


Ege Tıp Bilimleri Dergisi

Aegean Journal of Medical Sciences

- 
01. Cytotoxicity of *H. Crenulatum* on Cancer Cells
 02. The effects of external ventricular drainage on mortality
 03. PRP Frequency for Knee Osteoarthritis
 04. N- Butil 2 Siyanoakrilat
 05. Trifluoperazine Induced Tardive Dyskinesia
 06. Aksiller Miksofibrosarkom Olgusu
 07. Servikal Disk Hernisi, Akupunktur; Olgu
 08. A case of stress fracture

Ege Tıp Bilimleri Dergisi

Aegean Journal of Medical Sciences

● Cilt: 3 ● Sayı: 1 ● Yıl: 2020

ISSN: 2636-851X

Baş Editörler

Bariş Sevinç

Ali Yavuz Karahan

Editör Yardımcıları

Kağan Özkuk
Ender Salbaş

Serdar Arslan
Sertaç Ketenci

Mizanpaj Editörü

Ender Salbaş

Son Okuyucu

Sertaç Ketenci

Temel Bilimler Alan Editörleri

Aynur Çiçekcibaşı

Dâhili Tıp Bilimleri Alan Editörleri

Ali Yavuz Karahan
Sibel Akın

Cerrahi Tıp Bilimleri Alan Editörleri

Ömer Karahan

Diş Hekimliği Alan Editörleri

Aydan Kanlı
Halil Tolga Yüksel

İstatistik Editörleri

Merve Akdede

Danışma Kurulu

Prof. Dr. Çetin Çam
Prof. Dr. Erden Erol Ünlüer
Prof. Dr. İlker Seçkiner
Prof. Dr. Kurtuluş Özdemir
Prof. Dr. Mine Karagülle
Prof. Dr. Nilay Şahin
Prof. Dr. Suat Şahinler
Doç. Dr. Cüneyt Evren
Doç. Dr. Emine Berrin Yüksel
Doç. Dr. Kivanç Yalın
Doç. Dr. Murat Çakır

Doç. Dr. Rahşan Ilıkçı Sağlam
Doç. Dr. Oğuz Dikbaş
Uz. Dr. Kemal Erol
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Karakoyun
Dr. Öğr. Üyesi Arzu Zeynep Karabay
Dr. Öğr. Üyesi Aynur Karadağ
Dr. Öğr. Üyesi Banu Ordahan
Dr. Öğr. Üyesi Ercan Kaydok
Dr. Öğr. Üyesi Fulya Demircioğlu Güneri
Dr. Öğr. Üyesi Tülin Özkan

Uluslararası Danışma Kurulu

Dejan Ignjatovic
Toplica Stojanovic
Roland Tilz
Evgeny Lyan
Romain Jacques Forestier

Giovanni Mario Pes
Fatma Begüm Forestier
Almagul Kushugulova
N.A. Uvais
Alireza Heidari

● Nisan 2020

Akademik katkı ve desteklerinden dolayı tüm hakemlerimize teşekkür ederiz

2019 Yılına Ait Hakemlerimiz

Adnan Özdemir	Genco Gençdal	Nilay Bektaş Akpınar
Afife Ayla Kabalak	Gizem Zevde Aydın	Nuran Eyvaz
Ahmet Aslan	Gonca Kılıç Yıldırım	Nuri Topsakal
Ahmet Cemil Turan	Gökçen Arkan Erdoğan	Nurullah Damburacı
Ahmet Karadağ	Gül Devrimsel	Oğuz Dikbaş
Ali Başçı	Gülengün Türk	Okan Ekinci
Ali Çelik	Habib Emre	Onur Öztürk
Ali Kandeğer	Halil Tolga Yüksel	Osman Ahmet Polat
Ali Kitiş	Hamiyet Kızıl	Ömer Karahan
Atilla Çıfci	Handan Tanyıldızı Kökkülünk	Ömer Kardeş
Aydan Kanlı	Hüseyin Tarhan	Özkan Köre
Aydın Çıfci	İhsan Canbek	Özlem Çınar Özdemir
Aynur Karadağ	İlker Günyeli	Özlem Demirel Bozkurt
Ayşe Baççioğlu	İlker Kiraz	Özlem İbrahimoglu
Ayşe Özdemir	İrem Şenyuva	Pelin Yıldırım
Aytül Hadımlı	İrfan Karahan	Ramazan Atıç
Banu Ordahan	İzzet Göker Küçük	Recai Dağlı
Batuhan Ergani	Kağan Özkuk	Savaş Karpuz
Behiye Alyanak	Kamil Uğur Şanal	Selahattin Özyürek
Besey Ören	Kuzeymen Balıkçı	Serap Seringec
Bilal Uysal	Lut Tamam	Serkan Akan
Birgül Balcı	Mehmet Coşkun	Serkan Altınova
Birsen Bulut Solak	Mehmet İnan	Sermet İnal
Bora Tetik	Mehmet Öztürk	Sertaç Ata Güler
Buğra Tolga Konduk	Mehmet Sargın	Sertaç Ketenci
Burcu Kayhan Tetik	Mehmet Sedat Durmaz	Sevki Sahin
Canan Birimoglu Okuyan	Merlinda Aluş Tokat	Sezin Solum
Cevdet Duran	Merter Avni Keçeli	Sinan Bağçacı
Çiğdem Samur Salbaş	Merve Bal	Süleyman Bakdık
Dilcan Kotan Dünder	Muhammed Şahin	Şadiye Özcan
Dilşad Çoknaz	Muharrem Keskin	Şahin Bozok
Erhan Tatar	Muhteşem Erol Yayla	Ugur Turktas
Etem Çelik	Murat Çakır	Yakup Karakaya
Faik İlik	Murat Eren Özen	Yalçın Turhan
Fatih Karaarslan	Murat Güner	Yeşim Güzey Aras
Fatih Öncü	Murat İlhan Atagün	Yiğit Akın
Fatma İlker Kerkez	Murat Keske	Yunus Yılmazsoy
Fatma Ünver	Mustafa Karabiçak	Yusuf Haydar Ertekin
Filiz Afrashi	Neriman Zengin	Zeynep Canan Özdemir

Derginin Yazı Dili

Derginin yazı dili Türkçe ve İngilizcedir. Dili Türkçe olan yazılar, İngilizce özetleri ile yer alır. Yazının hazırlanması sırasında, Türkçe kelimeler için Türk Dil Kurumundan (www.tdk.gov.tr), teknik terimler için Türk Tıp Terminolojisinden (www.tipterimleri.com) yararlanılabilir.

Yazarlık Kriterleri

Makalenin yayımlanması uygun bulunduktan sonra, tüm yazarlardan "Yayın Hakkı Devir Formu" nu imzalamaları istenir: " Biz aşağıda imzaları bulunan yazarlar, sunduğumuz makalenin orijinal olduğunu; başka bir dergiye yayınlanmak üzere verilmeyeceğini; daha önce yayınlanmadığını; eğer, tümüyle ya da bir bölümü yayınlandı ise yukarıda adı geçen dergide yayınlanabilmesi için gerekli her türlü izni alındığını ve orijinal telif hakkı devri formu ile birlikte Ege Tıp Bilimleri Dergisi Editörlüğü' ne gönderildiğini garanti ederiz."

Ege Tıp Bilimleri Dergisi, Uluslararası Tıp Dergileri Editörleri Kurulu'nun (International Committee of Medical Journal Editors) "Biyomedikal Dergilere Gönderilen Makalelerin Uyması Gereken Standartlar: Biyomedikal Yayınların Yazımı ve Baskıya Hazırlanması (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication)" standartlarını kullanmayı kabul etmektedir. "Ege Tıp Bilimleri Dergisi Yazarlara Bilgi" içeriği, bu sürümden yararlanarak hazırlanmıştır. Bu konudaki bilgiye www.icmje.org adresinden ulaşılabilir.

Etik Sorumluluk

Ege Tıp Bilimleri Dergisi, etik ve bilimsel standartlara uygun makaleleri yayımlar. Makalelerin etik kurallara uygunluğu yazarların sorumluluğundadır. Tüm prospektif çalışmalar için, çalışmanın yapıldığı kurumdan Etik Kurul onayı alınmalı ve yazının içinde belirtilmelidir. Olgu sunumlarında; etik ve yasal kurallar gereği, hastanın mahremiyetinin korunmasına özen gösterilmelidir. Hastaların kimliğini tanımlayıcı bilgiler ve fotoğraflar, hastanın (ya da yasal vasisinin) yazılı bilgilendirilmiş onamı olmadan basılamadığından, "Hastadan (ya da yasal vasisinden) tıbbi verilerinin yayınlanabileceğine ilişkin yazılı onam belgesi alındı" cümlesi, makale metninde yer almalıdır.

Ege Tıp Bilimleri Dergisi, deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, genel kabul gören ilgili etik kurallara uyulması zorunluluğunu hatırlatır. Alınmış Etik Kurul Onayı, makale ile birlikte sisteme yüklenmelidir.

Yazar(lar), ticari bağlantı veya çalışma için maddi destek veren kurum varlığında; kullanılan ticari ürün, ilaç, firma vb. ile nasıl bir ilişkisi olduğunu sunum sayfasında Editöre bildirmelidir. Böyle bir durumun yokluğu da yine ayrı bir sayfada belirtilmelidir.

Yazı Türleri

Yazılar, elektronik ortamda <http://dergipark.gov.tr/egetbd> adresine gönderilir.

Orijinal makaleler , 3000 sözcük sayısını aşmamalı, "Özet (250 sözcükten fazla olmamalı), Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma, Sonuç, Kaynaklar" bölümlerinden oluşmalıdır.

Olgu Sunumu , "Özet, Giriş, Olgu Sunumu, Tartışma, Kaynaklar" şeklinde düzenlenmelidir. En fazla 1000 sözcük ve 15 kaynak ile sınırlıdır. Sadece bir tablo ya da bir şekil ile desteklenebilir.

Editöre Mektup , yayımlanan metinlerle veya mesleki konularla ilgili olarak 500 sözcüğü aşmayan ve beş kaynak ile bir tablo veya şekil içerecek şekilde yazılabilir. Ayrıca daha önce dergide yayınlanmış metinlerle ilişkili mektuplara cevap hakkı verilir.

Yayın Kurulu'nun daveti üzerine yazılanlar dışında derleme kabul edilmez.

Makalenin Hazırlanması

Dergide yayımlanması istenilen yazı için aşağıdaki kurallara uyulmalıdır.

- Yazı; iki satır aralıklı olarak, Arial 10 punto ile yazılmalıdır. b) Sayfalar başlık sayfasından başlamak üzere, sağ üst köşesinde numaralandırılmalıdır.
- Online makale sistemine yüklenen word dosyasının başlık sayfasında (makalenin adını içeren başlık sayfası), yazarlara ait isim ve kurum bilgileri yer almamalıdır.
- Makale, şu bölümleri içermelidir: Her biri ayrı sayfada yazılmak üzere; Türkçe ve İngilizce Başlık Sayfası, Özet, Abstract, Anahtar Sözcükler, Keywords, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma, Sonuç, Açıklamalar (varsa), Kaynaklar, Şekil Alt Yazıları, Tablolar (başlıkları ve açıklamalarıyla beraber), Ekler (varsa).

Yazının Başlığı

Kısa, kolay anlaşılır ve yazının içeriğini tanımlar özellikte olmalıdır.

Özetler

Türkçe (Özet) ve İngilizce (Abstract) olarak yazılmalı, Amaç, Gereç ve Yöntem, Bulgular ve Sonuç (Aim, Materials and Methods, Results, Conclusion) olmak üzere dört bölümden oluşmalı, en fazla 250 sözcük içermelidir. Araştırmanın amacı, yapılan işlemler, gözlemsel ve analitik yöntemler, temel bulgular ve ana sonuçlar belirtilmelidir. Özette kaynak kullanılmamalıdır. Editöre mektup için özet gerekmemektedir.

Anahtar Sözcükler

Türkçe Özet ve İngilizce Abstract bölümünün sonunda, Anahtar Sözcükler ve Keywords başlığı altında, bilimsel yazının ana başlıklarını yakalayan, Index Medicus Medical Subject Headings (MeSH)'e uygun olarak yazılmış en fazla beş anahtar sözcük olmalıdır. Anahtar sözcüklerin, Türkiye Bilim Terimleri'nden (www.bilimterimleri.com) seçilmesine özen gösterilmelidir.

Metin

Yazı metni, yazının türüne göre yukarıda tanımlanan bölümlerden oluşmalıdır. Uygulanan istatistiksel yöntem, Gereç ve Yöntem bölümünde belirtilmelidir.

Kaynaklar

Kaynaklar metinde yer aldıkları sırayla, cümle içinde atıfta bulunulan ad veya özelliği belirten kelimenin hemen bittiği yerde ya da cümle bitiminde noktadan önce parantez içinde Arapik rakamlarla numaralandırılmalıdır. Metinde, tablolarda ve şekil alt yazılarında kaynaklar, parantez içinde Arapik numaralarla nitelendirilir. Sadece tablo veya şekil alt yazılarında kullanılan kaynaklar, tablo ya da şeklin metindeki ilk yer aldığı sıraya uygun olarak numaralandırılmalıdır. Dergi başlıkları, Index Medicus'ta kullanılan tarza uygun olarak kısaltılmalıdır. Kısaltılmış yazar ve dergi adlarından sonra nokta olmamalıdır. Yazar sayısı altı veya daha az olan kaynaklarda tüm yazarların adı yazılmalı, yedi veya daha fazla olan kaynaklarda ise üç yazar adından sonra et al veya ve ark. yazılmalıdır. Kaynak gösterilen derginin sayı ve cilt numarası mutlaka yazılmalıdır.

Kaynaklar, yazının alındığı dilde ve aşağıdaki örneklerde görüldüğü şekilde düzenlenmelidir.

Dergilerdeki Yazılar

Kim CH, Cheon JS, Choi WY, Son KM. The efficacy of mobile application use on recall of surgical risks in nasal bone fracture reduction surgery. Arch Craniofac Surg. 2018; 19: 41-47.

Henüz yayınlanmamış online makale

Kurita GP, Højsted J, Sjøgren P. Tapering off long-term opioid therapy in chronic non-cancer pain patients: a randomized clinical trial. Eur J Pain. 2018 May 13. doi: 10.1002/ejp.1241.

Kitap

Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji. 2. Baskı. İzmir: Bilgehan Basımevi; 1986:137-40.

Kitap Bölümü

McEwen WK, Goodner IK. Secretion of tears and blinking. In: Davson H (ed). The Eye. Vol. 3, 2nd ed. New York: Academic Press; 1969:34-78.

İnternet Makalesi

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: The ANA acts in an advisory role. Am J Nurs [serial on the Internet] 2002 [cited 12 Aug 2002]. Available from: www.nursingworld.org/AJN/2002/june/wawatch.htm

Web Sitesi

Cancer-pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources [updated 16 May 2002; cited 9 July 2002]. Available from: www.cancer-pain.org

Açıklamalar

Varsa finansal kaynaklar, katkı sağlayan kurum, kuruluş ve kişiler bu bölümde belirtilmelidir.

Tablolar

Tablolar metni tamamlayıcı olmalı, metin içerisinde tekrarlanan bilgiler içermemelidir. Metinde yer alma sıralarına göre Arapik sayılarıyla numaralandırılıp tablonun üstüne kısa ve açıklayıcı bir başlık yazılmalıdır. Tabloda yer alan kısaltmalar, tablonun hemen altında açıklanmalıdır. Dipnotlarda sırasıyla şu semboller kullanılabilir: *, †, ‡, §, ¶.

Şekiller

Şekil, resim, grafik ve fotoğrafların tümü "Şekil" olarak adlandırılmalı ve ayrı birer .jpg veya .gif dosyası olarak (yaklaşık 500x400 piksel, 8 cm eninde ve en az 300 dpi çözünürlükte) sisteme eklenmelidir. Şekiller metin içinde kullanım sıralarına göre Arapik rakamla numaralandırılmalı ve metinde parantez içinde gösterilmelidir.

Şekil Alt Yazıları

Şekil alt yazıları, her biri ayrı bir sayfadan başlayarak, şekillere karşılık gelen Arapik rakamlarla çift aralıklı olarak yazılmalıdır. Şeklin belirli bölümlerini işaret eden sembol, ok veya harfler kullanıldığında bunlar alt yazıda açıklanmalıdır. Başka yerde yayınlanmış olan şekiller kullanıldığında, yazarın bu konuda izin almış olması ve bunu belgelemesi gerekir.

Ölçümler Ve Kısaltmalar

Tüm ölçümler metrik sisteme (Uluslararası Birimler Sistemi, SI) göre yazılmalıdır. Örnek: mg/kg, µg/kg, mL, mL/kg, mL/kg/h, mL/kg/min, L/min, mmHg, vb. Ölçümler ve istatistiksel veriler, cümle başında olmadıkları sürece rakamla belirtilmelidir. Herhangi bir birimi ifade etmeyen ve dokuzdan küçük sayılar yazı ile yazılmalıdır.

Metin içindeki kısaltmalar, ilk kullanıldıkları yerde parantez içinde açıklanmalıdır. Bazı sık kullanılan kısaltmalar; iv, im, pove sc şeklinde yazılabilir.

İlaçların yazımında jenerik isimleri kullanılmalıdır.

İçindekiler

		Sayfa
Orjinal Araştırma / Original Investigation		
01	The Effects of Hypericum Crenulatum Polysaccharides on The Proliferation of Cancer Cells Hypericum Crenulatum Polisakkaritlerinin Kanser Hücrelerinin Proliferasyonu Üzerine Etkileri Oktay Özkan, Işıl Aydemir, Ahmet Savran	01
02	Clinical effects of external ventricular drainage system, potential complications and complication management Eksternal ventriküler drenaj sisteminin klinik etkileri, olası komplikasyonları ve yönetimi Serhat Yıldızhan, Mehmet Gazi Boyacı	07
03	The Effect of Platelet Rich Plasma Frequency On Early Stage Knee Osteoarthritis Plateletten Zengin Plazma Uygulama Sıklığının Erken Evre Diz Osteoartriti Üzerine Etkisi Aziz Atik	13
04	N-Butyl 2 Siyanoakrilatın Biyolojik Etkilerinin Araştırılması Investigation of Biological Effects of N- Butyl 2 Cyanoacrylate Oğuz Karahan, Mahmut Balkan, Erhan Hafız, Emced Khalil	20
Olgu Sunumu / Case Report		
05	Tardive Dyskinesia Due to Short-Term and Low-Dose Use of Trifluoperazine: A Case Report Kısa Süreli ve Düşük Dozda Trifluoperazin Kullanımına Bağlı Tardif Diskinezi: Bir Olgu Sunumu Mehmet Hamdi Orum, Yasar Kapıcı, Behice Han-Almis	32
06	A Case Of High-Grade Myxofibrosarcoma With Rare Axillary Localization Aksiller Lokalizasyonu Olan Nadir Yüksek Dereceli Miksofibrosarkom Olgusu Yeliz Yılmaz Bozok, Murat K. Atahan, Furkan Tosun, Sultan D. Altındağ, Aslı K. Akkalp	35
07	Servikal diskopatili bir olguda gelişen nöropatik ağrının akupunktur tedavisine dramatik yanıtı: Olgu sunumu Dramatic response to acupuncture treatment of neuropathic pain in a case with cervical discopathy: Case report Ahmet Karakoyun, Gamze Yanartaş	39
08	A case of stress fracture: What is the underlying cause? Bir stres kırığı olgusu: Altta yatan neden nedir? Yakup Erden, Muhammed Şahin	43

The Effects of Hypericum Crenulatum Polysaccharides on The Proliferation of Cancer Cells

Hypericum Crenulatum Polisakaritlerinin Kanser Hücrelerinin Proliferasyonu Üzerine Etkileri

Oktay Özkan¹, Işıl Aydemir², Ahmet Savran³

1 Department of Medicinal Pharmacology, Faculty of Medicine, Nigde Ömer Halisdemir University, Niğde/Turkey

2 Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Nigde Ömer Halisdemir University, Niğde/Turkey

3 Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Nigde Ömer Halisdemir University, Niğde/Turkey

ÖZET

Kanser tedavisinde amaç, sağlıklı hücelere zarar vermeden tümör hücresi ölümünü indüklemek ve bu hücrelerin diğer organlara yayılmasını engellemektir. Metastaz durumunda, tedavi protokolleri yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle alternatif tedavi yöntemlerine başvurulmakta ve bu amaçla bitkisel ürünler yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda, Hypericum crenulatum polisakaritlerinin meme kanseri hücre dizilerinin proliferasyonu üzerindeki etkisini araştırmayı amaçladık. Hypericum crenulatum polisakaritleri izole edilerek MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerine farklı seyreltilerde uygulandı ve MTT metodu ile her iki hücre için IC50 dozları hesaplandı. Meme kanseri hücrelerine IC50 dozundaki polisakaritler 24 saat süre ile uygulandı ve immünohistokimyasal olarak metastaz ve proliferasyon belirteçleri PI3K, Akt-1 ve Erk-1/2 ile boyamaları yapıldı. Boyanmalar H-score ile değerlendirilerek gruplar arasındaki farkı belirlemek amacıyla istatistiksel analiz gerçekleştirildi. Hypericum crenulatum polisakaritlerinin her iki meme kanseri hücreleri üzerine MTT metodu ile toksik olduğu bulundu. PI3K, Akt-1 ve Erk-1/2 boyanmaları incelendiğinde, uygulama gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu saptandı. MDA-MB-231 hücreleri ER (-) olduğundan, metastaz kabiliyetleri MCF-7 ER(+) hücrelerine kıyasla daha fazladır. Bu nedenle, polisakaritlerin toksik etkisinin MCF-7 hücrelerinde daha yüksek olduğu bulundu. Sonuç olarak, bitkisel ürünlerin in vitro ortamda antiproliferatif etkilerinin yanında in vivo etkilerinin de ortaya konulması açısından çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: hypericum crenulatum, meme kanseri, proliferasyon, sitotoksikite

ABSTRACT

The goal in the cancer treatment is to induce tumor cell death without damaging healthy cells and to prevent the spread of these cells to other organs. In the case of metastasis, the cure protocols may be inadequate. Alternative methods are used to support treatment. For this purpose, herbal products are widely used. In our experiment, we aimed to investigate the effect of Hypericum crenulatum polysaccharides on the proliferation of breast cancer cell lines. Hypericum crenulatum polysaccharides were isolated and were exposed to the MCF-7 and MDA-MB-231 cells at different dilutions, then IC50 doses for each cell were calculated using MTT assay. Breast cancer cells were treated with IC50 doses of polysaccharides for 24 hours and immunocytochemistry was performed to evaluate the expressions of metastases and proliferation markers, PI3K, Akt-1 and Erk-1/2. The staining results were evaluated by H-score and the difference between the groups was analyzed statistically. Hypericum crenulatum polysaccharides were found to be toxic to both breast cancer cells by MTT method. When PI3K, Akt-1 and Erk-1/2 markers of proliferation and metastasis were evaluated, it was seen that there was a significant decrease compared to the control group. Since MDA-MB-231 cells are ER (-), their invasion ability is over compared to MCF-7 ER (+) cells. For this reason, the toxic effect of polysaccharides was found to be higher in MCF-7 cells. As a result, in vivo studies are needed to be performed following the the antiproliferative effects of herbal products are found in vitro.

Keywords: hypericum crenulatum, breast cancer, proliferation, cytotoxicity

INTRODUCTION

Breast cancer is most common cancer type in women and has a high risk because of its metastatic properties. Especially, the treatment of hormone related breast tumors, such as estrogen receptor positive (ER+) or progesterone receptor positive (PR+), is difficult.

Concurrently, the presence of molecules that allow tumor cells to multiply and spread to other organs also delays treatment of the breast cancer (1, 2). There are many signal molecules involved in tumorigenesis. The PI3K, Akt-1 and Erk-1/2 are the most important (3, 4). The increase in PI3K,

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Işıl Aydemir, PhD, Nigde Ömer Halisdemir University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Niğde/Turkey

E-Posta/E-Mail: isil_aydemir@yahoo.com || Tel: +90 388 225 25 67

Received/Geliş Tarihi: 15 Nov 2019 || Accepted/Kabul Tarihi: 25 Dec 2019

Bu Eser Creative Commons Atıf-Gayriticari 4.0 Uluslararası Lisansı İle Lisanslanmıştır. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).



Akt-1 and Erk-1/2 levels triggers the uncontrolled cell proliferation and causes cancer to start. Such molecules are targeted in cancer treatment. Previous studies have reported that inhibition of these molecules caused a decrease in the proliferation and progression of tumor cells (5-7). Due to the difficulty of treatment, besides chemotherapy and surgery, alternative cure are sought recently. The use of herbal products and compounds are among complementary alternative therapies (8-10).

In experimental studies, the cytotoxic effects of herbal products are investigated in vitro and in vivo conditions. The members of Hypericaceae plant family were searched and it was stated that they have effects such as antidepressant, antibacterial, anti-inflammatory and cytotoxic. Hyperforin, an acylphloro-glucinol-type compound, isolated from *Hypericum crenulatum* has antibiotic effect on several gram-positive bacteria (11) whereas 50 and 75 µL/mL of hypericin from *Hypericum crenulatum* has cytotoxic effect on MCF-7 breast cancer cells (12). Also photoactivated hypericin inhibited cell division in RINm5F insulinoma cells (IC50 dose: 105.97 nM9) (13). Another member of Hypericaceae family is *Hypericum crenulatum* is an endemic plant of Niğde region. Its compounds and biological effects have not yet been studied. In our experiment, we aimed to search the antiproliferative effects of polysaccharides isolated from *Hypericum crenulatum* on MCF-7 and MDA-MB-231 cells via metastasis and proliferation markers, PI3K, Akt-1 and Erk-1/2.

MATERIAL & METHODS

Collection of plant and isolation of polysaccharides

Hypericum crenulatum plant was gathered in term of July 2013 from the Bolkar Mountains within the boundaries of Niğde province. Its taxonomic classification was made by biologist Ahmet Savran. The leaf parts of the plant were used for polysaccharides isolation. The isolation method was performed according to the previously described protocol (14).

Cell culture

The MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines were purchased from ATCC, USA. Cells were cultured in RPMI-1640 (F1213, Biochrom, Berlin Germany) media containing 10 % fetal bovine serum (S0113, Biochrom, Berlin

Germany), 200mM L-glutamine (K0282, Biochrom, Berlin, Germany), 100UI/ml. penicillin/streptomycin (A2213, Biochrom, Berlin, Germany) in the conditions of 37°C and 5 % CO₂ in a humidified atmosphere. They were grown for 70-80% confluency and then used for experiments.

Cytotoxicity assay

To detect IC₅₀ dose of *Hypericum crenulatum* polysaccharides, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, M5655, Sigma, Steinheim, Germany) assay was used. For this purpose, cells were passage into 96-well plate (45x10³ cells/well) and allowed to confluent (70-80%) for 24 h. The stock solution of polysaccharides was prepared as 100 mgr. polysaccharides/1 mL ethanol. Cells were treated with the different dilutions of polysaccharides (0, 1/10, 1/50, 1/100, 1/1000 from stock solution) for 24 h. Then media containing polysaccharides was discharged and 10 µL MTT (5 mg/ml in distilled water) and 100 µL of fresh media were added to the cells. After 4 hours, MTT was removed and dimethyl sulphoxide (DMSO, A3672, AppliChem, Darmstadt, Germany) was put into the each well. The absorbance was measured at a wavelength of 570 nm using an UV visible spectrophotometer multiplate reader (ELx800UV, BioTek). The experiment was repeated 3 times for each concentration (15).

Immunocytochemistry

For immunocytochemical staining, MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cells were cultured into the 24-well plates (2.5x10⁵ cells/per well) for 24 h. Cells were treated with the IC₅₀ dose of *Hypericum crenulatum* polysaccharides for 24 h. Then cells were fixed in 4% paraformaldehyde in PBS at +4°C for 30 min and 0.1% Triton X-100 (A4975, AppliChem, Darmstadt, Germany) was used for permeabilization. Following washing in PBS three times for 5 min, endogenous peroxidase activity was inhibited with 3% hydrogen peroxide (1 08600, Merck, Darmstadt, Germany). Cells were incubated with primary antibodies: anti- PI3K (sc-1637, Santa Cruz Biotechnology) ve anti- Akt-1 (sc-271149, Santa Cruz Biotechnology) and anti-Erk-1/2 (sc-514302, Santa Cruz Biotechnology) at +4°C overnight. For negative control, primary antibodies were not applied to cells. After washing in PBS, the secondary antibodies, biotinylated secondary antibodies and peroxidase-conjugated

streptavidin (Histostain kit, 85-9043, Zymed, Carlsbad, USA), were used. Cells were dyed with diaminobenzidine/hydrogen peroxide (DAB, 00-2014, Invitrogen, CA, USA) to make the immunoreactivities visible and counterstaining was performed with Mayer's hematoxylin (800-729-8350, ScyTek, UT, USA). Cells were mounted with aqueous medium (K002, DBS, Pleasanton, USA). Samples were evaluated under camera attached (SC50, Olympus, Germany) light microscope (IX71 inverted-fluorescence-phase microscope) (Olympus, Japan). Experiments were repeated three times (16).

Statistical analysis

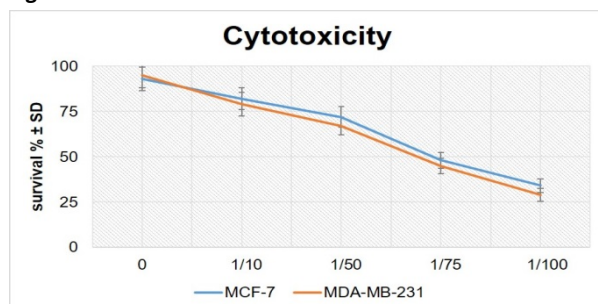
The intensities of immunocytochemical staining were determined as no staining (0), weak (+), moderate (++) and strong (+++) respectively and cells were counted for each intensity in five different fields. The H-score was calculated by formula $H\text{-Score} = \sum P_i (\text{intensity of staining} + 1)$. P_i means the percentage of stained cells for intensity, varying from 0% to 100%. The H-score was evaluated by at least two observers independently. The values for < 0.05 were considered statistically significant. The results were analyzed by repeated-measures of the ANOVA test. The Tukey-Kramer multiple comparisons test was used to expressed differences amongst the mean values (mean \pm Standard deviation) (16, 17).

RESULTS

Cytotoxicity assay

The cytotoxic effects of *Hypericum crenulatum* polysaccharides were determined by MTT assay and IC50 doses for MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines were calculated as 12.5 $\mu\text{g/ml}$ and 10.25 $\mu\text{g/ml}$, respectively (Figure 1).

Figure 1.



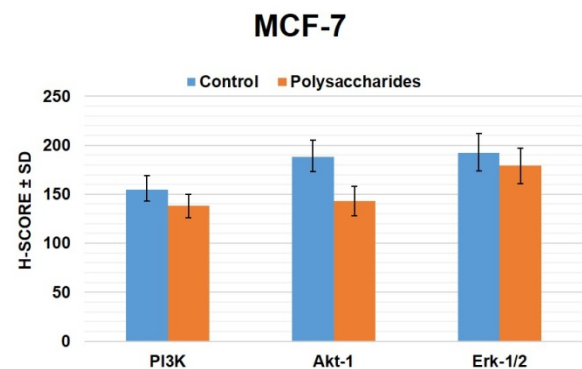
The results of MTT assay for IC50 doses of *Hypericum crenulatum* polysaccharides on MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines for 24 h.

Immunocytochemical results

After application of *Hypericum crenulatum* polysaccharides IC50 doses for both MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines, immunocytochemical procedure was performed using proliferation markers PI3K, Akt-1 and Erk-1/2. The H-score evaluations were compared for each cell lines and markers. It was found that polysaccharides were toxic for both breast cancer cell lines via proliferation markers.

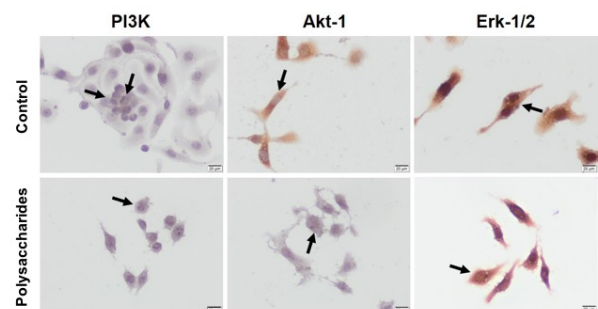
Polysaccharides reduced proliferation markers in MCF-7 cells compared to control group (Figure 2). The decrease in Akt-1 immunoreactivity was more obvious according to control group ($***P < 0.001$). In the Erk-1/2 immunoreactivity, the difference between the control group and polysaccharides group was lower ($**P < 0.01$) than the other groups of PI3K and Akt-1 markers (Figure 3).

Figure 2.



H-score analysis of immunocytochemical staining of PI3K, Akt-1 and Erk-1/2 in MCF-7 breast cancer cells after application of *Hypericum crenulatum* polysaccharides.

Figure 3.

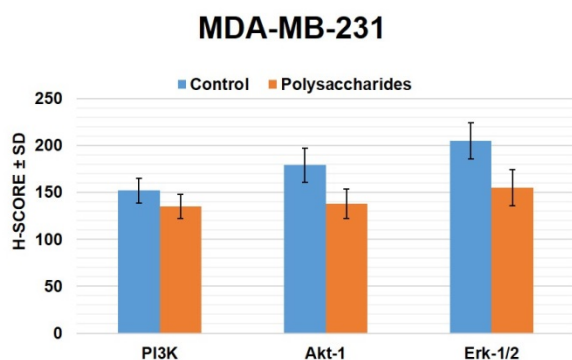


The images of immunocytochemical stainings of PI3K, Akt-1 and Erk-1/2 in MCF-7 breast cancer cells after application of *Hypericum crenulatum* polysaccharides. Arrows: immunopositive cells, Scale bars: 20 μm .

In MDA-MB-231 cells, the immunoreactivities of PI3K, Akt-1 and Erk-1/2 were greater than the polysaccharides group (Figure 4 and 5), whereas they were significantly decreased in the polysaccharides group. Especially polysaccharides prominently decreased the immunoreactivity of Erk-1/2 ($***P<0.001$).

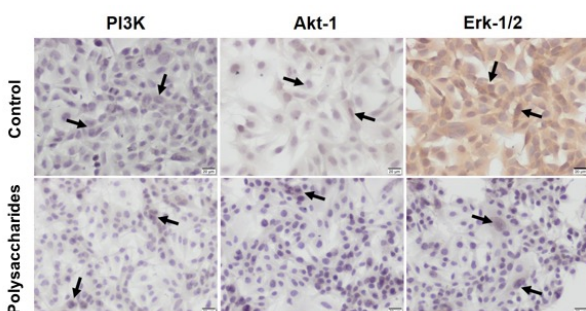
When the effect of the polysaccharides drug on two different breast cancer cells is examined, Erk-1/2 was more repressed by polysaccharides in MDA-MB-231 cells ($***P<0.001$). There was no difference between the two cells in terms of the immunoreactivity of PI3K ($P>0.05$). The distribution of Erk-1/2 immunoreactivity was similar in both cells.

Figure 4.



H-score analysis of immunocytochemical stainings of PI3K, Akt-1 and Erk-1/2 in MDA-MB-231 breast cancer cells after application of Hypericum crenulatum polysaccharides.

Figure 5.



The images of immunocytochemical stainings of PI3K, Akt-1 and Erk-1/2 in MDA-MB-231 breast cancer cells after application of Hypericum crenulatum polysaccharides. Arrows: immunopositive cells, Scale bars: 20µm.

DISCUSSION

Here we stated that *Hypericum crenulatum* polysaccharides have inhibitory effect on the proliferation of MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cells in vitro condition via proliferative markers PI3K, Akt-1 and Erk-1/2. In these

markers, there was a significant decrease compared with the un-treated group. In the current study, we used *Hypericum crenulatum* polysaccharides that had not been studied before was used. But the other species belonged to the genus of *Hypericum*, have shown to have an antiproliferative effect on tumor cells in vitro conditions (11, 12, 18-23).

Hyperforin from *Hypericum perforatum*, was toxic for MCF-7, MDA-MB-468 and MT-450 mammary carcinoma cell lines at $IC_{50}<5 \mu M$ (11). Hypericin, another agent extracted from *Hypericum perforatum*, caused cell death in MCF-7 cells at a dose of $\geq 50 \mu l/ml$ (12). In another study, IC_{50} dose of hypericin for MCF-7 cells was found as $5 \mu g/ml$ for 24 h and $0.5 \mu g/ml$ for 48 h (18). Concurrently, hypericin activated with light, triggered the apoptotic pathways on A375, 501mel and UCT Mel-1 melanoma cells. It was indicated that extrinsic pathway was occurred via caspase-8 in A375 cells, whereas the intrinsic pathway was initiated by caspase-8 and PARP in UCT Mel-1 cells (19). The extract of *Hypericum scabrum*, has also been shown to have a cytotoxic effect on some tumor cells, such as MCF-7 human breast carcinoma cells, A549 non-small cell lung carcinoma, HepG-2 hepatocellular carcinoma and HT-29 colorectal carcinoma cells (20, 21). The methanolic extract of *Hypericum salicifolium* has been evaluated for its antiproliferative and cytotoxic effects on MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines. In both cells, the methanolic extract of *Hypericum salicifolium* at dose of $350 \mu g/ml$, repressed the cell migration and colony formation (22). In our study, we found that the *Hypericum crenulatum* polysaccharides has a cytotoxic effect on MCF-7 and MDA-MB-231 and detected the IC_{50} dose of *Hypericum crenulatum* polysaccharides for MCF-7 and MDA-MB-231 cells as $12.5 \mu g/ml$ and $10.25 \mu g/ml$, respectively.

The presence of proliferative markers plays an important role in the development and progression of cancer. PI3K/Akt/mTOR signalling pathway has a crucial role for progression and survival of tumor cells. In the studies about the cancer, it is intended to be suppressed the signal molecules of PI3K/Akt/mTOR pathway by anticancer agents or herbal extracts, respectively (24, 25). It was reported that the compound of hyperoside found in the genus of *Hypericum* and *Crataegus*, induced autophagy in A549 non-

small cell lung cancer cells. It was suggested that there was a relationship between the autophagy and inhibition of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and also induction of Erk1/2 (21). In the current study, we determined that there was a significant reduced expression of PI3K, Akt-1, Erk-1/2 by *Hypericum crenulatum* polysaccharides in MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines.

CONCLUSION

In our experiment, *Hypericum crenulatum* polysaccharides have cytotoxic effect on both MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines in vitro condition. After the application of *Hypericum crenulatum* polysaccharides, the antiproliferative effect was ascertained by the decrease in PI3K, Akt-1, Erk-1/2 markers. The further studies of in vivo cancer model are needed to establish the antiproliferative effect of *Hypericum crenulatum* polysaccharides.

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

The author declares no conflict of interest.

Finansal destek yoktur

The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

doi: <https://doi.org/10.33713/egetbd.647464>

REFERENCES

1. Hasegawa T, Adachi R, Iwakata H, Takeno T, Sato K, Sakamaki T. ErbB2 signaling epigenetically suppresses microRNA-205 transcription via Ras/Raf/MEK/ERK pathway in breast cancer. *FEBS Open Bio* 2017; 7(8):1154-1165. doi:10.1002/2211-5463.12256.
2. Gagliato DM, Jardim DL, Marchesi MS and Hortobagyi GN. Mechanisms of resistance and sensitivity to anti-HER2 therapies in HER2+ breast cancer. *Oncotarget* 2016; 7, 64431-64446.
3. Liu S, Chen S, Yuan W, Wang H, Chen K, Li D, Li D. PD-1/PD-L1 interaction up-regulates MDR1/P-gp expression in breast cancer cells via PI3K/AKT and MAPK/ERK pathways. *Oncotarget* 2017; 8(59):99901-99912. doi:10.18632/oncotarget.21914.
4. Han R, Gu S, Zhang Y, Luo A, Jing X, Zhao L, Zhao X, Zhang L. Estrogen promotes progression of hormone-dependent breast cancer through CCL2-CCR2 axis by upregulation of Twist via PI3K/AKT/NF- κ B signaling. *Sci Rep* 2018; 8(1):9575. doi: 10.1038/s41598-018-27810-6.
5. Weigelt B, Warne PH and Downward J. PIK3CA mutation, but not PTEN loss of function, determines the sensitivity of breast cancer cells to mTOR inhibitory drugs. *Oncogene* 2011; 30, 3222-3233.
6. Adamczyk A, Niemiec J, Janecka A, Harazin- Lechowska A, Ambicka A, Grela-Wojewoda A, Domagala-Haduch M, Cedrych I, Majchrzyk K, Kruczak A et al. Prognostic value of PIK3CA mutation status, PTEN and androgen receptor expression for metastasis-free survival in HER2-positive breast cancer patients treated with trastuzumab in adjuvant setting. *Pol J Pathol* 2015; 66, 133-141.
7. Qin H, Liu L, Sun S, Zhang D, Sheng J, Li B, Yang W. The impact of PI3K inhibitors on breast cancer cell and its tumor microenvironment. *PeerJ* 2018; 6:e5092. doi: 10.7717/peerj.5092.
8. Franco P, Rampino M, Ostellino O, Schena M, Pecorari G, Garzino Demo P, Fasolis M, Arcadipane F, Martini S, Cavallin C, Airoidi M, Ricardi U. Management of acute skin toxicity with *Hypericum perforatum* and neem oil during platinum-based concurrent chemo-radiation in head and neck cancer patients. *Med Oncol* 2017; 34(2):30. doi: 10.1007/s12032-017-0886-5.
9. Werthmann PG, Inter P, Welsch T, Sturm AK, Grützmann R, Debus M, Sterner MG, Kienle GS. Long-term tumor-free survival in a metastatic pancreatic carcinoma patient with FOLFIRINOX/Mitomycin, high-dose, fever inducing *Viscum album* extracts and subsequent R0 resection: A case report. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97(49):e13243. doi: 10.1097/MD.00000000000013243.
10. Costea T, Hudiță A, Ciolac OA, Gălățeanu B, Ginghină O, Costache M, Ganea C, Mocanu MM. Chemoprevention of Colorectal Cancer by Dietary Compounds. *Int J Mol Sci* 2018; 19(12). pii: E3787. doi: 10.3390/ijms19123787.
11. Schempp CM, Kirkin V, Simon-Haarhaus B, Kersten A, Kiss J, Termeer CC, Gilb B, Kaufmann T, Borner C, Sleeman JP, Simon JC. Inhibition of tumour cell growth by hyperforin, a novel anticancer drug from St. John's wort that acts by induction of apoptosis. *Oncogene* 2002; 21(8):1242-50.
12. Ocak Z, Acar M, Gunduz E, Gunduz M, Demircan K, Uyeturk U, Ozlu T. Effect of hypericin on the ADAMTS-9 and ADAMTS-8 gene expression in MCF7 breast cancer cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17(9):1185-90.
13. Yi J, Yang X, Zheng L, Yang G, Sun L, Bao Y, Wu Y, Huang Y, Yu C, Yang SN, Li Y. Photoactivation of hypericin decreases the viability of RINm5F insulinoma cells through reduction in JNK/ERK phosphorylation and elevation of caspase-9/caspase-3 cleavage and Bax-to-Bcl-2 ratio. *Biosci Rep* 2015; 35(3). pii: e00195. doi: 10.1042/BSR20150028.
14. You Lv, Xingbin Yang, Yan Zhao, Yun Ruan, Ying Yang, Zhezhi Wang. Separation and quantification of component monosaccharides of the tea polysaccharides from *Gynostemma pentaphyllum* by HPLC with indirect UV

detection. Food Chemistry 2009; 742–746.

15. Deliloglu-Gurhan I, Tuğlu I, Vatanserver HS, Ozdal-Kurt F, Ekren H, Taylan M, Sen BH. The effect of osteogenic medium on the adhesion of rat bone marrow stromal cell to the hydroxyapatite. Saudi Med J 2006; 27(3):305-11.

16. Ozdal-Kurt F, Tuğlu I, Vatanserver HS, Tong S, Şen BH, Deliloğlu-Gürhan SI. The effect of different implant biomaterials on the behavior of canine bone marrow stromal cells during their differentiation into osteoblasts. Biotech Histochem 2016; 91(6):412-22, 2016. doi: 10.1080/10520295.2016.1183819.

17. Ozbilgin K, Karaca F, Turan A, Köse C, Vatanserver S, Ozcakar T. 2015. The higher heparin-binding epidermal growth factor (HB-EGF) in missed abortion. Taiwan. J. Obstet. Gynecol 2015; 54 (1), 13e18.

18. Mirmalek SA, Azizi MA, Jangholi E, Yadollah-Damavandi S, Javidi MA, Parsa Y, Parsa T, Salimi-Tabatabaee SA, Ghasemzadeh Kolagar H, Alizadeh-Navaei R. Cytotoxic and apoptogenic effect of hypericin, the bioactive component of *Hypericum perforatum* on the MCF-7 human breast cancer cell line. Cancer Cell Int 2016; 16:3. doi: 10.1186/s12935-016-0279-4.

19. Kleemann B, Loos B, Scriba TJ, Lang D, Davids LM. St John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) photomedicine: hypericin-photodynamic therapy induces metastatic melanoma cell death. PLoS One 2014; 9(7):e103762. doi: 10.1371/journal.pone.0103762.

20. Hamzeloo-Moghadam M, Khalaj A, Malekmohammadi M. Cytotoxic Activity and Apoptosis Induction of *Hypericum scabrum* L. Iran Red Crescent Med J 2015; 17(10):e19453. doi: 10.5812/ircmj.19453.

21. Fu T, Wang L, Jin XN, Sui HJ, Liu Z, Jin Y. Hyperoside induces both autophagy and apoptosis in non-small cell lung cancer cells in vitro. Acta Pharmacol Sin 2016; 37(4):505-18. doi: 10.1038/aps.2015.148.

22. Bender O, Llorent-Martínez EJ, Zengin G, Mollica A, Ceylan R, Molina-García L, Fernández-de Córdoba ML, Atalay A. Integration of in vitro and in silico perspectives to explain chemical characterization, biological potential and anticancer effects of *Hypericum salsugineum*: A pharmacologically active source for functional drug formulations. PLoS One 2018; 13(6):e0197815. doi: 10.1371/journal.pone.0197815.

23. Borawska MH, Naliwajko SK, Moskwa J, Markiewicz-Żukowska R, Puścion-Jakubik A, Soroczyńska J. Anti-proliferative and anti-migration effects of Polish propolis combined with *Hypericum perforatum* L. on glioblastoma multiforme cell line U87MG. BMC Complement Altern Med 2016; 16:367. doi: 10.1186/s12906-016-1351-2.

24. Sun B, Wang G, Liu H, Liu P, Twal WO, Cheung H, Carroll SL, Ethier SP, Mevers EE, Clardy J, Roberts T, Chen C, Li Q,

Wang L, Yang M, Zhao JJ, Wang Q. Oridonin inhibits aberrant AKT activation in breast cancer. Oncotarget 2018; 9(35):23878-23889. doi: 10.18632/oncotarget.24378.

25. Sun X, Ma X, Li Q, Yang Y, Xu X, Sun J, Yu M, Cao K, Yang L, Yang G, Zhang G, Wang X. Anti-cancer effects of fisetin on mammary carcinoma cells via regulation of the PI3K/Akt/mTOR pathway: In vitro and in vivo studies. Int J Mol Med 2018; 42(2):811-820. doi: 10.3892/ijmm.2018.3654

Clinical effects of external ventricular drainage system, potential complications and complication management

Eksternal ventriküler drenaj sisteminin klinik etkileri, olası komplikasyonları ve yönetimi

Serhat Yıldızhan¹ , Mehmet Gazi Boyacı¹ 

1 Neurosurgery Department, Afyonkarahisar Health Sciences University Faculty of Medicine, Afyon/Turkey

ÖZET

AMAÇ: Bu çalışmanın amacı, uygulanan eksternal ventriküler drenaj sisteminin mortalite üzerine etkisini, oluşabilecek komplikasyonları ve komplikasyonların yönetiminin ortaya konmasıdır

GEREÇ VE YÖNTEM: Ocak 2016 – Kasım 2018 ayları arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Beyin Cerrahisi Kliniğinde eksternal ventriküler drenaj sistemi takılmış toplam 128 hasta geriye dönük olarak tarandı. Hastalar yaş, cinsiyet, endikasyon, başvuru anındaki bilinç düzeyleri, sistemik enfeksiyon varlığı, sekonder komplikasyonlar açısından araştırıldı. Eksternal ventriküler drenaj uygulamasının klinik sonuçları üzerine etkileri değerlendirildi.

BULGULAR: Çalışma boyunca 128 hastaya toplamda 176 kez ventrikülostomi uygulandı. Yaş aralığı 1-88 arasında olan 73 erkek, 55 kadın hasta vardı. Hastaneye başvuru anında ortalama GKS değeri 64 hastada 7'nin altında idi. Toplam 38 hastada ventrikülit gelişti. Başvuru anında 8 hastada sistemik enfeksiyon ve antibiyotik kullanım öyküsü tespit edildi. 52 hasta takipler sonucunda kaybedildi.

SONUÇ: Eksternal ventriküler drenaj sistemi acil şartlarda kafa içi basıncı düşürmek amacıyla uygulanan ve klinik sağ kalım üzerine olumlu etkileri bulunan bir sistemdir. En sık ve en ölümcül komplikasyon enfeksiyon gelişimidir. Drenaj sistemi sadece kesinlikle gerekli olan durumlarda ve belirli protokollere göre yapılmalı, ventrikülostomi gerekli süre boyunca tutulmalı ve 5 gün sonra enfeksiyondaki üssel artış göz önüne alınarak hastalar yakın takip edilmelidir.

Anahtar Kelimeler: eksternal ventriküler drenaj sistemi, ventrikülit, mortalite

ABSTRACT

OBJECTIVE: The aim of this study is to reveal the effect of external ventricular drainage system on mortality, potential complications and management of complications.

MATERIALS AND METHODS: Data of 128 patients undergoing external ventricular drain placement procedure at Afyon Kocatepe University Department of Neurosurgery between January 2016 and November 2018 were screened retrospectively. Age, sex, indication, level of consciousness at the time of admission, presence of systemic infection, and secondary complications of the patients were examined. The effects of external ventricular drainage on clinical outcome were evaluated.

RESULTS: A total of 176 ventriculostomies were performed in 128 patients during the study. There were 73 male and 55 female patients with an age range of 1-88 years. The mean Glasgow Coma Scale at admission was ≤ 7 in 64 patients. Ventriculitis developed in a total of 38 patients. Systemic infection and antibiotic use history were detected in eight patients at admission. Fifty-two patients died during the follow-up period.

CONCLUSION: External ventricular drainage is a system applied to reduce intracranial pressure under emergency conditions and has positive effects on clinical survival rate. Infection is the most common and most mortal complication. The drainage should only be applied in cases where it is absolutely necessary and in accordance with certain protocols. Furthermore, ventriculostomy should be kept only for the required period of time, and patients should be followed closely considering the exponential increase in infection after five days.

Keywords: external ventricular drainage system, ventriculitis, mortality

INTRODUCTION

External ventricular drainage (EVD) is a method used for the treatment of intraventricular hemorrhage (IVH) caused by

the spread of intracerebral hemorrhage (ICH) and subarachnoid hemorrhage (SAH) to the ventricular system and the treatment of acute hydrocephalus. The aim of EVD

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Serhat Yıldızhan, MD, Department of Neurosurgery, Afyonkarahisar Health Sciences University Faculty of Medicine Afyon/Türkiye

E-Posta/E-Mail: serhatyildizhan07@gmail.com || Tel: +90 505 820 39 63

Received/Geliş Tarihi: 31 Dec 2019 || **Accepted/Kabul Tarihi:** 09 Mar 2020

Bu Eser Creative Commons Atıf-Gayriticari 4.0 Uluslararası Lisansı İle Lisanslanmıştır. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).



is to lower the volume by draining the bleeding and cerebrospinal fluid (CSF), to administer the fibrinolytic drugs directly into the ventricle, to reduce the destructive effects of blood within the ventricle, and to reduce intracranial pressure.

In neurosurgery practices, ventricular catheter placement approach for CSF drainage is increasing gradually in both acute hydrocephalus treatment and clinical situations requiring temporary treatment [1- 8]. Frequent mechanical complications such as dislocation and obstruction can be listed as the disadvantages of EVD system [5, 9, 10]. Furthermore, infective complications resulting in ventriculitis and meningitis, which cause serious morbidity and are responsible for most adverse sequelae, are seen [4, 10-15]. These complications, which are very difficult to treat, increase the length of hospital stay and therefore, increase the cost of treatment [11, 16, 17].

Although there are highly effective antibiotics and closed drainage systems, the infection rate of ventricular catheters is still high and infection rates have been reported to be 0-40% [4, 10-12, 14, 18-21]. There is still no consensus on the time required for periodic replacement of optimal ventricular catheters and the use of intraventricular antibiotics. In some studies, infection has been reported to be independent of catheter duration [4, 19-21]. Therefore, a functioning ventricular catheter is recommended to remain until it gets infected or blocked and to be removed if it is ensured that it is no longer necessary [3]. There are also studies in the literature showing that infection rates increase with increasing duration of ventricular catheters [8, 14, 15, 17, 18, 22, 23]. In the present study, the effects of ventricular catheters on survival, its complications, and treatments for the management of complication were discussed.

MATERIALS & METHODS

Patients undergoing percutaneous ventriculostomy at Afyon Kocatepe University Faculty of Medicine Department of Neurosurgery between January 2016 and November 2018 were prospectively enrolled in the study. The operation was typically performed in an operating room with an aseptic environment. In some patients with a poor general condition, who were on a ventilator, the procedure was performed in the neurosurgical intensive care unit. All

patients received prophylactic antibiotic treatment before the intervention and systemic antibiotic treatment for five days after the intervention. In patients with a suspicion of postoperative ventriculitis, the catheter was changed and the removed part was sent for culture analysis.

Age, sex, underlying disease, secondary complications, other concomitant infections, antibiotic treatment, and ventriculostomy duration were collected from each patient. Cerebrospinal fluid assays were performed at least once every 48 hours and included cytology, culture and biochemical analyzes.

Infection criteria were determined before the study accordingly, positive CSF culture or CSF glucose of <15mg/dL and a combination of at least 50 leukocytes and polymorphs more than 25 in direct examination were interpreted in favor of infection.

Patients who had IVH after trauma, had previously undergone shunt placement or EVD for any reason, and those who showed signs of cranial infection before EVD placement were excluded from the study.

Brain computed tomography (CT) was performed in all patients. Brain CT was repeated when there was no additional neurological deficit, decrease in GCS score and CSF drainage eight hours after EVD placement.

Statistical analysis was performed using Statistix version 4.0 and standard database techniques from which all data were later converted to numeric format (Analytical Software, Tallahassee, Florida, USA) (variance, frequency distribution, and test of significance and BDMP survival analysis, univariate, and multivariate analysis).

RESULTS

The mean age of 128 patients was 42.6 years (1 to 88 years). Of these patients, 73 (57.3%) were male and 55 (42.7%) were female patients. Sixty patients had hydrocephalus, 58 patients had ICH, and 10 had SAH. The number of cases with a hemorrhage volume of less than 30mL and more than 30mL was 22 and 36, respectively (Table 1). Majority of hemorrhage was observed to be localized in lobar and thalamus (Table 2). When the localization and volumes of hemorrhage were examined, the mean volume of lobar hemorrhage was found to be 38 mL whereas the mean volume of thalamic hemorrhage was

20mL. Of the patients, 64 had a GCS score of ≤ 7 , 28 had a GCS score of 8-12, and 36 had a GCS score of 13-15 at the time of admission. Of the 128 patients included in the study, 52 (40.6%) died, 42 of them had a GCS score of ≤ 7 (Table 3).

Table 1. ICH Volume Frequency

Haemorrhage Volume	Case	Percentage
0-10 mL	6	11 %
11-30 mL	16	28 %
31-60 mL	22	37 %
60 mL & above	14	24 %

Table 2. Frequency of ICH by Location

Location	Case	Percentage
Lobar	26	44 %
Thalamic	22	38 %
Intraventricular	3	5 %
Serebellar	3	5 %
Basal ganglion	2	4 %
Brainstem	2	4 %

Table 3. EVD infection and death in various GCS categories

	GCS 3-7	GCS 8-12	GCS 13-15
Total patients	64	28	36
EVD infection	20	12	6
Death	42	6	4
Death due to ventriculitis	18	2	-

Patients with signs of increased intracranial pressure or progression to hydrocephalus underwent EVD procedure. The catheter was removed in patients who had improvement in neurological status and hydrocephalus. A ventriculoperitoneal shunt was inserted in 12 patients who developed obstruction. Of the patients, 76 survived and their scores increased from Grade 3-5 to Grade 2-4. The morbidity of the patients was evaluated and they were grouped as moderate disability, severe disability, and vegetative state based on GCS criteria. Moderate disability was observed in 12 patients, severe disability was observed in eight patients, and vegetative state was observed in three patients.

Ventriculostomy infection was seen in a total of 38 patients and culture was positive in 22 of them. The most common causative agents were found to be gram negative bacilli. Systemic infection findings were detected in eight patients

during ventriculostomy. Chest and urinary tract infections were the most common infections. No ventriculostomy catheter change was required in 90 patients. However, it had to be changed once in 20 patients, twice in 16 patients, four times in eight patients and five times in two patients. Infection was developed in 18 of these patients in the first week, 12 patients in the second week, six patients in the third week, and two patients in the fourth week and the catheter was changed. The total duration of catheter was 4-32 days (mean: 11.6 and median: 8 days). The duration of catheter was 4-10 days in the group with the highest number of patients (n=62). Catheters were kept for more than 30 days in only eight patients. The day of onset of infection varied from four to 22 days.

Mortality was high in lobar hemorrhage with high volume despite EVD whereas survival rates were found to be higher in thalamic hemorrhage opening to a ventricle with a low volume (figure 1, 2).

Figure 1. Intracerebral Haemorrhage

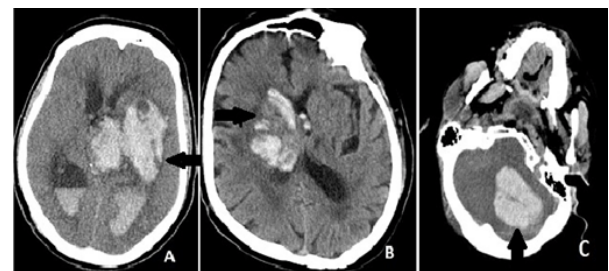


Figure 1 A: Intracerebral hemorrhage with high-volume ventricular.

Figure1 B: Low-volume intracerebral hemorrhage with left thalamic-seated ventricle.

Figure 1 C: Bleeding from the left cerebellar-settled ventricle.

Figure 2. Intracerebral Hemorrhage

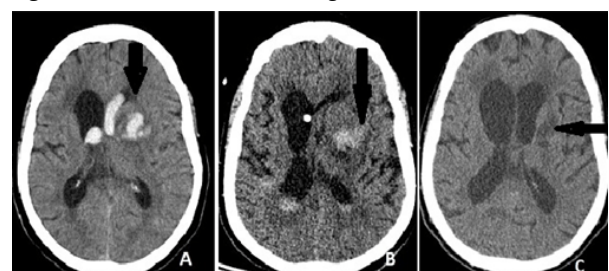


Figure 2 A: 59 years of age female patient with hypertension-induced ventricular thalamic bleeding.

Figure 2 B: Post-EVD application 15th day check CBT.

Figure 2 C: CBT from 3rd month control of the patient where the EVD was extracted after the bleeding was resorbed.

Survival and ventriculitis rates were lower in patients undergoing EVD for hydrocephalus.

Evaluation of the results revealed that mortality rate was high both during and after the acute period (n:52). Forty-two of the 64 patients with GCS ≤ 7 , six of 28 patients with GCS 8-12, and four of 36 patients with GCS 13-15 died prior to EVD placement. Infected EVD was most common in patients with GCS ≤ 7 and ventriculitis was the leading cause of death (Table 3).

DISCUSSION

The external ventricular drainage system is used to reduce intracranial pressure in the treatment of acute hydrocephalus and ventricular hemorrhage due to ICH and SAH. The aim of this treatment is to eliminate the increase in cerebral edema and intracranial pressure caused by the mass effect of ICH and to prevent rapidly developing obstructive hydrocephalus. Sudden death occurs due to the congestion in CSF absorption and communicating hydrocephalus caused by an inflammatory response and scar tissue formation following arachnoid contact with blood destruction products. In these patients, intracranial pressure should be lowered by inserting EVD urgently. The EVD system should be continued until the blood clot in the ventricle is dissolved and CSF circulation is normal [24].

Intracerebral hemorrhage is mostly localized in lobar and putamen [25]. In a study by Eroğlu et al. [26], lobar hemorrhage was reported in 41% of the cases and putaminal hemorrhage was reported in 36% of the cases. Albayrak et al. [27] reported that the most common localization was in the thalamus and lobar. In the present study, IVH was found to be localized in lobar in 44% of the cases and in the thalamus in 38% of the cases. A hemorrhage volume of 30mL is accepted as a critical threshold in ICH cases [28]. Tuhim et al. [29] reported an increase in mortality rate when hemorrhage volume exceeded 30mL. In a study by Davis et al. [30], 1mL increase in bleeding volume was reported to lead to a 55% increase in mortality. In the present study, the hemorrhage volume of 26 (68%) of 38 patients who died was higher than 30mL.

The most common complication in patients undergoing EVD is catheter-related infection and ventriculitis. Infection could not be terminated despite all the protocols [31]. In the EVD placement guidelines published by the Infectious Diseases Society of America, long-term antibiotic use has been opposed although the use of prophylactic antibiotics

is recommended [32]. Factors determining susceptibility to infection may include the presence of systemic infection, the need for surgical intervention, prolonged operation time, CSF leakage, and inability to replace the catheter in risky situations [33-37]. In a multi-centered study conducted in the United States, it has been emphasized that each center has determined a protocol in their own way regarding the EVD placement and there is no common protocol in this regard [38]. Following this study, Ramanan et al. [39] published Penn EVD application protocols and prepared the patients according to this protocol. A significant decrease was observed in infection rates after the applications made following a specific protocol [40].

The infection rate of 29.6% in our patients is in the range of 0-40% in other studies [4, 10-12, 14, 18-21]. Precise identification of ventriculitis can be possible with the correlation between positive culture results and pleocytosis in CSF examination. Although Mayhall et al. [14] describe EVD-associated ventriculitis with culture positivity, it was reported in another study that low CSF glucose value and an important CSF pleocytosis could only be explained by the presence of infection [41]. In the present study, a significant difference was found between the infected and non-infected groups in terms of CSF cell number and glucose values even in culture-negative patients.

High infection rates may be associated with ventricular catheter duration which was longer than other studies [8, 19]. The mean duration of catheter was 8.6 days in infected patients. This supports the idea that catheter stay in place more than five days increases the susceptibility to infection. Intraventricular antibiotic administration for prophylactic purposes has been reported to have no effect in preventing ventriculitis but to play an important role in the treatment [8, 10, 13].

Glasgow Coma Scale score at the time of the first admission to the emergency department is of great importance in terms of prognosis. In the present study, 42 (65.6%) of 64 patients with GCS ≤ 7 at the time of first admission, six (21.4%) of 28 patients with GCS 8-12, and four (1%) of 36 patients with GCS 13-15 died. The higher the GCS before the procedure, the better the prognosis.

The essence of this study is to show that there is a significant relationship between the duration of a

ventriculostomy catheter being in place and ventriculitis and mortality. Duration of a catheter being in place was 8.6 days in the infected group while it was 5.2 days in the non-infected group. Prospective studies have shown a positive relationship between ventriculitis and catheter duration in general [12, 14, 23].

CONCLUSION

In conclusion, EVD applied to reduce intracranial pressure is a treatment method with positive effects on morbidity and mortality despite the complications that may occur. Patients' consciousness at the time of admission, hemorrhage volume, hemorrhage location, age and concomitant diseases and ventriculitis are important factors in terms of prognosis. External ventricular drainage is a successful method with infection risk that helps to reduce intracranial pressure in the early period and reduces sudden death caused by hydrocephalus. Prognosis is relatively better in patients with higher GCS scores and shorter catheter duration, however, infection and mortality increase as initial GCS scores decrease and duration of the catheter increases. A standard should be set for the procedures applied during EVD placement and the procedure should be performed based on a certain protocol.

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

The author declares no conflict of interest.

Finansal Destek: yoktur / Funding: none

doi: <https://doi.org/10.33713/aegetbd.668395>

KAYNAKLAR

1. Albright L, Reigel DH. Management of hydrocephalus secondary to posterior fossa tumors. *J Neurosurg* 1977; 46: 52-55.
2. Ammirati M, Raimondi AJ. Cerebrospinal fluid shunt infections in children: A study on the relationship between the etiology of hydrocephalus age at the time of shunt placement and infection rate. *Childs Nerv Syst* 1987; 3: 106-109.
3. Bering EA, Jr A. Simplified apparatus for constant ventricular drainage. *J Neurosurg* 1951; 8: 450-452.
4. Blomstedt GC. Results of trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis in ventriculostomy and shunting procedures. A double-blind randomized trial. *J Neurosurg*. 1985; 62: 694-697.
5. Bogdahn U, Lau W, Hassel W, Gunreben G, Mertens HG, Brawanski A. Continuous-pressure controlled, external ventricular drainage for treatment of acute hydrocephalus evaluation of risk factors. *Neurosurgery* 1992; 31: 898-903.
6. Dias MS, Albright AL. Management of hydrocephalus complicating childhood posterior fossa tumors. *Pediatr Neurosci* 1989; 15: 283-289.
7. Kusske JA, Turner PT, Ojemann GA, Harris AB. Ventriculostomy for the treatment of acute hydrocephalus following subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1973; 38: 591-595.
8. Wyler AR, Kelly WA. Use of antibiotics with external ventriculostomies. *J Neurosurg* 1972; 37: 185-187.
9. Boulard G, Ravussin P, Guérin J. A new way to monitor external ventricular drainage. *Neurosurgery* 1992; 30: 636-638.
10. Friedman WA, Vries JK. Percutaneous tunnel ventriculostomy. Summary of 100 procedures. *J Neurosurg* 1980; 53: 662-665.
11. Chan KH, Mann KS. Prolonged therapeutic external ventricular drainage: A prospective study. *Neurosurgery* 1988; 23: 436-438.
12. Chaparro MJ, Pritz MB, Yonemura KS. Broviac ventriculostomy for long-term external ventricular drainage. *Pediatr Neurosurg* 1992 ;17: 208-212.
13. Gerner-Smidt P, Stenager E, Kock-Jensen C. Treatment of ventriculostomy-related infections. *Acta Neurochir (Wien)* 1988; 91: 47-49.
14. Mayhall CG, Archer NH, Lamb VA et al. Ventriculostomy-related infections. A prospective epidemiologic study. *N Engl J Med* 1984; 310: 553-559.
15. Rosner MJ, Becker DP. ICP monitoring: Complications and associated factors. *Clin Neurosurg* 1976; 23: 494-519.
16. Navarro IM, Renteria JAG, Peralta VHR, Castilli MAD. Transorbital ventricular puncture for emergency ventricular decompression. *J Neurosurg* 1981; 54: 273-274.
17. Paramore CG, Turner DA. Relative risks of ventriculostomy infection and morbidity. *Acta Neurochir (Wien)* 1994; 127: 79-84.
18. Pampus F. Technic of ventricular drainage. *Zentralbl Neurochir* 1953; 13: 219-223.
19. Smith RW, Alksne JF. Infections complicating the use of external ventriculostomy. *J Neurosurg* 1976; 44: 567-570.
20. Stenager E, Gerner-Smidt P, Kock-Jensen C. Ventriculostomy-related infections. An epidemiological study. *Acta Neurochir (Wien)* 1986; 83: 20-23.
21. Winfield JA, Rosenthal P, Kanter RK, Casella G. Duration of intracranial pressure monitoring does not predict daily risk of infectious complications. *Neurosurgery* 1993; 33: 424-430.
22. Holloway KL, Barnes T, Choi S et al. Ventriculostomy infections: The effect of monitoring duration and catheter exchange in 584 patients. *J Neurosurg* 1996; 85: 419-424.
23. Khanna RK, Rosenblum ML, Rock JP, Malik GM. Prolonged external ventricular drainage with percutaneous long-tunnel ventriculostomies. *J Neurosurg* 1995; 83: 791-794.

24. Adams RE, Diringer MN: Response to external ventricular drainage in spontaneous intracerebral hemorrhage with hydrocephalus. *Neurology* 1998; 50: 519-523.
25. Kase CS, Williams JP, Wyatt DA, Mohr JP. Lobar intracerebral hematomas: clinical and CT analysis of 22 cases. *Neurology* 1982; 32: 1146-1150.
26. Eroglu A, Atabey C, Topuz KA, Colak A, Demircan N. Evaluation of 104 cases with spontaneous intracerebral hematoma. *Turk Neurosurg Soc* 2012; 22: 167-170.
27. Albayrak S, Atci IB, Durdag E. Retrospective analysis of 41 cases with spontaneous intracerebral hematoma. *F.U. Journal of Health Sciences* 2013; 27: 121-124.
28. Broderick JP, Brott T, Tomsick T, Miller R, Huster G. Intracerebral hemorrhage more than twice as common as subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1993; 78: 188-191.
29. Tuhim S, Horowitz DR, Sacher M, Godbold JH. Validation and comparison of models predicting survival following intracerebral hemorrhage. *Crit Care Med* 1995; 23: 950-954.
30. Davis SM, Broderick J, Hennerici M, et al. Hematoma growth is a determinant of mortality and poor outcome after intracerebral hemorrhage. *Neurology* 2006; 66: 1175-1181.
31. Hepburn-Smith M, Dynkevich I, Spektor M, Lord A, Czeisler B, Lewis A. Establishment of an external ventricular drain best practice guideline: The quest for a comprehensive, universal standard for external ventricular drain care. *Journal of Neuroscience Nursing J Neurosci Nurs* 2016; 48: 54-65.
32. Tunkel AR, Hasbun R, Bhimraj A et al. 2017 infectious diseases society of america's clinical practice guidelines for health care-associated ventriculitis and meningitis. *Clin Infect Dis* 2017; 64: 34-65.
33. Camacho EF, Boszczowski I, Freire MP et al. Impact of an education a lintervention implanted in a neurological intensive care unit on rates of infection related to external ventricular drains. *PLoS One* 2013; 8(2): e50708.
34. Lwin S, Low SW, Choy DK, Yeo TT, Chou N. External ventricular drain infections: Successful implementation of strategies to reduce infection rate. *Singapore Med J* 2012; 53: 255-259.
35. Chatzi M, Karvouniaris M, Makris D et al. Bundle of measures for external cerebral ventricular drainage-associated ventriculitis. *Crit Care Med* 2014; 42: 66-73
36. Flint AC, Rao VA, Renda NC, Faigeles BS, Lasman TE, Sheridan W. A simple protocol to prevent external ventricular drain infections. *Neurosurgery* 2013; 72: 993-999.
37. Kubilay Z, Amini S, Fauerbach LL, Archibald L, Friedman WA, Layon AJ. Decreasing ventricular infections through the use of a ventriculostomy place mentbundle: Experience at a single institution. *J Neurosurg* 2013; 118: 514-520.
38. Baum GR, Hooten KG, Lockney DT, et al. External ventricular drain practice variations: Results from a nationwide survey. *J Neurosurg* 2017; 127: 1190-1197.
39. Ramanan M, Lipman J, Shorr A, Shankar A. A meta-analysis of ventriculostomy-associated cerebrospinal fluid infections. *BMC Infect Dis* 2015; 15: 1-12.
40. Sieg EP, Schlauderaff AC, Payne RA, Glantz MJ, Simon SD. Impact of an external ventricular drain placement and handling protocol on infection rates: A meta-analysis and single institution experience. *World Neurosurg* 2018; 115: 53-58.
41. Fishman RA. Philadelphia: WB Saunders. Cerebrospinal fluid findings in diseases of the nervous system. 1980; 10: 168-326..

The Effect of Platelet Rich Plasma Frequency On Early Stage Knee Osteoarthritis

Plateletten Zengin Plazma Uygulama Sıklığının Erken Evre Diz Osteoartriti Üzerine Etkisi

Aziz Atik¹ 

1 Orthopedics & Traumatology Department, Balıkesir University Medical Faculty, Altieylül-Balıkesir/Turkey

ÖZET

AMAÇ: Plateletten zengin plazma (PRP) erken evre diz osteoartrisinde (OA), özellikle genç hastalarda ağrıyı azaltıp fonksiyonu arttırarak iyi sonuçlar sağlamaktadır. Ancak ideal dozun ne olduğu ve kaç kere yapılması gerektiği, farklı OA evrelerindeki etkinliği tartışılmalı konulardır. Literatürde uygulama sıklığı ile PRP etkinliğini karşılaştıran az sayıda çalışma vardır. Bu çalışmanın amacı, primer diz OA hastalarında PRP uygulama sıklığının etkinliğini kıyaslamaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM: Ocak 2016 ile Nisan 2017 arasında kriterlere uygun 174 hasta geriye dönük olarak incelendi. Hastalar uygulama doz sayılarına göre 3 gruba bölündü. Tedaviden önce ve tedaviden sonraki 6. ve 12. aylarda Western Ontario and McMaster University Arthritis Index (WOMAC) skorları, International Knee Documentation Committee (IKDC) skorları ve 100 mm Visual Analogue Scale (100 mm VAS) skorları ölçüldü. Hastaların memnuniyet durumu ve tedaviye bağlı komplikasyonlar 12. ayda değerlendirildi.

BULGULAR: Takip sonunda her 3 grupta tedavi öncesi değerlere göre iyileşme görüldü ($p < 0,05$). Ağrı skorlarında ($p < 0,001$) ve fonksiyonel skorlarda ($p < 0,001$) her 3 grupta da önemli gelişme vardı. Tedavi öncesi ve sonrası değerlendirildiğinde iki ve üç doz uygulanan gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$). Tek doz grubunun klinik ve fonksiyonel sonuçları diğer iki gruptan kötüydü ($p < 0,05$).

SONUÇ: Tek doz PRP uygulamasının yeterli etkinliği sağlamadığı, bu sebeple tedavide uygun metodun en az 2 doz PRP uygulaması olduğu kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: plateletten zengin plazma, PRP, diz, osteoartrit, doz, sıklık

ABSTRACT

OBJECTIVE: Platelet rich plasma (PRP) revealed quite satisfying results for early knee osteoarthritis (OA) especially in younger ages by decreasing pain and improving function and quality of life. However, what becomes the ideal dose and how often it should be performed, the effectiveness of intra-articular PRP injection in different stages of OA are the main topics discussed. There are few studies in the literature comparing the efficacy of PRP with the administration dose. The primary aim of this study was to compare the efficacy of different doses of PRP in primary knee OA and to determine the ideal treatment modality.

MATERIALS AND METHODS: 174 patients who met the criteria were evaluated retrospectively between January 2016 and April 2017. The patients were divided into 3 groups according to doses. Western Ontario and McMaster University Arthritis Index (WOMAC) scores, International Knee Documentation Committee (IKDC) scores and 100 mm Visual Analogue Scale (100 mm VAS) scores were calculated before treatment, 6 months and 12 months after treatment. Satisfaction status and treatment-related complications were examined at 12 months after treatment.

RESULTS: At the end of the follow-up, a significant improvement was observed in all three groups compared to the pre-treatment values ($p < 0,05$). Significant improvement was observed in pain scores ($p < 0,001$) and functional scores ($p < 0,001$) in all three injection groups. No significant difference was observed between twice or thrice injections ($p > 0,05$). The clinical and functional results of one injection was significantly lower than the other groups ($p < 0,05$).

CONCLUSION: We think that single dose therapy is less sufficient in effect, thus the appropriate method of treatment is at least 2 doses of PRP.

Keywords: platelet rich plasma, PRP, knee, osteoarthritis, dose, frequency

INTRODUCTION

Joint cartilage pathologies tend to increase recently due to many factors like higher prevalence of obesity, increased

rate of sport activities and increased average-life expectancy [1, 2]. Osteoarthritis (OA) is the most commonly seen joint disorder in all around the world especially over

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Aziz Atik, MD, Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı 10440 Çağış-Altieylül Balıkesir/Türkiye

E-Posta/E-Mail: azizatik@yahoo.com || Tel: +90 532 465 1743

Received/Geliş Tarihi: 13 Jan 2020 || **Accepted/Kabul Tarihi:** 25 Feb 2020

Bu Eser Creative Commons Atıf-Gayriticari 4.0 Uluslararası Lisansı İle Lisanslanmıştır. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).



60 years of age [3]. In 1986, The American Rheumatism Association made a definition and classified the diagnostic and therapeutic criteria of OA. According to this definition; OA includes heterogeneous group of symptoms and signs caused by joint cartilage disorders, and carries on with periarticular and bony changes [4].

In early stages of OA, joint pain and stiffness are predominant than other symptoms. Therefore, the primary objective in the treatment to be applied is to reduce the joint pain and stiffness, and also to increase the functional capacity. In addition, the long-term treatment plan should aim to reduce joint damage and improve the quality of life [5].

Multiple treatment modalities can be combined simultaneously, according to the risk factors and symptoms. Patient-based treatment usually begins with topical agents and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), but the therapeutic efficacy of these drugs is particularly limited in advanced stage osteoarthritis with well-known side effects especially in elderly ages. Intraarticular steroid injections can provide short-term pain control and functional gain, but its harmful effects are still on debate thus prevents continuous use [6, 7]. There have been several studies on the beneficial effects of intraarticular hyaluronic acid (HA) injections [8-10]. It may increase the range of motion by lubricating the joint surfaces, and provides long-term pain control [11]. All these therapeutic modalities can success in some manners but may not cease natural progress of the disease.

First studies about platelet rich plasma (PRP) revealed quite satisfying results especially in younger ages by decreasing pain and improving function and quality of life. Some studies comparing PRP and HA, concluded in favor of PRP [12-14]. However, what is the ideal dose and how often it should be performed, the effectiveness of intra-articular PRP injection in different stages of OA are the main topics discussed. There are few studies in the literature comparing the efficacy of PRP with the administration dose. The primary aim of this study was to compare the efficacy of different doses of PRP in primary knee OA and to determine the ideal treatment modality.

MATERIAL AND METHOD

In this study, 174 patients who met the criteria were evaluated retrospectively between January 2016 and April

2017. Local ethical committee has approved the study (ethical approval number: 94025189-050.03). All patients signed informed consent forms, and all administrations were performed by the same surgeon (AA). Patients were selected seriatim for administration dose. Treatment inconsistency and lose of follow-up figured out the total patient numbers after applying exclusion criteria.

Inclusion criteria were; intraarticular autologous PRP injected symptomatic early stage (Kellgren Lawrence [KL] stage 1-2) primary knee OA, at least 1-year follow-up, absence of any cognitive disease and systemic disorders such as diabetes. Exclusion criteria were; rheumatic disease, axial deformity (varus/valgus > 5°), hematological diseases (coagulopathy) or therapy with anticoagulants / antiaggregant, severe cardiovascular diseases, immunocompromised patients, and patients with Hb values < 11 g/dl and platelet values < 150,000/mm³.

KL stages of all patients were determined by radiographic x-ray and KL stage 1 and 2 patients were included in the study. The patients were divided into 3 groups according to doses: PRP1 (single-dose PRP), PRP2 (2-dose PRP) and PRP3 (3-dose PRP). Western Ontario and McMaster University Arthritis Index (WOMAC) scores, International Knee Documentation Committee (IKDC) scores and 100 mm Visual Analogue Scale (100 mm VAS) scores were calculated before treatment, 6 months and 12 months after treatment. Satisfaction status and treatment-related complications were examined at 12 months after treatment.

PRP Preparation Protocol

A 40-mL venous blood sample was taken in aseptic conditions from antecubital region in 6 vacutainer tubes with 3.2% sodium citrate. Samples were gently turned upside down to ensure mixing of the anticoagulant with the blood. One of the tubes was sent to the laboratory for complete blood count. Blood samples were centrifuged for 10 min at 1800 rpm to separate the erythrocyte layer. The upper plasma layer was carefully collected in a new sterile propylene tube while attempting not to remove the leukocyte layer. The plasma from all tubes was centrifuged again for 12 min at 3400 rpm to obtain a two-part plasma, with the upper part consisting of platelet-poor plasma and the lower part consisting of leukocyte-poor, platelet-rich plasma (LP-PRP). The platelet-poor plasma was taken out to

obtain a final volume of 4 ml. This LP-PRP was mixed carefully by absorbing with pipets to resuspend the platelets, and it was then transferred to a new tube. A separate part of the final LP-PRP was sent to the laboratory for platelet count. Before the injection %10 of Ca-chloride was added to the PRP unit to activate platelets.

Injection Procedure and Follow-up

The knee region was prepared with povidone iodine solution application in sterile conditions. Injection was performed with a 22-g needle from the superolateral knee region. After injection, the knee was immobilized for 10 minutes and the patient was observed for 1 hour. Application of ice around the joint and paracetamol was prescribed for pain control. The patients were reevaluated at the 6th and 12th months after the total treatment dose preferred and the side effects were recorded, besides satisfaction status was questioned at the end of 12 months.

Statistical Analysis

All analyzes were performed with SPSS (IBM Corp. Released 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.) Data was reported as standard

deviations (SDs) or frequencies. Normality was confirmed using the Shapiro-Wilk test. The quantitative data was investigated with one-way analysis of variance (ANOVA), and then when the variances were homogeneous the Bonferroni test or when the variances were not homogeneous the Tamhane T2 test were used for comparison. Qualitative data were analyzed using Pearson's Chi-square test. In each group, knee scores at 6-month and 12-month follow-up were compared with repeated one-way ANOVA and then with Bonferroni test and p <0.05 values were considered significant.

RESULTS

64 patients (98 knees) received a single-dose of PRP, 52 patients (78 knees) received two doses of PRP with 1-month interval, and 58 patients (84 knees) received 3 doses of PRP with 1-month intervals. Age, sex, body mass index (BMI), lesion side, and duration of symptoms were analyzed in all 3 groups (Table 1).

Table 1. Demographic Data

	PRP1	PRP2	PRP3	Total	P value
Patient/Knee	64/98	52/78	58/84	174/260	0.985
Age					
Mean±SD	60.9±13	57.8±16.1	63±11.6	60.8±13.1	0.226
Distribution	21-83	15-81	31-85	15-85	
Sex(Male/Female)	27/37	30/22	28/30	85/89	0.105
BMI					
Mean	27.2±5.5	25.4±4.2	25.7±4.9	26.4±5.1	0.305
Distribution	16-49.8	20-35.2	17.4-36.7	16.4-49.8	
Lesion Side					
Right/Left	47/51	36/42	38/46	121/139	0.804
Bilateral	34	20	21	75	
Symptom Duration (Months)					
Mean±SD	22.6±18.6	23.8±22.6	19.9±16.3	21.8±18.4	0.882
Distribution	1-120	3-72	3-60	1-120	
Follow-up Time (Months)					
Mean.±SD	14.8±3.2	16.4±4.8	13.6±4.6	14.0±4.6	0.642
Distribution	12-18	12-20	12-18	12-20	
Kellgren Lawrence Stage					
Stage 1	38	30	40	108	0.686
Stage 2	50	48	44	142	0.702

Table 2. Functional Scores

	PRP1 (n=89)	PRP2 (n=78)	PRP3 (n=72)	P Value ¹
WOMAC stiffness				
Basal				
Mean ± SD	2.5±0.8	2.6±0.8	2.5±0.8	0.624
Range	(1-5)	(2-4)	(2-4)	
6 months				
Mean ±SD	1.8±0.9 a,b	1.1±0.6	1.2±0.8	<0.05
Range	1-5	0-4	0-4	
P value ²	<0.05	<0.05	<0.05	
12 months				
Mean.±SD	1.9±0.9 a,b	1.3±0.7	1.4±0.9	<0.05
Range	0-5	0-4	1-4	
P Value ³	<0.05	<0.05	<0.05	
WOMAC Pain				
Basal				
Mean.±SD	7.1±1.2	7.2±1.3	7.2±1.1	0.728
Range	5-12	5-9	5-10	
6 months				
Mean.±SD	6.0±1.6 a,b	4.9±1.6	5.1±1.4	<0.05
Range	1-11	3-9	4-12	
P Value ²	<0.05	<0.05	<0.05	
12 months				
Mean.±SD	6.3±1.8 a,b	5.3±1.8	5.4±1.9	<0.05
Range	2-11	1-9	4-9	
P Value ³	<0.05	<0.05	<0.05	
WOMAC function				
Basal				
Mean±SD	20.6±2.9	20.7±2.8	21.3±2.8	0.912
Range	16-39	17-28	17-35	
6 months				
Mean.±SD	18.0±1.8 a,b	15.4±2.2	15.2±1.9	<0.05
Range	4-38	4-26	10-30	
P Value ²	<0.05	<0.05	<0.05	
12 months				
Mean.±SD	19.1±4.6 a,b	16.8±4.2	16.6±3.5	<0.05
Range	6-37	4-25	14-25	
P Value ³	<0.05	<0.05	<0.05	
WOMAC total				
Basal				
Mean.±SD	30.2±4.2	30.5±4.3	31.0±3.9	0.682
Range	23-55	24-40	24-49	
6 months				
Mean.±SD	25.8±6.7 a,b	21.4±5.8	21.5±5.4	<0.05
Range	6-46	5-52	8-32	
P Value ²	<0.05	<0.05	<0.05	
12 months				
Mean.±SD	27.3±6. ⁹ a,b	23.4±5.9	23.4±5.7	<0.05

P value¹: Comparison of data between groups and among PRP1, PRP2 and PRP3

P value²: Comparison of data between groups and among pretreatment and post treatment 6 months

P value³: Comparison of data between groups and among pretreatment and post treatment 12 months

a Significantly between groups and among group PRP1 and group PRP2.

b Significantly between groups and among group PRP1 and group PRP3

c Significantly between groups and among group PRP2 and group PRP3

There were 27 male 37 female patients in the PRP1 group and the mean age was 60.9 (30-75) years. Average BMI was calculated 27.2 (19-34.8). In PRP1 group, there were 47 right and 51 left knees while 34 being bilateral. The mean symptom duration was 22.6 months (1-120) and the mean follow-up period was 12.8 months (10-13). According to KL classification, 38 knees were stage 1 and 60 knees were stage 2.

There were 30 male 22 female patients in the PRP2 group and the mean age was 57.8 (28-72). Average BMI was calculated 25.4 (20.4-35.2). In PRP2 group, there were 36 right and 42 left knees while 26 being bilateral. The mean symptom duration was 23.8 months (3-72) and the mean follow-up period was 16.4 months (12-20). According to KL classification, 30 knees were stage 1 and 48 knees were stage 2.

There were 28 male 30 female patients in the PRP3 group and the mean age was 63 (31-73). Average BMI was calculated 25.7 (17.4-36.7). In PRP3 group, there were 38 right and 46 left knees while 26 being bilateral. The mean symptom duration was 19.9 months (3-60) and the mean follow-up period was 13.6 months (12-18). According to KL classification, 40 knees were stage 1 and 44 knees were stage 2.

There was no statistically significant difference between the three groups in terms of patient demographic information ($p > 0.05$). WOMAC score values before and after treatment are shown in table 2. At the end of 6 and 12 months follow-up, a significant improvement was observed in all three groups compared to the pre-treatment values ($p < 0.05$). Significant improvement was observed in pain scores ($p < 0.001$) and functional scores ($p < 0.001$) in all three injection groups. No significant difference was observed between PRP2 and PRP3 groups before and after the treatment. ($p = 0,258$). The clinical and functional results of PRP2 and PRP3 patients were significantly better than PRP1 group ($p < 0.05$) (Table 2).

IKDC scores were significantly higher in all three groups at 6 months and 12 months after treatment than before treatment. However, there was no difference between the PRP2 and PRP3 groups, but in the PRP1 group, the results of the 6th and 12th months were significantly worse than the other 2 groups ($p < 0.05$) (Figure 1).

100 mm VAS scores were significantly higher in all three groups at 6 months and 12 months after treatment than before treatment. However, there was no difference between the PRP2 and PRP3 groups, but in the PRP1 group, the results of the 6th and 12th months were significantly worse than the other 2 groups ($p < 0.05$) (Figure 2).

Figure 1. IKDC scores of the groups pre- and post-treatment

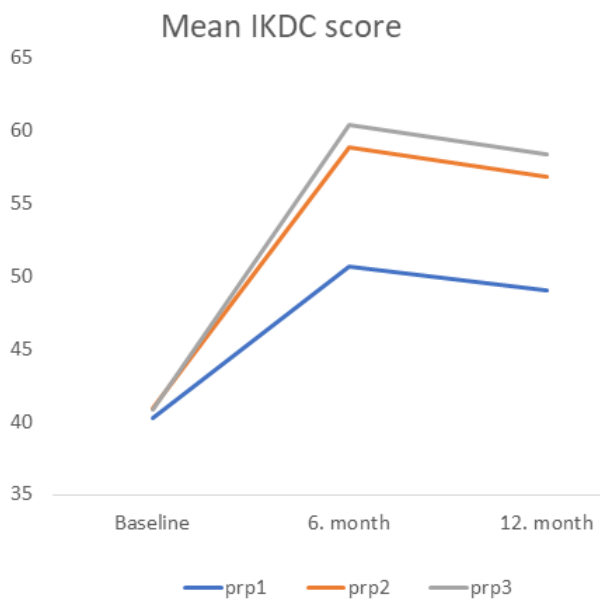
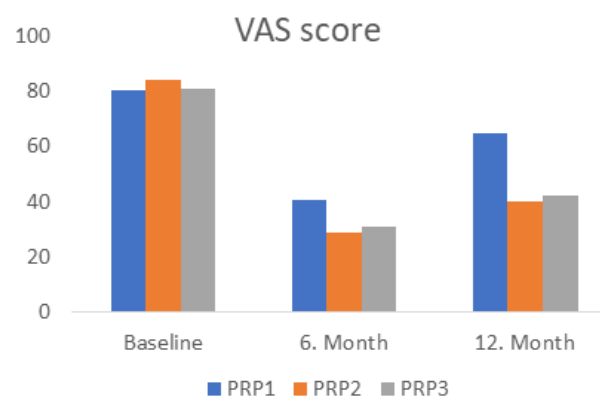


Figure 2. 100mm VAS scores of the groups pre- & post-treatment



The platelet concentration in peripheral blood and PRP were $237,73 \pm 111,23 \times 10^3 / \mu\text{L}$ and $689,68 \pm 178,80 \times 10^3 / \mu\text{L}$ in the PRP1 group; $245,73 \pm 108,38 \times 10^3 / \mu\text{L}$ and $708,44 \pm 110,80 \times 10^3 / \mu\text{L}$ in the PRP2 group; $262,73 \pm 119,42 \times 10^3 / \mu\text{L}$ and $692,68 \pm 114,80 \times 10^3 / \mu\text{L}$ in the PRP3 group respectively. There was no statistically significant difference between groups ($p = 0.462$).

The leukocyte concentration in peripheral blood and PRP were $7,25 \pm 2,49 \times 10^3 / \mu\text{L}$ and $1,68 \pm 0,26 \times 10^3 / \mu\text{L}$ in the

PRP1 group; $7,38 \pm 2,58 \times 10^3 / \mu\text{L}$ and $1,52 \pm 0,37 \times 10^3 / \mu\text{L}$ in the PRP2 group; $7,23 \pm 2,24 \times 10^3 / \mu\text{L}$ and $1,32 \pm 0,34 \times 10^3 / \mu\text{L}$ in the PRP3 group respectively. There was no statistically significant difference between groups ($p = 0.344$).

In terms of patient satisfaction after twelve months, 78.2% of the patients in the PRP1 group were highly satisfied, 14.6% were satisfied and 7.2% were not satisfied with the treatment. 81.4% of the patients in the PRP2 group were highly satisfied, 11.2% were satisfied and 7.4% were not satisfied. 77.9% of the patients in the PRP3 group were highly satisfied, 11.8% were satisfied and 10.3% were not satisfied with the treatment. No statistical difference was observed in patient satisfaction ($p = 0.268$).

In terms of common complications; there was pain, swelling or feeling of burn in 8 knees (8,1%) of PRP1 group, 6 knees (7,6%) of PRP2 group, and 7 knees (8,3%) of PRP3 group. There was no statistically significant difference between groups ($p > 0.05$). All of the patients recovered without any surgical or invasive intervention with rest, elevation and ice compression.

DISCUSSION

Intra-articular PRP injections may provide improvement in knee functions and symptoms for early-stage knee OA patients. What we saw in this study was that administration of multi-dose PRP was better to single-dose in terms of functional and clinical results.

PRP is described as autologous plasma containing higher concentrations of platelets and higher rates of growth factors than peripheral blood [15, 16]. Platelets undertake important tasks for the onset of healing process. They act as a scaffold for clot formation and provide chemotaxis for the collection of appropriate cytokines at the site of injury. Some studies have reported that PRP acts as a stem cell growth initiator and provides chondrocyte differentiation [16]. In a rabbit study with anterior cruciate ligament deficiency model, Saito et al. showed a significant reduction of OA progression in PRP-treated rabbits [17].

Discussions about the appropriate PRP preparation method, dose and frequency of administration have still been ongoing. Two previous studies have demonstrated the efficacy of single-dose PRP in the treatment of early knee osteoarthritis. In 2013, Jang et al. divided the patients into 3 groups according to the KL stage in a prospective

study of 90 knees of 65 patients and administered a single dose of 3 ml intraarticular PRP to each patient [18]. To evaluate the results, they used VAS and IKDC scales at 1, 3, 6, 9, and 12 months. All patients included in the study showed improvement in clinical scores at 6 months, but deteriorated at 12 months, although they were better than before treatment. In 2013, Halpern et al. published a series of 18 cases of 17 patients [19]. Magnetic resonance imaging was performed before and after treatment in 6 ml single dose intra-articular PRP in patients with CL stage 1-2 and VAS and WOMAC scores were calculated at 1,3,6 and 12 months. All patients had significant improvement in pain and function questions at 12 months compared to the pre-treatment level. In 73% of the patients, no radiological change was detected in MRI performed at 1 year. Apart from these two studies, most authors recommend multiple injections. Cerza et al. showed 4-times PRP injection is superior to HA injections [20]; therewithal Spakova et al. reported 3-dose PRP injection is more beneficial than 3-times HA injections [13]. However, these studies did not make a comparison about the frequency of PRP injections. In our study we found that PRP treatment improved results in patients with early stage knee OA independent of dose, and at the end of 12 months good results continued despite some decrease in scores.

Patel et al reported that, single dose was as effective as 2 doses of PRP [21]. Görmeli et al. found no difference between single dose and 3 doses in advanced OA patients, however they found that the clinical outcomes of patients who underwent 3 doses of PRP in patients with early stage OA were significantly better than those with a single dose [22]. In our study, we found that multi-dose of PRP treatment was significantly better than single dose. There have been few studies examined the effectiveness of PRP frequency in the treatment of early-stage knee osteoarthritis in current literature. In a retrospective study similar to ours, Huang et al. reported that 3 doses of PRP treatment were superior to single dose and 2 doses [23].

In our study we have used leukocyte-poor PRP. Although the complaints of knee swelling were found to be higher in three doses compared to the other groups, the results were similar with leukocyte-poor PRP studies in the literature.

We used the same PRP kit for all patients in our study to eliminate bias. The method of preparation, preactivation,

and injection; platelet and white blood cell concentration, volume, pre and post injection protocols were the same in all patients. Nevertheless, retrospective nature, short follow-up period and lack of definitive research on all three stages of osteoarthritis are important limitations of this study

CONCLUSION

PRP is an autologous treatment method with low side effects which could be considered in early stages of knee OA. However, we think that single dose therapy is less sufficient in effect, thus multiple doses of PRP may be more effective. Moreover, the need for randomized controlled trials is clear to elucidate this topic.

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

The author declares no conflict of interest.

Finansal Destek: yoktur / Funding: none

doi: <https://doi.org/10.33713/aegetbd.674135>

KAYNAKLAR

1. Curl, W.W., et al., Cartilage injuries: A review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy*, 1997 DOI: 10.1016/S0749-8063(97)90124-9
2. Widuchowski, W., J. Widuchowski, and T. Trzaska, Articular cartilage defects: Study of 25,124 knee arthroscopies. *Knee*, 2007 DOI: 10.1016/j.knee.2007.02.001
3. Woolf, A.D. and B. Pfleger, Burden of major musculoskeletal conditions. *Bulletin of the World Health Organization*, 2003 Pubmed ID: 14710506
4. Altman, R., et al., Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. *Arthritis and rheumatism*, 1986 doi:10.1002/art.1780290816
5. Wesseling, J., et al., CHECK (Cohort Hip and Cohort Knee): similarities and differences with the Osteoarthritis Initiative. *Annals of the rheumatic diseases*, 2009. 68(9): p. 1413-1419 doi:10.1136/ard.2008.096164
6. Clegg, D.O., et al., Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. *New England Journal of Medicine*, 2006. 354(8): p. 795-808
7. Zhang, W., et al., OARSİ recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSİ evidence-based, expert consensus guidelines. *Osteoarthritis and Cartilage*, 2008 DOI: 10.1016/j.joca.2007.12.013

8. El-Refaie, W.M., et al., Novel self-assembled, gel-core hyalurosomes for non-invasive management of osteoarthritis: in-vitro optimization, ex-vivo and in-vivo permeation. *Pharmaceutical research*, 2015. 32(9): p. 2901-2911 doi:10.1007/s11095-015-1672-8
9. Wang, F. and X. He, Intra-articular hyaluronic acid and corticosteroids in the treatment of knee osteoarthritis: A meta-analysis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2015 DOI: 10.3892/etm.2014.2131
10. Strand, V., et al., Safety and efficacy of US-approved viscosupplements for knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis of randomized, saline-controlled trials. *Journal of Pain Research*, 2015 DOI: 10.2147/JPR.S83076
11. Mladenovic, Z., et al., Potential Role of Hyaluronic Acid on Bone in Osteoarthritis: Matrix Metalloproteinases, Aggrecanases, and RANKL Expression are Partially Prevented by Hyaluronic Acid in Interleukin 1-stimulated Osteoblasts. *The Journal of Rheumatology*, 2014 DOI: 10.3899/jrheum.130378
12. Kon, E., et al., Platelet-rich plasma: Intra-articular knee injections produced favorable results on degenerative cartilage lesions. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 2010 DOI: 10.1007/s00167-009-0940-8
13. Spaková, T., et al., Treatment of knee joint osteoarthritis with autologous platelet-rich plasma in comparison with hyaluronic acid. *American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*, 2012 DOI: 10.1097/PHM.0b013e3182aab72
14. Sánchez, M., et al., A randomized clinical trial evaluating plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) versus hyaluronic acid in the short-term treatment of symptomatic knee osteoarthritis. *Arthroscopy - Journal of Arthroscopic and Related Surgery*, 2012 DOI: 10.1016/j.arthro.2012.05.011
15. T, M. and F. L, Temporal growth factor release from platelet-rich plasma, trehalose lyophilized platelets, and bone marrow aspirate and their effect on tendon and ligament gene expression. *Journal of Orthopaedic Research*, 2009 doi: 10.1002/jor.20853
16. Xie, X., et al., Comparative evaluation of MSCs from bone marrow and adipose tissue seeded in PRP-derived scaffold for cartilage regeneration. *Biomaterials*, 2012 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.06.058
17. Saito, M., et al. Intraarticular administration of platelet-rich plasma with biodegradable gelatin hydrogel microspheres prevents osteoarthritis progression in the rabbit knee. PubMed ID: 19473558
18. Jang, S.-J., J.-D. Kim, and S.-S. Cha, Platelet-rich plasma (PRP) injections as an effective treatment for early osteoarthritis. *European Journal of Orthopedic Surgery & Traumatology*, 2013. 23(5): p. 573-580 DOI: 10.1007/s00590-012-1037-5
19. Halpern, B., et al., Clinical and MRI outcomes after platelet-rich plasma treatment for knee osteoarthritis. *Clinical Journal of Sport Medicine*, 2013. 23(3): p. 238-239
20. Cerza, F., et al., Comparison between hyaluronic acid and platelet-rich plasma, intra-articular infiltration in the treatment of gonarthrosis. *American Journal of Sports Medicine*, 2012 DOI: 10.1177/0363546512461902
21. Patel, S., et al., Treatment with platelet-rich plasma is more effective than placebo for knee osteoarthritis: A prospective, double-blind, randomized trial. 2013 DOI: 10.1177/0363546512471299
22. Görmeli, G., et al., Multiple PRP injections are more effective than single injections and hyaluronic acid in knees with early osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 2017 DOI: 10.1007/s00167-015-3705-6
23. Huang, P.H., et al., Short-term clinical results of intra-articular PRP injections for early osteoarthritis of the knee. *International Journal of Surgery*, 2017 DOI: 10.1016/j.ijisu.2017.04.067

N-Butil 2 Siyanoakrilatın Biyolojik Etkilerinin Araştırılması

Investigation of Biological Effects of N- Butyl 2 Cyanoacrylate

Oğuz Karahan¹, Mahmut Balkan², Erhan Hafız³, Emced Khalil⁴

1 Kalp Damar Cerrahisi, Alâeddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Alanya, Antalya/Türkiye

2 Tıbbi Biyoloji, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Diyarbakır/Türkiye

3 Kalp Damar Cerrahisi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gaziantep/Türkiye

4 Kalp Damar Cerrahisi, Sağlık Bakanlığı Ordu Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi/Türkiye

ÖZET

AMAÇ: N-Butil 2 Siyanoakrilat cerrahide kullanılan bir yapıştırıcıdır. Bu çalışmada N-Butil 2 siyanoakrilatın biyoyumluluk analizleri deneysel olarak değerlendirilmiştir

GEREÇ VE YÖNTEM: Wistar Albino cinsi, sağlıklı 16 erkek (250 ± 5 gram) yetişkin rat kontrol ve çalışma gruplarına bölündü. Kontrol grubundan normal histolojik yapının belirlenmesi ve rutin fizyolojik izlem amaçlandı. Çalışma gruplarında 0.3 ml N-Butil 2 siyanoakrilat enjeksiyonu, bel ve sırt tıraş edilen grupta irritasyon ve sensitizasyon değerlendirmesi için subkütan yoldan, sağ femur bölgesi tıraş edilen grubunda sitotoksitate değerlendirmesi için intramüsküler yoldan ve vasküler uygulama grubunda sistemik toksisite değerlendirmesi için kuyruk ven enjeksiyonu yoluyla uygulandı. Yetmiş iki saatlik gözlem süresinden sonra ratlar sakrifiye edilerek, venöz endotel, kas, dermal ve epidermal dokular histopatolojik olarak incelendi.

BULGULAR: Sadece intravenöz uygulamada belirgin endotel harabiyeti izlendi. Sensitizasyon, irritasyon, sitotoksitate gibi testlerde aşırı reaksiyon ve belirgin histopatolojik değişiklik izlenmedi.

SONUÇ: Cerrahi bir yapıştırıcı olarak sadece N-Butil 2 siyanoakrilatın intravasküler olarak uygulanması, lokal ve sistemik etkiler açısından ileri düzeyde doku hasarına yol açtı. Ancak, bu deneysel model klinik kapsamlı çalışmalarla desteklenmelidir.

Anahtar Kelimeler: N-Butil 2 siyanoakrilat, biyoyumluluk, histopatoloji

ABSTRACT

OBJECTIVE: N-Butyl 2 cyanoacrylate is a frequently utilizing agent as a surgical adhesive. Biocompatibility analyses of N-Butyl 2 cyanoacrylate were evaluated in this study.

MATERIALS AND METHODS: Wistar Albino genus 16 healthy adult male (250 ± 5 gram) rats were divided into control and study groups. Determination of normal histological structure and routine physiologic observation was aimed in control group. In the study groups, 0.3 ml N-Butyl 2 cyanoacrylate injection were applied, via subcutaneous route for irritation and sensitization evaluation in the waist and back shaved group, via intramuscular route for cytotoxicity evaluation in the right femoral shaved group, and via tail vein injection for systemic toxicity evaluation in vascular administration group. Rats were sacrificed after 72. hours observation period and venous endothelium, muscular, dermal and epidermal tissues were examined histopathologically.

RESULTS: Marked endothelial injury was detected in only intravenous administration. Extreme reaction and marked histopathological changes were not observed in regards of irritation, sensitization and cytotoxicity groups.

CONCLUSION: Only intravascular administration of N-Butyl 2 cyanoacrylate, as a surgical adhesive usage, was lead advanced tissue injury in regards of local and systemic effects. However, this experimental model should be supported with clinical comprehensive studies.

Keywords: N-Butyl 2 cyanoacrylate, biocompatibility, histopathology

GİRİŞ

Gerek yaralanmalar gerekse cerrahi girişimler sonrası doku bütünlüğünün sağlanmasında minimal hasar verilmesini amaçlayan mikro işlemler giderek yaygınlaşmaktadır (1). İlerleyen teknolojilerle daha küçük kesilerden işlemler yapılması hedeflenmiş, daha az yüzey oluşturan veya

gizlenmiş estetik dikiş teknikleri geliştirilmiş ve dokuda hem kısa sürede iyileşme hem de en az iz oluşturularak doğal hale en yakın görünümün kazanılması amaçlanmıştır (1,2). Bu hususta dikiş materyallerinin doku üzerine etkilerini azaltmak, daha kontakt bir yüzey alanı sağlamak ve hatta hızlı müdahaleler ile klinisyenlerin işini kolaylaştırmaya

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Oğuz Karahan, MD, Kalp Damar Cerrahisi, Alaeddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Alanya, Antalya/Türkiye

E-Posta/E-Mail: oguzk2002@gmail.com || Tel: +90 506 392 93 20

Received/Geliş Tarihi: 6 Mar 2020 || **Accepted/Kabul Tarihi:** 24 Mar 2020

Bu Eser Creative Commons Atıf-Gayriticari 4.0 Uluslararası Lisansı İle Lisanslanmıştır. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).



yönelik doku yapıştırıcıları da gelişimin bir parçası olmuştur. Bu alanda konvansiyonel ve sentetik yapıştırıcılar araştırılmıştır (2-4). Siyanoakrilatlar da yapıştırıcı özellikleri anlaşıldıktan sonra tıbbin birçok dalında doku yapıştırıcısı olarak kullanıma girmiştir. Gastrointestinal sistem, dermal müdahaleler, vasküler işlemler ve daha birçok sistemde kullanım alanı bulmuştur (5).

Siyanoakrilat sentetik bir yapıştırıcı olarak 1949 yılında tanımlanmış ancak ilk etapta tıp dışı kullanım alanı bulmuştur (6-9). Yıllar sonra vücut üzerinde kullanımına dair ileri çalışmalar başlamış ve doku uyumu değerlendirilmeye başlamıştır. İlk üretilen prototip siyanoakrilat türevleri kısa zincirli olup, dokuya toksik ve deneysel araştırmalarda kanserojen potansiyeli bulunması sebebiyle organizma üzerinde kullanımı uygun bulunmamıştır (8,9). Bu durum, daha aktif ve rutin vücut dışı kullanımda bile organizmaya zarar vermeyen formlarını üretme çabası doğurmuştur (8-10). Daha uzun zincirli türevleri üretilmiş ve öncelikle rutin kullanım tıp dışı kullanım alanlarında dokuya toksik etki göstermeyen butil ve oktil türevleri kullanıma girmiştir. Bu türevlerin dokuya daha uyumlu, daha yüksek adezyon potansiyeli olmasının anlaşılması ile de tıp alanında kullanım alanları araştırılmaya başlamıştır. Daha ileri çalışmalar anti bakteriyel ve hemostaz sağlama potansiyellerini de ortaya koyması ile yapılanan cerrahi araştırmalarda olumlu sonuçlar rapor edilmiştir (8).

Çalışmamızda daha ileri teknolojilerle üretilmiş N-butil siyanoakrilatın farklı dokular üzerine etkilerini biyoyoumluluk testleri kullanarak araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel hayvan modeli üzerinde test edilen materyalin cilt altı, kas dokusu ve damar içi reaksiyonlarının değerlendirilmesi hedeflenerek cerrahi bir yapıştırıcı olarak kullanılan N- butil 2 siyanoakrilatın (VinierA®, Noegenix, Ankara, Türkiye) cilt altı, kas içi ve damar içi uygulamalarında irritasyon, sensitizasyon ve sitotoksik etkilerinin araştırılması amacıyla deney hayvanı olarak erkek Albino Wistar cinsi ratlar çalışmaya alınmıştır. Çalışma öncesi Dicle Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan etik onay (29.03.2018-1/3) alınarak, deneyin tüm aşamaları hayvan hakları yönergesine uyularak tasarlanmış ve gerçekleştirilmiştir.

Bu amaçla çalışmaya 16 adet sağlıklı Wistar Albino cinsi erkek (250 ± 5 gram) yetişkin rat dâhil edilmiştir. Denekler

çalışmaya başlamadan önce 2 hafta boyunca laboratuvar ortamında habitü edilmektedir. Tüm gruplar 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık siklusünde, klima kontrollü odada, 24 ± 1 °C sıcaklıkta ve %60 nemde barındırılmıştır. Hayvanların beslenmesinde standart pellet yemi, şehir içme suyu ve her bir gruba karşılaştırılacak ilgili madde oral olarak diyetine eklenmiştir.

Deri bütünlüğü bozulmuş hayvanlarda deri hassasiyeti oluşabilecek ya da normal renk dışında deri rengine sahip olan örneklerde test sonucu değişebileceği için örneklerde bu özellikler olmamasına dikkat edilmiştir. Test öncesinde hayvanların sırt uygulama bölgeleri tıraş edilmiş ve cilt altı enjeksiyon yapılacak, sağ bacak kas içi ve kuyruk veni damar içi enjeksiyon için dezenfekte edildi.

Gruplandırma:

Ratlar randomize şekilde 4 gruba bölünerek, deney sonuna kadar sekizerlik kafeslerde tutulmuştur. Gruplar aşağıdaki şekilde planlanmıştır:

Kontrol grubu (grup 1, n:4): Bu gruba sadece belirtilen şekilde (Test öncesinde hayvanların sırt uygulama bölgeleri tıraş edilecek ve cilt altı enjeksiyon yapılacak, sağ bacak kas içi ve kuyruk veni damar içi enjeksiyon için dezenfekte edilmiştir.) serum fizyolojik 0.3 ml enjeksiyon yapılmıştır ve üç gün boyunca 24., 48. ve 72. saatlerde irritasyon, sistemik toksisite, sensitizasyon gibi gözlemsel değerlendirmeler yapılarak, 3. günden sonra sakrifiye edilerek enjeksiyon bölgelerinden elde edilen doku örneklerinde histopatolojik olarak doku incelemesi yapılmıştır.

Çalışma grubu (grup 2, n:12): Bu grup çalışma grubu olarak planlanıp belirtilen şekilde (Test öncesinde hayvanların sırt uygulama bölgeleri tıraş edilecek ve cilt altı enjeksiyon yapılacak, sağ bacak kas içi (resim 1a) ve kuyruk veni damar (resim 2a) içi enjeksiyon için dezenfekte edilmiştir.) Grup 3 eşit alt gruba ayrılarak, ilk grup; cilt irritasyon, ikinci grup; sensitizasyon ve üçüncü grup; hücresel sitotoksisite, implantasyon değerlendirilmesi için planlanmıştır (implantasyon için erken sonuç değerlendirmesi hedeflenmiş, ratlar 7 gün bekletilmeyerek 3.gün sonunda doku analizleri yapılmıştır.). N-2-butil syanoakrilat 0.3 ml enjeksiyon yapılmış ve sonrasında üç gün boyunca 24., 48. ve 72. saatlerde irritasyon, sistemik toksisite, sensitizasyon gibi gözlemsel değerlendirmeler yapılarak, 3. günden sonra sakrifiye edilerek enjeksiyon bölgelerinden elde edilen doku

örneklerinde histopatolojik implantasyon kontrolü olarak doku incelemesi yapılmıştır.

Resim 1a (soldaki) ve **1b**(sağdaki)



1a (soldaki), Sağ bacak intramusküler enjeksiyon

1b, Kuyruk veni hazırlığı ve intravenöz enjeksiyon

Alınan tüm gruplardaki dokularda ışık mikroskopunda kontrol grubundaki normal histoloji saptanmıştır. Daha sonra çalışma grubunun dokuları histopatolojik olarak kesitlere ayrıldıktan sonra histopatolojik olarak hematoksilen eozin ile boyanarak, ödem, hücrel bozulma ve inflamatuvar hücre artışı, apoptozis, nekroz ve hücrel şişme, neovaskülarizasyon, fibrozis, yağ dejenerasyonu/ infiltrasyon değerlendirilmiştir. Mevcut durum Uluslar Arası Standardizasyon Organizasyonu (ISO) standartları çerçevesinde normal doku ile karşılaştırılmıştır. ISO standartları deney basamaklarında açıklanmıştır.

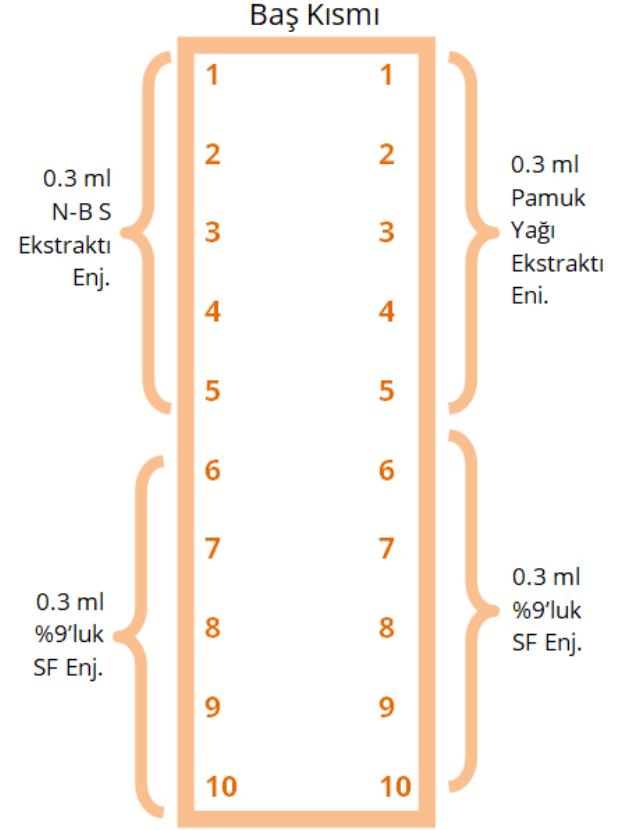
İrritasyon (İntrakutanöz reaktivite) Testi:

İlk çalışma grubunda bulunan deneklerin sırt kısmındaki tüyler çalışmadan 1 gün önce temizlenerek iritasyon değerlendirilmesi için ayrılmıştır. Biyomateryal ekstraktının intrakutanöz enjeksiyonuna dayanan çalışma, Uluslar Arası Standardizasyon Organizasyonu (ISO) tarafından belirlenen, ISO-10993-10-2010; Medikal malzemelerin biyolojik değerlendirilmesi, kısım 10: İrritasyon ve cilt sensitizasyonu, ISO-10993-12:2012; Örnek hazırlanması ve referans materyalleri uyarınca planlanmıştır (11,12).

N-2-butil siyanoakrilat ekstrakt haline getirilmesi; Sıvı formda medikal kullanıma hazır siyanoakrilat solüsyonları, 2-propranolol çözeltisi içeren kapların içerisine eklendi. Solüsyonlar 70 °C de 24 saat boyunca ekstraksiyon oranı 3 cm²/ml solvent olacak şekilde ISO 10993-12:2012 ye göre hazırlandı. Ekstraktlar deney öncesi LC-ampullere aktarılmadan önce 0.45 µm naylon filtreden süzülerek partikülsüz hale getirildi. Ekstraktın 0.3 ml emdirilmiş spançlar, aşağıda belirtildiği gibi tıraş edilmiş 10 bölgeye uygulanmıştır (şekil 1). Karşı bölgeye ise %0,9'luk serum

fizyolojik veya pamuk yağı 0.3 ml enjeksiyonu uygulanmıştır (şekil 1).

Şekil 1. ISO-10993-12:2012; Örnek hazırlanması ve referans materyalleri uyarınca biyomateryallerin iritasyon testi uygulaması



N-BS: N butil siyanoakrilat, SF: serum fizyolojik, Enj.: enjeksiyonu

Uygulamayı takiben cilt durumları hemen not edilmiş ve cilt üzerindeki eritem ve ödem 24, 48 ve 72. saatte karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Cilt üzerindeki reaksiyonun değerlendirilmesinde her enjeksiyon bölgesi skorlama (tablo 1) sistemine göre puanlanmıştır. Üç gün sonunda 72 saatlik derecelendirmeden sonra, tüm eritem dereceleri artı 24 saatlik, 48 saatlik ve 72 saatlik ödem dereceleri, her bir test numunesi veya her bir hayvan için kontrol için ayrı ayrı toplandı. Her bir hayvan üzerinde bir test numunesinin veya boşluğun skoru, toplamların her birinin 15 [3 puanlama süresi x 5 test veya boş numune (serum fizyolojik) enjeksiyon bölgesi] ile bölünmesi için hesaplandı. Her test numunesi ve her bir karşılık gelen boşluk için genel ortalama skor, dört hayvana ait skorları eklemek için dörde bölündü. Son test örnek skoru, boşluk skorunu test örnek skorundan çıkartarak elde edildi. Bu teste göre son test örnek puanı 1, 0 veya daha az ise, testin

gereksinimleri karşılanır ve iritan olmadığı şeklinde yorumlanır (11,12).

Tablo 1. İrritasyon incelemesinde cilt lezyonları değerlendirme sistemi

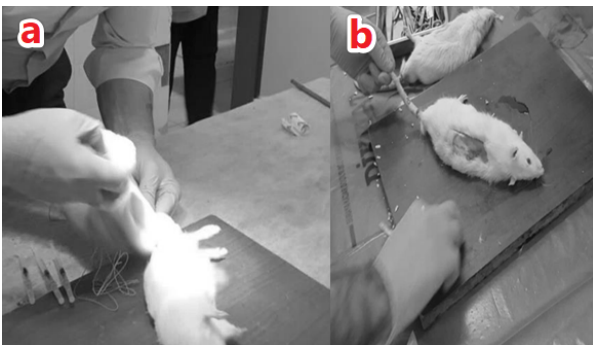
Reaksiyon	Skorlama
<u>Eritem ve Skar değerlendirilmesi</u>	
Eritem yok	0
Çok hafif eritem (kızarıklık)	1
Hafif eritem	2
Orta ileri eritem	3
Ciddi eritem ve skar oluşumu	4
<u>Ödem Formasyonu</u>	
Ödem yok	0
Çok hafif ödem (belli belirsiz şişlik)	1
Hafif ödem (şişlik kenarları belirgin)	2
Orta ileri ödem (yaklaşık 1mm şişlik)	3
Ciddi yaygın ödem (sınırları 1mm'den ileri)	4

Dermal Sensitizasyon Testi:

Bu analizin içeriği "Deri Sensitizasyonunun Saptanması" olarak belirlenip, Çalışma Protokolleri "Biyomateriyal ekstraktının intrakütanöz enjeksiyonuna dayanan çalışma, Uluslar Arası Standardizasyon Organizasyonu (ISO) tarafından belirlenen, 1099-10:2009; Medikal malzemelerin biyolojik değerlendirilmesi, İrritasyon ve gecikmiş tip hipersensitivite, ISO-10993-12:2012; Örnek hazırlanması" standartlarında belirtilen aşamalara göre oluşturulmuştur. Çalışma örnekleri alt grubu 2 de bulunan denekler çalışmaya dâhil edilmiştir (11,12).

Deri bütünlüğü bozulmuş hayvanlarda deri hassasiyeti oluşabilecek ya da normal renk dışında deri rengine sahip olan örneklerde test sonucu değişebileceği için örneklerde bu özellikler olmamasına dikkat edildi. Test öncesinde hayvanların sırt uygulama bölgeleri tıraş edildi (Resim 2a, b).

Resim 2

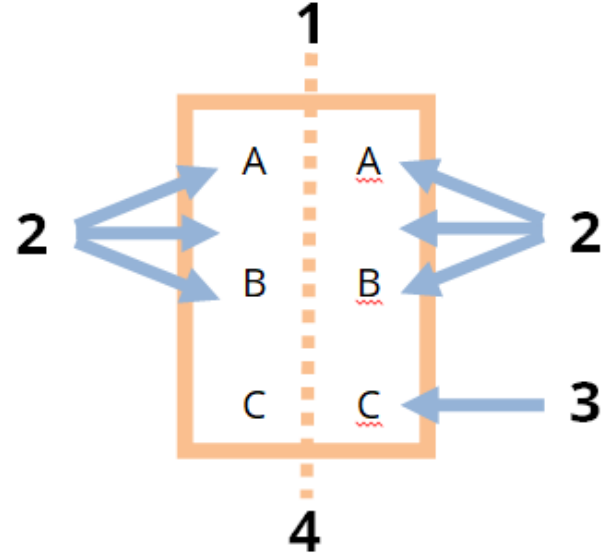


a. Ratların hazırlanması, b. Sırt bölgelerinin tıraş edilerek deneye hazırlanması

Ratların tıraş edilmiş bölgelerine, şekil 2 de gösterildiği üzere enjeksiyon bölgelerine (A,B ve C), her bir hayvana aşağıdakilerden her biri 0,3 ml intradermal (cilt altı) olarak enjekte edildi.

A bölgesi: 50:50 hacim oranı Freundun tam adjuvantı ile fizyolojik tuzlu su.

Şekil 2. (ISO-10993-10) Intradermal enjeksiyon bölgeleri (11)



1: Kranial (kafa tarafı), **2:** 0.1 ml intradermal enjeksiyon alanları, **3:** Tıraş edilmiş sınırlar ortası bölge, **4:** Kaudal (kuyruk tarafı)
A: Ense, **B:** Sırt, **C:** Kuyruk Öncesi

B bölgesi: Test materyali (Seyreltilmemiş ekstresi) tek başına kontrol örneklerine enjekte edilir.

C bölgesi: B bölgesinde kullanılan konsantrasyonda test örneği, 50:50 (hacim oranı) Freundun tam adjuvantı ile fizyolojik tuzlu su (%50) emülsiyonu.

Lokal İndüksiyon Fazı: Intradermal indüksiyon fazının (önceki paragrafta belirtilen intradermal uygulamanın yapılması) tamamlanmasından 7 gün sonra, Her bir hayvana yaklaşık 8 cm²'lik gazlı beze emdirilmiş test örnekleri ile lokal (yerel) uygulama yapıldı. Uygulamadan 48 saat önce deri %10'luk sodyum dodesil sülfat ile iritasyon oluşmaması için ön işleme tabi tutuldu. Lokal uygulamaya 48 saat sonra son verildi.

Yarışma Fazı: Yarışmalı tüm test ve test örneği kontrol hayvanları lokal indüksiyon fazının tamamlanmasından 14 gün sonra C bölgesindeki konsantrasyonda test numunesine batırılmış uygun yamalar kullanılarak,

indüksiyon aşamasında tedavi edilemeyen alanlarına doğrudan yerel olarak kontrol ve test örnekleri uygulandı. 24 saat sonra pansuman ve yamalar çıkarıldı (12).

Örneklerin Gözlenmesi: Pansuman çıkarıldıktan 24-48 saat arasında kontrol hayvanları ile testin yarışmalı deri bölgelerinin kontrolü inspeksiyon ile gözlemlendi. İyi bir aydınlatma ile deri bölgesi değişiklikleri izlenerek deri reaksiyonları değerlendirildi. Her yarışmalı alan ve zaman aralığı için Tablo 2 de verilen Magnusson ve Kligman ölçeğine göre eritem (kızarıklık), ödem (şişlik) cilt reaksiyonları tanımlandı (11).

Tablo 2. Magnusson ve Kligman ölçeği (ISO 10993-10)

Yama Testi Reaksiyonu	Not Skalası
Görünür Değişiklik Yok	0
Ayrık veya Yamalı Eritem	1
Orta Dercede yay Bitişik Eritem	2
Yoğun Eritem ve Şişlik	3

Tüm sonuçlar her üç denek için değerlendirilerek konfirme edilmiş ve ortalama sonuç alınmıştır.

Ayrıca tüm denekler sakrifiye edildikten sonra intrakütanöz enjeksiyon bölgelerinden doku örnekleri alınarak histopatolojik değerlendirme yapıldı. Tüm dokular değerlendirilirken normal doku örnekleri ile karşılaştırıldı.

Hücrel sitotoksitate (intramüsküler enjeksiyon) testi:

Son çalışma grubunda bulunan deneklerde intramüsküler enjeksiyon için sağ femoral bölgeleri tıraş edildi. Femur üzerinden 3 ml intramüsküler enjeksiyon yapıldı. İşlemden sonra tüm örneklerin 72 saatinde enjeksiyon bölgesinden kas doku örnekleri alınarak histopatolojik olarak değerlendirildi. Nekroz, apoptozis ve inflamasyon açısından normal doku örnekleri ile karşılaştırıldı (13).

Sistemik toksisite (intravenöz infüzyon) ve endotel hasarı değerlendirme testi:

Son çalışma grubundaki ratların kuyruk venlerinden 0,3 ml N-2-butil siyanoakrilat ekstraktı enjeksiyonu yapılarak sistemik dolaşım ile etkileşimi amaçlandı. Daha sonra tüm örnekler, 24., 48. ve 72. saatlerde gözlenerek genel durum bozukluğu, vücut ağırlıkları, ani sağlık bozuklukları, ölüm gibi durumlar takip edilerek not edildi.

Çalışma sonunda tüm denekler sakrifiye edilerek vasküler doku örnekleme için vena kava dokuları çıkarıldı. Tüm

dokular normal doku örnekleri ile kıyaslanarak değerlendirme yapıldı (14).

Histopatolojik inceleme:

Tüm dokular histopatolojik olarak kesitlere ayrıldıktan sonra hematoksilin eozin ile boyanarak, ödem, hücrel bozulma ve inflamatuvar hücre artışı, apoptozis, nekroz ve hücrel şişme değerlendirildi. Sonuçlar değerlendirilirken, normal doku incelemeleri baz alındı (15,16).

İmplantasyon Testi:

Sağ femoral bölgede intramüsküler ve sırt bölgesinde intradermal ekim yapılan bölgeler, lokal olarak incelendi. Büyütme olarak x2.5 (Heine Optotechnik GmbH & Co KG®, Germany).büyütme gücünde mercek kullanılarak yapılan makroskobik muayenede, lokal etkiler incelendi.

İmplant çevresi fascia kas ve deri örnekleri alınarak histolojik incelemeler için %10 tamponlu formalinde 24 saat süreyle tespit edildi ve parafine gömülen dokulardan 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı ve alınan kesitler Hematoksilin & Eozinle boyandıktan sonra ışık mikroskobu altında değerlendirilmeye alındı.

Daha sonra elde edilen sonuçlar iyileşme süreci ve inflamatuvar cevap skalalarına göre değerlendirildi. Bu değerlendirme de ISO 10993-6 (Annex5). Semikantitatif Histopatolojik Skorlama sistemi kullanıldı (Tablo 3a., b.) (17).

BULGULAR

Öncelikle 72 saat takip edilen denekler ve kontrol grubu genel durum bozukluğu, ani sağlık değişiklikleri (ishal, kusma, terleme, yemek yememe, kilo kaybı, hızlı nefes alma, vücut ısısı artışı) açısından değerlendirildi. Hiçbir denekte ölüm olayı izlenmezken, ani durum bozukluğu da kaydedilmedi. Kontroller 24., 48. ve 72. saatte tekrarlandı. Üç gün sonra sakrifikasyon öncesi son değerlendirme yapılarak, 72 saatli gözlemede uygulama yapılan hiçbir grupta problem izlenmedi.

ISO standartlarına göre yapılan irritasyon değerlendirmesinde tablo 4'teki sonuçlar elde edildi. Bu sonuçlara göre alınan non-polar ekstre içerisinde hazırlanan çözelti ile yapılan uygulamada ortalama değer 3/4=0.75 olarak bulundu (Tablo 4). Non-polar çözütünün karşılaştırılmasında ise sonuç 2/4=0.50 olarak saptandı (Tablo 4). Sonuç değerlendirmesinde ekstraktın non-polar

çözücüden çıkarılması ile $0.75-0.50=0.25$ değeri elde edildi (Tablo 4). Değer ($0.25 < 1$) 1 den küçük olarak saptandı.

Sensitizasyon açısından gruplar değerlendirildiğinde, test edilen numuneden elde edilen ekstraksiyon solüsyonu ile deri irritasyon testi (Sonuç 4 ayrı denekle konfirme edilmiştir) uygulanmış olup, 72 saatlik gözlem süreci

sonunda test sonlandırılmıştır. Klinik inspeksiyona dayalı gözlem incelemelerini içeren değerlendirme ve analiz çalışmaları sonucunda N- butil 2 siyanoakrilatın (VinierA®, Noegenix, Ankara, Türkiye) ait numune raporu ISO 10993-10 Tablo 1. Magnusson ve Kligman Ölçeğinde verilen not skalasına göre "0" olarak belirlenmiştir.

Tablo 3a,b. Semikantitatif Histopatolojik Skorum Sistemi (ISO 10993-6)

Hücre Tipi/ Cevap	a. İnflamatuvar Cevap				
	Skor				
Polimorfonükleer Hücreler	0	1	2	3	5
Lenfosit	0	Nadir, 1-5	5-10	ileri, >10	Tam İnfiltrasyon (her alanda)
Plazma Hücresi	0	Nadir, 1-5	5-10	ileri, >10	Tam İnfiltrasyon (her alanda)
Makrofaj	0	Nadir, 1-5	5-10	ileri, >10	Tam İnfiltrasyon (her alanda)
Dev Hücre	0	Nadir, 1-5	5-10	ileri, >10	Tam İnfiltrasyon (her alanda)
Nekroz	0	Nadir, 1-5	5-10	ileri, >10	Tam İnfiltrasyon (her alanda)
b. İyileşme Cevabı					
Neovaskülarizasyon	0	Minimal kapiller proliferasyon (1-3 vasküler tomurcuklanma)	Fibroblastik yapılarla birlikte, 4-7 kapiller oluşum	Dokularla desteklenmiş yaygın kapiller oluşum	Dokularla desteklenen yaygın kapiller oluşum
Fibrozis	0	Dar bant	Hafif kalın bant	Kalın bant	Yaygın bant
Yağ İnfiltrasyonu	0	Fibrozis ile ilgili minimal yağ depoziti	Birçok yağlı çizgilenme ve fibrozis	İmplantasyon bölgesinde yoğun yağ hücre infiltrasyonu	İmplantı tamamen çevreleyen yaygın yağ depoziti

Tablo 4. Deneklerde izlenen irritasyon ve skorum (24., 48., 72. saatler)

Denek Numaraları	Gözlem Süreleri (saat)	N-2-Butil siyanoakrilat ekstraktı		Non-polar Çözücü	
		Eritem/Ödem	Skor	Eritem/Ödem	Skor
1. Rat	24	0		0	
	48	0	0	0	0
	72	0		0	
2. Rat	24	5		4	
	48	5	1	4	1
	72	5		4	
3. Rat	24	4		0	
	48	4	1	0	0
	72	4		0	
4. Rat	24	5		5	
	48	5	1	5	0
	72	5		5	
Ortalama Skor			0.75		0.50

İn vivo sitotoksinite için yapılan intramüsküler, intravenöz ve intradermal enjeksiyon bölgelerinden doku örneklemesi öncesi Heine x2.5 büyütme loupe ile lokal olarak incelendi. Lokal olarak deri altı kapiller dolgunluk ve lenf

düğümlelerinde hafif derecede şişkinlik dışında herhangi bir patolojik oluşuma rastlanmadı. Prefemoral ve inguinal bölge lenf düğümleri hafif derece şişkin, bilateral uniform ve kesit yüzeyleri düzgündü. Alınan dokular ışık

mikroskopisinde hematoksilen eozinle boyanarak, uygulama yapılmamış kontrol gurubundan alınan normal doku örneklemeleri ile histopatolojik olarak karşılaştırıldı.

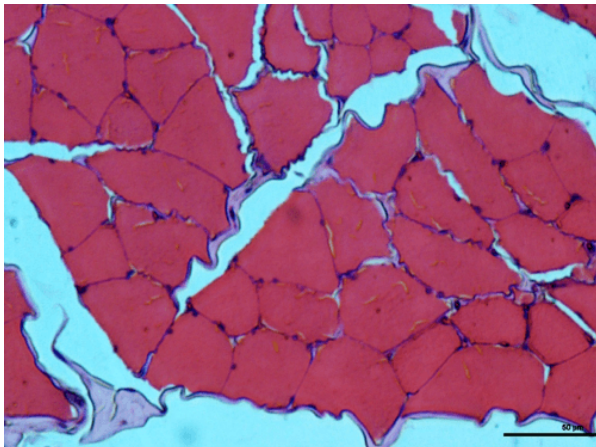
İmplantasyon amaçlı intramüsküler doku karşılaştırmaları resim 3 a ve b'de, dermal doku örneklemeleri ise 4 a ve b'de

gösterilmiştir. Sonuçlar semi kantitatif histopatolojik skorlama sistemi ile değerlendirildi (Tablo 5). İmplantasyon durumunda 4.75 skor ile hafif iritan olarak saptandı.

Tablo 5. Semikantitatif Skorlama Sistemi

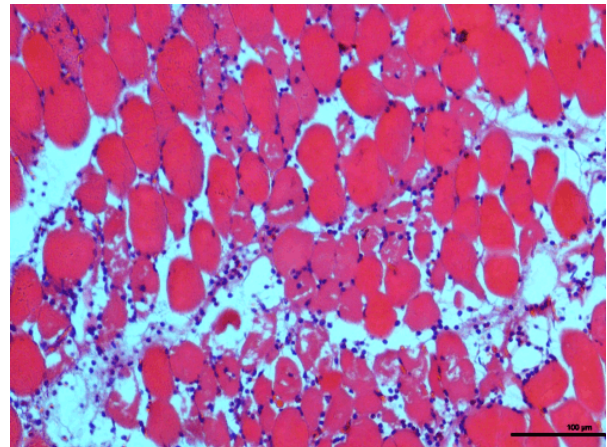
N-2.butil siyanoakrilat	Test Örneği (Çalışma Grubu)				Kontrol (Sağlıklı Örneklem)			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
1. İnflamatuvar Cevaplar								
Deney Hay. No. İnflamasyon								
Polimorf	0	1	2	1	0	0	0	0
Lenfosit	1	1	1	2	0	0	0	0
Plazma Hüc.	1	0	1	1	0	0	0	0
Makrofaj	2	1	1	1	0	1	1	1
Dev Hücre	0	0	0	0	0	0	0	0
Nekroz	0	0	0	0	0	0	0	0
Ara Toplam	1	3	5	4	0	1	1	1
2. İyileşme Süreci								
Neovaskülerizasyon	0	0	1	1	0	0	0	0
Fibrozis	0	0	0	0	0	0	0	0
Yağ dejen/infiltrasyon	1	1	1	1	0	0	0	0
Ara toplam	1	1	2	2	0	0	0	0
Toplam	5	4	7	6	0	1	1	1
ORTALAMA		5.50				0.75		
Toplam skor implantasyon grubu ile negatif kontrol arası fark alınarak hesaplanır (TEST) - (KONTROL): 5.50-0.75=4.75 Skor Skor değerleri; Non-irritan 0.0-2.9 Hafif İrritan 3.0-8.9 Orta Derce İrritan 9.0-15.0 Şiddetli İrritan >15.0 Elde edilen 4.75 skor ile implantasyonunda materyal hafif iritan sınıfında belirlendi.								

Resim 3a. Kontrol grubu kas kesiti



Kas demetlerindeki hücrelerin periferdeki dağılımı düzenli, etrafındaki bağ doku kılıflarındaki lifler ve fibroblast hücreleri normal olarak gözlemlendi. Hematoksilen -Eozin Bar 100µm

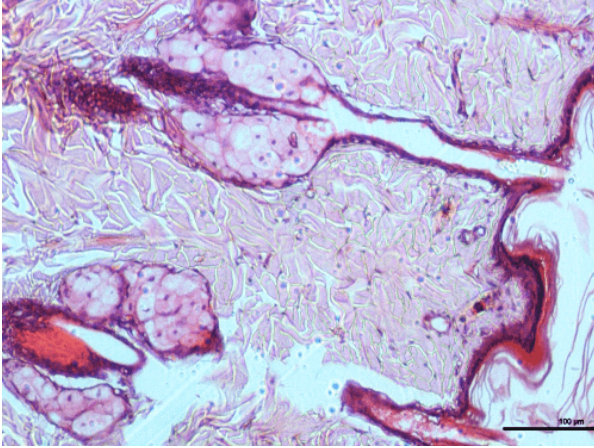
Resim 3b. Uygulama yapılan grubun (72. saat) kas kesiti



Küçük çaplı damarlarda hemoraji (ok), kas demetleri etrafında inflamatuvar hücre infiltrasyonu (sarı ok), kas hücreleri periferde düzenli yerleşim gösterdi. Hematoksilen-Eozin Bar 100µm

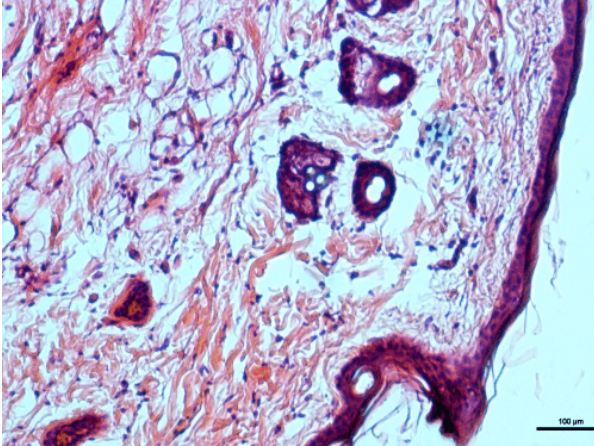
İntravenöz uygulamada vasküler endotel yapı üzerine etkilerinin saptanmasına yönelik kuyruk veninden alınan örnekler ile yapılan histopatolojik incelemeler için Hematoksilen Eozin boyama kullanılarak ışık mikroskopisi ile inceleme yapıldı. Kontrol grubundan yapılan normal doku incelemesi (Resim 5a) sonuçlarına göre, intravenöz N-2-butil siyanoakrilatın histopatolojik sonuçları (Resim 5b) karşılaştırıldı.

Resim 4a Kontrol grubu dermal kesit



Epidermis tabakasında hücreler düzenli, dermis tabakasında lif dağılımı düzensiz ve sıkı bir şekilde dağılmış yağ bezleri ve kıl folikülleri normal görünümde izlendi. Hematoksilen –Eozin Bar 100µm

Resim 4b. Uygulama yapılan grubun (72. saat) deri kesiti

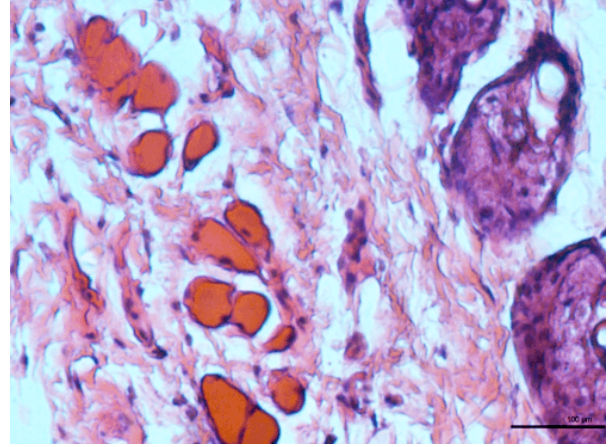


Epidermisteki hücrelerde değişiklik gözlenmez iken dermisteki retiküler tabakada inflamatuvar hücrelerin birikimi (sarı ok) küçük kapiller damarlarda yer yer hemorajiler(ok) dermisteki lifler arasında bağ dokuda artış (kırmızı ok) görüldü. Hematoksilen –Eozin Bar 100µm

İntravasküler N-2-butil siyanoakrilat uygulaması yapılan ratların kuyruk veninden alınan örneklerde, serum fizyolojik uygulanan ratların zıddına, damar duvarında infiltrasyon, endotel hücrelerinde dejenerasyon, damar dilatasyonu ve

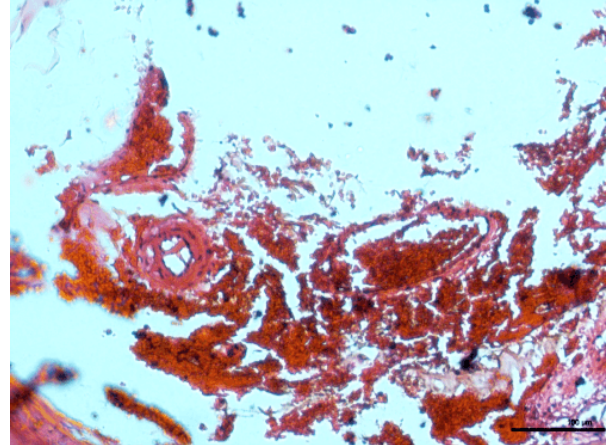
konjesyon, ve lümeninde bozulma izlendi. Bu özelliği ile damar da hem primer infiltratif endotel hasarı ile, hem de sekonder adezyon etkisi ile oklüziv olarak belirlendi.

Resim 5a. Kontrol Grubu



İntravenöz SF yapılan grubun damar kesitleri. Damar endotel hücrelerinde değişiklik gözlenmez iken damar etrafında minimal inflamatuvar hücreler izlendi. Hematoksilen –Eozin Bar 100µm

Resim 5b. Uygulama yapılan grubun (72. saat) damar kesiti



Damar duvarındaki endotel hücrelerinde dejenerasyon(sarı ok), bazal lamina incelmış, damar duvarında dilatasyon ve hemoraji ile birlikte konjesyon(yıldız), arteriol lümen yapısında bozulma ve hiyalinizasyon (kırmızı ok) görüldü. Hematoksilen –Eozin Bar 100µm

TARTIŞMA

Çalışmamızın sonucunda N-2-Butil siyanoakrilatın, genel yaşam faaliyetlerini bozacak akut sistemik toksisite oluşturmadığı, uygulandığı lokal bölgede sensitizasyona neden olmadığı ve cilt üzerinde lokal irritasyon oluşturmadığı, ancak her ne kadar lokal temas irritasyon oluşturmada da enjeksiyonunda minimal irritan etki gösterdiği belirlendi. Histopatolojik olarak yapılan invivo doku testlerinde apoptozis, nekroz gibi ileri hücre hasarı oluşturmadığı, bu nedenle yüksek düzeyde sitotoksik etkisi

olmadığı düşünülür. Ayrıca yapılan intravenöz uygulamada kan ile polimerize olan maddenin damar duvarında oklüzyon ve infiltratif endotel harabiyeti oluşturarak lokal oklüziv etki gösterdiği saptandı.

Daha önce siyanoakrilat bazlı adezivler ile yapılan çalışmalarda çeşitli biyolojik etkileri araştırılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlardan bazılarında bu adeziv materyalin, antibakteriyel etki gösterdiği, hücrel inflamatuvar cevaba neden olduğu gibi veriler elde edilmiş ancak multisistemik etkilerinin karşılaştırıldığı fazla sayıda çalışma sunulmamıştır. Kısa zincirli siyanoakrilatların toksik ve kanserojen etkilerinin önüne geçmek için sentezlenen en gelişmiş türev olan n-2-butil-siyanoakrilat güncel olarak birçok doku, organ düzeyinde kullanılmakta ve anastomoz yapmak ya da mukavemetini arttırmak, hemostaz sağlamak, sütür gereksinimi olmaksızın fiksasyon sağlamak gibi amaçlarla sütür tekniği ve materyallerinin yetersiz kaldığı durumlarda önerilmektedir (7,18,19).

Siyanoakrilat bazlı biyo-yapıştırıcıların dokuda ilk olarak akut inflamatuvar süreci tetiklediği önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Bu reaksiyonun temelinde indirgenmiş son molekül ürünlerinden olan formaldehit sorumlu tutulmuştur. Formaldehit poliansatüre yağ asitleri ile etkileşerek lipit hidroperoksit oluşumuna ve tromboksan seviyelerinde artışa neden olur (20). Artmış tromboksan düzeyleri ise trombozise kadar ilerleyen süreci tetikler. Kartal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada izobütil siyanoakrilatın deneysel modeller üzerinde sırt cebi oluşturarak uygulaması ile oluşturdukları modelde, mast hücre infiltrasyonu belirlenmiştir. Ancak ile sitotoksitesite yapmayan molekülün ilerleyen dönemde proliferasyona neden olarak, uzun dönemde degrade olması ile birlikte hücre rejenerasyonunu bozmadığını öne sürmüşlerdir (20).

Doku yapıştırıcılarının araştırıldığı, fibrin yapıştırıcılarla yapılan çalışmalarda dikiş materyaline göre fibrin yapıştırıcının daha iyi etki gösterdiği öne sürülmüştür. Sağlayan ve arkadaşlarının oluşturduğu deneysel modelde rat karaciğeri üzerine sütür ve fibrin yapıştırıcılar denenerek, doku yapıştırıcısının sütür materyaline göre daha iyi adezyon ve doku iyileşmesi sağladığı sonucuna varılmıştır (21).

Reckers ve arkadaşlarının çalışmasında ise siyanoakrilat menisküs yırtıklarının tedavisi açısından araştırılmış, ancak

invivo yapılan bu çalışmada iyileşme sağlanmadığı saptanmıştır. Bu durum siyanoakrilatın inflamatuvar süreci tetikleyerek, doku iyileşmesini bozmasından kaynaklanabileceği söylenebilir de, bu çalışmanın en önemli eksiklerinden birisi kullanılan siyanoakrilat türevinin belirtilmemesi olarak öne çıkmaktadır (22). Çünkü kısa zincirli siyanoakrilat türevlerinin ileri reaksiyon yaptığı bilinmektedir. Bu nedenle kullanımından vazgeçilmiştir. Uzun zincirli türevlerin ise daha kontrollü inflamatuvar yanıtı neden olarak iyileşme prosesini etkilemediği saptanmış ve endüstriyel olarak kullanıma sunulmuştur. Aksine Ayan ve arkadaşlarının N-2-siyanoakrilat ile yaptığı çalışmada menisküs yırtıklarına deneysel olarak uygulanan yapıştırıcının, mikroskobik veya makroskobik patolojiye neden olarak yara iyileşmesine engel olmadığı vurgulanmıştır (23). N-2-Butil siyanoakrilatın hem deneysel, hem de insan üzerinde etkilerinin araştırıldığı, tendon iyileşmesinde yapılan çalışmalarda, kas içi enjeksiyonunda incelendiği raporlarda ve eklem içi osteokondral kırıklarda gibi yaygın beslenen rejeneratif dokularda yapılan araştırmalarda yara iyileşmesini bozmadığı belirtilmiştir (24). Benzer şekilde korneal, nöronal ve vasküler dokunun çalışıldığı raporlarda da bu bölgelerin iyileşmesini bozmadığı belirtilmiştir (25). Dahası oral mukoza gibi rejeneratif kapasitenin yüksek olduğu bölge üzerine butil-siyanoakrilatın araştırıldığı çalışmalarda etkin sonuçlar elde edilmiş ve bu adeziv maddenin bu bölgede dikiş materyalinden daha güvenle kullanılabilirliği vurgulanmıştır (26). N-2-butil siyanoakrilatın histotoksitesite üzerine deneysel olarak kornea üzerinde yapılmış çalışmada, bu malzemenin ciddi histotoksitesite oluşturmazken, yara iyileşmesi üzerine iyi etkileri olduğu ve kornea perforasyonlarında güvenle kullanılabilirliği öngörüsüne varılmıştır (27). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde kas ve deri dokularında belirgin hücrel hasar izlenmezken, damar endotelinde tromboza bağlı kısmi hasar izlenmiş, ancak ileri reaksiyon belirlenmemiştir.

Bu tolere edilebilir ve ciddi olmayan hücrel etkiler, diğer siyanoakrilatların aksine uzun zincirli olmasına bağlanmış ve uzun zincir nedeniyle yavaş reaksiyon oluşturarak, daha az miktarda zararlı son ürün oluşturduğu ve bu kadar az zararlı ürünün organizmada daha kontrollü detoksifiye edildiği ve ileri sitotoksik reaksiyona yol açmadığı şeklinde yorumlanmıştır (7, 18).

Topikal ajanların cilt üzerine etkilerini belirlenmesinde, John Draize tarafından tanımlanmış Draize testi isimlendirilen temel test ve benzerleri kullanılabilir. Bi maddenin cilt üzerine etkileri (alerjik kontakt dermatit), bu maddeyle tema halinde dokuda yabancı cisim olarak algılanması ve buna karşı immünolojik aracılı verilen inflamatuvar bir deri reaksiyonudur. Testlerin potansiyel insan derisi hassaslaştırıcılarını saptamadaki duyarlılığı ve kabiliyeti, halk sağlığıyla ilgili toksisite için bir sınıflandırma sisteminde önemli olarak kabul edilir (27). Ancak biyomateryallerin cilde temas niteliklerini değerlendirmenin yanı sıra uzun süre cilt altı veya cilt çevresi dokularla reaksiyonunu da bilmek gerekir. Bu nedenle biyomateryallerin oluşturduğu gecikmiş tip hipersensitivitenin belirlenmesinde standardizasyon oluşturmak amacıyla "Uluslara Arası Standardizasyon Örgütü" tarafından standartlar belirlenmiştir. Bu nedenle irritasyon ve gecikmiş tip hipersensitivite içinde bir yöntem bilim oluşturulmuştur. Bu testi geçen malzemeler ürün güvenliğine uygun sayılır ve çeşitli şartlara göre üretilmesine izin verilir (11). Ancak endüstriyel olarak kullanıma sunulan bu malzemelerin deneysel veya klinik kullanım şartlarında oluşturduğu reaksiyonların incelenmesi de ürün güvenliğinin ve devamlılığının sağlanmasında önemlidir. Bu nedenle siyanoakrilat bazlı doku yapıştırıcıları da üretim öncesi ve sonrası değerlendirilmelere tabi tutularak çeşitli etkileri raporlarla ifade edilmiştir. İlk klinik uygulamaya giren siyanoakrilat türevleri metil-2-siyanoakrilat ve etil-2-siyanoakrilat olmuştur. Bu ürünler cerrahinin birçok alanında denenmiş ancak ilerleyen süreçte mekanik etkileri zayıf olan bu formların yüksek sitotoksik etki gösterdiği de saptanmasıyla birlikte kullanımı terk edilmiştir (6,28,29). Sadece klinik öncesi testlerle değil klinik kullanımında raporlanan kontakt dermatit gibi reaksiyonların saptandığı klinik olgularda bu ajanların kullanılmasından vazgeçilmesinde etken olmuştur (30). Hatta sadece klinik amaçlı değil tıp dışı endüstriyel kullanım sırasında dahi bu kısa zincirli siyanoakrilat türevlerine aşırı duyarlılık rapor edilmiştir (31). Uzun zincirli türevlerin üretilmesiyle çok daha olumlu sonuçlar elde edilmiş ve yaygın üretime girmiştir. Özellikle yaygın olarak kullanılan N-2-Butil siyanoakrilatın güvenli kullanıma dair raporlar mevcuttur (32). Deneysel olarak oluşturulan bir modelde Kukleta ve ark. N-2-butil siyanoakrilat ile tavşanlara mesh fiksasyonu gerçekleştirildi ve akut faz sırasında kas dokusunda bir

reaksiyon gözlemedi. Bu reaksiyon dokuda toksik etki oluşturmadığı şeklinde yorumlanırken, hafif veya orta derecede inflamatuvar hücrelerle karakterize fibroblastik doku reaksiyonu rapor ettiler. 360 gün sonra yapılan değerlendirme, fibrotik dokularda hafif bir artış gösterdi ve mononükleer hücre sayıları, bazı odalarda daha fazla sayıda çoklu çekirdek dev hücre ile birlikte ortaya çıktı. Doksan gün sonra yapışkanın dokuda kaybolduğunu ortaya çıkardılar (33). Favard ve arkadaşlarının N-2-butil siyanoakrilatı, intravasküler alana uyguladıkları, varikozel çalışmasında, damar içi lokal inflamatuvar yanıtı trombozu tetikleyerek uyardığını ve skleroza neden olduğunu saptamakla beraber ileri reaksiyona neden olmadığını hatta bu hasta grubunda diğer ajanlara göre daha az ağrılı bir şekilde iyileşme sağladığı rapor etmişlerdir (34). Akgül ve arkadaşlarının penil dokuda kavernoöz dokuya deneysel uyguladıkları N-2-Butil siyanoakrilatın oldukça düşük yabancı cisim reaksiyonuna yol açarak doku iyileşmesinde oldukça iyi sonuçlar verdiği raporlanmıştır (35). N-2-butil siyanoakrilatın oklüzyon amacıyla kullanımın araştırdığı çalışmalarda histotoksik ve inflamatuvar yanıtın oldukça düşük olduğu ve enjeksiyonun da bu nedenle daha az ağrılı olduğu raporlanmıştır (36). Tüm bu veriler ışığında N-2-butil siyanoakrilat sitotoksik açıdan iyi tolere edilen genel olarak dokularda güvenle kullanılacak bir ajan olarak önerilmiştir (32-36). Bizim çalışmamızda da N-2-butil siyanoakrilat kas ve cilt dokusunda önceki literatürle benzer şekilde ciltte irritasyon ve gecikmiş tip hipersensitiviteye neden olmadığı saptandı. Bulgular önceki çalışmalar ile benzer olarak bulundu.

Sonuç olarak N-2-butil siyanoakrilat irritasyon ve gecikmiş tip hipersensitiviteye neden olmamakta, sistemik toksik ve ileri histotoksik etki göstermemekte ve damar içi uygulamada lokal reaksiyon göstermemekte idi. Bu özellikleri ile N-2-butil siyanoakrilat ve türevlerinin klinik kullanımının artacağı ve daha ileri müdahaleler için güvenli reaksiyon oranlarına sahip olduğuna inanıyoruz.

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

The author declares no conflict of interest.

Finansal Destek: yoktur / Funding: none

Etik Kurul: Çalışma hayvan çalışması olup Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 29.03.2018 tarih,1/3 Karar numarası ile etik kurul onayı alınmıştır

doi: <https://doi.org/10.33713/egetbd.699440>

KAYNAKLAR

1. Ochsner JL. Minimally Invasive Surgical Procedures. Ochsner J. 2000; 2(3): 135-136.
2. Ronco V, Dard M. A novel suturing approach for tissue displacement within minimally invasive periodontal plastic surgery. Clin Case Rep. 2016; 4(8): 831-837.
3. Silverstein LH, Kurtzman GM. A review of dental suturing for optimal soft-tissue management. Compend Contin Educ Dent. 2005;26(3):163-6, 169-70
4. Singh PK, Degala S, Shetty S, Rai VS, Das A. To Evaluate the Efficacy and Effectiveness of N-butyl-2-cyanoacrylate glue (TRU SEAL) in Closure of Oral and Maxillofacial Laceration and Surgical Incisions. J Maxillofac Oral Surg. 2019;18(1):131-138. doi: 10.1007/s12663-018-1111-6.
5. Pujari-Palmer M, Guo H, Wenner D, et al., A Novel Class of Injectable Bioceramics that Glue Tissues and Biomaterials. Materials (Basel). 2018 Dec 7;11(12). pii: E2492. doi: 10.3390/ma11122492.
6. Balcıoğlu S., Alifatik Yapıdaki İzosiyanatlarla Şeker Temelli Yapıştırıcı Poliüretan Sentezi ve İn-Vitro Biyouyumluluk Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Malatya. 2015. <http://openaccess.inonu.edu.tr:8080/xmlui/handle/11616/5911>
7. Çelik D., Tavşanlarda Septal Kartilajın Anterior Nazal Spina'ya Tespiti İçin Kullanılan N-Butil-2 Siyanoakrilat (Histoacryl) Etkinliği ve Histopatolojik Değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Şişli Etfal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi II. Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kliniği. İstanbul. 2006. http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/kbb/dr_deniz_celik.pdf
8. Bhalla RK, Lesser THC. Simple, painless, cosmetic closure of endaural incisions. The J Laryngol Otol. 2003;117:67-68
9. Matras H. Fibrin seal: The state of the art. J Oral Maxillofacial Surg. 1985;43:605
10. Toriumi DM, Raslan WF, Friedman M, Tardy E. Histotoxicity of cyanoacrylate tissue adhesives. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. May 1990;116:546-550
11. ISO (2010) ISO/TC 194 10993-10 - Biological evaluation of medical devices -- Part 10: Tests for irritation and skin

sensitization. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

12. ISO (2012) ISO/TC 194 10993-12 - Biological evaluation of medical devices -- Part 12: Sample preparation and reference materials. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

13. Galia CR, Macedo CA, Rosito R, Mello TM, Camargo LM, Moreira LF. In vitro and in vivo evaluation of lyophilized bovine bone biocompatibility. Clinics (Sao Paulo). 2008;63(6):801-6.

14. ISO (2009) ISO/TC 194 10993-10 - Biological evaluation of medical devices -- Part 11: Systemic toxicity tests. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland

15. Willert HG, Buchhorn GH, Fayyazi A, et al., Metal-on-metal bearings and hypersensitivity in patients with artificial hip joints. A clinical and histomorphological study. J Bone Joint Surg Am. 2005;87(1):28-36.

16. Tezcan O, Caliskan A, Demirtas S, et al., Effects of Hyperbaric Oxygen Treatment on Renal System. Iran J Kidney Dis. 2017;11(1):18-22.

17. ISO (2007) 10993-6: Biological Evaluation of Medical Devices: Test for local effects after implantation. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

18. Ellis DA, Shaikh A. The ideal tissue adhesive in facial plastic and reconstructive surgery. J Otolaryngol. 1990;19:68-72

19. Eng J, Sabanathan S. Successful closure of bronchopleural fistula with adhesive tissue. Scand J Thor Cardiovasc Surg 1990;34:157-159

20. Kartal N, Sav A, Küllü S. İzobutil Siyanoakrilata Karşı Oluşan Mast Hücre cevabının Histopatolojik Olarak Değerlendirilme Türk Patoloji Dergisi 1991;7(2):52-55

21. Sağlıyan A, Günay C, Han MC, Yaman İ. Tavşanlarda Karaciğer Cerrahisinde Fibrin Yapıştırıcı Kullanımı: Deneysel Çalışma, F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg. 2010; 24 (2): 63 – 69

22. Reckers LJ, Fagundes DJ, Cohen M, Raymundo JL, Moreira MB, Paiva VC. Medial meniscus transplantation using cyanoacrylate in rabbits. Acta Cir Bras. 2006 ;21(2):92-6.

23. Ayan İ, Çolak M, Ballı E, Öztuna S, Kuyurtar F. Invivo application of hystoacryl (n-butyl-2-syanoacrylate) adhesive for meniscal tears: experimental study in rabbits. Joint Dis Rel Surg 2008; 19(3):112-118

24. Öztuna V, Yılmaz A, Yılmaz C, et al., The use of N-butyl-2-cyanoacrylate (Histoacryl) in primary tendon repair: a biomechanical study with sheep flexor tendons. Acta Orthop Traumatol Turc 2005;39(3):258-262

25. Reukov V, Maximov V, Vertegel A. Proteins conjugated

to poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles as potential neuroprotective agents. *Biotechnol Bioeng.* 2011;108(2):243-52

26. Yıldırım G, Güngörmüş M, Gürbüz G, Kaya Ö, Nalbantoğlu NG. Oral Mukoza Kesilerinde Sütür Ve Butil-2-Siyanoakrilatın Klinik Ve Histopatolojik Olarak Karşılaştırılması Atatürk Üniv.Diş Hck.Fak.Derg.1991; 9(2): 1-8.1991

27. Pérez M, Fernández I, Márquez D, Bretaña RM. Use of N-butyl-2-cyanoacrylate in oral surgery: biological and clinical evaluation. *Artif Organs.* 2000;24(3):241-3.

28. Singer AJ, Quinn JV, Hollander JE. The cyanoacrylate topical skin adhesives. *American Journal of Emergency Medicine.* 2008;26: 490-496.

29. Bhatia SK. Traumatic injuries. In: Bhatia SK, editor. *Biomaterials for clinical applications.* New York, 2010; 213-258 p.

30. Bouten PJM, Zonjee M, Bender J, et al., The chemistry of tissue adhesive materials. *Progress in Polymer Science.* 2014; 39: 1375-1405.

31. Schwensen JF, Friis UF, Zachariae C, Johansen JD. Sensitization to cyanoacrylates caused by prolonged exposure to a glucose sensor set in a diabetic child. *Contact Dermatitis.* 2016;74(2):124-5.

32. Ayyıldız SN, Ayyıldız A. Cyanoacrylic tissue glues: Biochemical properties and their usage in urology. *Turk J Urol.* 2017;43(1):14-24.

33. Kukleta JF, Freytag C, Weber M. Efficiency and safety of mesh fixation in laparoscopic inguinal hernia repair using n-butyl cyanoacrylate: long-term biocompatibility in over 1,300 mesh fixations. *Hernia.* 2012; 16(2):153-62.




34. Favard N, Moulin M, Fauque P, et al., Comparison of three different embolic materials for varicocele embolization: retrospective study of tolerance, radiation and recurrence rate. *Quant Imaging Med Surg.* 2015;5:806-14

35. Akgül T, Ayyıldız A, Cebeci O, et al., Effect of cyanoacrylic glue on penile fracture: an experimental study. *J Urol.* 2008; 180(2):749-52.

36. Loffroy R, Guiu B, Cercueil JP, Krausé D. Endovascular therapeutic embolisation: an overview of occluding agents and their effects on embolised tissues. *Curr Vasc Pharmacol.* 2009; 7(2):250-63

Tardive Dyskinesia Due to Short-Term and Low-Dose Use of Trifluoperazine: A Case Report

Kısa Süreli ve Düşük Dozda Trifluoperazin Kullanımına Bağlı Tardif Diskinezi: Bir Olgu Sunumu

Mehmet Hamdi Orum¹ , Yasar Kapıcı² , Behice Han-Almis² 

1 Psychiatry Department, Kahta State Hospital, Adiyaman /Turkey

2 Psychiatry Department, Adiyaman University, Faculty of Medicine, Adiyaman /Turkey

ÖZET

Tardif diskinezi (TD), vücudun herhangi bir bölümünü etkileyen amaçsız ve istemsiz hareketlerle karakterize bir hastalıktır. Bu hareketler tipik olarak ağız-yüz bölgesinde meydana gelir ve hasta genellikle bu hareketlerin farkında değildir. TD, kısa süreli ve düşük dozda antipsikotik kullanımına ikincil olarak daha nadir görülür. Burada kısa süreli ve düşük dozda trifluoperazin kullanımına bağlı bir TD olgusunu sunduk. Hasta 38 yaşında bir kadın hastaydı ve yaygın anksiyete bozukluğu tanısı ile 1 mg/gün trifluoperazin ile tedavi edilmisti. TD semptomları, trifluoperazin başlandıktan üç ay sonra ortaya çıkmıştı, ilaç kesilmesinden sonra yavaş yavaş azaldı ve altı ayın sonunda tamamen kesildi. TD tedavisine ilişkin veriler sınırlıdır ve en iyi yöntem ortaya çıkmasını önlemektir.

Anahtar Kelimeler: tardif diskinezi, trifluoperazin, antipsikotik, yan etki

ABSTRACT

Tardive dyskinesia (TD) is a disorder characterized by purposeless and involuntary movements affecting any part of the body. These movements typically occur in the oro-facial area and the patient is usually unaware of them. TD is rarely seen secondary to short-term and low-dose use of antipsychotics. Herein, we present a short-term and low-dose trifluoperazine-induced TD. The patient was a 38-years-old female patient who was being treated with trifluoperazine 1 mg/day with a diagnosis of generalized anxiety disorder. The symptoms of TD appeared three months after the introduction of trifluoperazine, decreased gradually and ceased at the six months of discontinuation. Data on TD treatment are limited, and the best management strategy remains prevention

Keywords: tardive dyskinesia, trifluoperazine, antipsychotic, side effect

INTRODUCTION

Tardive Dyskinesia (TD) is a hyperkinetic movement disorder that may occur during or shortly after discontinuation of antipsychotic (AP) medication. It is an iatrogenic condition that presents with involuntary movements of stereotypic, choreiform or athetoid, especially in the mouth, tongue and face. While any agent capable of dopamine receptor blockade can cause TD, it is more common in psychiatric disorders that require long-term use of antipsychotics such as schizophrenia and schizoaffective disorder. However, TD is rarely seen secondary to short-term and low-dose use of such APs (1). Herein, we present a short-term and low-dose trifluoperazine-induced TD.

CASE

A, 38-years-old married female patient had been followed at a psychiatry outpatient with a diagnosis of generalized anxiety disorder according to Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5) (2). She had been using

30 mg/day paroxetine and 5 mg/day diazepam for one year. Previously used drugs were escitalopram and sulpiride. On admission, there was no sleep problem, but her severe irritability symptom was not controlled with this treatment. We decided to manage the patient with adding trifluoperazine. Three months after starting 1 mg/day of trifluoperazine, the patient came to our clinic complaining of involuntary oro-facial and lingual movements. The patient's TD symptoms disappeared with sleep. No additional extrapyramidal findings were detected. The patient's thyroid, kidney and liver function tests were within normal limits. The fasting blood glucose, protein level and lipid profile were within normal limits. Chest X-ray, electrocardiogram, computed tomography, and magnetic resonance imaging gave normal results. Electroencephalography was unremarkable. The relatives of patient stated that there was no change in dietary and fluid intake in recent days. The patient had no drug use other than paroxetine, diazepam and trifluoperazine. She had no systemic disease such as hypertension or diabetes mellitus. No allergies

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Mehmet Hamdi Orum, MD, Kahta State Hospital 02100 Adiyaman/Turkey,

E-Posta/E-Mail: mhorum@hotmail.com || Tel: +90 416 216 10 15/1186

Received/Geliş Tarihi: 4 Feb 2020 || **Accepted/Kabul Tarihi:** 9 Mar 2020

Bu Eser Creative Commons Atıf-GayriTicari 4.0 Uluslararası Lisansı İle Lisanslanmıştır. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).



to drugs, foods and pollens were reported. Past history of patient was unremarkable. There was no any antipsychotic sensitive neuropsychiatric disorder or movement disorder in the family history. TD was attributed to trifluoperazine. Trifluoperazine was stopped and other medications were continued. TD decreased gradually and ceased at the six months of discontinuation. The patient and his relatives were warned about TD due to trifluoperazine use and written informed consent was received from the patient to publish her data. Naranjo Adverse Drug Reaction Probability Scale (NADRPS) score of the patient was 5 (3).

DISCUSSION

This case report was evaluated as a case of TD due to trifluoperazine. Because there was a temporal relationship between them, the side effect began with the addition of the drug and completely cured after discontinuation of the drug. The NADRPS score indicates a probable association between drug use and side effect (3).

The term tardive emphasizes the later development of abnormal movements following chronic neuroleptic treatment. Schooler-Kane research criteria are frequently used in the diagnosis of TD. According to these criteria, dopamine blocking agent should be used for at least three months in order to evaluate the present movement disorder as TD. For patients over 60 years, the duration of drug use is one month. Movement disorder should last for at least one month after oral treatment is discontinued and eight weeks for depot injection. However, clinical experience supports the rare but real potential of shorter exposures to cause TD, questioning the applicability of these criteria in everyday practice (1, 4).

Age is the most consistent risk factor for TD. When TD ratios were grouped by age, increased risk was found in women over 51 years of age. However, there are also documents in the literature showing that there is no relationship between gender and TD incidence (5). Extrapiramidal symptoms as a result of long-term use of antipsychotics, anticholinergic, use of antiparkinsonian agents, organic brain damage, mental retardation, negative symptoms of schizophrenia, mood disorders, smoking, alcohol and substance use, diabetes mellitus, malnutrition and vitamin deficiencies are other important risk factors (1, 6). As with other movement disorders, the involuntary movements in TD worsen with emotional stress, diminish with sedation, and disappear with sleep. TD was differentiated from perioral tremor (Rabbit syndrome) with the help of no persistence in sleep (7).

Typical antipsychotic drugs include chlorpromazine, flufenazine, trifluoperazine, flupentixol, zuclopenthixol, haloperidol, pimozide, atypical antipsychotic drugs clozapine, quetiapine, sulpiride, amisulpride, ziprasidone, olanzapine, and risperidone (8). Cases of TD induced by low-dose trifluoperazine are not common in the literature. Chouinard et al. (9) reported a case of TD that occurred after 4 months of trifluoperazine at a dose of 6 mg/day. In our study, a case of TD using a lower dose of trifluoperazine for a shorter period is presented. Typical antipsychotics have been associated with higher risk of TD development than atypical agents. These rates are explained by the fact that atypical antipsychotics show low affinity for dopamine (D2) receptors in the dorsal striatum and have antagonistic effects on serotonin (5-HT_{2A/2C}) receptors (10). Many theories have been proposed in TD mechanism. Different mechanisms other than dopamine blockade have been emphasized and these mechanisms have been thought to directly or indirectly affect the nigrostriatal pathway. Hypersensitivity of the dopamine receptor system in the nigrostriatal pathway, disruption of dopaminergic and cholinergic systems, dysfunction of striatonigral GABAergic neurons and excitotoxicity are emphasized (11).

Since there is no gold standard in the treatment of TD, it is important to prevent the development of TD by taking preventive measures and identifying the initial symptoms. Patients and caregivers should be informed about abnormal movements. In patients who developed TD during the use of anticholinergic agents, the first change in treatment should be the discontinuation of the anticholinergic drug. Anticholinergics are known to cause deterioration of TD symptoms despite improvement in movement disorders such as acute dystonia. Anticholinergic agent should be discontinued if used primarily in the treatment of TD. Antipsychotic needs should be evaluated and medications that may exacerbate symptoms should be discontinued. Benzodiazepines have a positive effect on symptoms of tardive dyskinesia, tardive dystonia and tardive myoclonus by increasing GABA in the nigrostriatal region (11). In our patient, the patient had side effects while using a benzodiazepine drug and an anticholinergic drug. Discontinuation of the accused drug and continuation of benzodiazepine were thought to contribute to the clinical improvement. In addition, this study shows that TD can be reversible in the early period when the guilty agent is discontinued.

As a result, TD is an iatrogenic, hyperkinetic movement disorder especially caused by the use of antipsychotics. It is a difficult and lasting condition that may cause problems in treatment compliance, adversely affect the quality of life of the patient. Physicians prescribing quetiapine need to be aware of the risk of TD and should adequately counsel patients or consider alternative agents when supportive evidence exists, particularly with respect to its off-label use.

The author declares no conflict of interest.

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek: yoktur / Funding : none






doi: <https://doi.org/10.33713/egetbd.583869>

REFERENCES

1. Demirkol ME, Şenbayram Ş, Doğangüneş G, et al. Tardif diskinezi ve tedavi yaklaşımları. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar-Current Approaches in Psychiatry*. 2018; 10(2):249-264.
2. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 5th ed.; Author: Washington, DC, 2013.
3. Kose S, Akin E, Cetin M. Adverse drug reactions and causality: The Turkish version of Naranjo Adverse Drug Reactions Probability Scale. *Psychiatry Clin Psychopharmacol*. 2017; 27:205-206.
4. Schooler NR, Kane JM. Research diagnoses for tardive dyskinesia. *Arch Gen Psychiatry*. 1982; 39:486-487.
5. Nalbant A, Can A, Burhan HS, et al. Tardive dyskinesia in long term hospitalized patients with schizophrenia. *Dusunen Adam*. 2016; 29:259-265.
6. Tarsy D, Baldessarini RJ. Epidemiology of tardive dyskinesia: is risk declining with modern antipsychotics? *Mov Disord*. 2006; 21:589-598.
7. Schwartz M, Hocherman S. Antipsychotic-induced rabbit syndrome: epidemiology, management and pathophysiology. *CNS Drugs*. 2004;18(4):213-220.
8. Meltzer HY. Update on typical and atypical antipsychotic drugs. *Annu Rev Med*. 2013; 64:393-406.
9. Chouinard G, Boisvert D, Bradwejn J. Tardive dyskinesia in a nonpsychiatric patient due to short-term use of a neuroleptic/anticholinergic combination drug. *Can Med Assoc J*. 1982; 126(7):821-822, 827.
10. Csernansky JG, Grabowski K, Cervantes J, et al. Fluphenazine decanoate and tardive dyskinesia: a possible association. *Am J Psychiatry*. 1981; 138:1362-1365.
11. Limandri BJ. Tardive dyskinesia: New treatments available. *J Psychosoc Nurs Ment Health Serv*. 2019; 57(5):11-14

A Case Of High-Grade Myxofibrosarcoma With Rare Axillary Localization

Aksiller Lokalizasyonu Olan Nadir Yüksek Dereceli Miksofibrosarkom Olgusu

Yeliz Yılmaz Bozok¹ , Murat Kemal Atahan¹ , Furkan Tosun¹ , Sultan Deniz Altındağ⁴ , Aslı Kahraman Akkalp⁵ 

1 Genel Cerrahi Kliniği, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir/Türkiye

2 Patoloji Kliniği, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir/Türkiye

ÖZET

Özet

Miksofibrosarkom nadir görülen yumuşak bir doku sarkomudur. Çoğunlukla ekstremitelerde lokalizedir. Kesin tanı histopatolojik inceleme ile yapılırsa da, görüntüleme yöntemleri derecelendirme ve tedavi planlamasında önemli rol oynamaktadır. Aksiller bölge nadiren dahil olabirse de literatürde bildirilmiş bir vaka yoktur. Tümörün bol miktarda nörovasküler bir yapıya sahip olması göz önüne alındığında, tümörün geniş cerrahi sınırlarla eksize edilmesi zordur. Olgumuz literatürde aksiller lokalizasyonu olan ilk olgu olduğu için dikkat çekicidir. Geniş sınırlı cerrahi eksizyon tedavinin en önemli basamağıdır. R0 rezeksiyonu sağkalm üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Sonuç olarak, aksiller MFS'de kemoterapinin ardından geniş cerrahi eksizyonun lokal nüksü azaltmada olumlu bir katkısı olacağını düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: miksofibrosarkom, aksilla, malign

ABSTRACT

Myxofibrosarcoma is a rare soft tissue sarcoma. It is mostly localized at extremities. Although definitive diagnosis is made by histopathological examination, imaging modalities play an important role in grading and treatment planning. Although axillary region can be involved rarely, there is no reported case in the literature. Given that tumor has an abundant neurovascular structure, it is challenging to excise tumor with wide surgical margins. Our case is striking as it is the first case with axillary localization in the literature. The surgical excision with wide margin is the most important step of the treatment. The R0 resection has an important impact on survival. In conclusion, in axillary MFS, wide surgical excision followed by chemotherapy will have positive contribution in reducing local recurrence.

Keywords: myxofibrosarcoma, axilla, malignant

INTRODUCTION

Myxofibrosarcoma (MFS), previously known as myxoid malignant fibrous histiocytoma, was first described as a variant of fibrosarcoma that exhibits variable myxoid stroma, pleomorphism and wide, tortuous vascular pattern in 1977 (1). It is generally seen in elderly individuals (sixth-to-eighth decades). It is mostly localized at extremities, dermis and profound skeletal muscle, as lower extremity being most common localization (2). Retroperitoneal area and abdomen are rare sites of involvement. In the literature, there is no case report describing axillary localization as in our case. The MFSs with profound localization are larger, less nodular and more infiltrative when compared to those with superficial localization. Time to symptom onset varies from 2 weeks to 15 years (3). The

tumor has predominant myxoid structure (>50%) and low level of cellularity in histological manner. It harbors many nodular contours. Elongated, curvilinear and thin vascular structures are the characteristic of tumor. Tumor cells generally localized along with these vascular structures and are embedded into fusiform, stellate and myxoid matrix (4). Matrix mainly consists of hyaluronic acid (4). In immunohistochemical studies, tumor shows diffuse positive staining for vimentin and focal staining patterns with muscle-specific and smooth muscle actin. Tumor cells are negative for CD68, Mac-387, factor XIIIa and desmin. Tumor cells are positively stained for both epithelial growth factor and its receptor in most instances. Tumor cells have nuclei with intensive chromatin at periphery and occasional cleavage. Golgi apparatus is well-developed in the

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Yeliz Yılmaz Bozok, MD, mir Katip Çelebi Üniversitesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, Basın Sitesi 35360 İzmir/Türkiye

E-Posta/E-Mail: dryelizyilmaz@yahoo.com || Tel: +90 5325922370

Received/Geliş Tarihi: 11 Dec 2019 || Accepted/Kabul Tarihi: 5 Jan 2020

Bu Eser Creative Commons Atıf-Gayriticari 4.0 Uluslararası Lisansı İle Lisanslanmıştır. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).



cytoplasm. In addition, numerous mitochondria and rough endoplasmic reticulum are present in the cytoplasm (2).

The MFSs are classified into 4 grades based on cellular structure, atypia, mitotic activity and myxoid content. The prognosis is better in low-grade MFS and those localized at subcutis while risk for metastasis is high in those with necrosis and those larger than >5 cm (5). Again, metastatic risk is higher in high-grade MFS and those with profound localization (6). The treatment options include wide local excision, chemotherapy and radiotherapy for MFSs (7). Recurrence rate has been reported as 16-54% after surgical resection. The recurrent tumors generally have higher grade than primary tumor and can be metastatic. The correlation between positive surgical margin and survival was attributed to infiltrative growth pattern, frequently seen in MFS, and high local recurrence rate. In previous studies, it was reported that R0 resection followed by radiotherapy decreased recurrence rate. The effects of adjuvant radiotherapy on survival are still controversial (8).

Myxoma, myxoid liposarcoma and fibromyxoid sarcoma should be considered in the differential diagnosis. The myxoma is hypo-vascular and has no curvilinear vessels. It is distinguished from MFS by less cellular atypia. Myxoidliposarcoma contains lipoblasts and has no perivascular tumoral cell condensation. Fibromyxoid sarcoma has more abundant cellular atypia and fibrous stroma with higher frequency of metastasis (9). When compared to other subtypes of sarcoma, myxofibrosarcoma has relatively better prognosis (9).

We aimed to present a case with high-grade myxofibrosarcoma and atypical localization of axillary region and our treatment approach.

CASE

A 44-years old man presented with an enlarging, painless mass at left axillary region. In the physical examination, a palpable mass (4 x 4 cm in size) was detected (Figure 1). On the magnetic resonance imaging of left axillary region, a mass lesion with dense contrast enhancement (50 x 33 x 48 mm in size) was observed with surrounding edema and inflammation (Figure 2). Based on radiological findings, the lesion was preferentially considered as conglomerated lymphadenopathy and soft tissue tumor. On positron emission tomography (PET) CT scan, there was a hyper-

metabolic lesion (44 mm in size) occupying level 2 and 3 at left axillary region.

Figure 1. Palpable mass in the axillary region (4 x 4 cm in size)



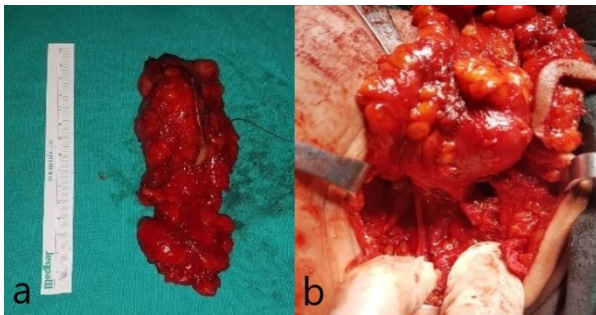
Figure 2. On the magnetic resonance imaging of left axillary region, a mass lesion with dense contrast enhancement (50 x 33 x 48 mm in size)



There was no finding suggestive of distant metastasis. A Tru-cut biopsy was performed. On microscopic examination, it was seen that it was a spindle-like cell malignant mesenchymal tumor rich for myxoid stroma. In immunohistochemical examination, it was found that tumor cells were stained positive with vimentin, smooth muscle actin while negative with desmin, S100, oscar-

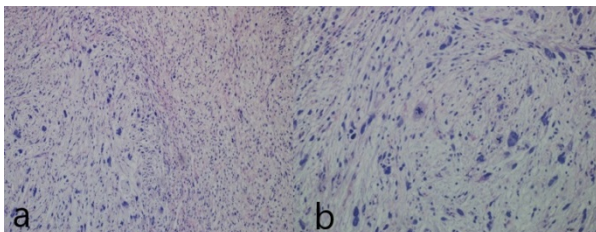
cytokeratin, MDM-2 and CD31. The lesion was classified as high-grade myxofibrosarcoma based on immunohistochemical study and undifferentiated histological pattern. The mass was excised surgically. Since the mass lesion was adhered to axillary vein, it was dissected over vein and axillary dissection specimen (12.5x6x5 cm) was removed. During dissection, attention was given to preserve thoracicus longus and thoracodorsal nerves (Figure 3a-b).

Figure 3. Axillary dissection and specimen



Frozen section procedure was performed on the specimen and examined under gross inspection. The pathologist observed a positive superior surgical margin; thus, re-excision was performed. On gross examination of the re-excision specimen, two nodular tumoral masses next to each other (as largest being 4.5 cm and smallest being 3.5 cm) were observed in the axillary adipose tissue. On microscopic examination, tumor was myxoid and spindle cell morphology, highly cellular with pleomorphic cells (Figure 4a). Curvilinear vessels were observed along with tumor cells. There were numerous typical and atypical mitoses (Figure 4b).

Figure 4. a) Spindle and pleomorphic tumor cells over myxoid base (HEx100) b) Atypical mitotic figures in tumor (HEx200)



Based on FNCLCC grading, histological differentiation was rated as 3 while mitotic count as 3 (25/10 in high power field), necrosis presence as 1 (<50%, focal), estimating grade 3 tumor.

In immunohistochemical study, tumor cells showed focal positivity with CD163 and Cd34 while they were negative for smooth muscle actin, desmin, caldesmon, oscar-cytokeratin and s100. Together with these findings, the case was considered as high-grade myxofibrosarcoma-grade 3. Although superior surgical margin was benign, tumor was observed to be adjacent to surgical margins in samples from non-adipose areas of outer aspect of the tumor

DISCUSSION

The myxofibrosarcoma is one of the rare soft tissue sarcomas, which is generally seen in elderly men. It accounts for 5% of all soft tissue sarcomas. It is mainly seen at sixth or seventh decades of life. It has been reported that tumor is commonly found at subcutaneous or deeper tissues of extremities (77%), trunk (12%), retroperitoneal area or mediastinum (8%) and in other regions in rare cases (2).

In our case, a palpable mass lesion was present at left axillary region of a 44-years old man. The mass was adhered to axillary vein and excised over vein with meticulous dissection. The neurovascular structures were preserved during excision.

In MFS, the diagnosis is made by histopathological examination and tumors are classified as low-, intermediate- and high-grade (2). Low-grade tumors are characterized by cells with hyper-chromatic and pleomorphic nuclei and underlying large myxoid areas. The intermediate tumors are more cellular with nuclear atypia. Finally, high-grade tumors have abundant mitotic figures, areas of hemorrhage and necrosis and hyper-cellular regions. In previous studies, no relationship was found between tumor grade and local or distant metastasis; however, it has been proposed that tumor grade is an important predictor of recurrence (2). In a study by Sanfiippo et al., it was suggested that tumor size, tumor grade and surgical margin status were significant predictors of survival although no relationship was found between tumor grade and clinical course.

In myxoid, spindle cell tumors; the differential diagnosis includes many benign and malignant mesenchymal tumors. Our case was distinguished from benign lesion by cellularity, hyper-chromatic/pleomorphic tumor cells and atypical mitotic figures. Myxoid liposarcoma has less

atypical cells and lipoblasts, thin plexiform vascularity and tumor cells are not condensed at perivascular area (10). In addition, our patient had no MDM2 gene amplification. Low-grade fibrosarcoma consists of uniform fibroblastic cells with less frequent atypia and has swirl-like growth pattern with occasional collagen rosette but there is no curvilinear vascularity (11). After surgery, the mass excised was considered as high-grade myxofibrosarcoma-grade 3 according to FNCLCC classification. The tumor included 2 nodules (4.5 and 3.5 cm in size) and occasional necrotic areas. Mitotic count was 25>10 HPF. In microscopic examination, it was seen that tumor was adjacent to surgical margins despite benign superior surgical margin.

Although there are no guidelines describing optimal surgical margins in MFS, it seems reasonable to aim 1-to-2 cm negative margin whenever possible in anatomic manner. Positive surgical margin is defined as presence of tumor at stained aspect or 1 mm inner of stained margin as described by Lin et al (9, 12). Thus, it is important to adopt aggressive surgical approach to achieve local control and improve survival by ensuring wide negative margins in MFS (2). There is a significant difference in recurrence rate between R0 resection and positive surgical margin (18% vs. 71%), emphasizing to achieve widest resection whenever possible.

We excised tumor totally despite axillary localization which is challenging for resection. In histopathological examination, tumor was considered to be adjacent to surgical margin. Adjuvant chemoradiotherapy was planned in the MFS case due to negative surgical margin less than 1 mm in microscopic examination.

CONCLUSION

The MFSs, comprising minority of soft tissue sarcomas, are generally localized at extremities. Although axillary localization can be seen in rare instances, there is no reported case with axillary involvement in the literature. The presence of abundant neurovascular structures makes resection challenging in MFS. In conclusion, in axillary MFS, wide surgical excision followed by chemotherapy will have positive contribution in reducing local recurrence.

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.
The author declares no conflict of interest.

Finansal Destek: yoktur / Funding : none

doi: <https://doi.org/10.33713/aegetbd.655419>

REFERENCES

1. Angervall L, Kindblom LG, Merck C. Myxofibrosarcoma: A study of 30 cases. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1977;85A:127-140.
2. Look Hong NJ, Hornicek FJ, Raskin KA, Yoon SS, Szymonifka J, Yeap B, et al. Prognostic factors and outcomes of patients with myxofibrosarcoma. *Ann Surg Oncol* 2013;20:80-86.
3. Mentzel E, van den Berg E, Molenaar AA. Myxofibrosarcoma. In: Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F, ed. *Yumuşak Doku ve Kemik Tümörlerinin Patolojisi ve Genetiği* Lyon, Fransa: IARC Press; 2002: 102-103.
4. Weiss SW, Goldblum JR. Fibrosarkom. In: Weiss S, Goldblum JR, ed. *Enzinger ve Weiss'in Yumuşak Doku Tümörleri*. 4. baskı St Louis, Mo: MosbyInc; 2001: 422-425.
5. Huang HY, Lal P, Qin J, Brennan MF, Antonescu CR. Low-grade myxofibrosarcoma: a clinicopathologic analysis of 49 cases treated at a single institution with simultaneous assessment of the efficacy of 3-tier and 4-tier grading systems. *Human pathology* 2004;35:612-621.
6. Haglund KE, Raut CP, Nascimento AF, Wang Q, George S, Baldini EH. Recurrence patterns and survival for patients with intermediate- and high-grade myxofibrosarcoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012;82:361-367.
7. Mutter RW, Singer S, Zhang Z, Brennan MF, Alektiar KM. The enigma of myxofibrosarcoma of the extremity. *Cancer* 2012;118:518-527.
8. Gronchi A, Lo Vullo S, Colombo C, Collini P, Stacchiotti S, Mariani L, et al. Extremity soft tissue sarcoma in a series of patients treated at a single institution: local control directly impacts survival. *Ann Surg* 2010;251:506-511.
9. Lin CN, Chou SC, Li CF, Tsai KB, Chen WC, Hsiung CY, et al. Prognostic factors of myxofibrosarcomas: implications of margin status, tumor necrosis, and mitotic rate on survival. *J Surg Oncol* 2006;93:294-303.
10. Fletcher CD, Bridge JA, Hogendoorn PC, et al. WHO classification of tumours of softtissueand bone. 4th edition. Lyon (France): IARC Press; 2013:39-40.
11. Evans HL. Low-grade fibromyxoidsarcoma: a report of 12 cases. *Am J Surg Pathol* 1993;17:595-600.
12. Sanfilippo R, Miceli R, Grosso F, Fiore M, Puma E, Pennacchioli E, et al. Myxofibrosarcoma: prognostic factors and survival in a series of patients treated at a single institution. *Ann Surg Oncol* 2011;18: 720-725.

Servikal diskopatili bir olguda gelişen nöropatik ağrının akupunktur tedavisine dramatik yanıtı: Olgu sunumu

Dramatic response to acupuncture treatment of neuropathic pain in a case with cervical discopathy: Case report

Ahmet Karakoyun¹ , Gamze Yanartaş² 

1 Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon ABD, Aksaray Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aksaray/Türkiye

2 Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği, KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Medicana Hastanesi, Konya/Türkiye

ÖZET

Boyun ağrılarının en sık nedenlerinden biri olan servikal disk hernisi, sıklıkla boyun ağrısı ile birlikte kola yayılan ağrı, parestezi, duyu, motor ve refleks değişiklikleriyle seyreden radikülopatiye neden olur. Bu çalışmamızda 35 yaşında servikal diskopatili olan, çeşitli tedavilere rağmen ağrısı geçmeyen ve cerrahi düşünülen erkek bir olguyu sunduk. Akupunktur uygulaması sonucunda hastamızın ağrılarının tama yakın düzeldiğini tespit ettik. Geçmişinde oldukça eskilere uzanan akupunkturun günümüz modern tıbbında kullanımı ve saygınlığı giderek artmaktadır. Son 50 yılda dünyada pek çok ülkede, akupunktur teknikleri, alerjik hastalıklar, migren, diskojenik ağrılar ve diğer kas iskelet sistemi hastalıkları gibi çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Akupunktur tedavisi bu yüzden boyun ve bel ağrısı gibi durumlarda ağrıyı önlemede etkili metotlardan birisidir ve gereksiz cerrahi azaltabilir.

Anahtar Kelimeler: : akupunktur, nöropatik ağrı, servikal diskopati

ABSTRACT

Cervical disc herniation, which is one of the most common causes of neck pain, often causes radiculopathy that spreads to the arm with neck pain and presents with pain, paresis, sensation, motor and reflex changes. In this study, we present a 35-year-old male patient with cervical discopathy who did not recover from pain despite various treatments. As a result of acupuncture application, we found that the pain of our patient was almost completely resolved. The use and respectability of acupuncture in modern medicine is gradually increasing. In the last 50 years, acupuncture techniques have been widely used in many countries around the world in various fields such as allergic diseases, migraine, discogenic pain and other musculoskeletal diseases. Acupuncture treatment is therefore one of the effective methods of preventing pain in conditions such as neck and low back pain and may reduce unnecessary surgery.

Keywords: acupuncture, neuropathic pain, cervical discopathy

GİRİŞ

Boyun ağrısı, kas iskelet sistemi ağrıları içinde bel ağrılarında sonra en sık karşılaşılan problemlerden birisidir. Yaş, meslek, sedanter hayat tarzı, psikolojik bozukluklar, yatarak televizyon seyretme ve yastık şekli gibi alışkanlıklar boyun ağrısıyla ilişkili faktörlerdir (1).

Servikal diskopati, dejenere diskin servikal spinal sinir kökünü sıkıştırması sonucu ortaya çıkan bir durum olup daha çok 30-40 yaşlarında görülür (1). Çoklu anüler yırtıkların içine nükleus pulposus girerek diskte çepeçevre bir taşma olur ki buna anüler bulging denir. Lokalize disk bulging durumuna protrüzyon, anulus fibrozusun tamamen yırtılıp kanalis vertebralis içine çıkmasına ekstrüzyon ve

fıtıklaşan materyalin koparak epidural alanda serbest kalmasına sekestre disk veya serbest fragman denir (2,3).

Servikal diskopati sıklıkla boyun ağrısı ile birlikte kola yayılan ağrı, parestezi, duyu, motor ve refleks değişiklikleriyle seyreden radikülopati durumuna neden olur. Manyetik rezonans görüntüleme, noninvaziv ve sensitif bir yöntem olarak servikal disk hernisini tanımlamak için sık olarak kullanılmaktadır (2,3).

Servikal diskopati tedavisinde en sık yapılan tedavi şekli medikal tedavidir (NSAI, kas gevşeticiler vb.). Ancak bu ajanların uzun süre kullanılması gastrointestinal şikayetler, miyokard ve serebrovasküler iskemi riskini artırması nedeniyle fazla önerilmemektedir. Medikal tedaviler dışında egzersiz, fizik tedavi, alternatif tıp tedavileri ve cerrahi

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Ahmet Karakoyun, MD, Aksaray Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon ABD, 68100, Aksaray/Türkiye

E-Posta/E-Mail: furkankk42@hotmail.com || Tel: +90 530 656 65 50

Received/Geliş Tarihi: 25 Nov 2019 || Accepted/Kabul Tarihi: 11 Mar 2020

Bu Eser Creative Commons Atıf-Gayriticari 4.0 Uluslararası Lisansı İle Lisanslanmıştır. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).



yöntemler yapılan diğer tedaviler arasındadır. Disk cerrahisinin yüksek maliyeti ve riski, konservatif tedavi yöntemlerinin önemini günümüzde daha belirgin bir hale getirmiştir (2,3,4). Bu sebeple son zamanlarda alternatif tedavilere ihtiyaç artmıştır. Akupunktur bu uygulamaların en sık bilinenlerindedir. Kronik kas-iskelet sistemi ağrılarında, impingement sendromu, akut lomber strain, kronik boyun ağrısı gibi birçok kas-iskelet sistemi problemlerinde etkili olduğu gösterilmiştir (5). Bu çalışmamızda uzun süreden beri servikal diskopatisi olan ve şikayetleri geçmediği için cerrahi tedavisi düşünülen ve akupunktur tedavisine dramatik bir şekilde yanıt veren bir erkek olgu sunduk.

OLGU

Otu beş yaşında erkek hasta boyun, omuz ve kol ağrısı şikayetiyle polikliniğimize başvurdu. Anamnezinde daha önceleri çeşitli bölümlerde muayene olduğunu ve servikal diskopati tanısı konduğunu, çeşitli tedaviler gördüğünü belirtti. Hasta şikayetinin son üç ay içinde artarak devam ettiğini, kollarında ve ellerinde aralıklı olarak uyuşma ve his kaybının olduğunu ancak sabah tutukluğu ve güç kaybının olmadığını söyledi. Ağrı nedeni ile geceleri uyku düzeni ve kalitesinin bozulduğunu ifade ediyordu.

Fizik muayenesinde servikal eklemden sağa rotasyon, sola rotasyon ve fleksiyon hareketi son derece ağrılı, servikal paravertebral adale spazmı bilateral mevcuttu. Kompresyon-distraksiyon testi (+), spurling testi (+) idi. Nörolojik muayenesinde C5-6 dermatomunda hipoestezi, derin tendon refleksi doğal olarak gözlemlendi. Her iki üst ekstremitede motor güç kaybı ve patolojik refleks yoktu. Ağrısı VAS (0-10)'a göre 9, LANSS (Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs Pain Scale)'a göre ise 14/24 olarak değerlendirildi.

Tedavi Öncesi Servikal MRI bulgusu şu şekildedir:

C4-5 intervertebral diskinde posterior taşma mevcuttur. Duraya indentasyon vardır. Disk sinyal intensitesi azalmıştır. Sol nöral foramen daralmıştır. Kökler serbesttir. C5-6 intervertebral diskinde disko-osteofit kompleksine bağlı posterior taşma mevcuttur. Dura basıdır. Disk sinyal intensitesi azalmıştır. Anüler fissürün eşlik ettiği küçük santral protrüzyon mevcuttur. Spinal kanal bu düzeyde daralmıştır. C6-7 santral protrüzyon mevcuttur. Her iki nöral

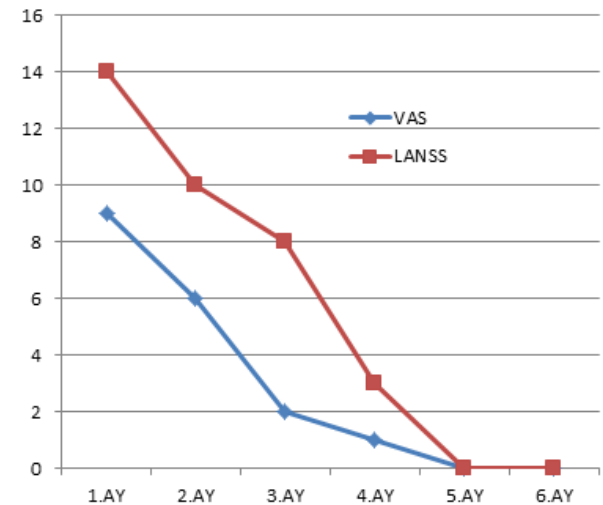
foramenlerde kökler serbesttir. Spinal kanal bu düzeyde belirgin daralmıştır.

Olgumuza daha önceden çeşitli medikal tedaviler ve egzersiz programları uygulanmasına rağmen ağrı durumunda düzelme olmadığı için akupunktur tedavisi uygulandı.

Tedavide haftada bir seans olmak üzere kulak ve vücut akupunkturunu uygulandı. Tedaviye üç ay süreyle her seansta 20 dakika olmak üzere haftada bir kez, daha sonra iki haftada bir kez olmak üzere altı ay devam edildi. Tedavi sırasında boyunda Tian Zhu (BL-10), He Gu (LI-4), Nao Kong (GB-20), Shao Ze (SI-3); omuzda Tian Liao (SJ-15), Bing Feng (SI-12); sırtta Feng Men (BL-12), BL-13, Jue Yin Shu (BL-14) ve kulakta: Anti depresyon noktası (non dominant kulak), ganglion servikale inferior ve ganglion stellatum, analjezi noktası (dominant taraf - altın iğne), valium-diazem noktası, Acth noktası, voltarennoktası (PGE1) noktalarına uygulama yapıldı. Kulakta Nogier yöntemi tercih edilmiştir.

Vücut için 0,25x25 mm-çelik ve 0,20x13 mm gümüş, servikal alanda 0,20x13 mm çelik ve kulakta 0,16x7 mm çelik ile 0,20x13 mm altın iğneler uygulandı. Kulak için özel kulak iğneleri uygulandı. Egzersiz ve günlük yaşam aktiviteleri anlatıldı. Altı ay sonra hastanın fizik muayenesinde servikal hareket açıklığı tam ve ağrısızdı. VAS ve LANSS skoru 0 düzeyine gerilemişti (Şekil-1). Nörolojik muayenesi doğaldı. Uyku düzeni normale döndü. Akupunktur tedavisi sırasında herhangi bir yan etkiye rastlanmadı.

Şekil 1. Akupunktur seansına göre VAS ve LANSS skorlarındaki değişim



Tedavi sonrası MRI bulguları şu şekildedir:

Vertebra korpus yükseklikleri, kortikomedüller sinyal intensiteleri tabiidir. C5-6 diskinde posterior santral bulging izlenmektedir.

C6-7 disk mesafesi daralmıştır. C6-7 diskinde diffüz bulging izlenmektedir. Tüm seviyelerde nöral foramenler ve foraminal sinirler tabiidir.

TARTIŞMA

Nöropatik ağrı periferik nosiseptörlerin uyarımı olmaksızın santral veya periferik sinir sisteminin yapısal lezyonları ve fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak gelişmektedir. Nöropatik ağrı daha çok serebral veya spinal kord lezyonları sebebiyle oluşabilir (6).

Akupunkturun analjezik etkisi hayvan deneyleri ile gösterilmiştir. Kasları innerve eden sinirlerin uyarılması, spinal kord, orta beyin ve hipotalamo-hipofizer aksı uyararak endorfin ve enkefalin gibi nörotransmitterlerin salınımına neden olmaktadır (7). Dinorfin ve enkefalin salınımını artırarak spinal korda ağrı impuls girişini bloke eder. Orta beyinde monoamin-serotonin ve norepinefrin sinerjisi yoluyla spinal korda taşınan ağrı impulsunu inhibe eder. Pitüiter bezden beta endorfin salınımını artırıp serebrospinal sıvının kimyasına etki ederek hipotalamusta analjezi sağlar. Otonom sinir sistemi üzerindeki komplike etkileri de buna katkı sağlar (8). Bizim olgumuzda da akupunkturun etkisi benzer mekanizmalar ile endorfin salınımını artırıp, proinflatuvar sitokinleri azaltması ile açıklanabilir.

Acil cerrahi endikasyonlar dışında, disk hernilerinin tedavisinde konservatif metotların uygulanması olağandır. Alışlagelmiş klasik fizik tedavi modalitelerinin yanısıra, geleneksel Çin tıbbında önemli bir yeri olan akupunktur tedavisi, bu modalitelere ek olarak ya da bağımsız şekilde uygulanabilir (9).

Servikal diskopatide akupunktur uygulaması güvenilir ve etkin bir tedavi yöntemidir. Akupunktur uygulamasıyla ilgili çeşitli tedavi metotlarını karşılaştıran iyi planlanmış kontrollü çalışma sayısı çok azdır. Son yıllarda akupunkturun çeşitli hastalıklarda ağrı üzerine etkisi ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Han ve ark. 2019 yılında yaptıkları bir çalışmada servikal diskopatili hastalarda akupunktur uygulanan hastalarda uygulanmayanlara göre ağrının azaldığını ve cerrahi gitme oranının önemli

derecede düştüğünü tespit etmişlerdir (10). İki bin on sekiz yılında yapılan başka bir çalışmada lomber diskopatili hastalarda akupunkturun servikal diskopatili hastalarda olduğu gibi ağrıyı önlediği ve cerrahi gitme oranını azalttığı tespit edilmiştir (11). 2011 yılında Demirdağ ve ark. kronik lomber diskopatili hastaların tedavisinde akupunktur ve TENS tedavisini karşılaştırdıkları çalışmada ikisi arasında bir fark olmadığı, akupunktur uygulamasının ağrıyı azalttığı, dizabilite ve fonksiyonel durum üzerinde pozitif bir etki yaptığı tespit edilmiştir (12). Bizim çalışmamızda bulduğumuz sonuç daha önceki yapılan çalışmalarla uyumlu olup, tedavi sonrasında hastanın ağrı seviyesinde çok belirgin bir azalma saptanmış ve radyolojik olarak da regresyon görülmüştür.

Sonuç olarak; akupunktur, servikal diskopatili olgularda görülen ağrı üzerine etkili ve güvenli bir tamamlayıcı tıp metodudur. Aynı zamanda gereksiz cerrahi müdahaleyi de azaltmaktadır. Bu yüzden fizik tedavi modaliteleri ile kombine veya tek başına kullanılabilen akupunkturun bu alanda yararlı bir uygulama olduğu kanısına varılmıştır. Bununla ilgili çok kapsamlı ve daha fazla sayıda prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

The author declares no conflict of interest.

Finansal Destek: yoktur / Funding : none

doi: <https://doi.org/10.33713/egethd.650935>

KAYNAKLAR

1. Carrol LJ, Hogg Johnson S, Van der Velde G, et al. Course and prognostic factors for neck pain in the general population. Result of the Bon and Joint decade 2000-2010 Taskforce on Neck Pain and Its Associated Disorders. *J Manipulative Physiol Ther* 2009;32:87-96
2. Şahin N, Karahan AY, Albayrak İ. Effectiveness of physical therapy and exercise on pain and functional status in patients with chronic low back pain: a randomized-controlled trial. *Turk J Phys Med Rehabil*. 2018 Mar; 64(1): 52-58.
3. Şahin N, Albayrak İ, Karahan AY, Uğurlu H. Kronik bel ağrılı hastalarda fizik tedavinin etkinliği. *Genel Tıp Derg* 2011;21(1):17-20.
4. Kızıl R. Servikal disk hernileri. *Türkiye Klinikleri Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon-Özel Konular* 2009;2(3):35-43.
5. Vickers AJ, Cronin AM, Maschino AC, et al. Acupuncture for

chronic pain: individual patient data meta-analysis. ArchInternMed 2012;172:1444-53.

6. Bebek N., Ertaş M. Nöropatik ağrı. Ağrı. 2007; 19(3): 5-10.
7. Pan H, Xiao LW, Hu QF. Spontaneous regression of herniated cervical disc fragments and its clinical significance. Orthopaedic Surgery 2010;(2)1:77-79.
8. Gong CZ, Mega-Size Clinical Trials Prove Acupuncture's Effectiveness for Chronic Pain. International Journal of Clinical Acupuncture 2014;23(4):210 -215.
9. Saime A Y, Tur B S, Evcik D. Kas iskelet sistemi hastalıklarında sık uygulanan geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamaları. Kocatepe Tıp Dergisi 2019;20(3):147-156.
10. Han DG, Koh W, Shin JS, et al. Cervical surgery rate in neck pain patients with and without acupuncture treatment: a retrospective cohort study. Acupunct Med 2019;37(5):268-276.
11. Koh W, Kang K, Lee YJ, et al. Impact of acupuncture treatment on the lumbar surgery rate for low back pain in Korea: a nationwide matched retrospective cohort study. PloS one, 2018;13(6). e0199042
12. Demirdağ, F., L. Ediz, A. Özgür, İ. Tekeoğlu. Kronik Lomber Disk Hernili Hastaların Tedavisinde Tens İle Elektroakupunktur Tedavisinin Karşılaştırılması. Van Tıp Dergisi 2011, 18(1):15-19.

A case of stress fracture: What is the underlying cause?

Bir stres kırığı olgusu: Altta yatan neden nedir?

Yakup Erden¹ , Muhammed Şahin² 

1 Physical Medicine And Rehabilitation Department Abant İzzet Baysal University Physical Treatment Training and Research Hospital, Bolu/Turkey

2 Physical Medicine And Rehabilitation Department, Düzce Atatürk State Hospital, Düzce/Türkiye

ÖZET

Stres kırıklarına klinik pratikte sıkça rastlanılmaktadır. Stres kırıklarının birçok özelliği ortaktır, ancak altta yatan kemiğin durumuna bağlı farklılıklar vardır. Klinisyen stres kırığı tipine göre yaklaşımda bulunmalıdır. Bu makalede uzun süreli bifosfonat tedavisi ve tek doz denosumab alan, sekiz ay arayla bilateral atipik femoral kırığı gelişmiş 71 yaşında osteoporozlu bir kadın hastayı sunuyoruz. Doğru tanı koymak için klinik değerlendirmenin radyografik, dansitometrik ve biyokimyasal bulgularla birleştirilmesi gerekir.

Anahtar Kelimeler: stres fraktürü, atipik femur fraktürü, bifosfonat, denosumab

ABSTRACT

Stress fractures are encountered commonly in clinical practice. Many features of stress fractures are in common, but the differences depend on the condition of the underlying bone. The clinician should approach according to the type of stress fracture. We report a 71-year-old female patient with osteoporosis, who had been taking prolonged bisphosphonate therapy and a single dose denosumab, sustained bilateral atypical femoral fractures (AFF) eight months apart. Collating the clinical assessment with the radiographic, densitometric and biochemical findings is needed in making accurate diagnosis..

Keywords: stress fracture, atypical femoral fracture, bisphosphonate, denosumab

INTRODUCTION

Stress fractures are repetitive strain injuries. Many features of stress fractures are in common, but the differences depend on the condition of the underlying bone. There are two types, fatigue-type in normal bone and the insufficiency-type in abnormal bone. Here, we aimed to present an elderly female patient with osteoporosis, who had been taking prolonged bisphosphonate therapy and a single dose denosumab, sustained bilateral insufficiency-type stress fractures eight months apart..

CASE

A 71-year-old female patient with 8-year history of post-menopausal osteoporosis presented with right thigh pain and waddling gait. She took prolonged oral bisphosphonate therapy (alendronate for six years and then oral ibandronate for one year) without drug holiday. She had been admitted in September 2018 with a low-trauma femur fracture on the opposite (left) side, and recalled that she had complained of mild left thigh pain at the time (Figure 1). Bone mineral densitometry of the spine and bilateral hips was measured in January 2019. Because

the T score was -2.9 at the spine L1-L4 and -3.4 at the right hip, oral ibandronate therapy was stopped and subcutaneous injection of denosumab was started. Calcium and vitamin D supplementation continued.

Physical examination revealed a painful movements of lower extremities with intact neurovascular exam. Laboratory and radiological studies were performed. Her serum-corrected calcium, magnesium, phosphate, alkaline phosphatase levels are in normal ranges, but parathyroid hormone level was 364 pg/mL, 25-OH vitamin D 5,6 ng/mL. Radiographs revealed two focal thickenings of the lateral diaphyseal cortex on the right femur and a incomplet femoral shaft fracture with lateral cortical (periosteal and endosteal) hypertrophy and beaking on the left femur (Figure 2).

Initially, denosumab was stopped. The patient was consulted with orthopedic clinic for fracture and endocrinology clinic for elevated parathyroid hormone. Vitamin D supplementation was recommended by the endocrinologist. Parathormone tended to decrease and vitamin D to increase in control blood tests. After 3 months

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Yakup Erden, MD, İzzet Baysal Cad. İhlamur sok. No:7, 14020 Karacasu, Merkez, Bolu/Türkiye

E-Posta/E-Mail: yakuperden@hotmail.com || Tel: +90 374 262 84 45

Received/Geliş Tarihi: 26 Jan 2020 || Accepted/Kabul Tarihi: 10 Mar 2020

Bu Eser Creative Commons Atıf-Gayriticari 4.0 Uluslararası Lisansı İle Lisanslanmıştır. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).



of treatment, her parathormon level was 101 pg/mL, 25-OH vitamin D 47,7 ng/mL. The patient refused to have surgery. Limited activity with partial weight-bearing was recommended. The patient was informed about possible symptoms and followed up regularly. At the time of writing, she was awaiting endocrinologic assessment for teriparatide therapy.

Figure 1. Left femur. Focal lateral cortical thickening on the radiograph (A) and periosteal high signal on the T2-weighted MRI (B).

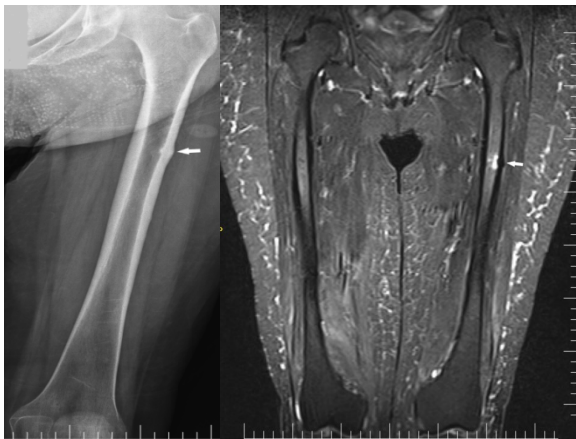
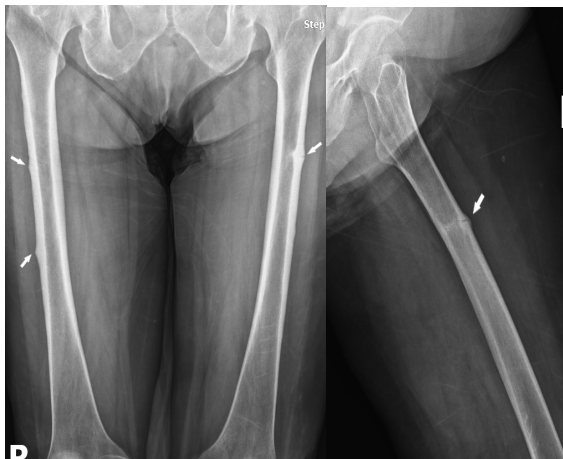


Figure 2. Radiographs showed 3 focal thickenings (A) of the lateral diaphyseal cortex, 1 of them with a visible crack (radiolucent line >1/2 of bone diameter) on the left femur (B).



DISCUSSION

Stress fractures are encountered commonly in clinical practice and lie along a spectrum. In some cases, it can be difficult to differentiate between them. The fatigue-type usually relates to activity level in young adults without bone disease. Insufficiency-type stress fracture might be of many different types; looser zones of osteomalacia, atypical femoral fractures (AFF) in osteoporosis, Paget's disease of bone, rare disorders like hypophosphatasia. Stress

fractures appear on the convex surface of the shaft of long bones due to tensile stress in AFF and paget's disease, while on the concave surface due to compressive stress in osteoporosis and osteomalacia (1).

Looser zones of osteomalacia usually occur multiple, symmetric and on the medial side of the femur. Typically, they appear a broad band of lucency, parallel margins, marginal sclerosis, callus (if on treatment) and delayed healing (2). Continuously elevated parathyroid hormone has little impact on the trabecular bone and a decrease in the cortical bone. Thickening of the lateral cortex were not consistent with bone changes in hyperparathyroidism (3).

Atypical femoral fractures are located along the femoral diaphysis from lesser trochanter to supracondylar flare. They can be recognised by the presence of major and minor features, described in 2010. AFF is diagnosed based on subtrochanteric or femoral shaft location and the presence of at least four the following five major features: minimal or no trauma, fracture originating at the lateral cortex and being substantially transverse, complete fractures extending through both cortices, localised periosteal or endosteal cortical thickening and minimal or no comminution. Minor criterias; cortical thickness of the femoral diaphysis, bilaterality, prodromal symptoms and delayed healing aren't necessary for diagnosis, but they has associated with fracture (2). Our case met all of major and minor criterias. Osteoporosis, hyperparathyroidism and vitamin D deficiency may have increased susceptibility to fractures, but the main cause is bisphosphonate and denosumab exposure in our case.

The incidence of AFFs varies depending on the duration of bisphosphonate use (2 / 100,000 cases per year after 2 years of bisphosphonate use - 78 / 100,000 cases per year after 8 years of use) (4). The patient should be reassessed at 3 to 5 years to determine if a drug holiday should be initiated. Prodromal pain, even after treatment has stopped, is a warning symptom of impending fracture. If it occurs, imaging studies should be done (5). It is not known exactly which way bisphosphonates cause AFFs. Over-suppression of bone turnover, accumulation of microcracks in the bone over time, fragility due to increased bone mineralization are the mechanisms accused in etiopathogenesis. The relationship between bisphosphonate treatment and non-femoral fractures is still unclear (1).

Approximately 25% of AFF cases are predicted to develop fractures in the opposite femur. Contralateral fracture occurs from 1 month to 4 years after the index AFF (6). Based on a observational study, the risk of sustaining a contralateral fracture if bisphosphonate exposure is stopped soon after the index fracture is in the range of 18 percent. If bisphosphonate therapy is continued, the risk of contralateral fracture rises over time, to 25.8 percent at 1 year and to 53.8 percent at 3 years after the index atypical femur fracture (7). Min et al. have developed a scoring system to assess the risk of progressing incomplete fractures to complete fractures and recommended the follow-up of patients scoring 8 or less and the prophylactic intramedullary nail fixation of others (8). The first score of our case was 8 and the next was 14.

In conclusion, delay in diagnosis is a common clinical occurrence due to the insidious clinical presentation and unaware of the clinicians of the probability. Collating the clinical assessment with the radiographic, densitometric and biochemical findings is needed in making accurate diagnosis. Radiographic features of the fracture are the main aspect of the differential diagnosis.

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

The author declares no conflict of interest.

Finansal Destek: yoktur / Funding : none

doi: <https://doi.org/10.33713/aegetbd.680186>

REFERENCES

1. McKenna MJ, Heffernan E, Hurson C, McKiernan FE. Clinician approach to diagnosis of stress fractures including bisphosphonate-associated fractures. *QJM* 2014 Feb; 107(2): 99-105.
2. Shane E, Burr D, Abrahamsen B, et al. Atypical subtrochanteric and diaphyseal femoral fractures: second report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res* 2014; 29(1): 1-23.
3. Butler I, Tipping B, Bhaga R. Atypical femoral fractures. *JEMDSA* 2013; 18(2): 125-127.
4. Dell R, Greene D, Ott SM, Silverman S, Eisemon E, Funahashi T, et al. A retrospective analysis of all atypical femur fractures seen in a large California HMO from the years 2007 to 2009. *J Bone Miner Res*. 2010; 25: 61.
5. Dell R, Greene D. A proposal for an atypical femur fracture treatment and prevention clinical practice guideline. *Osteoporos Int*. 2018 Jun; 29(6): 1277-1283
6. Silverman S, Kupperman E, Bukata S. Bisphosphonate-related atypical femoral fracture: Managing a rare but serious complication. *Cleve Clin J Med* 2018 Nov; 85(11): 885-893
7. Dell RM, Greene D, Tran D. Stopping bisphosphonate treatment decreases the risk of having a second atypical femoral fracture. Paper presented at: American Academy of Orthopaedic Surgeons (AAOS) Annual Meeting 2012 Feb 7-11; San Francisco, CA, USA.
8. Min BW, Koo KH, Park YS, Oh CW, Lim SJ, Kim JW, et al. Scoring System for Identifying Impending Complete Fractures in Incomplete Atypical Femoral Fractures. *J Clin Endocrinol Metab* 2017; 102(2): 545-50.