fonksiyonları ile ilişkilidir [46].

### Hastalıkların Patofizyolojisinde ve Tedavisinde Moonlight Proteinlerin Yeri

Bazı hastalıkların moonlight proteinler ile ilişkili olabileceğini gösteren veriler bulunmaktadır. Konformasyonu değişen proteinlerin yeni yapılarla bağlanarak çeşitli patolojilere sebep olması bir moonlight olgusudur [47]. Trioz fosfat izomeraz (TPI) enzimidaki bazı mutasyonlar, yeni protein-protein etkileşimlerine yol açarak aneminin ve hatta şiddetli nörolojik hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir. Oluşan TPI agregatları düzensiz yapıdadır ve diğer hücre proteinlerinin de birikmesine yol açabilmektedir [48]. GAPDH'nin,  $\beta$ -amiloid öncü proteini, huntingtin ve  $\alpha$ -sinüklein gibi nörodejeneratif hastalıklarda ( Alzheimer, Huntington, Parkinson hastalıkları) rol oynayan proteinlere bağlandığı gösterilmiştir [49]. Bu yeni bağlanma modelinde, protein birikiminin yansira, hücre içi enerji metabolizmasının yavaşlamasına da neden olarak nörodejenerasyona katkıda bulunulabileceği ileri sürülmüştür [50]. Senil sistemik amiloidoz ve ailesel amiloid polinöropatisinde de transtiretinin konformasyonunun değişmesi, amiloid fibrillerinin oluşumuna yol açarak, nörodejenerasyon patogenezinde önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir [51,52].

Moonlight proteinler anormal enzimatik özellikler göstererek de bazı patolojilere yol açabilirler. Dihidroliipoamid dehidrogenaz (DLD), çeşitli çoklu enzim komplekslerinde bulunan flavin bağımlı, homodimerik bir oksidoredüktazdır. DLD aktivitesi, hücrede enerji ve redoks dengesi için kritik öneme sahiptir ve aktivite eksikliğinde infantlarda büyüme ve gelişme hızının yavaşlaması, hipotoni ve metabolik asidozla karakterize şiddetli değişen derecelerde patolojilere yol açmaktadır. Homodimer yapısı bozulduğunda DLD monomerleri enerji metabolizmasındaki görevlerini yerine getiremezken ayrıca bu monomerler moonlight fonksiyon kazanarak proteaz aktivitesi ile mitokondriyal proteinleri yıkıma uğratmaktadır [53].

Moonlight proteinler kanserle ilişkili bazı hücre proteinleri ve biyokimyasal yollarla da yer alır [9]. Ribozom alt birimlerine ait bir çok yapısal protein, aynı zamanda çeşitli kanser tiplerinin oluşumunda ve progresyonunda önemli görevleri olan birer sinyal molekülü ve/veya transkripsiyon faktörüdür. Söz konusu bu etkiler hem onkogenik hem de tümör supresör özellikte olabilmektedir [54]. Isı şok proteini 90 (Hsp90), proteinlerin ATP aracılı katlanmasına, kararlılığına, proteolitik döngüsüne aracılık eden sitoplazmik bir şaperondur [55]. Bununla birlikte, Hsp90 hem salgılanabilen bir protein hem de membran yüzey proteinidir. Ekstrasellüler Hsp90'nın salgılanabilen formu pro-onkogenik bir protein olarak kabul edilmektedir [56].

Salgılanmış Hsp90, anjiyogenez ve kanser hücresi invazyonuna katkıda bulunan matris metalloproteinaz-2'yi (MMP-2) kararlı hale getirir [57]. Ayrıca bu formun prostat kanserinde E-kaderin fonksiyonunu değiştirdiği ve epitelyal-mezenkimal transformasyona yol açtığı da bildirilmiştir [58].

Glikolitik yola ait  $\alpha$ -enolazın artmış ekspresyonunun, nöroblastoma ve akciğer kanserinde tümör gelişimi ile korelasyonu bildirilirken, bir çok tümörün potansiyel tanılal belirleyicisi olduğu düşünülmektedir. Tümörlerin dışında  $\alpha$ -enolazın değişmiş ekspresyonlarının Alzheimer, reumatoid artrit gibi diğer hastalıklarla da ilişkili olduğu rapor edilmiştir [59]. Kanserle ilişkili bazı proteinler Tablo 2'de özetlenmiştir.

**Tablo 2.** Kanserle ilişkili moonlight proteinler

Protein	Primer Fonksiyon	Ek Fonksiyon
Transglutaminaz 2 (TG2)	Sitoplazma; Protein çapraz bağlarının oluşumunun katalizi	Nükleus; Pro-tümöral gen ekspresyonunu düzenler Ekstrasellüler bölge; Hücre adezyonu
GAPDH	Sitoplazma; Glikolitik enzim	Nükleus; p53 gen düzenlenmesine ve apoptotik yolların aktivasyonuna katılır, bunun yanında hücre farklılaşmasını da uyararak pro-tümöral etki gösterebilir
p53	Nükleus; Transkripsiyon faktörü	Mitokondri; Mitokondriyal membran geçirgenliğinin artırılması Nükleus; DNA onarımı ve apoptoz
Yüksek mobiliteli grup B1 (HMGB1)	Nükleus; Nükleozomlara bağlanarak transkripsiyon faktörlerinin etkileşimini düzenler	Ekstrasellüler bölge; inflamatuvar sitokin
$\beta$ -katenin	Nükleus; Wnt genleri için transkripsiyon faktörü	Sitoplazma; diğer kateninler ve aktinler ile etkileşim
Non-steroid anti-inflamatuar ilaç aktive gen (NAG-1)	Ekstrasellüler bölge; Hücre büyümesinin inhibisyonu, apoptozun ise uyarılması	Nükleus: İnvazyona, metastaza, EMT, plasminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) ve MMP'lerin salınımına yönelik pro-tümöral gen ekspresyonunu düzenleme
MMP'ler	Ekstrasellüler bölge; proteoliz ve büyüme faktörü aktivasyonu veya serbestleştirilmesi	Nükleus: Konektif doku büyüme faktörü (CTGF) ve NF- $\kappa$ B gibi genlerin ekspresyonunu düzenler
E-kaderin	Hücre yüzeyi; hücre adezyonuna ve kontakt inhibisyonuna katılır	Nükleus: C-terminal fragment-2 (CTF2) ile etkileşim sonucu apoptozun inhibisyonu

\* Bu tablo Kyung-Won M. ve ark.'ın "Moonlighting proteins in cancer (2016)" adlı mini derlemesinden alınarak tekrar düzenlenmiştir [56].

Birden fazla fonksiyonu olan bir moonlight proteinin hastalık halinde bu fonksiyonlarından hangisi ve/veya hangilerinin etkilendiği bir belirsizlik yaratmakta ve sadece tek bir fonksiyonuna yönelik tedavi yeterli olamayabilmektedir [9]. Bazı durumlarda ise moonlight proteininin sadece tek bir fonksiyonunu engellemek gereklidir [4]. Örneğin, Six homeoproteinlerin transkripsiyon koaktivatörü olan Eya proteinleri aynı zamanda Tyr fosfataz aktivitesine sahiptir. Söz konusu bu fosfataz aktivitesinin hedefleri H2AX ve ERp proteinleridir ve bu proteinlerin defosforilasyonu sırasıyla DNA hasarı durumunda hücreyi apoptotik yol yerine DNA onarımına yönlendirmekte ve anti-tümöral transkripsiyonel aktivitenin inhibisyonuna neden olmaktadır. Dolayısıyla Eya proteinlerinin fosfataz aktivitesinin inhibisyonu kanser tedavisi için önem taşımaktadır [42]. Fosfoglikoz izomerazın otokrin motilite faktörü aktivitesi, motilite ve metastazın uyarılması, endotelial hücrelerde anjiyogenezin uyarılması, apoptozun inhibisyonu gibi etkilere sahiptir dolayısı ile kemoterapi için iyi bir hedefdir. Ancak kemoterapotiklerin, fosfoglukozun enzim, nörolökin ve matürasyon faktörü gibi etkilerini engellememesi yaşamsal açıdan önemlidir [10].

Moonlight proteinler potansiyel tedavi hedefleri olmalarının yanında tedavi aracı da olabilir. Örneğin, Parkinson hastalığında bir monoamin oksidaz B inhibitörü olan deprenil kullanılmaktadır. Bir deprenil türevi olan TCH346, monoamin oksidazı etkin bir şekilde inhibe etmese de sahip olduğu nöro-protetik etki hastalığın tedavisine katkı sağlamaktadır [60]. Steril  $\alpha$  motif ve histidin (H) aspartat (D) domain içeren protein 1 (SAMHD1), HIV-1 enfeksiyonlarında kullanılan anti viral bir dNTP trifosfohidrolazdır. Yapılan bir çalışmada SAMHD1'in, DNA çift iplik kırılmalarının homolog rekombinasyonunu kolaylaştırdığı, dolayısıyla kanser tedavisinde fayda sağlayabileceği bildirilmiştir [61]. Öte yandan sitokin fonksiyonlu moonlight proteinler, bağışıklık sisteminin modülasyonu amacıyla kullanım alanı sunmaktadır. Örneğin, İnsan şaperon proteini Hsp10, immün supresif etkilere sahiptir ve multipl skleroz, romatoid artrit, ve psöriyazis tedavisi için rekombinant Hsp10'un güvenilirliği ve etkinliği değerlendirilmektedir [62,63,64].

Bazı proteinler moonlight özelliklerinden dolayı hastalık tanısında kullanılabilecek potansiyel belirteçler olabilir. RPL10 ribozomun 60S alt ünitesine ait bir yapısal proteindir. Ancak bu proteinin, karsinogenez sürecinde artan mitokondriyal ROS üretiminin nötralizasyonu ile ilgili proteinlerin ekspresyonunu düzenlenmesi ve elektron transfer zincirinde kompleks 1'i etkileyerek, ROS seviyelerinin düzenlenmesinde yer aldığı bildirilmiştir. Ayrıca RPL10'un pankreatik kanser olgularında tümörögenезin bir belirteci olabileceği ileri sürülmüştür [65].

### **Moonlight Protein Veri Tabanları**

Protein Veri Bankasındaki proteinlerle karşılaştırıldığında, moonlight proteinleri kapsayan az sayıda veri vardır. Ancak moonlight proteinler için yeni veri tabanları oluşturulmaktadır. Şu anda, üç adet moonlight protein veri tabanı bulunmaktadır. Bunlardan birincisi, MultitaskProtDB (<http://wallace.uab.edu/multitaskII/>) [66]. İkincisi olan MOONPROT (<http://moonlightingproteins.org/>), Jeffery laboratuvarı tarafından derlenen bir veri tabanıdır [21]. Üçüncüsü MoonDB (<http://tagc.univ-mrs.fr/MoonDB/>), literatürden elde edilen insan moonlight proteinlerini ve network tabanlı bir yaklaşımla moonlight protein adaylarını içermektedir [67]. Ayrıca moonlight protein-protein etkileşimleri, APID (Agile Protein Interactomes DataServer) sitesinde (<http://cicblade.dep.usal.es:8080/APID/init.action>) yer almaktadır [68].

### **Sonuç**

Moonlight proteinler normal hücre çoğalması, farklılaşması ve biyokimyasal yollarda çevresel şartlara göre birden fazla fonksiyon üstlenerek metabolizmanın düzenlenmesinde rol alırken, birçok hastalık ve kanserin patogeneğinde de rol oynadığından potansiyel tedavi hedefi olarak da umut vadetmektedir ve bu konuda daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

### **Çıkar çatışması / finansal destek beyanı**

Bu yazıdaki hiçbir yazarın herhangi bir çıkar çatışması yoktur. Yazının herhangi bir finansal desteği yoktur.

### **Kaynaklar**

1. Ezkurdia I, Juan D, Rodriguez J et al. Multiple evidence strands suggest that there may be as few as 19,000 human protein-coding genes. *Hum Mol Genet* 2014; 23: 5866–78.
2. O'Leary NA, Wright MW, Brister JR et al. Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: current status, taxonomic expansion, and functional annotation. *Nucleic Acids Res* 2016; 44: 733–34.
3. Omenn GS, Lane L, Lundberg EK et al. Metrics for the human proteome project 2016: progress on identifying and characterizing the human proteome, including post-translational modifications. *J Proteome Res* 2016; 15: 3951–60.
4. Jeffery CJ. Moonlighting proteins—an update. *Mol BioSyst* 2009; 5: 345–50.
5. Jeffery CJ. Moonlighting proteins. *Trends Biochem Sci* 1999; 24: 8–11.
6. Piatigorsky J and Wistow GJ. Enzyme/crystallins: gene sharing as an evolutionary strategy. *Cell* 1989; 57: 197–99.
7. Wistow G and Piatigorsky J. Recruitment of enzymes as lens structural proteins. *Science* 1987; 236: 1554–56.
8. Cvekl A and Zheng D. Gene sharing and evolution. *Hum Genomics* 2009; 4: 66–67.



9. Jeffery CJ. Multifunctional proteins: examples of gene sharing. *Ann Med* 2003; 35: 28–35.
10. Copley SD. Moonlighting is mainstream: Paradigm adjustment required. *Bioessays* 2012; 34: 578–88.
11. Copley SD. Enzymes with extra talents: moonlighting functions and catalytic promiscuity. *Curr Opin Chem Biol* 2003; 7: 265–72.
12. Stutts MJ, Canessa CM, Olsen JC et al. CFTR as a cAMP-dependent regulator of sodium channels. *Science* 1995; 269: 847–50.
13. Chen JW, Dodia C, Feinstein SI, Jain MK, Fisher AB. 1-Cys peroxiredoxin, a bifunctional enzyme with glutathione peroxidase and phospholipase A2 activities. *J Biol Chem* 2000; 275: 28421–27.
14. Vu TK, Hung DT, Wheaton VI, Coughlin SR. Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation. *Cell* 1991; 64: 1057–68.
15. Al Jord A, Shihavuddin A, Servignat d'Aout R et al. Calibrated mitotic oscillator drives motile ciliogenesis. *Science* 2017; 358: 803–06.
16. Suzukia CK, Rep M, van Dijl JB, Suda K, Grivell LA, Schatz G. ATP-dependent proteases that also chaperone protein biogenesis. *Trends Biochem Sci* 1997; 22: 118–23.
17. Russo J, Jalkanen AL, Heck AM, Schmidt CM, Wilusz J, Wilusz CJ. Sequences encoding C2H2 zinc fingers inhibit polyadenylation and mRNA export in human cells. *Sci Rep* 2018; 8: 16995.
18. Gancedo C and Flores CL. Moonlighting proteins in yeasts. *Microbiol Mol Biol Rev* 2008; 72: 197–210.
19. Huberts DH and van der Klei IJ. Moonlighting proteins: an intriguing mode of multitasking. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803: 520–25.
20. Amblee V and Jeffery CJ. Physical Features of Intracellular Proteins that Moonlight on the Cell Surface. *PLoS ONE* 2015; 10: e0130575.
21. Chen C, Zabad S, Liu H, Wang W, Jeffery C. MoonProt 2.0: an expansion and update of the moonlighting proteins database. *Nucleic Acids Res* 2018; 46: 640–44.
22. Jeffery CJ. Moonlighting proteins: complications and implications for proteomics research. *Drug Discov Today: Targets* 2004; 3: 71–78.
23. Lu Z and Hunter T. Metabolic Kinases Moonlighting as Protein Kinases. *Trends Biochem Sci* 2018; 43: 301–310.
24. Kim JW and Dang CV. Multifaceted roles of glycolytic enzymes. *Trends Biochem Sci* 2005; 30: 142–50.
25. Tompa P, Szász C, Buday L. Structural disorder throws new light on moonlighting. *Trends Biochem Sci* 2005; 30: 484–89.
26. Hernández S, Amela I, Cedano J et al. Do moonlighting proteins belong to the intrinsic disordered proteins class? *J J Proteomics Bioinform* 2012; 5: 262–64.
27. Jeffery CJ. Molecular mechanisms for multitasking: recent crystal structures of moonlighting proteins. *Curr Opin Struct Biol* 2004; 14: 663–68.
28. Jeffery CJ. An introduction to protein moonlighting. *Biochem Soc Trans* 2014; 42: 1679–83.
29. Chaput M, Claes V, Portetelle D et al. The neurotrophic factor neuroleukin is 90% homologous with phosphohexose isomerase. *Nature* 1988; 332: 454–55.
30. Gurney ME, Apatoff BR, Spear GT et al. Neuroleukin: a lymphokine product of lectin stimulated T cells. *Science* 1986; 234(4776): 574–81.
31. Gurney ME, Heinrich SP, Lee MR, Yin H. Molecular cloning and expression of neuroleukin, a neurotrophic factor for spinal and sensory neurons. *Science* 1986; 234: 566–74.
32. Watanabe, H. Takehana K, Date M, Shinozaki T, Raz A. Tumor Cell Autocrine Motility Factor Is the Neuroleukin/Phosphohexose Isomerase Polypeptide. *Cancer Res* 1996; 56: 2960–63.
33. Xu W, Seiter K, Feldman E, Ahmed T, Chiao JW. The differentiation and maturation mediator for human myeloid leukemia cells shares homology with neuroleukin or phosphoglucose isomerase. *Blood* 1996; 87: 4502–06.
34. Jobin PG, Butler GS, Overall CM. New intracellular activities of matrix metalloproteinases shine in the moonlight. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2017; 1864: 2043–55.
35. Furukawa T, Yoshimura A, Sumizawa T et al. Angiogenic Factor. *Nature* 1992; 356: 668.
36. Jeffery CJ. Mass spectrometry and the search for moonlighting protein. *Mass Spectrom Rev* 2005; 24: 772–82.
37. Soker S, Takashima S, Miao HQ, Neufeld G, Klagsbrun M. Neuropilin-1 Is Expressed by Endothelial and Tumor Cells as an Isoform-Specific Receptor for Vascular Endothelial Growth Factor. *Cell* 1998; 92: 735–45.
38. Meyer-Siegler K, Mauro DJ, Seal G, Wurzer J, deRiel JK, Sirover MA. A human nuclear uracil DNA glycosylase is the 37-kDa subunit of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 8460–64.
39. Kato H, Fukuda T, Parkison C, McPhie P, Cheng SY. Cytosolic thyroid hormone binding protein is a monomer of pyruvate kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 7861–65.
40. Kennedy MC, Mende-Mueller L, Blondin GA, Beinert H. Purification and characterization of cytosolic aconitase from beef liver and its relationship to the iron-responsive element binding protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 11730–34.



41. Ehinger S, Schubert WD, Bergmann S, Hammerschmidt S, Heinz DW. Plasmin(ogen)-binding alphaenolase from *Streptococcus pneumoniae*: crystal structure and evaluation of plasmin(ogen)-binding sites. *J Mol Biol* 2004; 343: 997–1005.
42. Zhou H, Zhang L, Vartuli RL, Ford HL, Zhao R. The Eya phosphatase: Its unique role in cancer. *Int J Biochem Cell Biol* 2018; 96: 165-70.
43. Basilion JP, Rouault TA, Massinople CM, Klausner RD, Burgess WH. The iron-responsive element-binding protein: localization of the RNA-binding site to the aconitase active-site cleft. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 574–78.
44. Jeffery CJ. Protein species and moonlighting proteins: Very small changes in a protein's covalent structure can change its biochemical function. *J Proteomics* 2016; 134: 19-24.
45. Jeffery CJ. Moonlighting proteins: complications and implications for proteomics research. *Drug Discov Today: Targets* 2004; 3: 71–78.
46. Sirover MA. On the functional diversity of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: biochemical mechanisms and regulatory control. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1810: 741–51.
47. Jeffery CJ. Proteins with Neomorphic Moonlighting Functions in Disease. *IUBMB Life* 2011; 63: 489-94.
48. Orosz F, Oláh J, Ovádi J. Triosephosphate isomerase deficiency: facts and doubts. *IUBMB Life*. 2006; 58: 703-15.
49. Mazzola JL, Sirover MA. Alteration of intracellular structure and function of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: a common phenotype of neurodegenerative disorders? *Neurotoxicology* 2002; 23: 603-09.
50. Chuang DM, Hough C, Senatorov VV. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, apoptosis, and neurodegenerative diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005; 45: 269-90.
51. Liz MA, Mar FM, Franquinho F, Sousa MM. Aboard transthyretin: from transport to cleavage. *IUBMB Life* 2010; 62: 429-35.
52. Sekijima Y, Kelly JW, Ikeda S. Pathogenesis of and therapeutic strategies to ameliorate the transthyretin amyloidoses. *Curr Pharm Des* 2008; 14: 3219-30.
53. Babady NE, Pang YP, Elpeleg O, Isaya G. Cryptic proteolytic activity of dihydrolipoamide dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 6158-63.
54. Molavi G, Samadi N, Hosseingholi EZ. The roles of moonlight ribosomal proteins in the development of human cancers. *J Cell Physiol* 2019; 234: 8327-41.
55. Whitesell L and Lindquist SL. HSP90 and the chaperoning of cancer. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 761-72.
56. Min KW, Lee SH, Baek SJ. Moonlighting proteins in cancer. *Cancer Lett* 2016; 370: 108–16.
57. Song X, Wang X, Zhuo W, et al. The regulatory mechanism of extracellular Hsp90{alpha} on matrix metalloproteinase-2 processing and tumor angiogenesis. *J Biol Chem* 2010; 285: 40039-49.
58. Hance MW, Dole K, Gopal U et al. Secreted Hsp90 is a novel regulator of the epithelial to mesenchymal transition (EMT) in prostate cancer. *J Biol Chem* 2012; 287: 37732-44.
59. Díaz-Ramos A, Roig-Borrellas A, García-Melero A, López-Alemany R.  $\alpha$ -Enolase, a multifunctional protein: its role on pathophysiological situations. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 156795.
60. Hara MR, Thomas B, Cascio MB et al. Neuroprotection by pharmacologic blockade of the GAPDH death cascade. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 3887-89.
61. Daddacha W, Koyen AE, Bastien AJ, Head PE, Dhere VR, Nabeta GN. SAMHD1 Promotes DNA End Resection to Facilitate DNA Repair by Homologous Recombination. *Cell Rep* 2017; 20: 1921-35.
62. Broadley SA, Vanags D, Williams B et al. Results of a phase IIa clinical trial of an anti-inflammatory molecule, chaperonin 10, in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2009; 15: 329-36.
63. Vanags D, Williams B, Johnson B et al. Therapeutic efficacy and safety of chaperonin 10 in patients with rheumatoid arthritis: a double-blind randomised trial. *Lancet* 2006; 368: 855-63.
64. Williams B, Vanags D, Hall S et al. Efficacy and safety of chaperonin 10 in patients with moderate to severe plaque psoriasis: evidence of utility beyond a single indication. *Arch Dermatol* 2008; 144: 683-85.
65. Yang J, Chen Z, Liu N, Chen Y. Ribosomal protein L10 in mitochondria serves as a regulator for ROS level in pancreatic cancer cells. *Redox Biol* 2018; 19: 158-65.
66. Hernández S, Ferragut G, Amela I et al. MultitaskProtDB: a database of multitasking proteins. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: 517-20.
67. Chapple CE, Robisson B, Spinelli L, Guien C, Becker E, Brun C. Extreme multifunctional proteins identified from a human protein interaction network. *Nat Commun* 2015; 6: 7412.
68. Prieto C and Javier De Las Rivas J. APID: Agile Protein Interaction Data Analyzer. *Nucleic Acids Res* 2006; 34: 298–302.

To cite this article: Sungur EC, Altınay L, Tekin A, Tutun U. Life-saving endovascular aortic repair in spontaneous ruptures: Report of two emergency cases. Turk J Clin Lab 2020; 1: 89-92.

## ■ Case Report

# Life-saving endovascular aortic repair in spontaneous ruptures: Report of two emergency cases

## *Spontan aort rüptürlerinde hayat kurtaran endovasküler aortik onarım: İki acil olgu*

Elif Coskun SUNGUR<sup>1\*</sup> , Levent ALTINAY<sup>2</sup> , Anil TEKİN<sup>3</sup> , Ufuk TUTUN<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Ankara City Hospital, Department of Cardiovascular Surgery, Ankara/TURKEY

<sup>2</sup> Dışkapı Yıldırım Beyazıt Education and Research Hospital, Department of Cardiovascular Surgery, Ankara/TURKEY

<sup>3</sup> Bulent Ecevit University, Faculty of Medicine, Department of Cardiovascular Surgery, Zonguldak/TURKEY

### Abstract

Aortic aneurysm rupture is still a life threatening situation despite the advancements in cardiovascular surgery field. Today, endovascular treatment is an option for these patients. In the case of an aortic rupture, urgent evaluation of the patient and planning the patient specific treatment are crucial. Herein, we represent two cases who survived after successful treatments of aortic ruptures.

**Keywords:** Endovascular aortic repair; spontaneous aortic rupture; life-saving treatment

### Öz

Kardiyovasküler cerrahideki ilerlemelere rağmen, aortik rüptürler, halen, yaşamı tehdit ederek morbidite veya mortalite nedeni oluşturmaktadır. Son zamanlarda, endovasküler yaklaşım, bu hastalar için de alternatif bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Ancak, aortik rüptürlerde hızlı değerlendirme ve hastaya özel tedavi planının uygulanması şarttır. Yazımızda bu şekilde müdahale edilen ve sağkalım sağlanan iki olgumuzu sunmayı amaçladık.

**Anahtar kelimeler:** endovasküler aortik onarım; spontan aortik rüptür; hayat kurtarıcı tedavi

Corresponding Author\*: Elif Coskun Sungur , Ankara City Hospital, Department of Cardiovascular Surgery, Ankara/TURKEY

E-mail: drelco@gmail.com

ORCID: 0000-0002-2275-639X

Received: 13.10.2019 accepted: 14.11.2019

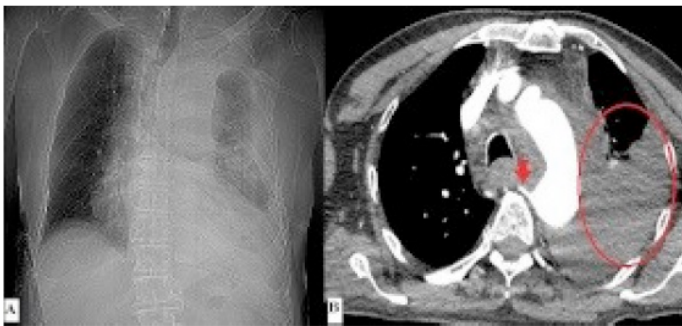
Doi: 10.18663/tjcl.646200

## Introduction

The general management of aortic ruptures include emergency surgical repair or medical treatment but advancement of covered stent grafts provided a third option in treatment of these patients. However, anatomy of the pathology should be suitable for this kind of intervention. The advancements in this technology and increased experience of cardiovascular surgeons in this treatment technique, broadens the anatomical spectrum of this pathology that can be treated with endovascular interventions. Herein, we represent a case of spontaneous rupture in the aneurysm of arcus aorta and a case of spontaneous rupture in the abdominal aortic aneurysm which were successfully treated with endovascular interventions.

### Case 1

A 81-year-old male patient presented with acute back pain and was referred to our center with the diagnosis of rupture in the arcus aorta aneurysm. He had chronic primary hypertension under medical treatment. In the laboratory findings urea 118 mg/dL, creatinine 3,2 mg/dL, potassium 6,7 mmol/L, hemoglobin 7,6 mg/dL. The patient was in delirium state and no respiratory sounds were present in auscultation of his left hemi-thorax. In the initial thorax computerized tomography (CT) angiography, opaque medium extravasation was observed in the posterior caudal segment of the arcus aorta (Figure 1).



**Figure-1.** (A) Sagittal CT angiography image. (B) Transverse CT angiography image. The rupture in the aorta wall (arrow) and hemothorax (circle)

Also opaque agent filling defects of the arcus aorta wall were present which were interpreted as intramural ulcerated plaques. The anatomy of the thoracic aorta and the pathology were suitable for a thoracic endovascular aortic repair (TEVAR) procedure so an urgent TEVAR procedure was planned.

### Operative technique

Right common femoral artery (CFA) and superficial femoral artery (SFA) were explored under general anesthesia after 1 cc intravenous (IV) heparin administration. A 6F introducer sheath (Terumo, Tokyo, Japan) was placed into the CFA artery.

A 300 cm long stiff Meier guidewire (Boston Scientific, USA) was introduced into the ascending aorta. A 32 x 32 x 100 mm thoracic endovascular stent graft (Valiant, Medtronic, Minneapolis, USA) was placed in the proximal descending aorta beginning from the orifice of the left subclavian artery to cover the ruptured segment (Figure 2).

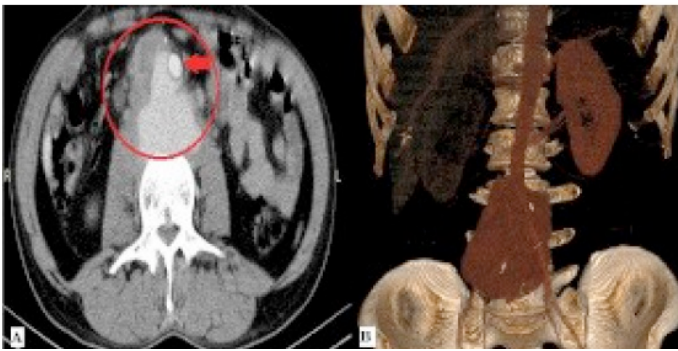


**Figure-2.** Digital subtraction angiography image after the TEVAR procedure.

No occlusion of the left subclavian artery and no endoleak were observed in the post-procedural digital subtraction angiography (DSA) imaging. The patient was transferred to the intensive care unit and a thoracic drainage tube was placed to the left hemi-thorax. Also an urgent hemodialysis was performed. The patient was weaned from respiratory support in the postoperative third day.

### Case 2

A 47-year-old male patient presented with abdominal pain and hematuria for a week to the outpatient clinic. He had previous pulmonary thromboembolism (PTE) 5 years ago and was under medical treatment with apixaban 5 mg tablets once a day. He had chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and was still a smoker. Also he had previous below-the-knee left lower extremity amputation after a burn injury 15 years ago. The patient had rebound tenderness and rigidity in the physical examination of the abdomen. In the laboratory findings, white blood cell (WBC)  $12,7 \times 10^3/\text{mm}^3$ , erythrocyte sedimentation rate (ESR) 86 mm/hr, C-reactive protein (CRP) 144 mg/dL. In his initial thoraco-abdominal CT angiography, a 67x71 cm abdominal aortic aneurysm in the infra-renal segment and a rupture in the aneurysm wall were observed (Figure 3). An urgent endovascular aortic repair (EVAR) procedure was planned.



**Figure-3.** (A)The hematoma caused by the rupture in the abdominal aortic aneurysm (circle) and the abdominal aorta (arrow). (B)The 3D image of the rupture in the infra-renal abdominal aortic aneurysm wall.

### Operative technique

A written informed consent was taken from the patient. Right CFA and SFA were explored under local anesthesia after proper dose IV heparin administration. An 8F introducer sheath (Terumo, Tokyo, Japan) was placed. A 300 cm long stiff Meier guidewire (Boston Scientific, USA) was placed into the abdominal aorta. In the DSA imaging, the rupture site in the infra-renal abdominal aorta was observed as described previously. The 25 x 60 mm main body of the endovascular abdominal stent graft (Endologix AFX, Endovascular AAA System, Endologix Inc, Irvine, California, USA) was placed. Then 16 x 40 mm bifurcated stent graft was placed through the contralateral extremity. In the post-procedural DSA imaging, no endoleak or occlusion of the main arterial branches were observed and total exclusion of the aneurysm sac was proved (Figure 4).



**Figure-4.** Digital subtraction angiography image after the EVAR procedure.

The patient was transferred to the ICU and discharged at postoperative 9th day.

### Discussion

The main goal of the treatment of aortic aneurysm rupture is to stabilize the patient as quickly as possible and achieve maximum survival with minimum morbidity. There are some publications about the effectivity and the reliability of stent grafts in ruptured aortic aneurysms in the literature.

In their meta-analysis including 41 studies, Antonio et al reported a significant decrease in the in-hospital mortality of patients with ruptured abdominal aortic aneurysm (AAA) who were treated with EVAR [1] when compared with open surgical repair.

In another meta-analysis, it was reported that EVAR treatment had lower 30-day mortality and post-procedural myocardial infarction rates and lower in-hospital length of stay times in both elective and ruptured AAA patients. [2]

In the IMPROVE study, the results of open surgical repair and endovascular treatment of ruptured aortic aneurysms were compared. [3] The 30-day mortality rates were similar in both groups but the in-hospital length of stay times were lower in the endovascular treatment group. The general 30-day cost of treatment in both groups were also similar. In the subgroup analysis, it was shown that the endovascular treatment may be more effective in male patients than female patients.

In another meta-analysis including 63 studies, no significant difference was found in the 30-day mortality after EVAR and open surgical repair. [4]

In another meta-analysis including 16 studies, the stroke rate after TEVAR procedure was found to be significantly higher when compared to medical treatment. It was reported that the 30 day and long term mortality rates after TEVAR procedure were lower when compared to open surgical repair.[5]

In another meta-analysis including 27 studies, the 30-day mortality rates of ruptured and un-ruptured aortic aneurysms after TEVAR procedure were reported to be lower. The risks of paraplegia or spinal chorda ischemia and pulmonary complications were lower in these patients after TEVAR procedure but the risk of stroke was still the same when compared to open surgery. Also in-hospital and ICU length of stay times were found to be lower in the patient group treated with TEVAR procedure. [6]

In a meta-analysis including eleven studies with a total of 673 patients, it was reported that TEVAR procedure could be done with high technical success rates, low postoperative morbidity rates and good 3-year survival rates. [7]





In a meta-analysis including 143 TEVAR and 81 open repair cases, it was reported that the 30-day mortality rate after TEVAR was significantly lower. The 30-day mortality rate was 19% after TEVAR and 33% after open surgery. The 3-year mortality rate after TEVAR was projected as 70.6% but it could not be calculated for open surgery because of the lack of sufficient follow-up data. [8]

In our center, we have done 32 EVAR, 15 TEVAR and 4 EVAR and TEVAR procedures in the last one- and-a-half year period. We have promising results in the high risk patients with multiple comorbidities.

### Conclusion

In conclusion, the endovascular treatment option is chosen in 'selected patients' in many recent studies. We believe that endovascular or hybrid procedures will be more common as the technology of these products advances.

\*The study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki's Good Clinical Practice guidelines and approved by the local ethical committee. Written informed consents was provided from patients.

### Declaration of conflict of interest

The authors received no financial support for the research and/or authorship of this article. There is no conflict of interest.

### References

1. Antoniou GA, Georgiadis GS, Antoniou SA et al. Endovascular repair for ruptured abdominal aortic aneurysm confers an early survival benefit over open repair. *J Vasc Surg* 2013; 58: 1091–105.
2. Thomas DM, Hulten EA, Ellis ST, Anderson DM, Anderson N, McRae F, Malik JA, Villines TC, Slim AM. Open versus Endovascular Repair of Abdominal Aortic Aneurysm in the Elective and Emergent Setting in a Pooled Population of 37,781 Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *ISRN Cardiol* 2014; 2014:149243.
3. Powell JT, Sweeting MJ, Thompson MM et al; IMPROVE Trial Investigators. Endovascular or open repair strategy for ruptured abdominal aortic aneurysm: 30 day outcomes from IMPROVE randomised trial. *BMJ* 2014; 348: 7661.
4. Luebke T, Brunkwall J. Risk-Adjusted Meta-analysis of 30-Day Mortality of Endovascular Versus Open Repair for Ruptured Abdominal Aortic Aneurysms. *Ann Vasc Surg* 2015; 29: 845-63.
5. Li FR, Wu X, Yuan J, Wang J, Mao C, Wu X. Comparison of thoracic endovascular aortic repair, open surgery and best medical treatment for type B aortic dissection: A meta-analysis. *Int J Cardiol* 2018; 250: 240-46.
6. Alsawas M, Zaiem F, Larrea-Mantilla L, Almasri J, Erwin PJ, Upchurch GR Jr, Murad MH. Effectiveness of surgical interventions for thoracic aortic aneurysms: A systematic review and meta-analysis. *J Vasc Surg* 2017; 66: 1258-68
7. Biancari F, Mariscalco G, Mariani S, Saari P, Satta J, Juvonen T. Endovascular Treatment of Degenerative Aneurysms Involving Only the Descending Thoracic Aorta: Systematic Review and Meta-analysis. *J Endovasc Ther* 2016; 23: 387-92.
8. Jonker FH, Trimarchi S, Verhagen HJ, Moll FL, Sumpio BE, Muhs BE. Meta-analysis of open versus endovascular repair for ruptured descending thoracic aortic aneurysm. *J Vasc Surg* 2010; 51: 1026-32.



Turkish Journal of Clinics and Laboratory - Türk Klinik ve Laboratuvar Dergisi

Tip dergilerine gönderilecek makalelerin standart gereksinimleri ile ilgili tüm bilgileri [www.icmje.org](http://www.icmje.org) internet adresinde bulabilirsiniz

**Amaç ve kapsam:** "Turkish Journal of Clinics and Laboratory", hakemli, açık erişimli ve periyodik olarak çıkan, DNT Ortadoğu Yayıncılık A.Ş. ye ait bir dergidir. Hedefimiz uluslararası bir tabanda hastalıkların teşhis ve tedavisinde yenilikler içeren yüksek kalitede bilimsel makaleler yayınlamaktır. Yılda dört kez çıkan bir bilimsel bir tıp dergisidir. Hakemli bir dergi olarak gelen yazılar konsültanlar tarafından, öncelikle, biyomedikal makalelere ait Uluslararası Tıp Dergileri Editörleri Komitesi ([www.icmje.org](http://www.icmje.org) adresinden ulaşılabilir) tarafından tanımlanan standart gereksinimler ile ilgili ortak kurallara uygunluğu açısından değerlendirilir. Tıbbın her dalı ile ilgili retrospektif/prospektif klinik ve laboratuvar çalışmalar, ilginç olgu sunumları, davet üzerine yazılan derlemeler, editöre mektuplar, orijinal görüntüler, kısa raporlar ve cerrahi teknik yazılarını yayımlayan bilimsel, uluslararası hakemli bir dergidir. Başka bir dergide yayımlanmış veya değerlendirilmek üzere gönderilmiş yazılar veya dergi kurallarına göre hazırlanmamış yazılar değerlendirme için kabul edilmez.

On-line makale gönderimi: Tüm yazışmalar ve yazı gönderimleri [dergipark](http://dergipark.gov.tr/tjcl) üzerinden <http://dergipark.gov.tr/tjcl> yapılmalıdır. Yazı gönderimi için detaylı bilgi bu internet adresinden edinilebilir. Gönderilen her yazı için özel bir numara verilecek ve yazının alındığı e-posta yolu ile teyid edilecektir. Makalelerin "full-text" pdf formuna <http://dergipark.gov.tr/tjcl> linkinden ulaşılabilir.

**Açık erişim politikası:** Turkish Journal of Clinics and Laboratory açık erişimi olan bir dergidir. Kullanıcılar yazıların tam metnine ulaşabilir, kaynak gösterilerek tüm makaleler bilimsel çalışmalarda kullanılabilir.

Aşağıdaki rehber dergiye gönderilen makalelerde aranan standartları göstermektedir. Bu uluslararası format, makale değerlendirme ve basım aşamalarının hızla yapılmasını sağlayacaktır.

**Yazarlara Bilgi:** Yazıların tüm bilimsel sorumluluğunu yazar(lar)a aittir. Editör, yardımcı editör ve yayıncı dergide yayınlanan yazılar için herhangi bir sorumluluk kabul etmez.

**Dergi adının kısaltması:** Turk J Clin Lab

Yazışma adresi: Yazılar e-mail yoluyla sorumlu yazar tarafından, [Dergipark](http://dergipark.gov.tr) ta yer alan Turkish Journal of Clinics and Laboratory linkine girip kayıt olduktan sonra gönderilmelidir.

**Makale dili:** Makale dili Türkçe ve İngilizcedir. İngilizce makaleler gönderilmeden önce profesyonel bir dil uzmanı tarafından kontrol edilmelidir. Yazıdaki yazım ve gramer hataları içerik değişmeyecek şekilde İngilizce dil danışmanı tarafından düzeltilmelidir. Türkçe yazılan yazılarda düzgün bir Türkçe kullanımı önemlidir. Bu amaçla, Türk Dil Kurumu Sözlük ve Yazım Kılavuzu yazım dilinde esas alınmalıdır.

**Makalenin başka bir yerde yayımlanmamıştır ibaresi:** Her yazar makalenin bir bölümünün veya tamamının başka bir yerde yayımlanmadığını ve aynı anda bir diğer dergide değerlendirilme sürecinde olmadığını, editöre sunum sayfasında belirtmelidirler. 400 kelimedenden az özetler kapsam dışıdır. Kongrelerde sunulan sözlü veya poster bildirilerin, başlık sayfasında kongre adı, yer ve tarih verilerek belirtilmesi gereklidir. Dergide yayımlanan yazıların her türlü sorumluluğu (etik, bilimsel, yasal, vb.) yazarlara aittir.

**Değerlendirme:** Dergiye gönderilen yazılar format ve plagiarizm açısından değerlendirilir. Formata uygun olmayan yazılar değerlendirilmeden sorumlu yazara geri gönderilir. Bu tarz bir zaman kaybının olmaması için yazım kuralları gözden geçirilmelidir. Basım için gönderilen tüm yazılar iki veya daha fazla yerli/yabancı hakem tarafından değerlendirilir. Makalelerin değerlendirilmesi, bilimsel önemi, orijinalliği göz önüne alınarak yapılır. Yayına kabul edilen yazılar editörler kurulu tarafından içerik değiştirilmeden yazarlara haber verilerek yeniden düzenlenebilir. Makalenin dergiye gönderilmesi veya basıma kabul edilmesi sonrası isim sırası değiştirilemez, yazar ismi eklenip çıkartılmaz.

**Basıma kabul edilmesi:** Editör ve hakemlerin uygunluk vermesi sonrası makalenin gönderim tarihi esas alınarak basım sırasına alınır. Her yazı için bir doi numarası alınır.

**Yayın hakları devri:** <http://www.dergipark.ulakbim.gov.tr/tjclinlab> adresi üzerinden online olarak gönderilmelidir. 1976 Copyright Act'e göre, yayımlanmak üzere kabul edilen yazıların her türlü yayın hakkı yayıncıya aittir.

**Makale genel yazım kuralları:** Yazılar Microsoft Word programı (7.0 ve üst versiyon) ile çift satır aralıklı ve 12 punto olarak, her sayfanın iki yanında ve alt ve üst kısmında 2,5 cm boşluk bırakılarak yazılmalıdır. Yazı stili Times New roman olmalıdır. "System International" (SI) unitler kullanılmalıdır. Şekil tablo ve grafikler metin içinde refere edilmelidir. Kısaltmalar, kelimenin ilk geçtiği yerde parantez içinde verilmelidir. Türkçe makalelerde %50 bitişik yazılmalı, aynı şekilde İngilizcelerde de 50% bitişik olmalıdır. Türkçede ondalık sayılarda virgül kullanılmalı (55,78) İngilizce yazılarda nokta (55.78) kullanılmalıdır. Derleme 4000, orijinal çalışma 2500, olgu sunumu 1200, editöre mektup 500 kelimeyi geçmemelidir. Özet sayfasından sonraki sayfalar numaralandırılmalıdır.

### Yazının bölümleri

**1. Sunum sayfası:** Yazının Turkish Journal of Clinics and Laboratory'de yayınlanmak üzere değerlendirilmesi isteğinin belirtildiği, makalenin sorumlu yazarı tarafından dergi editörüne hitaben gönderdiği yazıdır. Bu kısımda makalenin bir bölümünün veya tamamının başka bir yerde yayımlanmadığını ve aynı anda bir diğer dergide değerlendirilme sürecinde olmadığını, maddi destek ve çıkar ilişkisi durumu belirtmelidir.

**2. Başlık sayfası:** Sayfa başında gönderilen makalenin kategorisi belirtilmelidir (Klinik analiz, orijinal çalışma, deneysel çalışma, olgu sunumu vs).

**Başlık:** Kısa ve net bir başlık olmalıdır. Kısaltma içermemelidir. Türkçe ve İngilizce yazılmalı ve kısa başlık (running title) Türkçe ve İngilizce olarak eklenmelidir. Tüm yazarların ad ve soyadları yazıldıktan sonra üst simge ile 1' den itibaren numaralandırılıp, unvanları, çalıştıkları kurum, klinik ve şehir yazar isimleri altına eklenmelidir.

Bu sayfada "sorumlu yazar" belirtilmeli isim, açık adres, telefon ve e-posta bilgileri eklenmelidir.

Kongrelerde sunulan sözlü veya poster bildirilerin, başlık sayfasında kongre adı, yer ve tarih verilerek belirtilmesi gereklidir.

### 3. Makale dosyası: (Yazar ve kurum isimleri bulunmamalıdır)

**Başlık:** Kısa ve net bir başlık olmalıdır. Kısaltma içermemelidir. Türkçe ve İngilizce yazılmalı ve kısa başlık (running title) Türkçe ve İngilizce olarak eklenmelidir.

**Özet:** Türkçe ve İngilizce yazılmalıdır. Orijinal çalışmalarda özetler, Amaç (Aim), Gereç ve Yöntemler (Material and Methods), Bulgular (Results) ve Sonuçlar (Conclusion) bölümlerine ayrılmalı ve 250 sözcüğü geçmemelidir. Olgu sunumları ve benzerlerinde özetler, kısa ve tek paragraflık olmalıdır (150 kelime), Derlemelerde 300 kelimeyi geçmemelidir.

**Anahtar kelimeler:** Türkçe ve İngilizce özetlerin sonlarında bulunmalıdır. En az 3 en fazla 6 adet yazılmalıdır. Kelimeler birbirlerinden noktalı virgül ile ayrılmalıdır. İngilizce anahtar kelimeler "Medical Subject Headings (MESH)" e uygun olarak verilmelidir. ([www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html](http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html)). Türkçe anahtar kelimeler "Türkiye Bilim Terimleri" ne uygun olarak verilmelidir ([www.bilimterimleri.com](http://www.bilimterimleri.com)). Bulunamaması durumunda birebir Türkçe tercümesi verilmelidir.

**Metin bölümleri:** Orijinal makaleler; Giriş, Gereç ve Yöntemler, Bulgular, Tartışma olarak düzenlenmelidir. Olgu sunumları; Giriş, Olgu sunumu, Tartışma olarak düzenlenmelidir. Şekil, fotoğraf, tablo ve grafiklerin metin içinde geçtiği yerler ilgili cümlelerin sonunda belirtilmeli metin içine yerleştirilmemelidir. Kullanılan kısaltmalar altındaki açıklamada belirtilmelidir. Daha önce basılmış şekil, resim, tablo ve grafik kullanılmış ise yazılı izin alınmalıdır ve bu izin açıklama olarak şekil, resim, tablo ve grafik açıklamasında belirtilmelidir. Tablolar metin sonuna eklenmelidir. Resimler/fotoğraf kalitesi en az 300dpi olmalıdır.



**Etik kurallar:** Klinik araştırmaların protokolü etik komitesi tarafından onaylanmış olmalıdır. İnsanlar üzerinde yapılan tüm çalışmalarında, "Yöntem ve Gereçler" bölümünde çalışmanın ilgili komite tarafından onaylandığı veya çalışmanın Helsinki İlkeler Deklarasyonuna ([www.wma.net/e/policy/b3.htm](http://www.wma.net/e/policy/b3.htm)) uyularak gerçekleştirildiğine dair bir cümle yer almalıdır. Çalışmaya dahil edilen tüm insanların bilgilendirilmiş onam formunu imzaladığı metin içinde belirtilmelidir. Turkish Journal of Clinics and Laboratory gönderilen yazıların Helsinki Deklarasyonuna uygun olarak yapıldığını, kurumsal etik ve yasal izinlerin alındığını varsayacak ve bu konuda sorumluluk kabul etmeyecektir.

Çalışmada "Hayvan" ögesi kullanılmış ise yazarlar, makalenin Gereç ve Yöntemler bölümünde Guide for the Care and Use of Laboratory Animals ([www.nap.edu/catalog/5140.html](http://www.nap.edu/catalog/5140.html)) prensipleri doğrultusunda çalışmalarında hayvan haklarını koruduklarını ve kurumlarının etik kurullarından onay aldıklarını belirtmek zorundadır.

**Teşekkür yazısı:** Varsa kaynaklardan sonra yazılmalıdır.

Maddi destek ve çıkar ilişkisi: Makale sonunda varsa çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi ve kuruluşlar ve varsa bu kuruluşların yazarlarla olan çıkar ilişkileri belirtilmelidir. (Olmaması durumu da "Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların herhangi bir çıkar dayalı ilişkisi yoktur" şeklinde yazılmalıdır.

**Kaynaklar:** Kaynaklar makalede geliş sırasına göre yazılmalıdır. Kaynaktaki yazar sayısı 6 veya daha az ise tüm yazarlar belirtilmeli, 7 veya daha fazla ise ilk 3 isim yazılıp ve ark. ("et al") eklenmelidir. Kaynak yazımı için kullanılan format Index Medicus'ta belirtilen şekilde olmalıdır ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)). Kaynak listesinde yalnızca yayınlanmış ya da yayınlanması kabul edilmiş veya DOI numarası almış çalışmalar yer almalıdır. Dergi kısaltmaları "Cumulated Index Medicus" ta kullanılan stile uymalıdır. Kaynak sayısının araştırmalarda 25 ve derlemelerde 60, olgu sunumlarında 10, editöre mektupta 5 ile sınırlandırılmasına özen gösterilmelidir. Kaynaklar metinde cümle sonunda nokta işaretinden hemen önce köşeli parantez kullanılarak belirtilmelidir. Örneğin [4,5]. Kaynakların doğruluğundan yazar(lar) sorumludur. Yerli ve yabancı kaynakların sentezine önem verilmelidir.

Şekil ve tablo başlıkları: Başlıklar kaynaklardan sonra yazılmalıdır.

**4. Şekiller:** Her biri ayrı bir görüntü dosyası (jpg) olarak gönderilmelidir.

Makalenin basıma kabulünden sonra "Dizginin ilk düzeltme nüshası" sorumlu yazara e-mail yoluyla gönderilecektir. Bu metinde sadece yazım hataları düzeltilcek, ekleme çıkartma yapılmayacaktır. Sorumlu yazar düzeltmeleri 2 gün içinde bir dosya halinde e-mail ile yayın idare merkezine bildirecektir.

#### Kaynak Yazım Örnekleri

Dergilerden yapılan alıntı;

Özpolat B, Gürpınar ÖA, Ayva EŞ, Gazyağcı S, Niyaz M. The effect of Basic Fibroblast Growth Factor and adipose tissue derived mesenchymal stem cells on wound healing, epithelization and angiogenesis in a tracheal resection and end to end anastomosis rat model. Turk Gogus Kalp Dama 2013; 21: 1010-19. Kitaptan yapılan alıntı;

Tos M. Cartilage tympanoplasty. 1st ed. Stuttgart-New York: Georg Thieme Verlag; 2009.

Tek yazar ve editörü olan kitaptan alıntı;

Neinstein LS. The office visit, interview techniques, and recommendations to parents. In: Neinstein LS (ed). Adolescent Health Care. A practical guide. 3rd ed. Baltimore: Williams&Wilkins; 1996: 46-60.

Çoklu yazar ve editörü olan kitaptan alıntı;

Schulz JE, Parran T Jr: Principles of identification and intervention. In:Principles of Addicton Medicine, Graham AW, Shultz TK (eds). American Society of Addiction Medicine, 3rd ed. Baltimore: Williams&Wilkins; 1998:1-10.

Eğer editör aynı zamanda kitap içinde bölüm yazarı ise;

Diener HC, Wilkinson M (editors). Drug-induced headache. In: Headache. First ed., New York: Springer-Verlag;1988:45-67.

Doktora/Lisans Tezinden alıntı;

Kılıç C. General Health Survey: A Study of Reliability and Validity. PhD Thesis, Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Psychiatrics, Ankara; 1992.

Bir internet sitesinden alıntı;

Sitenin adı, URL adresi, yazar adları, ulaşım tarihi detaylı olarak verilmelidir.

DOI numarası vermek;

Joos S, Musselmann B, Szecsenyi J. Integration of Complementary and Alternative Medicine into Family Practice in Germany: Result of National Survey. Evid Based Complement Alternat Med 2011 (doi: 10.1093/ecam/nep019).

Diğer referans stilleri için "ICMJE Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Sample References" sayfasını ziyaret ediniz.

Bilimsel sorumluluk beyanı: Kabul edilen bir makalenin yayınlanmasından önce her yazar, araştırmaya, içeriğinin sorumluluğunu paylaşmaya yetecek boyutta katıldığını beyan etmelidir. Bu katılım şu konularda olabilir:

- a. Deneylerin konsept ve dizaynlarının oluşturulması, veya verilerin toplanması, analizi ya da ifade edilmesi;
- b. Makalenin taslağının hazırlanması veya bilimsel içeriğinin gözden geçirilmesi
- c. Makalenin basılmaya hazır son halinin onaylanması.

Yazının bir başka yere yayın için gönderilmediğinin beyanı: "Bu çalışmanın içindeki materyalin tamamı ya da bir kısmının daha önce herhangi bir yerde yayınlanmadığını, ve halihazırda da yayın için başka bir yerde değerlendirilmede olmadığını beyan ederim. Bu, 400 kelimeye kadar olan özetler hariç, sempozyumlar, bilgi aktarımları, kitaplar, davet üzerine yazılan makaleler, elektronik formatta gönderimler ve her türden ön bildirimleri içerir."

Sponsorluk beyanı: Yazarlar aşağıda belirtilen alanlarda, varsa çalışmaya sponsorluk edenlerin rollerini beyan etmelidirler:

1. Çalışmanın dizaynı
2. Veri toplanması, analizi ve sonuçların yorumlanması
3. Raporun yazılması

#### Kontrol listesi:

1. Editöre sunum sayfası (Sorumlu yazar tarafından yazılmış olmalıdır)
2. Başlık sayfası ( Makale başlığı/kısa başlık Türkçe ve İngilizce, Yazarlar, kurumları, sorumlu yazar posta adresi, tüm yazarların e-mail adresleri, sorumlu yazarın telefon numarası)
3. Makalenin metin sayfası (Makale başlığı/kısa başlık Türkçe ve İngilizce, Özet/anahtar kelimeler, Summary/keywords, makale metni, kaynaklar, tablo ve şekil başlıkları, tablolar, şekiller)
4. Tablo ve grafikler metin içinde olmalıdır.
5. Şekiller (En az 300 dpi çözünürlükte) ayrı bir veya daha fazla dosya halinde gönderilmelidir.