



Journal of
**BIOTECHNOLOGY
& STRATEGIC
HEALTH RESEARCH**
(BSHR)

Cilt / Vol: 5

Sayı / Issue: 1

Nisan / April : 2021

e-ISSN 2587-1641

jbiosad@gmail.com





Değerli Bilim İnsanları,

Biyoteknolojik ve Stratejik Sağlık Araştırmaları Dergisi (JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY AND STRATEGIC HEALTH RESEARCH), Deneysel, Biyoteknolojik, Klinik ve Stratejik Sağlık Araştırmaları Derneği'nin uluslararası, bağımsız, önyargısız ve çift-kör hakemlik ilkeleri çerçevesinde yayın yapan açık erişimli, bilimsel yayın organıdır. Dergi, Nisan, Ağustos ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 3 sayı yayınlanır. Dergi Türkçe ve İngilizce dillerinde yayın yapmaktadır.

Derginin amacı; etik kurallara uyumlu hazırlanmış biyoteknolojik, kritik, stratejik sağlık araştırmaları ile ilgili bilimsel makaleleri, klinik ve deneysel çalışmaları, derleme, olgu sunumu, editöre mektup ve editöryel yorum türündeki yazıları yayınlamak ve literatüre ve sağlık alanındaki tüm disiplinlerde katkı sağlamaktır.

Derginin hedef kitleleri; sağlık alanındaki tüm disiplinlerde çalışan araştırmacılarıdır.

Dergimizin 5. Yılı, Nisan'2021 sayımızda da yine birbirinden ilginç derleme ve araştırma yazıları ile karşınızdayız. Bu zorlu pandemi günlerinde yazı gönderen değerli yazar arkadaşlarımıza ve zaman ayıran hakemlerimize teşekkür eder, bilginin kullanılarak toplum sağlığına değerli katkılar sağlanmasını temenni ederiz.

Editör

Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ

Editor in Chief



Journal of Biotechnology and Strategic Health Research

KÜNYE



Deneyisel, Biyoteknolojik, Klinik ve Stratejik Sağlık Araştırmaları Derneği
JOURNAL of BIOTECHNOLOGY and STRATEGIC HEALTH RESEARCH
 Nisan, Ağustos ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 3 sayı çıkar.
 Three issues annually: April, August, December

Yayın dili: Türkçe ve İngilizcedir
Publishing Language: Turkish and English

<http://dergipark.gov.tr/bshr>

Sahibi (Owner)

Deneyisel, Biyoteknoloji, Klinik ve Stratejik Sağlık Araştırmaları Derneği Adına Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ
 Experimental, Biotechnology, Clinical and Strategic Health Research Association on behalf of Mustafa ALTINDIŞ MD

Baş Editör (Editor in Chief)

Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ, Sakarya Üniversitesi

Yayın Kurulu (Editorial Board)

Editör Yardımcıları (Associate Editors)

Doç. Dr. Selma ALTINDIŞ, Sakarya Üniversitesi

Prof. Dr. Mehmet KÖROĞLU, Sakarya Üniversitesi

Doç. Dr. Solachuddin JA ICHWAN, DDS, PhD, Uluslararası İ Üni versite, Dış Hek. Malezya

Teknik Editörler (Manuscript Editors)

Dr. Öğr. Üyesi Halit FURUNCUOĞLU, Sakarya Üniversitesi

Arş. Gör. Tuğba AYHANCI, Sakarya Üniversitesi tugba.ayhanci@hotmail.com

Türkçe Dil Editörü (Turkish Language Editor)

Prof. Dr. Nazmi ZENGİN, Konya NE Üniversitesi

İngilizce Dil Editörü (English Language Editor)

İlke Erkeskin, Dr. Abduljalil KHALILULLAH (KSA)

Biyoistatistik Editörü (Editor in Biostatistics)

Doç. Dr. Selma ALTINDIŞ, Sakarya Üniversitesi

Doç. Dr. Ünal ERKORKMAZ, Sakarya Ün v

Dergi Sekreterleri (Secretary)

Bio Tuğba KAYA tugbakaya.tk@gmail.com

Bio Ayşe Betül BAKIR betbakir@gmail.com

Yazışma Adresi (Corresponding Address)

Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası, KORUCUK, 54200, Sakarya

Dergi Yazı Gönderimi Sayfası: <http://dergipark.gov.tr/bshr>

E-posta: jbiosad@gmail.com, maltindis@gmail.com

Tel: +90 (264) 295 72 77 **Faks:** +90.264.295 6629

Dizin Bilgisi (Indexing)

JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY AND STRATEGIC HEALTH RESEARCH (Biyoteknoloji ve Stratejik Sağlık Araştırmaları Dergisi); "Türkiye Atif Dizini", "Türk Medline", "Google Scholar", "ASOS Index", "SOBIAD" ve "CrossRef" gibi ulusal ve uluslararası dizinlerde taranmaktadır. Makalelere DOI verilmektedir.



Danışma Kurulu (Advisory Board)

- Prof. Dr. Banu ÇAKIR Hacettepe Unv Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD
 Prof. Dr. Celil GÖÇER Lokman Hekim Unv Tıp Fa KBB AD
 Prof. Dr. Doğan ÜNAL SBU Ankara Onkoloji Hastanesi Üroloji AB
 Prof. Dr. Fikretin ŞAHİN Yeditepe Ün Tıp Fakültesi
 Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ İst Medipol Unv Tıp Fakültesi
 Prof. Dr. Handan ANKARALI Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
 Prof. Dr. Haydar SUR Üsküdar Unv Tıp Fakültesi
 Prof. Dr. İsa GÖKÇE GOP Unv Mühendislik Ve Doğa Bilimleri Fakültesi / Biyomühendislik Bölümü, TOKAT
 Prof. Dr. Mustafa Necmi İLHAN Gazi Unv Tıp Fakültesi
 Prof. Dr. Osman HAYRAN İst Medipol Unv Tıp Fakültesi
 Prof. Dr. Süleyman YILDIRIM, Ph.D. İst Medipol Unv Tıp Fakültesi
 Prof. Dr. Şaban TEKİN TUBİTAK MAM Genetic Engineering and Biotechnology Institute, Kocaeli
 Prof. Dr. Zeliha Koçak TUFAN AYBU Tıp Fak Enfeksiyon Hast AD
 Dr. Muhammed LOKMAN MD Department Basic Medical Sciences, International Islamic University Malaysia
 Kristian BANYAI Hungarian Academy of Sciences
 Ra'ed AbuOdeh, PhD College of Health Sciences Medical Lab Sciences University of Sharjah Sharjah, UAE
 Edmond PUCA Infectious Disease, University Hospital Center Mother Teresa, Albania
 Gheyath Khaled Nasrallah Assoc Prof of Biomedical Science, PhD, MT Doha, Qatar
 Doç. Dr. Arda Işık, Pittsburg Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Magee Womens Hastanesi, Meme Cerrahi Onkolojisi, ABD & Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Erzincan, Türkiye
 Doç. Dr. Bilal Houshaymi, Lübnan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Bölümü, Beyrut, Lübnan
 Danışma Kurulu listesi, ünvan ve isimlerin alfabe harf önceliğine göre sıralanmıştır.



MAKALE YAZIM KURALLARI

Derginin Kapsamı

JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY AND STRATEGIC HEALTH RESEARCH, yılda üç kez Deneysel, Biyoteknolojik, Klinik ve Stratejik Sağlık Araştırmaları Derneği tarafından yayımlanmakta olup tıp alanında ve sağlık bilimlerinin ilgili konularında yazılmış İngilizce veya Türkçe makaleler kabul edilmektedir. Dergiye kabul edilecek yazı türleri deneysel araştırmaları, klinik ve laboratuvar çalışmalarının sunulması amaçlı özgün makaleler, vaka sunumları, derleme makaleleri ve editöre mektuplardır.

A. Genel Bilgiler

> Etik Kurallar

Dergiye gönderilen makalelerin daha önce başka bir dergide değerlendirilme sürecinde olmaması, yayım için kabul edilmiş ve de yayımlanmamış olması, bilimsel ve etik kurallara uygun şekilde hazırlanması gereklidir. Yazarlar, makalelerin bilimsel ve etik kurallara uygunluğundan sorumludur. (<http://www.icmje.org/about-icmje/faqs/conflict-of-interest-disclosure-forms/>).

Klinik araştırmaların protokolü etik komitesi tarafından onaylanmış olmalıdır. İnsanlar üzerinde yapılan tüm çalışmalarda "Yöntem" bölümünde çalışmanın ilgili komite tarafından onaylandığı veya çalışmanın Helsinki İlkeler Deklarasyonuna (www.wma.net/e/policy/b3.htm) uyularak gerçekleştirildiğine dair bir cümle yer almalıdır. Çalışmaya dahil edilen tüm insanların bilgilendirilmesi onam formunu imzaladığı metin içinde belirtilmelidir. JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY AND STRATEGIC HEALTH RESEARCH'ne gönderilen yazıların Helsinki Deklarasyonuna uygun olarak yapıldığını, kurumsal etik ve yasal izinlerin alındığını varsayacak ve bu konuda sorumluluk kabul etmeyecektir. Çalışmada "Hayvan" ögesi kullanılmış ise yazarlar, makalenin "Yöntem" bölümünde Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (www.nap.edu/catalog/5140.html) prensipleri doğrultusunda çalışmalarında hayvan haklarını koruduklarını ve kurumlarının etik kurullarından onay aldıklarını belirtmek zorundadır. Sonuç olarak, etik kurul kararı gerektiren klinik ve deneysel insan ve hayvanlar üzerindeki çalışmalar için etik kurul onayı alınmış olmalı, bu onay makalede "Etik Kurul Onay Numarası" ile belirtilmelidir ve belgelendirilmelidir.

Dergide çıkan yazıların tüm hakkı dergiye aittir. Yazılar için yazarlara telif hakkı ödenmez. Makaleye ek olarak yukarıdaki şartları kaşif taramalarına dayalı yazılarda Anabilim Dalı (Bilim Dalı) Başkanlığı, Başhekimlik veya Servis Şefliği tarafından arşivde çalışmasına izin verildiğine dair bir belgenin çalışmaya eklenmesi zorunludur. Prospektif klinik çalışmalar için resmi gazetenin 29.01.1993 tarih ve 21480 sayılı nüshasında yayımlanan yönetmeliğe uygun bir şekilde Etik Kurulu onayı alınmalıdır. Dergide yer alan makalelerin etik sorumluluğu yazarlarına aittir.

Dergiye gönderilen makalelerden hakeme gönderilmesi uygun görülen makaleler konunun uzmanı hakemlere gönderilir. Makalenin yayımlanabilmesi için iki hakemin de olumlu görüş bildirmesi gerekmektedir. Değişikliği gerek görülürse takdirde, istenilen değişiklikler yazarlarca 15 gün içerisinde yapıldıktan sonra yayın tekrar incelemeye alınır, yazım ve dil bilgisi hataları makalenin içeriğine dokunulmaksızın yayın kurulu tarafından düzeltilir.

Derleme yazılarında, tüm yazarların derleme konusu ile ilgili en az bir SCI/SCI-expanded indekse giren yayınının bulunması gerekmektedir.

Sonucu desteklemek için istatistiksel analiz genellikle gereklidir. İstatistiksel analiz, tıbbi dergilerdeki istatistik verilerinin bildirme kurallarına göre yapılmalıdır (Altman DG, Gore SM, Gardner MJ, Pocock SJ. Statistical guidelines for contributors to medical journals. Br Med J 1983; 7; 1489-93). İstatistiksel analiz ile ilgili bilgi, Yöntemler bölümü içinde ayrı bir alt başlık olarak yazılmalı ve kullanılan yazılım kesinlikle tanımlanmalıdır.

Dergi İntihal İlkesi

JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY AND STRATEGIC HEALTH RESEARCH' de makale göndermeden önce uygun intihal yazılım programlarıyla (iThenticate, Turnitin: Tezler için vb.) makalenizdeki benzerlik durumunu belirlemeniz beklenir. Benzerlik oranlarının dergimiz için kaynaklar hariç % 20' un altında olması istenmektedir.

Singeler, Birimler ve Kısaltmalar

Dergimiz, İngilizce makalelerde Scientific Style and Format, The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers, Council of Science Editors, Reston, VA, USA (7th ed.) uzaşlarını; Türkçe makalelerde ise TDK Yazım Kılavuzu, Türkiye Bilim Terimleri ve TÜBA Türkçe Bilim Terimleri Sözlüğü'nü esas almaktadır. P, x, µ, η, or v gibi karakterler, sözcük işlem uygulamasının simge menüsünden seçilerek kullanılmalıdır. Sayılarla birimler arasında bir boşluk bırakılmalı (örn. "3 kg"), sayılarla yüzde simgesi arasında boşluk bırakılmamalıdır (örn. "%45"). Tüm kısaltma ve kısa adlar, ilk kez kullanıldıklarında tanımlanmalıdır. Canlıların ve mikroorganizmaların jenerik isimleri, tür adını değiştirmeden, uygun şekilde kısaltılmalı ve yatık olarak yazılmalıdır.

Makale Hazırlama Şekli ve Biçimi & Gönderim

Makale gönderimi çevrimiçi olarak <http://dergipark.gov.tr/bshr> adresine Microsoft Word dosyası olarak eklenmelidir. "Öz", "Ana Metin ve Kaynaklar (Çizelgeler dahil)" Microsoft Word dosyası (.doc veya .docx uzantılı) olarak, 12 yazı tipi boyutunda, Times New Roman karakterleriyle, 1,5 satır aralığıyla ve paragraflar iki yana yaslanmış olarak yazılmalıdır. Makalelerin değerlendirilmeye alınabilmesi için, başvuru esnasında "Telif Hakkı Devir formu" doldurulmalıdır. Bu formu içermeyen yazılar değerlendirilmeye alınmaz. Makaleler, Ana metnin sayfa numaraları, her sayfanın sağ alt köşesinde belirtilmelidir.

Makaleler, Türkçe veya İngilizce yazılabilir.

B. Yazım Kuralları

Metin içi ve metin sonu kaynak gösterimi için, AMA (Amerikan Tıp Birliği/American Medical Association) Stili kullanılmaktadır (<http://library.nymc.edu/informatics/amastyle.cfm>; <https://drive.google.com/drive/folders/1lhzyxgnau1IBPUBYfKN1vTBk5PE3LBXQ>).

Dergide kör hakemlik uygulaması söz konusu olduğundan makale ana metin üstünde yazarlara ilişkin herhangi bir bilgi bulunmamaktadır.

Tüm makale yazarlarının, ORCID iD (Open Researcher and Contributor ID) numaraları başlık sayfasına eklenmelidir.

B. 1. Başlık Sayfası

Yazarlar başlık sayfasından başlanarak numaralandırılmalı, sayfa numaraları sağ alt köşeye yazılmalıdır. Başlık sayfasında; yazının başlığı (Türkçe ve İngilizce), başlık altında tüm yazarların ad ve soyadları, kurumları yer almalıdır. Sorumlu yazarın adı ve soyadı, telefon numarası, e-posta ve yazışma adresleri bulunmalıdır. Makale başlığı, 25 kelime ile sınırlı, Türkçe ve İngilizce dillerinde verilmelidir. Kısa başlık (running title, running head) 50 karakterle (boşluk dahil) sınırlı şekilde Türkçe ve İngilizce olmalıdır.

B. 2. Öz Sayfası

Öz (Abstract), Türkçe ve İngilizce olarak en fazla 250 sözcük olacak şekilde; Amaç (Objective), Yöntem (Methods), Bulgular (Results) ve Sonuç (Conclusion) bölümlerinden oluşmalıdır. Derleme ve olgu sunumunda öz sayfası bölümlere ayrılmadan yazılmalıdır.

Özün altına "anahtar kelimeler" (en az 3, en fazla 6) verilmelidir. Anahtar kelimeler Türkçe ve İngilizce yazılmalıdır. İngilizce anahtar kelimeler Index Medicus'da "Medical Subjects Headings" listesine uygun olmalıdır (Bkz: www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html). Türkçe anahtar kelimeler Türkiye Bilim Terimleri, uygun olarak verilmelidir (Bkz: www.bilimterimleri.com). Bulunamaması durumunda bire bir Türkçe tercümesi verilmelidir.

B. 3. Ana Metin

B. 3. 1. Özgün Araştırma

Sırasıyla ve kesin sınırlarla ayrılmış "Giriş", "Yöntem", "Sonuç" ve "Tartışma" bölümlerinden oluşmalıdır. Sonuç kısmı, ayrı bir bölüm olarak veya Tartışma'nın son paragrafı olarak yazılabilir. Tartışma kısmının son paragrafında çalışmanın sonuçları ifade edilebilir, ek bir başlık açılmasına gerek yoktur.

En çok 15 sayfa (öz, teşekkür ve kaynaklar hariç) olmalıdır.

Sistemik derleme ve meta-analiz özgün araştırma makalesi kapsamındadır. Yazarlar, taslaklarını gönderirken sistematik derleme ve meta-analiz için, PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses) beyanattı (<http://www.prisma-statement.org/>). yönergesine uydularını gösteren standart listelerini kullanmalı ve istendiğinde sunulmalıdır.

Sözcük sayısı öz, teşekkür ve kaynaklar hariç en çok 5 000 olmalıdır. Kaynak sayısı, 50'yi geçmemelidir (derleme hariç). Metin boyunca bilimsel terimler yatık olarak yazılmalıdır.

B.3.2. Derleme

En çok 20 sayfa (öz ve kaynaklar hariç) olmalıdır. Derlemeler, standart yazı şeklinden farklıdır. Yazı yazma-nın evrensel formatı IMRAD derleme yazılarında uygulanmamaktadır. Ana hatlarıyla "Giriş" bölümü daha geniş olmakta ve derlemenin amacını ve yazı gereğini açıklamaktadır.

"Yöntem" ve "Bulgular" kısmı bulunmamaktadır. Tartışma kısmı yine geniş tutulacak ve kişisel deneyimler doğrultusunda aynı konuda yapılmış çalışmalar ve onların sentezi yapılacaktır. Sonuç anlamında bir yorum ve değerlendirme paragrafı bulunmalıdır. Kaynaklar ise tüm yazılara göre daha fazla sayıda olacaktır. Ancak mutlaka yazarın kendi çalışmaları da bulunacaktır.

B.3.3. Olgu Sunumu

En çok 10 sayfa (öz, teşekkür ve kaynaklar hariç) olmalıdır. Olgu sunumlarında ise sırasıyla giriş, olgu sunumu ve tartışma bölümlerini içermelidir.

B.3.4. Editöre Mektup

En çok 5 sayfa (öz ve kaynaklar hariç) olmalıdır. Çizim ve çizelge içermez. Bir makaleye ithaf olarak yazılmış sayı ve tarih verilerek belirtilmeli ve metnin sonunda yazarın ismi, kurumu ve adresi bulunmalıdır.

B.4. Çizim ve Çizelgeler

Metin içerisinde kullanılan fotoğraf, grafik, şekil, resim gibi görsel sunum araçları "Çizim" olarak tanımlanır. "Tablo" ise sınıflandırılmış verilerin yer aldığı görsel sunum araçlarıdır. Tablolara kaynaklardan sonra başlıklarıyla birlikte verilmelidir. Tablolar, başlığın alt ve üstünde, ayrıca alt satırın altında yatay kenarlık ve sol sütunun sağ dikey kenarlığı olacak şekilde düzenlenmelidir.

Figür ve Tablolar, numaraları ile metin içinde geçtiği yerlerde ilgili cümlelerin sonunda ayrıca içinde belirtilmeli; sırayla numaralandırılmalıdır.

Örnek tablo:

Tablo 1. Araştırmaya katılanların ilk başvuru tarihini birinci basamakta çalışan hekime yapmama nedenleri



Başvurmama Nedeni	*n	%
Sadece psikiyatri uzmanı ruh sağlığı hizmeti sunabilir		
Birinci basamakta çalışan hekimin bu hizmeti sunduğunu bilmemem		
Ebeveyn kararıydı		
Birinci basamakta çalışan hekime güveniyorum ancak tercih etmedim		
47	53,4	
17	19,3	
12	13,6	
12	13,6	
* Toplam hasta sayısı		

Tablolar, metne dahil edilmemesi ve sistem üzerinden "Görseller" başlığı seçilerek yüklenmelidir. Görseller; JPG, GIF, PNG veya TIFF formatında gönderilmelidir. Metine ek olarak sisteme yüklenen tüm çizim başlıkları, "Çizim Başlığı" altında, kaynaklardan sonra listelenmelidir. Kullanılan kısaltmalar çizim ve çizelgelerin altındaki açıklamada 10 yazı boyutunda belirtilmelidir. Ondalık sayıların belirtilmesinde Türkçe metinlerde virgöl işareti, İngilizce metinlerde nokta işareti kullanılmaktadır. Yüzde ile belirtilen sayılarda Türkçe metinlerde sayı öñünde, İngilizce metinlerde ise sayı arkasında % işareti kullanılmaktadır.

B. 5. Açıklamalar

Çalışmada teşekkür, daha önce sunulduğu kongre, çıkar çatışması olmadığı, maddi destek, başı ya da teknik yardım gibi konular metnin sonunda kaynaklardan önce belirtilmelidir. Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi ve kuruluşlar ve varsa bu kuruluşların yazarlarla olan çıkar ilişkileri belirtilmelidir. (Olmaması durumu da "Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların herhangi bir çıkar dayalı ilişkisi yoktur" şeklinde yazılmalıdır. Araştırma desteği (Üniversite Bilimsel Araştırma projeleri , TÜBİTAK projeleri ve benzeri kurumlardan) alınmışsa, proje numarası belirtilmelidir.

C. Kaynak Gösterimi

Dergimiz, kaynak gösteriminde AMA stilini kullanılmaktadır ve kaynak yazımında atf düzenleme programlarının kullanımını tavsiye edilmektedir (EndNote, Mendeley, Zotero vb.).

C. 1. Metin İçinde;

Kaynaklar, metinde geçiş sırasına göre numaralandırılmaktadır ve kaynak numaraları üst simge olarak verilmektedir. Örneğin, "... belirtmektedir8, bildirilmiştir8,13,18. , şekildedir8-10

C. 2. 'Kaynaklar' Başlığı Altında;

Kaynaklar ayrı bir liste olarak metin içindeki sıralamalarına göre numaralandırılarak verilmektedir. Kaynak sayısı özün araştırılarda en çok 50, olgu sunularında en çok 20, editöre mektuplarda ise en çok 5 olmalıdır.

Kaynaktaki yazar sayısı 3 veya daha az ise tüm yazarlar belirtilmeli; 3'den fazla ise, Türkçe kaynak gösteriminde sadece ilk 3 isim yazılmalı "ve ark." şeklinde, İngilizce kaynak gösteriminde ise ilk 3 isim yazılmalı ve "et al." şeklinde gösterilmelidir.

Dergi isimleri Index Medicus/Medline/PubMed'de yer alan dergi kısaltmaları ile uyumlu olarak kısaltılmaktadır. Index Medicus'ta indekslenmeyen bir dergi kısaltılmadan yazılmaktadır. Çevrimiçi yayınlar için DOI (digital object identifier) numarası verilmelidir.

Örnek:

1. Gage BF, Fihn SD, White RH. Management and dosing of warfarin therapy. The American Journal of Medicine. 2000; 109(6): 481-488. doi:10.1016/S0002-9343(00)00545-3.

Örnekler:

1. Debes-Marun CS, Dewald GW, Bryant S, et al. Chromosome abnormalities clustering and its implications for pathogenesis and prognosis in myeloma. Leukemia. 2003; 17: 427-436.
2. Özcelik F, Öztosun M, Gülsün M, ve ark. İdiopatik trombositopenik purpura ön tanılı bir olguda EDTA'ya bağlı psödotrombositopeni. Türk J Biochem. 2012; 37(3): 336-339.

Örnek:

1. Yoldas O, Bulut A, Altindis M. Hepatit A Enfeksiyonlarının Güncel Yaklaşımı. Viral Hepatit J 2012; 18: 81-86.
2. Bir derginin ek sayısı (Supplement) kaynak gösterileceği zaman; İngilizce makalelerde (Suppl.) ve Türkçe makalelerde ise (ES) şeklinde gösterilmelidir.
Çevrimiçi makale ise tam yayın tarihi kullanılır. Genellikle cilt ve dergi sayıları, sayfa numaraları yoktur. Makaleye doğrudan ulaşım adresi ve erişildiği tarih verilmelidir.

Örnek:

5. Frederickson BL (2000, Mart 7). Cultivating positive emotions to optimize health and well-being. Prevention & Treatment 3, Makale 0001a. http://journals.apa.org/prevention/volume3/pre003000-1a.html adresinden 20 Kasım 2000'de erişildi.
Kitabın kaynak gösterimi ise yazarların adı, kitabın adı, birden çok basımı varsa kaçınıcı basım olduğu, basımevi, basım yeri, basım tarihi belirtilmelidir

Örnek:

2. Strunk W Jr., White EB. The Elements of Style (4. baskı). Longman, New York, 2000.
Kaynak çok yazarlı bir kitabın bölümü ya da bir makalesi ise bölümün ya da makalenin yazarı, bölümün ya da makalenin adı, kitabın adı, kaçınıcı baskı olduğu, cildi, kitabın yayın yönetmenleri, basım yeri, sayfaları,

tarif yazılmalıdır.

Örnek:

3. Meltzer HY, Lowy MT. Neuroendocrin function in psychiatric disorders. American Handbook of Psychiatry, 2. Baskı, cilt 8, PA Berger, HKH Brodie (Ed), New York. Basic Books Inc, 1986; s. 110-117.
Çeviri kitaplar aşağıdaki şekilde kaynak olarak gösterilmelidir.

Örnek:

4. Liberman RP. Yetiştirmeden İyileşmeye: Psikiyatrik İyileştirim Elkitabı. American Psychiatric Publishing Inc. Washington DC. 2008. Çev. Mustafa Yıldız, Türkiye Sosyal Psikiyatri Derneği, Ankara, 2011.
Kaynak çevrimiçi (internette yer alıyor) ise erişim tarihi ile birlikte yazılmalıdır.

MAKALE SÜREÇ YÖNETİMİ

A. Çift-Kör Hakemlik

JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY AND STRATEGIC HEALTH RESEARCH (J of BSHRS), yılda 3 kez yayınlanan ve çift-kör hakemlik sürecinden geçen bilimsel makalelerin yayımlandığı ulusal/uluslararası ve hakemli bir akademik dergidir. Yayınların incelenmesi için çalışmaların içeriğine ve hakemlerin uzmanlık alanlarına göre en az iki hakem, makale alan editörü/leri tarafından atanır. Bu süreçte hakem değerlendirmeye raporları elektronik ortamda isimsiz olarak gönderilir. Değerlendirmeyi yapan hakemlerin isimleri çift-kör yöntemi gereği raporlarda ve dergide belirtilmemektedir. Talep edilmediği halde, hakem olarak dergiyeye katkı sağladığına ilişkin yazılı bir belge hakemlere verilebilir. Yazarlar, hakemlerle doğrudan iletişime geçemez, değerlendirme ve hakem raporları dergi yönetim sistemi aracılığıyla iletilir. Bu süreçte değerlendirme formları ve hakem raporları editör aracılığıyla sorumlu yazara iletilir.

B. Karar Alma Süreçleri

Yayınlanmak üzere gönderilen tüm çalışmalar, değerlendirme için alanlarında uzman en az iki hakeme gönderilir. İnceleme sürecinin tamamlanmasının ardından editör, söz konusu çalışmanın doğruluğu, araştırmacı ve okuyucular için önemi, hakem raporları, telif hakkı ihlali ve intihal gibi yasal düzenlemeleri de göz önünde bulundurarak hangi çalışmaların yayınlanacağına karar verir. Editör, bu kararı verirken diğer editörlerden veya hakemlerden de tavsiyeler alabilir.

C. İvedilik

Hakem değerlendirmesi yapmak üzere davet alan bir hakem, ilgili çalışma için hakemlik yapmayı yapamayacağını yedi gün içinde editöre bildirmelidir. Kabul edilen hakemlik değerlendirme süreci onbeş, sorumlu yazara bildirilen değişikliklerin tamamlanması için, yazarlara verilen süre ortalama onbeş gündür. Sorumlu yazara son okuma için gönderilen metnin değerlendirme süresi ise üç gündür. Değerlendirme için hakemlere gönderilen çalışmalar gizli belge olarak tutulmalıdır. Çalışmalar başkalarına gösterilmemelidir, içerikleri tartışılmamalıdır. Gerekli durumlarda editörün izni dahilinde hakemler başka meslektaşlarından tavsiye isteyebilirler. Editör, bu izni ancak istisnai bir koşul olması durumunda verebilir. Gizlilik kuralı, hakemlik yapmayı reddeden kişileri de kapsamaktadır.

E. Tarafsızlık İlkesi

Değerlendirme sürecinde yazarlara yönelik kişisel eleştiri yapılmamalıdır. Değerlendirmeler, nesnel ve çalışmaların geliştirilmesine katkı sağlayacak şekilde olmalıdır.

F. Kaynak Belirtme

Hakemler, çalışmada atf olarak belirtilmeyen alıntılar varsa bunları yazarlara bildirmekle yükümlüdür. Hakemler, alanda atfı bulunmayan eserlere ya da benzer eserlerle çıkışın alıntılara özellikle dikkat etmelidir. Hakemler, daha önce yayınlanmış herhangi bir çalışma ya da bilgiyle benzerliği olan yayınların farkedilmesi durumunda editörleri bilgilendirmelidir.

G. Bilgilendirme ve Çıkar Çatışması

Hakemler, çalışmasını değerlendirmekle görevlendirildikleri herhangi bir yazar, şirket ya da kurumla işbirliğine dayalı herhangi bir bağlantıları olması durumunda değerlendirme yapmayı kabul etmemeli ve durumdan editörü haberdar etmelidir.

Hakemler, değerlendirme için gönderilmiş, yayınlanmamış eserleri ya da eserlerin bölümlerini yazar(lar)ın yazılı onayı olmadan kendi çalışmalarında kullanamaz. Değerlendirme sırasında elde edilen bilgi ve fikirler hakemler tarafından gizli tutulmalı ve kendi çıkarları için kullanılmamalıdır. Bu kuralar, hakemlik görevini kabul etmeyen kişileri de kapsamaktadır.

YAZI GERİ ÇEKME TÜM YAZARLARIN ONAYI İLE OLMALIDIR.

Yazışma Adresi (Corresponding Address)

Prof. Dr. Mustafa Altındış
Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası,
KORUCUK, 54200, Sakarya

Dergi Yazı Gönderimi Sayfası:

http://dergipark.gov.tr/bshr

E-posta: jbiosad@gmail.com, maltindis@gmail.com

Tel: +90 (264) 295 72 77

Faks: +90.264.295 6629



INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Scope of the Journal

The JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY AND STRATEGIC HEALTH RESEARCH is published electronically 3 times a year by the Experimental, Biotechnological, Clinical and Strategic Health Research Association and accepts English or Turkish-language manuscripts in all fields of medicine (Experimental, Biotechnological, Clinical and Strategic Health Research) and other related health sciences. Contribution is open to researchers of all nationalities. The following types of papers are welcome: original articles (for the presentation of clinical and laboratory studies), case reports, review articles, and letters to the editor.

Submission Procedures

All manuscripts must be submitted electronically via the internet to the JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY AND STRATEGIC HEALTH RESEARCH through the online system for ULAKBIM dergipark <http://dergipark.gov.tr/bshr> You will be guided stepwise through the creation and uploading of the various files.

There are no page charges.

Papers are accepted for publication on the understanding that they have not been published and are not going to be considered for publication elsewhere. Authors should certify that neither the manuscript nor its main contents have already been published or submitted for publication in another journal. The copyright release form, which can be found at <http://dergipark.gov.tr/bshr> after you started submission, and it must be signed by the corresponding author on behalf of all authors and referees are kept anonymous. Manuscripts may be rejected without peer review by the editor-in-chief if they do not comply with the instructions to authors or if they are beyond the scope of the journal. Any manuscript that does not conform to the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, as reported at <http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>, will also be rejected. After a manuscript has been accepted for publication, i.e. after referee-recommended revisions are complete, the author will not be permitted to make changes that constitute departures from the manuscript that was accepted by the editor. Before publication, the galley proofs are always sent to the authors for corrections. Mistakes or omissions that occur due to some negligence on our part during final printing will be rectified in an errata section in a later issue. This does not include those errors left uncorrected by the author in the galley proof.

The use of someone else's ideas or words in their original form or slightly changed without a proper citation is considered plagiarism and will not be tolerated. Even if a citation is given, if quotation marks are not placed around words taken directly from another author's work, the author is still guilty of plagiarism. Reuse of the author's own previously published words, with or without a citation, is regarded as self-plagiarism. All manuscripts received are submitted to iThenticate*, a plagiarism checking system, which compares the content of the manuscript with a vast database of web pages and academic publications. Manuscripts judged to be plagiarised or self-plagiarised, based on the iThenticate* report or Turnitin for these, will not be considered for publication. It is suggested for you to determine the ratio in the iThenticate* report of your manuscript before you submit it. Editorial board decided that this ratio should be less than 30, and if not, then the manuscripts are not accepted and sent back to author(s).

All experimental or clinical researches done in humans or animals should follow the ethical rules. The ethical approval form must be sent and the number of approval must be given in the manuscript. The ethical problems belong only to the author(s).

All copyright of the published papers belong to Experimental, Biotechnological, Clinical and Strategic Health Research Association.

The copyright fee is not paid to all authors.

In manuscripts based on scanning of archive records, a consent form is needed that shows the permission for retrospective work and signed by Head of the Department, hospital manager or clinic manager.

Preparation of Manuscript Style and format:

Manuscripts should be submitted to <http://dergipark.gov.tr/bshr> as Microsoft word file in Times New Roman font. All manuscripts including references should be typed in 12 font size, one and a half (1.5) line space and justified. Upon submission, the copyright release form should be filled and downloaded. The manuscript submissions without a copyright release form will not be evaluated.

Each page of main text of the manuscript should be numbered on the right hand side. Manuscripts should be written in Turkish or English. Contributors who are not native English speakers are strongly advised to ensure that a colleague fluent in the English language or a professional language editor has reviewed their manuscript. Repetitive use of long sentences and passive voice should be avoided. It is strongly recommended that the text be run through computer spelling and grammar programs.

Symbols, Units, And Abbreviations:

In general, the journal follows the conventions of Scientific Style and Format, The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers, Council of Science Editors, Reston, VA, USA (7th ed.). Spaces must be inserted between numbers and units (e.g., 3 kg), but not between numbers and mathematical symbols (+, -, ±, ×, =, <, >) and between numbers and percent symbols (e.g., 45%). Please use International System (SI) units. All abbreviations and acronyms should be defined at first mention. Thereafter, generic names should be abbreviated as appropriate without altering the species name.

Types of Manuscripts Original Article

It should consist of "Introduction", "Methods", "Results" and "Discussion". Conclusion may be written as a last paragraph of discussion, there is no need to add a separate section for conclusion. The whole length of text should be maximum 5 000 words (except abstract, acknowledgements and references). The numbers of references should be maximum 50. Also, scientific names should be spelled italics throughout the text.

Review

It should be maximum 6 000 words (except abstract and references). The author(s) should have at least one published paper in a journal indexed in SCI/SCI-expanded related to the topics of the review. The abstract should be as one paragraph and should be written without a section. The numbers of references should be maximum 100.

Case Report

It should be maximum 1 500 words (except abstract, acknowledgement and references). Case reports should consist of abstract, keywords, introduction, case report and discussion sections. The numbers of references should be maximum 10. Figures or Tables should follow the main text in a separate pages.

Letter to Editor

It should be maximum 1 000 words (except abstract and references). No Tables or Figures are included. If it was written referring to another article, the number and the date should also be added. The name, affiliation(s) and address of author(s) should be written at the end of the text. The numbers of references should be maximum 5.

Manuscript Arrangement

Manuscripts should be arranged as follows: "Title page", "Abstract", "Keywords", "Main text", "Acknowledgements", "References", "Tables", and "Figures".

Title page

All submissions must include a title page, which is to be uploaded as a separate document. The title page should contain the full title in sentence case (e.g., Urothelial cancers: clinical and imaging evaluation). The title should be limited to 25 words or less and should not contain abbreviations. The title should be a brief phrase describing the contents of the paper. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible. It should be written in capital letters both in Turkish and in English. Title in English should be written using italic letters for Turkish manuscripts and vice versa. The first and the family names of the authors should be written in small letters as the first letter being the capital.

The full names and affiliations of all authors should be given clearly and briefly with their institutions, address with zip code and name of country, and the contact details of corresponding author (E-mail address and telephone). In addition, ORCID (Open Researcher and Contributor ID) numbers of all authors should be included into the title page.

Abstract

The abstract should be brief, indicating the purpose/significance of the research, methodology, major findings and the most significant conclusion (s). The abstract should not contain literature citations that refer to the main list of reference attached to the complete article. The abstract should be written as a single paragraph and should be in reported speech format (past tense); complete sentences, active verbs and the third person should be used. The abstract should be structured to include the study's "Objective", "Methods", "Results", and "Conclusion" under 4 separate headings. Abstracts of review articles should be a brief overview of the main points from the review. In reviews and case reports, abstract should be written without any sections. The abstract (English and Turkish) should not be more than 300 words.

Keywords

The authors must provide 3-6 keywords for indexing purposes and to facilitate the retrieval of articles by search engines. Keywords should be different from the words that make up the title of the article. Keywords should be written below the abstracts both in Turkish and English. Acronyms should be avoided. For English keywords, always try to use terms from the Medical Subjects Headings list from Index Medicus (www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html). For Turkish keywords, terms from Turkish Scientific Terms (www.bilinterimler.com) should be used.

Main text

Introduction

The introduction should be clear and concise, with relevant references on the study subject and the proposed approach or solution. There should be no subheadings. Excessive citation of literature should be avoided. Only necessary and the latest citations of literature that are required to indicate the reason for the research undertaken and the essential background should be given.

Methods

Explain clearly but concisely your clinical, technical, or experimental procedures. A precise description of the selection of your observational or experimental subjects (for example patients or laboratory animals including controls) must be presented. Experimental research involving human or animals should be approved by ethical committee. All chemicals and drugs used must be identified correctly, including the generic names, the name of the manufacturer, city and country in parenthesis. The techniques or methodology adopted should be supported with standard references. Briefly describe methods that have been published but are not well known as well as new or substantially modified methods. Description of established procedures are unnecessary. Apparatus should be described only if it is non-standard; commercially available apparatus used should be stated (including manufacturers' name, address in parenthesis). Only SI units should be used for each measurements.



Results

The result section should provide complete details of the experiment that are required to support the conclusion of the study. The results should be written in the past tense when describing findings in authors experiments. Previously published findings should be written in the present tense. Speculation and the detailed interpretation of the data should not be included in the results but should be put into the discussion section.

Discussion

Statements from the "Introduction" and "Results" sections should not be repeated here. The final paragraph should highlight the main conclusions of the study.

Tables and Figures

The visual presentations like photographs, graphics, pictures etc. must be labelled "Figures". Whereas, the "Tables" shows the classified data. Tables should be added after the "References" section. Figure legends should be placed into the end of the main text. Figures should be uploaded as a separate file following the Dergipark System.

All tables and figures must have a caption and/or legend and be numbered (e.g., Table 1., Figure 2.), unless there is only one table or figure, in which case it should be labelled "Table" or "Figure" with no numbering. Captions must be written in sentence case (e.g., Figure 1. Macroscopic appearance of the samples.). The font used in the figures should be Times New Roman. If symbols such as \times , μ , η , or ν are used, they should be added using the Symbols menu of Word.

All tables and figures must be numbered consecutively as they are referred in the text. Please refer to tables and figures with capitalisation and unabbreviated (e.g., "As shown in Figure 2. ...", and not "Fig. 2" or "figure 2"). The resolution of images should not be less than 118 pixels/cm when width is set to 16 cm. Images must be scanned at 300 dpi resolution and submitted in .jpeg, .png or .tif format.

Graphics and diagrams must be drawn with a line weight between 0.5 and 1 point. Scanned or photocopied graphs and diagrams are not accepted.

Charts must be prepared in 2 dimensions unless required by the data used. Charts unnecessarily prepared in 3 dimensions are not accepted.

Figures that are charts, diagrams, or drawings must be submitted in a modifiable format, i.e. our graphics personnel should be able to modify them. Therefore, if the program with which the figure is drawn has a "Save as" option, it must be saved as .pdf. If the "Save as" option does not include .pdf extension, the figure must be copied and pasted into a blank Microsoft Word document as an editable object. It must not be pasted as an image file (.tiff or .jpeg) unless it is a photograph.

Tables and figures, including caption, title, column heads, and footnotes, must not exceed 16 x 20 cm and should be no smaller than 8 cm in width. For all tables, please use Word's "Create Table" feature, with no tabbed text or tables created with spaces and drawn lines. Please do not duplicate information that is already presented in the figures. Tables must be clearly typed, each on a separate sheet, and single-spaced. Tables may be continued on another sheet if necessary, but the dimensions stated above still apply.

Tables should be arranged as a horizontal borderline as well as below the last line. Moreover, there should be vertical line on the right of first column on the left hand side. Abbreviations used in the tables such as (*) should be explained below the table in 10 font size.

In Tables written in Turkish, decimal numbers should be written with comma, however in English text, decimal numbers should be written with dots. Percentages (%) should be placed in front of the numbers without space and behind the numbers in Turkish and English text, respectively.

Example for a Table:

Table 1. The reasons of not applying to general practitioner for the first application.

The reasons	n*	%
Only Psychiatrist can do it		
No information about general practitioner		
Parents decision		
Not preferred	47	53.4
17	19.3	
12	13.6	
12	13.6	

*Total number of patients.

Acknowledgement

All acknowledgements, poster/oral presentations, financial supports, grants, technical supports and the conflict of interest should be mentioned at the end of the text.

Funding

The type of Project or the financial support such as scientific projects of University, TUBITAK projects etc. should be added at the end of the text including the numbers and the year of the projects.

References

While talking about the source in the text, the first author's surname in Er and his friends' study¹², or in Er et al.¹². Both authors should be given the surnames of both authors (similar results were found in the study

conducted by Öncü and İlke¹³).

Citations in the text should be identified by numbers as superscript, for example, "The results were as follows: 4. If there are more than one references, separate the numbers with comma, for example, "Several interventions have been successful at increasing compliance.^{11,14"}

In following journals, first and the last numbers should be separated by "-.", for example: Diabetes mellitus is associated with a high risk of foot ulcers¹⁻³ or "As reported previously,^{1,3-6"}

Do not include personal communications, unpublished data, or other unpublished materials as references, although such material may be inserted (in parentheses) in the text. In the case of publications in languages other than English, the published English title should be provided if one exists, with an annotation such as "(article in Turkish with an abstract in English)". If the publication was not published with an English title, provide the original title only; do not provide a self-translation. A short title for use as a running head (not to exceed 30 characters in length, including spaces between words) is needed. References should be formatted as follows (please note the punctuation and capitalisation):

The list of references at the end of the paper should be given in order of their first appearance in the text. All authors should be included in reference lists unless there are more than 6, in which case only the first 3 should be given, followed by "et al." in English and "ve ark." in Turkish references.

The number of references should not be more than 60 in original articles, not more than 100 in review articles, not more than 20 in case reports and not more than 5 in letter to editor. The journal requires DOI numbers, when available, to be included in all references. Personal experiences and researches without a DOI number should not be used.

In order to arrange the reference list easily, our journal suggest the use of reference arrangement programmes such as EndNote or Mendeley etc.).

For a reference in the reference list, the surname of author, the first letter of author's name, the title of the reference, the name of the journal, the year of the journal, the numbers of its volume, issue and pages should be written. The name of the journal should be abbreviated as in AMA (American Medical Association) (<http://library.nymc.edu/informatics/amastyle.cfm>). If the abbreviation is not available, whole name of the journal should be written.

Published papers

Yoldas O, Bulut A, Altindis M. Current Approach to Hepatitis A Infections. *Viral Hepatit J* 2012; 18: 81-86.

Debes-Marun CS, Dewald GW, Bryant S, et al. Chromosome abnormalities clustering and its implications for pathogenesis and prognosis in myeloma. *Leukemia*. 2003;17:427-436.

Ozcelik F, Oztosun M, Gülsün M, ve ark. Pseudothrombocytopenia due to EDTA in a case with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Turk J Biochem*. 2012;37(3):336-339.

Gage BF, Fihn SD, White RH. Management and dosing of warfarin therapy. *Am J Med*. 2000;109(6):481-488. doi:10.1016/S0002-9343(00)00545-3.

If a supplement of a journal is referred, (suppl.) in English and (ES) in Turkish manuscripts should be used.

Electronic journal articles

If a journal from a website is used, the date of publishing is used. Usually, there is no numbers of volume, issue or pages. The web address and date of download should be given.

Example:

Acetaminophen poisoning. In: DynaMed [database online]. EBSCO Information Services. [http://0-](http://0-search.ebscohost.com/topcat.switchinc.org/login.aspx?direct=true&site=DynaMed&id=113862)

[search.ebscohost.com/topcat.switchinc.org/login.aspx?direct=true&site=DynaMed&id=113862](http://0-search.ebscohost.com/topcat.switchinc.org/login.aspx?direct=true&site=DynaMed&id=113862).

Updated

March 09, 2010. Accessed March 23, 2010.

Book

Harmening D. *Modern Blood Banking & Transfusion Practices*. 6th ed. Philadelphia, PA: F.A. Davis Company; 2012.

Strunk W Jr., White EB. *The Elements of Style*. 4th ed. New York, NY: Longman; 2000.

Chapter in a book

Solensky R. Drug allergy: desensitization and treatment of reactions to antibiotics and aspirin. In: Lockey R, ed. *Allergens and Allergen Immunotherapy*. 3rd ed. New York, NY: Marcel Dekker; 2004:585-606.

McCall RE, Tankersley CM. Phlebotomy and specimen considerations. In: Bishop ML, Fody EP, Schoeff LE, editors. *Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations*. Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams & Williams; 2010:33-73.

Conference proceedings

Weber KJ, Lee J, Decresse R, Subjasis M, Prinz R. Intraoperative PTH monitoring in parathyroid hyperplasia requires stricter criteria for success. Paper presented at: 25th Annual American Association of Endocrine Surgeons Meeting; April 6, 2004; Charlottesville, VA.

Chiu H, Rosenthal M. Search engines for the World Wide Web: a comparative study and evaluation met-



hology. Paper presented at: American Society for Information Science Annual Conference; October 19-24, 1996; Baltimore, MD. <http://www.asis.org/annual-96/electronicproceedings/chu.html>. Accessed February 26, 2004.

Theses

Fenster SD. Cloning and Characterization of Piccolo, a Novel Component of the Presynaptic Cytoskeletal Matrix [master's thesis]. Birmingham: University of Alabama; 2000.

Publication Policy and Manuscript Evaluation Process

A. Double-blinded peer-reviewed method

Biotechnology and Strategic Health Research (J BSHRS) is published 3 times a year (April, August, December) and it is double-blinded peer-reviewed system national journal.

Editorial and publication processes of the BSHRS Derg. are shaped in accordance with the guidelines of the international organizations such as the International Council of Medical Journal Editors (ICMJE), the World Association of Medical Editors (WAME), the Council of Science Editors (CSE), the Committee on Publication Ethics (COPE), the European Association of Science Editors (EASE). The journal is in conformity with Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice). Processing and publication is free of charge with the Biyoteknolojik ve Stratejik Sağlık Araştırmaları Dergisi. Authors are not charged a fee at any point during the publication process. All manuscripts should be submitted through the journal's web page at <http://dergipark.gov.tr/bshr>.

For the evaluation of papers, at least two referees are determined considering the content of the manuscript or the professional scientific area of the referees. In this step, referee assessment form is sent via internet without names. The personal data of the referee is not shown since the double-blind peer-reviewed method is used. Upon request, a written document given to referee as the referee for that contribute to the journal. The authors cannot directly contact with the referees. The referee's evaluation report is sent by the journal management system. The evaluation forms and the referees' reports are sent to the corresponding author(s) by the editor.

B. Decision process

After the referees' evaluation process, the editor decides whether the manuscript will be accepted or not considering the accuracy and the importance of the work, referee's reports, copyright infringement and ethical problems such as plagiarism.

As the editor decides about the manuscript, he or she may require the suggestions of the other member of editorial board or referees.

C. Instancy

A referee invited to the journal for the evaluation of a manuscript should inform the editor about the acceptance in 7 days. The referee should complete the evaluation in 15 days and the corresponding author(s) should download the revised manuscript in 15 days. The requested reading time for the last version of the manuscript by the corresponding author is only 3 days.

D. Confidentiality (Privacy Statement)

Personal information such as names and electronic mail addresses are only used for the scientific purposes of the journal. Other than these purposes this information will not be used and will not be shared with the third parties. The manuscripts sent to referees for assessment are kept as confidential documents. The manuscripts are not shown to other people and the contents of them should not be discussed. If it is necessary, reviewers may need suggestions from their colleagues after editorial permission. The editor may give that permission only in the presence of exceptional condition. The confidentiality rules are also valid for the referees not accepting the assessment of the manuscript.

E. Objectivity principles

In the evaluation process, no personal criticism of the authors should be done. The evaluations should contribute to the development of works and be objective.

F. Citation to reference

The referees should inform the authors if there are any citations that are not referred in the manuscript. The referees should pay particular attention to the citations that do not refer to the subject or to the citations that coincide with similar works. The referees should inform the editors if any publications that have similarity to any previously published work or information are recognized.

G. Information and Conflict of Interest

The referees should not agree to make any evaluation if they have any relation with any author, company or institution in which they are tasked to evaluate their work and inform the editor. The referees may not use the unpublished works or sections of the works submitted for evaluation in their own work without the written consent of the author(s). The information and ideas obtained during the assessment should be kept secret by the referees and should not be used for their own interests. These rules include those who refuse the manuscript assessment.

H. Prevention of Plagiarism

J of Biotechnology and Strategic Health Research(J) of BSHR reports the similarity rates of the articles through the iThenticate and Turnitin programs and shows the care and sensitivity required to prevent plagiarism.

THE WITHDRAW OF THE ARTICLE MUST BE WITH THE APPROVAL OF ALL AUTHORS.

Corresponding Address

Prof. Dr. Mustafa Altındaş
Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası,
KORUCUK, 54200, Sakarya

Dergi Yazı Gönderimi Sayfası:

<http://dergipark.gov.tr/bshr>

E-mail:

jbiosad@gmail.com, maltindis@gmail.com

Phone: +90 (264) 295 72 77

Fax: +90.264.295 6629



DERLEME / REVIEW

1 Effects of Epigenetic Regulation on Cancer*Epigenetik Düzenlemenin Kansere Üzerine Etkileri*

Muhammet Mesut Nezir Engin, Esra Özen Engin, Recep Eröz, Görkem Dülger, Hüceyin Yüce

DOI: 10.34084/ bshr.869351

8 Living With Covid-19 Is A Reality Among Dental Fraternity: A Reflection*Dış Hekimliğinde Covid-19 İle Yaşamak Gerçeği: Bir Yansıma*

Muhd Firdaus Che Musa, Syarifah Haizan Binti Sayed Kamar, Yang Rafidah Hassan

DOI:10.34084/bshr.875039

12 Bağırsak Mikrobiyotası ve Toll Benzeri Reseptörler Arasındaki İlişki: Bağışıklık ve Metabolizma*The Relationship Between Intestinal Microbiota and Toll-Like Receptors: Immunity and Metabolism*

Selen Güçlü Durguna, Asuman Deveci Özkan

DOI:10.34084/ bshr.903730

22 Fungal mikrobiyom; Mikrobiyom*Fungal microbiome; Mycobiome*

Sema Aşkın Keçeli, Mustafa Altındış

DOI: 10.34084/ bshr.919990

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLES

33 Frequency of Thrombocytopenia in Intensive Care Patients and Related Factors*Yoğun Bakım Hastalarında Trombositopeni Sıklığı ve İlişkili Faktörler*

Cem Ece

DOI:10.34084/bshr.843462

44 Kan Kültürlerinden İzole Edilen Nonfermentatif Gram Negatif Bakterilerin Çeşitli Antibiyotiklere Direnç Durumları*Resistance States of Nonfermentative Gram Negative Bacteria Isolated from Blood Cultures to Various Antibiotics*

Yeliz Tanrıverdi Çaycı, Gülşah Karacan, Demet Gür Vural, Kemal Bilgin, Asuman Birinci

DOI: 10.34084/ bshr.844478

50 Kronik Hepatit C Enfeksiyonlu Hastalarda Genotip Dağılımı ve Risk Faktörleri*Genotype Distribution and Risk Factors in Patients with Chronic Hepatitis C Infection*

Arzu Altunçekiç Yıldırım, Celali Kurt, Ali Seydi Alpay, Ahmet Doğan

DOI: 10.34084/ bshr.846410

57 Kronik Hepatit B Hastalarında Vitamin D Düzeylerinin Değerlendirilmesi*Evaluation of Vitamin D Levels in Chronic Hepatitis B Patients*

Fatma Meral İnce, Mustafa Kemal Çelen, Hasan İnce, İrem Akdemir Kalkan

DOI: 10.34084/ bshr.852727

65 The effect of Covid-19 on emergency surgical cases. Data from a high-volume city. Covid-19 Emergency Surgery*Covid-19'un acil cerrahi vakalar üzerindeki etkisi. Yüksek hacimli bir şehirden veriler Covid-19 Acil Cerrahi*

Barış Mantoğlu, Emre Gönüllü, Enis Dikicier, Ahmet Tarık Harmantepe, Ali Muhtaroglu, Selman Çınar, Orhan Yağmurkaya, Metin Şenol, Zahide Kurt, Mertcan Akçay, Uğur Can Dülger, Zülfü Bayhan, Fatih Altıntoprak, Belma Koçer, Fehmi Çelebi

DOI: 10.34084/ bshr.869587

71 Investigation Of The Relationship Between Pelvic Girdle Pain And Interpubic Distance*Pelvik Halka Ağrısı ile İnterpubik Mesafe Arasındaki İlişkinin İncelenmesi*

Elif Terzi, Özgür Kaya

DOI: 10.34084/ bshr.888138

78 COVID-19 Pandemisi Sırasında Canlı Donör Böbrek Nakli: Tek Merkez Deneyimi*Living Donor Kidney Transplantation During The COVID-19 Pandemic: A Single Center Experience*

Necattin Fırat, Emrah Akın, Hamad Dheir, Fehmi Çelebi, Enes Sarıgedik, Merve Yiğit, Fatih Altıntoprak

DOI: 10.34084/ bshr.894480



OLGU SUNUSU / CASE REPORTS

85 A Rare Case of Bacteriemia Due to *Comamonas testosteroni*

Comamonas testosteroni'ye Bağlı Nadir Bir Bakteriyemi Olgusu







Tuğba Ayhancı, Tayfur Demiray, Burcu İnce, Ensar Özmen, Mohammed Sadeq, Ayhan Aydın, Selçuk Yaylacı

DOI: 10.34084/ bshr.898874



Effects of Epigenetic Regulation on Cancer

Epigenetik Düzenlemenin Kansere Etkileri

  Muhammet Mesut Nezir Engin¹,  Esra Özen Engin²,  Recep Eröz³,
 Görkem Dülger³,  Hüceyin Yüce³

¹ Sakarya University Training and Research Hospital, Department of Pediatrics, Sakarya

² Sakarya University Training and Research Hospital, Department of Internal Medicine, Subdivision of Medical Oncology, Sakarya

³ Düzce University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Düzce

ORCID ID: Muhammet Mesut Nezir Engin <https://orcid.org/0000-0002-0874-6857>,

Esra Özen Engin <https://orcid.org/0000-0002-5225-1456>, Recep Eröz <https://orcid.org/0000-0003-0840-2613>,

Görkem Dülger <https://orcid.org/0000-0002-1506-1549>, Hüceyin Yüce <https://orcid.org/0000-0002-6382-9209>

***Sorumlu Yazar / Corresponding Author:** Dr. Muhammet Mesut Nezir ENGİN, e-posta / e-mail: doktormesut@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 27-01-2021

Kabul Tarihi / Accepted: 31-03-2021

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2021

Engin M.M.N., Engin E.Ö., Eröz R., Dülger G., Yüce H. Effects of Epigenetic Regulation on Cancer, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2021;5(1):1-7

Abstract

Epigenetics is the science of biology that studies gene expression changes, which are not caused by changes in DNA sequence, but are also inherited. The molecular basis of epigenetics is a complex phenomenon and determines when and how certain genes are activated. Cancer is characterized as a disease in which cells reproduce uncontrollably and then spread. Cancer is a multifactorial complex disease caused by the accumulation of genetic and/or epigenetic changes. Epigenetic mechanisms include DNA methylation, histone modifications, and noncoding ribonucleic acid regulation. Epigenetic mechanisms affect the tumor behavior and thus the clinical course. Being a biomarker that will determine the diagnosis, treatment and prognosis will enable its use in the diagnosis and treatment of many cancers in the future. We believe that future studies on the relationship between epigenetic mechanisms and cancer will be hope for cancer treatment.

Keywords Epigenetic, Cancer, DNA Methylation, Histone Modifications, Non-coding RNAs

Öz

Epigenetik DNA dizisindeki değişikliklerden kaynaklanmayan, ama aynı zamanda kalıtsal olan gen ekspresyon değişikliklerini inceleyen biyoloji bilim dalıdır. Epigenetiğin moleküler temeli karmaşık bir olaydır ve belli genlerin ne zaman ve nasıl aktive edileceğini belirler. Kansere, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğaldığı ve daha sonra yayıldığı bir hastalık olarak karakterize edilir. Kansere, genetik ve / veya epigenetik değişikliklerin birikmesinin neden olduğu multifaktöryel bir hastalıktır. Epigenetik mekanizmalar, DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kodlanmayan ribonükleik asit regülasyonunu içerir. Epigenetik mekanizmalar tümör davranışını ve dolayısıyla klinik seyri etkiler. Tanı, tedavi ve prognozu belirleyecek bir biyobelirteç olması ileride birçok kanserin tanı ve tedavisinde kullanılmasını sağlayacaktır. Epigenetik mekanizmalar ile kanser arasındaki ilişkiye yönelik ileride yapılacak çalışmaların kanser tedavisi için umut olacağına inanıyoruz.

Anahtar Kelimeler

Epigenetik, Kansere, DNA Metilasyonu, Histon Modifikasyonları, Kodlanmayan RNA'lar

INTRODUCTION

As a science of biology, epigenetics studies gene expression changes, which are not caused by changes in DNA sequence, but are also inherited. In other words, it examines inherited and non-genetic phenotypic variations. Epigenetics was defined in 1942 by Conrad Waddington. The molecular basis of epigenetics is a complex phenomenon and determines when and how certain genes are activated. If we imagine an orchestra conductor playing the right instruments at the right time for a good musical performance to emerge, the epigenetic process can be compared to this conductor. In this process, while events such as cell renewal, gene imprinting and X chromosome inactivation are taking place, the disruption of the process causes health problems such as cancer, autoimmune and neurological diseases.¹⁻⁸

Cancer is characterized as a disease in which cells reproduce uncontrollably and then spread. Cancer is a multifactorial complex disease caused by the accumulation of genetic and/or epigenetic changes. Disruption of epigenetic regulation occurs early in cancer. Activation of oncogenes and/or loss of function of tumor suppressor genes play a role in cancer formation. As a result of these genetic and/or epigenetic changes, it leads to change in gene function, malignant transformation and plays an important role in the progression of cancer.⁹

Quite a few reports have been published on the relationship between epigenetics and cancer. In this review, we will discuss the effect of epigenetic regulation on cancer in the light of current literature data.

RESEARCH METHODS

Literature was searched using the keywords “Epigenetic, Cancer, DNA Methylation, Histone Modifications, Non-coding RNAs” in English databases including PubMed / Medline, ISI Web of Science, SCOPUS, Google Scholar etc. Relevant parts of the appropriate articles were used for the writing of the manuscript.

Epigenetic Mechanisms and Cancer

Epigenetic mechanisms are essential for normal development and maintenance of tissue specific expression. Tissue-specific epigenetic mechanisms are variable, adapted to specific cellular events not only during development but throughout life. It is possible to explain how cells and organisms with the same genome have different phenotypes with epigenetics.¹⁰⁻¹¹

Epigenetic mechanisms include DNA methylation, histone modifications, and noncoding ribonucleic acid regulation. Collectively, epigenetic mechanisms determine chromatin architecture, accessibility of genetic loci to transcriptional machinery, and gene expression levels.

1. DNA Methylation

DNA methylation is an epigenetic mechanism that is effective in the triggering, progression and metastasis process of the cancer mechanism. It is effective in cancer in two ways: global DNA hypomethylation and promoter DNA hypermethylation. Global hypomethylation was discovered in the 1980s and can be defined as a decrease in 5-methylcytosine content in the whole genome. Whole genome hypomethylation is mainly seen in repetitive sequences such as Alu, LINE-1 and Sata, which make up more than 40% of the genome and are normally highly methylated. Whole genome hypomethylation is detected in almost all cancers and increases the progression of cancer by causing genomic instability.^{5,12-14}

DNA methylation is observed in regions where CpG sequences are dense, which are formed by sequencing of cytosine (C) and guanine (G) pairs in the genome. CpG islets are regions with greater than 500 base pairs and a GC content of more than 55%. CpG islets are usually located in the promoter regions of genes. CpG islets in housekeeping and regulatory genes that must be constantly expressed in the organism are regions resistant to DNA methylation. However, CpG sequences in heterochromatin regions such as repeat sequences and transposons have a high DNA

methylation rate. With the methylation of these regions, the transcription event is suppressed and the intra-genome movement of such structures is prevented and the stable structure of the chromosome is preserved. Changes in the methylation level of CpG islets may be associated with cancer.^{15,16}

DNA methylation plays a role in many biological events such as physiological embryonic development in the genome, inactivation of transposable elements, regulation of chromatin structure, genomic imprinting, X chromosome inactivation, regulation of gene expression. This covalent modification is catalyzed by DNA methyltransferase (DNMT) enzymes. DNMT1 is required for the continuity of methylation present in DNA, while DNMT3A and DNMT3B are essential for de novo DNA methylation.¹⁷

Global DNA hypomethylation has been associated with the occurrence of prostate, head-neck, hepatocellular and brain cancer in particular. Methylation is one of the main mechanisms that inactivate tumor suppressor genes. Hypermethylation of the promoter region in tumor suppressor genes has been shown in the literature as von Hippel-Lindau (VHL) in renal cell carcinoma, Retinoblastoma (Rb) in sporadic retinoblastoma and Cadherin-1 (CDH1) in hepatocellular carcinoma.¹⁸⁻²¹

Let's review some of the studies on this subject in recent years. Liu and colleagues tried to identify DNA methylation markers to distinguish cancer samples from corresponding normal samples in pan-cancers. In this study, full genome methylation data of 27 cancer types containing 10,140 cancer samples and 3386 normal samples were collected. In cell-free DNA methylation data of 163 prostate cancer samples, the CpG markers achieved the sensitivity as 100%, and the promoter markers achieved 92%. For both marker types, the specificity of normal whole blood was 100%. In summary, as a result of this study, methylation markers were determined to diagnose pan cancers that can be applied to liquid biopsy of cancers.²² Parashar

et al., In their study on DNA methylation signatures of breast cancer in peripheral T-cells, point to the possibility of using DNA methylation signatures as a non-invasive method for the early diagnosis of breast cancer and its progression.²³ Zhang et al. investigated specific prognosis subtypes based on DNA methylation status using 669 breast cancers in their study on specific breast cancer prognosis-subtype distinctions based on DNA methylation patterns. As a result of the study, these specific classifications by DNA methylation can explain the heterogeneity of previous molecular subgroups in breast cancer and will help in the development of personalized treatments for the new specific subtypes.²⁴

The role of DNA hypermethylation in cancer diagnosis and treatment;²⁵⁻²⁸

- As hypermethylation occurs in the early stages of carcinogenesis, it can be used for early diagnosis in cancer.
- It can be used to evaluate response to chemotherapeutic agents.
- Because methylation is rare in normal cells and is reversible, unlike mutations, it has come to the fore in cancer treatment.
- DNA methyltransferase (DNMT) inhibitors, called demethylated agents, cause demethylation of the genome, leading to a decrease in tumor formation and an increase in the expression of tumor suppressor genes.
- DNMT inhibitors are used in the treatment of solid tumors and hematological malignancies.

2. Histone Modifications

The DNA molecule is surrounded by histone and non-histone proteins in the cells and is found in the nucleoprotein structure called chromatin. In 1964, Vincent Allfrey prophetically surmised that histone modifications might have a functional influence on the regulation of transcription. Histone modification plays an important role in the post-translational regulation of a gene. These post-trans-

lational modifications include methylation, acetylation, ubiquitination, phosphorylation, glycosylation, sumo-lation and the like reactions. Histone modifications are involved in epigenetic mechanisms such as DNA repair and replication during cell division, gene transcription, heterochromatin formation, and X chromosome inactivation.^{10,29-31}

The great variety in histone modifications reveals considerable complexity that is slowly beginning to be explained. Histone modifications are reversible and dynamic. In all genome studies carried out so far, it has been revealed that various histone modifications in a specific genome region play a role in the active or suppressed chromatin structure. Many of the proteins that modify or bind these histone modifications are misregulated in cancer.^{8,32}

The most studied histone modification is acetylation and methylation. Hyperacetylation is found in actively transcribing euchromatin. Hypoacetylation is found in heterochromatin and transcriptionally located in silent genomic regions. Histone acetylation and deacetylation are processes in which lysine residues protruding from the histone core of the nucleosome in the N-terminal tail are acetylated and deacetylated as part of gene regulation. Histone acetylation and deacetylation are essential parts of gene regulation. Histone acetylation is catalyzed by histone acetyltransferase (HAT), deacetylation histone deacetylase (HDAC) enzymes.³³⁻³⁴

As a result of advanced technological applications made today, it has been shown that chromatin changes occur during tumor initiation and progression. Loss of acetylation and increase in methylation in H4 histone protein is a common change observed in the early stages of carcinogenesis. The reduction of histone acetylation is important in carcinogenesis. This situation is associated with low HAT activity or increased HDAC activity. Molecular changes that occur with the disruption of the balance between HAT and HDAC activities are observed at the basis of many

cancers. HDAC enzymes show pro-oncogenic effects by protecting genes that are effective in differentiation, apoptosis and transcriptional silent cell cycle. The increasing in HDAC activity occurs by multiple mechanisms. Global histone hypoacetylation as a result of HDAC overexpression is characteristic of many cancers. Mutation and/or aberrant expression of HDAC subtypes have been detected in many diseases, including cancer. In studies conducted in the literature, an increase in HDAC expression has been found in cancer cell lines in colon, gastric, renal, prostate, neuroblastoma, breast and cervical cancer.^{10,21,35,36}

“HDAC inhibitors” effective on epigenetic mechanisms have begun to be used as cancer treatment agents. HDAC inhibitors increase the acetylation of histones by disrupting the vicious cycle that occurs in cancer, it allows the genes that become silenced in cancer to be expressed again and the malignant phenotype to return.^{8,34,37}

3. Non-coding RNAs

The information in the genetic material of developed living cells is transferred as messenger RNA (mRNA). It is then transported to the ribosome as mRNA and protein synthesis takes place. But not every RNA synthesized from DNA can be converted into protein, these RNAs that cannot be translated into protein are called “non-coding RNAs” (ncRNA). With the development of next generation sequencing techniques, surprising data have been found as a result of whole genome sequencing. The finding of approximately 20.000 protein-coding genes, corresponding to less than 2% of the total genome of the human genome, has supported that most of the transcriptome is constructed with ncRNA. It is now known that RNAs, which were seen as a simple information carrier between the information store and DNA-protein before, play a very important role in the development of organisms. NcRNAs are RNAs that cannot be translated into protein and they are a new class of RNA molecules that perform many basic regulatory functions in eukaryotes.³⁸⁻³⁹

RNA sequencing studies have shown that the origin of ncRNAs are anti-sense transcripts of protein-encoding genes, bidirectional promoter transcripts, intronic transcripts, enhancer in transcription, and repetitive sequences. ncRNAs are involved in many biological events such as cellular defense, transcriptional gene silencing, and chromosome remodeling. Short ncRNAs refer to ncRNAs that are shorter than 50 nucleotides in length, while long ncRNAs (lncRNAs) refer to ncRNAs longer than 200 nucleotides. The most studied and known group of short ncRNAs are miRNAs. Disruption of miRNA regulation has been shown in all human malignancies. There are miRNAs that act as oncogenes (oncomir) as well as those that act as tumor suppressors. lncRNAs are known to have important roles in many biological events such as stress response, development, embryonic stem cell potential, chromatin remodeling, cell cycle, migration and metabolism. Its contribution to cancer formation is different. The data obtained show that the main role of lncRNAs guides the chromatin modifying complex. lncRNAs are known to have important roles in many biological events such as stress response, development, embryonic stem cell potential, chromatin remodeling, cell cycle, migration and metabolism. Its contribution to cancer formation is different. The data obtained show that the main role of lncRNAs guides the chromatin modifying complex. lncRNAs can function as oncogene or tumor suppressors during cancer progression. Further studies on the roles and mechanisms of lncRNAs in cancer have identified new lncRNA-based treatment strategies in the treatment of human cancers.⁴⁰⁻⁴⁵

Let us examine in detail two of the studies in the literature on non-coding RNAs. Song et al reached some conclusions in their study on non-coding RNAs. These results suggest that non-coding RNAs can alter the expression of proteins in cancer networks. Here, the authors reveal a regulatory network in gastric cancer; thereby kladuin-4 expression is reduced by specific miRNAs, which then bind by specific lncRNAs acting as competitive endogenous RNAs (ceRNAs) resulting in increased expression of kladuin-4.⁴⁶ Smolander et al conducted a study comparing biological

information contained in mRNA and non-coding RNAs for classification of lung cancer patients. As a result of this study, the authors underline the importance of general ncRNAs in understanding the complex etiology of lung cancer and recommend similar studies for other types of cancer and possibly other complex disorders.⁴⁷

Nucleosome Remodeling and Epigenetics

Recognized roles for nucleosome remodeling elements involve local nucleosome remodeling at regulatory factors to affect specific gene expression programs, as well as assuring the completeness of the chromatin fibre by nucleosome formation and spacing, and lastly their role in the changing of histone versions. Remodeling elements may have other, less reconnoitered functions as well. Remodelers have been shown to use ATP-dependent DNA translocase activities to modulate the chromatin assembly of non-histone substrates. As a result, nucleosome remodeling enzymes are involved in the assembly and propagation of epigenetic chromatin states.⁴⁸ Studies on nucleosome remodeling and epigenetics are few. In February 2021, Feng et al's article on nucleosomes and epigenetics from a chemical perspective was published. In this article, it was mentioned that with the continuous development of research approaches such as Cryo-EM, FRET and next-generation sequencing for genome-wide analysis of nucleosomes, understanding of nucleosomes is getting deeper and deeper.⁴⁹ More precise information will be obtained as a result of future studies on this subject.

Epigenetics in Nutrigenomics

Today, due to the change in lifestyle and eating habits, people are more at risk for diet-related diseases and cancers. Studies have found that dietary changes significantly reduce the risk of disease. Nutrigenomics is a relatively new discipline, but it has enormous potential that may apply to the prevention and management of some carcinomas and diseases. Omega 3 fatty acids are the best example of nutrient and gene interaction that do not involve DNA methylation; Some bioactive food compounds have a proven role

in cancer prevention through an epigenetic mechanism. Folate, zinc, and selenium have anticancer properties that are involved in DNA repair. In addition, consumption of multivitamins has been shown to inhibit methylation of cancer cells. As a result, nutrigenomic status has an effect on cancer by affecting epigenetic modifications.⁵⁰

Let's review some of the researches and articles in the literature on epigenetics in nutrigenomics. In an article by Dadon et al on vitamin A and epigenetics, they found that retinoic acid is a powerful agent that can induce changes in epigenetic modifications that produce various effects on the phenotype⁵¹. Bakulski et al examined the data of 249 families on prenatal multivitamin use and MTHFR genotype are associated with newborn cord blood DNA methylation in their study. Health history and biological samples were collected from the mothers, fathers, older probands with autism spectrum disorder, and baby siblings. Families were followed from pregnancy until the subsequent child was 36 months of age. Multivitamin intake before maternal pregnancy was found to be associated with cord blood methylation depending on the maternal MTHFR genotype⁵². Levine et al's study on the relationship between the maternal use of folic acid and multivitamin supplements before and during pregnancy and the risk of autism spectrum disorder in children, the data of 45,300 children were analyzed. Maternal exposure to folic acid and multivitamin supplements before and during pregnancy was associated with a reduced risk of ASD in offspring compared to offspring of mothers without such exposure⁵³.

CONCLUSION

Understanding the importance of epigenetic mechanisms in cancer as a result of the studies carried out has brought cancer diagnosis and treatment to a different dimension. Although it passes the replication, transcription and translation stages in protein formation, the answer to when, where, how and to what extent these stages are hidden within epigenetic mechanisms. Epigenetic mechanisms affect the tumor behavior and thus the clinical course. Being a

biomarker that will determine the diagnosis, treatment and prognosis will enable its use in the diagnosis and treatment of many cancers in the future. Since multivitamin consumption inhibits methylation of cancer cells, nutrigenomine's effect on cancer by affecting epigenetic modifications is promising. We believe that future studies on the relationship between epigenetic mechanisms and cancer will be hope for cancer treatment.

Conflict of Interest

None declared by the authors.

Financial Disclosure

None declared by the authors.

References

1. Seo JY, Park YJ, Yi YA, Hwang JY, Lee IB, Cho BH, et al. Epigenetics: general characteristics and implications for oral health. *Restor Dent Endod* 2015;40(1):14-22.
2. Meissner A, Mikkelsen TS, Gu H, Wernig M, Hanna J, Sivachenko A, et al. Genome-scale DNA methylation maps of pluripotent and differentiated cells. *Nature* 2008; 454(7205):766-770.
3. Bond DM, Finnegan EJ. Passing the message on: inheritance of epigenetic traits. *Trends Plant Sci* 2007; 12(5):211-216.
4. Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol* 2010; 28(10):1057-1068.
5. Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med* 2003; 349(21):2042-2054.
6. Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* 2002; 3(6):415-428.
7. Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell* 2007; 128(4):683-692.
8. Asano T. Drug Resistance in Cancer Therapy and the Role of Epigenetics. *J Nippon Med Sch*. 2020;87(5):244-251.
9. Kanwal R, Gupta S. Epigenetic modifications in cancer. *Clin Genet* 2012;81(4):303-11.
10. Sawan C, Vaissiere T, Murr R, Herczeg Z. Epigenetic drivers and genetic passengers on the road to cancer. *Mutat Res* 2008;642(1-2):1-13.
11. Gürel Ç, Nursal AF, Yiğit S. Epigenetics and Cancer. *Türkiye Klinikleri J Radiat Oncol-Special Topics* 2016;2(1):45-51.
12. Feinberg AP, Tycko B. The history of cancer epigenetics. *Nat Rev Cancer* 2004; 4(2):143-153.
13. Ehrlich M. DNA methylation in cancer: to much, but also too little. *Oncogene* 2002; 21(35):5400-5413.
14. Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med* 2008; 358(11):1148-1159.
15. Yegnasubramanian S, Kowalski J, Gonzalgo ML, Zahurak M, Piantadosi S, Walsh PC et al. Hypermethylation of CpG islands in primary and metastatic human prostate cancer. *Cancer Research*. 2004;64:1975-1986.
16. Jeronimo C, Varzim G, Henrique R, Oliveria J, Bento M et al. I105V polymorphism and promoter methylation of the GSTP1 gene in prostate adenocarcinoma. *Cancer Epidemiology, Biomarkers ve Prevention*. 2002;11:445-450.
17. Qu Y, Dang S, Hou P. Gene methylation in gastric cancer. *Clin Chim Acta* 2013;424:53-65.
18. Kim YI, Giuliano A, Hatch KD, Schneider A, Nour MA, Dallal GE, et al. Global DNA hypomethylation increases progressively in cervical dysplasia and carcinoma. *Cancer* 1994; 74(3):893-899.
19. Lin CH, Hsieh SY, Sheen IS, Lee WC, Chen TC, Shyu WC, et al. Genome-wide hypomethylation in hepatocellular carcinogenesis. *Cancer res* 2001; 61(10):4238-4243.
20. Bedford MT, van Helden PD. Hypomethylation of DNA in pathological conditions of the human prostate. *Cancer Res* 1987; 47(20):5274-5276.
21. Choi JD, Lee JS. Interplay between epigenetics and genetics in cancer. *Genomics Inform* 2013;11(4):164-73.
22. Liu B, Liu Y, Pan X, Li M, Yang S, Li SC. DNA Methylation Markers for Pan-Cancer Prediction by Deep Learning. *Genes (Basel)* 2019;10(10):778.
23. Parashar S, Cheishvili D, Mahmood N, Arakelyan A, Tanvir I, Khan HA, et al. DNA methylation signatures of breast cancer in peripheral T-cells. *BMC Cancer* 2018;18(1):574.
24. Zhang S, Wang Y, Gu Y, Zhu J, Ci C, Guo Z, et al. Specific breast cancer prognosis-subtype distinctions based on DNA methylation patterns. *Mol Oncol*. 2018;12(7):1047-1060.
25. Mikeska T, Craig JM. DNA methylation biomarkers:cancer and beyond. *Genes (Basel)* 2014;5(3):821-64.
26. Hattori N, Ushijima T. Compendium of aberrant DNA methylation and histone modifications in cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2014;455(1-2):3-9.
27. Subramaniam D, Thombre R, Dhar A, Anant S. DNA methyltransferases:a novel target for prevention and therapy. *Front Oncol* 2014; 4:80.
28. Lewandowska J, Bartoszek A. DNA methylation in cancer development, diagnosis and therapy--multiple opportunities for genotoxic agents to act as methylome disruptors or remediators. *Mutagenesis* 2011;26(4):475-87.
29. Cohen I, Poreba E, Kamieniarz K, Schneider R. Histone modifiers in cancer: friends or foes? *Genes Cancer* 2011;2(6):631-647.
30. Ellis L, Atadja PW, Johnstone RW. Epigenetics in cancer: targeting chromatin modifications. *Mol Cancer Ther* 2009;8(6):1409-20.
31. Allfrey VG, Faulkner R, Mirsky AE. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1964;51:786-794.
32. Dawson MA, Kouzarides T. Cancer Epigenetics: From Mechanism to Therapy. *Cell* 2012;150(1):12-27.
33. Brait M, Sidransky D. Cancer epigenetics:above and beyond. *Toxicol Mech Methods* 2011;21(4):275-88.
34. Lakshmaiah KC, Jacob LA, Aparna S, Lokanatha D, Saldanha SC. Epigenetic therapy of cancer with histone deacetylase inhibitors. *J Cancer Res Ther* 2014;10(3): 469-78.
35. Ropero S, Esteller M. The role of histone deacetylases (HDACs) in human cancer. *Mol Oncol* 2007;1(1):19-25.
36. Rajendran P, Williams DE, Ho E, Dashwood RH. Metabolism as a key to histone deacetylase inhibition. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2011;46(3):181-99.
37. Virani S, Colacino JA, Kim JH, Rozek LS. Cancer epigenetics: a brief review. *ILAR J* 2012;53(3-4):359-69.
38. Lakshmaiah KC, Jacob LA, Aparna S, Lokanatha D, Saldanha SC. Epigenetic therapy of cancer with histone deacetylase inhibitors. *J Cancer Res Ther* 2014;10(3): 469-78.
39. Ricciuti B, Mecca C, Crino L, Baglivo S, Cenci M, Metro G. Non-coding RNAs in lung cancer. *Oncoscience* 2014;1(11):674-705.
40. Mansoori B, Sandoghchian Shotorbani S, Baradaran B. RNA interference and its role in cancer therapy. *Adv Pharm Bull* 2014;4(4): 313-21.
41. Li PF, Chen SC, Xia T, Jiang XM, Shao YF, Xiao BX, et al. Non-coding RNAs and gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2014;20(18): 5411-9.
42. Rönna CG, Verhaegh GW, Luna-Velez MV, Schalken JA. Noncoding RNAs as novel biomarkers in prostate cancer. *Biomed Res Int* 2014;2014:591703.
43. Li G, Zhang H, Wan X, Yang X, Zhu C, Wang A, et al. Long noncoding RNA plays a key role in metastasis and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Biomed Res Int* 2014;2014: 780521.
44. Zhang J, Zhang P, Wang L, Piao HL, Ma L. Long non-coding RNA HOTAIR in carcinogenesis and metastasis. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2014;46(1):1-5.
45. Jung G, Illan EH, Moreira L, Balaguer F, Goel A. Epigenetics of colorectal cancer: biomarker and therapeutic potential. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2020 Feb; 17(2): 111-130.
46. Song YX, Sun JX, Zhao JH, Yang YC, Shi JX, Wu ZH, et al. Non-coding RNAs participate in the regulatory network of CLDN4 via ceRNA mediated miRNA evasion. *Nat Commun*. 2017;8(1):289.
47. Smolander J, Stupnikov A, Glazko G, Dehmer M, Emmert-Streib F. Comparing biological information contained in mRNA and non-coding RNAs for classification of lung cancer patients. *BMC Cancer*. 2019;19(1):1176.
48. Becker PB, Workman JL. Nucleosome Remodeling and Epigenetics. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5(9):a017905.
49. Feng Y, Endo M, Sugiyama H. Nucleosomes and Epigenetics from a Chemical Perspective. *Chemochem*. 2022;22(4):595-612.
50. Nasir A, Bullo MMH, Ahmed Z, Imtiaz A, Yaqoob E, Jadoon M. Nutrigenomics: Epigenetics and cancer prevention: A comprehensive review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2020;60(8):1375-1387.
51. Dadon SBE, Reifen R. Vitamin A and the epigenome. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2017;57(11):2404-2411.
52. Bakulski KM, Dou JF, Feinberg JI, Brieger KK, Croen LA, Hertz-Picciotto I. Prenatal Multivitamin Use and MTHFR Genotype Are Associated with Newborn Cord Blood DNA Methylation. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(24):9190.
53. Levine SZ, Kodesh A, Viktorin A, Smith L, Uher R, Reichenberg A, Sandin S. Association of Maternal Use of Folic Acid and Multivitamin Supplements in the Periods Before and During Pregnancy With the Risk of Autism Spectrum Disorder in Offspring. *JAMA Psychiatry*. 2018;75(2):176-184.



Living With COVID-19 Is A Reality Among Dental Fraternity: A Reflection

Diş Hekimliğinde COVID-19 İle Yaşamak Gerçeği: Bir Yansıma

  Muhd Firdaus Che Musa¹,  Syarifah Haizan Binti Sayed Kamar¹,
 Yang Rafidah Hassan²

¹ Kulliyah of Dentistry, International Islamic University Malaysia, Dep. of Paediatric Dentistry and Dental Public Health, Pahang, Malaysia

² Ministry of Health Malaysia, Specialist Clinic of Orthodontics, Sungai Petani Dental Clinic, Kedah, Malaysia

ORCID ID: Muhd Firdaus Che Musa <https://orcid.org/0000-0003-0208-5207>,

Syarifah Haizan Binti Sayed Kamar <https://orcid.org/0000-0002-3826-5712>, Yang Rafidah Hassan <https://orcid.org/0000-0001-6972-3379>,

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Asst. Prof Dr Muhd Firdaus bin Che Musa, e-posta / e-mail: muhdfirdaus83@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 15-02-2021

Kabul Tarihi / Accepted: 18-03-2021

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2021

Che Musa M.F., Kamar S.H.S., Hassan Y.R. Living with Covid-19 is a reality among dental fraternity: A reflection, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2021;5(1):8-11

Abstract

This paper aims to deliberately discuss the impact of the COVID-19 pandemic on the dental fraternity, specifically on how dentistry is practiced, and at the same time to rethink the future of dentistry. It is undeniably that the pandemic has affected a country's economy, and it has negatively influenced people's behavior in seeking and maintaining their dental health. Concern has been raised on whether it is safe to visit dental facilities. Several guidelines based on the latest evidence provided by local regulatory authorities to educate and ensure the dental practitioners practice strict precautionary and selective case evaluation approaches. Treatments to patients with symptoms of COVID-19 should be delayed and referred to the relevant healthcare providers. This will encourage the public to seek high quality and safe dental care. Nevertheless, the current changes to practice and restrictions on aerosol-generating procedures provide an opportunity to re-orientate dental care towards a less invasive and more preventive approach, expansion of dental workforce roles and responsibilities and working together in a team to tackle and control the pandemic. A radical reform of oral healthcare systems is therefore requiring a bold decision-making from our political and dental industry leaders.

Keywords COVID-19; dental; Malaysia; safe; healthcare

Öz

Bu makale, COVID-19 salgınının diş hekimliği mesleği üzerindeki etkisini, özellikle diş hekimliğinin nasıl uygulandığını kasıtlı olarak tartışmayı ve aynı zamanda diş hekimliğinin geleceğini yeniden düşünmeyi amaçlamaktadır. Salgının bir ülkenin ekonomisini etkilediği ve insanların diş sağlıklarını arama ve sürdürmedeki davranışlarını olumsuz etkilediği inkar edilemez. Diş hekimliği tesislerini ziyaret etmenin güvenli olup olmadığı konusunda endişeler artmıştır. Diş hekimlerinin sıkı ihtiyatı ve seçici vaka değerlendirme yaklaşımlarını uygulamalarını sağlamak ve eğitmek için yerel düzenleyici makamlar tarafından sağlanan en son kanıtlara dayanan birkaç kılavuz. COVID-19 semptomları olan hastalara yapılan tedaviler ertelenmeli ve ilgili sağlık hizmeti sağlayıcılarına yönlendirilmelidir. Bu, halkı yüksek kaliteli ve güvenli diş bakımı aramaya teşvik edecektir. Bununla birlikte, pandemi, aerosol üreten prosedürler üzerindeki uygulamadaki mevcut değişiklikler ve kısıtlamalar, diş bakımını daha az invazif ve daha önleyici bir yaklaşıma doğru yeniden yönlendirme, diş hekimliği iş gücü rollerinin ve sorumluluklarının genişletilmesi ve bunların üstesinden gelmek ve kontrol etmek için bir ekipte birlikte çalışmak için bir fırsat sağlar. Bu nedenle ağız sağlığı sistemlerinde radikal bir reform, politik ve diş hekimliği endüstrisi cesur bazı kararlar almayı gerektiriyor.

Anahtar Kelimeler COVID-19; Diş Hekimliği; Malezya; güvenlik; sağlık

INTRODUCTION

The year 2020 is an unforgettable, tough year for everyone. The identification of a new, tiny, yet contagious SARS-CoV-2 coronavirus in 2019^{1,2} has caused a worldwide lockdown which has a huge impact, particularly on a country's economy, social, and people's emotional well-being.^{3,4} It has been said that pandemics are lived forward and understood backwards. The COVID-19 pandemic is no exception, and living with COVID-19 virus is becoming a reality among the public and dental fraternity.^{5,6} The pandemic has a significant impact on patients and dental professionals.^{6,7}

The outbreak has negatively influenced people's behavior to seek and maintain their general and dental health.^{1,6} During this period, there is limited access to dental care.^{6,8} Most people take 'wait and see' approach in dealing with their dental problems and only seek care when the symptoms become unbearable or affecting their daily lives. This situation could be due to their concern on whether it is safe to seek dental treatments during this pandemic era. Undoubtedly, this situation could lead to the exacerbation of dental conditions and lead to more serious issues and unnecessary tooth loss.⁶⁻⁸ Moreover, due to economic and social restriction, it further widening oral health inequalities.^{9,10} Considering there are great needs and demands for dental care,^{5,6,8} it is important to and find a sustainable way forward to embrace the new way of living with the virus. This is particularly important to reassuring the public to encourage them to seek high quality and safe dental care.^{6,10}

Dentists around the world have been treating patients during the pandemic for nearly a year. In the early phase of the pandemic, regulatory guidelines recommended that dental professionals only provide emergency and non-aerosol-generating procedures (non-AGP) to patients.^{5,6,10} In this case, dental professionals would only attend dental emergencies like swelling, uncontrollable pain, bleeding, infection, trauma to teeth or bones, as well as any other

conditions that could be harmful without immediate care.⁷ It has been acknowledged that strict infection control and minimal touch dentistry are the keys in preventing dental operatory contamination.^{2,5} Despite cases in other countries where asymptomatic COVID-19 patients sought dental care without knowing they were infected, there is yet any reported clusters of airborne diseases, including COVID-19 to spread during dental procedures.¹¹ This could be due to the strict precautionary and selective case evaluation undertaken by dental professionals. This report is backed by a new study published in one of the world's leading medical journal, *The Lancet*, in August 2020.⁵

In Malaysia, clinicians attending patients should follow the local regulatory authorities' guidelines,¹² specifically from the Oral Health Program (OHP), Ministry of Health Malaysia (MOH).¹³ These guidelines include using the use of appropriate standard Personal Protecting Equipment (PPE) and maintaining efficient air circulation and ventilation. Dental treatments should be minimally invasive, requires minimal contact, and have no or limited aerosol contact. Patients should be informed about changes in the treatment procedures and the cost of treatments as part of the COVID-19 control measures. The clinic disinfection protocols during pre-, during, and post-treatment will be strictly followed. Treatments to patients with symptoms of COVID-19 should be deferred, and they should be referred to as the COVID-19 screening unit. The followed recommendation needs to be refined based on the latest evidence and rigorously evaluated by experts during the crisis.¹³ At the time this paper is written, all dental procedures are allowed, including the AGP. However, COVID pre-screening assessment and strict precautionary approaches were undertaken before starting any dental procedures, based on the patient's risk status and locality.

Before making a dental appointment, an initial telephone triage could be conducted to assess patients' COVID risk status, vulnerability and their potential threat to the dental team, other patients, and their companions.⁶ Further-

more, medical professionals will refer to the MySejahtera app developed by the Ministry of Health (MOH), which provides live national tracking of reported cases to track COVID-19 cases and identify high-risk Covid-19 infection areas. A virtual triage using photos, videos, and video-calling can also help dental professionals screen and prioritize actual dental emergencies requiring immediate attention. Nevertheless, this process requires careful planning as it may have implications in terms of the existing law and regulations.

Based on the recent events, we can see that the globalized life has become indefensible, and our healthcare systems are not prepared for the next pandemic. As we try to move forward, there is a possibility that our lives will be significantly different from the one we had before the Covid-19 pandemic.⁴ Nevertheless, there is a light at the end of the coronavirus tunnel. The COVID-19 pandemic might be ending soon with the possibility of global mass vaccination roll-out.^{4,14} However, it is important to note that vaccination only provides a reliable approach to control the pandemic rather than providing a cure for the disease^{3,4} In this point of time, our survival will depend on our current actions. Hence, we still need to practice social distancing measures to reduce the spread of the disease.

Moreover, as the upstream approach of movement control order (MCO) is no longer applicable due to economic restriction, we are now highly dependent on the downstream approach, "We Take Care of Our Own". There is a lot of work to be done, especially in bringing awareness to the public and making people re-evaluate our life priorities, including in general and oral health. Besides, given that movement restrictions may interrupt and compromise their chosen way of living and quality of life, it is crucial to find a holistic way to accommodate Malaysians' needs to maintain their social relationships, thus enhancing their psychosocial well-being. In this regard, while we will continue living our lives, our lives will be significantly different post-pandemic.¹⁵ We should revisit our priorities and

find a holistic and sustainable way forward to embrace living with the virus, while consistently seeking quality of life; both in general and dental healthcare, by renewing our interpretation of life norms.

Current restrictions on aerosol-generating procedures provide an opportunity to rethink the future of dentistry,^{6,7} focusing on re-orientating the dental care towards a less invasive and more preventive approach.¹⁰ In addition to that, we must also work collaboratively to tackle the shared risks for oral diseases and other non-communicable diseases.¹⁶ Health professionals and the public should find the best approach to meet patients' oral health care needs and demands while maintaining safe dental practices in this COVID 19 era. More public inputs and discussions on public health should be considered to provide the best health care. The existing dental care system needs to be more responsive and prioritize care for vulnerable groups with a high need for care.

In addition, the contribution of the wide cadres of the dental workforce, including supporting dental staff in controlling and preventing this pandemic through an effective team-working approach should also be acknowledged. They should also be given a privilege and an opportunity to expand their knowledge and skills in managing infectious diseases. As such, radical reform in the oral healthcare system requires brave and bold decision-making from our political and industry leaders.

References

1. Chau NVV, Thanh Lam V, Thanh Dung N, Yen LM, Minh NNQ, Hung LM, et al. The natural history and transmission potential of asymptomatic SARS-CoV-2 infection. *Clin Infect Dis.* 2020;21:234-240 <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa711>
2. Sakurai A, Sasaki T, Kato S, Hayashi M, Tsuzuki SI, Ishihara T, et al. Natural History of Asymptomatic SARS-CoV-2 Infection. *N Engl J Med.* 2020;383(9):885-6. 10.1056/NEJMc2013020
3. Duke Global Health Institute. Will Low-Income Countries Be Left Behind When COVID-19 Vaccines Arrive? Durham, NC: Duke Global Health Institute; 2020 [Available from: <https://globalhealth.duke.edu/news/will-low-income-countries-be-left-behind-when-covid-19-vaccines-arrive>.
4. Lopez G. The Covid-19 vaccine's 2 big challenges. *US Vox Media.* 2020.
5. Epstein JB, Chow K, Mathias R. Dental procedure aerosols and COVID-19. *The Lancet Infectious Diseases.* 2021 Apr;21(4):e73. 10.1016/S1473-3099(20)30636-8
6. Passarelli PC, Rella E, Manicone PF, Garcia-Godoy F, D'Addona A. The impact of the COVID-19 infection in dentistry. *Exp Biol Med (Maywood).* 2020;245(11):940-4. DOI: 10.1177/1535370220928905
7. Guo H, Zhou Y, Liu X, Tan J. The impact of the COVID-19 epidemic on the utilization of emergency dental services. *J Dent Sci.* 2020 Dec;15(4):564-567. doi: 10.1016/j.jds.2020.02.002.
8. Ahmadi H, Ebrahimi A, Ghorbani F. The impact of COVID-19 pandemic on dental practice in Iran: a questionnaire-based report. *BMC Oral Health.* 2020;20(1):354. doi: 10.1186/s12903-020-01341-x.
9. Marmot M. Society and the slow burn of inequality. *Lancet.* 2020;395(10234):1413-4. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30940-5.
10. Watt RG. COVID-19 is an opportunity for reform in dentistry. *The Lancet.* 2020;396:462. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31529-4.
11. Wilson NM, Norton A, Young FP, Collins DW. Airborne transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 to healthcare workers: a narrative review. *Anaesthesia.* 2020;75(8):1086-95. doi: 10.1111/anae.15093.
12. Che Musa MF, Hassan YF, Sayed Kamar SH, Ablah Z, Sup'at S, Rahman F, et al. Situation, challenges and potential reforms for healthcare systems of Malaysia and Bangladesh: overview of dental counterpart. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research.* 2019;3(3):225-36. DOI: 10.34084/bshr.716345
13. Oral Health Programme Malaysia. Guidelines COVID-19 Management No.5/2020. In: OHP MoHM, editor. Putrajaya 2020.
14. Win TL. How vaccines can reach the world's poorest 2020 4/01/2020. Available from: <https://www.weforum.org/agenda/2020/11/covid19-coronavirus-vaccine-health-distribution-equality>.
15. Che Musa MF, Ghazali AB. Penemuan vaksin bukan lesen abai SOP, norma baharu. *Berita Harian.* 2021.
16. Watt RG, Sheiham A. Integrating the common risk factor approach into a social determinants framework. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2012;40(4):289-96.



Bağırsak Mikrobiyotası ve Toll Benzeri Reseptörler Arasındaki İlişki: Bağırsıklık ve Metabolizma

The Relationship Between Intestinal Microbiota and Toll-Like Receptors: Immunity and Metabolism

 Selen Güçlü Durgun¹,   Asuman Deveci Özkan²

¹ Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Lokman Hekim Üniversitesi, Ankara

² Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Sakarya Üniversitesi, Sakarya

ORCID ID: Selen Güçlü Durgun, <https://orcid.org/0000-0003-3002-3919>, Asuman Deveci Ozkan <https://orcid.org/0000-0002-3248-4279>

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Asuman Deveci Özkan, e-posta / e-mail: deveci@sakarya.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 26-03-2021

Kabul Tarihi / Accepted: 06-04-2021

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2021

Güçlü Durgun S., Özkan Deveci A. Bağırsak Mikrobiyotası ve Toll Benzeri Reseptörler Arasındaki İlişki: Bağırsıklık ve Metabolizma, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2021;5(1):12-21

Öz

İntestinal kanal, mikrobiyota ile simbiyotik bir ilişkinin oluşmasına izin veren ve mikroorganizmaların invazyonunu kısıtlayan çeşitli stratejiler geliştirmiştir. Toll benzeri reseptörler (TLR), makrofajlar, dendritik hücreler (DC'ler), T lenfositler ve bağırsak epitel hücreleri dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde ifade edilen reseptörlerdir. Patojenlere özgü ve hayatta kalmaları için gerekli olan patojen ilişkili moleküler modelleri (MAMP) tanıyan patojen tanıma reseptörleri (PRR'ler) olarak görev yapmaktadırlar. İnsanda bağırsak mikrobiyotası ile bağırsak epitel hücreleri ve bağırsıklık hücreleri üzerindeki TLR'ler arasındaki etkileşimler, bağırsıklık sisteminin homeostazının korunmasına destek olmaktadır. TLR ilişkili yollar enerjiyi bağırsıklık yanıtına ayırmak için bağırsıklık hücrelerindeki içsel metabolizmayı düzenlemektedir. TLR2 aktivasyonu ile anti-inflamatuar yanıt sonrası kommensal bakteriler "patojenik olmayan" olarak tanınmaktadır. TLR4 gen ifadesi, obez veya tip 2 diyabet hastalarının adipoz doku, periferik kan veya kas dokusu örneklerinde ve obez farelerin adipoz dokularında artmakta ve insülin direnci ile ilişkili olmaktadır. TLR5 yoksun farelerin mikrobiyota kompozisyonlarındaki değişikliklerle ilişkili olan insülin direnci ve artan adipozite dahil olmak üzere metabolik sendrom geliştirmeye eğilimli oldukları bildirilmiştir. Ayrıca TLR antagonistlerinin kullanımı ile immünosupresyonun sağladığı faydalı etkiler metabolik ve kardiyovasküler hastalıklar için araştırılmaya devam etmektedir. Genetik ve çevre etkisiyle bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler, sorumlu konak bağırsıklık tepkisine neden olabilmekte ve mikrobiyota manipülasyonları ile hastalarda mikrobiyotanın yeniden programlanması erişilebilir ve ümit verici tedavi şekilleri sunabilmektedir. Bu nedenle, mikrobiyota ve bağırsıklık sistemi arasındaki ilişkinin metabolik parametreleri nasıl düzenleyeceği anlamak, metabolik hastalıkların tedavisinde ilerlemeler sağlayabilecektir.

Anahtar Kelimeler Bağırsak mikrobiyotası, TLR, metabolizma,bağırsıklık

Öz

The intestinal tract has developed various strategies that allow a symbiotic relationship with the microbiota and restrict the invasion of microorganisms. Toll-like receptors (TLRs) are expressed in a variety of cell types, including macrophages, dendritic cells (DCs), T lymphocytes, and intestinal epithelial cells. TLRs act as pathogen recognition receptors (PRRs) that recognize pathogen-associated molecular patterns (MAMP) specific to pathogens and essential for their survival. Interactions between intestinal microbiota in humans and TLRs on intestinal epithelial cells and immune cells support the maintenance of the homeostasis of the immune system. TLR-related pathways regulate intrinsic metabolism in immune cells to allocate energy to immune response. Commensal bacteria are recognized as "non-pathogenic" after anti-inflammatory response with TLR2 activation. TLR4 expression is increased in adipose tissue, peripheral blood or muscle tissue samples of obese or type 2 diabetes patients and in adipose tissues of obese mice and is associated with insulin resistance. TLR5-deficient mice have been reported to be prone to developing the metabolic syndrome including insulin resistance and increased adiposity, which is associated with changes in microbiota composition. In addition, the beneficial effects of immunosuppression with the use of TLR antagonists continue to be investigated for metabolic and cardiovascular diseases. The intestinal microbiota changes due to genetics and environmental influences can cause host immune response problems and certain microbiota manipulations and reprogramming of microbiota in patients can offer accessible and promising treatment options. Therefore, it is important to understand how the relationship between the microbiota and the immune system will regulate metabolic parameters which could lead to advances in the treatment of metabolic diseases.

Keywords Intestinal microbiota, TLR, metabolism, immunity

GİRİŞ

Gastrointestinal kanal insanda bakteri, fungus ve virüsler gibi farklı mikrobiyal popülasyonların kolonilerinden oluşmaktadır.¹ Bakteriler, 500-1000 farklı tür ile mikrobiyotadaki en büyük popülasyona sahip grubu oluşturmaktadır.^{1,2} Bu çeşitliliğin neden olduğu antijenik yük, konak ile bakteri arasındaki simbiyotik ilişki ve istilacı enterik patojenlere karşı koruyucu inflamatuvar yanıt sağlayabilen bağırsak tarafından tolere edilmektedir.

İntestinal kanal, mikrobiyota ile simbiyotik bir ilişkinin oluşmasına izin veren ve mikroorganizmaların bağırsak epitel bariyeri yoluyla invazyonunu kısıtlayan çeşitli stratejiler geliştirmiştir. Bu simbiyotik ilişki, bağırsaktaki zararlı bakteri sayısının minimumda kalmasını sağlamaktadır. Kommensal mikrobiyota üyeleri ise patojenlerle mücadele ederek, bağırsaktaki kolonizasyonlarını sınırlandırmaktadır.³ Buna ek olarak, Goblet hücrelerinden salgılanan musin glikoproteinleri, kalın bir mukus tabaka oluşturarak bakteri florası ile bağırsak epitel hücrelerini birbirinden ayıran fiziksel bir bariyer oluşturmaktadır.⁴ Mukoza hücreleri tarafından salgılanan birçok antibakteriyel faktör doğrudan mikrobiyotanın gelişimini düzenlemektedir.

Salgılanan immunoglobulin A'lar (IgA), intestinal mikroorganizmalara bağlanmakta ve epitel hücre tabakalarından invazyonlarını önleyerek kommensal bakterileri kontrol etmektedir. Antijene özgü IgA havuzu,⁵ Peyer plaklarından göç eden plazma hücreleri ya da epitelyal sinyallere cevap veren diğer mukoza-ilişkili lenfoid dokular tarafından üretilmektedir. Sağlıklı insan bağırsağında, mikrobiyal yükün düzenlenmesi ile sabit bir homeostaz sağlanmakta ve dengenin bozulması bağırsaklarda çeşitli patolojik durumlara neden olmaktadır. Bağırsak florasının patolojik bakterilerle homeostazının değişmesi "disbiyoz" adı verilen duruma neden olmaktadır. Bağırsak disbiyozu, normalde vitamin salgılayan, sindirime destek olan, bağırsak bariyerinin geçirgenliğini düzenleyen, enfeksiyonlardan koruyan ve patojenlerin çoğalmasını önleyen normal bakteri florasındaki değişiklik ile karakterize olan patolojik bir durumdur.⁶

Sonuç olarak, homeostazın disbiyoz veya immün yanıtın düzensizliği ile bozulması, inflamatuvar bağırsak hastalıklarına (IBD) duyarlılığı arttırabilmektedir.⁷

Toll benzeri reseptörler (TLR), makrofajlar, dendritik hücreler (DC'ler), T lenfositler, kanser ve bağırsak epitel hücreleri dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde ifade edilen tip I transmembran reseptörlerdir ve ligandları ile uyarılması ile aşağı yönlü bir sinyal iletimi başlatılarak bağışıklık sistemi ile ilgili genlerin ifadesini arttırmaktadırlar.⁸ Patojenlere özgü ve hayatta kalmaları için gerekli olan patojen ilişkili moleküler modelleri (MAMP) tanıyan patojen tanıma reseptörleri (PRR'ler) olarak görev yapmaktadırlar.⁹ İnsanda bağırsak mikrobiyotası ile bağırsak epitel hücreleri ve bağışıklık hücreleri üzerindeki TLR'ler arasındaki etkileşimler, bağışıklık sisteminin homeostazının korunmasına destek olurken hepatositler ve adipositlerde de ifade edilmektedirler.¹⁰ TLR'lerin etkinlikleri inflamatuvar moleküller üretebilmelerine rağmen, karaciğer ve yağ dokusunda bulunan bağışıklık hücrelerine kıyasla düşük kalmakta ve bu hücrelerdeki TLR'lerin işlevini zorlaştırmaktadır.¹¹ TLR aktivasyonunun aracılık ettiği inflamasyon, yağ dokusu ve karaciğerdeki metabolizma ile ilgili genlerin ifadesinin azalmasına yol açmaktadır.¹² Düşük dereceli inflamasyon, artan bağırsak geçirgenliğine bağlı olarak obezite ve metabolik hastalıklarda sıklıkla görülmekte ve muhtemelen bağırsak mikrobiyotası tarafından üretilen moleküller periferik TLR'leri aktive etmektedir.¹³ TLR ilişkili yollar enerjisi bağışıklık yanıtına ayırmak için bağışıklık hücrelerindeki içsel metabolizmayı düzenlemektedir. Bu tür bir enerji yer değiştirmesinin hücreler arası seviyede mi yoksa organlar arası seviyede mi gerçekleştiği bilinmemektedir. Doğuştan gelen ve adaptif bağışıklıkta TLR'lerin işlevi ve TLR'lerin bağırsak mikrobiyotası ile etkileşim yoluyla konakçı bağışıklığını nasıl düzenlediği araştırma konuları arasında ilgi çekici olarak yer almaktadır.

Bu kapsamda bu derlemenin amacı, doğuştan gelen bağışıklık sistemi hücrelerinin önemli bir bileşeni olan TLR'lerin bağırsak mikrobiyotası ile etkileşiminin bağışıklık ve

metabolizma anlamında ele alınarak, TLR aktivasyonunun konakçı bağışıklığı üzerindeki rolünün metabolizma ile ilişkisinin ve mikrobiyota profili ile TLR'ler arasındaki bağlantının incelenerek literatüre bu konuda katkı sağlanmasıdır.

Toll-Benzeri Reseptörler (TLR'ler)

TLR'ler, 1985 yılında Drosophila'da tanımlanan Toll geni tarafından kodlanan proteine olan benzerliklerinden dolayı bu adı almışlardır. İnsanlarda toplam 10 adet TLR ifade edilirken; her TLR, belirli sinyal yolunun aktivasyonuna yol açan farklı MAMP'lere yanıt vermektedir. Yapısal olarak ise TLR'ler, hücre dışı bir adet lōsin açısından zengin tekrar alanı (LRR) ve bir adet hücre içi Toll/IL-1 reseptörü (TIR) alanının varlığı ile karakterize edilmektedir.¹⁴ LRR'ler çok sayıda proteinde bulunmakta ve ligand tanıma ve sinyal iletiminde rol oynamaktadırlar.¹⁵ TLR'nin TIR alanı, hücre içi sinyalleşme ve aktivasyon için gereklidir ve bu alan, TLR ailesine dahil olan reseptörler arasında değişen derecelerde dizi benzerliğine sahip olan yaklaşık 200 amino asit içermektedir. Bunun yanı sıra, TIR alanlarının üç alt grubu bulunmaktadır. Bu alt gruplardan birincisi, alt grup 1'in proteinleri, makrofaj monositleri tarafından üretilen interlökinler tarafından kullanılan reseptörlerdir ve DC'lerin tümü, hücre dışı İmmünoglobulin (Ig) alanlarına sahiptir. Alt grup 2'nin proteinleri, klasik bir TLR tipi olarak kabul edilmekte ve doğrudan veya dolaylı olarak mikrobiyal moleküllere bağlanmaktadır. Son olarak alt grup 3'ün proteinleri, alt grup 1 ve 2'nin proteinlerinden gelen sinyaller aracılık eden TLR'lerin üreme hücrelerinde kodlanan tip I transmembran reseptörlerinin sitosolik adaptör proteinleri olarak görev yapmaktadır.¹⁵

TLR'lerin ligandları tarafından aktivasyonu, birkaç dendritik hücre (DC), T lenfositini ve bağırsak epitelyal hücre içi sinyal yollarını indüklemektedir ve indüklenen sinyal yolları aracılığıyla sitokinlerin ve kemokinlerin sentezi ve enfeksiyonun kontrolü için önemli olan diğer genlerin transkripsiyonunun başlamasını sağlamaktadır. TLR'lerin ligandları tarafından aktivasyonu ile başlayan iki ana sin-

yal yolu bulunmaktadır. Çoğu TLR tarafından aktive edilen ana ve birinci yol, transkripsiyon faktörü NF-KB'nin ve mitojenle aktive olan protein (MAP) kinazlar, p38 ve JNK'nin aktivasyonuna yol açmaktadır. Bu sinyal yolağı ile birçok proinflatuar genin ekspresyonunu artmaktadır. İkinci yol sadece TLR3 ve TLR4'ün ligandları tarafından uyarılmasıyla aktive edilmektedir ve hem NF-KB hem de bir transkripsiyon faktörü olan interferon düzenleyici faktör 3'ün (IRF3) aktivasyonuna yol açmakta ve interferon-beta gibi antiviral genlerin ekspresyonunu başlatmaktadır.¹⁵ TLR sinyal yollarında merkezi ve en önemli role sahip olan adaptör proteinler; MyD88, MAL (TIRAP olarak da bilinir), TRIF (TICAM1 olarak da bilinir) ve TRAM'dır (TICAM2 veya TIRP olarak da bilinir). MyD88 adaptör proteini TLR3 dışındaki tüm TLR'ler tarafından kullanılmaktadır. MyD88, MAP3 kinazların aktivasyonuna yol açan IRAK'ları (IL-1R ile ilişkili kinaz ailesi) uyararak sinyalin aşağı yönlü iletimini sağlamaktadır. MAP3 kinazlarından ikisi MEKK3 ve TAK1 olarak tanımlanmıştır ve bunlar NF-KB, MAP kinazlar, p38 ve JNK'yi aktive etmektedir.¹⁵ MyD88-yoksun fareler üzerine yapılan çalışmalar, TLR'ler aracılığıyla sinyal iletiminin bağırsak homeostazında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Bu sinyal, antimikrobiyal ürünlerin mikrobiyal tanıma indüksiyonundan ve adaptif immün yanıtın modülasyonundan sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca, MyD88'e bağımlı bir kommensal mikrobiyotanın tanınmasının epitel hücre homeostazı, yaralanma yanıtı ve antimikrobiyal peptidlerin indüksiyonu için gerekli olduğu gösterilmiştir.¹⁶

Hücrelerde TLR Yolu İlişkili Metabolik Düzenlenme

Glikolizin, makrofaj polarizasyonunda ve dendritik hücre aktivasyonunda çok önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir. Dinlenme durumunda, dendritik hücreler β-oksidasyon ve oksidatif fosforilasyon yoluyla enerji kaynağı olarak lipitleri kullanılmaktadırlar¹¹. TLR'nin ligandı ile bağlanması, PI3K/Akt yolunu aktive etmekte ve ATP üretmek için glikolize doğru metabolik bir değişime yol açmaktadır.¹⁷ TLR'nin ligandına bağlanması üzerine aşağı yönlü kinazlar olan TBK1 ve IKKγ'nin aktivasyonu, Akt'nin fosforilasyo-

nunu indüklemekte ve Akt'nin aktivasyonu, mitokondri-deki glikolizde heksokinaz-II için hız sınırlayıcı enzimin zenginleşmesini tetikleyerek aktivitesini arttırmaktadır.¹⁸ M1 makrofaj polarizasyonu sırasında, 6-fosfofrukto-2-kinaz / fruktoz-2,6-bifosfatın (PFK2) karaciğer tipinden (L-PFK2) daha aktif ve her yerde bulunan bir tipine (u-PFK2) dönüşümü TLR (TLR2, 3, 4 ve 9) sinyal yolunun aktivasyonuna bağlı olmaktadır.¹⁹ Bunun tam tersine helmint enfeksiyonunda makrofajın M2 polarizasyonu sırasında, MAPK kaskadının TLR2 ve TLR4'e bağlı aktivasyonu ve CREB, IL-10 üretimine ve akonitaz ve ADP'ye bağımlı glukokinaz dahil olmak üzere bir dizi metabolizma ile ilişkili genin eş zamanlı değişimine yol açmaktadır.²⁰

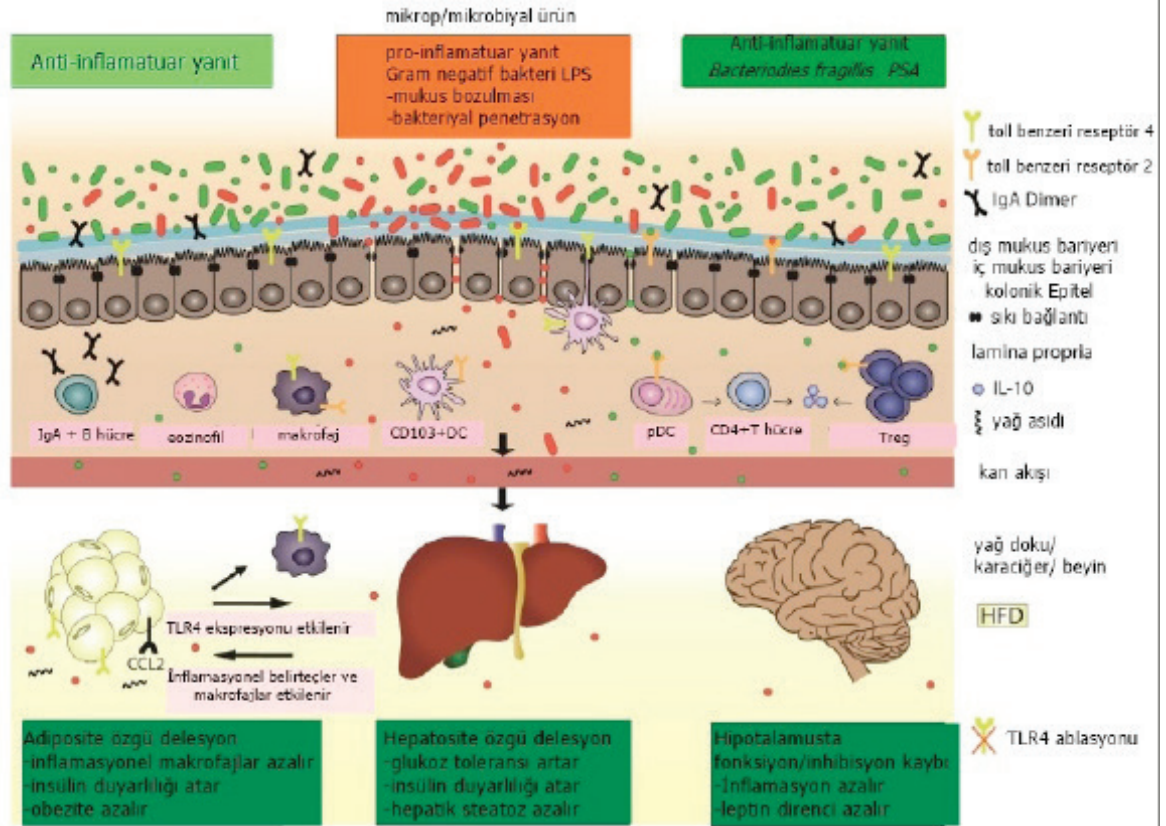
Viral ve bakteriyel enfeksiyonlarda TLR3 ve TLR4'ün aktivasyonu, makrofajlarda kolesterol akışını düzenleyen karaciğer X reseptörüne (LXR) bağımlı genlerin ifadenmesini baskılamaktadır. Tutulan kolesterol, makrofajların fagositik süreci için bir rezerv görevi görmekte, ancak ateroskleroz durumunda "köpük hücre" oluşumunu desteklemektedir.²¹ Viral enfeksiyonlara yanıt olarak aşağı yönlü akışta etkili ve önemli bir çekirdek faktörü olan IRF3'ün TLR3 sinyali ile aktivasyonu, bir yandan interferon üretimi yoluyla antiviral yanıtı uyarmakta ve diğer yandan retinoid X reseptörü- α 'yı (RXR α) aşağı doğru düzenleyerek metabolik yanıtı baskılamaktadır.²² RXR α , metabolizma ile ilgili genleri düzenleyen bir nükleer ağ oluşturan peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör- γ (PPAR γ), LXR ve farnesoid X reseptörü (FXR) dahil olmak üzere diğer nükleer faktörlerle birlikte heterodimer oluşturmaktadır.²³ Virüsler kendi replikasyonlarını kolaylaştırmak için konakçının lipitlerini kullanabildiğinden, bu tür bir baskılama viral birleşmeyi önlemek için anahtar rol oynamaktadır.²⁴ Hepatit B virüsü taşıyan transgenik farelerde TLR3, TLR4, TLR5, TLR7 veya TLR9 ligandının enjeksiyonunun viral replikasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir.²⁵ Bununla birlikte, depolamayı inhibe eden ve enerji harcamasını arttıran akut yanıtın aksine, makrofajlarda LPS'nin subenfeksiyöz dozu ile TLR4'ün kronik aktivasyonu, lipoliz ve β -oksidasyonda paralel bir azalma ile trigliserit formunda yağ asidi

alımını ve depolanmasını kolaylaştırmaktadır.²⁶ Trigliseritlerin uyarılmış alımı ve depolanması, obezite sırasında yağ dokusu makrofajlarında da gözlenmekte ve lipit birikimi, lipozomal biyogenez ile ilgili olmaktadır. Ancak, düşük dereceli inflamasyon devam ettiğinde glikolizden lipit depolamaya geçişin nedeni ve bunun fizyolojik ve/veya patofizyolojik bir fenotip olup olmadığı belirsizliğini sürdürmektedir. Bu durum muhtemelen inflamatuvar veya antimikrobiyal tepkileri sürdürmek, bakterilerin büyüme için piruvat ve asetil-CoA kullanmasını önlemek ve böylece büyümelerini sınırlamak için harici bir enerji kaynağı elde etmek için uyarlanabilir bir mekanizma olarak kullanılmaktadır.²⁷

Hücrelerde TLR Yolu ile Mikrobiyal Ürün Duyarlılığı

Bağırsıklık sisteminin görevlerinden biri, bir mikroorganizmanın kommensal mi yoksa istilacı ve potansiyel olarak patojen mi olduğuna karar vermektir. Bu nedenle öncelikle doğuştan gelen bağışıklık sistemi, her iki tür yabancıyı da "kendine-ait" ya da "kendine-ait olmayan" kalıpları içerip içermediğini belirlemektedir. Bu durum, özellikle doğru bağırsak homeostazisini sağlamak için büyük önem taşımaktadır.²⁸ TLR'leri içeren PRR ailesi bu tür kalıpları tanıyan bir molekül sınıfıdır. Bu tür reseptörlerin aktivasyonu, çoğu zaman sitokin ekspresyonunun indüksiyonu ile sonuçlanan akış-aşağı sinyalleme kaskadlarını başlatmaktadır. Bu sitokinler, diğer bağışıklık hücrelerini daha fazla etkilemekte ve buna göre bir bağışıklık tepkisinin seviyesi belirlenmektedir.²⁸

Toll benzeri reseptör 2 (TLR2), TLR1 veya TLR6 ile bir heterodimer olarak sinyal iletmekte ve mantarlar ve bakteriler üzerindeki çok çeşitli sinyalleri tanımaktadır. TLR2'nin bir ligandı, anti-inflamatuvar tepkileri indükleyen *Bacteroides fragilis*'ten polisakkarit A'dır (PSA) ve TLR2'nin PSA ile uyarılması CD4+ T hücrelerinin plazmasitoid dendritik hücreler tarafından interlökin 10 (IL-10) üretmesini, Treg hücrelerinin klonal çoğalmasını ve indüksiyonunu teşvik etmekte ve bağırsakta Th17 üretimini baskılamaktadır (Şekil 1).²⁹ Bu durumun, inflamasyonun iyileştirilmesine



Şekil 1. Mikrobiyal ürünlerin, sistemik bağışıklık ve metabolizmayı etkilemek için bağırsaktaki ve periferdeki toll benzeri reseptörler tarafından algılanma diyagramı Spijlar ve ark., (57)dan uyarlanmıştır

potansiyel olarak katkıda bulunduğu PSA uygulamasından sonra deneysel otoimmün ensefalomyelit ve kolit gibi hayvan modellerinde gösterilmiştir. Bu modellerde TLR2 aktivasyonu üzerine anti-inflamatuar yanıt sonrası komensal bakterilerin "patojenik olmayan" olarak tanıdığı gösterilmiştir. Bu durum bize spesifik mikrobiyal türevli mekanizmaların, simbiyotik bakterilere karşı immünolojik toleransı aktif olarak teşvik ettiğini göstermektedir.^{29,30} Bunun aksine *Lactobacillus plantarum* teikoik asit d-alanilasyonun saptanması üzerine TLR2 sinyalleşmesinin ayrıca proinflamatuar tepkilere de yol açtığı gösterilmiştir.³¹ Mikroorganizmalar ve bağışıklık hücrelerinin karşılaşma ihtimalleri en yüksek bağırsakta olsa da mikrobiyal ürünlerin sistemik ve metabolik etkileri periferik bölgelerde TLR'ler tarafından tespit edilebilmektedir. TLR2 gen ifadesi, normal yemek diyetine kıyasla yüksek yağlı diyet (HFD) ile

beslenen farelerde visceral adipoz dokusunda artmakta, bu da tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) ekspresyonuna neden olmaktadır ve böylece obezite için tipik olan dokulardaki düşük dereceli bir inflamasyonu desteklemektedir.³² Bu bulgular, TLR2'nin metabolik semptomların proinflamatuar bir aracı olması rolünü desteklemektedir.

Toll benzeri reseptör 4 (TLR4), esas olarak gram negatif bakteriyel hücre duvarı bileşeni lipopolisakariti (LPS) tanımaktadır. Kandaki LPS seviyeleri obezitede veya yüksek kalorili diyet (HCD) ile beslenme sonrası artmakta ve artan Firmicutes/Bacteroidetes oranları ile ilişkili olmaktadır.³³ TLR4 ekspresyonu, obez veya tip 2 diyabet hastalarının adipoz doku, periferik kan veya kas dokusu örneklerinde ve obez farelerin adipoz dokularında artmakta ve insülin direnci ile ilişkili olmaktadır.³⁴ Ayrıca LPS, TLR4

yoluyla adipoz doku inflamasyonunu indüklemekte ve adipositler üzerinde CCL2 ifadesini arttırmaktadır. Bu kemokin (CCL2), domuz yağı ile beslenen farelerde mikrobiyota kaynaklı makrofaj birikimine ve WAT inflamasyonuna katkıda bulunmaktadır (Şekil 1).³⁵ TLR4 fonksiyon kaybı mutasyonu veya TLR4 delesyonu, adipoz dokuya makrofaj infiltrasyonunu azaltmakta, anti-inflamatuar M2 polarizasyonunu teşvik etmekte, doku ve dolaşımdaki inflammatuar belirteç seviyelerini azaltmasına ek olarak tip 1 diyabet için streptozotosin (STZ) ile indüklenen fare modelinde inflamasyonu azaltmaktadır.³⁶ IRF3 kaybı, insülin duyarlılığını arttırarak anti-inflamatuar fenotipe aracılık etmekte ve beyaz yağ dokusunun esmerleşmesini arttırmaktadır.³⁷ LPS'nin yanı sıra yağ asitleri, adipositler ve makrofajlar dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde TLR4 sinyalini arttırabilmekte ve visceral obezite ve insülin direncini indüklemektedir.³⁸ Ayrıca adiposit spesifik TLR4 yoksun fareler, TLR4'ün adipoz doku üzerinde iki farklı etkisini göstermektedir. Spesifik olarak bu fareler, HFD ile beslendikten sonra artan tüm vücut ve kas insülin direnci göstermekte, ancak aynı zamanda hiperinsülinemik öglisemik klempe sırasında akut lipid yüklemesinden sonra gelişmiş insülin duyarlılığı da göstermektedir.³⁹ Adiposite özgü TLR4 delesyonu ayrıca peritoneal makrofajlarda ve karaciğerde TLR4 ekspresyonunu azalttığı için diğer dokulardaki TLR4 ekspresyonunu da değiştirmektedir. Karaciğerde TLR seviyelerinin değişmesi, önemli sistemik metabolik etkilere neden olmaktadır. Hepatosite özgü TLR4 delesyonu, HFD ile beslenen obez farelerde glikoz toleransı, insülin duyarlılığı ve hepatik steatozu (karaciğer yağlanması) iyileştirmektedir.⁴⁰

Toll benzeri reseptör 5 (TLR5), bakteriyel hareket sisteminin bir bileşeni olan bakteriyel flagellini tanımaktadır. Bu sinyal yolu, interlökin 1 reseptör antagonist sekresyonunu indükleyerek ve IL-1 β ve inflamazom aktivitesini azaltarak bir anti-inflamatuar tepkiye neden olmaktadır.⁴¹ TLR5 yoksun farelerin ilk olarak, mikrobiyota kompozisyonlarındaki değişikliklerle ilişkili olan insülin direnci ve artan adipozite dahil olmak üzere metabolik sendrom

geliştirmeye eğilimli oldukları bildirilmiştir.⁴² Bu fenotip ayrıca epitelyal hücreye özgü TLR5'ten yoksun farelerde de gösterilmiş ve düşük dereceli inflamasyon ile ilişkilendirilmiştir.⁴³ Hepatositlerde spesifik TLR5 delesyonu, diyetle indüklenen karaciğer patolojisine yatkınlık kazandırmaktadır. Bu yatkınlığa proinflammatuar sitokinlerin artan ifadesi eşlik etmekte ve Nod benzeri reseptör C4 inflamazomuna bağlı olarak mikrobiyota çeşitliliğinin azalması ile durum düzeltilenmektedir.⁴⁴ Bu gözlemler, hepatositlerdeki TLR5'in karaciğerin korunmasında ve diyetle indüklenen karaciğer hastalığının önlenmesinde rol oynadığını göstermektedir.

Bağırsak Mikrobiyotası ve TLR Yolu Arasındaki İlişkinin Klinik Anlamı

Bağırsıklık ve metabolizma arasındaki enerjinin yer değiştirmesi kavramı, besin veya enerji kıtlığı durumuna dayanmaktadır. Ancak günümüzde yaşanan güncel sorun, aşırı beslenmeden kaynaklanan kronik tıbbi problemlerdir. Obezite sıklıkla, lokal ve sistemik inflamasyonu uyaran ve sonunda metabolik disfonksiyonu ve kardiyovasküler riskleri ağırlaştırılan bir hastalıktır.^{45,46} Sonuç olarak, inflamasyonun kontrol edilmesi, obezite ile ilişkili hastalıklar için terapötik bir seçenek olarak görülmektedir. Bununla birlikte, anti-inflamatuar ilaç kullanımı, kardiyovasküler hastalık riskini de arttırabilmektedir.⁴⁶ Ek olarak, TLR-yoksun hayvan modellerinde metabolik fonksiyonlar üzerinde gözlenen tutarlı ve faydalı etkilere rağmen, mevcut insan verilerinden TLR polimorfizmi ile metabolik hastalıklar arasında kesin bir ilişki gösterilememiştir.^{47,48} Akut miyokard enfarktüs geçirmemiş, koroner anjiyografi ile 1894 hastanın incelendiği bir çalışmada, doğal tip allele kıyasla TLR4 (Asp299Gly) varyant alleli olanlarda diyabet prevalansının %7 daha düşük olduğu bildirilmiştir.⁴⁸ Buna karşılık, 2000'de 722 denekten oluşan bir alt popülasyonunun incelendiği bir başka çalışmada, heterozigot ve homozigot TLR4 varyant alelleri ile tip 2 diyabet, bozulmuş glukoz toleransı veya metabolik sendromun diğer bileşenleri ile hiçbir ilişki bulunamadığı belirtilmiştir.⁴⁹ Öte yandan ilişkisiz bir TLR5 polimorfizminin kilo alımını önlediği ancak

diyabet için riski arttırdığı belirtilmiştir.⁵⁰ TLR2 polimorfizminin (rs3804100, 1350 T / C) tip 1 diyabetle ilişkisini inceleyen iki çalışma çelişkili sonuçlar ortaya koymuştur.⁵¹ Bağırsak mikrobiyotası üzerindeki bu bireysel farklılıkların nedenlerinin, coğrafi, sosyo ekonomik veya epigenetik etkiler olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliğin obeziteye ve metabolik işlev bozukluğuna katkıda bulunabileceği belirtilmiş olsa da farklı laboratuvarlardan alınan sonuçların birbirini desteklemediği görülmektedir. Bağırsak mikrobiyotasının evrimsel gelişiminin, konakçıda enerjiyi arttırmak ile ilgili olduğu belirtilmektedir ve antibiyotik kullanımı ile mikrobiyotanın ortadan kaldırılması durumunda beyaz yağ dokunun kahverengi yağ dokusuna dönmeye başladığı ve obeziteye karşı koruyucu olduğu belirtilmektedir.⁵² Son yıllarda kilo artışı sağlamak amacıyla hayvancılıkta antibiyotik kullanımı yaygınlıkla artmıştır.⁵³ Yaşamın erken dönemlerinde antibiyotik kullanımı çocukluk çağı obezitesi ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca, aynı cinsde ait *Lactobacillus*'lar içinde; *Lactobacillus plantarum* kilo kaybını artırırken, *Lactobacillus ingluivie* ve *Lactobacillus acidophilus* kilo alımını arttırmaktadır.⁵⁴ Vücut ağırlığı ve metabolizmayı düzenlemek için bağırsak mikrobiyotasının manipüle edilmesi, konakçı ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki karmaşık ilişkinin daha ayrıntılı araştırmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bağırsak mikrobiyotası diyetle şekillendirilebilmektedir ve etoburlarda, omnivorlarda ve otoburlar arasında önemli farklılıklar gözlenmektedir.⁵⁵ Yüksek yağlı diyetin neden olduğu düşük dereceli sistemik iltihaplanma, özellikle çapraz enfeksiyonun yüksek oranda mümkün olduğu hayvan yağlarının sindirilmesinden kaynaklanan gıda kaynaklı patojenlere karşı evrimsel bir koruyucu mekanizma olabilmektedir.

Modern tıpta, TLR antagonistleri, immünosupresyonun sağladığı faydalı etkiler nedeniyle metabolik ve kardiyovasküler hastalıklar için araştırılmıştır.^{56,57} Bununla birlikte, bu kronik hastalıklarda bağırsak mikrobiyotasından türetilen moleküller TLR'leri aktive edebilirse, konakçıda ki katabolizma ortaya konabilecektir. Böyle bir senaryo-

da TLR yolağının engellenmesi, enerji depolamayı teşvik edecektir; bununla birlikte, bakteri ürünlerinin çeşitliliği ve TLR'lerin farklı organ ve hücre tiplerindeki ifadesi dik-kate alındığında, belirli bir yerde metabolik disfonksiyonu şiddetlendirici istenmeyen anabolik olaylar ortaya çıkabilecektir. Aynı zamanda bir diğer tıbbi sorun olarak enfeksiyona karşı savunmasızlığı arttırdığı için konakçının TLR aktivitesini bastırması söz konusu olabilmektedir. TLR yolunun işlevleri ve TLR'ler ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki etkileşim üzerine kapsamlı bir araştırma, kronik hastalıklarda TLR'lerin agonizm/antagonizminin klinik uygulamasının daha iyi değerlendirmesini sağlayacaktır.⁵⁸

SONUÇ

İnce bağırsak, sürekli olarak diyet ve mikrobiyal antijenlere maruz kalan geniş bir yüzey alanına sahiptir. Bu antijenlerin, homeostazı sürdürmek için bağışıklık sistemi tarafından tolere edilmesi gerekmektedir. Bu önemli rol, TLR'ler gibi bağışıklık sensörleri tarafından gerçekleştirilmekte ve bazı durumlarda doğuştan gelen bağışıklık sisteminin konağı korumada başarısız olmasına ek olarak kronik iltihaplanma ve diğer bozukluklar ortaya çıkabilmektedir. Çevre, genetik ve konakçı bağışıklığının, bağırsak mukozasında TLR işlevini kontrol eden çok boyutlu ve oldukça etkileşimli bir düzenleyici üçlü oluşturmaktadır. Bu üçlü içinde dengenin bozulması, akut ve kronik bağırsak iltihaplanma süreçlerine kritik olarak katkıda bulunan anormal TLR sinyalini teşvik edebilmektedir. Genetik ve çevre etkisiyle bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler, sorunlu konak bağışıklık tepkisine neden olabilmektedir. Mikrobiyota manipülasyonları ile hastalarda mikrobiyotanın yeniden programlanması erişilebilir ve ümit verici tedavi şekilleri sunabilir (anti-obezite tedavisi gibi). Bu nedenle, mikrobiyota ve bağışıklık sistemi arasındaki karmaşık ve karşılıklı etkileşimi ve bu ilişkinin metabolik parametreleri nasıl düzenleyeceğini anlamak, metabolik hastalıkların tedavisinde ilerlemeler sağlayabilecektir.

Açıklamalar

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

Kaynaklar

- Hooper LV, Gordon JL. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*. 2001;292(5519):1115-1118. doi:10.1126/science.1058709
- Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet*. 2003;361(9356):512-519. doi:10.1016/S0140-6736(03)12489-0
- Hooper LV, Macpherson AJ. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(3):159-169. doi:10.1038/nri2710
- Johansson ME, Larsson JM, Hansson GC. The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108 Suppl 1(Suppl 1):4659-4665. doi:10.1073/pnas.1006451107
- Benckert J, Schmolka N, Kreschel C, et al. The majority of intestinal IgA+ and IgG+ plasmablasts in the human gut are antigen-specific. *J Clin Invest*. 2011;121(5):1946-1955. doi:10.1172/JCI44447
- Güçlü Durgun S, Determination of gut microbiota fingerprints of healthy families using by culturomics maldi-TOF MS approach, Yüksek lisans tezi, 2019
- Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2008;134(2):577-594. doi:10.1053/j.gastro.2007.11.059
- Deveci Ozkan A, Kaleli S, Onen HI, et al. Anti-inflammatory effects of nobletin on TLR4/TRIF/IRF3 and TLR9/IRF7 signaling pathways in prostate cancer cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2020;42(2):93-100. doi:10.1080/08923973.2020.1725040
- Chassaing B, Ley RE, Gewirtz AT. Intestinal epithelial cell toll-like receptor 5 regulates the intestinal microbiota to prevent low-grade inflammation and metabolic syndrome in mice. *Gastroenterology*. 2014;147(6):1363-77.e17. doi:10.1053/j.gastro.2014.08.033
- Brenner C, Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. Decoding cell death signals in liver inflammation. *J Hepatol*. 2013;59(3):583-594. doi:10.1016/j.jhep.2013.03.033
- Feingold KR, Moser A, Shigenaga JK, Grunfeld C. Inflammation inhibits the expression of phosphoenolpyruvate carboxykinase in liver and adipose tissue. *Innate Immun*. 2012;18(2):231-240. doi:10.1177/1753425911398678
- Cullender TC, Chassaing B, Janzon A, et al. Innate and adaptive immunity interact to quench microbiome flagellar motility in the gut. *Cell Host Microbe*. 2013;14(5):571-581. doi:10.1016/j.chom.2013.10.009
- Carvalho FA, Aitken JD, Vijay-Kumar M, Gewirtz AT. Toll-like receptor-gut microbiota interactions: perturb at your own risk!. *Annu Rev Physiol*. 2012;74:177-198. doi:10.1146/annurev-physiol-020911-153330
- Rock FL, Hardiman G, Timms JC, Kastelein RA, Bazan JF. A family of human receptors structurally related to Drosophila Toll. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(2):588-593. doi:10.1073/pnas.95.2.588
- Kobe B, Deisenhofer J. A structural basis of the interactions between leucine-rich repeats and protein ligands. *Nature*. 1995;374(6518):183-186. doi:10.1038/374183a0
- Kobe B, Deisenhofer J. A structural basis of the interactions between leucine-rich repeats and protein ligands. *Nature*. 1995;374(6518):183-186. doi:10.1038/374183a0
- Krawczyk CM, Holowka T, Sun J, et al. Toll-like receptor-induced changes in glycolytic metabolism regulate dendritic cell activation. *Blood*. 2010;115(23):4742-4749. doi:10.1182/blood-2009-10-249540
- Everts B, Amiel E, Huang SC, et al. TLR-driven early glycolytic reprogramming via the kinases TBK1-IRK3 supports the anabolic demands of dendritic cell activation. *Nat Immunol*. 2014;15(4):323-332. doi:10.1038/ni.2833
- Rodriguez-Prados JC, Través PG, Cuenca J, et al. Substrate fate in activated macrophages: a comparison between innate, classic, and alternative activation. *J Immunol*. 2010;185(1):605-614. doi:10.4049/jimmunol.0901698
- Sanin DE, Prendergast CT, Mountford AP. IL-10 Production in Macrophages Is Regulated by a TLR-Driven CREB-Mediated Mechanism That Is Linked to Genes Involved in Cell Metabolism. *J Immunol*. 2015;195(3):1218-1232. doi:10.4049/jimmunol.1500146
- Castrillo A, Joseph SB, Vaidya SA, et al. Crosstalk between LXR and toll-like receptor signaling mediates bacterial and viral antagonism of cholesterol metabolism. *Mol Cell*. 2003;12(4):805-816. doi:10.1016/S1097-2765(03)00384-8
- Chow EK, Castrillo A, Shahangian A, et al. A role for IRF3-dependent RXRalpha repression in hepatotoxicity associated with viral infections. *J Exp Med*. 2006;203(12):2589-2602. doi:10.1084/jem.20060929
- Vaz B, de Lera AR. Advances in drug design with RXR modulators. *Expert Opin Drug Discov*. 2012;7(11):1003-1016. doi:10.1517/17460441.2012.722992
- Li Q, Pène V, Krishnamurthy S, Cha H, Liang TJ. Hepatitis C virus infection activates an innate pathway involving IKK- α in lipogenesis and viral assembly. *Nat Med*. 2013;19(6):722-729. doi:10.1038/nm.3190
- Isogawa M, Robek MD, Furuichi Y, Chisari FV. Toll-like receptor signaling inhibits hepatitis B virus replication in vivo. *J Virol*. 2005;79(11):7269-7272. doi:10.1128/JVI.79.11.7269-7272.2005
- Huang YL, Morales-Rosado J, Ray J, et al. Toll-like receptor agonists promote prolonged triglyceride storage in macrophages. *J Biol Chem*. 2014;289(5):3001-3012. doi:10.1074/jbc.M113.524587
- Xu X, Grijalva A, Skowronski A, van Eijk M, Serlie MJ, Ferrante AW Jr. Obesity activates a program of lysosomal-dependent lipid metabolism in adipose tissue macrophages independently of classic activation. *Cell Metab*. 2013;18(6):816-830. doi:10.1016/j.cmet.2013.11.001
- Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*. 2004;118(2):229-241. doi:10.1016/j.cell.2004.07.002
- Dasgupta S, Erturk-Hasdemir D, Ochoa-Reparaz J, Reinecker HC, Kasper DL. Plasmacytoid dendritic cells mediate anti-inflammatory responses to a gut commensal molecule via both innate and adaptive mechanisms. *Cell Host Microbe*. 2014;15(4):413-423. doi:10.1016/j.chom.2014.03.006
- Ochoa-Repáraz J, Mielcarz DW, Wang Y, et al. A polysaccharide from the human commensal *Bacteroides fragilis* protects against CNS demyelinating disease. *Mucosal Immunol*. 2010;3(5):487-495. doi:10.1038/mi.2010.29
- Smelt MJ, de Haan BJ, Bron PA, et al. The impact of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 teichoic acid D-alanylation on the generation of effector and regulatory T-cells in healthy mice. *PLoS One*. 2013;8(4):e63099. Published 2013 Apr 30. doi:10.1371/journal.pone.0063099
- Murakami K, Bujo H, Unoki H, Saito Y. High fat intake induces a population of adipocytes to co-express TLR2 and TNFalpha in mice with insulin resistance. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;354(3):727-734. doi:10.1016/j.bbrc.2007.01.039
- Cani PD, Neyrink AM, Fava F, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*. 2007;50(11):2374-2383. doi:10.1007/s00125-007-0791-0
- Shapiro H, Singer P, Attal-Singer J. Comment on: Reyna et al. (2008) Elevated toll-like receptor 4 expression and signaling in muscle from insulin-resistant subjects. *Diabetes*. 2009;58(4):e5-e7. doi:10.2337/db09-0022
- Caesar R, Tremaroli V, Kovatcheva-Datchary P, Cani PD, Bäckhed F. Crosstalk between Gut Microbiota and Dietary Lipids Aggravates WAT Inflammation through TLR Signaling. *Cell Metab*. 2015;22(4):658-668. doi:10.1016/j.cmet.2015.07.026
- Devaraj S, Tobias J, Jialal I. Knockout of toll-like receptor-4 attenuates the pro-inflammatory state of diabetes [published correction appears in *Cytokine*. 2011 Dec;56(3):832]. *Cytokine*. 2011;55(3):441-445. doi:10.1016/j.cyt.2011.03.023
- Kumari M, Wang X, Lantier L, et al. IRF3 promotes adipose inflammation and insulin resistance and represses browning. *J Clin Invest*. 2016;126(8):2839-2854. doi:10.1172/JCI86080
- Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006;116(11):3015-3025. doi:10.1172/JCI28898
- Tao C, Holland WL, Wang QA, et al. Short-Term Versus Long-Term Effects of Adipocyte Toll-Like Receptor 4 Activation on Insulin Resistance in Male Mice. *Endocrinology*. 2017;158(5):1260-1270. doi:10.1210/en.2017-00024
- Jia L, Vianna CR, Fukuda M, et al. Hepatocyte Toll-like receptor 4 regulates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Commun*. 2014;5:3878. Published 2014 May 12. doi:10.1038/ncomms4878
- Carvalho FA, Aitken JD, Gewirtz AT, Vijay-Kumar M. TLR5 activation induces secretory interleukin-1 receptor antagonist (sIL-1Ra) and reduces inflammasome-associated tissue damage. *Mucosal Immunol*. 2011;4(1):102-111. doi:10.1038/mi.2010.57
- Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science*. 2010;328(5975):228-231. doi:10.1126/science.1179721
- Chassaing B, Ley RE, Gewirtz AT. Intestinal epithelial cell toll-like receptor 5 regulates the intestinal microbiota to prevent low-grade inflammation and metabolic syndrome in mice. *Gastroenterology*. 2014;147(6):1363-77.e17. doi:10.1053/j.gastro.2014.08.033
- Etienne-Mesmin L, Vijay-Kumar M, Gewirtz AT, Chassaing B. Hepatocyte Toll-Like Receptor 5 Promotes Bacterial Clearance and Protects Mice Against High-Fat Diet-Induced Liver Disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2016;2(5):584-604. Published 2016 May 5. doi:10.1016/j.jcmgh.2016.04.007
- DiAngelo JR, Bland ML, Bambina S, Cherry S, Birnbaum MJ. The immune response attenuates growth and nutrient storage in *Drosophila* by reducing insulin signaling. *Proc Natl*

- Acad Sci U S A. 2009;106(49):20853-20858. doi:10.1073/pnas.0906749106
46. Coxib and traditional NSAID Trialists' (CNT) Collaboration, Bhalra N, Emberson J, et al. Vascular and upper gastrointestinal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs: meta-analyses of individual participant data from randomised trials. *Lancet*. 2013;382(9894):769-779. doi:10.1016/S0140-6736(13)60900-9
47. Illig T, Bongardt F, Schöpfer A, et al. The endotoxin receptor TLR4 polymorphism is not associated with diabetes or components of the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2003;52(11):2861-2864. doi:10.2337/diabetes.52.11.2861
48. Kolek MJ, Carlquist JF, Muhlestein JB, et al. Toll-like receptor 4 gene Asp299Gly polymorphism is associated with reductions in vascular inflammation, angiographic coronary artery disease, and clinical diabetes. *Am Heart J*. 2004;148(6):1034-1040. doi:10.1016/j.ahj.2004.05.049
49. Santin I, Bilbao JR, de Nanclares GP, Calvo B, Castaño L. No association of TLR2 and TLR4 polymorphisms with type I diabetes mellitus in the Basque population. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1079:268-272. doi:10.1196/annals.1375.040
50. Al-Daghri NM, Clerici M, Al-Attas O, et al. A nonsense polymorphism (R392X) in TLR5 protects from obesity but predisposes to diabetes. *J Immunol*. 2013;190(7):3716-3720. doi:10.4049/jimmunol.1202936
51. Dasu MR, Devaraj S, Park S, Jialal I. Increased toll-like receptor (TLR) activation and TLR ligands in recently diagnosed type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care*. 2010;33(4):861-868. doi:10.2337/dc09-1799
52. Suárez-Zamorano N, Fabbiano S, Chevalier C, et al. Microbiota depletion promotes browning of white adipose tissue and reduces obesity. *Nat Med*. 2015;21(12):1497-1501. doi:10.1038/nm.3994
53. Dibner JJ, Richards JD. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poult Sci*. 2005;84(4):634-643. doi:10.1093/ps/84.4.634
54. Angelakis E, Merhej V, Raoult D. Related actions of probiotics and antibiotics on gut microbiota and weight modification. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(10):889-899. doi:10.1016/S1473-3099(13)70179-8
55. Ley RE, Hamady M, Lozupone C, et al. Evolution of mammals and their gut microbes [published correction appears in *Science*. 2008 Nov 21;322(5905):1188]. *Science*. 2008;320(5883):1647-1651. doi:10.1126/science.1155725
56. Frosali S, Pagliari D, Gambassi G, Landolfi R, Pandolfi F, Cianci R. How the Intricate Interaction among Toll-Like Receptors, Microbiota, and Intestinal Immunity Can Influence Gastrointestinal Pathology. *J Immunol Res*. 2015;2015:489821. doi:10.1155/2015/489821
57. Spiljar M, Merkle D, Trajkovski M. The Immune System Bridges the Gut Microbiota with Systemic Energy Homeostasis: Focus on TLRs, Mucosal Barrier, and SCFAs. *Front Immunol*. 2017;8:1353. Published 2017 Oct 30. doi:10.3389/fimmu.2017.01353



Fungal Mikrobiyom; Mikobiyom

Fungal Microbiome; Mycobiome

  Sema Aşkın Keçeli¹,  Mustafa Altındış²

¹ Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Kocaeli

² Sakarya Üniversitesi Tıp Fak Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Sakarya

ORCID ID: Sema Aşkın Keçeli <https://orcid.org/0000-0002-2014-6395>, Mustafa Altındış <https://orcid.org/0000-0003-0411-9669>

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Prof. Dr. Sema Aşkın Keçeli, e-posta / e-mail: sema.keceli@yahoo.com.tr

Geliş Tarihi / Received : 18-04-2021

Kabul Tarihi / Accepted: 24-04-2021

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2021

Keçeli S.A., Altındış M. Fungal mikrobiyom; Mikobiyom, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2021;5(1):22-32

Öz

Bakteriyel mikrobiyom analiz ve araştırmaları, mantar mikrobiyomu kavramı ve çalışmalarının önüne geçmiştir. Tüm insanlar ve laboratuvar hayvanları, sağlıklı olduklarında doğal mantar topluluklarını taşırlar. Mantar mikrobiyomu, bakteriyel mikrobiyomdan önemli ölçüde daha küçüktür. Hastalıkta kofaktör olarak mantar mikrobiyomunun rolü de belirgindir ancak bunca zamanda hafife alınmıştır. Sağlıklı bir derinin fungal mikrobiyomunda yer alan başlıca türler *Malassezia* ve *Candida* türleridir. Sağlıklı deride daha fazla maya formu görülürken, etkilenen bölgelerde daha çok hifal formda görülmektedir. Ağız mikrobiyomunun fungi içerdiği kabaca *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Cryptococcus sp* den oluşmaktadır. Sağlıklı akciğerlerin steril olduğu savı da son yıllarda yapılan sekans çalışmaları ile değişmiş, fungal topluluklardan *Aspergillus fumigatus* başta olmak üzere *Ceriporia lacerata*, *Saccharomyces cereviceae* ve *Penicillium brevicompactum*'un bulunduğunu gösterilmiştir. İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında belirgin fungal mikrobiyal disbiyoz bulunmuş, *Basidiomycota / Ascomycota* oranı ve *C. albicans*'ın arttığı, *Saccharomyces cerevisiae* oranının ise azalmış olduğu belirlenmiştir. Sonuçta; Bu tür karmaşık ve birbirine bağlı mikrobiyal sistemlerde, mikrobiyom, bir dizi hastalığa ve bunların patogeneze katkıda bulunan bir faktör olabilir. İleri çalışmalar kısa sürede bu tür konulara açılım getirecektir.

Anahtar Kelimeler Fungal mikrobiyom, mikobiyom, mantar, mikrobiyota

Öz

Fungal microbiome concept and studies are dominated by bacterial microbiome analysis and researches. All humans and laboratory animals carry natural fungal communities when they are healthy. The fungal microbiome is significantly smaller than the bacterial microbiome. The role of the fungal microbiome as a cofactor in disease is also apparent, but has been underestimated in this time. The main species in the fungal microbiome of a healthy skin are *Malassezia* and *Candida* species. While more yeast forms are seen in healthy skin, it is mostly seen in hyphae form in the affected areas. The oral microbiome consists roughly of *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium* and *Cryptococcus sp*. The argument that healthy lungs are sterile has also changed with the sequence studies carried out in recent years, and it has been shown that there are fungal communities such as *Aspergillus fumigatus*, *Ceriporia lacerata*, *Saccharomyces cereviceae* and *Penicillium brevicompactum*. It was found that significant fungal microbial dysbiosis was found in inflammatory bowel diseases, *Basidiomycota / Ascomycota* ratio and *C. albicans* increased, and *Saccharomyces cerevisiae* ratio decreased. After all; In such complex and interconnected microbial systems, the mycobiome can be a contributing factor to a number of diseases and their pathogenesis. Further studies will open up such issues in a short time.

Keywords Fungal microbiome, mycobiome, fungus, microbiota.

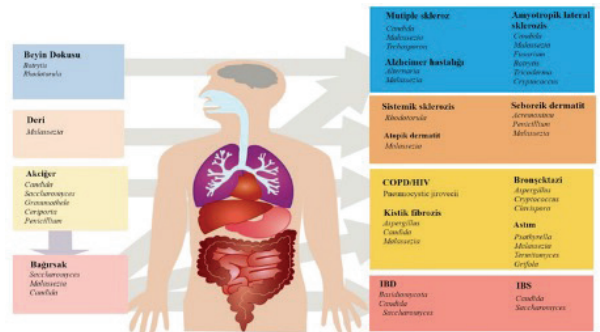
GİRİŞ

Mikrobiyom terimi, mikrobiyomun mantar bileşenini tanımlamak için kullanılır. Bakteriye benzer bir çekirdek mikrobiyomun insanlarda var olup olmadığı henüz belirsizdir. Bakterioma göre ([toplam mikrobiyotanın %99'u), insan mikrobiyomu daha az çeşitlidir (genellikle numune başına \ 20 operational taksanomik ünit (OTU) ve daha düşük bir bollukta (toplam mikrobiyotanın %0,1'den azı) bulunur. Mikrobiyom çalışmaları, bakteriyel mikrobiyom araştırmalarının gölgesinde kalan ancak yeni ve hızla üzerine odaklanılan bir alan olmuştur. Her insanda genel mikrobiyotanın bir parçası olarak mantarlar vardır, tabii ki toplam mantar hücre sayısı, bakteriyel mikrobiyota kümülasyonundan oldukça küçüktür. Bununla birlikte, fungal mikrobiyomun insanların sağlıkları üzerine etkisi; özellikle konağın immün yetmezlik gibi tehlikeye girmesi hallerinde patojen mikroorganizmaların çoğalmasına rezervuar olması, enflamatuvar hastalıklar ve metabolik bozukluklarda potansiyel bir kofaktör gibi davranması önemlidir.

Sekanslama yaklaşımları, bebeklerin doğumdan kısa süre sonra ağırlıklı olarak *Candida*, *Saccharomyces*, *Cladosporium*, *Cryptococcus* ve *Malassezia* cinslerinin üyeleri tarafından kolonize edildiğini ortaya koymaktadır. Sağlıklı yetişkinlerden alınan dışkı mikrobiyomları *Saccharomyces*, *Malassezia* ve *Candida*'nın baskın ve bu cinslerin yaşam boyunca sağlıklı bir mikrobiyomun temel bileşenleri olduğunu öne sürer. Bununla birlikte, insan bakteriyom çalışmalarının aksine, sağlıklı bireylerde mikrobiyom ile konakçı fenotip metadataları arasında çok az bir korelasyon kurulmuştur ve bu nedenle, mantar mikrobiyomu-konak etkileşimi hakkındaki bilgilerimiz mantar kolonizasyonu ve/veya hastalıklarla sınırlı kalmaktadır. Mevcut çalışmalardaki moleküler analiz sonuçlarına göre, karmaşık immünolojik sistemlerin mantar homeoostazını düzenlemek için evrimleştiği ve bozulduğunda enfeksiyona veya diğer patolojilere yol açtığı açıktır¹.

Mantarlara karşı bağışıklık, hem sporları hem de mantar

hücre duvarı bileşenlerini tanıyan doğuştan gelen sinyal yollarıyla desteklenir, mantarlara toleransı ve uygun bağışıklık denetimini düzenleyen uyarlanabilir T hücre yanıtları içerir. Belki de korunmuş bir insan mikrobiyomunun en güçlü kanıtı, aslında insan vücudunda yaşayan sınırlı sayıda mantar etkenidir. Tanımlanmış 50'den fazla bakteri filumuna rağmen, insan bakteriyomu dört ile karakterize edilir: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* ve *Proteobacteria*. Sonuç olarak, mantar taksonları, çevresel olarak görülene kıyasla in vivo daha düşük çeşitlilik sergiler ve mantarlar ile spesifik vücut bölgeleri arasındaki ilişkiler, seçici adaptasyonun muhtemel varlığını gösterir. Mevcut sınırlı veriler göz önüne alındığında, klinik mikrobiyom çalışmalarının resmi meta-analizini yapmak önemli olmakla birlikte şu anda yapmak zordur. Bununla birlikte, insanlarda kültürden bağımsız mikrobiyom çalışmalarına dayanan hastalık etken ilişkisi Şekil 1'de özetlenmiştir¹.



Şekil 1. Sağlık ve hastalıkta mikrobiyoma genel bakış (kaynak 1'den uyarlanmıştır).

COPD: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı; HIV: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü; IBD: İnflamatuvar bağırsak hastalığı; IBS: Irritabl bağırsak sendromu;

Derinin Fungal Mikrobiyomu

Derimiz dış patojenlere karşı bariyer görevi görmektedir, bununla birlikte komensal fungiyi de barındırmaktadır. Farklı deri bileşenleri farklı fungal türleri gösterir ve fungal türler yaşa ve cinse bağlı olarak değişir. Sağlıklı bir derinin fungal mikrobiyomunda yer alan başlıca türler *Malassezia* ve *Candida* türleridir. *C. albicans*'ın hastanede çalışan sağlık personelinin derisinde taşınma oranı %50-

65 arasındadır. Buna bağlı olarak, sağlık çalışanlarından kaynaklanan *Candida* salgınları bildirilmiştir^{2,3}.

Preterm ve term yenidoğanlarda yapılan panfungal ITS2 bölgelerinin sekans sonuçlarına göre fungal mikrobiyom sıklık sırasına göre *Malassezia*, *Candida*, *Cladosporium*, *Fusarium* ve *Cryptococcus* olarak belirlenmiş, en sık iki tür ise *M. restricta* ve *C. albicans* olarak bulunmuştur.⁴ Vajinal doğumun derideki *Candida* kolonizasyonunu sezeryan doğumlara göre daha fazla arttırdığı gözlemlenmiştir.⁴ Çocuklarda *M. globosa* sık ve *M. sympodialis* in ise hiç rastlanmadığı; buna rağmen erişkinlerde *M. globosa*'ya kıyasla *M. sympodialis*'in daha sık olduğu bildirilmiştir.⁵ Erişkinlerde patern recognition reseptörler (PRRs)deki tek nukleotid polimorfizmi (SNPs)'nin *Aspergillus* ve *Candida* enfeksiyonlarına karşı duyarlılığın artması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Deney farelerinde hatalı toll like reseptör (TLR4) bulunmasının da *Candida* enfeksiyonlarına duyarlılığı artırdığı bildirilmiştir.⁶ *Malassezia*'nın deride bulunmasının *Malassezia*'nın NOD1 ve NOD benzeri reseptör protein 3(NLRP3) inflamazomlarını aktive ettiği ve bu kazanılmış bağışıklık geninin *Malassezia* varlığını kontrol ettiği gösterilmiştir.⁷ NOD 1 defektif farelerin azalmış *Aspergillus* üremesi gösterdikleri ve bu nedenle de NOD1 in *Aspergillus* enfeksiyonlarına karşı koruyucu olduğu ileri sürülmüştür.⁸ Oh ve ark.⁹ hiperimmunglobulin E sendromu(HIES)olan hastalarda sağlam deride bile azalmış *Malassezia*, fakat artmış *Aspergillus* ve *Candida* kolonizasyonu gözlemlenmişlerdir. Bu durum, HIES hastalarında mukokütanöz kandidiyaz, pulmoner aspergilloz ve *Scedosporium* enfeksiyonlarının klinik bulgularının görülme nedenini açıklamaktadır.

Malassezia üremesi için uzun zincirli yağ asitlerine gereksinimi olan, lipofilik bir mayadır. Bu nedenle derinin sebundan zengin baş, yüz veya boyun bölgelerinde kolonize olurlar. Erişkinlere göre daha az yağlı bez aktivitesi bulunan çocuklarda *Malassezia*'ya ek olarak fungal topluluk daha geniştir; *Aspergillus*, *Epicoccum* ve *Phoma*'yı içermektedir. Deride *Malassezia* bulunmasının sağlıklı

bireyler için faydalı bir etkisinin olup olmadığı bilinmemektedir, fakat *Malassezia*'nın aryl hidrokarbon reseptör ligandı ürettiği ve bunun da epitel hücrelerinin ultraviyole radyasyonundan koruduğu rapor edilmiştir.¹⁰

Ancak *Malassezia* türlerinin de atopik dermatit (AD) gelişiminde uyarıcı bir rol oynadığı düşünülmektedir. AD hastalarının serumlarında *Malassezia*'ya spesifik IgE tipi antikorların bulunmuş ve antifungal tedavi ile AD semptomlarının gerilediği, aynı zamanda da *Malassezia* kolonizasyon derecesinin azaldığı gözlemlenmiştir.^{11,12} Sağlıklı veya hasta insan derisinden izole edilen *Malassezia* cinsi içerisinde 14 tür tanımlanmıştır. Moleküler çalışmalar AD'li hastaların çoğunda *M. globosa* ve *M. restricta* türlerinin bulunması bu iki türün AD gelişiminde major rol oynadığını düşündürmektedir. *Malassezia* türleri AD dışında psoriasis, kepek oluşumu, seboreik dermatit, egzema ve pityriasis versicolor ile ilişkilidir.¹³ Derinin fungal mikrobiyomu üzerine yapılan moleküler çalışmalar, derinin geniş fungal mikrobiyomunun zarar görmüş deride sayısı artan *Malassezia* gibi türler, diğer daha az sayıda kolonizanlar ve çevreden gelen geçici kolonizanlardan oluştuğunu göstermiştir.

AD veya egzema etkilenen deri bölgelerinde başlıca semptomları kaşınma, ödem ve eritem olan alerjik bir hastalıktır. Derinin fungal mikrobiyomu bu hastalarda allerjenleri yayarak, konak yanıtını değiştiren maddeler salgılayarak veya konak hücrelerine zarar veren enzimler üreterek atopik reaksiyonları tetiklemede rol alabilir. Derinin fungal mikrobiyomunun hafif, orta ve ciddi AD hasta gruplarında yapılan rRNA sekans analiz sonuçlarına göre çalışılan ve sonuçlarının sağlıklı deri ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, *Malassezia*'nın tüm gruplarda en fazla sayıda olduğu, bununla birlikte non-*Malassezia* maya türlerinin de AD hastalarında arttığı gözlemlenmiştir. *M. sympodialis*, *M. sloofiae* ve *M. dermatis*'in bazen AD ataklarına yol açtığı ileri sürülmüştür. AD'li hastalardaki *Malassezia* türlerinin RNA içeriği sağlıklı bireylere göre daha farklı bulunmuştur.^{14,15} Ayrıca, *Malassezia*'nın AD'li hastalarda

Malassezia'ya özgü Th17 yanıtı ile kütanöz inflamasyona yol açtığı gösterilmiştir.^{14,15} *C. albicans*, *Cryptococcus diffluanus* ve *Cryptococcus liquifaciens* bütün AD hastalarında saptanırken sağlıklı bireylerde çok nadir saptanmıştır. *C. albicans* ise sadece bir sağlıklı bireyde saptanmıştır. AD, *C. albicans*'a artmış duyarlılık ile de çok ilişkilidir.¹⁶ *Candida*-özü IgE'nin artması hastalığın ciddiyeti ile yakından ilişkilidir.¹⁷ Tüm bu bulgular *C. albicans*'ın AD patogenezinde öngörülemez bir katkısının olabileceğini düşündürmektedir.

Saçlı derideki kepek oluşumu ile sonuçlanan fungal mikrobiyomunun değişimini inceleyen çalışmada; sağlıklı ve kepekli kafa derisi 26S rRNA analizlerine göre *Ascomycota* sınıfı fungi hem sağlıklı hem kepekli deride saptanırken, *Malassezia* türlerini içeren *Basidiomycota* sınıfı fungi kepekli deride daha fazla saptanmıştır.¹⁸ Bu da *Acremonium*, *Penicillium* ve *Malassezia* türlerinin fazlalığı demektir. Ciddi kepek olgularında *Filobasidium* sınıfı (toplam *basidiomycetes*'lerin %94'ü ve %5 *Malassezia*) sağlıklı deriye göre iki kat fazla saptanmıştır. Sağlıklı kafa derisinde çoğunlukla *Basidiomycetes* fungi sınıfından *Cryptococcus* yer almaktadır. *Ascomycota* sınıfından *Acremonium spp.* hem sağlıklı hem de kepekli deride fazla bulunur. Bununla birlikte, *Didymella* sağlıklı örneklerde, *Penicillium spp.* ise özellikle ciddi kepek olgularında artmıştır. Bu çalışma *Malassezia*'nın kepek ile ilişkisini doğrularken, bu hastalıkta *Filobasidium* sınıfı fungusunun de rolü ortaya çıkarmıştır. Seboreik dermatiti olan olgularda *M. restricta* ve *M. globosa* saptanmıştır ve sağlıklı kafa derisi ile karşılaştırıldığında yeni kolonize olmaya başlayan *Malassezia*'nın hastalığın başlangıcının bir belirtisi olduğu kabul edilmektedir.¹⁹ Song ve ark.²⁰, ve Numata ve ark.²¹ *M. restricta* ve *M. globosa*'nın genellikle akne hastalarından izole edildiğini bildirmişlerdir bu nedenle birçok yazarın desteklediği *Malassezia*'nın refrakter akne gelişiminde potansiyel rolü olduğu görüşü ileri sürülmüştür.²² Akaza ve ark., *Malassezia*'nın *Propionobacterium acne*'den yaklaşık 100 kat daha fazla lipaz aktivitesinin olduğunu göstermiştir.²³ *Malassezia* sebundan yağ asitleri üretebilmek için trigliseridleri hidrolize ederek kıl folikül

kanallarının anormal keratinizasyonuna neden olabileceği ve böylece polimorfonükleer nötrofilleri de ortama çekekerek keratinosit ve monositlerden anormal proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına yol açabileceği ileri sürülmüştür.^{24,25} Akne patogenezinde *Malassezia*'nın rolünü açıklığa kavuşturmak için ileri araştırmalara gereksinim vardır.

Psoriasis gelişiminde çevresel faktörler kadar bakteriyel veya fungal deri mikrobiyomunun da rolü olduğu düşünülmektedir.²⁶ Blaser ve ark. sağlıklı ve psoriasisli derinin fungal mikrobiyomunu 18S rRNA primerleri ve *Malassezia*'nın 5.8 rDNA/ITS2 bölgesine yönelik primerler kullanılarak karşılaştırmışlardır. Bir bireyin sağlıklı derisinde saptanan klonların %98 den fazlasının *Malassezia furfur* ile ilişkili fakat ayrı olan iki *Basidiomycota filotipine* gruplandırılabilirliği, buna rağmen aynı bireyin iki farklı psoriyatik lezyonlarının aynı filotipleri farklı oranlarda içerdiği gösterilmiştir. *Malassezia*'ya özgü primer ile 5 *Malassezia* türü ve 4 bilinmeyen filotip tanımlanmıştır. *Malassezia* tür dağılımı kişiye göre değişmekle birlikte sağlıklı derinin farklı bölgelerinde daha fazla izole edilmiştir.²⁷ Sonuç olarak *Malassezia* türleri sağlıklı deride baskın mikrobiyom elemanıdır, kolonizasyon konağa spesifik olarak değişir ve *Malassezia* kolonizasyonunda psoriasisli hastası ile sağlıklı bireylerde fark oluşturacak tutarlı bir değişim bulunmamaktadır. Benzer şekilde Paulino ve ark. *M. restricta* en fazla olmak üzere *M. globosa* ve *M. sympodialis* türlerinin sağlıklı ve psoriasisli bireylerdeki oranlarını aynı bulmuştur.²⁶ Bununla birlikte, Jagielski ve ark.'nın psoriasisli hastaların AD'li ve sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığı çalışmada psoriasisli hastalarda *M. furfur*'u daha fazla saptanmıştır.²⁶ Bu sonuçlar *Malassezia* türlerinin psoriasisli hastalığındaki rolünün daha fazla çalışmalarla aydınlatılması gerektiğini göstermektedir.

Fungal mikrobiyom, kronik yara örneklerinden izole edilen bakteri ve fungusun birlikte olduğu mikrobiyal biyofilmlerden %23 oranında saptanmaktadır ve kronik yaraların iyileşmesinin gecikmesine sebep olarak gösterilmektedir.²⁸ Mikrobiyal biyofilmlerden izole edilen fungi-

nin çoğunluğunu *Candida* cinsi mayalar oluşturmaktadır: bununla birlikte *Malassezia*, *Curvularia*, *Cladosporium*, *Ulocladium*, *Aureobasidium*, *Engodontium* ve *Trichophyton*'lar da bulunmaktadır. Kronik yara örneklerinde bakteri/fungi kantitasyonu karşılaştırıldığında mikrobiyal yükün %50 den fazlasını fungi oluşturmaktadır. Bazı olgularda yara bölgesine antifungal tedavi uygulanması yaranın iyileşmesini sağlamaktadır. Bu klinik survey, yaranın mikrobiyal biyofilm enfeksiyonlarında fungal patojenlerin insidansının fazla olduğunu ve birçok yaranın antibakteriyel ajanlara inatçı oluşunun nedenini göstermektedir. Deri mikrobiyomunun çalışıldığı tür belirlemeye yönelik analizler sonucunda *C. albicans* ve *Staphylococcus aureus*'un kombine biyofilm oluşturabildikleri ve kendilerini antifungal ve antibakteriyel ajanlardan koruyabildikleri bilinmektedir. Ayrıca, *Pseudomonas aeruginosa* yanık yaralarında *C. albicans* biyofilmini inhibe etmektedir. Bu nedenle, fungi-bakteri türleri arasındaki etkileşimi de mikrobiyomun araştırmalarının merak edilen diğer bir alanıdır. Derinin fungal mikrobiyomu ile dermatolojik bulgular gösteren sistemik hastalıklar arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir: örneğin deri kalınlaşmasının görüldüğü otoimmün sistemik skleroz hastalığında sağlıklı bireylere kıyasla *Rhodotorula glutinis* türü oldukça fazla bulunmuştur.^{1,29} Tinea versicolor (Ptyriazis versicolor) derinin *Malassezia* tarafından oluşturulan hastalığıdır ve *Malassezia* proteini ile indüklenen melanosit apoptozu ve UV maruziyeti sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Etkilenen bölgelerde çok fazla miktarda *M. globosa*, *M. sympodialis* ve *M. furfur* türleri bulunur. Sağlıklı deride daha fazla maya formu görülürken, etkilenen bölgelerde daha çok hifal formda görülmektedir.³⁰

Ağız ve Akciğerlerin Fungal Mikrobiyomu

Ağız mikrobiyomunun fungi içerdiği bilinmektedir. Ghanoum ve ark.'nın çalışmasında oral fungal mikrobiyata dağılımının kişiler arasında farklılık gösterdiği ve çalışmaya katılanların %20'sinde 4 fungal cins: *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Cryptococcus* olduğu saptanmıştır. Bunlarda en fazla *Candida* türleri: *C. albicans* (%40), *C. parapsilosis*

(%15), *C. tropicalis* (%15), *C. khmerensis* (%5) ve *C. metapsilosis* (%5) rastlandığı belirtilmiştir. Sağlıklı bireylerin oral kavitesinde saptanan funginin yaklaşık %40'ı kültürü yapılamayan fungi olduğu ve 60 non-patojenik fungi cinsini içerdiği gösterilmiştir.³¹ Aslında sağlıklı bireylerin oral kavitesinde bu tür funginin bulunması yiyeceklerle ve solunum yolu ile alındığından şaşırtıcı değildir. Bununla birlikte, özellikle üst hava yollarının ve oral kavitenin çevre kaynaklı fungi ile kolonizasyonunun hipersensitivite hastalıklarına yol açmada potansiyel rollerinin olduğu akıld tutulmalıdır.

Sağlıklı akciğerlerin steril olduğu kabul edildiğinden uzun süredir mikrobiyom içerdiği bilinmiyordu. Günümüzde, kültürden bağımsız sekans teknolojileri ile akciğerlerin de çok çeşitli mikrobiyoma sahip olduğu gösterilmiştir.^{1,31} Fungi topluluğunda ITS sekans analizlerine göre ana patojen *Aspergillus fumigatus* olmak üzere *Ceriporia lacerata*, *Saccharomyces cereviceae* ve *Penicillium brevicompactum*'un bulunduğunu gösterilmiştir.^{32,33} Akciğer-barsak aksisi yolu ile akciğer ve barsak mikrobiyomunun ilişkili olduğu ve barsak mikrobiyomundaki değişimin akciğerlerde immünojenik reaksiyonlara ve allerjik hastalıklara yol açabileceği düşünülmektedir.^{34,35}

Sağlıklı akciğerin mikrobiyomu astım, kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOAH), kistik fibröz (KF) ve bronşiyektazi gibi kronik inflamatuvar solunum hastalığı olan hastalardan oldukça farklıdır. Sağlıklı akciğerlere kıyasla astım hastalarında, *Psathyrella candolleana*, *Malassezia pachydermatis*, *Termitomyces clypeatus* ve *Grifola sordulenta* vb. gibi fungal çeşitlilik gözlemlenmektedir.^{1,36} Çok ciddi astımı olan çocuklarda astımı olmayanlardan daha fazla *Rhodotorula*, *Rhodospodidium*, *Leucosporidium* ve *Pneumocystis* saptanmıştır.³⁷

Hava yollarının kalıcı ve geridönüşümü olmayan genişlemesi anlamına gelen bronşiyektazisi olan hastalarda fungal kolonizasyon riski çok yüksektir. Bronşiyektazide mukosilier temizleme fonksiyonunun da bozuk olması nedeni

ile hava ile solunan fungal sporlar fungal kolonizasyonda artışa yol açar. Bu durumda hava yollarının patojenik potansiyeli yüksek olan fungal mikrobiyomu ön plana çıkar. İmmun yanıtın veya alerjik duyarlılığın bozuk olduğu birçok hastada *Aspergillus* ön planda olmak üzere, *Penicillium*, *Clavispora* ve *Cryptococcus* saptanmaktadır.³⁸

Charson ve ark.'nın çalışmasında sağlıklı akciğerleri olan ve akciğer transplantasyonu yapılan hastalarda ITS bölgelerine göre sekans analizleri ile ağız ve akciğer fungal mikrobiyomu araştırılmıştır. Akciğer transplant hastalarında yoğun antibiyotik ve immunsupresif ajan kullanımına bağlı olarak oral kavitede *Candida* yoğunluğu gözlenmiştir.³⁹ Sağlıklı bireylerin bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvılarında minimal bir ITS transkripsiyonu olduğu, bununla birlikte akciğer transplant hastalarının BAL sıvılarında ise *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, veya *Cryptococcus spp.* yoğun miktarda saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda, konak savunması ve muhtemel bakteri mikrobiyomu kaynaklı direnç mekanizmalarının fungal mikrobiyomun akciğerlerde az miktarda da olsa bulunmasında major rol oynayabileceği ileri sürülmüştür.^{1,38}

Fungal mikrobiyomun önemli bir elemanı da son yıllarda Ascomycota ailesinden olduğu kanıtlanan *Pneumocystis* cinsidir.⁴⁰ Yeni moleküler analizlere göre *Pneumocystis*'in sağlıklı bireylerin akciğerlerinde bile düşük miktarda bulunduğu gösterilmiştir. Kronik inflamatuvar akciğer hastalıklarında kofaktör olabileceği düşünülmektedir. KOAH'lı hastaların %17'sinde *Aspergillus spp* izole edilmiştir ve taksonomik olarak belirlenen *Pneumocystis jirovecii*, HIV pozitif ve KOAH-ilişkili HIV pozitif bireylerde saptanması immünolojik bir yatkınlığı kanıtlamaktadır.⁴¹

Fungal çeşitliliğin gözlemlendiği bir diğer hastalık da KF hastalığıdır. Transmembran iletken düzenleyici genin fonksiyonundaki bozukluk nedeni ile oluşan KF hastalığında *A. fumigatus* oranı %6-60 arasında değişmektedir.⁴² Sekans analiz sonuçlarına göre KF'li hastalardan alınan örneklerin tek başına mikolojik kültüründe izole edilen fun-

gal etkenlerin yanısıra kültürü yapılamayan etkenlerin de olduğu saptanmıştır.⁴³ Bu hastalarda *Aspergillus* (özellikle *A. fumigatus*), *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *Malassezia* türleri izole edilmiştir.⁴⁴ Astım ve KF'de *Aspergillus* tarafından indüklenen alerjik yanıt "alerjik bronkopulmoner hastalık" şeklinde tanımlanmaktadır.

Carpagnano ve ark.⁴⁵ 43 akciğer kanseri hasta ve 21 sağlıklı bireylerde ekshalasyon ile verilen havada ve bronşiyal fırça örneklerinde fungi varlığını araştırmışlardır. Bu çalışma sonucuna göre, Hastaların %27,9'unda ekshalasyon havasında *A. niger*, *A. ochraceus* ve *Penicillium spp.* saptamışlar, buna rağmen sağlıklı bireylerde izolasyon elde edememişlerdir. *Aspergillus* türlerinin kanserojenik mikotoksinler olan okratoksin ve fononisinler salgıladığı ve bu toksinlerin veya diğer toksik ikincil metabolitlerinin akciğer kanseri gelişiminde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

Gastrointestinal Kanalin Fungal Mikrobiyomu

İntestinal kanalın bakteriyel mikrobiyomu ile ilgili kapsamlı literatüre rağmen, bağırsak sisteminin fungal mikrobiyomu hakkında çok az şey bilinmektedir. Bağırsak mikrobiyomunu inceleme çalışmalarında, büyük ölçüde gastrointestinal sistem ile ilişkili hastalıklara odaklanılmıştır ve diğer gastrointestinal olmayan hastalık durumlarında, mikrobiyom değişiminin nasıl olduğu araştırılmaktadır.

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında (IBH), 18S rRNA ve rDNA dizilimi kullanılan ilk çalışmada, Crohn hastalığında mantar çeşitliliğinin artmış olduğu gösterilmiş, buna karşılık ülseratif kolitte herhangi bir artış bildirilmemiştir.^{46,47} İltihaplı ve iltihapsız dokular arasında başka farklılıklar da tespit edilmiştir.⁴⁶ Yakın zamanda, ITS2 (internal transcribed spacer) sekanslama yöntemi ile, IBH'da belirgin fungal mikrobiyal disbiyoz bulunmuştur. Basidiomycota / Ascomycota oranının, *C. albicans* oranının arttığı ve *Saccharomyces cerevisiae* oranının ise azalmış olduğu tespit edilmiştir.⁴⁸ Chron hastalığında ITS2 sekanslama ile,

hastalık alevlenmeleri sırasında bağırsağın genel mantar yükünün arttığı ve *Cystofilobasidiaceae* ailesi ve *C. glabrata* türlerinin yüksek oranlarda olduğu doğrulanmıştır. Başka bir çalışmada, ITS1 sekanslama ile, Chron hastalığı olmayan akrabalara kıyasla hastalığı olanlarda *C. tropicalis* oranı artmış olarak tespit edilmiştir.⁴⁹ İlginç bir şekilde, *S. cerevisiae* ve *Filobasidium uniguttulatum*, Chron hastalığındaki iltihaplı olmayan doku ile ilişkilidir.⁵⁰ *Malassezia restta*'nın, CARD9 polimorfizimli hastaların bir kısmında bu hastalığın şiddetini arttırdığı bulunmuş ve bu da belirli hasta fenotiplerinde spesifik mantarların hedeflenmesinin değerli olabileceğini düşündürmektedir.⁵¹

Antifungal ilaçların, ITS1 ampikon sekanslamasının *Candida spp.*'de bir azalma ve *Aspergillus*, *Walleimia* ve *Epicoccum spp.*'de eş zamanlı artış ile karakterize bağırsak fungal disbiyozunu ortaya çıkardığı ve hayvan modellerinde kolit şiddetinde artışa yol açtığı gösterilmiştir.⁵² Benzer şekilde, antibiyotikler bağırsak bakteriyomunun modifikasyonu yoluyla bağırsak iltihabını etkiler ve sonuç olarak mantar kolonizasyonu üzerinde etki yapar. Barsaktaki *Enterobacteriaceae*'deki değişiklik mantar kolonizasyonunu ve ülseratif kolit şiddetini etkilemektedir.⁵³ Fare bağırsağı mikrobiyomu değişimi, insanlarda bağırsak mikrobiyomunu tam olarak temsil etmese de bulgular IBH'daki mantar disbiyozunun sonucunu desteklemektedir.

Candida spp., bağırsaklarda rahatça çoğalabilir ve bağırsaklardaki bakteriyel mikrobiyom ile yoğun olarak bir arada bulunabilir. Mikrobiyom antibiyotik kullanımı sırasında bozulabilir ve bağırsağın iltihaplı mukozasını kolonize edebilir. Peki ya diğer mantar cinsleri? Bir çalışmada hem spesifik bir patojen içermeyen hem de kısıtlı bir bakteri florasına sahip fareler kullanılarak, moleküler tekniklerle çeşitli ve bol miktarda mantar mikrobiyomu saptandığı tespit edilmiştir.⁵⁴ Dört ana mantar filumunun (*Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Chytridiomycota* ve *Zygomycota*) tümü tespit edilmiş ve bu iki tip fare grupları arasındaki mantar mikrobiyomu içindeki tür dağılımında açık farklılıklar olduğu görülmüştür. Farelerin gastrointestinal yoldaki

Candida kolonizasyonu, mukozal bariyerlerini etkileyerek gıda antijenlerine karşı alerjik duyarlılığı arttırabilir.⁵⁵ Barsaktaki komensal fungi Dectin-1 reseptörleri aracılığı ile tanınmaktadır. Yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada, Dectin-1 kodlayan geni eksik olan farelerde ülseratif kolite karşı duyarlılığın artmış olduğu gösterilmiştir. Yabani tip laboratuvar farelerinde (wild type), ITS 1-2 ampikon pirosekanslama ile tespit edilen mantarların %65,2' ini özellikle hasarlı mukozalar için daha virulan bir kandida türü olan *Candida tropicalis* ve daha az oranlarda *Trichosporon* ve *Saccharomyces* oluşturduğu rapor edilmiştir.⁵⁶ Pediatrik IBH' da, 18SrDNA piroz dizilimi, *Basidiomycota* baskınlığını göstermektedir.⁵⁷ Diğer pediatrik IBH çalışmalarında, ITS1 sekanslama ile, yüksek *Candida* yükü ve azalmış mantar çeşitliliği ortaya çıkarılmıştır.⁵⁸

Sağlıklı bağırsak fungal mikrobiyomuna yönelik çalışmalar sınırlıdır ancak çok gereklidir. Nash ve ark. sağlıklı insan bağırsak mikrobiyomunun çeşitlilikten yoksun olduğunu ve *Saccharomyces*, *Malassezia* ve *Candida* gibi maya cinslerinin hakimiyetinde olduğunu gözlemlemişlerdir.⁵⁹ Fonksiyonel bir gastrointestinal hastalık olan irritabl bağırsak sendromunda (IBS), dışkı örnekleri ITS1 sekanslama ile, önemli bir çeşitlilik kaybıyla birlikte bir bağırsak mikrobiyom disbiyozunu ortaya çıkarır. *Saccharomyces* ve *Candida* IBS'da ve sağlıklı kontrollerde baskın bulunmuş ancak IBS' li kişilerde bu mantarlar daha yüksek oranda gözlenmiştir.⁶⁰ Fungal mikrobiyom, aşırı duyarlı ve normal IBS2' li hastalar arasında açıkça farklılık göstermektedir.⁶¹ Bu bulgular klinik açıdan ilgi çekicidir ve bu gözlemlerin mekanik temellerini daha da açığa kavuşturmak için daha çok kanıt ve biyolojik doğrulamaya ihtiyaç duyulmaktadır.⁶⁰

Onkolojik ortamda antifungal tedavi, pankreatik duktal karsinomda azalmış tümör ilerlemesi ile ilişkilendirilirken, *Malassezia*'nın postterapötik repopülasyonu tümör büyümesini hızlandırmaktadır.⁶² Ek olarak, *Moniliophthora*, *Rhodotorula*, *Aremonium*, *Thielaviopsis* ve *Pisolithus* ile birlikte kolorektal kanserde artan *Malassezia* tanımla-

nır ve daha yüksek *Basidiomycota* ise daha ilerlemiş hastalıkla ilişkilidir.^{63,64}

Bağırsak mikrobiyomu, ayrıca akciğer ve merkezi sinir sistemi gibi diğer organ sistemlerini de kendi eksenleri aracılığı ile etkileyebilir, ancak kesin mekanizmalar tam anlaşılammıştır. Bağırsak mikrobiyomu çeşitli kronik iltihaplı akciğer hastalıkları ile ilişkilendirilmiştir.⁶⁵ Örneğin, bağırsakta *C. albicans*'ın varlığı, Th17 ile ilişkili bağışıklık yollarını etkiler, bu da kronik havayolu hastalığında *Aspergillus* ile ilişkili solunum hastalığı patolojisinde rol oynar.⁶⁶ Bağırsak mikrobiyom disbiyozu, şizofreni, otizm ve Rett sendromu gibi psikonörolojik bozukluklarda daha fazla *Candida* bolluğunun meydana geldiğini bildirmiştir.^{67,68} Bu mikrobiyom – bağırsak - beyin eksenindeki bağırsak mantarlarının araştırılmasına yol açmıştır.⁶⁹

Son çalışmalar, fungal disbiyoz ve IBS arasındaki ilişkileri tanımlarken, IBS hastalarındaki anksiyete ve depresyon gibi nörolojik semptomların, mikrobiyom – bağırsak- beyin ekseninde bağırsak mantarları ile ilişkili olduğunu desteklemiştir.⁷⁰

Şu anda bu bulgulardaki biyolojik mekanizmayı daha net açıklamak için, daha fazla çalışmaya gerek vardır. Yine de bu bulgular, spekülatif olmakla beraber, insan hastalıklarında fungal mikrobiyomun önemini göstermektedir. Bağırsak yolundaki mantar mikrobiyomunun incelenmesi henüz emekleme aşamasındadır ve keşfedilmeyi bekleyen daha birçok şey bulunmaktadır.

Sonuçta; Bakteriye odaklanan mikrobiyom çalışmalarının sayısı mantar mikrobiyomunun (ve viromun) çok üzerindedir. Daha kapsamlı mantar veri tabanı platformu ile birleştirilen standartlaştırılmış ve güvenilir bir mikrobiyom dizileme yöntemi, mantar mikrobiyomları için benzer ölçkelebilirlik elde etmek için çok önemlidir. Çeşitli mikroplar arasında bilinen etkileşime rağmen, bakteriyel mikrobiyomları, mantar mikrobiyomlarını, viromları ve parazitleri entegre eden çalışmalar sınırlıdır. Mikrobiyal

grupların üyeleri arasındaki etkileşim, muhtemelen tek tek mikropların işlevinde ve davranışında bir değişikliğe neden olur ve bunlar da hastalık patogeneğinde önemli roller oynar. Ana vücut bölgelerinde barındırılan mikroplar, başlangıçtaki disbiyoz bölgesi dışında hastalığın sistemik tezahürlerine yol açan, konakçı bağışıklığı ile karşılıklı konuşma ve etkileşim sergiler¹.

Bağırsak mikrobiyomunun düzensizliği, bağırsakta artmış *Clostridium* varlığı, akciğer-bağırsak eksenini yoluyla alerjik hava yolları hastalığında, astımda akciğer mikrobiyomunun değişiminde rolü olduğunu göstermiştir^{1,71}. Bu teorem sağlıklı bağırsak mikrobiyom bileşiminin oral antifungallerle bozulmasının, allerji hava yolu hastalığının alevlenmesine nasıl yol açabileceği gibi klinik fenomenler için açıklamalar sağlar⁷². Mikrobiyomun kesin rolünü ve hastalık patogenezine katkısını daha iyi anlamak için, gelecekteki çalışmalar, bütünsel bir sistem tabanlı yaklaşımla birden fazla vücut bölgesinde konakçı bağışıklığı ile çeşitli mikrobiyal aileler arasındaki etkileşimleri değerlendirmelidir. Bu tür karmaşık ve birbirine bağlı mikrobiyal sistemlerde, mikrobiyom, bir dizi hastalığa ve bunların patogenezine katkıda bulunan bir faktör olabilir.

Fungal Mikrobiyom Analizi

Fungal mikrobiyomun tanımlanması yukarıdaki çalışmalarda da bahsedildiği gibi farklı anatomik bölgelerden izole edilen verimli bir mikrobiyal DNA eldesinin gerekli olduğu sekans yöntemi ile olmaktadır. Bakteri mikrobiyom çalışmalarından farklı olarak, fungal mikrobiyom çalışmalarında taksonomik sınıflandırma ve primer seçimi henüz net değildir.^{1,73} Bakterinin genomik DNA'sını elde etmek için kullanılan yöntemler glukoz, mannan ve glikoproteinler içeren sert fungal hücre duvarı için uygun değildir.

Fungal DNA elde oranını arttırmak için alternatif bir yöntem olarak DNA ekstraksiyonundan önce enzimatik lizis uygulanması önerilmektedir.⁷³ DNA eldesi için kullanılan farklı ekstraksiyon kitleri laboratuvarlar arasında farklı sonuçların ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Metagenomik Shotgun olarak adlandırılan yöntem, fungal ve bakteri sekanslarının birarada elde edildiği ve bunların arasından fungal sekansı ayırabilmek için çok ayrıntılı derin bir sekanslamanın gerektiği yöntemdir. Bu yöntemi kullanarak, Lewis ve ark.⁷⁴ insan gaita örneklerinden 5 farklı fungi izole etmişlerdir, bununla birlikte fungal spesifik sekanslama ile 50-60 fungal cins tanımlanabilmiştir.⁷⁵ Bu fungal spesifik yaklaşımlar “hedef amplikon sekansı” olarak da adlandırılmaktadır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) amplifikasyonu ve rRNA'nın ITS1 veya ITS2 bölgelerinin sekanslanmasına dayanmaktadır. Günümüze kadar yapılan fungal mikrobiyom çalışmalarında ITS1 bölgesini hedef alan primerler kullanılmıştır. Fakat bu çalışma sonuçlarına kıyasla ITS2 alt bölgesini hedef alan forward primer (gITS7ngs) ve reverse primer (ITS4ng) kullanıldığında daha kapsamlı bir fungi tanımlanması elde edildiği ve daha az taksonomik sapmaların olduğu bildirilmiştir⁷⁶. Daha sonraki döngülerde düşük GC içeriği olan PZR polimeraz proofreading olması hata oranını azaltmaktadır. Bir diğer önemli nokta ise PZR sikluslarının ve DNA dilüsyonlarının doğru ve iyi düşünülerek hazırlanması gerektirir. Ayrıca, negatif kontrol kullanılması kontaminasyonu tespit edeceğinden son derece önemlidir.¹

ITS bölgelerinin sekanslama sonuçları elde edildikten sonra, sonuçların analizi biyoinformatik çalışmalar ile gerçekleştirilir. Kalite kontrollü referans veritabanlarının eksikliğinden dolayı yeni fungal tür tanımlanması veya sıklıkla karşılaşılan fungal türlerin eşeyli veya eşeysiz formlarına farklı isimler ile tanımlanması gibi sorunlar ile karşılaşmaktadır.⁷⁷ Bu durum, güncel fungal taksonomi bilgisinden farklı olduğundan kafa karışıklığına yol açmaktadır. Gen bankalarına eklenen fungal sekansların tür isimlerini çok zayıf veya yanlış olduğu ileri sürülmüştür. Gen bankasına eklenen ITS sekanslarının çoğunda “tanımlanamayan fungus” veya “tanımlanamayan OTU” şeklindedir. ITS bölgesini referans olarak kullanılan veritabanları INSDC, UNITE and Warcup'tır. En sık kullanılan ve fungal sekansların arındırılmış olduğu gelişmiş veri tabanı ise “UNITE” veritabanıdır.⁷⁸ Bazı araştırmacılar, bazı bölgeler

örneğin barsak⁷⁹ ve patojenik fungi⁸⁰ için elde ettikleri ITS sekans bilgilerini düzenleyerek manuel olarak düzenleyerek geliştirmişlerdir.

Donovan ve ark.'nın fungal metagenomik analizindeki zorlukların giderilmesine yönelik önerdikleri biyoinformatik inceleme de oldukça önemlidir. “FindFungi” olarak adlandırılan geliştirdikleri bu yöntemde yalancı pozitiflikleri tespit edilmesinin mümkün olduğunu savunmuşlardır⁸¹

Sekans işlemi sonlandıktan sonra fungi tanımlanması ve sayısı belirlenmiş olur. Veritabanı hizalamaları ile en iyi eşleşmeyi bulmaya yarayan iyi bir yöntemdir, fakat bu eşleşmenin ne derece doğru olduğunu araştırmak gerekmektedir. Fungal tür sekans çalışmalarına göre, ITS sekansları klinik açıdan önemli iki tür olan *Candida* ve *Aspergillus* türlerinin tanımlanmasında oldukça yararlıdır, fakat *Cladosporium* türleri arasındaki ITS varyasyonu çok yetersizdir.⁸² Fungal mikrobiyom analizinde yapılan sekans çalışmaları problemler gibi gözükse de, internal kontrollerin olduğu daha birçok çalışma ile bu problemler çözüm bulacaktır düşüncesindeyiz.

Kaynaklar

1. Tiew PY, Mac Aogain M, Ali NABM, Thng KX, Goh K, Lau KJX, Chotirmall SH. The Mycobiome in Health and Disease: Emerging Concepts, Methodologies and Challenges. *Mycopathologia*. 2020 Apr;185(2):207-231. doi: 10.1007/s11046-019-00413-z
2. Limon, J.J., Skalski, J.H., Underhill, D.M., 2017. Commensal Fungi in Health and Disease. *Cell Host & Microbe* 22, 156–165. doi:10.1016/j.chom.2017.07.002
3. Brunetti L, De Caro F, Boccia G, Cavallo P, Capunzo M. Surveillance of nosocomial infections: a preliminary study on yeast carriage on hands of healthcare workers. *J Prev Med Hyg*. 2008 Jun;49(2):63-8.
4. Paul AA, Hoffman KL, Hagan JL, Sampath V, Petrosino JF, Pammi M. Fungal cutaneous microbiome and host determinants in preterm and term neonates. *Pediatr Res*. 2020 Aug;88(2):225-233. doi: 10.1038/s41390-019-0719-7.
5. Gupta AK, Kohli Y. Prevalence of Malassezia species on various body sites in clinically healthy subjects representing different age groups. *Med Mycol*. 2004 Feb;42(1):35-42. doi: 10.1080/13693780310001610056
6. Netea MG, Van Der Graaf CA, Vonk AG, Verschuere I, Van Der Meer JW, Kullberg BJ. The role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 in the host defense against disseminated candidiasis. *J Infect Dis*. 2002 May 15;185(10):1483-9. doi: 10.1086/340511.
7. Kistowska M, Fenini G, Jankovic D, Feldmeyer L, Kerl K, Bosshard P, Contassot E, French LE. Malassezia yeasts activate the NLRP3 inflammasome in antigen-presenting cells via Syk-kinase signalling. *Exp Dermatol*. 2014 Dec;23(12):884-9. doi: 10.1111/exd.12552.
8. Gresnigt MS, Jaeger M, Subbarao Malireddi RK, Rasid O, Jouvion G, Fitting C, Melchers WJG, Kanneganti TD, Carvalho A, Ibrahim-Granet O, van de Veerdonk FL. The Absence of NOD1 Enhances Killing of Aspergillus fumigatus Through Modulation of Dectin-1 Expression. *Front Immunol*. 2017 Dec 13;8:1777. doi: 10.3389/fimmu.2017.01777.
9. Oh, J., Freeman, A.F., Park, M., Sokolic, R., Candotti, F., Holland, S.M., Segre, J.A., Kong, H.H., 2013. The altered landscape of the human skin microbiome in patients with primary immunodeficiencies. *Genome Research* 23, 2103–2114. doi:10.1101/gr.159467.113
10. Velegriaki, A., Cafarchia, C., Gaitanis, G., Iatta, R., Boekhout, T., 2015. Malassezia Infections in Humans and Animals: Pathophysiology, Detection, and Treatment. *PLOS Pathogens* 11, e1004523. doi:10.1371/journal.ppat.1004523
11. Savolainen J, Lintu P, Kosonen J, Kortekangas-Savolainen O, Viander M, Pène J, Kalimo K, Terho EO, Bousquet J. Pityrosporum and Candida specific and non-specific humoral, cellular and cytokine responses in atopic dermatitis patients. *Clin Exp Allergy*. 2001 Jan;31(1):125-34. PMID: 11167960.
12. Back, O., Scheynius, A., Johansson, S.G.O., 1995. Ketoconazole in atopic dermatitis: therapeutic response is correlated with decrease in serum IgE. *Archives of Dermatological Research* 287, 448–451. doi:10.1007/bf00373427
13. Gaitanis G, Magiatis P, Hantschke M, Bassukas ID, Velegriaki A. The Malassezia genus in skin and systemic diseases. *Clin Microbiol Rev*. 2012 Jan;25(1):106-41. doi: 10.1128/CMR.00021-11.
14. Huffnagle GB, Noverr MC. The emerging world of the fungal microbiome. *Trends Microbiol*. 2013 Jul;21(7):334-41. doi: 10.1016/j.tim.2013.04.002.
15. Zhang E, Tanaka T, Tajima M, Tsuboi R, Nishikawa A, Sugita T. Characterization of the skin fungal microbiota in patients with atopic dermatitis and in healthy subjects. *Microbiol Immunol*. 2011 Sep;55(9):625-32. doi: 10.1111/j.1348-0421.2011.00364.x.
16. Sonesson A, Bartosik J, Christiansen J, Roscher I, Nilsson F, Schmidtchen A, Bäck O. Sensitization to skin-associated microorganisms in adult patients with atopic dermatitis is of importance for disease severity. *Acta Derm Venereol*. 2013 May;93(3):340-5. doi: 10.2340/00015555-1465.
17. Chang FY, Lee JH, Yang YH, Yu HH, Wang LC, Lin YT, Chiang BL. Analysis of the serum levels of fungi-specific immunoglobulin E in patients with allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;154(1):49-56. doi: 10.1159/000319208.
18. Park HK, Ha MH, Park SG, Kim MN, Kim BJ, Kim W. Characterization of the fungal microbiota (mycobiome) in healthy and dandruff-afflicted human scalps. *PLoS One*. 2012;7(2):e32847. doi: 10.1371/journal.pone.0032847.
19. Theelen, B., Cafarchia, C., Gaitanis, G., Bassukas, I.D., Boekhout, T., Dawson, T.L., 2018. Malassezia ecology, pathophysiology, and treatment. *Medical Mycology* 56, S10–S25. doi:10.1093/mmy/myx134
20. Song, Y.C., Hahn, H.J., Kim, J.Y., Ko, J.H., Lee, Y.W., Choe, Y.B., Ahn, K.J., 2011. Epidemiologic Study of Malassezia Yeasts in Acne Patients by Analysis of 26S rDNA PCR-RFLP. *Annals of Dermatology* 23, 321. doi:10.5021/ad.2011.23.3.321
21. Numata S, Akamatsu H, Akaza N, Yagami A, Nakata S, Matsunaga K. Analysis of facial skin-resident microbiota in Japanese acne patients. *Dermatology*. 2014;228(1):86-92. doi: 10.1159/000356777
22. Hu G, Wei YP, Feng J. Malassezia infection: is there any chance or necessity in refractory acne? *Chin Med J (Engl)*. 2010 Mar 5;123(5):628-32.
23. Akaza N, Akamatsu H, Takeoka S, Sasaki Y, Mizutani H, Nakata S, Matsunaga K. Malassezia globosa tends to grow actively in summer conditions more than other cutaneous Malassezia species. *J Dermatol*. 2012 Jul;39(7):613-6. doi: 10.1111/j.1346-8138.2011.01477.x.
24. Kesavan S, Walters CE, Holland KT, Ingham E. The effects of Malassezia on pro-inflammatory cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Med Mycol*. 1998 Apr;36(2):97-106.
25. Akaza, N., Akamatsu, H., Takeoka, S., Mizutani, H., Nakata, S., Matsunaga, K., 2012. Increased hydrophobicity in Malassezia species correlates with increased proinflammatory cytokine expression in human keratinocytes. *Medical Mycology* 50, 802–810. doi:10.1093/13693786.2012.678019
26. Yan D, Issa N, Afifi L, Jeon C, Chang HW, Liao W. The Role of the Skin and Gut Microbiome in Psoriatic Disease. *Curr Dermatol Rep*. 2017 Jun;6(2):94-103. doi: 10.1007/s13671-017-0178-5.
27. Paulino LC, Tseng CH, Strober BE, Blaser MJ. Molecular analysis of fungal microbiota in samples from healthy human skin and psoriatic lesions. *J Clin Microbiol*. 2006 Aug;44(8):2933-41. doi: 10.1128/JCM.00785-06.
28. Dowd SE, Delton Hanson J, Rees E, Wolcott RD, Zischau AM, Sun Y, White J, Smith DM, Kennedy J, Jones CE. Survey of fungi and yeast in polymicrobial infections in chronic wounds. *J Wound Care*. 2011 Jan;20(1):40-7. doi: 10.12968/jowc.2011.20.1.40.
29. Arron ST, Dimon MT, Li Z, Johnson ME, Wood TA, Feeney L, et al. High Rhodotorula sequences in skin transcriptome of patients with diffuse systemic sclerosis. *J Invest Dermatol*. 2014;134(8):2138–45.
30. Jo J-H, Kennedy EA, Kong HH. Topographical and physiological differences of the skin mycobiome in health and disease. *Virulence*. 2016;8(3):324–33
31. Ghannoum MA, Jurevic RJ, Mukherjee PK, Cui F, Sikaroodi M, Naqvi A, Gillevet PM. Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS Pathog*. 2010 Jan 8;6(1):e1000713. doi: 10.1371/journal.ppat.1000713.
32. Budden KF, Shukla SD, Rehman SF, Bowerman KL, Keely S, Hugenholtz P, et al. Functional effects of the microbiota in chronic respiratory disease. *Lancet Respir Med*. 2019;7:907–920.
33. Kong HH, Morris A. The emerging importance and challenges of the human mycobiome. *Virulence*. 2017;8(3):310–2.
34. Lyon J. The Lung Microbiome: Key to Respiratory Ills? *JAMA*. 2017 May 2;317(17):1713-1714. doi: 10.1001/jama.2017.3023.
35. Li X, Leonardi I, Semon A, Doron I, Gao IH, Putzel GG, Kim Y, Kabata H, Artis D, Fiers WD, Ramer-Tait AE, Iliev ID. Response to Fungal Dysbiosis by Gut-Resident CX3CR1+ Mononuclear Phagocytes Aggravates Allergic Airway Disease. *Cell Host Microbe*. 2018 Dec 12;24(6):847-856.e4. doi: 10.1016/j.chom.2018.11.003.
36. van Woerden HC, Gregory C, Brown R, Marchesi JR, Hoogendoorn B, Matthews IP. Differences in fungi present in induced sputum samples from asthma patients and non-atopic controls: a community based case control study. *BMC Infect Dis*. 2013 Feb 5;13:69. doi: 10.1186/1471-2334-13-69.
37. Goldman DL, Chen Z, Shankar V, Tyberg M, Vicencio A, Burk R. Lower airway microbiota and mycobiota in children with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Feb;141(2):808-811.e7. doi: 10.1016/j.jaci.2017.09.018.
38. Mac Aogáin M, Tiew PY, Lim AYH, Low TB, Tan GL, Hassan T, Ong TH, Pang SL, Lee ZY, Gwee XW, Martinus C, Sio YY, Matta SA, Ong TC, Tiong YS, Wong KN, Narayanan S, Au VB, Marlier D, Keir HR, Tee A, Abisheganaden JA, Koh MS, Wang Y, Connolly JE, Chew FT, Chalmers JD, Chotirmall SH. Distinct “Immunoallotypes” of Disease and High Frequencies of Sensitization in Non-Cystic Fibrosis Bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Apr 1;199(7):842-853. doi: 10.1164/rccm.201807-1355OC.
39. Charlson, E.S., Diamond, J.M., Bittinger, K., Fitzgerald, A.S., Yadav, A., Haas, A.R., Bushman, F.D., Collman, R.G., 2012. Lung-enriched Organisms and Aberrant Bacterial and Fungal Respiratory Microbiota after Lung Transplant. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 186, 536–545. doi:10.1164/rccm.201204-0693oc
40. Chabé M, Aliouat-Denis CM, Delhaes L, Aliouat M, Viscogliosi E, Dei-Cas E. Pneumocystis: from a doubtful unique entity to a group of highly diversified fungal species. *FEMS Yeast Res*. 2011 Feb;11(1):2-17. doi: 10.1111/j.1567-1364.2010.00698.x.
41. Lawani MB, Morris A. The respiratory microbiome of HIV-infected individuals. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2016 Aug;14(8):719-29. doi: 10.1080/14787210.2016.1206469.
42. Lipuma JJ. The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev*. 2010 Apr;23(2):299-323. doi: 10.1128/CMR.00068-09.
43. Delhaes L, Monchy S, Fréalle E, Hubans C, Salleron J, Leroy S, Prevotat A, Walleet F, Walleert B, Dei-Cas E, Sime-Ngando T, Chabé M, Viscogliosi E. The airway microbiota in

- cystic fibrosis: a complex fungal and bacterial community--implications for therapeutic management. *PLoS One*. 2012;7(4):e36313. doi: 10.1371/journal.pone.0036313.
44. Nguyen LD, Viscogliosi E, Delhaes L. The lung mycobiome: an emerging field of the human respiratory microbiome. *Front Microbiol*. 2015 Feb 13;6:89. doi: 10.3389/fmicb.2015.00089. PMID: 25762987; PMCID: PMC4327734.
45. Carpagnano, G.E., Susca, A., Scioscia, G., Lacedonia, D., Cotugno, G., Soccio, P., Santamaria, S., Resta, O., Logrieco, G., Foschino Barbaro, M.P., 2019. A survey of fungal microbiota in airways of healthy volunteer subjects from Puglia (Apulia), Italy. *BMC Infectious Diseases* 19. doi:10.1186/s12879-019-3718-8
46. Li Q, Wang C, Tang C, He Q, Li N, Li J. Dysbiosis of gut fungal microbiota is associated with mucosal inflammation in Crohn's disease. *J Clin Gastroenterol*. 2014;48(6):513.
47. Ott SJ, Ku' hnbacher T, Musfeldt M, Rosenstiel P, Hellmig S, Rehman A, et al. Fungi and inflammatory bowel diseases: alterations of composition and diversity. *Scand J Gastroenterol*. 2008;43(7):831–41.
48. Sokol H, Leducq V, Aschard H, Pham H-P, Jegou S, Landman C, et al. Fungal microbiota dysbiosis in IBD. *Gut*. 2017;66(6):1039–48.
49. Hoarau G, Mukherjee PK, Gower-Rousseau C, Hager C, Chandra J, Retuerto MA, et al. Bacteriome and mycobiome interactions underscore microbial dysbiosis in familial Crohn's disease. *MBio*. 2016;7(5):e01250-16.
50. Liguori G, Lamas B, Richard ML, Brandi G, Da Costa G, Hoffmann TW, et al. Fungal dysbiosis in mucosa-associated microbiota of Crohn's disease patients. *J Crohn's Colitis*. 2015;10(3):296–305.
51. Limon JJ, Tang J, Li D, Wolf AJ, Michelsen KS, Funari V, et al. Malassezia is associated with Crohn's disease and exacerbates colitis in mouse models. *Cell Host Microbe*. 2019;25(3):377–88 e6.
52. Wheeler ML, Limon JJ, Bar AS, Leal CA, Gargus M, Tang J, et al. Immunological consequences of intestinal fungal dysbiosis. *Cell Host Microbe*. 2016;19(6):865–73.
53. Sovran B, Planchais J, Jegou S, Straube M, Lamas B, Natividad JM, et al. Enterobacteriaceae are essential for the modulation of colitis severity by fungi. *Microbiome*. 2018;6(1):152.
54. Scupham, A.J. et al. (2006) Abundant and diverse fungal microbiota in the murine intestine. *Appl. Environ. Microbiol*. 72, 793–801.
55. Yamaguchi, N. et al. (2006) Gastrointestinal Candida colonisation promotes sensitisation against food antigens by affecting the mucosal barrier in mice. *Gut* 55, 954–960.
56. Iliev, I.D. et al. (2012) Interactions between commensal fungi and the Ctype lectin receptor Dectin-1 influence colitis. *Science* 336, 1314–1.
57. Mukhopadhyaya I, Hansen R, Meharg C, Thomson J, Russell R, Berry S, et al. The fungal microbiota of de-novo paediatric inflammatory bowel disease. *Microbes Infect*. 2015;17(4):304–10.
58. Chehoud C, Albenberg LG, Judge C, Hoffmann C, Grunberg S, Bittinger K, et al. Fungal signature in the gut microbiota of pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2015;21(8):1948–56.
59. Van der Waaij, D. and Van der Waaij, B.D. (1990) The colonization resistance of the digestive tract in different animal species and in man; a comparative study. *Epidemiol. Infect*. 105, 237–243.
60. Gu Y, Zhou G, Qin X, Huang S, Wang B, Cao H. The potential role of gut mycobiome in irritable bowel syndrome. *Front Microbiol*. 2019;10:1894.
61. Botschuijver S, Roeseleers G, Levin E, Jonkers DM, Welting O, Heinsbroek SEM, et al. Intestinal fungal dysbiosis is associated with visceral hypersensitivity in patients with irritable bowel syndrome and rats. *Gastroenterology*. 2017;153(4):1026–39.
62. Aykut B, Pushalkar S, Chen R, Li Q, Abengozar R, Kim JI, et al. The fungal mycobiome promotes pancreatic oncogenesis via activation of MBL. *Nature*. 2019;574:264–7.
63. Coker OO, Nakatsu G, Dai RZ, Wu WKK, Wong SH, Ng SC, et al. Enteric fungal microbiota dysbiosis and ecological alterations in colorectal cancer. *Gut*. 2019;68(4):654–62.
64. Luan C, Xie L, Yang X, Miao H, Lv N, Zhang R, et al. Dysbiosis of fungal microbiota in the intestinal mucosa of patients with colorectal adenomas. *Sci Rep*. 2015;5:7980.
65. Budden KF, Shukla SD, Rehman SF, Bowerman KL, Keely S, Hugenholtz P, et al. Functional effects of the microbiota in chronic respiratory disease. *Lancet Respir Med*. 2019;7:907–920.
66. Bacher P, Hohnstein T, Beerbaum E, Rocker M, Blango MG, Kaufmann S, et al. Human anti-fungal Th17 immunity and pathology rely on cross-reactivity against *Candida albicans*. *Cell*. 2019;176(6):1340–55 e15.
67. Severance EG, Alaedini A, Yang S, Halling M, Gressitt KL, Stallings CR, et al. Gastrointestinal inflammation and associated immune activation in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2012;138(1):48–53.
68. Strati F, Cavalieri D, Albanese D, De Felice C, Donati C, Hayek J, et al. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome*. 2017;5(1):24.
69. Dinan TG, Cryan JF. The microbiome–gut–brain axis in health and disease. *Gastroenterol Clin N Am*. 2017;46(1):77–89.
70. Thijssen AY, Jonkers DM, Leue C, van der Veek PP, Vidakovic-Vukic M, van Rood YR, et al. Dysfunctional cognitions, anxiety and depression in irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol*. 2010;44(10):e236–41.
71. Bacher P, Hohnstein T, Beerbaum E, Rocker M, Blango MG, Kaufmann S, et al. Human anti-fungal Th17 immunity and pathology rely on cross-reactivity against *Candida albicans*. *Cell*. 2019;176(6):1340–55 e15.
72. Wheeler ML, Limon JJ, Underhill DM. Immunity to commensal fungi: detente and disease. *Ann Rev Pathol*. 2017;12:359–85.
73. Vesty A, Biswas K, Taylor MW, Gear K, Douglas RG. Evaluating the Impact of DNA Extraction Method on the Representation of Human Oral Bacterial and Fungal Communities. *PLoS One*. 2017 Jan 18;12(1):e0169877. doi: 10.1371/journal.pone.0169877.
74. Lewis JD, Chen EZ, Baldassano RN, Otley AR, Griffiths AM et al. Inflammation, Antibiotics, and Diet as Environmental Stressors of the Gut Microbiome in Pediatric Crohn's Disease. *Cell Host Microbe*. 2015 Oct 14;18(4):489–500. doi: 10.1016/j.chom.2015.09.008. Erratum in: *Cell Host Microbe*. 2017 Aug 9;22(2):247.
75. Hoarau, G., Mukherjee, P.K., Gower-Rousseau, C., Hager, C., Chandra, J., Retuerto, M.A., et al. Bacteriome and mycobiome interactions underscore microbial dysbiosis in familial Crohn's disease. *MBio* 7, 2016. <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.01250-16>.
76. Nilsson RH, Anslan S, Bahram M, Wurzbacher C, Baldrian P, Tedersoo L. Mycobiome diversity: high-throughput sequencing and identification of fungi. *Nat Rev Microbiol*. 2019 Jan;17(2):95–109. doi: 10.1038/s41579-018-0116-y.
77. Halwachs B, Madhusudhan N, Krause R, Nilsson RH, Moissl-Eichinger C, Högenauer C, Thallinger GG, Gorkiewicz G. Critical Issues in Mycobiota Analysis. *Front Microbiol*. 2017 Feb 14;8:180. doi: 10.3389/fmicb.2017.00180.
78. Kõljalg U, Nilsson RH, Abarenkov K, Tedersoo L, Taylor AF, Bahram M, et al. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Mol Ecol*. 2013 Nov;22(21):5271–7. doi: 10.1111/mec.12481.
79. Tang J, Iliev ID, Brown J, Underhill DM, Funari VA. Mycobiome: Approaches to analysis of intestinal fungi. *J Immunol Methods*. 2015 Jun;421:112–121. doi: 10.1016/j.jim.2015.04.004.
80. Irinyi L, Serena C, Garcia-Hermoso D, Arabatzis M, Desnos-Ollivier M, Vu D, et al. International Society of Human and Animal Mycology (ISHAM)-ITS reference DNA barcoding database—the quality controlled standard tool for routine identification of human and animal pathogenic fungi. *Med Mycol*. 2015 May;53(4):313–37. doi: 10.1093/mmy/mv008.
81. Donovan PD, Gonzalez G, Higgins DG, Butler G, Ito K. Identification of fungi in shotgun metagenomics datasets. *PLoS One*. 2018 Feb 14;13(2):e0192898. doi: 10.1371/journal.pone.0192898.



Frequency of Thombocytopenia in Intensive Care Patients and Related Factors

Yoğun Bakım Hastalarında Trombositopeni Sıklığı Ve İlişkili Faktörler

  Cem Ece

Izmir Tınaztepe University, Galen Hospital, Department of Anesthesiology and Reanimation, Izmir, TURKEY

ORCID ID: Cem Ece <https://orcid.org/0000-0002-5786-0525>*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Cem Ece, e-posta / e-mail: cemece.dr@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 19-12-2020

Kabul Tarihi / Accepted: 04-03-2021

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2021

Ece C. Frequency of Thombocytopenia in Intensive Care Patients and Related Factors, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2021;5(1):33-43

Abstract

- Objective** Thrombocytopenia is a common hematological disorder in intensive care patients with serious consequences. Determining the etiology as well as detecting thrombocytopenia is important in terms of patient management and treatment planning. In our study, it was aimed to examine the incidence of thrombocytopenia and related factors in patients hospitalized in our general intensive care unit.
- Materials and Methods** In our retrospective study, the information of patients hospitalized in the Intensive Care clinic was retrospectively and randomly scanned. Deep thrombocytopenia was considered to be less than 50.000 / μ L of the patients, and the development of thrombocytopenia in the first five days of hospitalization in the intensive care unit was accepted as early stage thrombocytopenia. Statistical analyzes were performed using SPSS version 17.0 software. Mann-Whitney U test, Pearson's Chi Square or Fisher's Exact Chi Square test were used for comparisons. Logistic regression analysis was performed to determine the risk factor. The cases where the p-value was less than 0.05 were considered statistically significant.
- Results** 83 female (53.2%), 73 male (46.8%) 156 patients were included in our study. While the number of patients with thrombocytopenia was found in 26 (16.7%) during the first admission to intensive care, it was observed that thrombocytopenia developed in 23 (14.7%) of the patients during the days of hospitalization in the intensive care unit. Deep thrombocytopenia was detected in 9 (5.8%) patients. The mean time to onset of thrombocytopenia was 5.8 ± 5.1 days and the median was 4 (IQR = 6) (min-max 1-20) days. The number of patients who developed early thrombocytopenia was 7 (4.48%). It was observed that 30.4% of the patients who developed thrombocytopenia during the days of intensive care hospitalization were thrombocytopenic in the early period. The incidence of thrombocytopenia in patients with sepsis was 48.1% (n = 26), and the rate of thrombocytopenia in those who did not develop was found to be 22.5% (n = 23). The rate of development of thrombocytopenia (n = 1) in patients using linezolid was found to be 4.3%.
- Discussion** In our study, the incidence of thrombocytopenia developed during admission to intensive care and during hospitalization is consistent with other studies. The rate of deep thrombocytopenia found during hospitalization in intensive care is higher than in other studies. This rate may be due to the fact that our study was conducted in tertiary care patients, the proportion of patients diagnosed with sepsis and the use of multiple drugs. In our study, the mortality rate in patients with early thrombocytopenia (n = 7) was not found to be statistically significant compared to those with late thrombocytopenia; it was observed that the presence of sepsis significantly increased the incidence of thrombocytopenia.
- Conclusion** Thrombocytopenia is a parameter that should be followed in terms of etiology and prognosis in intensive care patients.
- Keywords** intensive care, thrombocytopenia, sepsis, deep thrombocytopenia, early thrombocytopenia

Özet

- Amaç** Trombositopeni yoğun bakım hastalarında sık görülen ve ciddi sonuçlara yol açabilen bir hematolojik bozuktur. Trombositopeniyi tespit etmek kadar etiyolojisini saptamak hasta yönetimi ve tedavinin planlaması açısından önemlidir. Çalışmamızda genel yoğun bakım ünitemizde yatan hastalarda trombositopeni insidansının ve ilişkili faktörlerinin incelenmesi amaçlandı.
- Materyal ve Metod** Retrospektif yapılan çalışmamızda Yoğun Bakım kliniğinde yatan hastaların bilgileri retrospektif, randomize olarak tarandı. Hastaların 50.000/ μ L altı trombosit değeri derin trombositopeni, yoğun bakıma yatışı ilk beş gününde trombositopeni gelişmesi ise erken dönem dönem trombositopeni kabul edildi. İstatistiksel analizler SPSS versiyon 17.0 yazılımı kullanılarak yapıldı. Karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi, Pearson's Chi Square veya Fisher's Exact Chi Square testi kullanıldı. Risk faktörü belirlemek için logistic regression analizi yapıldı. p-değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.
- Bulgular** Çalışmamıza 83'ü kadın (%53,2), 73 'ü erkek (%46,8) 156 hasta dahil edildi. Yoğun bakıma ilk yatış anında trombositopenisi olan hasta sayısı 26 (%16,7) bulunurken, Hastaların 23'ünde (%14,7) yoğun bakımda yattığı günler içerisinde trombositopeni geliştiği görüldü. Dokuz (%5,8) hastada ise derin trombositopeni saptandı. Trombositopeninin ortaya çıkış süresi ortalama $5,8 \pm 5,1$ gün ve medyan 4 (IQR=6) (min-maks 1-20) gün bulundu. Erken dönem trombositopeni gelişen hasta sayısı 7 (%4,48) bulundu. Yoğun Bakıma yattığı günler içerisinde trombositopeni gelişen hastaların %30,4'ünün erken dönemde trombositopenik olduğu görüldü. Sepsis gelişen hastalarda trombositopeni görülme oranı %48,1 (n=26), gelişmeyenlerde trombositopeni görülme oranı %22,5 (n=23) olarak bulundu. Linezolid kullanan hastalarda trombositopeni gelişme oranı (n=1) %4,3 olarak bulundu.
- Tartışma** Çalışmamızda yoğun bakıma başvuru ve yatış süresince gelişen trombositopeni insidansı diğer çalışmalarla uyumludur. Yoğun bakımda yatış süresince saptanan derin trombositopeni oranı diğer çalışmalara göre daha yüksektir. Bu oran çalışmamızın üçüncü basamak yoğun bakım hastalarında yapılmış olması, sepsis tanılı hasta oranına ve çoklu ilaç kullanımına bağlı olabilir. Çalışmamızda erken dönem trombositopeni gelişen hastalarda mortalite oranı geç dönem trombositopeni gelişenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken; sepsis varlığının trombositopeni görülme oranını istatistiksel olarak anlamlı arttırdığı görüldü.
- Sonuç** Yoğun bakımda hastalarda trombositopeni etiyolojisi ve prognoz açısından takip edilmesi gereken bir parametredir.
- Anahtar Kelimeler** yoğun bakım, trombositopeni, sepsis, derin trombositopeni, erken trombositopeni



INTRODUCTION

Thrombocytopenia is a common hematological disorder in intensive care patients with serious consequences. There are different definitions for thrombocytopenia. Generally, a platelet count below 150.000 / μL in the complete blood count is considered as thrombocytopenia. However, some authors accept the thrombocytopenia limit as 100.000 / μL ¹⁻³.

It is important to detect thrombocytopenia, determine its etiology, patient management and treatment planning.

The incidence of thrombocytopenia in intensive care patients is reported in a very wide range from 13% to 44%^{4,5}. Sepsis is reported to be the most common cause, especially in intensive care patients. Disseminated intravascular coagulation (DIC) and drug-related causes are among other common causes^{6,7}.

The variety of thrombocytopenia etiology and the clinical conditions it may cause require close monitoring in intensive care units. In our study, we aimed to investigate the incidence of thrombocytopenia in patients hospitalized in our tertiary general intensive care unit and to examine the factors associated with thrombocytopenia.

MATERIALS and METHODS

Patients hospitalized in the 3rd step intensive care clinic of Cigli Regional Training Hospital between 1 June 2016 and 30 August 2018 were included in our study. The data of the patients were evaluated retrospectively and randomly using the hospital electronic recording systems. Institution permission was obtained before the study and the study was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki Principles (www.wma.net/e/policy/b3.htm). Patients under 18 years of age, hospitalized for less than 24 hours, patients diagnosed with hematologica and liver malignancy and pregnant patients were excluded from the study.

The demographic data of the patients, diagnose at inten-

sive care admission, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score (APACHE II), the duration of hospitalization in the intensive care unit, the duration of intubation, the drugs used during the stay at the intensive care unit, the status of immunosuppressive drug use, whether they were diagnosed with sepsis and their prognosis were recorded. Thrombocyte values of the patients were recorded as days during their hospitalization in the intensive care unit.

In our study, in order to evaluate the effects of thrombocyte value and the day of thrombocytopenia on the prognosis, a platelet value below 50.000 / μL was accepted as deep thrombocytopenia. Development of thrombocytopenia in the first five days of admission to intensive care unit was accepted as early stage thrombocytopenia.

Statistical analysis

Statistical analyzes were performed using SPSS version 17.0 software. The suitability of variables to normal distribution was analyzed using analytical methods (Kolmogorov-Smirnov / Shapiro-Wilk tests). Descriptive analyzes were given as median (IQR) for variables that were not normally distributed. Descriptive statistics were made by giving demographic characteristics, frequency and percentage values. In continuous data, Mann-Whitney U test was used to compare paired groups such as with or without thrombocytopenia. Pearson's Chi Square or Fisher's Exact Chi Square test was used in the analysis of categorical data. Logistic regression analysis was performed to determine the risk factor. The cases where the p-value was less than 0.05 were considered statistically significant.

RESULTS

Eighty three female (53.2%), 73 male (46.8%) (a total of 156 patients) were included in our study. The mean age of the patients was 65.9 ± 20.4 years (min-max, 16-100).

Considering the cause for admission to intensive care, 117 patients were in intensive care unit due to respiratory failu-

re, 63 patients with respiratory system disease, 39 patients with neurological disease, 17 patients with metabolic disease, 10 patients postoperative, 10 patients with gastrointestinal bleeding, 8 patients with cardiovascular disease, 4 patients with drug intoxication and 3 patients due to other reasons. It was seen that he was lying.

The mean APACHE-II score of all patients was 19.3 ± 7.5 ; The average duration at the intensive care unit was 9.3 ± 14.5 days.

Demographic data of the patients and general data of intensive care admission are shown in Table 1. Reasons for hospitalization are shown in Table 2.

Parameters	Minimum	Maximum	Median	IQR	Mean±SD
Age	16	100	82	18,75	65.8±20.4
APACHE II Score	5	41	22	5,5	19.3±7.5
Admission PLT	23000	1430000	170000	56750	263121.8±167452.2
Diamisted PLT	16000	2920000	107500	73000	277859±267007.4
Hospitation Day	1	107	5	5.75	9.3±14.5
The day of thrombocytopenia	1	20	4	6	5.8±5.1

IQR; Interquartile range

Parameters	n =117	%
Respiratory Failure	75	64.1
Respiratory System Disease	63	40.3
Neurological Disorder	39	25
Metabolic Disease	17	10.8
Postop Patient	10	6.4
Gastrointestinal System Bleeding	10	6.4
Cardiovasculer System Disease	8	5.1
Drug Intoxication	4	2.6
Other	3	1.9

While the number of patients with thrombocytopenia was found in 26 (16.7%) at the time of initial admission to intensive care, it was observed that thrombocytopenia developed in 23 (14.7%) of the patients during the days of hospitalization in the intensive care unit. Deep thrombocytopenia was detected in 9 (5.8%) patients.

The mean time to onset of thrombocytopenia was 5.8 ± 5.1 days and the median 4 (IQR = 6) min-max 1-20 days. The number of patients who developed early thrombocytopenia was found to be 7 (4.48%). It was observed that 30.4% of the patients who developed thrombocytopenia during

the days of intensive care hospitalization were thrombocytopenic in the early period.

The demographic information, hospitalization day, APACHE II score, sepsis and prognosis comparisons of patients with thrombocytopenia during the first admission to intensive care and those who developed thrombocytopenia during the days in intensive care are given in Table 3.

The drugs used by patients who developed thrombocytopenia (n = 23) during the days of intensive care are shown in Table 4, respectively. According to this; LMWH

	Presence of Thrombocytopenia at First Admission	Development of Thrombocytopenia in ICU	p value §	z score
	n=26	n=23		
	Median (IQR)	Median (IQR)		
Age	73.5 (40)	74 (16)	0.810	-0.241
APACHE II Score	23 (14)	21 (8)	0.514	-0.652
Hospital Duration	5 (7)	7 (12)	0.479	-0.708
	n (%)	n (%)	p value	χ^2
Gender				
Male	14 (53.8)	12 (52.2)	0.907	0.014
Female	12 (46.2)	11 (47.8)		
Sepsis				
None	15 (57.7)	8 (34.8)	0.109	2.572
Yes	11 (42.3)	15 (65.2)		
Prognosis				
Ex	11 (42.3)	17 (73.9)	0.026	4.978
Transfer Another unit	15 (57.7)	6 (26.1)		
§ Mann-Whitney U test was used. Pearson's Chi Square and Fisher's Exact Chi-Square test were used. p<0.05 was considered significant.				

in 69.6% patients, clopidogrel in 4.3%, warfarin sodium in 8.7%, methylprednisolone in 39.1%, acetylsalicylic acid in 39.1%, linezolid in 4.3%, and It was found that succinylated gelatin was used in 57.1 patients, PPI in 90.5%, H2 Receptor Blocker (H2RB) in 4.8% and N-Acetyl Cysteine in 81.0%.

When the drugs used by the patients were examined, no significant difference was observed between the patients with thrombocytopenia and those without thrombocytopenia in the use of other drugs except succinylated gelatin and H2RB. During this evaluation, patients with thrombocytopenia on admission to intensive care were excluded (Table 4).

Table 4. Medication use in thrombocytopenia				
	Trombocytopenia existance	No trombocytopenia	p value	χ^2
	n=23	n=107		
	n (%)	n (%)		
DMAH				
No	7 (30.4)	26 (24.3)	0.540	0.376
Yes	16 (69.6)	81 (75.7)		
Clopidogrel				
No	22 (95.7)	96 (89.7)	0.692	0.795
Yes	1 (4.3)	11 (10.3)		
Warfarin sodium				
No	21 (91.3)	95 (88.8)	1.000	0.125
Yes	2 (8.7)	12 (11.2)		
Methylprednisolone				
No	14 (60.9)	66 (61.7)	0.942	0.005
Yes	9 (39.1)	41 (38.3)		
Acetylsalicylic acid				
No	14 (60.9)	60 (56.1)	0.674	0.177
Yes	9 (39.1)	47 (43.9)		
Linezolid				
No	22 (95.7)	106 (99.1)	0.324	1.456
Yes	1 (4.3)	1 (0.9)		
Succinylated Gelatin				
No	9 (42.9)	71 (66.4)	0.042	4.136*
Yes	12 (57.1)	36 (33.6)		
Heparin Sodium				
No	19 (90.5)	102 (95.3)	0.323	0.799
Yes	2 (9.5)	5 (4.7)		
PPI				
No	2 (9.5)	25 (23.4)	0.242	2.020
Yes	19 (90.5)	82 (76.6)		
H2RB				
No	20 (95.2)	80 (74.8)	0.043	4.305*
Yes	1 (4.8)	27 (25.2)		
N Acetyl Cystein				
No	4 (19.0)	34 (31.8)	0.243	1.362
Yes	17 (81.0)	73 (68.2)		
Pearson's Chi Square and Fisher's Exact Chi-Square test were used. p<0.05 was considered significant.				

Patients with thrombocytopenia (n = 26) during their first admission to intensive care unit, mean length of stay in intensive care unit was 6.6 ± 4.9 days, median was 5 IQR 7.

Of the patients with thrombocytopenia at the time of first hospitalization (n = 12), this period was 9.8 ± 5.2 (median 9.5 IQR 9 days) in those who were discharged from the hospital (n = 12), and 3.9 ± 2 in those who died (n = 14), 4 days, (median 2.5 IQR days).

In patients who developed thrombocytopenia during the days of intensive care (n = 23), this period was 10.9 ± 14.1 days; 9.2 ± 5.7 days in those who were discharged / transferred to the service (n = 6) and 11.5 ± 16.2 days in those who died (n = 17).

Considering the mortality rates, the mortality rate (n = 11) of patients with thrombocytopenia during the first admission to intensive care (n = 26) was found to be 42.3%. This rate was 37.7% in patients who developed thrombocytopenia (n = 23), mortality (n = 17; 73.9%), and no thrombocytopenia (n = 107) during the days of hospitalization (n = 40).

The rate of death in patients who developed during the days of hospitalization in the intensive care unit was found to be statistically significantly higher than those with thrombocytopenia at the time of first hospitalization and those who did not develop at all (p = 0.026).

The mortality rate (n = 4) in patients (n = 7) who developed early thrombocytopenia (in the first five days of intensive care) was found to be 57.14%. This rate was 81.25% in patients with late thrombocytopenia (n = 13). There was no statistically significant difference between mortality rates (p > 0.05).

In those with deep thrombocytopenia, the mortality rate was 6 (66.7%), and the transfer to other unit rate was 3 (33.3%), and the rate of transfer to another unit was 62 (42.5%), and the rate of transfer to another unit was 84

(57.5%). This rate was not statistically significant (p = 0.156; $\chi^2 = 2.016$).

No statistically significant difference was found in terms of age, gender, GCS and length of hospital stay in patients who developed thrombocytopenia during the days of intensive care (p > 0.05).

No statistically significant difference was found when the patients who developed thrombocytopenia during the days of intensive care were compared with the patients who did not develop their age, gender, APACHE II score, prognosis (ex / discharge), coraspirin, clopidogrel, linezolid, PPI and H2RB usage rate.

The incidence of thrombocytopenia was found to be 48.1% (n = 26) in patients with sepsis, and 22.5% (n = 23) in those who did not. It was observed that the presence of sepsis significantly increased the incidence of thrombocytopenia (p = 0.001; $\chi^2 = 10.740$)

The rate of development of thrombocytopenia (n = 1) in patients using linezolid was found to be 4.3%. When this ratio was compared to 2.3% of patients who used linezolid but did not develop thrombocytopenia (n = 3), no significant difference was found (p = 0.475; $\chi^2 = 0.344$).

Risk factors affecting mortality in patients with thrombocytopenia were evaluated by logistic regression analysis. In single logistic regression analysis, mortality increased 1.4 times with each unit increase in APACHE-II score (p = 0.019). There was no statistically significant difference in other variables examined.

$$\text{Logit (YMortalite)} = 5.617 - 0.35 \times \text{APACHE-II}$$

While the incidence of thrombocytopenia (n = 8) (30.76%) was found in patients in the surgical group (n = 26) during their hospitalization in intensive care, this rate was found (n = 15) (11.53%) in other patients (n = 130).

DISCUSSION

Intensive care units are units in which patients with many underlying disorders and multiple drug use are followed up and numerous invasive procedures are performed. Thrombocytopenia is a common problem in these units. In addition to detecting thrombocytopenia, determining the etiology is important for mortality and treatment planning.

There are congenital and acquired causes of thrombocytopenia. The etiology of thrombocytopenia can generally be explained by decreased production and abnormal distribution or increased destruction.

Platelet aggregation (Pseudothrombocytopenia) and thrombocyte satellitism caused by immunoglobulin due to anticoagulant can be shown among the causes of unreal thrombocytopenia.

Megakaryocytic hypoplasia, ineffective thrombopoiesis, impairment in the mechanisms controlling thrombopoiesis and hereditary thrombocytopenias are among the causes of thrombocytopenia due to decreased thrombocyte production.

Thrombocytopenias caused by increased platelet destruction can be examined in 2 groups as immunological and non-immunological. Idiopathic thrombocytopenic purpura primary immunological, infections, pregnancy, collagen vascular disorders, lymphoproliferative diseases, and drugs are among the causes of secondary immunological thrombocytopenia.

Other causes such as thrombotic microangiopathy, Disseminated intravascular coagulation, Thrombotic thrombocytopenic purpura, Hemolytic-uremic syndrome and drug and infection are among the causes of non-immunological thrombocytopenia.

It should also be kept in mind that diseases such as infecti-

ons and malignancies involving the spleen, and hypothermia may cause abnormal distribution.

According to the meta-analysis results in which the etiology of thrombocytopenia was investigated in intensive care patients and a total of 24 studies, 12 of which were prospective, the rate of patients with thrombocytopenia during intensive care admission was reported to be between 8-67% (4,5). In another meta-analysis, this rate is between 20% and 30% 3,8 .

When we examined the studies conducted in our country, the rate of thrombocytopenia detected at the time of first admission to intensive care was reported with a rate of 20.4% ⁹.

In another study, this rate was found to be 16%. Thrombocytopenia development rate was reported to be 44.7% during the hospitalization of patients in intensive care. In the study, the rate of patients developing thrombocytopenia after hospitalization is 28% ¹⁰.

In our study, 16.7% of the patients admitted to our intensive care unit had thrombocytopenia during the first hospitalization. The rate of patients who developed thrombocytopenia during the days of intensive care was 14.7%. The results of our study are consistent with other studies.

Some studies have classified thrombocytopenia according to its severity and investigated its effects on prognosis.

In a study in which the degree of thrombocytopenia was classified as mild, moderate and severe, the frequency of thrombocytopenia was found to be 15.3%, 5.1% and 1.6%, respectively ¹¹.

In the study in which thrombocyte count below 50.000 / ul was evaluated as severe thrombocytopenia, the rate of patients with thrombocyte count below 100.000 / uL was between 20-40%; It has been shown that those with a pla-

telet count of less than 50.000 / uL range between 5-20%¹². In our study, a platelet value of less than 50.000 / uL was accepted as deep thrombocytopenia. Accordingly, deep thrombocytopenia was detected in 9 patients (5.8%). It was observed that 39.13% of the patients who developed thrombocytopenia during the ICU stay had deep thrombocytopenia. This rate is higher than other studies. This rate may be due to the fact that our study was conducted in tertiary intensive care patients, the proportion of patients diagnosed with sepsis and the use of multiple drugs.

In our study, although the mortality rate was higher in those who developed deep thrombocytopenia, this rate was not statistically significant. ($p = 0.156$; $\chi^2 = 2.016$).

In various studies, the incidence of thrombocytopenia was found to be higher in surgical and trauma patients. It has been shown that thrombocytopenia occurs especially in the first four days in this group of patients¹³.

In our study, intensive care patients were classified as internal and surgical patients according to their hospitalization diagnoses. In addition, among the patients who developed thrombocytopenia during the days of hospitalization in the intensive care unit, those who developed thrombocytopenia within the first five days were accepted as those who developed early thrombocytopenia.

The incidence of thrombocytopenia ($n = 8$, 30.76%) was found to be higher ($n = 15$, 11.53%) compared to the other patients ($n = 130$) during hospitalization in the surgical group ($n = 26$).

In our study, the mortality rate in patients with early thrombocytopenia ($n = 7$) was not statistically significant compared to those with late thrombocytopenia.

In studies investigating the etiology of thrombocytopenia in intensive care patients, although no etiology was found in some patients with thrombocytopenia, sepsis, drugs,

diffuse intravascular coagulation and thrombocytopenia secondary to massive transfusion were observed as the leading causes.

Thrombocytopenia is also seen in the course of many infectious diseases such as viral, mycoplasma, mycobacteria and malaria. Although thrombocytopenia in most of these diseases is due to the decrease in thrombocyte production, some of them occur by immune mechanism. Sepsis is reported to be the most important cause of thrombocytopenia, especially in intensive care units^{7,14,15}. The most important cause of thrombocytopenia in patients with sepsis is thrombocyte phagocytosis caused by the effect of increased M-CSF.

In a study conducted in the intensive care unit, sepsis ranked first among the causes of thrombocytopenia with 47.8%, while other reasons were reported as DIC, primary hematological diseases, hypersplenism, cytotoxic agents, drugs, and massive blood transfusions, respectively. In the study, a multifactorial cause was found with a rate of 27.4%¹⁴.

In another study in which hematological malignancies were excluded, sepsis was found to be the most common cause of thrombocytopenia with a rate of 52%; Other reasons were listed as DIC, drugs, massive transfusion heparin and ITP, respectively⁷.

Multiple drug use is also among the factors causing development of thrombocytopenia. A study excluding hematological diseases showed that multiple drug use is the third most common cause of thrombocytopenia after sepsis and DIC¹⁴.

In another study, the use of multiple drugs, especially H2 receptor antagonists, heparin and derivatives and antibiotic use, was associated with thrombocytopenia. In our study, many factors such as sepsis status and the drugs used were investigated in order to determine the causes of

thrombocytopenia.

In our study, no statistically significant difference was found when the age, gender, APACHE II score, prognosis (ex / discharge), coraspirin, plavix, linezolid, PPI and H2RB usage rates of patients who developed thrombocytopenia during the days of hospitalization were compared with those who did not. In single logistic regression analysis, mortality increased 1.4 times with each unit increase in APACHE-II score ($p = 0.019$). It was observed that the presence of sepsis significantly increased the incidence of thrombocytopenia .

When the relationship between drug use and thrombocytopenia was examined, it was seen that the drugs with the highest rate of thrombocytopenia in our study were Proton Pump Inhibitors (PPI), Low Molecular Weight Heparin (LMWH) and N-Acetyl Cysteine, but no drug caused statistically significant thrombocytopenia.

There are many studies showing that the use of linezolid may cause thrombocytopenia. In our study, although the rate of developing thrombocytopenia in patients using Linezolid (4.3%) was higher than those who did not (2.3%), this rate was not statistically significant. ($p = 0.475$; $\chi^2 = 0.344$).

In studies examining the effect of thrombocytopenia on mortality, the degree of thrombocytopenia was found to be determinative, especially in terms of bleeding risk. These studies have also shown that thrombocytopenia is a stronger independent predictor of mortality than standard scoring systems (Acute Physiology and Chronic Evaluation (APACHE) II score) (relative risk 1.9–4.2)^{1,5,13,16}.

In another study, it was observed that the predictors of thrombocytopenia category were the APACHE-II score for each group, the use of inotrope or vasopressor, and renal replacement therapy. The study showed that the risk of developing thrombocytopenia is higher in surgical patients

and patients with liver disease and lower in patients receiving LMWH thromboprophylaxis. It was also shown in the study that thrombocytopenia that develops in intensive care patients has a negative effect on prognosis⁹.

In a review investigating the effects of thrombocytopenia on prognosis, the mortality rate of thrombocytopenic patients was reported as 31-46%, while the mortality of non-thrombocytopenic patients was presented as 16-20%⁸. In a study conducted; The mortality of patients without thrombocytopenia in the ICU was 9.3% and the mortality of patients with thrombocytopenia was 33%. The mortality of patients with thrombocytopenia during admission to the ICU was 34%, and the mortality of patients who developed thrombocytopenia during ICU follow-up was 31.9%¹⁴.

In another study, intensive care mortality of thrombocytopenic patients was 17.6%, while intensive care mortality of non-thrombocytopenic patients was 4.4%. In the same study; Hospital mortality of thrombocytopenic patients was 22.1%, and hospital mortality of non-thrombocytopenic patients was 7.8%¹⁷. In the study conducted by Strauss et al., the mortality of thrombocytopenic patients was 44%, non-thrombocytopenic patients were 16% and the overall mortality of intensive care was 31%⁵.

In our study, the mortality rate ($n = 11$) of patients with thrombocytopenia ($n = 26$) during the first admission to intensive care was found to be 42.3%. This rate was 73.9% in patients who developed thrombocytopenia during hospitalization ($n = 23$), mortality ($n = 17$) was 73.9%, and mortality ($n = 40$) was 37.7% in those without thrombocytopenia ($n = 107$) The mortality of rate in patients who developed thrombocytopenia during intensive care admission was statistically significantly higher than those with thrombocytopenia at the time of first hospitalization and those who did not develop at all ($p = 0.026$).

In a study investigating the effect of the day developing thrombocytopenia on mortality, the mortality rate in the

group with late thrombocytopenia (14th day) was found to be higher than the group with early thrombocytopenia (4th day). The study also showed a relative increase in the number of platelets in the living group ¹⁸.

In another study conducted with intensive care patients, when the median platelet values were examined, no significant difference was found between the survivors and the deceased. However, it has been shown that a decrease in thrombocyte count provides prognostic information in patients who stay in the intensive care unit for more than 5 days and have normal platelet count during admission to the ICU ¹⁹.

In our study, although the mortality rate was higher in those who developed deep thrombocytopenia, this rate was not statistically significant. ($p = 0.156$; $\chi^2 = 2.016$).

LMWH and Heparin are among the commonly used drugs in intensive care units.

In a multi-center randomized study comparing low molecular weight heparin (LMWH) and unfractionated heparin (UFH) for DVT prophylaxis in intensive care patients, heparin-induced thrombocytopenia (HIT) developed in 0.5% of the patients ¹².

In our study, when classical heparin and low molecular weight heparin were compared, no significant difference was found between them in terms of development of thrombocytopenia.

CONCLUSION

Thrombocytopenia is an important problem in critically ill patients. Mortality rate is very high in those with thrombocytopenia. Is thrombocytopenia more frequently in critically ill patients or patients with thrombocytopenia become more critical; The answer to this question is not clear. If thrombocytopenia developed in patients followed up in intensive care, its causes should be well investigated

and care should be taken in terms of mortality.

References

1. Stephan F, Hollande J, Richard O, et al. Thrombocytopenia In Surgical ICU. Chest 1999;115:1363-70.
2. Drews RE, Weinberger SE. Thrombocytopenic disorders in critically ill patients. Am J Respir Crit Care Med 2000;162:347-51.
3. Chakraverty R, Davidson S, Peggs K, et al. The incidence and cause of coagulopathies in an intensive care unit population. Br J Haematology 1996;93:460-3.
4. Crowther MA, Cook DJ, Meade MO, et al. Thrombocytopenia in medical-surgical critically ill patients: prevalence, incidence and risk factors. J Crit Care 2009;20:348-53.
5. Strauss R, Wehler M, Mehler K, et al. Thrombocytopenia in patients in medical intensive care unit: bleeding prevalence, transfusion requirements and outcome. Crit Care Med 2002;30:1765-9.
6. Vanderschueren S, De Weerd A, Malbrain M, et al. Thrombocytopenia and Prognosis in intensive care. Crit Care Med 2000;28:1871-6.
7. Levi M, Löwenberg EC. Thrombocytopenia in critically ill patients. Semin Thromb Hemost 2008;34:417-24.
8. Greinacher A, Sallange K. Thrombocytopeniae in the intensive care unit patient. ASH Education Program Book. 2010;135-43.
9. Haksöyler, V at al. Dahiliye yoğun bakım ünitesinde trombositopeni ve mortalite ve morbidite ilişkisi . Cukurova Medical Journal 44 (2019) : 632-41
10. Coşkun R. at al. Yoğun Bakım Ünitesinde Trombositopeni Yoğun Bakım Derg 2016; 7: 3-8
11. Hui P, Cook DJ, Lim W, et al. The frequency and clinical significance of thrombocytopenia complicating critical illness: a systematic review. Chest 2011;139:271-8.
12. Garrard C, Littlewood TJ. The incidence and cause of coagulopathies in an intensive care population Br J Haematol 1996 May;93(2):460-3.
13. Vanderschueren S, De Weerd A, Malbrain M, Vankersschaever D, Frans E, Wilmer A, Bobbaers H: Thrombocytopenia and prognosis in intensive care. Crit Care Med 2000, 28:1871-76.
14. Rice TW, Wheeler AP. Coagulopathy in critically ill patients: Part 1: Platelet disorders. Chest 2009; 136: 1622-1630
15. Thiollere F, Serre-Sapin AF, Reignier J, et al. Epidemiology and outcome of thrombocytopenic patients in the intensive care unit: results of a prospective multicenter study. Intensive Care Med 2013;39:1460-8.
16. Levi M, Opal SM. Coagulation abnormalities in critically ill patients. Crit Care. 2006; 10(4): 222.
17. Shalansky S, Verma AK, Levine M, Spinelli JJ, Dodek PM. Risk markers for thrombocytopenia in critically ill patients: a prospective analysis. Pharmacotherapy. 2002;22:803-13
18. Crowther MA, Cook DJ, Meade MO et al. Thrombocytopenia in medical-surgical critically ill patients: prevalence, incidence, and risk factors. J Crit Care. 2005;20:348-53.
19. Akca S, et al Time course of platelet counts in critically ill patients Crit Care Med 2002 Apr;30(4):753-6



Kan Kültürlerinden İzole Edilen Nonfermentatif Gram Negatif Bakterilerin Çeşitli Antibiyotiklere Direnç Durumları

Resistance States of Nonfermentative Gram Negative Bacteria Isolated from Blood Cultures to Various Antibiotics

Yeliz Tanrıverdi Çaycı, Gülşah Karacan, Demet Gür Vural, Kemal Bilgin, Asuman Birinci

Department of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Ondokuz Mayıs University, Samsun

ORCID ID: Yeliz Tanrıverdi Çaycı <https://orcid.org/0000-0002-9251-1953>, Gülşah Karacan <https://orcid.org/0000-0003-1119-1650>, Demet Gür Vural <https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>, Kemal Bilgin <https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>, Asuman Birinci <https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>,

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Yeliz Tanrıverdi Çaycı, e-posta / e-mail: yeliztanrıverdi@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 21-12-2020

Kabul Tarihi / Accepted: 04-03-2021

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2021

Tanrıverdi Çaycı Y., Karacan G., Gür Vural D., Bilgin K., Birinci A. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Nonfermentatif Gram Negatif Bakterilerin Çeşitli Antibiyotiklere Direnç Durumları, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2021;5(1):44-49

Özet

Amacı	Bu çalışmadaki amacımız, hastanemizde çeşitli kliniklerde tedavi görmekte olan hastaların kan kültürlerinden izole edilen nonfermentatif Gram negatif bakterileri tanımlamak, antimikrobiyal direnç profillerini incelemektir.
Yöntem	Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına Haziran 2016 – Haziran 2019 tarihleri arasında gönderilen kan kültürleri retrospektif olarak değerlendirildi. Kan kültürleri BacT/Alert (BioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile çalışıldı. Üreyen mikroorganizmaların tanımlanması Vitek MS (BioMérieux, Fransa) cihazı ile antibiyotik duyarlılıkları Mueller-Hinton (BioMérieux, Fransa) agarda disk difüzyon yöntemi ve Vitek2 Kompakt (BioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile belirlendi. Antibiyotik duyarlılık oranları EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) kriterlerine göre değerlendirildi.
Bulgular	Laboratuvarımızda 3 yıllık sürede kan kültürlerinden 668 nonfermentatif bakteri izole edildi. İzole edilen mikroorganizmaların 299'u (%45) Acinetobacter spp. ve bunların 270'i Acinetobacter baumannii olarak tespit edildi. Örneklerden 189' u (%28) Pseudomonas spp. ve bunların 164'ü Pseudomonas aeruginosa olarak tespit edildi. Stenotrophomonas maltophilia ise 42 (%6) örnekten izole edilirken, geriye kalan 138(%21) izolatu diğer nonfermentatif bakteriler oluşturmaktadır. Acinetobacter türlerinde en yüksek direnç oranları levofloksasin ve siprofloksasine karşı %76 olarak saptanmıştır. Pseudomonas türlerinde ise en yüksek direnç oranı piperasiline karşı %32 olarak saptanmıştır. S. maltophilia izolatlarının hepsi trimetoprim/ sulfometoksazol' e duyarlı saptanmıştır.
Sonuç	Hastanemizde elde ettiğimiz kan kültürlerindeki nonfermentatif bakterilerin antibiyotik direnç sonuçları, gelecek yıllarda oluşacak antimikrobiyal direnç paternlerine ışık tutması bakımından önem taşımaktadır. Kan dolaşımı enfeksiyonu etkenlerinin ve duyarlılık testlerinin devamlı olarak takip edilerek etkin tedavi protokollerinin uygulanması gerekmektedir.
Anahtar Kelimeler	Nonfermentatif bakteri, antibiyotik direnci, kan kültürü

Abstravt

Objective	Aim of this study is to identify nonfermentative Gram-negative bacteria isolated from blood cultures of patients undergoing treatment in various clinics in our hospital, to examine antimicrobial resistance profiles
Methods	June 2016 – June 2019 blood cultures sent to the Microbiology Laboratory were retrospectively evaluated. Blood cultures were tested in BacT/Alert (BioMérieux, France) automated system of Identification of growth microorganisms were tested in Vitek MS (BioMérieux, France) automated system and antibiotic sensitivity determined on Mueller - Hinton (BioMérieux, France) agar by disk diffusion method and Vitek2 Compact (BioMérieux, France) automated system. Antibiotic susceptibility rates were evaluated according to EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) criteria.
Results	Over a period of 3 years, 668 nonfermentative bacteria were isolated from blood cultures. The 299 (45%) of the microorganisms isolated are Acinetobacter spp. and 270 of them were identified as Acinetobacter baumannii. And 189 (28%) of them were Pseudomonas spp. and 164 of them were identified as Pseudomonas aeruginosa. Stenotrophomonas maltophilia was isolated from 42 (6%) specimen. Acinetobacter spp. has the highest resistance rates against levofloxacin and ciprofloxacin as 76%. Pseudomonas spp. has the highest resistance rates against piperacillin as 32%. All Stenotrophomonas maltophilia isolates were found to be sensitive to trimetoprim/ sulfamethoxazole.
Conclusion	Antibiogram results of nonfermentative Gram negative bacteria in blood cultures obtained in our hospital, is important to shed light on the antimicrobial resistance patterns that will occur in the coming years. Blood-stream infection factors and sensitivity tests should be followed continuously and effective treatment protocols should be applied
Keywords	Nonfermentative bacteria, antibiotic resistance, blood culture

GİRİŞ

Kan dolaşımı enfeksiyonu mortalite ve morbiditesi yüksek bir klinik tablodur. Tanı yöntemlerindeki gelişmeler rağmen bakteriyemi tanısında kan kültürleri en duyarlı ve güvenilir yöntem olma özelliğini korumaktadır. Kan kültürleri izole edilen mikroorganizmaların kısa sürede tanısının yapılarak kliniğe bildirilmesi ve antibiyotik tedavisine en kısa sürede başlanması için büyük önem taşır. Etken mikroorganizmaların dağılımları ve antimikrobiyal direnç oranları kliniklere göre değişebilmektedir.^{1,2,3,4} *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Stenotrophomonas maltophilia* türleri önemli etkenler arasında yer alan nonfermentatif Gram negatif bakterilerdir.⁵

Nonfermentatif Gram negatif bakteriler doğada ve hastane ortamında her yerde bulunarak hem endojen hem de eksojen enfeksiyonlara neden olabilirler. İmmünespresif, mekanik ventilatör, kalıcı katater veya invaziv tanı, tedavi yöntemleri uygulanmış hastalarda ciddi fırsatçı nozokomial enfeksiyonlara neden olmaktadır. Doğal dirençler ve kazanılmış mutasyonlarla çoklu antibiyotik direncine sahip olabilmektedirler.⁶⁻¹³ Artan direnç, bakteriyemi tedavisinde kullanılacak antibiyotik seçeneklerini sınırlamakla beraber tedavinin başarısız olmasına, mortalite ve morbiditenin artmasına, hastanede kalım süresinin uzamasına ve sağlık hizmetlerinde maliyet artışına neden olmaktadır.^{12,14,15,16}

Çalışmamızda, hastanemizde çeşitli kliniklerde tedavi görmekte olan hastaların kan kültürlerinden izole edilen nonfermentatif Gram negatif bakterileri tanımlamak, antimikrobiyal direnç profillerini incelemek amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında Haziran 2016 – Haziran 2019 tarihleri arasında kan kültürlerinden izole edilen 668 adet nonfermentatif Gram negatif bakteri üremesi retrospektif olarak değerlendirildi. Kan kültürleri BacT/Alert (BioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile çalışıldı. Pozitif üreme sinyali veren şişelerden alınan örnekler %5 koyun

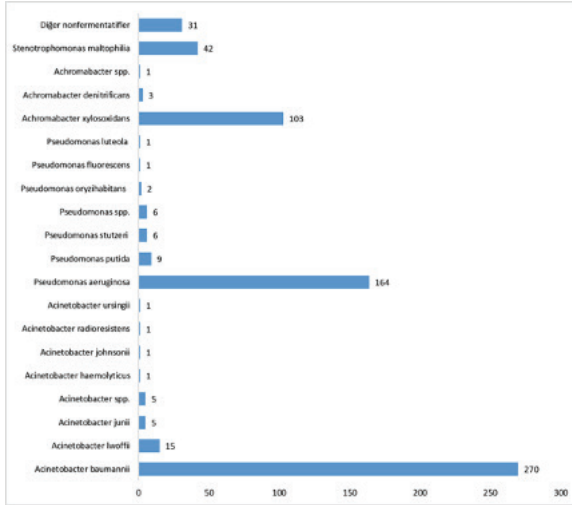
kanlı agara (Oxoid, Fransa) ve “eosin methylene blue” (EMB) agarına (Oxoid, Fransa) ekilerek 24-48 saat inkübe edildi. Üreyen mikroorganizmaların tanımlanması Vitek MS (BioMérieux, Fransa) ile antibiyotik duyarlılıkları Vitek2Kompakt (BioMerieux, Fransa) otomatize sistemi ve *S. maltophilia* izolatlarında trimetoprim/ sülfometoksazol duyarlılığı Mueller- Hinton (BioMérieux, Fransa) agarda disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Antibiyotik duyarlılık oranları EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) kriterlerine göre değerlendirildi.

BULGULAR

Laboratuvarımızda üç yıllık sürede kan kültürlerinden 668 nonfermentatif bakteri izole edildi. İzole edilen mikroorganizmaların 299’u (%45) *Acinetobacter spp.* ve bunların 270 tanesi *A. baumannii*, 15 tanesi *A. lwoffii*, 5 tanesi *Acinetobacter spp.*, 5 tanesi *A. junii*, 1 tanesi *A. haemolyticus*, 1 tanesi *Acinetobacter johnsonii*, 1 tanesi *Acinetobacter radioresistens*, 1 tanesi *Acinetobacter ursingii* olarak tanımlanmıştır. *Pseudomonas spp.* 189 (%28) örnekten izole edilirken bunların 164 tanesi *P. aeruginosa*, 9 tanesi *P. putida*, 6 tanesi *Pseudomonas spp.*, 6 tanesi *P. stutzeri*, 2 tanesi *P. oryzihabitans*, 1 tanesi *P. fluorescens*, 1 tanesi *P. luteola* olarak tanımlanmıştır. *S. maltophilia* 42 (%6) örnekten izole edilmiştir. *Achromobacter* türleri 107 (%16) örnekten izole edilirken ve bunların 103’ü (%96) *Achromobacter xylosoxidans*, 3’ü (%3) *Achromobacter denitrificans*, 1’i (%1) *Achromobacter spp.* olarak tanımlanmıştır. Geriye kalan 31 (%5) örnekten ise diğer nonfermentatif bakteriler izole edilmiştir. İzole edilen nonfermentatif bakterilerin dağılımı çizim 1’de verilmiştir.

Acinetobacter türlerinde en yüksek direnç oranları levofloksasin ve siprofloksasin için %76 olarak saptanırken, en duyarlı oldukları antibiyotik amikasin (%67) olarak saptanmıştır. *Pseudomonas* türlerinde en yüksek direnç oranı piperasiline (%32) karşı saptanırken, en duyarlı oldukları antibiyotik amikasin (%93) olarak saptanmıştır. *S. maltophilia*’ ların hepsi trimetoprim/sülfometoksazole duyarlı saptanmıştır. İzolatların antibiyotiklere direnç oranları

Tablo 1’de verilmiştir. İzolatların antibiyotiklere direnç oranlarının yıllara göre dağılımı ise Tablo 2 ve 3’de verilmiştir.



Çizim 1. İzole edilen nonfermentatif bakterilerin dağılımı

Antibiyotik	Acinetobacter spp. (n=299)	Pseudomonas spp. (n=189)	S. maltophilia (n=42)
Trimethoprim / Sülfometoksazol	184 (63)		0 (0)
Piperasilin	.*	59 (32)	.*
Piperasilin / Tazobaktam	.*	51 (28)	.*
Sefepim	.*	36 (20)	.*
Seftazidim	.*	37 (20)	.*
İmipenem	222 (75)	49 (27)	.*
Meropenem	224 (75)	30 (16)	.*
Levofloksasin	226 (76)	48 (26)	.*
Ciprofloksasin	225 (76)	44 (24)	.*
Amikasin	100 (33)	13 (7)	.*
Gentamisin	176 (59)	19 (10)	.*
.*Test edilmedi			

Tablo 2. Acinetobacter spp. antibiyotik direnç oranlarının yıllara göre dağılımı [n(%)].

Antibiyotik	2016 (n:61)	2017 (n:111)	2018 (n:91)	2019 (n:36)
Amikasin	16 (26)	43 (39)	20 (22)	21 (58)
Gentamisin	29 (48)	68 (61)	54 (59)	25 (69)
İmipenem	38 (62)	89 (80)	68 (75)	27 (78)
Meropenem	38 (62)	91 (82)	68 (75)	27 (75)
Levofloksasin	39 (64)	92 (83)	68 (75)	27 (75)
Ciprofloksasin	39 (64)	92 (83)	67 (74)	27 (75)
Kolistin	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
Trimethoprim / Sülfometoksazol	36 (59)	68 (61)	58 (64)	22 (61)

Tablo 3. Pseudomonas spp. antibiyotik direnç oranlarının yıllara göre dağılımı [n(%)].

Antibiyotik	2016 (n:36)	2017 (n:61)	2018 (n:63)	2019 (n:29)
Piperasilin	5(14)	14(23)	25 (40)	15 (52)
Piperasilin / tazobaktam	5 (14)	14 (23)	22 (35)	10 (34)
Sefepim	3 (8)	9 (15)	16 (25)	8 (28)
Seftazidim	3 (8)	8 (13)	17 (27)	9 (31)
Amikasin	2 (6)	0 (0)	4 (6)	7 (24)
Gentamisin	5 (14)	2 (3)	5 (8)	7 (24)
Levofloksasin	2 (6)	14 (23)	20 (32)	12 (41)
Ciprofloksasin	2 (6)	10 (16)	21 (33)	11 (38)
İmipenem	6 (17)	14 (23)	18 (29)	11 (38)
Meropenem	5 (14)	9 (15)	10 (16)	6 (21)
Kolistin	0 (0)	1 (2)	0 (0)	0 (0)

TARTIŞMA

Kan dolaşımı enfeksiyonları, yüksek mortalite ve morbiditeyle seyrettiklerinden, erken tanı ve tedavi mortalite oranlarının azaltılabilmesi açısından önem taşımaktadır.¹⁷ Erken tedavi, uygun ampirik tedavinin mümkün olan en kısa sürede başlanmasıyla sağlanır. Dolayısıyla bakteriye-niye neden olan mikroorganizmaları ve antibiyotik direnç profillerini bilmek bu klinik tablonun tedavisinde oldukça önemli rol oynar.¹⁸ Nonfermentatif bakterilerde tedavide kullanılan birçok antibiyotiğe karşı yüksek direnç oranları saptanmaktadır. Özellikle yıllar içinde dikkat çeken direnç

artışları ve çoklu ilaca dirençli *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* türlerinin ortaya çıkması günümüzde ciddi tedavi sorunlarına yol açmaktadır.^{19,20,21} Dünya Sağlık Örgütü'nün (World Health Organization, WHO) Şubat 2017'de yayınladığı yeni antibiyotiklere acilen ihtiyaç duyulan öncelikli patojenler listesinde *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* öncelikli 1 (kritik) grubunda yer almaktadır.²²

Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) 2016 yılı epidemiyolojik raporunda, yoğun bakım ünitelerinde görülen kan dolaşımı enfeksiyonlarında en sık izole edilen nonfermentatif gram negatif etkenin Çek Cumhuriyeti, Fransa, Almanya, Macaristan, Malta, İspanya, Portekiz ve Slovakya'da *P. aeruginosa*; İtalya, Romanya ve Litvanya'da ise *A. baumannii* olduğu rapor edilmiştir.²³

Ülkemizde Ergül ve ark. 2013-2016 yılları arasında kan kültürlerinden en sık izole ettikleri nonfermentatif bakterinin *Pseudomonas spp.* olduğunu; bunu *Acinetobacter spp.*'nin takip ettiğini, diğer nadir görülen nonfermentatif bakterilerin ise *Alcaligenes spp.*, *S. maltophilia* ve *Sphingomonas paucimobilis* olduğunu bildirmişlerdir.²⁴ Şirin ve ark. 2012-2015 yılları arasında yaptıkları çalışmada en sık izole ettikleri nonfermenter bakterinin *A. baumannii* olduğunu; bunu *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*'nin takip ettiğini bildirmişlerdir.²⁵

Çalışmamızda ise en sık izole edilen nonfermentatif bakteri *Acinetobacter spp.* (%45) olup; bunu *Pseudomonas spp.* (%28), *Achromabacter spp.* (%16), *Stenotrophomonas maltophilia* (%6) takip etmektedir.

Diekema ve ark. 1997- 2016 yılları arasında farklı kıtalardan 45 ülkenin katılımıyla elde edilen izolatlarla yaptıkları çalışmada *Acinetobacter spp.*'lerde antibiyotik direnç oranlarını gentamisin için %61 bularak çalışmamıza benzer şekilde saptamışlardır. *Acinetobacter spp.*'lerde imipenem ve meropenem için direnç oranlarını sırasıyla %38,8- %39 olarak saptamışlardır. Çalışmamızda ise *Acinetobacter*

spp.'lerde %75 oranında karbapenemlere direnç vardır ve daha yüksek saptanmıştır. Yüksek direnç gelişiminde ampirik tedavide son yıllarda sıklıkla karbapenemlerin seçiminin etken olduğu düşünülebilir. Aynı çalışmada *A. baumannii* izolatlarında direnç oranlarını levofloksasin için %66,7, siprofloksasin için %67,6 olarak saptamışlardır.²⁶ Çalışmamızda ise *Acinetobacter spp.*'lerde kinolonlara karşı direnç oranları daha yüksek (%76) saptanmıştır.

Sambyal ve ark. 2013 yılında Hindistan'da yaptıkları çalışmada, *A. baumannii* izolatlarında direnç oranlarını amikasin için %55,6, gentamisin için %62,3, imipenem için %64,5, ve siprofloksasin için %66,65 olarak saptamışlardır.²⁷ Çalışmamızda ise *Acinetobacter spp.* İzolatlarında karbapenem ve kinolon direnç oranları daha yüksek, gentamisin (%59) için benzer oranlarda direnç saptanmıştır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda Ergül ve ark. *Acinetobacter spp.*'de karbapenem direncini %100, aminoglikozid direncini %90 olarak saptayıp, kolistine ise direnç saptamamışlardır. Çalışmamızda *Acinetobacter spp.*'de karbapenem direnci %75, amikasin direnci %33 ve gentamisin direnci %59 olarak daha düşük saptanmıştır.

Şirin ve ark. *A. baumannii* izolatlarında aminoglikozid direncini amikasin ve gentamisin için sırasıyla %63,5-%73,1 saptayarak, trimetoprim/sülfomethoksazol (%54,8) ve kolistinden (%0) sonra üçüncü etkili antibiyotik olarak bildirmişlerdir.²⁵ Çalışmamızda da benzer şekilde hem *Acinetobacter spp.* hem de *Pseudomonas spp.* izolatlarına aminoglikozidler etkili olarak bulunmuştur.

Diekema ve ark. *P. aeruginosa* izolatlarında direnç oranlarını seftazidim için %22,3, sefepim için %20,1, piperasilin/tazobaktam için %26,2, olarak çalışmamızdaki oranlara benzer şekilde saptamışlardır. İmipenem ve meropenem için direnç oranlarını sırasıyla %12,7- %10,8 olarak saptamışlardır. Çalışmamızda ise *Pseudomonas* türlerinde imipenem ve meropenem direnç oranı sırasıyla %27 ve %16 olarak daha yüksek saptanmıştır. Aynı çalışmada *P. aeru-*

ginosa izolatlarında direnç oranlarını amikasin için %10, gentamisin için %20,2, levofloksasin için %33,8, siprofloksasin için %29 olarak saptamışlardır. Çalışmamızda ise *Pseudomonas spp.* izolatlarında direnç oranları amikasin ve gentamisin için %7 ve %10 ve levofloksasin ve siprofloksasin için %26 ve %24 olarak daha düşük bulunmuştur. Çoklu ilaca dirençli nonfermentatif bakterilerin kan dolaşımı enfeksiyonlarında terapötik olarak en kritik grubu oluşturmaktadır.²⁶

Sambyal ve ark. *P. aeruginosa* izolatlarında antibiyotik direnç oranlarını seftazidim için %36, sefepim için %40, piperasilin için %92, piperasilin/tazobaktam için %40, imipenem için %40, amikasin için %44, gentamisin için %48 siprofloksasin için %48 olarak saptamışlardır.²⁷ Çalışmamızda *Pseudomonas spp.* izolatlarının antibiyotik direnç oranlarında 2019 yılına doğru gittikçe artış olduğu görülmektedir; fakat yine de çalışmamızda test edilen antibiyotiklere direnç daha düşük oranlardadır.

Ergül ve ark. *P. aeruginosa* izolatlarında amikasine %7,1, gentamisine %18,6, karbapenemlere %62,5, siprofloksasine %12,5 direnç saptamışlardır. Bu direnç oranlarını göz önüne aldıklarında *Pseudomonas* enfeksiyonu düşünülen hastalarda ampirik tedavide karbapenemlerden önce siprofloksasin ve aminoglikozidler tercih edilebileceğini bildirmişlerdir.²⁴ Çalışmamızda siprofloksasin direnci %24, amikasin ve gentamisin direnci sırasıyla %7 ve %10 olarak saptanmıştır; Aminoglikozidlere 2019 yılında ciddi direnç artışı (%24) dikkat çekmektedir. Şirin ve ark., *P. aeruginosa* suşlarında amikasin ve gentamisin için direnç oranlarını sırasıyla %20 ve %25 oranlarıyla kolistinden sonra en etkili antibiyotik olarak bildirmişlerdir.²⁵

Çalışmamızda *Acinetobacter spp.*'lerde test edilen antibiyotiklere direnç oranları *Pseudomonas spp.*'lerden daha yüksek saptanmıştır. Ülkemizde Gür ve ark. 2017- 2018 yılında elde ettikleri verilerde çalışmamıza benzer şekilde *A. baumannii* izolatlarında antibiyotik direnç oranlarını *P. aeruginosa* izolatlarına göre daha yüksek saptamışlardır.²⁸

S. maltophilia, özellikle immunsupresif hastalarda mekanik ventilatör ilişkili pnömoni ve kan dolaşımı enfeksiyonu gibi nozokomiyal enfeksiyonların etkenidir. Penisilin, sefalosporin, karbapenem, aminoglikozidler dahil çoğu antibiyotiğe dirençli olduğu için tedavisinde trimetoprim/ sülfometoksazol önerilmektedir.^{29,30,31,32,33} Çalışmamızda bu antibiyotiğe karşı direnç saptanmamıştır fakat trimetoprim/ sülfomethoksazole karşı direnç bildiren çalışmalar da bulunmaktadır.^{34,35} Gales ve ark 1997- 2016 yılları arasında farklı kıtalardan 259 tıp merkezinin katılımıyla yaptıkları çalışmada *S. maltophilia* izolatlarında trimetoprim/ sülfomethoksazol dirençlerini Asya-Pasifik'te %5,9, Avrupa'da %3,7, Latin Amerika'da %5,3, Kuzey Amerika'da %3,1 olarak saptamışlardır.³⁶ Ülkemizde Sadıç ve ark.³⁷ 2017 yılında yaptıkları çalışmada %8, Arabacı ve ark.³⁸ 2014- 2018 yılları arasında %11,6, Gür ve ark.²⁸ 2017- 2018 yılları arasında elde ettikleri izolatlarda %2,9 oranlarında direnç saptamışlardır.

Sonuç olarak kan kültürlerinden izole ettiğimiz *Acinetobacter spp.* izolatlarının test edilen birçok antibiyotiğe dirençli olduğu, *Pseudomonas spp.* izolatlarının daha duyarlı olduğu saptanmıştır. Bu değerlendirmeye *A. baumannii* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde yeni antibiyotiklere ihtiyaç duyulduğunu söyleyebiliriz. *Pseudomonas spp.* izolatlarında antibiyotiklere karşı yıllara göre gittikçe artan direnç gelişimi görülmektedir. Özellikle 2019 yılında artan aminoglikozid direnci dikkat çekmektedir. Bundan dolayı aminoglikozidleri tek başına ampirik tedavide kullanmak yerine kombine tedavi olarak kullanımları tercih edilmelidir. Her hastanenin kendi kan dolaşımı enfeksiyonu etkenlerini ve duyarlılık paternlerini devamlı olarak takip ederek etkin tedavi protokolleri uygulaması gerekmektedir.

Maddi destek ve çıkar ilişkisi

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

Çalışma retrospektif bir çalışma olduğu için etik kurul başvurusu yapılmamıştır.

Kaynaklar

1. Kirn TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin Microbiol Infect*. 2013; 19(6): 513-520.
2. Durmaz G, Us T, Aydinli A, et al. Optimum detection times for bacteria and yeast species with the Bactec 9120 aerobic blood culture system: Evaluation for a 5-year period in a Turkish university hospital. *J Clin Microbiol*. 2003; 41(2): 819-821.
3. Ding JG, Sun QF, Li KC, et al. Retrospective analysis of nosocomial infections in the intensive care unit of a tertiary hospital in China during 2003 and 2007. *BMC Infect Dis*. 2009; 9 (115): 1-6.
4. Kim YK, Pai H, Lee HJ, et al. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46(5): 1481-1491.
5. Chmielarczyk A, Pobjega M, Romaniszyn D, et al. Multi-locus sequence typing (MLST) of non-fermentative Gram-negative bacilli isolated from bloodstream infections in southern Poland. *Folia Microbiol (Praha)*. 2017; 63(2): 191-196. <https://doi.org/10.1007/s12223-017-0550-7>
6. Bilman FB, Ayaydn Z, Turhanoglu M, ve ark. Bir eğitim ve araştırma hastanesinde yoğun bakımlardan izole edilen nonfermentatif gram-negatif mikroorganizmaların direnc profilleri, *J Clin Exp Invest*. 2014; 5(3): 391-396. <http://dx.doi.org/10.5799/ahinjs.01.2014.03.0426> PMID: 24046538
7. Çetin ES, Kaya S, Taş T, ve ark. Cerrahi alan infeksiyonlarında mikroorganizma profili ve antibiyotik duyarlılık durumu, *ANKEM Derg*. 2006; 20(2): 89-93.
8. Goel N, Watal C, Oberoi JK, et al. Trend analysis of antimicrobial consumption and development of resistance in nonfermenters in a tertiary care hospital in Delhi. *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66(7): 1625-1630. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkr167> PMID:21586594
9. Gültekin E, Uyanık MH, Hancı H, ve ark. Kan kültürlerinden izole edilen nonfermentatif gram negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları. *ANKEM Derg*. 2014; 28(3): 79-85.
10. Kılıç D, Kuzuçu C, Erdiñç FŞ, ve ark. Hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen gram-negatif aerob basillerin antibiyotik duyarlılıkları. *Hastane İnfeksiyonları Derg*. 2001; 5(1): 43-48. <http://www.hastaneinfeksiyonlaridergisi.org/manager/fulder/2001-01/html/2001-5-1-043-048.htm>
11. McGowan JE Jr. Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum. *Am J Infect Control*. 2006; 34(5): 29-37.
12. Nazir A, Peerzada BY, Sana I. Spectrum of non-fermenting gram negative bacilli isolated from patients with blood stream infections in a tertiary care hospital in North India. *Int J Res Med Sci*. 2019; 7(5): 1762.
13. Bhargava D, Kar S, Saha M. Prevalence of Non-Fermentative Gram Negative Bacilli Infection in Tertiary Care Hospital in Birgunj, Nepal. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 2015; 4(7): 301-307. [https://www.ijcmas.com/vol-4-7/Dipak Bhargava, et al.pdf](https://www.ijcmas.com/vol-4-7/Dipak%20Bhargava,%20et%20al.pdf)
14. Quinn JP. Clinical Problems Posed by Multiresistant Nonfermenting Gram-Negative Pathogens Author (s): John P. Quinn Source: *Clinical Infectious Diseases*, Vol. 27, Supplement 1. Bacterial Resistance : Laboratory Explanations and Clinical . 2016;27.
15. Agarwal S, Kakati B, Khanduri S, et al. Emergence of carbapenem resistant nonfermenting gram-negative bacilli isolated in an ICU of a tertiary care hospital. *J Clin Diagnostic Res*. 2017; 11(1): 4-7.
16. Gautam V, Singhal L, Ray P. Burkholderia cepacia complex: Beyond pseudomonas and acinetobacter. *Indian J Med Microbiol*. 2011 29(1): 4-12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21304187>
17. Yüce P, Demirdağ K, Kalkan A, ve ark. Kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Derg*. 2005; 19(1): 17-21.
18. Anbumani N, Kalyani J, Mallika M. Distribution and antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from blood cultures of hospitalized patients in a tertiary care hospital. *Indian Journal of Practising Doctor*. 2008; 5(1): 5-6.
19. Chaudhury N, Paul V, Misra RN, et al. Evaluating the Trends of Bloodstream Infections by Nonfermenting Gram Negative Bacilli among the Patients in a Tertiary Care Hospital of Western Part of India and its Antibigram. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 2019; 8(1): 1149-1162.
20. Savcı Ü, Özveren G, Yenişehirli G, ve ark. Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının invitro duyarlılık durumları. *Turk Journal of Clin and Lab*. 2015;6(2): 24-29.
21. Nguyen L, Garcia J, Gruenberg K, et al. Multidrug-Resistant *Pseudomonas* Infections: Hard to Treat, But Hope on the Horizon? *Curr Infect Dis Rep*. 2018;20(23): 1-6.
22. E. Tacconelli (Infectious Diseases, DZIF Center, Tübingen University, Germany) and N. Magnini (WHO, EMP Department). Global Priority List Of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development of New Antibiotics. WHO. 2015.
23. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2016 - Healthcare-associated infections acquired in intensive care units. Stockholm: ECDC; 2016 [cited Nisan, 2019]. <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/healthcare-associated-infections-acquired-intensive-care-units-annual>.
24. Ergül AB, Işık H, Ay Altıntop Y, et al. A retrospective evaluation of blood cultures in a pediatric intensive care unit: A three year evaluation. *Turk Pediatri Ars* 2017; 52(3): 154-161.
25. Şirin MC, Ağuş N, Yılmaz N, ve ark. Yoğun bakım üniterinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *Turk Hij Den Biyol Derg*. 2017; 74(4): 269-278.
26. Diekmann DJ, Hsueh P, Mendes RE, et al. The Microbiology of Bloodstream Infection: 20-Year Trends from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019; 63(7):e00355-19
27. Sambyal, SS, Kaur, A, Soodan P. Changing antibiotic sensitivity pattern in gram negative nonfermenting isolates: A study in a tertiary care hospital. *Blood*. 2015;34(3): 48-57.
28. Gür H, Hazırolan G. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Nonfermentatif Gram Negatif Bakterilerin Dağılımının ve Antibiyotik Duyarlılık Profillerinin Belirlenmesi. *ANKEM Dergisi*. 2019; 33(2): 49-57.
29. Chang YT, Lin CY, Chen YH, et al. Update on infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia* with particular attention to resistance mechanisms and therapeutic options. *Front Microbiol*. 2015; 6(4): 893-912.
30. Velázquez-Acosta C, Zarco-Márquez S, Jiménez-Andrade MC, et al. *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia and pneumonia at a tertiary-care oncology center: a review of 16 years. *Supp Care Canc*. 2018; 26:1953-1960.
31. Tseng CC, Fang WF, Huang KT, et al. Risk factors for mortality in patients with nosocomial *Stenotrophomonas maltophilia* pneumonia. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009; 30(12):1193-1202.
32. Nicodemo AC, Araujo MR, Ruiz AS, et al. In vitro susceptibility of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates: comparison of disc diffusion, etest and agar dilution methods. *J Antimicrob Chemother*. 2004; 53(4): 604-608.
33. Hand E, Davis H, Kim T, et al. Monotherapy with minocycline or trimethoprim/sulfamethoxazole for treatment of *Stenotrophomonas maltophilia* infections. *J Antimicrob Chemother*. 2016; 71(4): 1071-1075.
34. Rizek C, Ferraz JR, van der Heijden IM, et al. In vitro activity of potential old and new drugs against multidrug-resistant gram-negatives. *J Infect Chemother*. 2015; 21(2):114-117.
35. Toleman MA, Bennett PM, Bennett DM, et al. Global emergence of trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in *Stenotrophomonas maltophilia* mediated by acquisition of sul genes. *Emerg Infect Dis*. 2007; 13(4): 559-565.
36. Gales AC, Seifert H, Gur D, et al. Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex and *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates: results from the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-2016). In Open forum infectious diseases. 2019; 6(1): 34-46.
37. Sadıç B, Başaran S, Şimşek SY ve ark. *Stenotrophomonas maltophilia*: Antimikrobik Duyarlılık Testi Sonuçları ve Sefazidimin Moksifloksasinle Kombinasyonunun In Vitro Etkinliği. *Klimik Dergisi*. 2019; 32(1): 62-67.
38. Arabacı Ç, Yanılmaz Ö, Uzun B. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Stenotrophomonas maltophilia* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. *ANKEM Derg*, 2019; 33(2): 58-64.



Genotype Distribution and Risk Factors in Patients with Chronic Hepatitis C Infection

Kronik Hepatit C Enfeksiyonlu Hastalarda Genotip Dağılımı ve Risk Faktörleri

  Arzu Altunçekiç Yıldırım¹,  Celali Kurt¹,  Ali Seydi Alpay²,  Ahmet Doğan³

¹ Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Ordu University, Ordu, Turkey

² Infectious Diseases Clinic, Anamur State Hospital, Mersin, Turkey

³ Infectious Diseases Clinic, Ordu State Hospital, Ordu, Turkey

ORCID ID: Arzu Altunçekiç Yıldırım <https://orcid.org/0000-0003-1141-9838>, Celali Kurt <https://orcid.org/0000-0003-4419-4508>, Ali Seydi Alpay <https://orcid.org/0000-0003-4852-683X>, Ahmet Doğan <https://orcid.org/0000-0001-5110-4027>

***Sorumlu Yazar / Corresponding Author:** Arzu Altunçekiç Yıldırım, **e-posta / e-mail:** arzaltu@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 24-12-2020

Kabul Tarihi / Accepted: 04-03-2021

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2021

Altunçekiç Yıldırım A., Kur C., Alpay A.S., Doğan A. Kronik Hepatit C Enfeksiyonlu Hastalarda Genotip Dağılımı ve Risk Faktörleri, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2021;5(1):50-56

Abstract

Objective Hepatitis C virus (HCV) is a common infection around the world and an important public health problem. Determination of HCV genotype is important epidemiologically and for treatment approaches. In this study, the aim was to assess the genotype distribution and associated risk factors for patients monitored at our center in northern Turkey.

Materials and Methods A cross-sectional study was carried out of patients with confirmed HCV infection. Our study retrospectively assessed 175 patients with chronic hepatitis C diagnosis in the Infectious Diseases clinic from 2016-2019 and with antiviral treatment administered. The samples were tested by type specific genotyping assay. The relationship between demographic characteristics and potential risk factors and genotype was investigated.

Results Genotype 1b was identified as the dominant genotype (95%). In 5% of patients, non-1b genotypes were present (genotype 1a, 3 and mixed). Genotype 1b was more common in patients over 50 years of age, while the patients with other genotypes were younger. The most frequent risk factor was identified as surgical intervention history. While young age, transplantation and intravenous drug use were identified as risk factors for development of infection with non-1b genotypes, household HCV contact was significant for genotype 1b.

Conclusion In our study, the dominant genotype was identified as genotype 1b. Among the risk factors in our study, the most frequently identified are surgical interventions and dental treatment. The variation in traditional risk factors will cause an increase in non-1b genotypes. We think it is important to correctly analyze these variations in the global struggle with HCV.

Keywords Hepatitis C, genotype, risk factors, epidemiology, non- 1b genotypes

Özet

Amaç Hepatit C virusu (HCV) enfeksiyonu tüm dünyada yaygın, önemli bir halk sağlığı sorunudur. HCV genotipinin belirlenmesi epidemiyolojik olarak ve tedavi yaklaşımının belirlenmesinde önemlidir. Bu çalışmada, Türkiye'nin kuzeyinde yer alan merkezimizde takip ettiğimiz hastalarda genotip dağılımının ve ilişkili risk faktörlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod Çalışmamızda 2016-2019 yılları arasında Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniğinde Kronik hepatit C tanısı almış ve doğrudan etkili antiviral tedavi uygulanmış 175 hasta retrospektif olarak değerlendirildi. Genotip dağılımı belirlenerek hastaların buluş ve farklı genotipler açısından risk faktörleri analiz edildi.

Bulgular Genotip 1b hakim genotip olarak saptandı (%95). %5 hastada 1b dışı genotipler (genotip 1a, 3 ve mix) mevcuttu. Genotip 1b, 50 yaş üstü hastalarda sık iken diğer genotiplere sahip hastalar daha gençti. Risk faktörü olarak en sık cerrahi girişim öyküsü tespit edildi. Genç yaş, transplantasyon ve damar içi uyuşturucu kullanımı 1b dışı genotip ile enfeksiyon gelişimi için risk faktörü olarak saptanırken, ev içi HCV teması genotip 1b için anlamlı bulundu.

Sonuç Çalışmamızda hakim genotip, genotip 1 b olarak saptanmıştır. Risk faktörleri arasında en sık tespit edilenler cerrahi müdahaleler ve dental girişim öyküsüdür. Geleneksel risk faktörlerindeki değişim 1b dışı genotiplerin artmasına yol açabilir. HCV ile küresel mücadelede bu değişimin doğru analiz edilmesinin önemli olduğunu düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler Hepatit C, genotip, risk faktörleri, epidemiyoloji, 1b dışı genotipler

INTRODUCTION

Hepatitis C virus (HCV) infection is common around the world and is an important public health problem. Nearly 350,000 people die annually due to complications related to chronic hepatitis C (CHC) and hepatitis C is one of the important causes in patients requiring liver transplantation.^{1,2,3} To date, seven genotypes and more than 80 subtypes of HCV have been identified.^{4,5} Type 1, 2 and 3 HCV infections are common around the world. Type 4 is common in the Middle East and Africa and is responsible for 80% of all HCV infections in these countries.⁶ Genotypes 5 and 6 are found in South Africa and Southeast Asia.⁷ In Turkey, the reported HCV seroprevalence is 0.6-1.6% and the dominant genotype is 1b.⁸ Studies in recent years show that other genotypes are rapidly increasing in our country.⁹ Different genotypes display differences in terms of epidemiology, pathogenesis and treatment response. As a result, genotype analysis is determined as standard before treatment. HCV is transmitted by percutaneous contact, transfusion of blood/blood products, infected tissue and organ transplantation or common use of contaminated injectors. Transmission is possible at lower rates from infected mothers at birth or from infected partners by sexual transmission.¹⁰ The treatment at increasing rates of hepatitis C patients in society has caused infection especially in risk groups to come to the agenda. It is reported that the genotype distribution in these groups may display differences compared to the normal population.¹¹ Determination of risk factors and genotype distributions are important in terms of creating appropriate treatment algorithms.¹² Additionally, it will ensure determination of priorities when developing health strategies to intervene against this infectious disease. This study aimed to determine the HCV genotype distribution and risk factors for patients monitored with CHC diagnosis.

2. METHODS

2.1 Patients

Our study included patients receiving chronic hepatitis C diagnosis from the Infectious Diseases clinic from 2016-

2019 with direct-acting antiviral treatment administered. Patient files were retrospectively investigated. All patients were anti-HCV and HCV RNA positive. While 56.6% of patients received new diagnosis, the remaining patients were treatment experienced and were followed by us since 2016.

2.2. Methods

The demographic information of patients, pretreatment quantitative HCV RNA values, genotype analyses, hepatitis B co-infection presence, cirrhotic status, and presence of hepatocellular cancer were recorded. Additionally, patients were questioned about risk factors before treatment and information was recorded on a patient form. This patient form questioned the risk factors of potential parental exposure to blood or blood products (surgical operation, injuries requiring hospital intervention, transfusion of blood or blood products), hemodialysis, tattoos, intravenous drug use (IVDU) history, multiple partner sex, perinatal risk factors, dental treatment, household contact with HCV-infected person and being a health worker.

2.3. Clinical virology analyses

The anti-HCV and HbsAg tests were serologically evaluated with the ELISA method (Abbott Laboratories, USA). Quantitative HCV-RNA real-time PCR tests were completed using a COBAS AmpliPrep/COBAS Taqman 48 system (Roche, Branchburg, NJ, USA). When determining HCV genotype, Bosphore HCV genotype (Anatolia Geneworks, Turkey) real-time PCR method was used according to the manufacturer's instructions.

2.4. Statistical analysis

Statistical analyses were performed with Statistical Package for Social Sciences (IBM SPSS for Windows, Ver.22). Means and standard deviations were obtained for continuous variables while categorical variables were summarized using frequency and percentage. The student's t-test was applied to assess differences between numerical variables. The chi-square test was used to compare categorical vari-

ables. In case of a significant difference between the parameters evaluated, logistic regression analysis was applied. The level of significance was defined as P value < 0.05.

2.5. Ethics

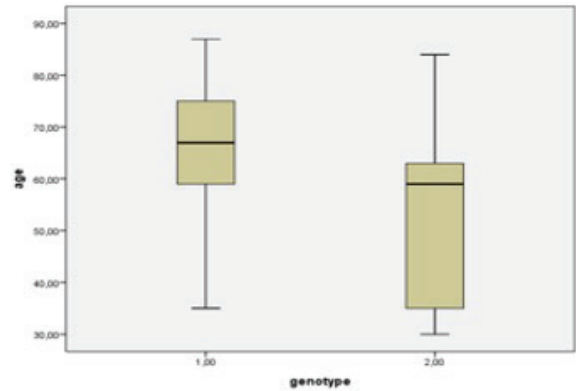
The study was approved by the Regional Clinical Research Ethics Committee (registration number: 2020/122) and was conducted according to the Helsinki Declaration.

3. RESULTS

This study included 175 patients who were anti-HCV positive and HCV RNA positive. The mean age of patients was 66± 11.2 years (age interval 30 - 87), 96 were female (55%) and 79 were male (45%). Fourteen patients (8%) were in the 30-50 years age interval, while the remaining 161 patients (92%) were over 50 years of age. Genotype analysis identified that 166 patients (95%) had genotype 1b, while 9 patients (5%) had non-1b genotypes. Five patients had genotype 3, 2 patients had genotype 1a and 2 patients had mixed genotypes. Mixed genotypes were genotype 3 + 4 and genotype 1b + 3. One hundred and twenty-nine patients (74%) were noncirrhotic and 46 patients (26%) were cirrhotic. One of the cirrhotic patients had genotype 1a, one had mixed genotype (3+4) and all other patients had genotype 1b. Mean HCV RNA values were 2882380 IU/mL in the genotype 1b group and 5492404 IU/mL in the non-1b genotypes (Table 1). Though the mean HCV RNA levels were numerically different, there was no statistical significance present.

Identified genotypes	Genotype 1a	Genotype 1b	Genotype 3	Mixed Genotype
Number (%)	2 (1)	166 (95)	5 (3)	2 (1)
Mean age	56	66	50	59.5
Gender (n/%)				
Females	2 (100)	91 (55)	2(40)	1(50)
Males	-	75 (45)	3 (60)	1 (50)
Mean HCV level (IU/ml)	4290115	2883280	4611800	8847786

When mean age is assessed, there was a significant difference between patients with genotype 1b and non-1b (P<0.05). Patients with non-1b genotypes comprised a younger population (Graph 1).



Graph 1: Age distribution for genotype 1b (1) and other genotypes (2)

Among risk factors questioned, 46% had surgical history, 35% had dental treatment (17.5% non-clinician interventions), 20% had positivity in the family, 17.5% had transfusion history for blood and blood products, 4.6% had hemodialysis and 0.5% were determined to be intravenous drug addicts (Table 2).

Risk factor	Number (%)
Surgical operation	82 (46)
Dental procedures	61 (35)
HCV-positive household contact	35 (20)
Transfusion of blood and blood products	31 (17.5)
Hemodialysis	8 (4.6)
Transplantation	2 (0.5)
IVDU*	2 (0.5)

*IVDU: Intravenous drug use

The distribution of risk factors, age and gender according to genotype is shown in Table 3. Those with HCV positive household contact were statistically significantly high for genotype 1b, while those with risk factors of IVDU and transplantation history were statistically significantly high

for non-1b genotypes (P<0.01) (Table 4). In other words, young age, transplantation history and IVDU were identified to be risk factors for having higher rates of non-1b genotype.

Among risk factors, tattoo, acupuncture history, perinatal transmission and being a health worker were not identified. Objective data could not be obtained when questioning multiple partner sex probably due to concerns with tradition.

	Genotype 1	Other genotypes	P
Age	66.86 (± 10.32)	53.44 (± 18.29)	0.04
Sex			0.50
Female	92	4	
Male	74	5	
Surgical operation			0.12
Operation +	80	2	
Operation -	86	7	
Dental Procedures			0.40
Dental Procedures +	59	2	
Dental Procedures -	107	7	
HCV-positive household contact			< 0.01
HCV-positive household contact +	30	5	
HCV-positive household contact -	136	4	
Transfusion of blood and bloodproducts			0.58
Transfusion of blood and blood products +	30	1	
Transfusion of blood and blood products -	136	8	
Hemodialysis			0.49
Hemodialysis +	8	0	
Hemodialysis -	158	9	
Transplantation			< 0.01
Transplantation +	1	1	
Transplantation -	165	8	
IVDU*			< 0.01
IVDU +	0	2	
IVDU -	166	7	

*IVDU: Intravenous drug use

	β	S.E	df	p	Odds ratio	95% CI	
						Lower	Upper
Age	-0.09	0.03	1	< 0.01	0.90	0.85	0.96
HCV positive household contact	-1.72	0.70	1	0.01	0.17	0.04	0.70
Transplantation	-3.02	1.46	1	0.03	0.04	0.00	0.853
IVDU*	-24.36	28420.73	1	0.99	0.00	0.00	-

*IVDU : Intravenous drug use

4. DISCUSSION

Determination of the HCV genotype distribution is important in terms of monitoring the molecular trace of the virus and to create correct eradication policies. Currently, the development of new treatment choices has ensured differentiation of treatment approaches. As a result, determination of genotype before treatment of patients still preserves its importance. Petruzelli et al¹³ assessed the global distribution of HCV genotypes. In the study, they reported that the dominant genotype for Europe, Asia and America was genotype 1b. In neighboring countries where healthy data can be obtained, like Greece, Georgia and Iran, genotype 1 is dominant, while genotype 3 has notable rates in Iran. The distribution of other genotypes may display regional variations in the same continent and countries. Our country is located geographically between two different continents and genotype 1b is observed to be dominant. HCV genotype 1b has been reported in studies conducted in Turkey between 66.7-100%. Our hospital is in the north of our country; it is located in the Central and Eastern Black Sea region. In our study, similarly, 95% genotype 1b and 5% other genotypes were identified. Though common genotypes were determined in many countries, monitoring requires a dynamic process. Varying epidemiological characteristics, migrations, effective treatment of the traditional patient group with more potent agents, prevention of the spread of dominant genotypes by treat-

ment and differentiation of transmission routes have resulted in changes to the genotype profile.¹⁴ In recent years, a globally reducing trend was reported for genotype 1, with an increase in the frequency of genotype 3. In Turkey, a significant increase is present for the frequency of non-1b genotypes.¹⁵ Intravenous drug use has become a significant risk, especially.^{16,17}

One of the problems with HCV is the presence of mixed genotypes. A multicenter study in our country reported 1.3% rate for the mixed genotype.¹⁸ In our study, there were 2 patients with mixed genotype of genotype 1b+3 and 3+4. Our patient with genotype 3+4 identified also had hepatitis B co-infection and was understood to have multiple and intense contact in terms of diseases transmitted by blood in their anamnesis. The other patient was not identified to have any additional risk factor. Our information about mixed genotypes is limited and there is a need to determine clinical approaches.

HCV prevalence is higher among those over the age of 50 and it is recommended that this age group be screened for HCV.¹⁹ In our study, similarly, 92% of patients were over the age of 50. While genotype 1b was identified in patients over 50 years of age, non-1b genotype patients were in a significantly lower age group. This situation leads to consideration that traditional transmission routes like problems with aseptic procedures and sexual transmission, which were significant in the past for HCV, were more significant in the older age group, while additional risk factors came to the agenda for the younger group. The strict administration of safe blood transfusions and sterile procedures, and pregnancy screening have reduced the traditional HCV transmission routes and caused an increase in different transmission routes.^{20,21} Among the risk factors questioned in our study, the most frequently identified are surgical interventions and dental treatment, similar to other studies in our country.^{22,23} In recent years, the frequency of transmission has gradually increased with the use of iv drugs. It was reported that 8.5% of HCV-infected individuals were

intravenous drug users and they comprised 23% of new infections.²⁴ In Turkey, the IVDU rate for patients infected with HCV is 1.3-3.1%.²³ A low rate was identified in our study. However, we think this rate was lower than in reality due to reasons like the lack of current data, social problems in this group, and difficulty or lack of desire to access the health services.

During questioning of risk factors, the risk factor of more than one sexual partner could not be assessed due to not receiving objective responses linked to traditional reasons in our country. Our study had a household contact history of 20%. The role of intrafamilial HCV transmission is controversial. It is seen that household contacts are more in sexual partners and siblings. Apart from the sexual route, horizontal contact or perinatal contact may develop as a result of common family behavior and life monitoring. Bayomy et al. reported 20% in their studies.²⁵ This rate is the same as the rate in our study. Egypt is a country where HCV prevalence is high. Although it is lower in our country, life style may be similar. Another study investigating intrafamilial transmission in Italy linked positive rates to the presence of other risk factors.²⁶ As a result, living with a HCV positive individual may be a factor that increases the risk. However, this risk increases with the presence of other risk factors.

Hepatitis C virus (HCV) infection is frequent in dialysis patients and is associated with increasing morbidity and mortality. Nosocomial transmission is a significant risk and it is necessary to apply infection control precautions strictly. The Centers for Disease Control and Prevention stated that more than 50% of all HCV epidemics related to health care occurred in hemodialysis units from 2008 to 2015.²⁷ The HCV rate for hemodialysis patients is reported to be between 4-20%. Genotypes 1 and 3 are the most commonly reported genotypes in dialysis patients.²⁸ According to data from the end of 2018 from the national nephrology association in Turkey, there was 3.47% anti-HCV positivity present.²⁹ In our study, 4.6% were iden-

tified to have this risk factor and the genotype profile was not different to society.

Logistic regression analysis identified age, transplantation history and household HCV contact as significant factors in terms of genotype 1b and other genotypes. The increase in age by one year increases the odds of being infected with genotype 1 by 0.90 times. In addition, home contact increases the risk of being infected with genotype 1 by 0.17 times. Advanced age and home contact are significant risk factors for becoming infected with genotype 1. In patients with a history of transplantation, the risk of non-genotype 1b infection increases by 0.04 times. Risk analysis could not be performed for intravenous drug use, even though significant, due to the low numbers and the lack of patients with different genotypes.

The low number of patients with risk factors such as iv drug use is a limiting aspect of our study.

5. CONCLUSION

In our study, the dominant genotype was defined as genotype 1b. Among the risk factors in our study, the most frequently identified are surgical interventions and dental treatment. We think that transmission routes may differ especially in the young population and genotype follow-up is important.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Conflicts of interest statement

None of the authors report any conflict of interest related to the manuscript.

References

1. Hanafiah KM, Groeger J, Flaxman AD, et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*. 2013; 57(4): 1333-42. doi: <https://doi.org/10.1002/hep.26141>.
2. Kulik L, El-Serag HB. Epidemiology and Management of Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology*. 2019; 156(2): 477 - 91. doi: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.08.065>.
3. Doszhan A, Bektaeva R, Doskali M. Liver transplantation in the Republic of Kazakhstan and abroad (history, state of the problem at the moment). *J Clin Med Kaz*. 2015; 3(37): 6-8.
4. Kaito M, Watanabe S, Tsukiyama-Kohara K, et al. Hepatitis C virus particle detected by immuno electron microscopic study. *J Gen Virol*. 1994; 75: 1755 - 60. doi: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-75-7-1755>.
5. Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2005; 42: 962- 73. doi: <https://doi.org/10.1002/hep.20819>.
6. Kamal SM, Nasser IA. Hepatitis C virus genotype 4: what we know and what we don't yet know. *Hepatology*. 2008; 47: 1371- 83. doi: <https://doi.org/10.1002/hep.22127>.
7. Nguyen MH, Keeffe EB. Prevalence and treatment of hepatitis C virus genotypes 4, 5, and 6. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005; 3 (Suppl. 2): 97 -101. doi: [https://doi.org/10.1016/s1542-3565\(05\)00711-1](https://doi.org/10.1016/s1542-3565(05)00711-1).
8. Tosun S, Balık İ, Tabak F, et al. Evaluation of risk factors associated with HBsAg and Anti-HCV seropositivity: results of a nationwide population-based epidemiological survey study in Turkey. *Mediterr J Infect Microb Antimicrob*. 2018; 7: 34. doi: [10.4274/mjima.2018.34](https://doi.org/10.4274/mjima.2018.34).
9. Caliskan A, Kirisci O, Ozkaya E, et al. Distribution and predominance of genotype 3 in hepatitis C virus carriers in the province of Kahramanmaraş, Turkey. *Hepat Mon*. 2015; 15 (4): e25142-9. doi: [https://doi.org/10.5812/hepatmon.15\(4\)2015.25142](https://doi.org/10.5812/hepatmon.15(4)2015.25142).
10. Shalmani HM, Ranjbar M, Alizadeh AHM. Recommendations for Prevention and Control of Hepatitis C Virus (HCV) Infection and HCV-Related Chronic Disease. *J Liver*. 2013; 3: 147. doi: <https://doi.org/10.4172/2167-0889.1000147>.
11. Andalibalshohada A, Rezaei SA, Abedi F. HCV prevalence and predominant genotype in iv drug users. *Rev Clin Med*. 2014; 1 (4): 200 - 6. doi: [10.17463/RCM.2014.04.006](https://doi.org/10.17463/RCM.2014.04.006).
12. Jiménez-Macias FM, Cabanillas-Casafraña M, Maraver-Zamora M, et al. Experience in real clinical practice with new direct acting antivirals in chronic hepatitis C. *Med Clin (Barc)*. 2017; 149(9): 375-82. doi: <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2017.03.007>.
13. Petruzzello A, Marigliano S, Loquercio G, et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: an up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. *World J Gastroenterol*. 2016; 22(34): 7824-7840. doi: [10.3748/wjg.v22.i34.7824](https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i34.7824).
14. Duran AÇ, Çetinkaya ÖK, Sayiner AA, et al. Changes on Hepatitis C Virus Genotype Distribution in Western Turkey: Evaluation of Twelve Year Data. *Turk J Gastroenterol*. 2020; 31(2): 128 - 35. doi: <https://doi.org/10.5152/tjg.2020.18798>.
15. Suntur BM, Kaya H, Sahin Eker HB, et al. A cross-sectional study of real life data of HCV from Turkey south region. *J Infect Dev Ctries*. 2020; 14 (4): 380 -86. doi: <https://doi.org/10.3855/jidc.11983>.
16. Wong MCS, Huang JLW, George J, et al. The changing epidemiology of liver diseases in the Asia-Pacific region. *Nat Rev Gastroenterology & Hepatol*. 2019; 16:57-73. doi: <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0055-0>.
17. Boglione L, Mornese Pinna S, De Nicolò A, et al. Treatment with direct-acting antiviral agents of hepatitis C virus infection in injecting drug users: A prospective study. *J Viral Hepat*. 2017; 24: 850-57. doi: <https://doi.org/10.1111/jvh.12711>.
18. Kulah C, Altindis M, Akyar I, et al. The Prevalence of Mixed Genotype Infections in Turkish Patients with Hepatitis C: a Multicentered Assessment. *Clin Lab*. 2019; 65(4): 485-90. doi: <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2018.180824>.
19. Reid M, Price JC, Tien PC. Hepatitis C Virus Infection in the Older Patient. *Infect Dis Clin North Am*. 2017; 31 (4): 827- 38. doi: <https://doi.org/10.1016/j.idc.2017.07.014>.
20. Gün R, Özbayraktar S, Köroğlu M, et al. Serotrends/Change in Blood Donor Screening Test Results According to Years; Thirteen Year Evaluation, Sakarya. *J Biotechnol and Strategic Health Res*. 2017; 1(3):83-87.
21. Maan MA, Hussain F, Muhammad J. Epidemiology of hepatitis C viral infection in Faisalabad, Pakistan: a retrospective study (2010-2012). *African Health Sciences*. 2014; 14(4): 810-15.
22. Yıldırım B, Tahan V, Ozaras R, et al. Hepatitis C virus risk factors in the Turkish community. *Dig Dis Sci*. 2005; 50: 2352- 5. doi: <https://doi.org/10.1007/s10620-005-3061-3>.
23. Karaca C, Cakaloglu Y, Demir K, et al. Risk factors for the transmission of hepatitis C virus infection in the Turkish population. *Dig Dis Sci*. 2006; 51: 365-9. doi: <https://doi.org/10.1007/s10620-006-3139-6>.
24. Grebely J, Larney S, Peacock A, et al. Global, regional, and country-level estimates of hepatitis C infection among people who have recently injected drugs. *Addiction*. 2019; 114(1): 150 - 66. doi: <https://doi.org/10.1111/add.14393>.
25. Bayomy HE, Yuonis A, Shaker RHM, et al. Prevalence of HCV Infection in Household Contacts of Chronic Liver Diseases Cases in Egypt. *J Environ Public Health*. 2018; 24: 1-9. doi: <https://doi.org/10.1155/2018/2153537>.
26. Minola E, Baldo V, Baldovin T, et al. Intrafamilial Transmission of Hepatitis C Virus Infection. *Eur J Epidemiol*. 2006; 21(4): 293-7. doi: <https://doi.org/10.1007/s10654-006-0016-8>.
27. Jadoul M, Berenguer MC, Doss W, et al. Executive Summary of the 2018 KDIGO Hepatitis C in CKD Guideline: Welcoming Advances in Evaluation and Management. *Kidney Int*. 2018; 94(4): 663- 73. doi: [10.1016/j.kint.2018.06.011](https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.06.011).
28. Jadoul M, Bieber BA, Martin P, et al. Prevalence, incidence, and risk factors for hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2019; 95(4): 939-47. doi: [10.1016/j.kint.2018.11.038](https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.11.038).
29. Süleymanlar G, Ateş K, Seyahi N. Registry of the Nephrology, Dialysis and Transplantation in Turkey registry 2018. Ankara, Turkey: Published by the Turkish Society of Nephrology, 2019; p. 29-128.



Evaluation of Vitamin D Levels in Chronic Hepatitis B Patients

Kronik Hepatit B Hastalarında Vitamin D Düzeylerinin Değerlendirilmesi

  Fatma Meral İnce¹,  Mustafa Kemal Çelen²,  Hasan İnce³,  İrem Akdemir Kalkan⁴

¹ Diyarbakır Selahaddin Eyyubi Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Diyarbakır.

² Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Diyarbakır.

³ Diyarbakır Selahaddin Eyyubi Devlet Hastanesi, İç Hastalıkları, Diyarbakır.

⁴ Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

ORCID ID: Fatma Meral İnce <https://orcid.org/0000-0003-3429-4169>, Mustafa Kemal Çelen <https://orcid.org/0000-0001-5876-2241>, Hasan İnce <https://orcid.org/0000-0003-4879-480X>, İrem Akdemir Kalkan <https://orcid.org/0000-0001-5136-9148>

***Sorumlu Yazar / Corresponding Author:** Arzu Altunçekiç Yıldırım, **e-posta / e-mail:** arzaltu@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 04-01-2021

Kabul Tarihi / Accepted: 27-02-2021

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2021

İnce F.M., Çelen M.K., İnce H., Akdemir Kalkan İ. Kronik Hepatit B Hastalarında Vitamin D Düzeylerinin Değerlendirilmesi, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2021;5(1):57-64

Abstract

Introduction and objective	Hepatitis B virus (HBV) infection continues to be among the prominent healthcare problems around the world. The liver is a critical organ for the storage and metabolism of vitamin D. Vitamin D is known to play a role in various biological processes including cell differentiation, cell proliferation and inhibition of immune modulation. Recently, vitamin D levels are thought to influence the immune system and the host response in viral infections such as HBV infections. In this study, our aim is to compare the vitamin D levels in healthy individuals and those with HBV infection in order to observe the relationship between the vitamin D levels and the HBV replication and disease progression.
Materials and Methods	From amongst the patients who presented to the Dicle University Medical Faculty Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology between January 2014 and December 2015, 29 HBsAg-positive and HBV DNA negative individuals, 30 HBsAg-positive individuals with HBV DNA of 2000-20000 IU/ml, 31 HBsAg-positive individuals with HBV DNA >20000 IU/ml and 45 HBsAg-negative individuals (control group) without comorbidities, who presented to our clinic with asthenia and fatigue and were tested for vitamin-D levels were evaluated in our study. The subjects' 25 (OH) D levels were tested at the baseline, 6th month and 12th month.
Results	The mean vitamin D levels among the patients with chronic hepatitis B (CHB) was 23.37±10.71 µg/L, while the mean vitamin D levels in the control group was 35.54±10.42 µg/L (p<0.001). Thus, the insufficient vitamin D levels among the patients with CHB were lower than the levels tested in the control group. The vitamin D levels in the control group were within the normal range. The intra-group comparison of the vitamin D levels among the CHB patients did not point to a significant difference. No significant association between lower vitamin D levels and higher viral load were observed in this study.
Conclusion	The vitamin D levels in patients with CHB were found to be insufficient. Although lower vitamin D levels were observed to be unassociated with high viral load in this study, there is still a need for prospective and controlled studies with more detailed design. Also, the patients need to be followed up in terms of vitamin D insufficiency and replacement therapy.
Keywords	Chronic hepatitis B, vitamin D, viral load, liver

Özet

Amaç	Hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonu halen tüm dünyada önde gelen sağlık sorunlarından biridir. Karaciğer, vitamin D (Vit-D)'nin metabolizması ve depolanmasında önemli bir organdır. Vit-D'nin hücre farklılaşması, çoğalması ve bağışıklık modülasyonu inhibisyonu da dâhil olmak üzere çok önemli bir biyolojik etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda, Vit-D düzeylerinin HBV enfeksiyonu gibi viral enfeksiyonlara karşı immün sistem ve konak yanıtını etkileyebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmamızda amaç HBV ile enfekte bireyler ve HBV ile enfekte olmayan bireylerde Vit-D düzeyini karşılaştırıp Vit-D düzeyinin HBV replikasyonu ve hastalığın progresyonu ile ilişkisini saptamaktır.
Materyal ve Metod	Çalışmamız retrospektif olarak gerçekleştirilen tanımlayıcı bir çalışma olarak tasarlanmıştır. Dicle üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğine Ocak 2014 - Aralık 2015 tarihleri arasında başvuran HBsAg pozitif ve HBV DNA'sı negatif 29 hasta, HBsAg pozitif ve HBV DNA'sı 2000-20000 IU/ml olan 30 hasta, HBsAg pozitif ve HBV DNA'sı >20000 IU/ml olan 31 hasta ile HBsAg negatif ve komorbiditesi olmayan ancak halsizlik, yorgunluk şikayeti ile polikliniğimize başvurup vitamin-D düzeyleri bakılmış olan 45 hasta kontrol grubu olarak çalışmamızda değerlendirilmiştir. Hastaların başlangıç, 6. ay ve 12. ay 25 (OH) D düzeyleri incelenmiştir. Bu çalışmada kullanılan kit için üretici firmamızın belirlediği 25 (OH) D referans aralıkları; eksik (<10 µg/L), yetersiz (10-30 µg/L) ve yeterli (≥30 µg/L) şeklinde belirtilmiştir.
Bulgular	Kronik Hepatit B (KHB)'li hastaların ortalama Vit-D düzeyi 23,37±10,71 µg/l, kontrol grubunun ortalama Vit-D düzeyi 35,54±10,42 µg/l olarak saptanmıştır (p<0,001). Bu durumda KHB'li hastalarda Vit-D düzeyi yetersiz olup kontrol grubuna göre daha düşük saptanmıştır. Kontrol grubunun ise vitamin D düzeyi normal sınırlarda saptanmıştır. KHB'li hastaların grup içi Vit-D düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu çalışmada düşük Vit-D düzeyinin yüksek viral yük ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır.
Sonuç	Çalışmamızda, KHB hastalarında Vit-D düzeyi yetersiz bulunmuştur. Düşük Vit-D düzeyinin yüksek viral yük ile ilişkili olmadığı saptanmış olup detaylı tasarlanmış, prospektif ve kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca hastalar; Vit-D eksikliği ve yerine koyma tedavisi açısından değerlendirilmelidir.
Anahtar Kelimeler	Kronik hepatit B, vitamin D, viral yük, karaciğer

GİRİŞ

Hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonu halen tüm dünyada önde gelen sağlık sorunlarından biridir¹. Etkili bir aşısı olmasına, tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen önemini korumaktadır². Kronik Hepatit B (KHB) nekro-inflamatuar karaciğer hastalığının gelişmesine neden olan ciddi bir tablo olarak kabul edilmektedir^{3,4}. Karaciğerde gelişen enflamasyonun immün aracılı mekanizmalar ile geliştiği bilinmektedir⁵.

Karaciğer, D vitamini (Vit-D) metabolizmasında ve depolanmasında önemli bir organdır. Vit-D, kemik mineralizasyonunda rolü olan insan diyetinin önemli bir parçasıdır. Vit-D'nin hücre farklılaşması, çoğalması ve bağışıklık modülasyon inhibisyonu da dahil olmak üzere çok önemli bir biyolojik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir⁶. Deride sentezlenen veya diyetle alınan vitamin D2 ve vitamin D3 biyolojik olarak aktif olmadığı için, vitamin D bağlayıcı protein ile karaciğere taşınır ve karaciğerdeki 25 hidroksilaz enzimi ile 25 hidroksivitamin D'ye (25(OH)D) çevrilir. Ancak vitamin D'nin aktif hale gelebilmesi için böbreklerde 1 alfa hidroksilaz enzimi ile 1,25 (OH) D'ye dönüşmesi gerekir. 1 alfa hidroksilaz enzimi Vit-D sentezinde kilit rol oynar. 25 (OH) D, Vit-D'nin dolaşımdaki asıl formudur. İnaktif olan bu formun konsantrasyonu 1,25 (OH) D'nin yaklaşık 1000 katıdır⁷. 1,25(OH)D vitamini ve 25(OH)D vitamini, Vit-D değerini belirlemek için kullanılan biyokimyasal testlerdir. Serum 25(OH)D, Vit-D değerleri için en uygun laboratuvar testi olarak kabul edilir ve aylar önceden eksiklik durumunu gösterebilmektedir⁸.

Vit-D eksikliğinin artmış otoimmünite ve enfeksiyonlara duyarlılık ile ilişkili olduğu bilinmektedir⁹. Son zamanlarda, Vit-D'nin viral hepatitte rol oynadığı belirtilmektedir. Vit-D'nin viral hepatit patogeneziindeki rolü tam olarak bilinmemektedir ancak Vit-D'nin hem doğal hem de adaptif bağışıklık sistemlerinin aktivasyonuna ve düzenlenmesine katılımının, aynı zamanda antiproliferatif etkisinin de karaciğer hastalıklarında önemini açıklayabileceği görülmektedir^{10,11}. Gelecekteki çalışmalarla kanıtlanmaya ihti-

yaç duyulan Vit-D metabolizması ve HBV replikasyonu arasındaki olası nedensel ilişki, KHB tedavisinde cazip terapötik fırsatlar sunabilir¹².

Vit-D'nin kronik HBV seyri üzerindeki etkisini net olarak gösterebilmek için daha detaylı tasarlanmış, geniş serili çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmanın amacı, kronik hepatit B hastalarında Vit-D düzeylerini belirlemek ve Vit-D'nin kronik HBV seyri üzerindeki etkisini net olarak gösterebilmek için daha detaylı tasarlanmış, geniş serili çalışmalara katkı sunmaktır. Böylelikle, gelecekteki çalışmalarla kanıtlanmaya ihtiyaç duyulan Vit-D metabolizması ve HBV replikasyonu arasındaki olası nedensel ilişki, KHB tedavisinde cazip terapötik fırsatlar sunabilir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma retrospektif olarak gerçekleştirilen tanımlayıcı bir çalışma olarak tasarlanmıştır. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğine 1 Ocak 2014- 31 Aralık 2015 tarihleri arasında başvuran hastalar içerisinde 4 grup hastanın vit-D seviyelerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Vit-D immünmodulator bir marker olarak birimin hasta takip protokolünde rutin olarak ve hasta takibine göre ihtiyaç durumunda tekrarlanarak bakılmaktadır. Çalışma periyodu içerisinde hastane bilgi sistemi verilerinden Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğine başvuran hastalar içerisinde Vit-D düzeyi çalışılan 1355 hasta çalışmaya uygunluk açısından değerlendirilmiştir. Bu hastalar içerisinde belirlenen 4 grup şu şekilde oluşturulmuştur:

1.Grup: HBsAg negatif olup başka bir komorbiditesi olmayan ancak halsizlik, yorgunluk şikayeti gibi spesifik olmayan semptomlar ile poliklinik başvurusunda bulunan vitamin D düzeyleri bakılmış olan 45 hasta, kontrol grubu olarak belirlenmiştir.

2. Grup: HBsAg pozitif ve HBV DNA'sı negatif 29 hasta

3.Grup: HBsAg pozitif ve HBV DNA 'sı 2000-20000 IU/

ml olan 30 hasta

4.Grup: HBsAg pozitif ve HBV DNA'sı >20000 IU/ml olan 31 hasta olgu grupları olarak belirlenmiştir.

Daha sonraki süreçte bu hastaların başlangıç, 6. ay ve 12. ay 25(OH)D düzeyleri incelenmiştir. Çalışma, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay almıştır (26/02/2016 tarih, etik kurul no:109).

Çalışmaya dahil edilen hastaların dahil edilme ve hariç bırakma kriterleri şu şekilde belirlenmiştir:

Çalışmaya dahil edilme kriterleri;

- 18-65 yaş arası HBsAg pozitif bireyler
- HBsAg'si negatif komorbiditesi olmayan bireyler
- HBeAg pozitif olan bireyler

Çalışmadan dışlanma kriterleri;

- HBsAg negatifliği ile başka bir kronik hastalığı olanlar.
- HIV (Human Immunodeficiency Virus) pozitif hastalar
- Kanser hastaları
- Gebelik ve laktasyon döneminde olanlar

Hastaların yaş, cinsiyet gibi demografik verileri ve HBV DNA, HBsAg, HbeAg gibi HBV biyobelirteçleri, ilk başvuru anındaki 25 (OH) D değerleri ile takiplerindeki 6. ve 12. aydaki 25 (OH) D düzeyleri hastane bilgi sisteminde, hasta dosyaları taranarak kaydedilmiştir. HBV-DNA düzeyleri 12 IU/ml 'nin altında saptananlar negatif değer olarak kabul edilmiştir. Çalışma periyodu boyunca hasta serumunda HBsAg ve HBeAg belirteçleri enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemiyle çalışılmıştır. HBV DNA düzeyi kantitatif PCR yöntemiyle Roche Cobas Ampliprep kiti ile çalışılmıştır. HBV DNA birimi IU/ml olarak kullanılmıştır.

Çalışma sürecinde Vit-D ölçümü için alınan Shimatsu marka HPLC sistemine uygun, Immuchrom GmbH firmasına ait Immuchrom Vit- D kiti ile analiz edilmiştir.

Plazma 25(OH)D için literatürde farklı birimler kullanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan kit için üretici firmanın belirlediği referans aralıkları eksik, yetersiz ve yeterli şeklinde Tablo.1'de verilmiştir.

Eksik	<10 µg/L
Yetersiz	10-30 µg/L
Yeterli	≥30 µg/L

İstatistiksel analiz

Veriler SPSS versiyon 15.0 programı ile analiz edilmiştir. Kategorik veriler sayı (n) ve yüzde (%) değerler ile ifade edilirken, Frekans dağılımı ve yüzdeler standart yöntemler hesaplanmıştır. Kategorik verilerin analizinde Ki-Kare testi, Numerik verilerde ise gruplar arası karşılaştırmada Kruskal Wallis testi, grup içi karşılaştırmada Mann Whitney U testi uygulanmış olup p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiş ve analiz sonuçları bu değere göre yorumlanmıştır.

BULGULAR

Hastaların 77'si erkek (%57), 58'i kadını (%43) (p=0,812). Kadın ve erkek hastalar arasında başlangıç, 6.ay ve 12. ay Vit-D düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 2).

	Cinsiyet	Sayı	Ortalama	Std. Deviation	P değeri
Başlangıç	Erkek	77	29,2468	15,441	0,133
	Kadın	58	25,569	11,7848	
6. ay	Erkek	77	28,4935	13,1935	0,319
	Kadın	58	26,3276	11,3623	
12. ay	Erkek	77	28,3766	14,0797	0,212

Her üç dönemde de en düşük ortalama Vit-D düzeyi 3. grupta saptanmıştır. İkinci ve 4. grupta Vit-D düzeyi yetersiz düzeyde olup kontrol grubunun Vit-D düzeyi ise düzeyde saptanmıştır (Tablo 3)

Grup		Yaş	Bazal	6. ay	12. ay
Grup 1	Ortalama	41,8889	35,1556	35,6889	35,7778
	Sayı	45	45	45	45
	std. deviasyon	13,64355	12,82568	12,8573	14,46609
Grup 2	Ortalama	40,2258	29,0000	26,1935	25,9677
	Sayı	31	31	31	31
	std. deviasyon	13,44299	13,16561	7,93061	10,88878
Grup 3	Ortalama	36,6897	19,5172	20,1724	19,7241
	Sayı	29	29	29	29
	std. deviasyon	12,87329	9,94133	9,65501	10,0424
Grup 4	Ortalama	43,8000	22,9333	23,9333	22,2000
	Sayı	30	30	30	30
	std. deviasyon	12,42467	14,50549	11,69124	13,55042
Total	Ortalama	40,8148	27,6667	27,5630	27,0593
	Sayı	135	135	135	135
		13,25760	14,05851	12,44187	14,09973
			p<0,001	p<0,001	p<0,001

Totalde tüm gruplarda plazma 25(OH)D seviyesi 12 (%8,9) kişide eksiklik, 73 (%54,1) kişide yetersizlik düzeyinde olup, Vit-D 50 (%37) kişide yeterli seviyede saptanmıştır (Tablo 4).

			Grup				Total	
			Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4		
Vit-D	Eksik	Sayı	0	2	4	6	12	
		%	0,00%	6,50%	13,80%	20,00%	8,90%	
	Yetersiz	Sayı	20	16	20	17	73	
		%	44,40%	51,60%	69,00%	56,70%	54,10%	
	Yeterli	Sayı	25	13	5	7	50	
		%	55,60%	41,90%	17,20%	23,30%	37,00%	
Total			Sayı	45	31	29	30	135
			%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%

P=0,003

2., 3. ve 4. gruptaki Vit-D düzeyi $23,37 \pm 10,71 \mu\text{g/l}$, kontrol grubunun ortalama Vit-D düzeyi $35,54 \pm 10,42 \mu\text{g/l}$ olarak saptanmıştır ($p < 0,001$). Bu durumda KHB'li hastalarda Vit-D düzeyi yetersiz olup kontrol grubuna göre daha düşük saptanmıştır. Kontrol grubunun ise Vit-D düzeyleri yeterli düzeyde saptanmıştır (Tablo 5).

Grup	Sayı	Ortalama	Std. Deviation	P değeri	
Başlangıç	Kontrol Grubu	45	35,1556	12,8257	<0,001
	Olgu Grubu	90	23,9222	13,18	
6. ay	Kontrol Grubu	45	35,6889	12,8573	<0,001
	Olgu Grubu	90	23,5000	10,0630	
12. ay	Kontrol Grubu	45	35,7778	14,4661	<0,001
	Olgu Grubu	90	22,7000	11,7564	
Üçünün Ortalaması	Kontrol Grubu	45	35,5407	10,4200	<0,001
	Olgu Grubu	90	23,3741	10,7127	

Kontrol grubunun Vit-D düzeyleri üç dönemde de yeterli düzeyde ve diğer gruplara göre de daha yüksek seviyede saptanmıştır. Diğer üç grubun Vit-D düzeyi arasında anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 6).

	bazal p değeri	6. ay p değeri	12. ay p değeri
1. grup - 2. grup	0.051	0.002	0.003
1. grup - 3. grup	<0.001	<0.001	<0.001
1. grup - 4. grup	<0.001	<0.001	<0.001
2. grup - 3. grup	0.003	0.023	0.058
2. grup - 4. grup	0.051	0.354	0.137
3. grup - 4. grup	0.387	0.244	0.727

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kronik karaciğer hastalığında vitamin D eksikliği prevalansı %64-92 arasında bildirilmiştir. Prevelansının oldukça yüksek olmasının yanında hastalık şiddetiyle negatif yönde ilişkili bulunmuştur. Önceleri sadece kolestatik etiyojideki karaciğer hastalığında düşük olduğu düşünülmekteydi, ancak sonrasında kronik karaciğer hastalığında vitamin D eksikliğinin tüm etiyojilerde sık olduğu anlaşılmıştır¹³.

Tüm bu bilgiler ışığında halen kesin olmayan veri ise, kronik karaciğer hastalarında Vit-D tedavisi ilave edildiği zaman tedavi başarısına nasıl bir katkı sağlayacaktır. Gerek bizim, gerekse önceki çalışmalarda belirtildiği gibi Vit-D nin sentez basamaklarında karaciğer önemli bir yer tutar. Karaciğer, Vit-D sentezinde çok önemli bir organdır; 25-hidroksilasyon burada meydana gelir ve Vit-D bağlayan protein büyük oranda burada sentezlenir¹⁴.

Vit-D eksikliği kronik karaciğer hastalığı olanlar arasında yaygındır. Bir çalışmada, düşük Vit-D durumu, kronik karaciğer yetmezliği olan hastalarda karaciğer dekompanasyonu ve mortalitenin belirleyicisi olarak bulunmuştur. Yeni bir çalışma, Vit-D hepatik stellat hücrelerinde tip I kollajen oluşumunu önlediğini bulmuştur. Bu nedenle Vit-D eksikliğinin düzeltilmesi karaciğer fibrozisini engellemek için potansiyel bir hedef olabilir¹⁵.

Literatür tarandığında Vit-D ve kronik hepatit ilişkisi konusundaki çalışmaların büyük bir kısmının KHC hastaları ile yapıldığı görülmüştür. KHB ve Vit-D ilişkisi konusunda az sayıda yapılmış çalışmaların birinde kronik hepatit B hastalarının şiddetli Vit-D eksikliğiyle karşı karşıya ol-

dukları belirtilmiştir¹⁶. Bir başka ifadeyle kronik karaciğer hastalıklarında gelişen Vit-D eksikliğinin bütün bu olaylar için neden mi yoksa sonuç mu olduğu tam belli değildir. Plazma 25(OH)D düzeyleri 10 µg /l'nin (25 nmol/l) altında ise nitelikli olarak eksik ve 30µg/l'nin (75nmol/l) altında ise nitelikli olarak yetersiz ya da suboptimal olduğu konusunda görüş birliği vardır¹⁷.

Viral yük ile Vit-D ilişkisine bakılan bir çalışmada, KHB hastalarında HBV DNA (log10 IU/ml) düşük 25(OH)D serum düzeylerinin güçlü bir belirleyicisi olarak bulunmuş, ortalama 25(OH)D serum konsantrasyonları HBV DNA <2,000 IU/ml; 17ng/ml, >2,000 IU/ml; 11ng/ml olarak tespit edilmiştir¹⁸. Bizim çalışmamızda KHB'li hastaların grup içi Vit-D düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu durumda bizim çalışmamızda düşük Vit-D düzeyinin yüksek viral yük ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır (Tablo 6). Ancak hasta sayımızın az olması, hastalarımızın 3 dönemde Vit-D düzeylerine bakılmış olması ve bazı hastaların viral yükü yüksek ancak HBeAg pozitif kronik enfeksiyon fazda olmaları sebebiyle bu sonuca varılmış olabilir.

Ulu ve ark.¹⁹ yaptığı bir çalışmada 90 KHB hastası ve 76 kontrol grubunun Vit-D düzeyleri karşılaştırılmış ve kontrol grubunun Vit-D düzeyleri sırasıyla 11,7±6,6 ng/ml ile 16,2±8,7 ng/ml olarak saptanmıştır. Olgu kontrol düzeni ile tasarlanmış olan bu çalışmada Vit-D düzeyleri KHB'li hastalarda daha düşük bulunmuştur. Kadın erkek arasında Vit-D düzeyi açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Viral yük ile düşük Vit-D düzeyi arasında da bir korelasyon saptanmamıştır. Bizim çalışmamız da benzer bir şekilde olgu kontrol düzeni ile yapılmış olup olgu grubunun Vit-D düzeyi 23,37±10,71 µg/l, kontrol grubunun Vit-D düzeyi ise 35,54±10,42 µg/l olarak saptanmıştır. KHB'li hastaların Vit-D düzeyleri yetersiz düzeyde olup kontrol grubuna göre daha düşük seviyede tespit edilmiştir (Tablo 5). Ulu ve ark. çalışmasındaki gibi bizim de çalışmamızda kadın ve erkek arasında Vit-D düzeyi açısından anlamlı bir fark saptanmamış olup (p:0,428) (Tablo 2), viral yük ile

düşük Vit-D düzeyi arasında korelasyon saptanmamıştır (Tablo 6).

Bizim çalışmamızdakine benzer şekilde KHB'li hastalarda kontrol grubuna göre daha düşük Vit-D düzeyi saptanan çalışmalardan birinde 128 naif KHB hastası ve 128 kontrol grubunun Vit-D düzeyi analiz edilmiştir. KHB hastalarında 25 (OH) D3 düzeyi kontrol grubuna göre daha düşük düzeyde tespit edilmiştir²⁰.

Yine ülkemizde yapılan bir çalışmada 35 KHB 'li hasta (Grup 1), 30 doğal bağışıklı birey (2.Grup), 30 sağlıklı yetişkinin (3. grup) Vit-D düzeyleri karşılaştırılmıştır. Grup 1'deki hastaların 25(OH)D düzeyleri diğer gruptakilere göre daha düşük düzeyde saptanmıştır (Grup 1: 12,1±7,13 ng/ml, Grup 2: 7,65±4,19 ng/ml ve Grup 3: 14,17±9,18 ng/ml) (p<0.001)²¹.

Mısır'da 2015 yılında yapılan prospektif bir çalışmada 96 HBeAg negatif KHB hastası ve 25 kontrol grubunun Vit-D düzeyi analiz edilmiştir.KHB hastaları inaktif evre ve kronik hepatit evresi olmak üzere iki gruba ayrılmış olup kontrol grubu ile Vit-D düzeyleri karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda KHB hastalarında Vit-D düzeyi daha düşük saptanmış olup D vitamini düzeyleri HBV DNA düzeyleri ile güçlü bir negatif korelasyona sahip bulunmuştur²².

Plazma Vit-D düzeyleri mevsimsel değişim göstermektedir. Ancak bizim çalışmamızda hastaların Vit-D düzeyleri tek seferlik ölçülmeyip bazal, 6. ay ve 12. ayda da takip edildiği için böyle bir mevsimsel değişikliğe yer vermedik.

Sonuç olarak KHB hastalarında Vit-D düzeyi yetersiz olabilmektedir. Bu hastalar Vit-D eksikliği ve takviye gerekliliği açısından değerlendirilmelidir. Hangisinin sebep hangisinin sonuç olduğu, antiviral tedaviye vitamin eklenmesinin ne derecede faydalı olacağı konusunda daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır. Düşük Vit-D düzeyinin yüksek viral yük ile ilişkili olup olmadığını saptamak için

çok sayıda hastada prospektif çalışmalar yapılmalıdır. Yapılacak bu çalışmalar doğrultusunda Vit-D replasmanının KHB'deki yeri daha iyi anlaşılacaktır.

Kaynaklar

1. Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, et al. The contribution of hepatitis B and hepatitis C virus infection to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J Hepatol.* 2006;45(4):529-538. doi: 10.1016/j.jhep.2006.05.013
2. Koziel MJ, Siddiqui A. Hepatitis B viruses and Hepatitis delta viruses. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone. 2005:1864-90
3. Brunetto MR, Oliveri F, Colombatto P, et al. Hepatitis B surface antigen serum levels help to distinguish active from inactive hepatitis B virus genotype D carriers. *Gastroenterology.* 2010;139(2):483-90. doi:10.1053/j.gastro.2010.04.052
4. Mohamadkhani A, Katoonzadeh A, Poustchi H. Immune-Regulatory Events in the Clearance of HBsAg in Chronic Hepatitis B: Focuses on HLA-DP. *Middle East J Dig Dis.* 2015;7(1):5-13.
5. Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004;350:1118-1129. doi:10.1056/NEJMra031087
6. Kitson MT, Roberts SK. D-livering the message: the importance of vitamin D status in chronic liver disease. *J Hepatol.* 2012; 57: 897-909. doi:10.1016/j.jhep.2012.04.033
7. Malham M, Jørgensen SP, Ott P, et al. Vitamin D deficiency in cirrhosis relates to liver dysfunction rather than Aetiology. *World J Gastroenterol* 2011;17:922-925. doi: 10.3748/wjg.v17.i7.922.
8. Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann Epidemiol.* 2009;19:73-8. doi: 10.1016/j.annepidem.2007.12.001.
9. Miragliotta G, Miragliotta L. Vitamin D and infectious diseases. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2014;14(4):267-71. doi: 10.2174/1871530314666141027102627.
10. Chen E. Q., Shi Y., Tang H. New insight of vitamin D in chronic liver diseases. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2014;13: 580-585. doi.org/10.1016/S1499-3872(14)60295-2
11. Iruzubieta P, Teran A., Crespo J. et al. Vitamin D deficiency in chronic liver disease. *World J Hepatol.* 6, 901-915 (2014). doi:10.4254/wjh.v6.i12.901
12. Martineau AR, Timms PM, Bothamley GH, et al. High-dose vitamin D(3) during intensive-phase antimicrobial treatment of pulmonary tuberculosis: a double-blind randomised controlled trial. *Lancet* 2011;377:242-250. doi:10.1016/S0140-6736(10)61889-2
13. Stokes CS, Volmer DA, Grunhage F, et al. Vitamin D in chronic liver disease. *Liver Int.* 2013;33(3):338-52.
14. Rahman AH, Branch AD. Vitamin D for your patients with chronic hepatitis C. *Journal of Hepatology* 2013;58(1):184-189. doi:10.1016/j.jhep.2012.07.026
15. Skaaby T, Husemoen LSN, Borglykke A, et al. Vitamin D status, liver enzymes, and incident liver disease and mortality: a general population study. published online november 2013 in Springer Science Business Media New York 2013; doi:10.1007/s12020-013-0107-8.
16. Kong J, Ding Y, Zhang C, et al. Severe Vitamin D-Deficiency and Increased Bone Turnover in Patients with Hepatitis B from Northeastern China. *Endocrine Research* 2013;38(4):215-222. doi: 10.3109/07435800.2013.768266
17. Fulgencio MG, Garcı́a-Alvarez M, Berenguer J, et al. Vitamin D deficiency is associated with severity of liver disease in HIV/HCV coinfecting patients. *Journal of Infection* 2013;1-9. doi:10.1016/j.jinf.2013.10.011
18. Farnik H, Bojunga J, Berger A, et al. Low Vitamin D Serum Concentration Is Associated With High Levels of Hepatitis B virus Replication in Chronically Infected Patients. *Hepatology* 2013;58:1270-1276. doi:10.1002/hep.26488
19. Candevir Ulu A., Kuşçu F., İnal A.S., Vitamin D Levels and Hepatitis B: Is There Any Relationship?, *Viral Hepat J* 2015;21:44-47
20. Chen EQ, Bai L, Zhou TY, et al. Sustained suppression of viral replication in improving vitamin D serum concentrations in patients with chronic hepatitis B. *Sci Rep.* 2015;5:15441. doi: 10.1038/srep15441.
21. Demir C, Demir M. Vitamin D levels in patients with chronic hepatitis B virus infection and naturally immunized individuals. *Int Med Ins J.* 2013;1(1):2. doi: 10.7243/2052-6954-1-2.
22. Ebada Said , Waleed El Agawy , Rehab Ahmed , et al. Serum Vitamin D Levels in Treatment-naïve Chronic Hepatitis B Patients. *J Transl Int Med.* 2017; 5(4): 230-234. doi: 10.1515/jtim-2017-0038



The Effect of Covid-19 On Emergency Surgical Cases. Data From A High-Volume City

Covid-19'un Acil Cerrahi Vakalar Üzerindeki Etkisi. Yüksek Hacimli Şehirden Veriler

Barış Mantoğlu¹, Emre Gönüllü¹, Enis Dikicier², Ahmet Tark Harmantepe¹, Ali Muhtaroglu¹, Selman Çınar³, Orhan Yağmurkaya⁴, Metin Şenol⁵, Zahide Kurt⁶, Mertcan Akçay¹, Uğur Can Dülger¹, Zülfü Bayhan², Fatih Altıntoprak², Belma Koçer², Fehmi Çelebi²

¹ Sakarya University Educating and Research Hospital Department of General Surgery/ Sakarya/TURKEY

² Sakarya University School of Medicine Department of General Surgery/ Sakarya/ TURKEY

³ Yenikent State Hospital Department of General Surgery/ Sakarya/ TURKEY

⁴ Ada Tıp Hospital/ Sakarya/ TURKEY

⁵ MEDAR Hospital/ Sakarya/ TURKEY

⁶ Beyhekim Hospital/ Sakarya/ TURKEY

ORCID ID: Barış Mantoğlu <https://orcid.org/0000-0002-2161-3629>, Emre Gönüllü <https://orcid.org/0000-0001-6391-4414>,

Enis Dikicier <https://orcid.org/0000-0002-5074-0299>, Ahmet Tark Harmantepe <https://orcid.org/0000-0003-2888-7646>, Ali Muhtaroglu <https://orcid.org/0000-0001-5412-2175>, Selman Çınar <https://orcid.org/0000-0002-2532-6969>, Orhan Yağmurkaya <https://orcid.org/0000-0002-0011-3780>, Metin Şenol <https://orcid.org/0000-0001-7884-0841>, Zahide Kurt <https://orcid.org/0000-0002-2004-8146>, Mertcan Akçay <https://orcid.org/0000-0003-3513-292X>, Uğur Can Dülger <https://orcid.org/0000-0001-5476-715X>, Zülfü Bayhan <https://orcid.org/0000-0002-7587-7267>, Fatih Altıntoprak <https://orcid.org/0000-0002-3939-8293>, Belma Koçer <https://orcid.org/0000-0002-9888-0661>, Fehmi Çelebi <https://orcid.org/0000-0003-1157-8556>

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Baris Mantoglu, e-posta / e-mail: barismantoglu@gmail.com.tr

Geliş Tarihi / Received : 31-01-2021

Kabul Tarihi / Accepted: 05-04-2021

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2021

Mantoglu B., Gönüllü E., Dikicier E, et al. The effect of Covid-19 on emergency surgical cases. Data from a high-volume city. Covid-19 Emergency Surgery, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2021;5(1):65-70

Abstract

Background COVID -19 placed a tremendous and unforeseen burden on the health system worldwide. In addition to the general surgery practice, the approach to emergency surgery cases, and patients' admissions to the hospitals were also seriously affected by this unexpected consequence. Here in we aim to pay attention to the notable decrease in cases requiring urgent surgical intervention in our city and to try to explain this upshot.

Materials and Methods In this multicenter retrospective study, emergency general surgical interventions performed in the 3rd and 2nd stage private and public hospitals, before the pandemic (January 2020- February 2020), and acute phase of the pandemic (Mid-March 2020 - Mid-May 2020) in Sakarya province were compared.

Results The distribution of patients before pandemic by gender was 53.1% in male patients, 46.9% in female patients, while 61.6% in male, and 38.4% in female patients during the pandemic respectively. The mean age of patients was 54.72±3.65 before pandemic and 38.54±2.32 during the pandemic, and there was a statistically significant difference in terms of the age distribution of patients undergoing emergency surgery ($p<0.05$). During the two months before the pandemic, a total of 290 emergency surgeries were performed, while in the acute pandemic period, 164 emergency operations were performed in the same time interval. There was a statistically significant decrease in the number of patients undergoing emergency surgery during the pandemic period compared to non-pandemic ($p=0.012$).

Conclusion Although the causes for the decrease in cases requiring emergency surgery may be partially defined. However, the disease groups whose alteration reasons cannot be explained at the moment may need further detailed strategic preparation in order not to encounter undesired results in the future.

Keywords COVID-19, Pandemic, Surgery, Emergency Surgery

Özet

Amaç COVID -19 dünya çapında sağlık sistemi üzerinde muazzam ve öngörülemeyen bir yük oluşturdu. Elektif genel cerrahi uygulamalarına ek olarak, acil cerrahi vakalarına yaklaşım ve hastaların hastanelere kabulleri de bu beklenen-medik sonuçtan ciddi şekilde etkilenmiştir. Burada, şehrimizde acil cerrahi müdahale gerektiren olgularda kayda değer azalmaya dikkati çekmeyi ve bu durumu açıklamaya çalışmayı amaçlıyoruz.

Materyal ve Metod Bu çok merkezli retrospektif çalışmada, Sakarya ilinde, pandemi öncesi (Ocak 2020- Şubat 2020) ve pandeminin akut fazı (Mart 2020 Ortası- Mayıs 2020 Ortası) dönemlerinde yapılan acil cerrahi ameliyatlara karşılaştırılmıştır.

Bulgular Pandemi öncesi hastaların cinsiyete göre dağılımı erkek hastalarda %53.1, kadın hastalarda %46.9, pandemi sırasında erkeklerde %61.6 ve kadın hastalarda %38.4 idi. Hastaların ortalama yaşı pandemi öncesi 54.72 ± 3.65 ve pandemi sırasında 38.54 ± 2.32 idi ve acil cerrahi geçiren hastaların yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0.05$). Pandemi öncesi iki ay boyunca, toplam 290 acil ameliyat yapılırken, akut pandemi döneminde, aynı zaman aralığında 164 acil operasyon gerçekleştirildi. Pandemi döneminde acil cerrahi geçiren hasta sayısında pandemi olmayan döneme göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardı ($p=0.012$).

Sonuç Acil cerrahi işlem gerektiren durumlarda azalmanın nedenleri kısmen tanımlanabilir. Bununla birlikte, değişikliğin nedenleri şu anda açıklanamayan hastalık gruplarında, gelecekte istenmeyen sonuçlar ile karşılaşmamak için daha ayrıntılı stratejik hazırlığa ihtiyaç olabilir.

Anahtar Kelimeler COVID-19, Pandemi, Cerrahi, Acil cerrahi

INTRODUCTION

When COVID 19 was first described,^{1,2} we were unable to foresee the serious health problems it would create. In our country, rapid action was taken against the virus, and various necessary measures and arrangements were provided. As a result of the seriousness and rapid progression of the pandemic, healthcare administrators have concentrated their health resources on this issue in terms of humans and medication. Changes in general surgical practice were inevitably adopted quickly. Some centers postponed elective surgery procedures and only performed surgery for exceptional cancer cases, which could have been disadvantageous to patients. Emergency surgical cases have been carried out during the pandemic according to the guidelines of the national surgical associations as well as many leading international communities.^{3,8} This study aimed to ascertain the diversity and variation in the number of emergency surgery procedures performed during the pandemic in hospitals in our city during the acute phase of the pandemic.

MATERIAL and METHODS

In this multicenter retrospective study, the acute phase period of the pandemic in our country (Mid-March 2020–mid-May 2020) and the non-pandemic 2-month period (January 2020–February 2020) were the dates of the study. Emergency surgical procedures performed during the two periods at third (Sakarya University Educating and Research Hospital) and second level public (Yenikent State Hospital) and private (Ada Tip Hospital, MEDAR Hospital, Beyhekim Hospital) health institutions in Sakarya Province were included in this study. The distributions of age and gender, as well as the type and number of emergency procedures performed in the general surgery clinics of our city during the two periods, were evaluated. The urgent surgeries were collected under eight main headings. These titles are described in detail in Table 2. The statistical analysis was performed using SPSS version 25 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Numerical variables are presented as mean \pm standard deviation. Categorical variables are pre-

sented as counts and percentages. The Shapiro-Wilk test was used to determine whether the variables were normally distributed. The Wilcoxon signed-rank test was used for nonparametric dependent samples. Student's t-test was used to compare independent parametric groups. A p-value <0.05 was considered significant. Ethics committee approval was obtained from the Sakarya University Ethics Committee and the Ministry of Health, General Directorate of Health Services.

RESULTS

The distribution of patients before the pandemic by gender was 53.1% male and 46.9% female; it was 61.6% male and 38.4% female during the pandemic. The mean age of the patients undergoing emergency surgery was 54.72 ± 3.65 years before the pandemic and 38.54 ± 2.32 years during the pandemic ($p < 0.05$). A total of 114,473 patients were admitted to the emergency departments of all branches before the pandemic, and 46,006 were admitted during the pandemic period. During the 2 months before the pandemic, 290 emergency surgeries were performed, while during the acute pandemic period, 164 emergency operations were performed during the same time interval ($p = 0.012$) (Table 1). Surgery during the pre-pandemic period was performed mostly for acute appendicitis (44.48%) followed by other operations (15.51%), strangulated hernia (10.35%), acute cholecystitis (9.66%), tumor ileus (7.25%), non-tumor ileus (5.51%), perforation (4.82%), and trauma-related (2.42%) surgeries (Figure 1). Acute appendicitis (57.32%) was the most common reason for a surgical procedure during the acute phase of the pandemic, followed by other operations (11.58%), acute cholecystitis (11.54%), non-tumor ileus (6.7%), strangulated hernia (4.87%), tumor ileus (3.67%), perforations (3.1%), and trauma-related surgeries (1.22%) (Figure 2).

Cases	Before Pandemic	During Pandemic	Rate of change
Acute Appendicitis	129	94	-27%
Acute Cholecystitis	28	19	-32%
Strangulated Hernia	30	8	-73%
Trauma	7	2	-71%
Tumor Ileus	21	6	-71%
Non-Tumor Ileus	16	11	-31%
Perforation	14	5	-64%
Other	45	19	-58%
Sum	290	164	-43%

Significance: p=0.01

Before Pandemic

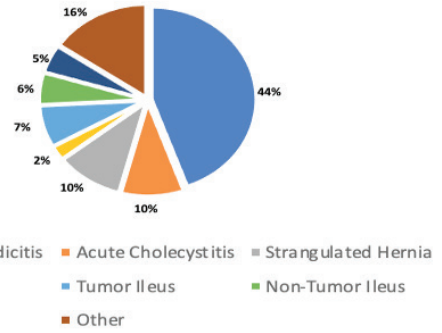


Figure 2: Percentage distribution of cases before pandemic

During Pandemic

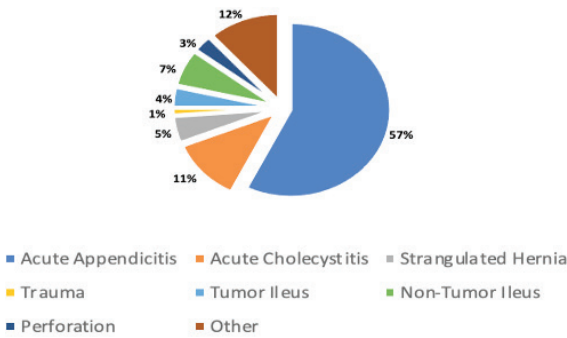


Figure 1: Percentage distribution of cases during pandemic

	Before Pandemic		During Pandemic	
	n	percent	n	percent
Appendicitis	Laparoscopic (119), Open (10)	44.48%	Laparoscopic (34), Open (60)	57.32%
Cholecystitis	Laparoscopic (27), Open (1)	9.66%	Laparoscopic (17), Open (2)	11.54%
Hernia	Umbilical (7), Incisional (8), Inguinal (13), TAPP (2).	10.35%	Umbilical (1), Incisional (0), Inguinal (7), TAPP (0)	4.87%
Trauma	Gunshot (1), Sharp (2), Blunt (splenectomy (3), Diaphragm injury (1))	2.42%	Gunshot (0), Sharp (1), Blunt (splenectomy (1), Diaphragm injury (0))	1.22%
Tumor Ileus	Right Colon (11), Left Colon (4), Rectosigmoid (6)	7.25%	Right Colon (2), Left Colon (3) Rectosigmoid (1)	3.67%
Non-Tumor Ileus	Brid (4), Bezoar (8), Volvulus (4)	5.51%	Brid (9), Bezoar (1), Volvulus (1)	6.7%
Perforation	Gastric (peptic ulcer lap.(7) open (2)), Small intestine (3), Colon (diverticular) (2)	4.82%	Gastric (peptic ulcer open (2)), Small intestine, (0) Colon (diverticular) (1)	3.1%
Other	Mesenteric ischemia (8), Giant goiter (1) Fournier gangrene (3) Perianal abscess (24) Pyloric stenosis (2) Diagnostic laparoscopy (7)	15.51%	Mesenteric ischemia (0) Giant goiter (0) Fournier gangrene (3), Perianal abscess (15), Pyloric stenosis (0), Diagnostic laparoscopy (0)	11.58%
Sum	290	100%	164	100%

TAPP: Trans-Abdominal Pre-Peritoneal Lap: laparoscopy

DISCUSSION

The COVID 19 outbreak is an unprecedented health problem, and healthcare systems did not initially realize the large number of resources needed for this unexpected situation. Medical staff and equipment were promptly focused on the rapid spread of the epidemic and the necessity for hospitalization. Several centers in our country suspended elective surgical procedures, as did the rest of the world. Priority was given to patients who required cancer surgery and surgeries that could not be postponed. Covid-19 has also had critical effects on surgery in this province. Our hospital and all of its employees were commissioned for the pandemic, as it is the only third-level health facility in our city. Emergency surgical cases are normally carried out at second-level private and public hospitals and all deferrable elective cases were postponed. Outflow from the province was prohibited by the Ministry of Health.

Emergency surgical procedures were commenced under extreme conditions and with differences in approach. Emergency surgical interventions were performed on COVID-19 patients, with all precautions undertaken according to the guidelines.⁹ The number of admissions to emergency departments decreased as did the number of cases requiring emergency surgery.^{10,11} We have experienced a significant decrease in the number of admissions to the emergency department during the pandemic (Table 1). The reasons include the curfew restriction recommended by the Ministry of Health and the fact that patients would rather not visit the hospital for complaints to avoid infection with the virus.

Cases requiring urgent surgical intervention were generally reduced.^{12,13} Although both national and international centers have addressed this issue, no study has explained the reason. There was a marked reduction in all emergency surgery indications in our city. While there may be a rational explanation for the decrease in some diseases due to the pandemic, it does not explain the decrease in other surgical cases. The decrease in the numbers of acute

appendicitis and acute cholecystitis cases may have been affected by the change in dietary habits caused by the ban on leaving home. Similarly, as non-operative management^{14,15} of such cases may be possible, medical follow-up may be favored by physicians during the acute phase of the pandemic. Similarly, social isolation and a lack of mobility are among the factors for a reduction in the number of incarcerated hernia and trauma cases (vehicle, inside or outside injuries, gunshot wounds, cutting, and penetrating mechanism injuries). However, Valderrama et al. reported an increase in the number of strangulated inguinal hernia cases during the pandemic.¹³ The limitations and changes in life habits mentioned above may have caused a decrease in the incidence rates of non-tumor ileus. Nevertheless, it does not explain the dramatic decrease in the frequency of incidence of tumor-related intestinal obstructions and mesenteric ischemia following a few restrictions on social life. Some hypotheses can be proposed. These disease groups may have been infected with COVID 19, and their underlying and progressive diseases may have exacerbated COVID 19. Therefore, they may have been lost without being diagnosed with an underlying pathology. Furthermore, patients may have been unable to present at a hospital, so they attempted to solve their medical problems, and undesired outcomes may have been encountered. Nevertheless, the decrease in the number of cases requiring emergency surgery was statistically significant.

One of the limitations of our study is that of evaluating data from a single city. More detailed epidemiological studies should be carried out to investigate the reasons for the decrease in the number of patients. However, our study will be an important resource for similar studies to be carried out in the future.

CONCLUSION

The COVID 19 pandemic has affected all health systems in unexpected and unpredictable ways. As a result of a decreased number of cases, noted above, it may be that an increased number of acute and complex abdominal problems

may present to emergency services soon. Therefore, we think that we should be well organized for the diagnosis and treatment of emergency general surgery cases in the second and perhaps the third wave of the pandemic. We believe that the studies to be carried out worldwide regarding this issue will have benefits.

Availability of Data And Materials

There is no additional data available to share with the readers.

The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Acknowledgements

None

Funding

None

Contributions

BM: design, data collection, data analysis, interpretation, writing and revision. EG, ED, ZB: Data collection, data interpretation, and revision. BK, FC: Data analysis, interpretation, and writing. FA: Study design, interpretation and revision. ATH, AM, MA, UCD, SC, OY, MS, ZK: data collection, data interpretation, and revision. All authors read and approved the final manuscript.

Ethics approval and consent to participate

Sakarya University Ethics Committee has approved this research project. 71522473/050.01.04/280

Competing interests

The authors have no conflicts of interest. The authors are responsible for the content of the paper.

References

1. Li X, Cui W, Zhang F. Who Was the First Doctor to Report the COVID-19 Outbreak in Wuhan, China? *J Nucl Med.* 2020;61(6):782-83.
2. N. Zhu et al. China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. *N Engl J Med.* 2020;382(8):727-33.
3. American College of Surgeons Committee on Trauma. Maintaining Trauma Center Access and Care during the COVID-19 Pandemic: Guidance Document for Trauma Medical Directors. March 17, 2020; <https://www.facs.org/covid-19/clinical-guidance/maintaining-access>.
4. European Association for Endoscopic Surgery. EAES and SAGES Recommendations Regarding Surgical Response To Covid-19 Crisis. *Eur Assoc Endosc Surg Guidel.* 2020; <https://www.sages.org/recommendationssurgical-response-covid-19/>.
5. Çolakoğlu MK, Öter V, Bostancı EB, Özmen MM, Sarıbeyoğlu K. Surgical management of digestive system cancers during the coronavirus disease 2019 pandemic: review of general suggestions. *Turk J Surg* 2020; 36 (2): 121-31.
6. Tao KX, Zhang BX, Zhang P, Zhu P, Wang GB, Chen XP. Recommendations for general surgery clinical practice in novel coronavirus pneumonia situation. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* 2020; 58(3):170-77.
7. American College of Surgeons. COVID-19 : Recommendations for Management of Elective Surgical Procedures. American College of Surgeons. 2020. <https://www.facs.org/about-ac/s/covid-19/information-for-surgeons>.
8. Sezer A, Cicin İ, Karadeniz Çakmak G, Özkan Gürdal S, Başaran G, Oyan B et al. Turkish national consensus on breast cancer management during temporary state of emergency due to COVID-19 outbreak. *Turk J Surg.* 2020;36(2):147–63.
9. Moletta L, Pierobon ES, Capovilla G, Costantini M, Salvador R, Merigliano S, et al. International guidelines and recommendations for surgery during Covid-19 pandemic: A Systematic Review. *Int J Surg.* 2020;79:180-88.
10. Patrìti A, Eugeni E, Guerra F. What happened to surgical emergencies in the era of COVID-19 outbreak? Considerations of surgeons working in an Italian COVID-19 red zone. *Updates Surg.* 2020;72(2):309-10.
11. Berardi G, Levi Sandri GB, Colasanti M, Ettorre GM. Readaptation of surgical practice during COVID-19 outbreak: what has been done, what is missing and what to expect. *Br J Surg.* 2020;107(8):e251.
12. Patrìti A, Baiocchi GL, Catena F, Marini P, Catarci M, Beatrice DV, et al. Emergency general surgery in Italy during the COVID-19 outbreak: First survey from the real life. *World J Emerg Surg.* 2020;15(1):36.
13. Cano-Valderrama O, Morales X, Ferrigni CJ, Martín-Antona E, Turrado V, García A, et al. Reduction in emergency surgery activity during COVID-19 pandemic in three Spanish hospitals. *Br J Surg.* 2020;107(8):e239.
14. Podda M, Gerardi C, Cillara N, Fearnhead N, Gomes CA, Birindelli A, et al. Antibiotic treatment and appendectomy for uncomplicated acute appendicitis in adults and children: A systematic review and meta-analysis. *Ann Surg.* 2019;270(6):1028-40.
15. Di Saverio S, Sibilio A, Giorgini E, Biscardi A, Villani S, Coccolini F, et al. The NOTA study (non operative treatment for acute appendicitis): Prospective study on the efficacy and safety of antibiotics (amoxicillin and clavulanic acid) for treating patients with right lower quadrant abdominal pain and long-term follow-up of conservatively treated suspected appendicitis. *Ann Surg.* 2014;260(1):109-17.



Investigation of The Relationship Between Pelvic Girdle Pain and Interpubic Distance

Pelvik Halka Ağrısı ile İnterpubik Mesafe Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

Elif Terzi¹, Özgür Kaya²

¹ Dept. of Gynecology And Obstetrics, Private Lokman Hekim Hospital, Ankara, Turkey

² Dept. of Orthopedics and Traumatology, Private Lokman Hekim Hospital, Ankara, Turkey

ORCID ID: Elif Terzi <https://orcid.org/0000-0001-9809-0494>, Özgür Kaya <https://orcid.org/0000-0003-2033-9020>

***Sorumlu Yazar / Corresponding Author:** Dr. Özgür Kaya, e-posta / e-mail: dr.ozgurkaya@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 28-02-2021

Kabul Tarihi / Accepted: 31-03-2021

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2021

Terzi E., Kaya Ö. Investigation Of The Relationship Between Pelvic Ring Pain And Interpubic Distance, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2021;5(1):71-77

Abstract

Introduction and objective

To show that USG, which is used in routine pregnancy examination, can be useful in the diagnosis of pelvic girdle pain.

Materials and Methods

In our study, the interpubic distance width was measured with USG in 287 patients who had routine pregnancy control in addition to their normal examinations. Necessary clinical tests were performed by orthopedics and traumatology specialist in order to clarify the diagnosis of pelvic girdle pain. The results were noted and IBM SPSS Statistics 20 program was used for evaluations and $p < 0.05$ was accepted as the statistical significance limit.

Results

it was observed that the width of the interpubic distance increased in patients with pelvic girdle pain, and the interpubic distance did not exceed 10 mm in patients without pelvic girdle pain.

Conclusion

In our study, a significant relationship was found between pelvic girdle pain and interpubic distance widening. We believe that it is useful to measure the interpubic distance with USG in the diagnosis of pelvic girdle pain.

Keywords

pregnancy, pelvic pain, low back pain, ultrasonography

Özet

Amaç Rutin gebe muayenesinde kullanılan USG nin pelvik halka ağrısı tanısında fayda sağlayabileceğini göstermektir.

Materyal ve Metod

Çalışmamızda rutin gebelik kontrolü yapılan 287 hastanın normal muayenelerine ek olarak USG ile interpubik mesafe genişliği ölçüldü. Pelvik halka ağrısı tanısı netleştirilmesi açısından Ortopedi ve Travmatoloji Uzmanı tarafından gerekli klinik testleri yapıldı. Sonuçlar not edildi ve değerlendirilmelerde IBM SPSS Statistics 20 programı kullanıldı ve istatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p < 0,05$ kabul edildi.

Bulgular

Pelvik halka ağrısı bulunan hastalarda interpubik mesafe genişliğinin arttığı, pelvik halka ağrısı olmayan hastalarda interpubik mesafenin 10mm üzerine çıkmadığı gözlemlendi.

Sonuç

Çalışmamızda pelvik halka ağrısı ile interpubik mesafe genişlemesi arasında anlamlı ilişki saptanmış olup; pelvik halka ağrısı tanısında usg ile interpubik mesafe ölçümü yararlı olduğu kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler

gebelik, pelvik ağrı, bel ağrısı, ultrasonografi

INTRODUCTION

During pregnancy, which is a normal physiological process, the musculoskeletal system is affected as well as all systems of the body. Therefore, pain that can be seen during pregnancy and can sometimes be permanent after birth occurs, and it may affect the patient's quality of life and daily activities^{1,2}.

Low back pain and pelvic area pain are the most common musculoskeletal disorders during pregnancy. In some studies, it has been stated that it can be seen up to 80% during pregnancy³. Although low back pain and pelvic girdle pain during pregnancy are usually intertwined situations, they should be distinguished from each other.

Pelvic girdle means that symphyseal joint, sacroiliac joint, iliac bone and sacrum. Pelvic girdle pain is defined as the pain that can spread to the thighs and buttocks; felt in all pelvic bones, including sacroiliac joint, gluteal folds and especially the posterior iliac crest⁴. This terminology proposed for pelvic musculoskeletal pain exclude gynecological and/or urological disorders. It causes restrictions in activities such as standing, walking and sitting. It has been reported that its incidence in pregnant women is up to 20%⁴. It occurs during pregnancy can continue after birth. Among the etiology of pelvic girdle pain; hormonal, biomechanical, traumatic, genetic and degenerative factors can play a role^{5,6}.

Pelvic girdle pain is a condition that is generally ignored and not treated by clinicians and can cause permanent postpartum problems⁷. It has been shown that identification and treatment in early pregnancy is beneficial and reduces workforce loss⁸. Pelvic girdle pain should generally be done with a multidisciplinary team. Treatment of pelvic girdle pain should usually be done with a multidisciplinary team. The treatment protocol should include activity modification, prevention of acute exacerbations, orthoses for pelvic and lumbar support, exercise, and physiotherapy⁹.

Since the pregnant, fetus and pregnancy should be protected, imaging methods can be used limitedly in the diagnosis of pelvic girdle pain as in other diseases in pregnancy. Anterior posterior radiography of the pelvis helps to reveal symphyseal dissociation and degeneration and cortical irregularities, but it is not recommended because of the effect of ionizing radiation on the fetus. MR imaging can be recommended during pregnancy to identify bone marrow and soft tissue changes. Ultrasonography can be used to detect the disease and to follow its progression⁶.

In our study, in patients diagnosed with pelvic girdle pain, the interpubic distance relationship was evaluated with USG, and it was shown how routine ultrasonography can help in the diagnosis of Pelvic Girdle Pain during pregnancy follow-up.

MATERIAL and METHOD

The study was approved by the Lokman Hekim University Ethics Committee (2020/063-2020059) on 21/08/2020 and it was carried out in accordance with the Helsinki Declaration of Principles. 287 patients who applied to Gynecology and Obstetrics Clinic for routine pregnancy follow-up were included in the study. All patients included in the study accepted by signing the informed consent form. The patients included in the study were between 6-40 weeks of gestation and their ages between 18-39 years. Patients with previous pelvic or lumbar trauma or surgery were excluded.

Routine USG was performed by the obstetrician for each patient included in the study, and then interpubic distances were measured with the same USG device. Intertopic distance width was measured from the upper corners of the symphyseal joint as described by Björklund et al.¹⁰ (Figure 1,2). Gravity-parity, age, gestational week and interpubic distance measurements of the patients were noted. Patients with low back and hip pain were referred to an Orthopedics and Traumatology specialist in order to distinguish it from pelvic girdle pain.

The patients were evaluated by an Orthopedics and Traumatology specialist. The diagnosis of pelvic girdle pain was clarified with the clinical tests described by Albert et al.¹¹ and pain was accepted as positive. The diagnosis of pelvic girdle pain was made in the patients whose posterior pelvic provocation pain test that has high specificity, Patrick's Fabere test, palpation of the pubic symphysis, Trendelenburg test and Mennell's test were positive.



Figure 1. 32 weeks pregnant woman without pelvic pain; the interpubic distance was measured as 7mm.



Figure 2. 29 weeks pregnant woman with pelvic pain; the interpubic distance was measured as 11.1mm.

Statistical Analysis

Mean Standard Deviation, Median, Minimum, Maximum

values were given in descriptive statistics for continuous data, and number and percentage values were given for discrete data. Kolmogorov-Smirnov test was used to examine the conformity of the data to normal distribution.

Mann Whitney U test was used to compare the pain status with continuous data.

Spearman Correlation coefficient was used to examine the relationships between continuous data.

Chi-square test was used for group comparisons (cross tables) of nominal variables.

IBM SPSS Statistics 20 program was used for evaluations and $p < 0.05$ was accepted as the statistical significance limit.

RESULTS

The ages of 287 pregnant women included in the study ranged from 18 to 40 years of age and the average age was found as 26.13 ± 5.02 . The median gestational week of the pregnant women (Median) was 26 (6-40) weeks and the median gestational number was 2 (1-4). The mean interpubic distance of all pregnant women included in the study was 6.49 ± 1.95 (Table 1).

Table 1. Pregnant women's descriptive statistics of measurements of the gestational week, number of pregnancies, age and interpubic distance		
	Mean±SD	Median (Min-Max)
Age	26.13±5.02	26 (18-39)
Gestational week	24.28±9.88	26 (6-40)
Number of pregnancies	1.63±0.72	2 (1-4)
Intertubic distance	6.49±1.95	6.1 (3-12.7)

Pelvic girdle pain was detected in 18.5% of the pregnant women included in the study (Table 2).

	N	%
Pelvic girdle pain		
NO	234	81.5
YES	53	18.5

There was no difference between the age values of pregnant women with and without pelvic girdle pain ($p > 0.05$). The median gestational week of those without pelvic girdle pain was 24 (6-40), and 28 (8-38) of those with pain. There was a difference between the gestational weeks of the patients with and without pain ($p < 0.05$). The gestational weeks of those with pain were significantly higher than those without pain.

There was no difference between the number of pregnancies with and without pelvic girdle pain ($p > 0.05$).

The mean interpubic distance was found to be 5.80 ± 1.23 in those without pelvic girdle pain, and 9.53 ± 1.63 in pregnant women with pain. There was a difference between the Intertubic distance values of those with and without pain ($p < 0.001$). Intertubic distance values of those with pain were significantly greater than those without pain (Table 3).

There was a difference between the rates of interpubic distance values of being < 6 mm, 6-10 mm and > 10 mm in

pregnant women with and without pain ($p < 0.001$).

Intertubic distance in 44.7% of the pregnant women included in the study was less than 6 mm, in 44.6% of them was between 6-10 mm and in 7.7% of them was over 10 mm (Table 4).

The rates of interpubic distance values being over 10 mm in pregnant women with pain were significantly higher than those without pain, and the rates being below 6 mm were significantly lower (Table 5).

There was no correlation between interpubic distance (mm) values and age and pregnancy numbers ($p > 0.05$).

A positive correlation was found between the Intertubic distance values of the pregnant women and the weeks of gestation ($r = 0.427$ $p < 0.001$). As the week of gestation increases, the Intertubic distance values also increase (Table 6).

Pelvic Girdle Pain	NO (n=234)		YES (n=53)		P
	Mean.±S.D	Median (Min-Max)	Mean.±S.D	Median (Min-Max)	
Age	26.16±5.17	26 (18-39)	26.00±4.34	26 (19-37)	0.952
Gestational Week	23.62±10.05	24 (6-40)	27.15±8.82	28 (8-38)	0.027
Number of Pregnancies	1.65±0.72	2 (1-4)	1.53±0.67	1 (1-4)	0.270
Intertubic distance	5.80±1.23	5.8 (3-12.7)	9.53±1.63	9.7 (5.4-12.6)	<0.001

Table 4. Distribution of the rates of interpubic distance values being <6 mm, 6-10 mm and >10 in pregnant women

	n	%
Intertubic distance		
<6 mm	137	44.7
6-10 mm	128	44.6
>10 mm	22	7.7

Table 5. Comparison of the rates of interpubic distance values of <6 mm, 6-10 mm and >10 in pregnant women with and without pelvic girdle pain

Pelvic Girdle Pain	NO (n=234)		YES (n=53)		p
	N	%	n	%	
Intertubik distance					
<6 mm	136	58.1	1	1.9	<0.001
6-10 mm	96	41	32	60.4	
>10 mm	2	0.9	20	37.7	

Table 6. Relationship between Intertubic distance values of pregnant women and gestational week, number of pregnancies and age values (correlation)

	Intertubic distance (mm)	
	R	P
Age	-0.037	0.531
Gestational week	0.427	0.000
Number of pregnancies	-0.057	0.338

DISCUSSION

Pelvic girdle pain is a musculoskeletal disease in pregnancy. Analgesics, physiotherapy, pelvic support orthosis, acupuncture can be used in its treatment. Clinical tests are mostly used in the diagnosis phase. Because, imaging methods cannot be used sufficiently for the continuation of healthy pregnancy and protection of fetus health.

In our study, we investigated how effective the USG, which is used routinely in pregnancy follow-up, can be used in the definition of pelvic girdle pain. Therefore, we aimed to detect patients with pelvic girdle pain and having enlargement of the interpubic distance on USG imaging. In patients applying for pregnancy control, after routine examinations, interpubic distance was measured with USG, pain complaints were questioned, and the diagnosis of pel-

vic girdle pain was clarified by an Orthopedics and Traumatology specialist.

Among the mechanisms of occurrence of pelvic girdle pain, relaxation in the pelvic joints caused by the relaxin hormone secreted during pregnancy is shown as the main reason in most studies^{12,13}. We thought that in patients with pelvic girdle pain, the interpubic distance due to relaxation in the symphyseal joint can be measured as wider. Previously, Björklund et al.¹⁴ have found that pelvic girdle pain and symphyseal distension were significantly associated in their study in 2000. In their study conducted in 2001, Schollner et al.¹⁵ has determined the mean interpubic distance as 4mm in non-pregnant patients, 6.3mm in pregnant women without symphyseal pain and 9.5mm and more in pregnant women with symptomatic symphyseal pain.

In our study, interpubic distance was measured by ultrasound in all patients who applied for routine pregnancy follow-up, and the diagnosis of pelvic girdle pain in patients who described pain was clarified by clinical tests. 18.5% of the patients included in the study had pelvic girdle pain. When the literature was searched, it was observed that this rate was in line with the mean and this shows that the selected clinical tests are appropriate. The interpubic distance was less than 6mm in only 1.9% of patients with pelvic girdle pain. The interpubic distance was greater than 10 mm in only 0.9% of the patients without pain. In our study, we did not find a significant relationship between the number of pregnancies and the interpubic distance. We found that as the week of gestation increased, the interpubic distance also increased. Therefore, we think that the width of more than 10 mm in patients without pain is due to the advanced gestational week. This thought is also supported by the study conducted by Bahlmann et al.¹⁶ in 1993, since they detect of 3mm physiological enlargement in the interpubic distance during normal pregnancy. The interpubic distance measurement was above 10 mm in 37.7% of the patients with pelvic girdle pain. The

intertopic distance was between 6-10mm in 60.4% of patients with pelvic girdle pain. The fact that the number of cases in our study is high by looking at the studies on pelvic girdle pain and symphyseal joint enlargement makes it worthwhile. In addition, the evaluation of each of the USG measurements and clinical tests by the same practitioners to all patients provided standardization. However, we believe that when evaluating the symphyseal joint in pelvic girdle pain, in addition to the width of the intertopic joint distance, the evaluation by elastography in order to detect joint degeneration will contribute.

It was observed that patients with pelvic girdle pain had a significant widening in intertopic distance measurements. We observed a regression in complaints in patients with pelvic girdle pain when conservative treatment such as pelvic belt was applied. Therefore, we believe that measuring intertopic distance with ultrasound is useful in the diagnosis of pelvic girdle pain.

In our study, the relationship between pelvic girdle pain and increased intertopic distance width in ultrasound measurement was found to be significant. Thus, we believe that measuring intertopic distance with USG accompanied by clinical tests will help in the diagnosis of pelvic girdle pain. Clarification of the diagnosis of pelvic girdle pain will enable more accurate treatment selection for the patient and will prevent a decrease in workforce and quality of life.

DECLARATION

The authors warrant that they do not have any financial and personal relationships with other people, or organizations, that could in appropriately influence (bias) this study. And no conflict of interest.

References

1. Sumilo D, Kurinczuk JJ, Redshaw ME, Gray R. Prevalence and impact of disability in women who had recently given birth in the UK. *BMC Pregnancy Childbirth* 2012;12:31. <https://doi.org/10.1186/1471-2393-12-31>
2. Paul JA, van Dijk FJ, Frings-Dresen MH. Work load and musculoskeletal complaints during pregnancy. *Scand J Work Environ Health* 1994;20:153-9. doi:10.5271/sjweh.1414
3. Clinton SC, Newell A, Downey PA, Ferreira K. Pelvic girdle pain in the antepartum population. *J Womens Health Phys Therap* 2017;41(2):102-25.
4. Vleeming A, Albert HB, Östgaard HC, Sturesson B, Stuge B. European guidelines on the diagnosis and treatment of pelvic girdle pain. *Eur Spine J* 2018;17(6):794-819. doi:10.1007/s00586-008-0602-4
5. Bhardwaj A, Nagandla K. Musculoskeletal symptoms and orthopaedic complications in pregnancy: pathophysiology, diagnostic approaches and modern management. *Postgrad Med J* 2014;90(1066):450-60. doi:10.1136/postgradmedj-2013-132377.
6. Kanakaris NK, Roberts CS, Giannoudis PV. Pregnancy-related pelvic girdle pain: an update. *BMC Med* 2011;9:15. doi:10.1186/1741-7015-9-15.
7. Pierce H, Homer CSE, Dahlen HG, King J. Pregnancy-related lumbopelvic pain: listening to Australian women. *Nurs Res Pract* 2012;2012:387428. doi:10.1155/2012/387428.
8. Pennick, V, Liddle, SD. Interventions for preventing and treating pelvic and back pain in pregnancy. *Cochrane Database of Syst Rev* 2013;(8):CD001139. doi:10.1002/14651858.cd001139.pub3
9. Walters C, West S, Nippita TA. Pelvic girdle pain in pregnancy. *Aust J Gen Pract* 2018;47(7):439-43. doi:10.31128/AJGP-01-18-4467.
10. Björklund K, Bergström S, Lindgren PG, Ulmsten U. Ultrasonographic measurement of the symphysis pubis: a potential method of studying symphyseolysis in pregnancy. *Gynecol Obstet Invest* 1996;42(3):151-3. doi:10.1159/000291932.
11. Albert H, Godskesen M, Westergaard J. Evaluation of clinical tests used in classification procedures in pregnancy-related pelvic joint pain. *Eur Spine J* 2000;9(2):161-6. doi:10.1007/s005860050228.
12. Kristiansson P, Svärdsudd K, von Schoultz B. Serum relaxin, symphyseal pain, and back pain during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175(5):1342-7. doi:10.1016/s0002-9378(96)70052-2
13. MacLennan AH. The role of the hormone relaxin in human reproduction and pelvic girdle relaxation. *Scand J Rheumatol Suppl* 1991;88:7-15.
14. Björklund K, Bergström S, Nordström ML, Ulmsten U. Symphyseal distention in relation to serum relaxin levels and pelvic pain in pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000;79(4):269-75. doi:10.1080/j.1600-0412.2000.079004269.x.
15. Schoellner C, Szöke N, Siegburg K. Pregnancy-associated symphysis damage from the orthopedic viewpoint--studies of changes of the pubic symphysis in pregnancy, labor and post partum. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 2001;139(5):458-62. doi:10.1055/s-2001-17991.
16. Bahlmann F, Merz E, Macchiella D, Weber G. Ultrasound imaging of the symphysis fissure for evaluating damage to the symphysis in pregnancy and postpartum. *Z Geburtshilfe-Perinatol* 1993;197(1):27-30.



COVID-19 Pandemisi Sırasında Canlı Donör Böbrek Nakli: Tek Merkez Deneyimi

Living Donor Kidney Transplantation During The COVID-19 Pandemic: A Single Center Experience

  Necattin Fırat¹,  Emrah Akın²,  Hamad Dheir³,  Fehmi Çelebi¹,  Enes Sarıgedik⁴,
 Merve Yiğit²,  Fatih Altıntoprak¹

¹ Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi-Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye

² Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi- Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, Sakarya, Türkiye

³ Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi- Nefroloji Bilim Dalı, Sakarya, Türkiye

⁴ Düzce Atatürk Devlet Hastanesi- Çocuk Psikiyatrisi, Düzce, Türkiye

ORCID ID: Necattin Fırat <https://Orcid.Org/0000-0003-0684-8187>, Emrah Akın <https://Orcid.Org/0000-0003-0224-3834>

Hamad Dheir <https://Orcid.Org/0000-0002-3569-6269>, Fehmi Çelebi <https://Orcid.Org/0000-0003-1157-8556>

Enes Sarıgedik <https://Orcid.Org/0000-0002-9294-1152>, Merve Yiğit <https://Orcid.Org/0000-0001-5217-9629>,

Fatih Altıntoprak <https://Orcid.Org/0000-0002-3939-8293>

***Sorumlu Yazar / Corresponding Author:** Dr. Öğr. Gör. Necattin Fırat, **e-posta / e-mail:** necattinf@sakarya.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 10-03-2021

Kabul Tarihi / Accepted: 31-03-2021

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2021

Fırat N., Akın E., Dheir H., et al. COVID-19 Pandemisi Sırasında Canlı Donör Böbrek Nakli: Tek Merkez Deneyimi, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2021;5(1):78-84

Özet

Amaç COVID-19 pandemisi nedeniyle global düzeyde pek çok merkezde böbrek nakli operasyonları ya durdurulmuş yada seçilmiş hasta gruplarında yapılmak üzere kısıtlamaya gidilmiştir. Böbrek nakil süreci, cerrahisi ve postoperatif dönemde uygulanan immünosüpresyon tedavisi ile birlikte değerlendirildiğinde karmaşık ve yakın takip gerektiren bir uygulamadır. Çalışmamızın amacı; pandemi sürecinde yaptığımız nakil operasyonlarını, hastaların operasyon öncesi hazırlık, operasyon sonrası takip süreçlerini ve uyguladığımız tedavi yaklaşımlarını sunmaktır.

Yöntem Pandemi süresince nakil merkezimizde gerçekleştirilen böbrek transplantasyonu operasyonları retrospektif olarak değerlendirildi. Alıcı ve vericilerin demografik özellikleri, greft fonksiyon testleri, COVID-19 PCR sonuçları, HLA uyumları, sıcak-soğuk iskemik süreleri ve nakil sonrası görülen komplikasyonları kaydedildi. İndüksiyon tedavisi olarak hastalar antitümör globülin (ATG) uygulanan Grup 1 ve Basiliximab uygulananlar Grup 2 olmak üzere iki gruba ayrıldı. Gruplar preoperatif ve postoperatif 1. Gün 7. Gün ve 1. Ay serum kreatinin düzeyleri, ATG kümülatif düzeyi, HLA uyumları açısından değerlendirildi.

Bulgular Merkezimizde Mart 2020 Kasım 2020 tarihleri arasında 22 böbrek nakli operasyonu gerçekleştirildi. 21 hastaya canlı vericili böbrek nakli uygulandı. Hastaların 7'si kadın 14'ü erkekti. Hastaların ortalama yaşı 41,95±15,11 yıl ve vücut kitle indeksi 26,37±5,04 kg/m² idi. İndüksiyon tedavisi olarak hastaların 7'sine ATG, 13'üne basiliximab uygulandı. Tam uyum olan bir hastaya indüksiyon tedavisi uygulanmadı. Erken dönemde akut rejeksiyon veya herhangi bir nedenle greft disfonksiyonu açısından istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı fark yoktu (p>0.05). Ameliyat sonrası 6 aylık dönem içerisinde 3 hastada COVID-19 enfeksiyonu gelişti.

Sonuç Pandemi döneminde bulaş sıklığının azaldığı dönemlerde yakın takip ve sıkı izolasyon tedbirleri altında deneyimli merkezlerde böbrek nakli operasyonları düşük yoğunlukta yapılabilir.

Anahtar Kelimeler Böbrek nakli, kronik böbrek yetmezliği, laparoskopik donör nefrektomi, COVID-19, indüksiyon tedavisi

Özet

Objective Due to the COVID-19 pandemic, renal transplantation operations were either stopped or restricted to be performed in selected patient groups in many centers globally. When evaluated together with the kidney transplantation process surgery and immunosuppression therapy applied in the postoperative period, it is a complex procedure, and requires close follow-up. The purpose of our study; to present the renal transplantation operations that performed during the pandemic process, the pre-operative preparation of the patients, the post-operative follow-up processes, and applied treatment approaches.

Method Renal transplantation operations which are performed in our transplant center during the pandemic were evaluated retrospectively. The demographic characteristics of the recipients and donors, graft function tests, COVID-19 PCR results, HLA matches, hot-cold ischemia times and post-transplantation complications were recorded. As induction therapy, the patients were divided into two groups as Group 1 with antithymuside globulin (ATG), and Group 2 with Basiliximab. The groups were evaluated in terms of preoperative and postoperative day 1, day 7, and 1st month serum creatinine levels, ATG cumulative level and HLA compatibility.

Results Twenty-two kidney transplantations were performed in our center between March 2020 and November 2020. Living donor kidney transplantation was performed in 21 patients. There were 7 female and 14 were male patients. The mean age of the patients was 41.95 ± 15.11 years and the body mass index was 26.37 ± 5.04 kg / m². As induction therapy, ATG was applied to 7 patients and basiliximab to 13 patients. Induction therapy was not applied to one patient with full compliance. There was no statistically significant difference between the two groups in terms of early acute rejection or graft dysfunction for any reason (p > 0.05). COVID-19 infection developed in 3 patients within a 6-month postoperative period.

Conclusion During the pandemic period when the frequency of transmission is decreasing kidney transplantation operations can be performed at low intensity in experienced centers under close follow-up and strict isolation measures during periods

Keywords Kidney transplantation, chronic renal disease, laparoscopic donor nephrectomy, COVID-19, induction therapy

INTRODUCTION

Böbrek nakli (BN), son dönem böbrek hastalığı durumunda seçilebilecek en iyi renal replasman tedavi yöntemidir ve başarılı bir BN, hastanın sağ kalımı ve yaşam kalitesini önemli ölçüde arttırmaktadır¹. Ancak bu hastalar ömür boyu immünyosupresif ilaç kullanmakta ve enfeksiyonlara karşı daha duyarlı hale gelmektedir. İmmünyosupresyon olarak, böbrek alıcılarına nakil sırasında indüksiyon tedavisi (antitimosit globülin (ATG), basiliksimab veya alemtuzumab) ve ardından prednizon, kalsinörin inhibitörü (takrolimus veya siklosporin) veya mTOR inhibitörü (sirolimus veya everolimus) ve antimetabolitten (mikofenolat mofetil, azatioprin) oluşan bir idame immünyosupresif tedavi uygulanır². Uzun süreli immünyosupresyon, artmış enfeksiyon komplikasyonları riski ile ilişkilidir ve transplant alıcıları özellikle solunumsal RNA virüslerinden kaynaklanan enfeksiyonlara daha duyarlıdır.³

Solunumsal RNA virüsü olan koronavirüs, 2019 yılının sonunda Çin'in Wuhan kentinde ciddi akut solunum yetmezliği yapan salgına neden oldu⁴. Hızla ilerleyen salgın 11 Mart 2020'de Dünya Sağlık Örgütü tarafından pandemi olarak kabul edildi⁴. Hastalığın yaygın semptomları arasında ateş yüksekliği, öksürük, nefes darlığı ve miyalji yer alırken halsizlik, baş ağrısı, koku ve tat duyu kaybı, ishal ve baş dönmesi gibi semptomlarda bildirilmiştir⁵. Enfeksiyon, sıklıkla semptomatik hastalar tarafından öksürme ve hapsizme sırasında üretilen büyük damlacıklar yoluyla bulaşıyordu, ancak semptomsuz kişilerden veya semptomların başlamasından önce de bulaş görülebiliyordu⁶. Hastalığa bağlı ölüm oranlarının ileri yaş, erkek cinsiyeti, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, kronik akciğer hastalıkları, hipertansiyon ve kanser gibi komorbid durumlar varlığında çok daha yükseldiği bildirilmiştir⁷. Benzer şekilde böbrek alıcılarında da genel popülasyona göre daha yüksek ölüm oranı olduğu bildirildi⁸. Ülkemizde ilk pandemi vakaları mart ayında görülmeye başlandı. Nisan ayı itibarı ile ülke genelinde sağlık sistemi ile ilgi olarak planlı operasyonlar durduruldu ve bazı hastaneler COVID hastalarına bakmak üzere yeniden dizayn edildi. Hastalı-

ğın kontrol altına alınmasıyla birlikte haziran ayı sonunda pandemiye karşı koruyucu önlemler alınarak elektif cerrahi operasyonlar ile birlikte böbrek nakil operasyonları da başladı. Hasta sayılarının artmaya başlamasıyla birlikte kasım ayında nakil operasyonları tekrar durduruldu.

Bu çalışmanın amacı, pandemi sürecinde yapılan böbrek nakil operasyonlarını, hastaların operasyon öncesi hazırlık, operasyon sonrası takip süreçlerini ve uygulanan tedavi protokollerini sunmaktır.

MATERYAL ve METOD

Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Böbrek Nakil Merkezinde COVID-19 pandemisi döneminde Mart 2020- Eylül 2020 tarihleri arasında yapılan böbrek nakli operasyonları retrospektif olarak değerlendirildi. Çalışmanın etik onamı Sakarya Üniversitesi Etik kurulundan alınmıştır (Tarih: 15/12/2020, karar no:641). Merkezimizde, bu süre içerisinde özellikle preemtif hastaların nakil operasyonlarına öncelik verildi ve sıkı izolasyon tedbirleri alınarak biri kadavradan nakil olmak üzere 22 böbrek nakli operasyonu gerçekleştirildi. Tüm hastalar nakil öncesi böbrek nakil konseyinde değerlendirildi. Nakil planlanmadan önce alıcı ve verici şüpheli temas yönünden sorgulandı. Hastalara nakil süreci anlatıldı ve pandemi nedeniyle izolasyon kurallarına uymaları gerektiği söylendi. Hasta onamları, pandemi ile ilgili riskler de belirtilerek alındı. Planlanan nakilden bir hafta önce alıcı, verici ve refakatçiye PCR testi yapıldı. PCR testinin negatif gelmesi üzerine alıcı, verici hastanede, refakatçi ise evinde izolasyona tabi tutuldu. Ameliyattan bir gün önce kontrol PCR testinin negatif olmasıyla birlikte nakil operasyonu gerçekleştirildi. Hastaları tedavi eden hastane personeli de izolasyon kurallarına dikkat ederek tedavileri gerçekleştirdi.

Tüm verici ameliyatları laparoskopik olarak gerçekleştirildi. Böbrek iliak alana retroperitoneal olarak yerleştirildi. Renal arter ile eksternal iliak arter arasında ve renal ven ile eksternal iliak ven arasında uç-yan anastomozlar yapıldı. Üreter anastomozu mesaneye (lich-Gregoir üreteroneo-

sistostomi) yapıldı.

Böbrek alıcılarına nakil sırasında indüksiyon tedavisi ve ardından prednizon, kalsinörin inhibitörü ve antimetabolitten oluşan bir idame immünosupresif tedavi uygulandı. Hasta bazı olmakla beraber alıcı ve verici arasında 3 ve daha az HLA uyumsuzluğu olduğunda basiliksimab (aktive T lenfosit yüzeyindeki interlökin 2 reseptör blokörü) 0. ve 4. gün 20 mg intravenöz olarak uygulandı. 3 veya daha fazla HLA uyumsuzluğu olduğunda ATG intravenöz olarak uygulandı. Tüm hastalara antibiyotik profilaksisi için operasyondan bir saat önce 1 gr flk sefazolin sodyum intravenöz olarak uygulandı. Böbrek alıcı ve vericilerin tüm demografik özellikleri ve laboratuvar verileri kaydedildi. Hastaların diyaliz süreleri, primer hastalığı ve komorbid hastalık varlığı, akut dönem cerrahi ve klinik komplikasyonları, hastaneye yatış süreleri, greft fonksiyonları, kümülatif ATG dozu, anastomoz yapılan renal arter ve ven sayısı, sıcak iskemi ve soğuk iskemi süreleri kaydedildi.

İstatistiksel değerlendirme

Çalışmanın istatistiksel analizinde SPSS 26 paket programı kullanılarak sosyo demografik ve klinik verilerin ve tanımlayıcı istatistiklerin sıklığı sayı, dağılım ve yüzdeler olarak hesaplandı. Vaka ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel anlamlılığın tespitinde normal dağılım gösteren sürekli değişkenler bağımsız örneklem t testi ile, normal dağılım göstermeyen değişkenler Mann Witney U testiyle ile karşılaştırılmıştır. %95 (p<0.05) anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir.

SONUÇLAR

Merkezimizde biri kadavra nakil olmak üzere 22 hastaya böbrek nakli yapıldı. Hastaların ortalama yaşı 42,81±15,35 yıl idi. Hastaların %68,2'sı erkek, %31,8'ü kadın idi. Böbrek yetmezliğinin primer nedeni ve hastaların diyaliz durumu tablo-1 de verilmiştir. Hastalarımızın hiçbiri daha önce COVID-19 tanısı almamıştı ve nakil sonrası 1 aylık süre içerisinde hiçbir hastamızda COVID-19 enfeksiyonu gelişmedi. Komorbidite olarak 9 (% 40,9) hastamızda hiper-

tansiyon, 5 (%22,7) hastamızda diyabet vardı. 5 (%22,7) hastaya çift renal arter anastomozu yapıldı.

	Özellik	Sonuç
	Yaş (yıl)*	42,81±15,35
Cinsiyet	Erkek (n,%)	15 (%68,2)
	Kadın (n,%)	7 (%31,8)
Diyaliz durumu	Preemtif (n,%)	16 (%72,7)
	Hemodiyaliz (n,%)	6 (%27,3)
	Diyaliz süresi (ay)**	6 (6-120)
Primer Hastalık	Diyabetes mellitus (n,%)	5 (%22,7)
	Hipertansiyon (n,%)	8 (%36,4)
	Glomerulonefrit (n,%)	2 (%9,1)
	Vur (n,%)	2 (%9,1)
	Polikistik Böbrek Hastalığı (n,%)	2 (%9,1)
	Taş (n,%)	1 (%4,5)
	İdiyopatik (n,%)	2 (%9,1)
Nakil şekli	Kadavra (n,%)	1 (%4,5)
	Canlı (n,%)	21 (%95,5)

* Ortalama ±Standart sapma
** Median (min., max.)

21 (%95,5) hastamıza canlı vericili böbrek nakli yapıldı. Verici ameliyatları laparoskopik olarak yapıldı. Hastaların demografik verileri, sıcak iskemi ve soğuk iskemi süreleri, diyaliz alan ve preemtif hasta sayıları tablo-2 de verilmiştir.

Bir hastamızda tam uyum olduğu için indüksiyon tedavisi uygulanmadı. İndüksiyon tedavisi olarak hastaların immünojenik risklerine göre basiliksimab veya ATG uygulandı. Canlı donör nakil yapılan 20 hastanın HLA uyumu, kümülatif ATG dozu, nakil öncesi ve sonrası serum kreatinin değerleri tablo-3 de verilmiştir.

Bir hastamızda tacrolimusa bağlı rabdomyoliz gelişmesi üzerine idame tedavi olarak mTOR inhibitörüne geçildi. Bu hasta 38 yaşında erkek hasta idi ve postoperatif üçüncü ayda COVID-19 enfeksiyonuna yakalandı. Böbrek alıcısı olan 41 yaşında ve 56 yaşında iki hastamızda ve böbrek

Tablo-2: Canlı donör nakillerde alıcı ve vericilerin cinsiyete göre dağılım özellikleri

		Kadın(mean±SD)	Erkek(mean±SD)	Toplam	P
Böbrek Verici	Sayı (n)	8	13	21	
	Yaş (yıl)*	44,0±13,12	44,85±12,75	44,52±12,57	0,885
	VKİ (kg/m2)*	28,37±5,94	27,8±3,7	28,01±4,54	0,784
	Nakil sonrası ilk 6 ayda covid-19 yakalanan hasta sayısı	0	1	1	
Böbrek alıcı	Sayı	7	14	21	
	Yaş (yıl)*	45,71±14,27	40,07±15,78	41,95±15,11	0,436
	Vki (kg/m2)*	27,43±6,47	25,85±4,35	26,37±5,04	0,513
	Preemtif/diyaliz (n)	5/2	11/3	16/5	0,717
	Sıcak iskemi süresi (saniye)*	179,14±54,87	153,0±40,26	161,71±46,0	0,228
	Soğuk iskemi süresi (dakika)*	71,71±13,35	75,71±13,80	74,38±13,46	0,535
	Nakil sonrası ilk 6 ayda covid-19 yakalanan hasta sayısı	0	3	3	

*Ortalama ±Standart sapma, Mann Witney U

Tablo-3: Canlı donör nakillerde indüksiyon tedavisinin karşılaştırılması

	ATG	Basiliksımab	p
CİNSİYET(E/K) (n)	6/1	7/6	0,136
ATG Kümülatif Doz (mg)*	400(400-700)	-	
HLA-uyumu * (mismatch)	3(3-6)	3(0-5)	0,028
HLA-uyumu* (Haplotip)	1(0-1)	1(0-2)	0,049
Nakil öncesi serum kreatinin (mg/dl)**	7,24±1,69	6,23±1,77	0,258
Nakil sonrası 7. gün serum kreatinin (mg/dl) **	1,30±0,72	1,25±0,38	0,833
Nakil sonrası 1. Ay serum kreatinin(mg/dl) **	1,33±0,40	1,20±0,31	0,428
Nakil sonrası 3. ay serum kreatinin (mg/dl) **	1,26±0,31	1,25±0,29	0,870
Nakil sonrası ilk 6 ayda covid-19 yakalanan hasta sayısı	2	1	

ATG (antitimosit globulin) * Median (min-max) ** Ortalama ±Standart sapma Mann Witney U

vericisi olan 67 yaşında bir hastamızda COVID-19 enfeksiyonu gelişti. COVID-19 enfeksiyonu gelişen böbrek alıcılarında uygulanan immünsüpresif tedavide ilaçların doz azaltılmasına gidildi. Hiçbir hastamızda immünsüpresif ilaçlarda uygulanan doz azaltımına bağlı klinik olarak gözlemlenen akut rejeksiyon oluşmadı.

Nakil ekibimizden bir nefrolog, iki cerrah, 3 ameliyathane hemşiresi ve 2 anestezi uzmanının ikinci pik yaptığı kasım ayından sonra korona virüs hastalığına yakalandı ve 14 günlük istirahatten sonra çalışmaya başladılar.

TARTIŞMA

Çalışmamız, pandemi sırasında uygun hasta popülasyonunda canlıdan böbrek nakli operasyonlarının özel önlemler eşliğinde güvenle yapılabileceğini gösterdi. Hastaların hiçbirinde operasyon öncesi ve operasyon sonrası ilk otuz günlük süre içerisinde COVID-19 ile ilgili sorun yaşanmadı. Nakil güvenliğini sağlamak için COVID-19 yayılma alanlarında verici ve alıcı taraması gereklidir. Mart 2020'nin sonlarında, ABD'deki birçok nakil merkezi canlı donör böbrek naklini tamamen askıya aldığını ve kadavra böbrek nakli için kısıtlamalar uyguladığını bildirdi⁹. Benzer şekilde Pandemi sırasında böbrek nakli alıcıları için artan risk nedeniyle istisnai durumlar dışında nakil programlarının ertelenmesi tavsiye edilmiştir¹⁰. Biz de merkezimizdeki nakil ameliyatlarını, COVID-19 enfekte hasta sayısında belirgin azalmanın olduğu Haziran 2020 sonuna

nunda canlıdan böbrek nakli operasyonlarının özel önlemler eşliğinde güvenle yapılabileceğini gösterdi. Hastaların hiçbirinde operasyon öncesi ve operasyon sonrası ilk otuz günlük süre içerisinde COVID-19 ile ilgili sorun yaşanmadı. Nakil güvenliğini sağlamak için COVID-19 yayılma alanlarında verici ve alıcı taraması gereklidir. Mart 2020'nin sonlarında, ABD'deki birçok nakil merkezi canlı donör böbrek naklini tamamen askıya aldığını ve kadavra böbrek nakli için kısıtlamalar uyguladığını bildirdi⁹. Benzer şekilde Pandemi sırasında böbrek nakli alıcıları için artan risk nedeniyle istisnai durumlar dışında nakil programlarının ertelenmesi tavsiye edilmiştir¹⁰. Biz de merkezimizdeki nakil ameliyatlarını, COVID-19 enfekte hasta sayısında belirgin azalmanın olduğu Haziran 2020 sonuna

kadar durdurma kararı aldık. Nakil operasyonları başladığında hastalar titizlikle değerlendirildi ve hastalara yapılan PCR testi yanlış negatiflik ihtimali nedeniyle operasyondan bir gün önce tekrar edildi¹¹. Torax BT semptomatik hastalara önerildiği için çektilirmedi¹².

Pandemi nedeniyle kadaverik ve canlı nakil programı aksayınca üremik hastalar diyaliz programına devam etmek zorunda kalmaktadır. COVID-19 salgını, etkili antiviral ilaçlar ve aşılar geliştirilinceye kadar küresel halk sağlığı ve transplantasyon programlarını tehdit etmeye devam edecektir. Bu durum üremik hastalarda morbidite ve mortalite oranlarının artmasına neden olacaktır.

Solid organ nakil merkezlerindeki nakil aktivitesi azaltma gerekçeleri risk toleransına, yerel COVID-19 aktivitesinin derecesine ve tıbbi kaynak kapasitesine dayanmalıdır¹³. Genel olarak, DSÖ tarafından tanımlanan algoritmalarına göre, önlem alınarak nakil işlemleri yapılabilir. Bununla birlikte, toplumda bulaşmanın (çok sayıda izlenemeyen vaka) arttığı bölgelerde, hastalar ve sağlık hizmetleri arasında artan enfeksiyon riski olması ve asemptomatik bireyleri belirlenememesi nedeniyle nakil için geçici kademel bir askıya alma önerilmektedir¹⁴.

Koronavirüs enfeksiyonunun neden olduğu aşırı sitokin salınımı, ARDS veya ekstrapulmoner çoklu organ yetmezliğine yol açarak enfeksiyonun alevlenmesinden sorumludur ve bu mortalitede önemli bir faktör olarak görülür¹⁵. Ayrıca COVID-19 hastalarının yüksek bir lenfopeni prevalansına sahip olduğu gösterilmiştir¹⁶. Nakilli hastalarda verilen immünsüpresif tedavinin, aşırı sitokin salınımının etkilerini azaltabileceği böylece morbidite ve mortalitenin düşebileceği ileri sürülmüştür^{17,18}. Ancak böbrek alıcılarında mortalite oranlarının normal popülasyona göre çok daha yüksek olduğu görülmüş ve bunun temel sebebi olarak immünsüpresyona bağlı lenfopeni sorumlu tutulduğu gibi¹⁹ bu hastalarda sıklıkla birlikte görülen diyabet, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar gibi komorbiditeler de sorumlu tutulmuştur^{20,21}. Hastalarımızın hiçbirinde

immünsüpresiyona bağlı lenfopeni gelişmedi fakat bazı hastalarımızda tansiyon ve şeker hastalığı gibi ek hastalıklar vardı.

Böbrek alıcıların indüksiyon tedavisinde ATG ve basiliksımab yaygın olarak kullanılmaktadır²². Basiliksımab, IL-2'nin aracılık ettiği T hücre proliferasyonunu ve aktivasyonunu etkili bir şekilde inhibe edebilen interlökin-2 reseptörü (IL2R) için monoklonal bir antikordur. ATG, T hücrelerinde çok sayıda yüzey antijenini hedefleyerek T hücrelerinin daha etkili tüketilmesine ve NK hücreleri ve B hücreleri üzerinde ek etkilere izin verir²³. Böbrek nakli hastalarında akut rejeksiyon gelişmesi açısından düşük doz ATG ile indüksiyonun, basiliksımabdan daha iyi bir seçenek olabileceği belirtilmiştir²⁴, ancak farklı bir çalışmada iki grup arasında akut rejeksiyon atakların önleme açısından bir farklılık olmadığı bildirilmiştir²⁵. Merkezimizde pandemi süresince düşük immunolojik riskli hastalarda indüksiyon tedavisi olarak basiliksımab kullanılmıştır. Pandemi öncesinde bu hastalara düşük doz ATG tedavisi uygulamaktaydık. Kısa süreli sonuçlarımızda her iki grup arasında anlamlı fark yoktur.

Hem COVID-19 hakkında farkındalığı yaymak için çevrimiçi eğitim hem de çevrimiçi takip, solid organ transplant hastalarında enfeksiyon riskini en aza indirebilir. Çalışmamızda, genel popülasyonla karşılaştırıldığında, böbrek nakilli hastalarda COVID-19 enfeksiyon riski daha yüksek bulunmadı. Bu hastalarda kullanılan farklı immünsüpresif yaklaşımlar fırsatçı enfeksiyon ve akut rejeksiyon atakları bakımından herhangi bir risk oluşturmamış.

Çalışmanın kısıtlayıcı yanı sıra kısa süreli ve küçük çaplı olmasıdır. Ayrıca çalışmamız sadece düşük immunolojik riske sahip hasta grubu içeriyordu.

SONUÇ

Nakil olan hastalar, pandemi döneminde temizlik ve izolasyon kurallarına daha fazla dikkat ediyor olabilmesine rağmen enfeksiyonun yayılma hızı ve mortalitesi göz önüne alındığında, iyi sonuçlarına rağmen nakil operasyonla-

rının belli zamanlarda durdurulması gerekli olabilir. Genel olarak, canlıdan böbrek nakli COVID-19'un olumsuz etkisinden korumak için çok daha fazla çalışmaya ve spesifik klinik kılavuzlara ihtiyaç vardır.

Etik Komite Onayı

Çalışmamız Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (Tarih: 15/12/2020, karar no:641) tarafından onaylandı.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, bu makalenin araştırılması, yazarlığı ve / veya yayınlanması ile ilgili olarak potansiyel çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Yazar Katkıları

Fikir – N.F., H.D.; Denetleme – F.Ç., F.A; Malzemeler – N.F.,H.D.,E.A, F.A.; Veri toplanması ve işleme – N.F., M.Y.; Analiz ve yorum – N.F.,E.S.; Yazıyı yazan – N.F.,E.A.

Hakem değerlendirmesi

Dış bağımsız.

Teşekkür

Doç.Dr.Fikret Halis ve organ nakli nakli koordinatörü Gülercan Şenele, daha önce yayınlanmamış çalışmayla ilgili ek verileri sağladıkları için teşekkür ediyoruz.

Ethics Committee Approval

Our study was approved by the Sakarya University Non-Interventional Clinical Research Ethics Committee (Date: 15/12/2020, decision no: 641).

Conflict of Interest

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Author Contributions

Concept - N.F., H.D.; Supervision - F.Ç.,F.A.; Materials - N.F.,H.D.,E.A,F.A.; Data Collection and Processing - N.F., M.Y.; Analysis and Interpretation - N.F.,E.S.; Writing - N.F.,E.A.

Peer-review

Externally peer-reviewed.

Acknowledge

We thank Doç.Dr.Fikret Halis and transplant organ transplant coordinator Gülercan Şenele for providing us the additional data relating to his trial that were not previously published

References

1. Firat N, Dheir H, Akin E, et al. Canlı Donörden Böbrek Nakli: İlk Deneyimlerimiz. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2020;5(2):356-363. doi:10.26453/otjhs.705092
2. Scherer MN, Banas B, Mantouvalou K, et al. Current concepts and perspectives of immunosuppression in organ transplantation. *Langenbecks Arch Surg*. 2007;392(5):511-523. doi:10.1007/s00423-007-0188-z
3. Manuel O, Estabrook M. RNA respiratory viral infections in solid organ transplant recipients: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant*. 2019;33(9). doi:10.1111/ctr.13511
4. Del Rio C, Malani PN. 2019 Novel Coronavirus-Important Information for Clinicians. *JAMA*. 2020;323(11):1039-1040. doi:10.1001/jama.2020.1490
5. Chen Q, Zheng Z, Zhang C, et al. Clinical characteristics of 145 patients with corona virus disease 2019 (COVID-19) in Taizhou, Zhejiang, China. *Infection*. Published online April 28, 2020;1-9. doi:10.1007/s15010-020-01432-5
6. Rothe C, Schunk M, Sothmann P, et al. Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. *N Engl J Med*. 2020;382(10):970-971. doi:10.1056/NEJMc2001468
7. Alberici F, Delbarba E, Manenti C, et al. A single center observational study of the clinical characteristics and short-term outcome of 20 kidney transplant patients admitted for SARS-CoV2 pneumonia. *Kidney Int*. 2020;97(6):1083-1088. doi:10.1016/j.kint.2020.04.002
8. Kataria A, Yakubu I, Winstead R, Gowda M, Gupta G. COVID-19 in Kidney Transplantation: Epidemiology, Management Considerations, and the Impact on Kidney Transplant Practice. *Transplant Direct*. 2020;6(8). doi:10.1097/TXD.0000000000001031
9. Boyarsky BJ, Po-Yu Chiang T, Werbel WA, et al. Early impact of COVID-19 on transplant center practices and policies in the United States. *Am J Transplant*. 2020;20(7):1809-1818. doi:10.1111/ajt.15915
10. Coates PT, Wong G, Druke T, Rovin B, Ronco P. Early experience with COVID-19 in kidney transplantation. *Kidney Int*. 2020;97(6):1074-1075. doi:10.1016/j.kint.2020.04.001
11. West CP, Montori VM, Sampathkumar P. COVID-19 Testing. *Mayo Clin Proc*. 2020;95(6):1127-1129. doi:10.1016/j.mayocp.2020.04.004
12. Ai T, Yang Z, Hou H, et al. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology*. Published online February 26, 2020. doi:10.1148/radiol.2020200642
13. Kumar D, Manuel O, Natori Y, et al. COVID-19: A global transplant perspective on successfully navigating a pandemic. *Am J Transplant*. 2020;20(7):1773-1779. doi:10.1111/ajt.15876
14. Coronavirus Disease (COVID-19) Situation Reports. Accessed March 8, 2021. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>
15. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *J Infect*. 2020;80(6):607-613. doi:10.1016/j.jinf.2020.03.037
16. Guan W, Ni Z, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. Published online February 28, 2020. doi:10.1056/NEJMoa2002032
17. Joob B, Wiwanitkit V. COVID-19 and Organ Transplantation. *Int J Organ Transplant Med*. 2020;11(2):93.
18. Akalin E, Azzi Y, Bartash R, et al. Covid-19 and Kidney Transplantation. *N Engl J Med*. 2020;382(25):2475-2477. doi:10.1056/NEJMc2011117
19. Banerjee D, Popoola J, Shah S, Ster IC, Quan V, Phanish M. COVID-19 infection in kidney transplant recipients. *Kidney Int*. 2020;97(6):1076-1082. doi:10.1016/j.kint.2020.03.018
20. Goyal P, Choi JJ, Pinheiro LC, et al. Clinical Characteristics of Covid-19 in New York City. *N Engl J Med*. 2020;382(24):2372-2374. doi:10.1056/NEJMc2010419
21. Imam A, Abukhalaf SA, Imam R, Abu-Gazala S, Merhav H, Khalaileh A. Kidney Transplantation in the Times of COVID-19 - A Literature Review. *Ann Transplant*. 2020;25:e925755. doi:10.12659/AOT.925755
22. Bouvy AP, Klepper M, Kho MML, et al. The impact of induction therapy on the homeostasis and function of regulatory T cells in kidney transplant patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(8):1587-1597. doi:10.1093/ndt/gfu079
23. Huang H-F, Zhou J-Y, Xie W-Q, Wu J-Y, Deng H, Chen J-H. Basiliximab versus rabbit antithymocyte globulin as induction therapy for living-related renal transplantation: a single-center experience. *Int Urol Nephrol*. 2016;48(8):1363-1370. doi:10.1007/s11255-016-1307-y
24. Patel HV, Kute VB, Vanikar AV, et al. Low-dose rabbit anti-thymoglobulin versus basiliximab for induction therapy in kidney transplantation. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2014;25(4):819-822. doi:10.4103/1319-2442.135057
25. Wang K, Xu X, Fan M. Induction therapy of basiliximab versus antithymocyte globulin in renal allograft: a systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Nephrol*. 2018;22(3):684-693. doi:10.1007/s10157-017-1480-z

A Rare Case of Bacteriemia Due To *Comamonas testosteroni**Comamonas testosteroni*'ye Bağlı Nadir Bir Bakteriyemi Olgusu

Tuğba Ayhancı¹, Tayfur Demiray¹, Burcu İnce¹, Ensar Özmen²,
 Mohammed Sadeq¹, Ayhan Aydın², Selçuk Yaylacı²

¹ Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Bilimleri Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji AD

² Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü İç Hastalıkları AD

ORCID ID: Tuğba Ayhancı <https://orcid.org/0000-0002-2115-6261>, Tayfur Demiray <https://orcid.org/0000-0003-1161-4684>

Burcu İnce <https://orcid.org/0000-0003-2301-5929>, Ensar Özmen <https://orcid.org/0000-0001-7112-1254>

Mohammed Sadeq <https://orcid.org/0000-0002-5437-7685>, Ayhan Aydın <https://orcid.org/0000-0001-5231-3533>,

Selçuk Yaylacı <https://orcid.org/0000-0002-6768-7973>

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Dr. Tayfur Demiray, e-posta / e-mail: tayfurdemiray@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 17-03-2020

Kabul Tarihi / Accepted: 31-03-2020

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2021

Atf Gösterimi/How to Cite: Ayhancı T., Demiray T., İnce B., Özmen E., Sadeq M., Aydın A., Yaylacı S. A Rare Case of Bacteriemia Due to *Comamonas testosteroni*, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2021;5(1):85-89

Abstract

Comamonas testosteroni is a gram-negative, non-glucose fermenting, oxidase positive, motile bacillus. It is accepted as a low-virulent microorganism and rarely causes infections in humans. Survival at low nutrient conditions, ability to acquire resistance genes and already found virulence factors make *C. testosteroni* a potential candidate to be a dangerous infectious agent, especially in patients with predisposing factors. We report a rare case of a bacteriemia due to a rarely isolated microorganism, *C. testosteroni*, in a male adult patient.

Keywords *Comamonas testosteroni*; Bacteremia, Antibacterial Drug Resistance

Özet

C. testosteroni gram negatif, glikozu fermente etmeyen, oksidaz pozitif, hareketli bir basildir. Düşük virülanslı bir mikroorganizma olarak kabul edilir ve insanlarda nadiren enfeksiyona neden olur. Zorlu besin koşullarında hayatta kalma, direnç genlerini edinme yeteneği ve içerdiği virülans faktörleri, *C. testosteroni*'yi, özellikle predispozan faktörleri olan hastalarda, tehlikeli bir enfeksiyöz ajanı olmak için, potansiyel bir aday yapar. Bu raporda, bir erkek erişkin hastada, *C. testosteroni*'nin neden olduğu bakteriyemi olgusunu sunuyoruz.

Anahtar Kelimeler

Comamonas testosteroni; Bakteriyemi, Antibakteriyel İlaç Direnci



INTRODUCTION

Comamonas testosteroni is a gram-negative, non-glucose fermenting, oxidase positive, motile bacillus. It is commonly isolated from environmental sources such as soil, plants and water sources, but it is not a member of normal human flora¹. It produces pink pigmented colonies and can easily grow on routine agar media. It was formerly called as *Pseudomonas testestoroni* then it was regrouped into the *Comamonadaceae* after molecular homology studies. *C. testosteroni* gets its name because it can use testosterone, 4-hydroxybenzoate, acetate and lactate as a carbon source. It is one of the four members of *Comamonas* genus together with *C. terrigena*, *C. denitrifican* and *C. nitrativorans*^{2,3}.

The first case of *C. testosteroni* was presented early as early in 1975⁴. It was not accepted as a human pathogen until the 18 different cases of infection were presented back in 1987⁵. Various clinical presentations such as peritonitis, bacteriemia, endocarditis, meningitis and pneumonia due to *C. testosteroni* are reported from different parts of the world^{6,7,8,9}.

We report a case of bacteriemia in a male adult patient to draw attention to a rarely isolated microorganism.

CASE REPORT

A 51-year-old adult male patient was admitted to the nephrology clinic due to acute renal failure and hypercalcemia. He had no previous history of any disease or drug use. He was suffering chronic back pain for about four months and he had significant weight loss which was 14 kilograms in two months. Vital signs were stable and recorded as follows; temperature 37.2 °C, heart rate 89/min and arterial blood pressure 114/67 mm-Hg, serum calcium 15.7 mg/ml, urea 68 mg/100ml, creatinine 1.81 mg/dL, white blood cell count 22400/ml, hemoglobin 11.3 gr/dl, erythrocyte sedimentation rate 65/hr, C-reactive protein 152 mg/L, glucose 353 mg/dl detected as laboratory findings. While the patient was being treated for hypercalcemia and acu-

te renal failure, he transferred to internal medicine clinic for further evaluation and testing for probable malignancy. During follow-up, the contrast-enhanced computed tomography revealed solitary tumor at the lungs and pet-scan revealed metastatic tumor at the left iliac bone and malignant lymphadenopathies at the right supraclavicular station together with the primary focus being at the upper region of the right lung. Then the patient was diagnosed as lung cancer. On the 8th day of follow-up, the patient had no urine output. Urinary catheterization was unsuccessful and he received transurethral catheterization. The next day the patient developed fever 39.2°C and deteriorated. Urine and blood samples were collected. Urine culture had no microbiological growth. But both blood culture samples yielded *C. testosteroni*. After consulting patient to the infectious disease clinic, levofloxacin 500 mg/day was ordered as antimicrobial treatment. The treatment was ended at the 7th day of the treatment due to clinical improvement. As the metabolic and biochemical serum parameters were stabilized and renal functions were recovered on the 18th day of the admittance, the patient was discharged with the recommendations regarding his malignancy.

Bacteriological Methods

C. testosteroni was isolated from two blood samples. After the positive signal was received from the blood culture automatized system (BacT/Alert 3DTM, bioMérieux, Durham, NC, USA), the Gram stain of the blood culture specimens revealed Gram-negative bacilli. Typical pink pigmented colonies were observed on the 5% sheep blood agar plates after 24 hours incubation at 37°C(Figure). Gram stain from the colonies on agar plates revealed Gram negative bacilli which were mostly in pairs. Catalase reaction was negative and oxidase reaction was positive. On wet slides, the bacteria were motile. VITEK MS® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) was used for identification of the isolates and VITEK 2® system (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) was used for antimicrobial susceptibility testing. Both of the isolates were identified as *C. testestoroni*. They were susceptible to piperacillin, ticarcillin/cla-

vulanate, gentamicin, amikacin, imipenem, meropenem ciprofloxacin and levofloxacin according to the EUCAST criteria¹⁰.

DISCUSSION and CONCLUSION

Most of the infection cases due to *C. testosteroni* are cases of bacteriemia and intra-abdominal infections. Most of the intra-abdominal infections are related to perforation of gastrointestinal system such as acute perforated appendix or other anatomic disturbances in the gastrointestinal tract. Some researchers suggest that bacterial translocation from gastrointestinal system may have an important role for *Comomonas* infections^{6, 11}. Most of cases infections due to *C. testosteroni* are community-acquired infections. However, it can survive in hospital settings, since it can survive in very low nutrient conditions. It is reported that it can be isolated from wet surfaces, humidifiers, respiratory devices and intravenous catheters^{1,12}. Impaired immune system, chronic liver disease, renal diseases, diabetes and senility are listed as risk factors for *C. testosteroni* infections⁹. The isolate, which caused the presented case here, is probably of nosocomial origin and undiagnosed malignancy, impaired immune system and urinary intervention are the predisposing factors for bacteriemia due to this rare microorganism.

C. testosteroni is accepted as a low-virulent microorganism and rarely causes infections in humans. But Liu et al. reported that the bacilli still have at least 24 different virulence factors. These factors are related to adherence, anti-phagocytosis, invasion, and secretion system and surely have functions in pathogenicity of *C. testosteroni*³. Most of the presented cases in the literature were treated successfully only a few were dead^{6,9}. This case was also treated successfully with levofloxacin. The isolate was susceptible to all antibiotics that were tested. In the literature, most of the isolates are reported as susceptible to piperacillin, piperacillin/tazobactam, trimethoprim/sulfametaxazole, aminoglycosides, fluroquinolones and cephalosporins and carbapenems⁷. Since *C. testosteroni* is susceptible to most

antimicrobials, antimicrobial treatment is usually effective but there is an increasing concern about that it can gain resistance to antimicrobial drugs. Moreover, Wang et al. conducted a study that *C. testosteroni* can acquire a gene containing bla_{NDM-1}, in turn, it can hydrolyze carbapenems¹³.

It is very likely that most isolates of *Comamonas spp.* were misidentified in the previous years and again it is very likely that advances in diagnostic tools and devices (such as automated systems and molecular methods) in microbiology laboratories will enable identification of *Comamonas spp.* more easily and accurately together with other rare microorganisms¹⁴.

Survival at low nutrient conditions, ability to acquire resistance genes and already found virulence factors make *C. testosteroni* a potential candidate to be a dangerous infectious agent, especially in patients with predisposing factors. Due to increased use of interventional procedures and catheters, prolonged hospitalization periods, immunocompromised patients, it can be expected that isolation of this bacilli will increase over the years. Microbiologist and bacteriology laboratory workers should be aware of such rare microorganisms and proper susceptibility testing should be carried out for appropriate antimicrobial treatment.

Conflict of interest

We attest that we have herein disclosed any and all financial or other relationships that could be construed as a conflict of interest and that all sources of financial support for this study have been disclosed and are indicated in the acknowledgments. All authors of this report declare no conflict of interest.

Ethical Committee Approval

Not needed

Informed Consent

Written informed consent was received from the patient.

We declare that the contents of this manuscript are our original work and have not been published, in whole or in part, prior to or simultaneous with our submission of the manuscript to the journal. The manuscript has been read and approved for submission by all authors. All persons listed as authors have contributed to preparing the manuscript and/or that International Committee of Medical Journal Editors (IC- MJE) criteria for authorship have been met, and that no person(s) other than the authors listed have contributed significantly to its preparation.

References

1. Nakipoglu Y, Erturan Z, Buyukbaba-Boral O, et al. Evaluation of the contaminant organisms of humidifier reservoir water and investigation of the source of contamination in a university hospital in Turkey. *Am J Infect Control*. 2005;33(1):62-63. DOI:10.1016/j.ajic.2004.09.007
2. Gilligan PH, Lum G, Vandamme PAR, Whittier S. Burkholderia, Stenotrophomonas, Ralstonia, Brevundimonas, Comamonas, Delftia, Pandoraea, and Acidovorax. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of clinical microbiology*. 8th ed. Washington, DC: ASM Press; 2003.
3. Liu L, Zhu W, Cao Z, et al. High correlation between genotypes and phenotypes of environmental bacteria Comamonas testosteroni strains. *BMC Genomics* 2015 16:110 DOI:10.1186/s12864-015-1314-x
4. Atkinson BE, Smith DL, Lockwood WR. Letter: Pseudomonas testosteroni septicemia. *Ann Intern Med*. 1975;83(3): 369-370. doi:10.7326/0003-4819-83-3-369
5. Barbaro DJ, Mackowiak PA, Barth SS, et al. Pseudomonas testosteroni infections: eighteen recent cases and a review of the literature. *Rev Infect Dis*. 1987;9(1):124-129. DOI: 10.1093/clinids/9.1.124
6. Farshad S, Norouzi F, Aminshahidi M, et al. Two cases of bacteremia due to an unusual pathogen, Comamonas testosteroni in Iran and a review literature. *J Infect Dev Ctries* 2012; 6: 521-525 DOI: 10.3855/jidc.2215
7. Bayhan Gİ, Tanır G, Karaman I, et al. Comamonas testosteroni: An Unusual Bacteria Associated with Acute Appendicitis. *Balkan Med J* 2013; 30: 447-448 DOI:10.5152/balkanmedj.2013.9135
8. Orsini J, Tam E, Hauser N, Rajayer S. Polymicrobial Bacteremia Involving Comamonas testosteroni. *Case Rep Med*. 2014;578127. DOI:10.1155/2014/578127
9. Yasayancan N, Inonu Koseoglu H. The 20th Comamonas Testosteroni Bacteremia Case in the Literature from Turkey: Mortal and Polymicrobial a Case Report and Literature Review. *EJMO*. 2017; 1(3): 168-17
10. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST. Clinical breakpoints - breakpoints and guidance. https://eucast.org/clinical_breakpoints/. Accession date:10.02.2020
11. Gul M, Ciragil P, Bulbuloglu E, Aral M, Alkis S, et al. Comamonas testosteroni bacteremia in a patient with perforated acute appendicitis. Short communication. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2007;54(3):317-321. doi:10.1556/AMicr.54.2007.3.6
12. Cooper GR, Staples ED, Iczkowski KA, et al. Comamonas (Pseudomonas) testosterone endocarditis. *Cardiovasc Pathol*. 2005;14(3): 145-149. DOI:10.1016/j.carpath.2005.01.008
13. Qin S, Fu Y, Zhang Q, et al. High incidence and endemic spread of NDM-1-positive Enterobacteriaceae in Henan Province, China. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(8):4275-4282. DOI:10.1128/AAC.02813-13
14. Tiwari S, Nanda M. Bacteremia caused by Comamonas testosteroni an unusual pathogen. *J Lab Physicians* 2019;11: 87-90.