



Bu Sayıda;

- Anjiyogenez Sürecinde CNP-3 ve NPR-B Ekspresyonu
Donör Safra Anatomisi ve Safra Komplikasyonları
Egzersiz ve Böbrek Fonksiyonları
Akut Lösemi Hastalarında Klofarabin Tedavisi
Serum pNF-H Düzeyinin Beyin Hasarını Göstermede Etkinliği
Televizyon Düşmesi Sonucu Çocuk Ölümleri
Laparoskopik Adrenalektomi
Histamin ve Antagonistlerinin Üreme Hormonlarına Etkisi
Erianinin HT29 hücreleri üzerine etkileri
Mikrosatellit Instabilite Tümörlerde mikroRNA'lar
Pandemide Preoperatif Anksiyete
Kurkumin Meme Kanseri Hücre Proliferasyonunu Engeller
Türkiye'deki Hemşirelerde Merhamet
Hipotalamusda Glutamat Reseptör Ekspresyonu
Sol Üst Lobektomi Evre I KHDAK İçin Aşırı Tedavi mi?
Gastrointestinal Yerleşimli Lipomalar
COVID-19 Pandemisi ve Çocuk Psikolojisi
Pediatrik Servikal Meningioma
Şantın Torasik Migrasyonu
COVID-19 Tanı Testleri, Tedavisindeki Aşılar ve İlaçlar
Sinoviyal Pit
Covid-19 ARDS Komplikasyonu ve IL-10 Gen Varyasyonu

Yayın Kurulu

Dr. Özhan EYİĞÖR (Editör)
Dr. Özen ÖZ GÜL
Dr. Aslı GÖREK DİLEKTAŞLI
Dr. Güven ÖZKAYA
Dr. Sertaç Argun KIVANÇ
Dr. Işıl KASAPÖĞLU

İÇİNDEKİLER

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR

Tavuk Embriyosu Koryoallantoik Membranında Görülen Anjiyogenez Sürecinde C-Tipi Natriüretik Peptid-3 ve Natriüretik Peptid Reseptör-B mRNA İfadelerinin Analizi:

Tanımlayıcı Bir Çalışma Ekin EFE, Attila DAĞDEVİREN, Fevziye Figen KAYMAZ, Ahmet Çevik TUFAN.....165

Canlı Donör Karaciğer Naklinde Safra Yolu Varyasyonlarının Biliyer Komplikasyonlara Etkisi

Hikmet AKTAŞ.....177

İstemli Egzersizin Sıçanlarda Fruktozdan Zengin Beslenmeyle Uyarılan Böbrek Fonksiyon Bozukluğu ve Oksidan Durumu Düzeltici Etkisi

Oktay KAYA, Deniz ERÇETİN, Muhammet Ali AYDIN, Melike SAPMAZ METİN.....181

Klofarabin Bazlı Tedavi Alan Relaps veya Refrakter Akut Lösemi Tanılı Hastaların Retrospektif Değerlendirilmesi

Cumali YAŁÇIN, Fahir ÖZKALEMKAŞ, Vildan ÖZKOCAMAN, Tuba ERSAL, İbrahim Ethem PINAR, Bedrettin ORHAN, Ömer CANDAR, Ridvan ALI.....189

DeneySEL Olarak Travmatik Beyin Hasarı Oluşturulan Ratlarda Serum pNF-H Düzeyinin Beyin Hasarını Göstermede Etkinliği

Halil İbrahim ÇIKRIKLAR, Vahide Aslihan DURAK, Tülin ALKAN, Birnur AYDIN, Deniz SİĞİRLİ, Hakan SALCI, Erol ARMAĞAN.....195

Üzerine Televizyon Düşmesi Sonucu Meydana Gelen Çocuk Ölümlerinin Retrospektif Değerlendirilmesi

Ertuğrul GÖK, Recep FEDAKAR, Süleyman SIVRI.....201

Üç Yüz Yirmibeş Laparoskopik Adrenalektomi Vakasının Retrospektif Analizi: Tek Merkez Deneyimi

Mehmet Çağatay ÇİÇEK, Kadir Ömür GÜNSEREN, Soner CANDER, Hakan VURUŞKAN, İsmet YAVAŞCAOĞLU.....205

Kronik Olarak İntraserebroventriküler Enjektde Edilen Histamin ve Antagonistlerinin Hipotalamo-Hipofizer-Aks Üzerindeki Etkisi

Burçin ALTINBAŞ, Gökçen GÜVENÇ BAYRAM, Murat YAŁÇIN.....211

Eriyaninin HT29 Kolorektal Kanseri Hücrelerinin Proliferasyonu ve Koloni Oluşumu Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Sema SERTER KOÇOĞLU, Levent ELMAS, Mucahit SEÇME.....219

MikroRNA-106a'nın Yüksek Ekspresyonu Kolorektal Kanselerde Mikrosatellit İnstabilite Durumu ile İlişkilidir

Seçil AK AKSOY, Berrin TUNCA, Tuncay YILMAZLAR, Ersin ÖZTÜRK, Fuat AKSOY, Özgen İŞİK, Ömer YERCI, Nesrin UĞRAŞ, Özkan KANAT, Melis MUTLU, Çağla TEKİN.....225

COVID-19 Pandemisinde Elektif Cerrahi Uygulanacak Hastaların Preoperatif Anksiyete Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Ayşe Neslihan BALKAYA, Ümran KARACA, Canan YILMAZ, Filiz ATA.....233

T-47D Meme Kanseri Hücreleri Üzerinde Kurkuminin Doz Bağımlı Etkisinin İncelenmesi

Nuriye Ezgi BEKTUR AYKANAT, Sedat KAÇAR.....241

Türkiye'deki Hemşirelerde Merhametin Araştırılması: Uluslararası Araştırma Sonuçları

Özlem AKMAN, Burcu ARKAN, Candan ÖZTÜRK, İrena PAPADOPOULOS.....247

Hipotalamusda İyonotropik Glutamat Reseptör Ekspresyonu: İmmünohistokimyasal Lokalizasyon Çalışması

Duygu GÖK YURTSEVEN, Gonca TOPAL, F. Zehra MİNBAŞ, Özhan EYİĞÖR.....255

Sol Üst Lob Evre I Akciğer Kanseri Hastalar İçin Sol Üst Lobektomi Aşırı Tedavi mi? Propensity Skor Analizi

Hüseyin MELEK, Tolga Evrim SEVİNÇ, Deniz SİĞİRLİ, Ahmet Sami BAYRAM, Cengiz GEBİTEKİN.....265

Gastrointestinal Yerleşimli Lipomal: 19 Olgunun Retrospektif Analizi

Mine ÖZŞEN, Ömer YERCI, Nesrin UĞRAŞ, Özgen İŞİK, Tuncay YILMAZLAR.....273

Ebeveynleri COVID-19 Geçiren Çocuk ve Ergenlerde Psikolojik Sağlık, Depresyon, Anksiyete ve Travma Sonrası

Stres Bozukluğu Belirtileri
Mehtap EROĞLU, Neşe YAKŞI.....279

OLGU BİLDİRİMİ

9 Yaşında Bir Çocukta Servikal Meningioma: Bir Olgunun Sunumu

Yağmur TUNÇBİLEKLİ, Reyhan KASAB, Mine ÖZŞEN, Selin YİRMİBEŞ, Şahsine TOLUNAY, M. Özgür TAŞKAPILIOĞLU.....287

Ventriküloperitoneal Şant Kateter Distal Ucunun Torasik Migrasyonu: Olgunun Sunumu

Reyhan KASAB, Pınar ESER, Yağmur TUNÇBİLEKLİ, Ahmet Sami BAYRAM, M. Özgür TAŞKAPILIOĞLU.....291

DERLEME

COVID-19 Tanı Testleri, Tedavisindeki Aşılarda ve İlaçlar; Güncel Durum

Derya Selcen SALMANOĞLU, Emine Esin ÇALIŞKAN, Meliz SOFU, Yiğit UYANIKGİL, Emel Öykü ÇETİN UYANIKGİL.....295

Semptomatik Kalça Ağrısının Nadir Görülen Bir Nedeni: Sinoviyal Pit: Olgunun Bazı Derleme

Uğur ERTEM, JaleİRDESEL.....309

Covid-19 Enfeksiyonunun ARDS komplikasyonunda IL-10 ve IL-10 (-1082G/A) Gen Varyasyonunun Potansiyel Rollerinin İncelenmesi

Nevra ALKANLI, Arzu AY.....313

Kapak Resmi: Ekin Efe ve ark. "Tavuk Embriyosu Koryoallantoik Membranında Görülen Anjiyogenez Sürecinde C-Tipi Natriüretik Peptid-3 ve Natriüretik Peptid Reseptör-B mRNA İfadelerinin Analizi: Tanımlayıcı Bir Çalışma" başlıklı makalesinden alınmıştır.

ISSN 1300-414X
e-ISSN 2645-9027



ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DERGİSİ

Journal of Uludağ University Medical Faculty

Cilt 47 / Sayı 2 / 2021

Volume 47 / Issue 2 / 2021

Tıp Fakültesi Adına Sahibi

Prof. Dr. Ekrem KAYA

Editör

Dr. Özhan EYİGÖR

Yayın Kurulu

Dr. Özen ÖZ GÜL / Dr. Aslı GÖREK DİLEKTAŞLI /
Dr. Güven ÖZKAYA / Dr. Sertaç Argun KIVANÇ / Dr. Işıl KASAPOĞLU

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DERGİSİ

Journal of Uludağ University Medical Faculty

Cilt 47 / Sayı 2 / 2021

Tıp Fakültesi Adına Sahibi

Prof.Dr. Ekrem KAYA

Yayın Kurulu

Dr. Özhan EYİĞÖR (Editör) /

Dr. Özen ÖZ GÜL / Dr. Aslı GÖREK DİLEKTAŞLI /

Dr. Güven ÖZKAYA / Dr. Sertaç Argun KIVANÇ / Dr. Işıl KASAPOĞLU

DANIŞMA KURULU

**Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyeleri /
Tıp Fakültesi Dergisinin Doğal Danışma Kurulu Üyeleridir.**

Dr.Abdurrahman ÇÖMLEKÇİ Dokuz Eylül Üniversitesi	Dr.Feyyaz ÖZDEMİR Karadeniz Teknik Üniversitesi	Dr.Nur KEBAPÇI Osmangazi Üniversitesi	Dr.Serdar KÜÇÜKOĞLU İstanbul Üniversitesi Haseki Kardiyoloji Enstitüsü
Dr. Alp ÇETİN Hacettepe Üniversitesi	Dr.Fulya GÜNŞAR Ege Üniversitesi	Dr.Nursel BİLGİN Mersin Üniversitesi	Dr.Sırrı ÇAM Celal Bayar Üniversitesi
Dr. Alp ERGÖR Dokuz Eylül Üniversitesi	Dr.Hüsnü GÖKASLAN Marmara Üniversitesi	Dr.Orhan TARÇIN Acıbadem Kadıköy Hastanesi	Dr.Tayfun HAKAN Memorial Ataşehir Hastanesi
Dr.Babür DORA Akdeniz Üniversitesi	Dr.İbrahim AKDAĞ Etlik Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Dr.Osman SAATÇI Dokuz Eylül Üniversitesi	Dr.Tayyup ŞİMŞEK Akdeniz Üniversitesi
Dr.Bahriye Oya İTİL Dokuz Eylül Üniversitesi	Dr.Mehmet ERGÜN Gazi Üniversitesi	Dr.Pervin TOPÇUOĞLU Ankara Üniversitesi	Dr.Turan ACICAN Ankara Üniversitesi
Dr.Cemil EKİNCİ Ankara Üniversitesi	Dr.Mehmet SAYARLIOĞLU Sütçü İmam Üniversitesi	Dr.Raşit MİDİLLİ Ege Üniversitesi	Dr.Ulus Ali ŞANLI Ege Üniversitesi
Dr.Cengiz ÇETİN Osmangazi Üniversitesi	Dr.Mehmet UYAR Ege Üniversitesi	Dr.M.Reşat DABAK Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Dr.Ülver DERİCİ Gazi Üniversitesi
Dr.Cevdet DURAN Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Dr.Murat BİRTANE Trakya Üniversitesi	Dr.Sema DEMİRÇİN Akdeniz Üniversitesi	Dr.Ümit ZEYBEK İstanbul Üniversitesi
Dr.Durmuş ETİZ Osmangazi Üniversitesi	Dr.M.Mümtaz MAZICIOĞLU Erciyes Üniversitesi	Dr.Serdar KAHVECİOĞLU Bursa Şevket Yılmaz Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Dr.Zihni SANUS İstanbul Üniversitesi
Dr.Eray KARAHACIOĞLU Gazi Üniversitesi			

Bursa Uludağ Üniversitesi ISSN 1300 - 414X, e-ISSN 2645-9027

Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayın Organıdır. Yılda 3 kez Nisan / Ağustos ve Aralık aylarında çevrimiçi olarak yayınlanır.

Yazışma Adresi: Seyhan Miğal / Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Yayın Kurulu Sekreteri /
16059 Görükle-BURSA

Tel: (0.224) 4428017 / Faks: (0.224) 4428047 e-posta: uludag.tip.dergisi@gmail.com

Web sayfası: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/uutfd>

Dizgi-Baskı: Bursa Uludağ Üniversitesi Basımevi Bursa – 2021

İÇİNDEKİLER

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR

- Tavuk Embriyosu Koryoallantoik Membranında Görülen Anjiyogenez Sürecinde C-Tipi Natriüretik Peptid-3 ve Natriüretik Peptid Reseptör-B mRNA İfadelerinin Analizi: Tanımlayıcı Bir Çalışma**
Ekin EFE, Attila DAĞDEVİREN, Fevziye Figen KAYMAZ, Ahmet Çevik TUFAN.....165
- Canlı Donör Karaciğer Naklinde Safra Yolu Varyasyonlarının Biliyer Komplikasyonlara Etkisi**
Hikmet AKTAŞ.....177
- İstemli Egzersizin Sıçanlarda Fruktozdan Zengin Beslenmeyle Uyarılan Böbrek Fonksiyon Bozukluğu ve Oksidan Durumu Düzeltici Etkisi**
Oktay KAYA, Deniz ERÇETİN, Muhammet Ali AYDIN, Melike SAPMAZ METİN.....181
- Klofarabin Bazlı Tedavi Alan Relaps veya Refrakter Akut Lösemi Tanılı Hastaların Retrospektif Değerlendirilmesi**
Cumali YALÇIN, Fahir ÖZKALEMKAŞ, Vildan ÖZKOCAMAN, Tuba ERSAL, İbrahim Ethem PINAR, Bedrettin ORHAN, Ömer CANDAR, Rıdvan ALİ189
- DeneySEL Olarak Travmatik Beyin Hasarı Oluşturulan Ratlarda Serum pNF-H Düzeyinin Beyin Hasarını Göstermede Etkinliği**
Halil İbrahim ÇIKRIKLAR, Vahide Aslıhan DURAK, Tülin ALKAN, Birnur AYDİN, Deniz SİĞİRLİ, Hakan SALCI, Erol ARMAĞAN195
- Üzerine Televizyon Düşmesi Sonucu Meydana Gelen Çocuk Ölümlerinin Retrospektif Değerlendirilmesi**
Ertuğrul GÖK, Recep FEDAKAR, Süleyman SİVRİ.....201
- Üç Yüz Yirmibeş Laparoskopik Adrenaektomi Vakasının Retrospektif Analizi: Tek Merkez Deneyimi**
Mehmet Çağatay ÇİÇEK, Kadir Ömür GÜNSEREN, Soner CANDER, Hakan VURUŞKAN, İsmet YAVAŞCAOĞLU205
- Kronik Olarak İntraserebroventriküler Enjekte Edilen Histamin ve Antagonistlerinin Hipotalamo-Hipofizer-Aks Üzerindeki Etkisi**
Burçin ALTINBAŞ, Gökçen GÜVENÇ BAYRAM, Murat YALÇIN211
- Erianinin HT29 Kolorektal Kanser Hücrelerinin Proliferasyonu ve Koloni Oluşumu Üzerine Etkilerinin Araştırılması**
Sema SERTER KOÇOĞLU, Levent ELMAS, Mücahit SEÇME.....219
- MikroRNA-106a'nın Yüksek Ekspresyonu Kolorektal Kanserlerde Mikrosatellit İnstabilite Durumu ile İlişkilidir**
Seçil AK AKSOY, Berrin TUNCA, Tuncay YILMAZLAR, Ersin ÖZTÜRK, Fuat AKSOY, Özgen IŞIK, Ömer YERCİ, Nesrin UĞRAŞ, Özkan KANAT, Melis MUTLU, Çağla TEKİN225
- COVID-19 Pandemisinde Elektif Cerrahi Uygulanacak Hastaların Preoperatif Anksiyete Düzeylerinin Değerlendirilmesi**
Ayşe Neslihan BALKAYA, Ümran KARACA, Canan YILMAZ, Filiz ATA.....233

T-47D Meme Kanseri Hücreleri Üzerinde Kurkuminin Doz Bağımlı Etkisinin İncelenmesi Nuriye Ezgi BEKTUR AYKANAT, Sedat KAÇAR.....	241
Türkiye'deki Hemşirelerde Merhametin Araştırılması: Uluslararası Araştırma Sonuçları Özlem AKMAN, Burcu ARKAN, Candan ÖZTÜRK, Irena PAPADOPOULOS	247
Hipotalamusda İyonotropik Glutamat Reseptör Ekspresyonu: İmmunohistokimyasal Lokalizasyon Çalışması Duygu GÖK YURTSEVEN, Gonca TOPAL, F. Zehra MİNBAŞ, Özhan EYİGÖR	255
Sol Üst Lob Evre I Akciğer Kanseri Hastalar İçin Sol Üst Lobektomi Aşırı Tedavi mi? Propensity Skor Analizi Hüseyin MELEK, Tolga Evrim SEVİNÇ, Deniz SİĞİRLİ, Ahmet Sami BAYRAM, Cengiz GEBİTEKİN	265
Gastrointestinal Yerleşimli Lipomalar: 19 Olgunun Retrospektif Analizi Mine ÖZŞEN, Ömer YERCI, Nesrin UĞRAŞ, Özgen IŞIK, Tuncay YILMAZLAR	273
Ebeveynleri COVID-19 Geçiren Çocuk ve Ergenlerde Psikolojik Sağlık, Depresyon, Anksiyete ve Travma Sonrası Stres Bozukluğu Belirtileri Mehtap EROĞLU, Neşe YAKŞI	279

OLGU BİLDİRİMİ

9 Yaşında Bir Çocukta Servikal Meningioma: Bir Olgu Sunumu Yağmur TUNÇBİLEKLİ, Reyhan KASAB, Mine ÖZŞEN, Selin YİRMİBEŞ, Şahsine TOLUNAY, M. Özgür TAŞKAPILIOĞLU	287
Ventriküloperitoneal Şant Kateter Distal Ucunun Torasik Migrasyonu: Olgu Sunumu Reyhan KASAB, Pınar ESER, Yağmur TUNÇBİLEKLİ, Ahmet Sami BAYRAM, M. Özgür TAŞKAPILIOĞLU	291

DERLEME

COVID-19 Tanı Testleri, Tedavisindeki Aşılar ve İlaçlar; Güncel Durum Derya Selcen SALMANOĞLU, Emine Esin ÇALIŞKAN, Meliz SOFU, Yiğit UYANIKGİL, Emel Öykü ÇETİN UYANIKGİL	295
Semptomatik Kalça Ağrısının Nadir Görülen Bir Nedeni: Sinoviyal Pit: Olgu Bazlı Derleme Uğur ERTEM, Jale İRDESEL	309
Covid-19 Enfeksiyonunun ARDS komplikasyonunda IL-10 ve IL-10 (-1082G/A) Gen Varyasyonunun Potansiyel Rollerinin İncelenmesi Nevra ALKANLI, Arzu AY	313

Kapak Fotoğrafı: Ekin Efe ve ark. "Tavuk Embriyosu Koryoallantoik Membranında Görülen Anjiyogenez Sürecinde C-Tipi Natriüretik Peptid-3 ve Natriüretik Peptid Reseptör-B mRNA İfadelerinin Analizi: Tanımlayıcı Bir Çalışma" başlıklı makalesinden alınmıştır.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Tavuk Embriyosu Koryoallantoik Membranında Görülen Anjiyogenez Sürecinde C-Tipi Natriüretik Peptid-3 ve Natriüretik Peptid Reseptör-B mRNA İfadelerinin Analizi: Tanımlayıcı Bir Çalışma

Ekin EFE¹, Attila DAĞDEVİREN¹, Fevziye Figen KAYMAZ², Ahmet Çevik TUFAN³

¹ Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

² Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

³ Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

ÖZET

Tavuk koryoallantoik membran (CAM) modeli, anjiyogenez çalışmalarında gelişimsel süreçleri takip etmek için yaygın olarak kullanılan bir modeldir. Bu çalışmada, CAM kullanılarak, embriyonik gelişimin 7. ve 20. günleri (E7 ve E20) arasında görülen anjiyogenez süreci ışık ve transmisyon elektron mikroskop analizleri ile takip edilmiştir. Ayrıca, aynı günlerde alınan CAM örnekleri kullanılarak, anjiyogenez mekanizmalarında görevli [Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)-A ve Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)-2] ve reseptörlerinin [Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü Reseptörü (VEGFR)-2 ve Fibroblast Büyüme Faktörü (FGFR)-2] yanı sıra, insan C-tipi natriüretik peptid (CNP) homoloğu olan tavuk CNP-3 ve reseptörü natriüretik peptid reseptörü (NPR)-B'nin mRNA ifade düzeylerinin zamana bağlı değişimi analiz edilmiştir. Işık mikroskobu ve elektron mikroskobu analizleri, endotel tüp benzeri vasküler yapıları yoğun olarak E7-E8 günlerinde ve koryonik mezenseim içinde bulunduğunu göstermiştir. E9-E20 günler sürecinde ise mezenseim içinde yer alan vasküler yapıların progresif gelişimi, stabilizasyonu ve kompleks dallanması gözlenmiştir. Bu vasküler gelişim sürecinde, VEGF-A ve FGF-2 mRNA ifadesi, CAM gelişiminin erken aşamalarında E7 ile E9 arasında ve E8'de pik yapacak şekilde gözlenmiştir. Bu moleküller, CAM gelişiminin geç döneminde, E16 civarında ikinci bir pik göstermiştir. CNP-3 mRNA ifadesi E16 ile E20 arasında VEGF-A ve FGF-2 mRNA ifadeleri ile eş zamanlı olarak tespit edilmiştir. VEGFR-2 mRNA ifadesi E7-E12 arasında gözlenirken, FGFR-2 mRNA ifadesi ilk pikini E7-E9 arasında ve ikinci pikini E16-20 arasında göstermiştir. NPR-B mRNA ifadesi ise en yüksek seviyesi E16'da olmak üzere E7-E20 arasında gözlenmiştir. Sonuç olarak elde edilen veriler, CNP-3'ün özellikle CAM gelişiminin geç döneminde (E16-E20 günleri sürecinde), NPR-B reseptörü aracılığıyla, ileri vasküler organizasyonda rol oynayabileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: CNP. CNP-3. NPR-B. Anjiyogenez. Koryoallantoik membran (CAM).

Analysis of the mRNA Expression of C-Type Natriuretic Peptide-3 and Natriuretic Peptide Receptor-2 in Angiogenesis of Chick Chorioallantoic Membrane: A Descriptive Study

ABSTRACT

The chick chorioallantoic membrane (CAM) is a widely used model to follow the developmental processes in angiogenesis studies. This study aims to describe the putative involvement of CNP-3, the chick homolog of human CNP, and its receptor natriuretic peptide receptor (NPR)-B besides known angiogenic factors and their receptors, vascular endothelial growth factor (VEGF)-A/vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR)-2 and fibroblast growth factor (FGF)-2/fibroblast growth factor receptor (FGFR)-2, in angiogenesis of the CAM. CAM samples between developmental days E7 and E20 were collected for light microscopic and transmission electron microscopic analyses. Expression of CNP-3/NPR-B, VEGF-A/VEGR-2, FGF-2/FGFR-2 mRNA in these CAM samples were also studied between E7 and E20. Light microscopy and electron microscopy analyzes showed that, vascular organization was mostly within the chorionic mesenchyme as endothelial tube-like structures on E7-E8 days. On E9 and later, advanced blood vessels were observed within the mesenchyme. VEGF-A and FGF-2 expression were observed in the early stages of CAM development (E7-E9) with a peak at E8. These molecules showed a second peak at around E16. Co-expression of VEGF-A, FGF-2 and CNP-3 were seen at E16-E20. VEGFR-2 expression was observed between E7-E12, whereas expression of FGFR-2 showed its first peak between E7-E9 and its second peak between E16-20. NPR-B expression, on the other hand, was observed between E7-E20 with its highest level at E16. In conclusion, the results revealed that CNP-3 may have a role in vascular organization via its NPR-B receptor in the later stages, i.e., E16-E20, of CAM development.

Key Words: CNP. CNP-3. NPR-B. Angiogenesis. Chorioallantoic membrane (CAM).

Geliş Tarihi: 05.Nisan.2021

Kabul Tarihi: 04.Mayıs.2021

Dr. Ahmet Çevik TUFAN
Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı.
Ankara, Türkiye.
Tel.: 0530 328 49 69
E-posta: ctufan76@gmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Ekin EFE: 0000-0001-6955-9839
Attila DAĞDEVİREN: 0000-0001-8990-8282
F. Figen KAYMAZ: 0000-0001-8896-2471
Ahmet Çevik TUFAN: 0000-0002-5920-0475

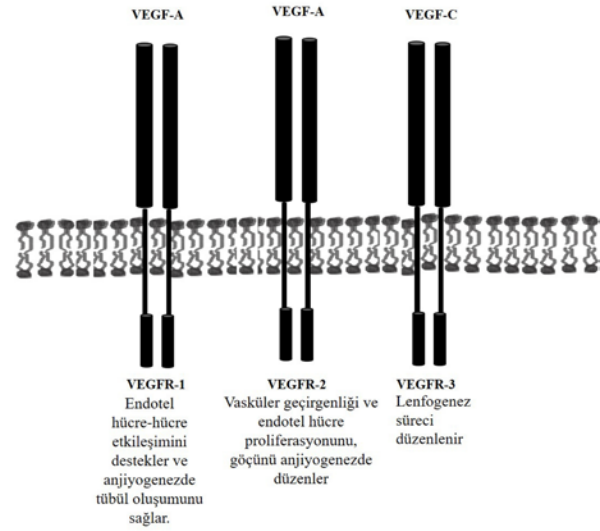
Vaskülogenez ve anjiyogenez embriyoda vasküler ağın oluşumunu ve gelişimini sağlayan iki temel süreçtir¹⁻⁵. Vaskülogenez, mezoderm kökenli anjiyoblastların farklılaşması sonucunda endotel ve primordiyal kan hücrelerine dönüşmesi, dolayısıyla *de novo* olarak ortaya çıkan primitif kan damarlarının oluşumu şeklinde tanımlanır²⁻⁶. Öte yandan, anjiyogenez vaskülogenezden farklı olarak, önceden var olan kan damarlarından endotelial proliferasyon ve migrasyon mekanizmaları ile yeni kan damarlarının oluşma sürecidir. Filizlenme ve intussusseptif olarak iki farklı anjiyogenez mekanizması tanımlanmıştır. Filizlenme şeklinde görülen anjiyogenez sürecinde endotelial proliferasyon ve hücre göçü sonucunda endotelial tüp oluşumu ortaya çıkar^{2,6-10}. Intussusseptif anjiyogenez ise, önceden var olan damarların mikrovasküler büyümesinden kaynaklanır ayrıca vasküler ağın yeniden şekillenmesi ve genişlemesinden de sorumludur⁹.

Bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF, FGF-2) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) hem vaskülogenezde hem de anjiyogenezde anahtar rol oynayan önemli faktörler olarak bilinmektedir¹¹. Kan damarlarının ilk oluşum sürecinde, mezodermi uyaran bir faktör olarak bFGF, embriyoda anjiyoblastlar ve hematopoetik hücreler oluşturmak için paraksiyal ve lateral mezodermi uyarır. VEGF ise bu hücrelerin daha fazla farklılaşmasına neden olur. Anjiyoblastlar, VEGF ve reseptörü olan vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-2 (VEGFR2 / flk-1 / KDR) aracılığıyla endotel hücrelerine farklılaşır.

VEGF ailesi; VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C ve VEGF-D'yi içerir. Bunlar arasında VEGF-A, vaskülogenez ve anjiyogenezde önemli role sahiptir. Bu aile biyolojik işlevlerini tip III reseptör tirozin kinazlara (RTK) bağlanarak gösterir. Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-1 (VEGR-1 / Flt-1), VEGFR-2 ve vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-3 (VEGFR-3 / Flt-4) bu kinaz ailesinin üyeleridir. Reseptörler, immünoglobulin benzeri (Ig benzeri) domain, transmembran domain ve hücre içi tirozin kalıntıları taşıyan kinaz domaini gibi sinyal kalıntılarını içerir. Bu reseptörler yaygın olarak normal fizyolojik koşullar altında, endotel hücrelerinin, hematopoetik hücrelerin, makrofajların ve vasküler düz kas hücrelerinin yüzeyinde ifade edilir¹².

Kan damarı oluşumu için temel olarak VEGF-A gerekli iken; lenfatik damarların oluşumu için VEGF-C gereklidir. VEGF-A, VEGFR-1 veya VEGFR-2'ye bağlanarak anjiyogenez ve vaskülogenezde aktivite gösterirken; VEGF-C, VEGFR-3'e bağlanarak lenfogenезin düzenlenmesinde görev alır¹² (Şekil 1). VEGF-A, anjiyogenezde endotel hücre filizlenmesinde VEGFR-2'ye bağlanarak endotel hücrelerinin geçirgenliğinin ve göçünün artmasında rol oynar. VEGF-A'nın VEGFR-1'e bağlanması, endotel hücre bölünmesini düzenleyerek gelişimsel kan damarı oluşumunu düzenler ve tüp oluşumu için endotel hücre

etkileşimini destekler. VEGFR-2 "knock-out" farelerde hiçbir vasküler oluşum gözlenmemektedir. Dolayısıyla, VEGF-A ve VEGFR-2 etkileşimi, vaskülogenez yoluyla ilkel damarların oluşumu için gereklidir. Ayrıca, gelişimin sonraki dönemlerinde ilkel vasküler ağ yapısının anjiyogenez ile daha kompleks hale gelmesi için de VEGF-A/VEGR-2 etkileşimi gereklidir. VEGFR-1 "knock-out" farelerde, anormal derecede geniş bir vasküler oluşum gözlenmektedir. VEGFR-1'in kinaz domaininin, normal vasküler gelişimde önemli olduğu bu şekilde gösterilmiştir^{13,14}.



Şekil 1.

VEGF-A ile reseptörleri olan VEGFR-1 ve VEGFR-2 etkileşimi, sırasıyla yeni damarların oluşumunu ve stabilitesini düzenler. VEGF-C, lenfogenезi uyarmak için VEGFR-3 aracılığıyla etkisini gösterir.

Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesi ilk keşfedildiğinde, fibroblastlar üzerinde mitojenik etkiye sahip oldukları gösterilmiştir. İlerleyen yıllarda, FGF'nin embriyodaki mezoderm kaynaklı vasküler endotelial hücrelerin farklılaşmasında etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, FGF endotel hücre mitojeni olarak da bilinmektedir. Bununla bağlantılı olarak, embriyoda kan damarı oluşumu ve/veya vasküler bütünlüğün korunması için FGF-2 gereklidir. Aynı zamanda hücre büyümesi ve çeşitli hücre tiplerinin farklılaşması için güçlü bir düzenleyicidir¹⁵⁻¹⁷. FGF ailesinin üyeleri, farklı FGF reseptörlerinin varyantları aracılığıyla sinyal iletmeye özelliğine sahiptir¹⁷. Bunlardan en çok çalışılanları, FGF-1 ve FGF-2'dir. FGF-1 ifadenmesi esas olarak merkezi sinir sisteminde görülürken; FGF-2, endotel hücreleri dahil birçok hücre tipinde ifade edilir. FGF-2, endotel hücre göçü üzerinde de etkilidir. Ayrıca, FGF-2 doku iyileşmesi, anjiyogenez, miyogenez, hematopoez gibi çeşitli süreçlerde de rol oynar¹⁸. FGF-2 etkisini, reseptör tirozin kinazlarla etkileşim yoluyla gösterir. Bu reseptör kinazlar, hücre yüzey reseptörleri olan fibroblast büyüme faktörü reseptörü-

Anjiyogenez Sürecinde CNP-3 ve NPR-B Ekspresyonu

1 ila -4 (FGFR1-4) ve hücre yüzeyine bağlanan heparan sülfat proteoglikanlardır (HSPG'ler). FGFR'ler, FGF-2'nin hücreler üzerindeki etkilerine aracılık ederken; HSPG'ler, FGF-2'nin reseptörlerine bağlanmasını modüle eder. FGFR1 daha fazla olacak şekilde hem FGFR-1 hem de FGFR-2'nin her ikisi de endotel hücrelerinde ifade edilir¹⁹. FGF-2'nin anjiyogenezdeki etkisi, tavuk koryoallantoik membran (CAM) modeli ve/veya tavuşanın korneası modeli kullanılarak gösterilmiştir^{20,21}.

Natriüretik peptid ailesi, yapısal olarak ilişkili en az üç peptid içerir. Bunlar atriyal natriüretik peptid (ANP), beyin natriüretik peptid (BNP) ve C-tipi natriüretik peptid (CNP). ANP ve BNP, esas olarak sırasıyla atriyum ve ventrikül tarafından üretilen kardiyak hormonlar olarak bilinir. Öte yandan CNP, merkezi sinir sisteminde baskındır; ancak aynı zamanda kıkırdak, epifiz plağı, kondrositler, osteoblastlar, osteoklastlar, endotel hücreleri ve vasküler düz kas hücreleri dahil olmak üzere çok çeşitli doku ve hücrelerde ifade edilir²²⁻²⁵.

Natriüretik peptitler için bilinen üç tip reseptör vardır. Bunlar: natriüretik peptid reseptörü-A (NPR-A, GC-A, NPR1), natriüretik peptid reseptörü-B (NPR-B, GC-B, NPR2) ve natriüretik peptid reseptörü-C (NPR-C, NPR3) olarak adlandırılırlar. Natriüretik peptitler, bu reseptörlere seçici olarak bağlanır. NPR-A için ligand seçiciliğinin sırası ANP> BNP>> CNP, NPR-B için CNP>> ANP> BNP ve NPR-C için ANP> CNP> BNP şeklindedir^{22,23,26}. NPR-A ve NPR-B, insanlarda bulunan 5 transmembran guanil siklazdan ikisidir. Üçüncü natriüretik peptid reseptörü olan NPR-C, aktivitesini çoğunlukla üç peptid molekülünün lokal konsantrasyonunu ayarlayarak gösterir²⁶. Bu özelliğinden dolayı NPR-C, natriüretik peptidlerin klirens (temizleme) reseptörü olarak bilinir²⁷.

CNP'nin, endotel hücreleri, kardiyomyositler ve vasküler düz kas hücreleri üzerinde, kardiyovasküler sistemde otokrin ve parakrin etkileri olduğu gösterilmiştir^{24,25,28-30}. Son çalışmalar, CNP'nin kardiyovasküler sistemde inflamasyon, anjiyogenez, düz kas ve endotel hücre proliferasyonu, ateroskleroz, hipertansiyon ve iskemide düzenleyici bir rol oynadığını ortaya koymuştur^{25,31}. CNP, bu süreçlerde reseptörleri olan NPR-B ve NPR-C aracılığıyla etki gösterir^{25,31}. NPR-B, vasküler düz kas hücrelerinde ifade edilir. Bu noktada, CNP ve NPR-B etkileşimi, anjiyogenezin ilerlemesinden ziyade vasküler tonusun lokal ayarlanmasıyla ilişkilidir²⁵. CNP'nin endotel hücreler üzerindeki göç etkisinin, anjiyogenezde potasyum kanallarının ATP aracılı aktivasyonu ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir. Bu çalışmada³², ölümsüzleştirilmiş fare beyin mikrovasküler endotel hücre hattı (BEnd.3) ve insan göbük kordonu damar endotel hücreleri (HUVECs) kullanılarak potasyum kanalları aracılığıyla CNP ve VEGF'in etkileri analiz edilmiştir. Sonuçlar, potasyum kanal aktivatörleri, CNP ve VEGF kullanımının anji-

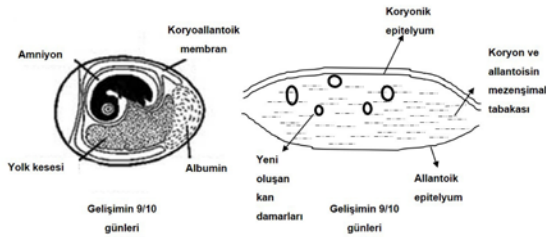
yogenezde benzer sonuçlar verdiğini göstermiştir. Ek olarak, aynı sonuçlar CAM analizi ile gösterilmiş ve potasyum kanal inhibitörleri kullanıldığında, CNP aracılı anjiyogenezin CAM yapısında bozulduğu gösterilmiştir. CNP'nin bu etkisine NPR-C'nin aracılık ettiği düşünülmüştür³². Başka bir çalışma³¹, CNP'nin konsantrasyona bağlı bir şekilde verildiğinde (1 µM konsantrasyonda), aort filizlenme testinde VEGF'e benzer bir yanıt ürettiğini ve bu etkinin NPR-C'ye bağlı olduğunu; ancak NPR-B'den bağımsız olduğunu göstermiştir. Ek olarak, endotelial CNP'nin, anjiyogenez ve vasküler yeniden modellenme sürecinde iskemiyeye yanıt olarak NPR-C aracılı bir etki gösterdiği ve reseptörün bu etkiyi Gi uyarımı, ERK1 / ERK2 ve PI3Kγ / Akt / protein kinaz-B aracılığıyla gerçekleştirdiği gösterilmiştir³¹. Bu çalışmalarda, CNP/NPR-C sinyal yolunun anjiyogenezdeki rolünün altı çizilmiştir.

Anjiyogenezin düzenlenmesinde CNP ile VEGF ve bFGF arasında ilişki olduğunu öne süren çalışmalar vardır. VEGF'in endotel hücrelerinde CNP salınımını inhibe ettiği ve CNP'nin VEGF üzerinde aynı etkiye sahip olduğu gösterilmiştir³¹. Başka bir çalışma, bFGF ve CNP arasındaki ilişkiyi göstermiştir. bFGF uyarımının aort ve beyin vasküler düz kas hücrelerinde CNP mRNA ifadesini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, aort düz kas hücrelerinde bFGF'in etkisi altında TGF-β aracılı uyarmanın CNP üretimini ve salgılanmasını azalttığı gösterilmiştir³³.

C-tipi natriüretik peptid, 2q24-qtter bir kromozomal lokasyona sahip tek bir gen, natriüretik peptid öncüsü C'nin (Nppc) ürünüdür^{23,26}. Houweling ve ark.³⁴, tavuk natriüretik peptid öncü gen kümesini tanımlayarak karakterize etmiş ve bu genin organizasyonunun, memeli Nppb-Nppa kümesiyle karşılaştırıldığında yüksek oranda korunmuş olduğunu bulmuştur³⁵. Buna ek olarak, tavuk CNP-3, insan CNP'sinin amino asit dizisiyle yüksek homoloji göstermektedir³⁴. Dolayısıyla tavuk CAM modelinin kullandığı bu çalışmada, önceki çalışmalarımızda da^{23,35} kullanılmış olan CNP-3/NPR-B dizilerini, revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile analiz yöntemi seçilmiştir.

Tavuk embriyosu gelişiminin başlangıcında koryoallantoik membran (CAM) avaskülarize bir yapıdır. Yumurtanın inkübasyonunun 5. gününde [(embriyonik 5. gelişim günü (E5)], CAM vaskülarizasyonu başlar. Tavuk embriyosunun allantoisi, inkübasyonun 3. günü civarında ventral endoderm arka bağırsak duvarı boyunca ilerler. Embrioyu ekstraembriyonik söloma doğru iter. E4 ve E10 arasındaki dönemde, allantoisin mezoderm tabakası (splanknik mezoderm), koryonun mezoderm tabakası (somatik mezoderm) ile birleşir ve böylece koryoallantoik membran oluşur (Şekil 2). Başka bir deyişle, CAM yapısı allantoisin epitel tabakası ile koryonun epitel tabakası arasında kalan splanknik ve somatik mezoderm tabakaların birleşmesinden oluşur. CAM yapısına katılan çift katmanlı

mezoderm kan damarları açısından zengindir ve embriyonik dolaşıma iki allantoik arter ve bir allantoik ven aracılığıyla bağlanır. Allantoik arterler ve ven embriyonik dolaşıma katkı sağlar. Bu yapılar, memelilerde bulunan umbilikal arterler ve vene benzer^{36,37}.



Şekil 2.

CAM, allantois ve koryon epiteli ile bunların mezenşim tabakalarından oluşur. CAM, embriyonik 4. günden itibaren gelişmeye başlar ve 10. günde gelişimini büyük ölçüde tamamlayarak yumurta kabuğunun içini tamamen kaplar. Yapısında yoğun bir vasküler ağ barındırır.

Tavuk CAM modeli, anjiyogenez çalışmaları için yaygın olarak kullanılmaktadır³⁸⁻⁴⁰. Endotel hücrelerin filizlenmesi ile izlenen anjiyogenez, E5 ila E7 gelişimi arasında görülür. Bu, CAM vasküler büyümesinin ilk aşaması olarak düşünülmektedir. E8-E12 arasında, intususseptif anjiyogenez (intususseptif mikrovasküler büyüme) belirgindir ve E13-E14 sırasında vasküler ağ, herhangi yeni bir ağ oluşumu veya karmaşık yapı olmaksızın hacim ve kütle olarak büyür^{40,41}. CAM'ın genel vasküler yapısı, kabuğa en yakın koryonik epitele bitişik bulunan kılcal vasküler tabakadan ve CAM içinde serbestçe yüzen ve embriyonik hareketler ile uyumlu hareket edebilen, daha derin ve daha büyük damarlardan oluşur^{40,42}. İlk aşamada henüz olgunlaşmamış kan damarları ve düz kas hücreleri mezoderm içinde yer alır. Kan damarları E8'e kadar çok hızlı büyür ve üzerini örten koryonik epitel hücreleri ile ilişkili kılcal pleksusa köken vererek dış çevre ile gaz alış-verişine aracılık eder^{40,43,44}. CAM, yüzey alanında hızlı büyümeye devam eder ve E10-E11 civarında CAM, yumurta kabuğu açıldığında altında açıkça görülebilir^{40,45,46}. E12'de CAM, iç kabuk zarının tüm yüzeyini kaplar ve E14'e kadar yüzey alanı genişlemeye devam eder^{40,47}. E16'da CAM'ın kılcal vasküler ağı ince yapısı, koryonik epitele komşu mezoderm içinde ve devamlı bir endotel tabakası ile örtülü, çevresindeki perisitlerin koryonik epitel içerisinde görüldüğü yoğun bir pleksus olarak tanımlanır^{40,48}. CAM'ın vasküler sistemi E18'de son kompleks yapısına ulaşır^{40,49}.

Kan damarlarının oluşumu, vaskülogenez ve anjiyogenez süreçlerini içeren kompleks bir olaydır. Büyüme faktörleri ve etki gösterdikleri sinyal yolları, bu süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Bu çalışma, gelişimi sürecinde CAM yapısını ışık ve elektron mikroskop

incelemelerinde tanımlamak ve CAM yapısı içerisinde görülen anjiyogenez sürecinde bilinen anjiyogenik faktörler olan VEGF-A ve FGF-2'nin yanı sıra CNP-3'ün mRNA ifade profilini, dolayısıyla süreçteki olası katkısını zamansal açıdan analiz etmek için planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Tavuk Embriyolarının Elde Edilmesi

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış ve Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje no: DA20/14). "ATAK-S" soyundan fertilize tavuk yumurtaları T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Yumurtalar, 37.5 °C'de ve nemli ortamını koruyan yumurta inkübatöründe istenilen süre inkübe edilmiştir. Çalışmada %10 oranında döllenmemiş yumurta olabileceği göz önüne alınmıştır ve buna bağlı olarak 90 adet tavuk yumurtası ile çalışılmıştır.

CAM Doku Örneklerinin Toplanması, Işık Mikroskobu ve Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ile CAM Örneklerinin Yapısal Analizi

Steril cerrahi aletlerle yumurtanın kabuğunun sivri olmayan tarafında bir pencere açılarak E7'den E20'ye kadar CAM doku örnekleri kesip çıkarılan kabuk altından toplanmıştır. Örnekler, ışık mikroskobu için %4 paraformaldehit içerisinde ve TEM için %2 glutaraldehit solusyonunda tespit edilmiştir⁵⁰. Işık mikroskop analizi için rutin histolojik teknikler kullanılmıştır. Gece boyu %4 paraformaldehit tespitinden sonra, örnekler %70 alkol içerisine alınmış ve artan dereceli alkol serisinden (%75, %96 ve %100) geçirilerek dehidrate edilmiştir. Ksilol ile muamele sonrasında parafinde 3 saat bekletilen dokular parafin bloklara gömülmüştür. Lizin kaplı lamalar üzerine 5 mikrometre kalınlığında kesitler alınmış ve ardından hematoksilen-eozin ile boyanmıştır. Işık mikroskopik analiz için ek olarak, %2 glutaraldehit ile tespit edilmiş CAM örneklerinden yarı ince kesitler hazırlanmıştır. Bunun için dokular glutaraldehit tespiti sonrasında küçük parçalara bölünmüş ve ikinci defa osmiyum tetroksitle tespit edildikten sonra, fazla suyun uzaklaştırılması için artan derecelerdeki etil alkol serilerinden geçirilmiştir. Örnekler propilen oksit, gömme materyalinde (v/v) [10 ml Araldit Resin, 10 ml Dodesenil süksinik anhidrit (DDSA), 0.5 ml Benzildimetilamin (BDMA), 1 ml Dibütül fitalat] 30 dakika bekletilmiştir. Sonrasında, %25 propilen oksit + %75 kısım gömme materyalinde (v/v), karıştırıcı üzerinde, oda ısısında, 2 saat karıştırılmıştır. Son olarak dokular gömme materyali ile gömme kapsülüne gömülmüştür. Hazırlanan bloklardan ultramikrotom ile 1 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak %1 toluidin mavisi ile boyanıp ışık

Anjiyogenez Sürecinde CNP-3 ve NPR-B Ekspresyonu

mikroskobu ile incelenmiştir. Müsküler arterlerinin gelişimi, arteriyollerin ilk görüldüğü zaman noktası, CAM yapısındaki bağ dokusu kalınlığı ve damar duvar kalınlığındaki değişim gibi tanımlayıcı parametreler ışık mikroskop ile incelenmiştir. Hematoksilen-Eozin ile boyanan preparatlar ve toluidin mavisi ile boyanan yarı ince kesitler Leica DFC 500 dijital kamera bağlı olan ışık mikroskop ile (Leica DM 3000, Almanya) fotoğraflanmıştır.

TEM analizi sürecinde yarı ince kesitler için hazırlanan bloklardan elde edilen 90 nm kalınlığındaki ince kesitler kullanılmıştır. Yarı ince kesitler ile işaretlenen bölgelerden alınan ince kesitler 100 ya da 200 mesh'lik bakır gridler üzerine alınmıştır. Alınan kesitler kontrast sağlamak amacıyla, uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanmıştır. Elektron mikroskobu, vasküler dallanma noktalarını görselleştirmek, endotel hücrelerdeki, granül depolayan hücrelerdeki ve koryonik ve allantoik epiteldeki değişiklikleri gözlemek için kullanılmıştır. İnce kesitler Gatan Orius SC-1000 dijital kamera bağlı olan geçirimli elektron mikroskop (Jeol JEM 1400, Japonya) ile incelenmiştir.

RNA İzolasyonu ve Revers-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyon (RT-PCR) Analizi

Belirlenen gelişim günlerinde CAM örneklerinden RNA izolasyonu, daha önce tarif edildiği şekilde²³, Trizol solüsyonu (Tri-reagent, Sigma, Almanya) kullanılarak yapılmıştır. Bunun için, E7 ile E20 arasında kalan süreçte CAM örnekleri günlük olarak toplanmıştır (E11, E14, E18 hariç). Toplam RNA konsantrasyonu ve saflığı A260/A280 oranı kullanılarak hesaplanmıştır (>1.8). İki aşamalı RT-PCR reaksiyonu için üretici firmanın (OneScript® Plus cDNA Synthesis Kit abm, Kanada) önerileri doğrultusunda önce 1 µg total RNA revers-transkriptaz (RT) reaksiyonu için kullanılmıştır ve ardından PCR reaksiyonu ile analizi istenen mRNA'lar amplifiye edilmiştir. RT reaksiyonları termal döngü cihazı kullanılarak iki aşamalı şekilde gerçekleştirilmiştir (Birinci aşama: 1 döngü 65 °C, 5 dakika ve +4 °C, 1 dakika. İkinci aşama: cDNA elde etmek için (ters transkripsiyon), 1 döngü 50 °C, 50 dakika, 85 °C, 5 dakika ve +4 °C, 5 dakika). Elde edilen cDNA ürünleri PCR için kullanıma kadar -20 °C'de saklanmıştır.

Analizi istenen genler için PCR döngü koşulları optimize edilmiştir ve normalizasyon aşamasında kontrol olarak kullanılan gliseraldehit fosfat dehidrogenaz (GAPDH) için PCR protokolünde 27 döngü ve analiz edilen diğer tüm genler için 30 döngü optimum olarak belirlenmiştir. Analiz edilen genler ve kullanılan primerler Tablo I'de listelenmiştir. Termal döngü cihazı kullanılarak gerçekleştirilen PCR koşulları şunlardır: 1 döngü, 95 °C, 12 dakika (aktivasyon); 25-30 döngü, 95 °C, 1 dakika (denatürasyon), 55-58 °C, 1 dakika (primerlerin yapışması), 72 °C, 1 dakika (uzama); 1 döngü, 72 °C, 10 dakika (son uzama). Elde edilen

PCR ürünleri +4 °C'de saklanmıştır. PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi ve etidyum bromür boyama ile görselleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünlerinin dansitometrik analizleri Image J programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html>). Her gelişimsel güne ait spesifik gen ifadeleri, aynı güne ait GAPDH ölçüm sonucu kullanılarak normalize edilmiştir ve sonuçlar grafikler şeklinde sunulmuştur.

Tablo I. Revers-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu için kullanılan primerler.

Hedef Gen	Kullanılan Primer Sekansları	Ürün	Gen Bankası Ulaşım Numarası
VEGF-A	F: CCGAAGCCCAACGAAGTTAT C R: CCTCCCTTTCTCGCTTT	349 bç	NM205042.2 (bu makale)
VEGFR-2	F: AGTCATAGGCAACGACACCG R: TGCACGCTTTTCTTGATGG	529 bç	NM001004368.1 (bu makale)
FGF-2	F: AAGCGCTCTACTGCAAGAA C R: TTGGTCCGGCTTGACTGT	325 bç	NM205433.1 (bu makale)
FGFR-2	F: CAGCTGACTCAAGCTCCTCC R: CACACAGCGACCATCCTGG	393 bç	NM205319.2 (bu makale)
CNP-3	F: AAGAGAGGGATCGTGAGCAA R: TCCTGGACAGACCCTTTTG	201 bç	XM427055 (23)
NPR-B	F: GCCTGCTCCGAGTACGTG R: GTGCAGGTGGGAGACGAA	252 bç	XM427055 (23)
GAPDH	F: AGTCATCCCTGAGCTGAAG R: AGGATCAAGTCCACAACACG	330 bç	J00849 (23)

*dipnot: F: "Forward" primer, R: "Reverse" primer, bç: baz çifti

Bulgular

CAM Yapısının Işık Mikroskopik Analizi

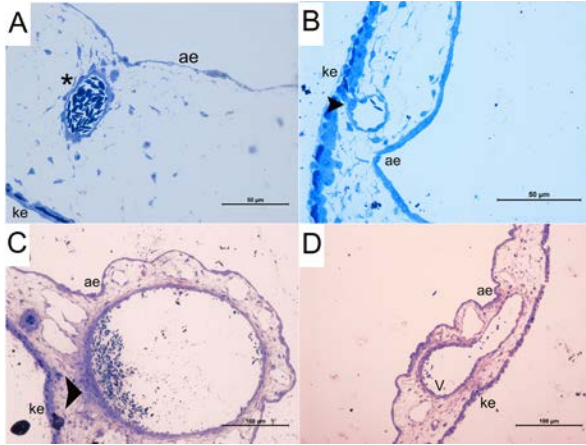
CAM gelişimi sürecindeki yapısal değişimleri incelemek için, Hematoksilen-Eozin ile boyanmış kesitler ve toluidin mavisi ile boyanmış yarı ince kesitler ışık mikroskop kullanılarak analiz edilmiştir. E7'de CAM mezenşimi içinde endotel tüp yapıları gözlenmiştir (Şekil 3A ve B). E12'de ana kan damarlarının çapının arttığı ve mezenşimden farklılaştığı öngörülen düz kas hücreleri ile bu damarların etrafının sarıldığı ve stabili-

lize edildiği gözlenmiştir (Şekil 3C). Sırasıyla E12 ve E13'te CAM yapısı içinde tanımlanmış müsküler arterler (Şekil 3C) ve orta büyüklükte ven yapıları görülmüştür (Şekil 3D).

E15'te, tunika muskularis tabakasındaki düz kas sayısındaki artışla tanımlanan müsküler arterler görüntülenmiştir (Şekil 4A). CAM mezenşim hücre yoğunluğunun ve buna paralel olarak CAM kalınlığının E15 ile E17 arasında arttığı görülmüştür (Şekil 4B ve C). Müsküler arterlerinin yapısı, tunika adventisyannın organizasyonu ile E15-E19 arasında daha fazla gelişme göstermiştir (Şekil 4B-D ve Şekil 5A-B). E20'de kalın bir mezenşim ve incelmış koryonik ve allantoik epitel yapıları gözlenmiştir (Şekil 4E). Ek olarak, gelişimin ileri evrelerinde, CAM mezenşiminde kan damarlarının koryona oldukça yaklaştığı gözlenmiştir (Şekil 4F).

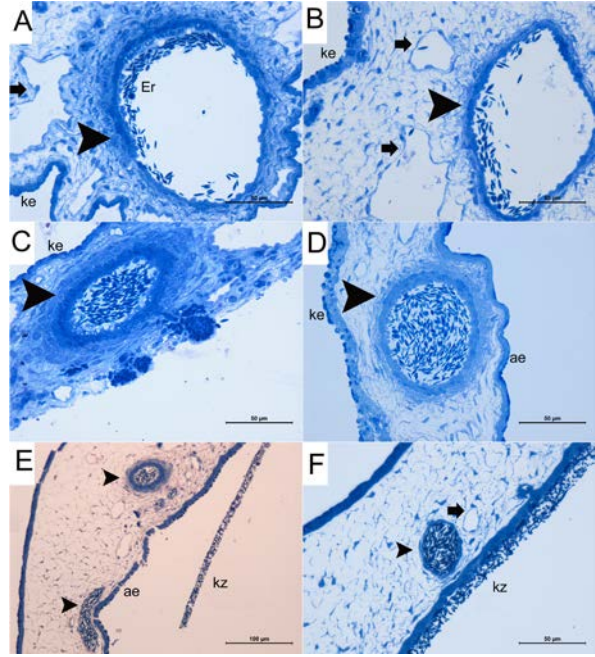
CAM Vasküler Yapısının TEM Analizi

E7'de CAM koryonik epitel altında ve mezenşim içinde endotel tüp yapıları gözlenmiştir (Şekil 6A). Koryonik epitel bu aşamada iki tabakalı olarak gözlenmiş olup, bu hücre tabakaları arasında desmozomlar görülmüştür (Şekil 6A). Ek olarak, hem mezenşim hücrelerinde hem de endotel hücrelerinde perinükleer alanda bulunan belirgin bir granüllü endoplazmik retikulumu (GER) gözlenmiştir (Şekil 6B-D).



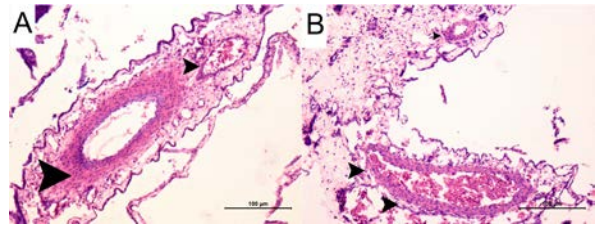
Şekil 3.

Toluidin mavisi boyama metoduyla E7, E12, E13'de boyanan CAM örneklerinin ışık mikroskop ile incelenmesi. E7'de yeni oluşan endotel tüp yapılarının mezenşim içerisinde gösterilmesi (yıldız işareti*) (A, X400). E12'de koryonik epitel altında ve mezenşim tabakasında görülen vasküler yapılar (B, X400). E12'de mezenşimde görülen müsküler arter yapısı (ok başı) (C, X200). E13'de mezenşim tabakasında görülen ven yapısı (D, X200). ae: allantoik epitel, ke: koryonik epitel, Er: eritrositler, V: ven.



Şekil 4.

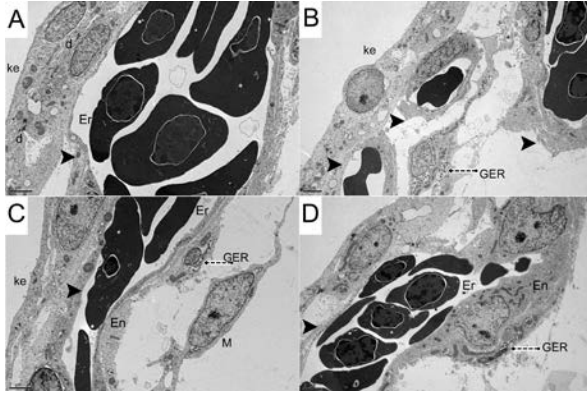
Toluidin mavisi boyama metoduyla E15, E16, E17 ve E19'da boyanan CAM örneklerinin mikroskop ile incelenmesi. E15'te lümeninde eritrositler ve lümen etrafında belirgin tunika media bulunan müsküler arter yapısı (kalın ok başı) komşuluğunda ven yapısı (ok) (A, X400). E16'da mezenşim tabakasında venöz yapılar (oklar) ve gelişmiş müsküler arter (B, X400). E17 ve E19'da mezenşim tabakasında duvar yapısı gelişkin müsküler arter yapıları (kalın ok başı) (C, D, X400) E20'de koryonik epitel altındaki mezenşim tabakasında yoğunlaşan lümeni ve duvarı belirgin damar yapısı (ok başı) ve yanında ince kılcal damar yapısı (ok) görüldü (E, X200 ve F, X400). ae: allantoik epitel, ke: koryonik epitel, Er: eritrositler, kz: kabuk zarı



Şekil 5.

Hematoksilen-Eozin boyama metodu kullanılarak E16'da boyanan örneklerin ışık mikroskop ile incelenmesi. E16'da CAM mezenşim içerisinde yer alan çeşitli boyutlarda vasküler yapıların gösterilmesi (ok başları) (A, B X200).

Anjiyogenez Sürecinde CNP-3 ve NPR-B Ekspresyonu

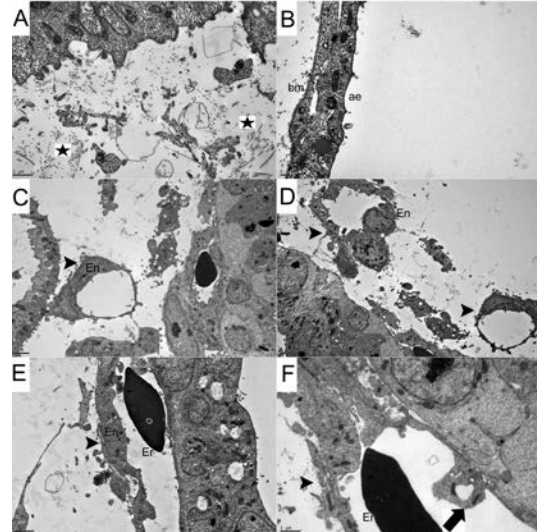


Şekil 6.

E7'de CAM örneklerinin ince yapısının TEM ile incelenmesi. CAM yapısındaki damarlar. Koryonik epitelin iki katlı görünümü ve desmozomlar (A, X8000). Koryonik epitele komşu lokalizasyonda kılcal damar yapıları (ok başı) (B, X6000). Koryona komşu yerleşimli damar endotelinin yakınına yerleşmiş mezenşim hücresi ve belirgin GER yapısı (kesikli ok) (C, X8000). Perinükleoler bölgeye lokalize GER yapısı (kesikli ok) belirgin endotel ile çevrili kan damarı (D, X6000). ke: koryonik epitel, M: mezenşim hücresi, Er: eritrositler, En: endotel hücresi, d: desmozom, GER: granüllü endoplazmik retikulumu.

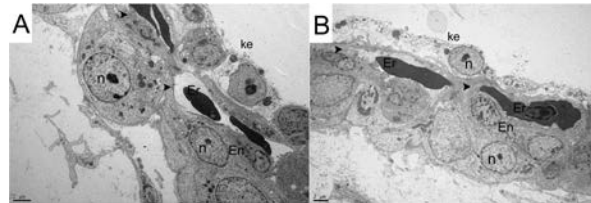
E8'de, CAM mezenşim tabakasında artmış kolajen sentezi görülmüştür (Şekil 7A). Allantoik epitel hücreleri ve bazal lamina arasındaki desmozomlar, E8'de açıkça gözlenmiştir. Allantoik epitelde beklenildiği gibi damar oluşumuyla ilgili herhangi bir yapı gözlenmezken, lipid damlacıklarının varlığı dikkati çekmiştir (Şekil 7B). Kan damarları, E8'de mezenşim içerisinde kolayca ayırt edilebilmiştir (Şekil 7C). Mezenşimde görülen bu kan damarları belirgin endotel hücrelerine sahiptir (Şekil 7D). Ek olarak, koryonik epitel ile yakın temas halinde endotel tüp yapıları gözlenmiştir (Şekil 7E) ve bu oluşumlarda intussuseptif anjiyogenezi düşündürülen sütun benzeri oluşumlar görülmüştür (Şekil 7F).

Koryonik epitel, E12'de çok katmanlı bir yapıda görülmüştür. Koryonik epitel komşuluğunda gelişen CAM vasküler yapıları devamlı şekilde endotel tüpleri olarak gözlenmiştir (Şekil 8A). Ayrıca, bu kılcal damarlar, E7'ye kıyasla koryonik epitelin yüzeyine çok daha yakın yerleşim göstermektedir (Şekil 8B). Ayrıca endotel hücrelerde heterokromatin E15'te kan damarlarının etrafındaki perivasküler hücrelerin artışı görülmüştür. E15'te vasküler organizasyonun küçük çaplı vasküler yapılara kadar ilerlediği, bu yapıların duvarlarında perisitlerin, lümenlerinde ise eritrositlerin yer aldığı gözlenmiştir (Şekil 9A). Vasküler yapılara komşu eozinofilik hücrenin varlığı görülmüştür (Şekil 9A). Özetle, bu aşamada koryonik epitele komşu vasküler organizasyonda artış dikkati çekmiştir (Şekil 9B).



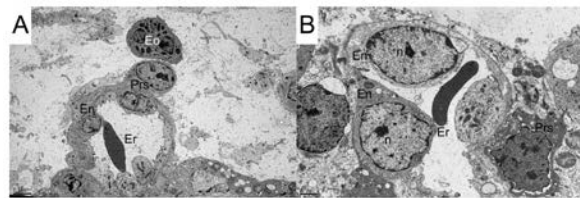
Şekil 7.

E8'de CAM örneklerinin ince yapısının TEM ile incelenmesi. Mezenşim tabakasında kolajen lifleri (yıldız işareti *) (A, X15000). Desmozomlar, lipid damlacıkları ve belirgin bazal membran (B, X20000). Mezenşim içerisinde vasküler yapılar (C, X6000, D, X5000, E, X8000). Endotel hücrelerinde oluşan sütun benzeri yapı (kalın ok) (F, X15000). ae: allantoik epitel, bm: bazal membran, d: desmozom, Er: eritrositler, En: endotel hücresi.



Şekil 8.

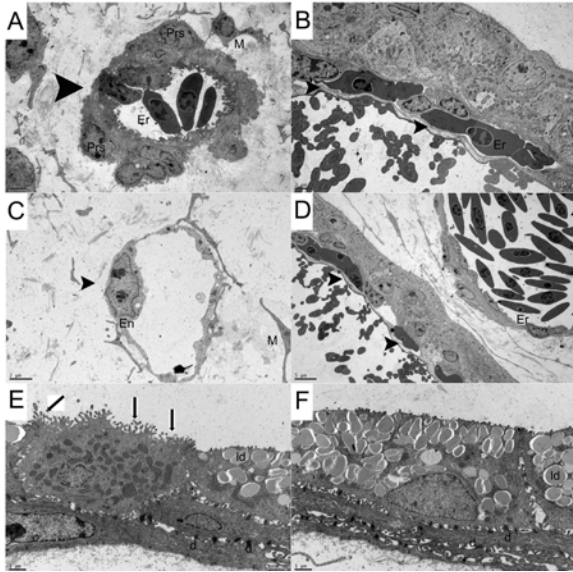
E12'de CAM örneklerinin ince yapısının TEM ile incelenmesi. Koryonik epitel hücreleri arasında sayıca artan ve yüzeye yakın konumlanan kılcal vasküler yapılar (ok başı ile gösterilen) (A, X6000 ve B, X5000). Ayrıca E12'de nükleolus (n) yapıları belirgin görülen koryonik epitel hücreleri gözlenmiştir. ke: koryonik epitel, Er: eritrositler, En: endotel hücresi, n: nükleolus.



Şekil 9.

E15'de CAM örneklerinin ince yapısının TEM ile incelenmesi. Eozinofil benzeri hücre komşuluğunda, perisitler ile çevrilmiş bulunan vasküler yapı (A, X6000). Nükleolus (n) yapıları belirgin endotel ile çevrilmiş bir lümeni ve perisitleri bulunan vasküler yapı (B, X12000). Er: eritrositler, n: nükleolus, En: endotel hücresi, Prs: perisit, Eo: eozinofil benzeri hücre.

E20'de E15'e göre daha gelişmiş ve mezenşime yerleşmiş kan damarları görülmüştür (Şekil 10A). Ayrıca, koryonik epitel altında ve yakın komşuluğunda yayılım gösteren endotel tüp yapısındaki kan damarları da gözlenmiştir (Şekil 10B). CAM mezenşiminde farklı büyüklükte kan damarları görülmüştür (Şekil 10C-D). Bu durum vasküler organizasyonun kompleks bir yapıya eriştiğini düşündürmüştür. E20 için en çarpıcı bulgu, hem allantoik hem de koryonik epitelin çok katmanlı yapısının ve bu epitel hücreleri arasında desmozomların gözlenmiş olmasıdır. Koryonik epitel yüzeyindeki parmak benzeri uzantılarla çok katlı bir görünüm sergilerken (Şekil 10E); allantoik epitel daha fazla katlı bir görünüme sahip olarak görüntülenmiştir (Şekil 10F).



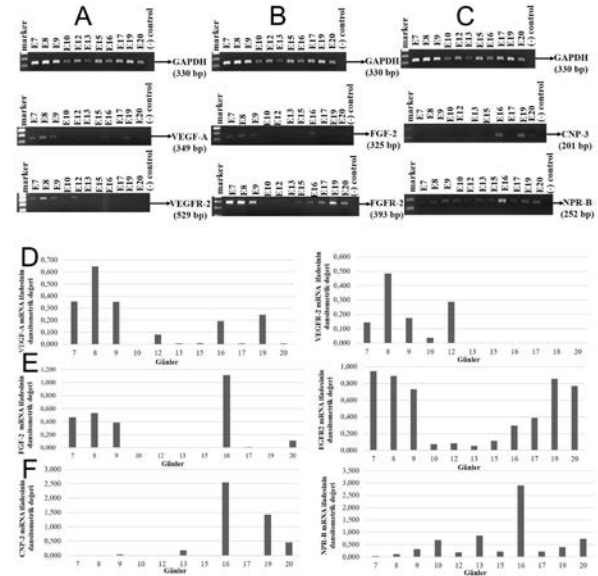
Şekil 10.

E20'de CAM örneklerinin ince yapısının TEM ile incelenmesi. Mezenşim içinde etrafında perisit ve mezenşim hücresi görülen arter benzeri gelişmiş vasküler yapı (A, X6000) ve koryonik epitel komşuluğunda sayıca artış gösteren kapiller vasküler yapılar (ok başı) (B, X6000). Mezenşim içerisinde bir vasküler yapı (C, X8000) ve mezenşimde daha kalın bir duvara ve geniş lümeneye sahip kan damarı (D, X3000). Koryonik epitelin yüzeyinde parmaklı çıkıntılar (oklar) dik-kati çekmiştir (E, X12000). Desmozomlar en çok, katmanlı allantoik epitelde görülmüş ve allantoik epitelde artmış lipid damlacıkları (ld) sayısı gözlenmiştir (F, X12000). Er: eritrositler, En: endotel hücresi, Prs: perisitler, M: mezenşim hücresi, d: desmozom, ld: lipid damlacıklar

CAM Örneklerinde VEGFA, FGF-2, CNP-3 ve Bu Ligandların Reseptörlerinin Zamana Bağlı mRNA İfadelerinin Analizi

CAM gelişimi sürecinde görülen vasküler yapılanmaya paralel olarak, VEGF-A (Şekil 11A), FGF-2 (Şekil 11B) ve CNP-3 (Şekil 11C) ve bu ligandların reseptörleri olan VEGFR-2 (Şekil 11A), FGFR-2 (Şekil 11B)

ve NPR-B'nin (Şekil 11C) zamana bağlı mRNA ifade düzeyleri RT-PCR ve etidyum bromür boyalı agaroz jel elektroforezi ile analiz edilmiştir. Elde edilen dansitometrik analiz sonuçları aynı zaman noktalarına karşılık gelen GAPDH ölçüm değerleri kullanılarak normalize edilmiştir.



Şekil 11.

E7-E20 sürecinde (E11, E14, E18 hariç) VEGF-A/VEGFR-2 (A), FGF-2/FGFR-2 (B) ve CNP-3/NPR-B (C) RT-PCR analizlerinin agaroz jel görüntüleri. E7-E20 sürecinde (E11, E14, E18 hariç) VEGF-A/VEGFR-2 (D), FGF-2/FGFR-2 (E) ve CNP-3/NPR-B (F) mRNA ifadelerinin dansitometrik analiz sonuçları (sonuçlar aynı zaman noktasındaki GAPDH mRNA ifade düzeyine göre normalize edilmiştir).

VEGF-A ve FGF-2 mRNA ifadesi, reseptörleri ile uyumlu olacak şekilde E7-E9'da gözlenmiş olup, E8'de pik yaptıkları görülmüştür (Şekil 11D-E). VEGF-A ve FGF-2'nin mRNA ifade düzeylerinin E10-E15 arasında azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 11D-E). VEGF-A mRNA ifadesinde E16-E19 arasında ikinci bir artış gözlenmiş olmasına rağmen, VEGFR-2 mRNA ifadesi E12'den sonra azalmış ve kaybolmuştur (Şekil 11D). FGF-2 mRNA ifadesi E16'da ikinci bir artış gösterirken, FGFR-2 mRNA ifadesi E15-E20 arasında kademeli olarak artmış ve ikinci kez en yüksek seviyesine E19'da ulaşmıştır (Şekil 11E).

CNP-3 mRNA ifadesi ilk olarak E13'te gözlenmiş olup, en yüksek seviyesine E16'da ulaştığı tespit edilmiştir (Şekil 11F). NPR-B mRNA ifadesinin ise tüm CAM gelişimi boyunca gözlenmesine rağmen en yüksek seviyesine, ligandı olan CNP-3 mRNA ifadesine paralel olarak, E16'da ulaştığı gözlenmiştir (Şekil 11F).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, tavuk embriyosu modeli kullanılarak, E7-E20 arasında CAM üzerinde görülen anjiyogenez süreci ışık ve transmisyon elektron mikroskop analizleri ile takip edilmiştir. Ayrıca, aynı günlerde alınan CAM örnekleri kullanılarak, anjiyogenez mekanizmalarında rol aldığı bilinen faktörlerin (VEGF-A ve FGF-2) ve reseptörlerinin (VEGFR-2 ve FGFR-2) yanı sıra, insan CNP homologu olan tavuk CNP-3 ve reseptörü NPR-B'nin mRNA ifade düzeylerinin zamana bağımlı değişimi analiz edilmiştir. Çalışmanın amacı, CNP-3'ün ve reseptörü olan NPR-B'nin CAM yapısı içerisinde görülen anjiyogenez sürecindeki mRNA ifade profilini, dolayısıyla süreçteki olası katkısını zamansal açıdan analiz etmek ve tanımlamak olarak planlanmıştır.

Literatürde CAM gelişimi, koryonik ve allantoik epitel ve bunların mezenşim tabakalarının morfolojisi ve moleküler özellikleri dikkate alınarak evrelendirilmiştir^{41,50}. Bu evreleme genellikle gelişimin erken, ileri ve geç aşamaları şeklinde ifade etmektedir. Bu doğrultuda çalışmamızda, CAM yapısında anjiyogenezi aşamalandırmak için ışık mikroskop analizleri kullanılmıştır. Sonuç olarak, damarların gelişim düzeyi ve damar duvarının yapısı ve kalınlığı dikkate alınarak çalışmamızda E7-E12 erken, E13-E18 ileri ve E18-E20 anjiyogenezin geç evreleri olarak belirlenmiştir.

VEGF-A, anjiyogenez sürecinde reseptörlerinden biri olan VEGFR-2 aracılığıyla endotel hücre proliferasyonunu, göçünü ve endotel hücre sağkalımını sağlayarak önemli bir rol oynamaktadır^{4,5}. Bu nedenle CAM vasküler gelişimi üzerine yapılan çalışmalar VEGF-A üzerinde yoğunlaşmıştır⁴¹. Bu çalışmada gösterilen ve E7-E9 arasında, diğer bir deyişle CAM vasküler gelişiminin erken döneminde artan VEGF-A mRNA ifadesi literatürle uyum göstermektedir^{41,51}. Bu veriler, E7-E12 arasındaki süreçte, mezenşimde endotel tüplerin varlığını gösteren ışık mikroskop analizlerimizle de desteklenmiştir (Şekil 3A-B). Anjiyoplastik hücrelerin, VEGF-A sinyali ile proliferen olan ve vaskülogenez/anjiyogenez süreçlerine katılan endotel hücrelere farklılaştığı düşünülmüştür. E7-E12 arasında VEGF-A'ya eşlik eden VEGFR-2 mRNA ifade profili de sonuçları desteklemektedir (Şekil 11D). Bu erken dönem, yeni kan damarlarının oluşumu ve gelişmesi, yani vaskülogenez oluşması ve anjiyogenezin başlaması için uygun zaman olarak kabul edilmiştir. Ayrıca, E7'de görülen ve özellikle kan damarlarının endotel hücrelerinde bulunan perinükleer bölgede belirgin olan granüllü endoplazmik retikulumu (GER) yapısı, VEGF-A ve FGF-2 sentezini kapsadığı düşünülen protein sentezi ile ilişkilendirilmiştir. Bu bulgular, damar oluşumu ve gelişiminde endotel hücre filizlenmesi aracılığıyla gerçekleşen anjiyogenezde VEGF-A ve VEGFR-2 arasındaki ilişkinin uyumluluğunu CAM

anjiyogenezi için de desteklemektedir. Özellikle, E12'de gözlenen koryonik epitelten tomurcuklanan endotel tüp yapılarının varlığı henüz oluşmaya başlayan kan damarlarını ve bu damarlardan anjiyogenez ile gelişen damarların organizasyonunu işaret etmektedir (Şekil 3B). Ayrıca, E8'de gözlemlenen sütun benzeri yapılar, bu dönemde literatürde gösterilen⁴¹ ve VEGF-A ile ilişkili olduğu belirtilen intussuseptif anjiyogenez ile de ilişkilendirilebilir. Ancak burada intussuseptif anjiyogenez konusunda daha net bilgiler elde edebilmek için ileri çalışmalara ve seri kesitlerin analizine ihtiyaç duyulmaktadır.

FGF-2, hem erken hem de geç anjiyogenezde rol oynamaktadır ve etkisini VEGF-A gibi diğer anjiyogenik faktörlerin ifadesini kontrol ederek göstermektedir^{52,53}. FGF-2'nin bu anjiyogenik etkisi, *in vitro* çalışmalarda CAM modeli kullanılarak da incelenmiştir^{44,51,54}. Çalışmamızda, FGF-2 mRNA ifadesi ilk olarak E7-E9 arasında ve ikinci olarak E16-E20 arasında olmak üzere iki pik düzey göstermiştir (Şekil 11E). FGF-2, endotel hücrelerinin proliferen olduğu, göç ettiği ve anjiyogenez aracılığıyla yeni tübül yapılarını oluşturduğu düşünülen bu günlerde VEGF-A ile birlikte ifade edilmektedir. FGF-2 ve VEGF-A mRNA ifadelerinin, CAM gelişiminin erken aşamalarında birbirleriyle örtüşmekte olduğu gösterilmiştir (Şekil 11D-E). E7-E9 arasında CAM yapısında yeni damarların oluşumunun gözlenmesi, FGF-2'nin bir endotel hücre mitojeni olarak VEGF-A ile sinerjistik etkiler gösterebileceği hipotezini desteklemektedir. Ayrıca FGF-2'nin yalnızca endotel hücreler üzerinde mitojenik etkileri yoktur. Fibroblastların çoğalmasını da düzenlediği bilinmektedir. FGF'in fibroblastlar üzerindeki bu etkisinin, E15 ile E17 arasında mükül arter yapısı gösteren ileri arterlerin duvar yapılarında yer alan düz kas ve bağ doku tabakalarının organizasyonunu açıklayabileceği düşünülmüştür. FGF-2 ve FGFR-2'nin her ikisi de endotel hücrelerinde ve vasküler düz kas hücrelerinde ifade edilmektedir. FGF-2, bu reseptörü aracılığıyla endotel hücreleri üzerindeki etkisini göstermektedir^{17,55}. FGFR-2 mRNA ifadesi, E7-E9 arasında ve E16'da kendi ligandı ile eşzamanlı olacak şekilde gösterilmiştir (Şekil 11E). Bu gözlem, FGF-2'nin FGFR-2 ile damar gelişiminin ileri evresinde etki gösterdiği hipotezini güçlendirmektedir.

E20'de CAM mezenşim içerisinde hem büyük lümenli ve gelişkin duvar yapısına sahip mükül arterlerin, hem de küçük lümenli ve ince duvar yapısına sahip vasküler yapıların varlığı gözlenmiştir. Ayrıca, koryon epiteline komşu arterioller ve kapiller vasküler yapılar da gözlenmiştir. Vasküler yapıların bu şekilde farklı büyüklük ve konumlarda düzenlenmesi ve kompleks bir yapıya değişimi, muhtemelen yumurtadan çıkmadan önce civcivin artan oksijen ihtiyacıyla ilişkilendirilmektedir.

CNP'nin kardiyovasküler sistemde rolü olduğu bilinmektedir³⁰. CNP'nin, insan aortik endotel hücrelerin-

den elde edilen hücre kültüründe ifade edildiği gösterilmiştir²⁴. Ayrıca CNP reseptörlerinden biri olan NPR-B'nin sadece merkezi sinir sisteminde bulunmadığı; aynı zamanda kan damarlarında da ifade edildiği bulunmuştur²⁸. Bu nedenle, CNP'nin reseptörü NPR-B aracılığıyla kardiyovasküler bir role sahip olduğu düşünülmektedir⁵⁶. Ek olarak, CNP'nin NPR-C yoluyla vasküler fonksiyonu düzenleme, vasküler yeniden modelleme ve anjiyogenezi düzenleme üzerinde etkileri olduğu gösterilmiştir³¹. Çalışmamızda, CNP-3'ün ve reseptörü olan NPR-B'nin CAM yapısı içerisinde görülen anjiyogenezi sürecindeki mRNA ifade profilini, dolayısıyla süreçteki olası katkısını zamansal açıdan analiz etmek ve tanımlamak amaçlanmıştır.

CAM yapısı içerisinde görülen anjiyogenezi sürecinde CNP-3 mRNA ifadesi ilk olarak E13'de görülmüş olup, E16'da pik seviyesine ulaşmıştır (Şekil 11F). E16'da FGF-2 ve CNP-3'ün eş zamanlı ifade edildiği gözlenmiştir (Şekil 11E-F). Bu sonuçlar, FGF-2 ve CNP-3'ün, CAM gelişimi ve ileri vasküler organizasyon sürecinde anjiyogenezin ileri ve geç aşamalarında rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca, E16'da embriyonun artan büyüklüğüne paralel olarak artan oksijenizasyon ihtiyacının da CNP-3 ve FGF-2 ifadesini uyarmış olabileceği yorumlanmıştır.

Sonuç olarak bu çalışma, VEGF-A ve FGF-2 tarafından düzenlenen anjiyogenik sinyal yollarına paralel olarak, CAM yapısında görülen anjiyogenezi sürecinde CNP-3/NPR-B sinyal yolağının da etki mekanizmasını araştırabilecek gelecekteki çalışmaların temelini oluşturmaktadır. CAM vasküler gelişimi sırasında CNP-3/NPR-B sinyal yolağının anjiyogenezi sürecindeki etki mekanizmasını açıklayabilmek için daha fazla fonksiyonel çalışmaya ihtiyaç vardır.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Araştırma Kurulu

Onay Tarihi: 14.10.2020

Karar No: 12/10/2020 tarih ve 20/14 sayılı karar

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım: A.Ç.T., E.E.; Veri toplama ve işleme: A.Ç.T., E.E., F.F.K.; Analiz ve verilerin yorumlanması: A.Ç.T., E.E., A.D.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: A.Ç.T., E.E., A.D., F.F.K.

Destek ve Teşekkür Beyanı:

Bu makalede yer alan çalışmalar DA20/14 nolu proje kapsamında Başkent Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalından Uzman Biyolog Ece Lakşe Coşar'a elektron mikroskop numunelerinin hazırlanmasında verdiği destekten dolayı teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarlarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Noden DM. Embryonic origins and assembly of blood vessels. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140: 1097-1103.
2. Poole TJ, Coffin JD. Vasculogenesis and angiogenesis: two distinct morphogenetic mechanisms establish embryonic vascular pattern. *J Exp Zool* 1989; 251: 224-231.
3. Risau, W. Vasculogenesis, angiogenesis and endothelial cell differentiation during embryonic development; in Feinberger, R.N., G.K. Sherer, R. Auerbach (eds): *The Development of the Vascular System. Issues in Biomedicine*. Basel Karger 1991; 14: 58-68.
4. Edward MC, De'sire' C, Peter C. Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovascular Research* 2001; 49: 507-521.
5. Naito H, Iba T, Takakura N. Mechanisms of new blood-vessel formation and proliferative heterogeneity of endothelial cells. *Int Immunol* 2020; 32: 295-305.
6. Giles JJ, Bannigan JG. The effects of lithium on vascular development in the chick area vasculosa. *J Anat* 1999; 194: 197-205.
7. Patan S. Vasculogenesis and angiogenesis as mechanisms of vascular network formation, growth and remodeling. *J Neuro-oncol* 2000; 50: 1-15.
8. Tufan A.C., Satiroglu-Tufan N.L. The effect of ethanol exposure on extraembryonic vascular development in the chick area vasculosa. *Cells Tissues Organs* 2003; 175:85-97
9. Risau W. Mechanism of angiogenesis. *Nature* 1997; 386: 671-4.
10. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000; 6(4): 389-95.
11. Kachooei SA, Rahmani R, Zareh N, et al. Down-regulation of TGF- β , VEGF, and bFGF in vascular endothelial cells of chicken induced by a brittle star (*Ophiocoma erinaceus*) extract. *Heliyon* 2020; 6: e03199.
12. C be-Suarez S, Zehnder-Fj llman A, Ballmer-Hofer K. The role of VEGF receptors in angiogenesis; complex partnerships. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63(5): 601-615.
13. Cao R, Eriksson A, Kubo H, et al. Comparative Evaluation of FGF-2-, VEGF-A-, and VEGF-C induced angiogenesis, lymphangiogenesis, vascular fenestrations, and permeability. *Circulation Research* 2004; 94:664-670.
14. Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, et al. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000; 14;407(6801):242-8.
15. Leconte I, Fox JC, Baldwin HS, et al. Adenoviral-mediated expression of antisense RNA to fibroblast growth factors disrupts murine vascular development. *Dev Dyn*. 1998; 213: 421-30.
16. Lee SH, Schloss DJ, Swain JL. Maintenance of vascular integrity in the embryo requires signaling through the fibroblast growth factor receptor. *J Biol Chem* 2000; 275: 33679-87.
17. Javerzat S, Auguste P, Bikfalvi A. The role of fibroblast growth factors in vascular development. *Trends Mol Med*. 2002; 8: 483-9.
18. Bikfalvi A, Klein S, Pintucci G, et al. Biological roles of fibroblast growth factor-2. *Endocr Rev* 1997; 18: 26-45.
19. Bahramsoltani M, Spiegelaere WD, Janczyk P, et al. Quantitation of angiogenesis in vitro induced by VEGF-A and FGF-2 in two different human endothelial cultures - an all-in-one assay. *Clin Hemorheol and Microcirc* 2010; 46:189-202.
20. Joseph-Silverstein J, Rifkin DB. Endothelial cell growth factors and the vessel wall. *Semin Thromb Hemost* 1987; 13: 504-13.
21. Klagsbrun M, D'Amore PA. Regulators of angiogenesis. *Annu Rev Physiol* 1991; 53: 217-39.

Anjiyogenez Sürecinde CNP-3 ve NPR-B Ekspresyonu

22. Olney RC, Bukulmez H, Bartels CF, et al. Heterozygous mutations in natriuretic peptide receptor- B (NPR2) are associated with short stature. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1229–1232.
23. Alan T, Tufan AC. C-Type Natriuretic Peptide Regulation of Limb Mesenchymal Chondrogenesis is Accompanied by Altered N-Cadherin and Collagen Type X-Related Functions. *J Cell Biochem* 2008; 105: 227-235.
24. Stingo AJ, Clavell AL, Heublein DM, et al. Presence of C-type natriuretic peptide in cultured human endothelial cells and plasma. *Am J Physiol* 1992; 263: H1318-21.
25. Špiranec K, Chen W, Werner F, et al. Endothelial c-type natriuretic peptide acts on pericytes to regulate microcirculatory flow and blood pressure. *Circulation* 2018; 138: 494-508.
26. Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM. Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocr Rev.* 2006; 27: 47-72.
27. Rose RA, Giles WR. Natriuretic peptide c receptor signaling in the heart and vasculature. *J Physiol* 2008; 586: 353–366.
28. Suga S, Nakao K, Itoh H, et al. Endothelial production of c-type natriuretic peptide and its marked augmentation by transforming growth factor-beta. Possible existence of "vascular natriuretic peptide system". *J Clin Invest.* 1992; 90: 1145-9.
29. Moyes AJ, Hobbs AJ. C-type natriuretic peptide: a multifaceted paracrine regulator in the heart and vasculature. *Int J Mol Sci.* 2019; 20: 2281.
30. Lumsden NG, Khambata RS, Hobbs AJ. c-type natriuretic peptide (CNP): cardiovascular roles and potential as a therapeutic target. *Curr Pharm Des.* 2010; 16: 4080-8.
31. Bubb KJ, Aubdool AA, Moyes AJ, et al. Endothelial c-type natriuretic peptide is a critical regulator of angiogenesis and vascular remodeling. *Circulation.* 2019; 139: 1612-1628.
32. Umaru B, Pyriochou A, Kotsikoris V, et al. ATP-sensitive potassium channel activation induces angiogenesis in vitro and in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 2015; 354: 79-87.
33. Woodard GE, Rosado JA, Brown J. Expression and control of c-type natriuretic peptide in rat vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2002; 282: R156-65.
34. Houweling AC, Somi S, Massink MP, et al. Comparative analysis of the natriuretic peptide precursor gene cluster in vertebrates reveals loss of ANF and retention of cnp-3 in chicken. *Dev Dyn* 2005; 233: 1076–1082.
35. Kocamaz E, Gok D, Cetinkaya A, et al. Implication of c-type natriuretic peptide-3 signaling in glycosaminoglycan synthesis and chondrocyte hypertrophy during TGF-β1 induced chondrogenic differentiation of chicken bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *J Mol Histol* 2012; 43: 497-508.
36. Merckx G, Tay H, Lo Monaco M, et al. Chorioallantoic membrane assay as model for angiogenesis in tissue engineering: focus on stem cells. *Tissue Eng Part B Rev* 2020; doi: 10.1089/ten.TEB.2020.0048.
37. Ribatti D. The chick embryo chorioallantoic membrane (CAM). A multifaceted experimental model. *Mech Dev* 2016; 141: 70-77.
38. Patrycja NS, Tatiana S, M. Luisa IA. The chicken chorioallantoic membrane model in biology, medicine and bioengineering. *Angiogenesis* 2014; 17: 779-804.
39. Ergin C, Tufan AC, Yılmaz C. Bartonella Henselae tarafından uyarılan anjiyogenezin, in vivo model olarak yumurta açığında, kabuksuz tavuk embriyosu kültürü üzerinde, koryoallantoik membranda gösterilmesi. *Nobel Med* 2012; 8: 108-112.
40. Tufan AC, Satiroglu-Tufan NL. The chick embryo chorioallantoic membrane as a model system for the study of tumor angiogenesis, invasion and development of anti-angiogenic agents. *Curr Cancer Drug Targets* 2005; 5: 249-66.
41. Baum O, Suter F, Gerber B, et al. VEGF-A promotes intussusceptive angiogenesis in the developing chicken chorioallantoic membrane. *Microcirculation* 2010; 17: 447–457.
42. Richardson, M.; Singh, G. Observations on the use of the avian chorioallantoic membrane (CAM) model in investigations into angiogenesis. *Curr. Drug Targets-Cardiovasc. Haematol. Disord* 2003; 3:155-185.
43. Ribatti D, Nico B, Vacca A, et al. Chorioallantoic membrane capillary bed: a useful target for studying angiogenesis and anti-angiogenesis in vivo. *Anat. Rec* 2001; 264:317-324.
44. Ribatti D, Presta M. The role of fibroblast growth factor-2 in the vascularization of the chick embryo chorioallantoic membrane. *J. Cell Mol. Med.* 2002; 6: 439-446.
45. Schlatter P, König MF, Karlsson LM, et al. Quantitative study of intussusceptive capillary growth in the chorioallantoic membrane (CAM) of the chicken embryo. *Microvasc. Res.* 1997; 54: 65-73.
46. Miller SA, Bresee KL, Michaelson CL, et al. Domains of differential cell proliferation and formation of amnion folds in chick embryo ectoderm. *Anat. Rec* 1994; 238: 225-236.
47. DeFouw DO, RizzoVJ, Steinfeld R, et al. Mapping of the microcirculation in the chick chorioallantoic membrane during normal angiogenesis. *Microvasc. Res* 1989; 38: 136-147.
48. Wangenstein D, Weibel ER. Morphometric evaluation of chorioallantoic oxygen transport in the chick embryo. *Respir. Physiol.* 1982; 47: 1-20.
49. Ausprunk DH, Knighton DR, Folkman J. Differentiation of vascular endothelium in the chick chorioallantois: a structural and autoradiographic study. *Dev. Biol* 1974; 38: 237-248.
50. Makanya AN, Dimova I, Koller T, et al. Dynamics of the developing chick chorioallantoic membrane assessed by stereology, allometry, immunohistochemistry and molecular analysis. *PLoS One.* 2016; 5: e0152821.
51. Marinaccio C, Nico B, Ribatti D. Differential expression of angiogenic and anti-angiogenic molecules in the chick embryo chorioallantoic membrane and selected organs during embryonic development. *Int J Dev Biol* 2013; 57: 907-16.
52. Presta M, Dell'Era P, Mitola S, et al. Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005;16: 159-78.
53. Kano MR, Morishita Y, Iwata C, et al. VEGF-A and FGF-2 synergistically promote neoangiogenesis through enhancement of endogenous PDGF-B-PDGFR-beta signaling. *J Cell Sci* 2005; 118: 3759-68.
54. Ribatti D, Urbinati C, Nico B, et al. Endogenous basic fibroblast growth factor is implicated in the vascularization of the chick embryo chorioallantoic membrane. *Dev Biol.* 1995; 170: 39-49.
55. Yang X, Liaw L, Prudovsky I, et al. Fibroblast growth factor signaling in the vasculature. *Curr Atheroscler Rep* 2015; 17: 509.
56. Pedram A, Razandi M, Levin ER. Natriuretic peptides suppress vascular endothelial cell growth factor signaling to angiogenesis. *Endocrinology.* 2001; 142: 1578-86.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Canlı Donör Karaciğer Naklinde Safra Yolu Varyasyonlarının Biliyer Komplikasyonlara Etkisi

Hikmet AKTAŞ

Acıbadem Bursa Hastanesi, Organ Nakli Bölümü, Bursa.

ÖZET

Canlı donör karaciğer nakillerinde, donör safra yollarının bölünmesi donör hepatektominin en kritik aşamalardan biridir. Bu çalışmada, merkezimizde sağ lobektomi uygulanan canlı donörlerin safra yolu varyasyonlarının belirlenmesi ve bu varyasyonların postoperatif alıcı safra komplikasyonları ile ilişkisi araştırılmıştır. Ocak 2016 ile Ocak 2018 arasında yapılan canlı donör hepatektomi olgularının verileri retrospektif olarak incelendi. Araştırmaya sağ lobektomi uygulanan donörler (229 olgu) ve minimum 2 yıl takip süresi olan alıcıları dahil edildi. Re-trasplantasyon yapılan ve primer biliyer patoloji nedeniyle karaciğer nakli uygulanan alıcılar çalışma dışı bırakıldı. Huang sınıflamasına göre en sık tespit edilen tip A1 (%45) idi. Donörler, greft safra ağzı tek, çift ve üç adet olanlar şeklinde sırasıyla grup A, B ve C olmak üzere üç gruba ayrılarak postoperatif komplikasyonlar karşılaştırıldı. Group A, B ve C sırasıyla 123 (%53,7), 94 (%41) ve 12 (%5,2) olgudan oluştu. 36 hastada safra komplikasyonu (darlık, kaçak) tespit edildi (%15,7). Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada safra komplikasyonu açısından anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.05$). Pre-perioperatif safra yolu değerlendirmesinin etkin yapılması ve uygun cerrahi stratejinin belirlenmesi durumunda greft safra ağzı sayısının alıcı safra komplikasyonları açısından kötü prognostik etkisi yoktur.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer nakli. Safra anatomisi. Canlı donör. Safra komplikasyonu.

Effect of Biliary Tract Variations on Biliary Complications in Living Donor Liver Transplantation

ABSTRACT

Dividing bile ducts during donor hepatectomy is one of the critical step of the living donor liver transplantation. To determine the biliary anatomy of graft who underwent right lobe donor hepatectomy in our center and to evaluate effect of biliary variations on recipient biliary complications was the main purpose of this study. The data of donors who were performed right donor hepatectomy between January 2016 and January 2018, were analyzed retrospectively. Two hundred twenty-nine patients who were carried out right lobe donor hepatectomy and the recipients of these donors who had at least two years follow-up were included in the study. Recipients who underwent liver transplantation due to primary biliary pathology and re-transplanted recipients were excluded. The most detected biliary type was A1 (45%) according to Huang classification. Donors were divided into three groups in related to number of bile duct orifice as group A, B and C which contains one, two and three bile duct orifices, respectively and postoperative biliary complications were compared between these groups. There were 123 (53.7%), 94 (41%) and 12 (5.2%) patients in Group A, B and C, respectively. Thirty-six recipients (15.7%) experienced biliary complications. There was no statistical difference between groups associated with biliary complications ($p>0.05$). The number of greft bile orifice has no effect on recipient biliary complications whether, if the pre-perioperative assessment of bile anatomy is investigated effectively and the surgical strategy is decided properly.

Key Words: Liver transplantation. Biliary anatomy. Living donor. Biliary complications.

Geliş Tarihi: 02.Nisan.2021

Kabul Tarihi: 14.Haziran.2021

* 8. Uludağ Genel Cerrahide Güncel Yaklaşımlar Toplantısı (17 Mart 2019 Uludağ/Bursa) sözlü biliri olarak sunulmuştur.

Dr. Hikmet AKTAŞ
Acıbadem Bursa Hastanesi, Organ Nakli Bölümü, Bursa
Tel.: 0532 207 76 60
E-posta: drhikmetaktas@hotmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:
Hikmet AKTAŞ: 0000-0001-7943-0633

Son iki dekatta, safra yollarının damarsal beslenmesi ve varyasyonları daha iyi anlaşılmasına ve cerrahi tekniklerde gelişim gösterilmesine rağmen, safra komplikasyonları canlı donör karaciğer nakli (CDKN) sonrası en önemli morbidite ve mortalite sebebi olmaya devam etmektedir. Anastomoz darlığı başta olmak üzere safra komplikasyonlarının CDKN sonrası insidansının (%5.3-%40.6) yüksek olmasının nedenleri olarak öne çıkan faktörler, çok sayıda ve farklı çapta safra yolu ağzı varlığı, safra ağacı beslenmesinin bozulması ve cerrahi yetersizliklerdir¹⁻⁵.

Safra yolları anatomisinin sınıflandırılması, endoskopik retrograd kolanjiyografi (ERK), intraoperatif kolanjiyografi (İOK), bilgisayarlı tomografi kolanjiyografi (BT-K) ve magnetik rezonans kolanjiyografi (MRK)

bulgularına dayandırılarak yapılmıştır⁶⁻⁸. Literatürde en sık kullanılan Huang sınıflaması⁶, sağ posterior hepatic safra yolunun (SPSY) ana safra yoluna (ASY) dökülme şekline göre tanımlanmıştır. Ancak daha sonra yapılan çalışmalar, varyasyonların insidansları açısından farklı ırklarda ve farklı coğrafyalarda önemli farklar olduğunu ortaya koymuştur⁷⁻⁹. Türkiye'den yapılan iki farklı çalışmada^{10,11} da Huang'ın bildiridiği varyasyon insidanslarından farklı oranlar ortaya konulmuştur.

Bu çalışmada, CDKN sayısı açısından yüksek volümlü olan merkezimizde, canlı donör safra yolu varyasyonlarının ortaya konulması ve bu varyasyonların alıcı safra komplikasyonlarına olan etkisinin ortaya konulması amaçlandı. Donöre ait faktörler olarak yaş ve vücut kitle indeksi (VKİ) ve safra anastomozu tekniğinin safra komplikasyonlarına etkisi ayrıca incelendi. Çalışmanın, özellikle bölgesel safra yolu haritası çıkarılmasına katkı sunması öncellenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Çalışma retrospektif olarak dizayn edildi ve lokal etik kurul onayı alındı (ATADEK:2020-15/9). Ocak 2008 ile Ocak 2018 arasında yapılan sağ lob donör hepatektomi olguları ve bu donörlere ait alıcılardan en az iki yıllık takip süresi olanlar çalışmaya dahil edildi. Karaciğer re-transplantasyon uygulanan ve primer sklerozan kolanjit, primer biliyer siroz gibi esas olarak safra yolu patolojisine bağlı olarak karaciğer nakli uygulanan alıcılar (ve donörleri) çalışma dışı bırakıldı.

Merkezimizde, canlı donör safra anatomisi değerlendirilmesi, rutin olarak preoperatif yapılan MR-K ve peroperatif yapılan İOK bulguları ile değerlendirilmektedir. Peroperatif alıcı safra yolu bulguları da dahil edilerek Roux-en-Y duktojejunostomi veya uçuca safra yolu anastomozu kararı verilmektedir. Greftte ait değerlendirilen bulgular, safra ağzı sayısı ve çoklu ise birbirine mesafesidir. Alıcıya ait bulgular ise: alıcı safra yolu mukozasının kanlanması durumu, çevre dokularının disseksiyon sırasında korunmuş olup olmadığı, greft safra yolu sayısına göre alıcı safra yollarının sayısı ve çap uyumsuzluğu olup olmadığıdır. Çoklu safra anastomoz yapıldığında ve kanlanmaya dair şüphe içeren durumlarda safra yollarına kateter konulmaktadır. Bu kateter ilk 4 hafta açık takip edilip sonra kapatılmaktadır. Nakil sonrası üçüncü ayda kontrol kolanjiyografi çekildikten sonra kateter çekilmektedir. Bu kolanjiyografide darlık tespit edildiği durumlarda, uçuca safra anastomozu yapılan hastalar ERK işlemine yönlendirilmektedir. Duktojejunostomi hastalarında anastomozun fizyolojisi nedeniyle perkütan transhepatik kolanjiyografi (PTK) yöntemi kullanılmaktadır.

Safra komplikasyonu tanısı, klinik olarak kolanjit ve peritonit bulguları gelişmesi, drenlerde safra varlığı ve

laboratuar olarak bilirubin ve alkalen fosfataz değerlerinde yükselme olması durumunda konulmaktadır. Tanı, MR-K ile doğrulanmaktadır. Klinik olarak kontrol altındaki minimal kaçaklarda ilk tercih olarak konservatif kalınmaktadır. Ancak, ilerleyen ve baştan major olan kaçaklarda ERK ile safra stenti yerleştirilmesi ilk tercih edilen invaziv tedavi yöntemidir. Başarısız olunan durumlarda, PTK ile drenaj kateteri yerleştirilmektedir.

Donörlere ait demografik veriler, safra yolu anatomisi bulguları ve postoperatif safra komplikasyonlarına ait veriler retrospektif incelendi. Donörlere ait safra anatomisi Huang yöntemine göre sınıflandırıldı. Sınıflandırmada İOK bulguları esas alındı. Donörler, grefte ait safra yolu ağzı sayısına göre 3 gruba ayrıldı. Grup A tek safra yolu, grup B iki safra yolu ve grup B üç safra yolu ağzına sahip greftleri kapsıyordu.

Alıcılara ait safra darlığı ve kaçığı komplikasyonları retrospektif olarak incelendi. Bu komplikasyonlar birlikte ve ayrı ayrı donör referanslı oluşturulan üç gruba göre istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programında yapılmıştır. Tanımlayıcı veriler, ortalama (min-max) ve yüzde (%) olarak tanımlandı. Kategorik değişkenler frekans (n) ve yüzde (%) değerleri ile verilmiş olup, karşılaştırmalarında Fisher'in exact chi-square testi kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

Bulgular

Kriterlere uyan 229 donör ve alıcıları çalışmaya dahil edildi. 131 donör erkek (%57,2) ve 98 donör kadın (%42,8) idi. Yaş ortalaması 31,6 (18-57 yaş) idi.

Huang sınıflandırmasına göre, A1 tipi en çok tespit edilen (103, %45) safra varyasyonu iken, A5 en nadir görülen (2, %0,9) varyasyon idi. Grup A, B ve C sırasıyla 123 (%53,7), 94(%41) ve 12 (%5,3) donörden oluşuyordu. Safra anastomozlarının altı tanesi (%2,6) duktojejunostomi ve diğerleri (223, %97,4) uç-üca anastomoz şeklinde yapıldı.

Donörlerin sadece yedisinde safra kaçığı tespit edilirken (%3), hiçbir donörde safra yolu darlığı izlenmedi. Bu 7 olgudan dördünde safra kaçığı postoperatif ilk 1 haftada spontan kapandı ve takiplerde problem yaşanmadı. 3 hastada ise girişimsel radyoloji tarafından drenaj kateteri konuldu ve 1 ay sonra safra kaçığı spontan kapandı ve drenaj kateteri çekildi. Hiçbir donörde ERK gerekmedi. Donörlere ait safra yolu verileri Tablo 1'de listelendi.

Donör Safra Anatomisi ve Safra Komplikeyonları

Tablo I. Donör safra anatomisi bulguları

	Donör sayısı (n:229)
Huang sınıflamasına göre:	
Tip A1	103 (%45)
Tip A2	51 (%22.3)
Tip A3	63 (%27.5)
Tip A4	10 (%4.3)
Tip A5	2 (0,9)
Greft safra ağzına göre:	
Grup A: tek ağız	123 (%53.7)
Grup B: çift ağız	94 (%41)
Grup C: üç ağız	12 (%5.3)

Alıcılarda toplam safra komplikasyonu oranı %15,7 (36/229) idi. Safra darlığı ve kaçığı sayısı sırasıyla 30 (%83,3) ve 6 (%6,7) idi. Safra anatomisi ile alıcı safra komplikasyonları arasında, Huang Tip 2 dominansı olmak üzere, istatistiksel anlamlı ilişki mevcuttu ($p<0.001$) (Tablo II). Greft safra sayısı ile alıcı safra komplikasyonları arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.121$) (Tablo III).

Tablo II. Safra anatomisi ve safra komplikasyonları

	Alıcı Safra Komplikeyonu						Anlamlılık (p)
	Yok		Darlık		Kaçık		
	n	%	n	%	n	%	
1	100	51,8	2	6,7	1	16,7	<0,001
2	39	20,2	10	33,3	3	50	
Huang Tip 3	48	24,9	13	43,3	2	33,3	
4	6	3,1	3	10	0	0	
5	0	0	2	6,7	0	0	

Fisher's Exact Test, $p<0,05$

Tablo III. Greft safra sayısı ve safra komplikasyonları

	Alıcı Safra Komplikeyonu						Anlamlılık (p)	
	Yok		Darlık		Kaçık			
	n	%	n	%	n	%		
Safra Yolu Sayısı	1	109	56,5	12	40	2	33,3	0,121
	2	76	39,4	15	50	3	50	
	3	8	4,1	3	10	1	16,7	

Fisher's Exact Test, $p<0,05$

Tartışma ve Sonuç

Donör havuzunun darlığı nedeniyle CDKN içeren büyük serilerin çoğunluğu Asya ülkeleri tarafından yayımlanmaktadır. Dolayısıyla, safra anatomisine dair veriler çoğunlukla sarı ırka ait verilerden oluşmaktadır. Çin, Japonya ve Kore kaynaklı yayınlarda bildirilen safra anatomisi subtiplerinin oranları Huang tarafından tanımlanan oranlarla benzerlik göstermektedir¹². Ayırı-

ca, bir başka literatür değerlendirmesinde⁹, Almanya hariç, Avrupa ve Amerika ülkelerinden bildirilen oranların da benzer olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, Huang tip A1 safra anatomisi baskın safra anatomisi olarak görülmektedir. Bizim çalışmamızda da en yaygın tip A1(%45) idi. Ancak literatürdeki bildirilen^{6,8,9} insidanslara (%55-76) göre daha düşük oranda idi. Dikkat çekici esas nokta, Türkiye'den yapılan üç yayında^{10,11,17} tipik (normal) safra anatomisi olarak tarif edilen Huang A1 tipi insidansı %61, %76 ve %79,4 olarak bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda bu oranın düşük olması, bahsedilen üç çalışmadan farklı olarak bizim donör grubumuzda %21 oranında uluslararası hasta varlığı olması ile açıklanabilir.

CDKN sonuçlarını bildiren yayımların büyük çoğunluğunda uçuca anastomoz en çok uygulanan (%70-90) safra rekonstrüksiyonudur^{14,15}. Bizim serimizde bu oran %97,4 olarak belirgin yüksektir. Ancak duktojunostominin rutin tercih edildiği primer safra yolu patolojileri nedeniyle yapılan nakiller çalışma dışı bırakıldığı için oranın daha yüksek çıktığını söyleyebiliriz. Safra komplikasyonlarını değerlendiren CDKN içeren yayınlar incelendiğinde, ilk çalışmalarda¹⁻⁴ donör safra sayısı safra komplikasyonları için risk faktörü olarak tanımlanırken, yakın zamanda yayımlanan çalışmalarda^{16,18} greft safra yolu sayısı ile safra komplikasyonları arasında ilişki bulunmazken, risk faktörü olarak safra yolu beslenmesini etkileyen faktörler öne çıkmaktadır. Bizim serimizde de safra yolu sayısı ve safra komplikasyonları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda dikkat çeken bir diğer nokta, Karakaş ve ark.⁸ nın dikkat çektiği gibi, zaman zaman preoperatif sınıflama ile uyumsuz sayıda greft safra ağzı orataya çıkabilmektedir. Çalışmamızda Huang tip A2 olan 12 hasta ve A3 olan 8 hastanın safra ağız sayısı beklenenin aksine tek ağız şeklinde (çift-bileşik safra yolu) elde edilmiştir. Çalışmaların Huang sınıflaması değil de safra ağzı sayısına göre yapılması bununla ilişkili görünmektedir. Bizim çalışmamızda Huang sınıflaması ile safra komplikasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur. Özellikle Huang Tip 2 ve 3 ile alıcı safra yolu darlığı arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Ancak, greft safra ağzı sayısı ile safra komplikasyonları arasında benzer bir ilişki bulunmadı. Bu durum, Huang sınıflaması ile split sonrası çıkan safra ağzı sayısının örtüşmemesi ve hatta cerrahi olarak ek tanımlamalar (çift bileşik, gözlük vs) yapılan koşullarda anastomoz sayısı tek olsa da safra ağzı sayısının çift olması ile açıklanabilir. Bizim serimizde de, Huang tip 2 ve 3 olan ve normalde çift safra ağzı çıkmış varsayılması gereken 20 hasta bahsedilen tanımlamalarla tek ağız olarak kabul edilmiştir.

Safra komplikasyonu, CDKN sonrası hala en ciddi problemlerden birini oluşturmaktadır. Cerrahi merkezlerin deneyimi, canlı donör seçiminde safra yolu anatomisini bir kriter olarak belirlemede temel faktör

olarak görülmektedir. CDKN açısından yüksek volümlü merkezlerde, safra yolu sayısı safra komplikasyonları açısından anlamlı bir fark ortaya çıkartmamaktadır.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi

Tıbbi Araştırmalar Değerlendirme Kurulu

Onay Tarihi: 09.07.2020

Karar No: 2020-15/9

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım: H.A.; Veri toplama ve işleme: H.A.; Analiz ve verilerin yorumlanması: H.A.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: H.A. tarafından yapılmıştır.

Destek ve Teşekkür Beyanı:

Doç.Dr. Ali Özer'e verilerin yorumlanması sürecinde verdiği destek için teşekkür ederim.

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Gondolesi GE, Varotti G, Florman, et al. Biliary Complications in 96 Consecutive Right Lobe Living Donor Transplant Recipients. *Transplantation*. 2004;77(12):1842-8.
2. Takatsuki M, Eguchi S, Kawashita Y, Kanematsu T. Biliary complications in recipients of living-donor liver transplantation. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2006;13:497-501.
3. Yazumi S, Chiba T. Biliary complications after a right-lobe living donor liver transplantation. *J Gastroenterol*. 2005;40:861-5.
4. Yaprak O, Dayangac M, Akyildiz M, et al. Biliary complications after right lobe living donor liver transplantation: a single-centre experience. *HPB (Oxford)*. 2012;14(1):49-53.
5. Ye S, Dong JH, Duan WD, Ji WB, Liang YR. The Preliminary Study on Procurement Biliary Convergence from Donors with Complicated Bile Duct Variant in Emergency Right Lobe Living Donor Liver Transplantation. *J Clin Exp Hepatol*. 2017;7:33-41.
6. Huang TL, Cheng YF, Chen CL, Chen TY, Lee TY. Variants of the bile ducts: clinical application in the potential donor of living-related hepatic transplantation. *Transpl Proc*. 1996;128:1669-70.
7. Nakamura T, Tanaka K, Kiuchi T, et al. Anatomical variations and surgical strategies in right lobe living donor liver transplantation: lessons from 120 cases. *Transplantation*. 2002;73:1896-1903.
8. Varotti G, Gondolesi GE, Goldman J, et al. Anatomic variations in right liver living donors. *J Am Coll Surg*. 2004;198:577-82.
9. Chaib E, Kanas AF, Galvão FHF, D'Albuquerque LAC. Bile duct confluence: anatomic variations and its classification. *Surg Radiol Anat*. 2014;36(2):105-9.
10. Karakas HM, Celik T, Alicioglu B. Bile duct anatomy of the Anatolian Caucasian population: Huang classification revisited. *Surg Radiol Anat*. 2008;30:539-45.
11. Uysal F, Obuz F, Uçar A, Seçil M, Iğci E, Dicle O. Anatomic variations of the intrahepatic bile ducts: analysis of magnetic resonance cholangiopancreatography in 1011 consecutive patients. *Digestion*. 2014;89(3):194-200.
12. Chittapuram S, Ramesh Babu, Malay Sharma. Biliary tract anatomy and its relationship with venous drainage. *J Clin Exp Hepatol*. 2014;4 (Suppl 1):18-26.
13. Dusunceli E, Erden A, Erden I. Anatomic variations of the bile ducts: MRCP findings. *Tani Girişim Radyol*. 2004;10:296-303
14. Chok KSH, Lo CM. Systematic review and meta-analysis of studies of biliary reconstruction in adult living donor liver transplantation. *ANZ J Surg*. 2017;78:121-5.
15. Azzam AZ, Tanaka K. Biliary complications after living donor liver transplantation: A retrospective analysis of the Kyoto experience 1999-2004. *Indian J Gastroenterol*. 2017;36(4):296-304.
16. Mathew JS, Manikandan K, Kumar KYS, et al. Biliary complications among live donors following live donor liver transplantation. *The Surgeon*. 2018;16:214-9.
17. Tezcaner T, Dinç N, Karakayalı FY et al. Effect of Right Posterior Bile Duct Anatomy on Biliary Complications in Patients Undergoing Right Lobe Living Donor Liver Transplant. *Exp Clin Transplant*. 2019;17(6):759-67.
18. Nakamura T, Iida T, Ushigome H, et al. Risk Factors and Management for Biliary Complications Following Adult Living-Donor Liver Transplantation. *Ann Transplant*. 2017;22:671-6.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

İstemli Egzersizin Sıçanlarda Fruktozdan Zengin Beslenmeye Uyarılan Böbrek Fonksiyon Bozukluğu ve Oksidan Durumu Düzeltici Etkisi

Oktay KAYA¹, Deniz ERÇETİN², Muhammed Ali AYDIN¹, Melike SAPMAZ METİN²

¹ Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Edirne.

² Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Edirne.

ÖZET

Fruktoz tüketimindeki artışın oksidatif stresi artırarak böbrek fonksiyonlarını olumsuz etkilediği bilinmektedir. Egzersizin böbrek için koruyucu etkileri olduğu gösterilmiş olmasına karşın fruktozdan zengin beslenmeye bağlı değişimlerde istemli koşu egzersizinin etkileri bilinmemektedir. Çalışmamızda yüksek fruktozla beslenmenin böbrek fonksiyonu ve histolojisi üzerine meydana getirdiği olası etkiler ve oksidatif hasarda istemli fiziksel aktivitenin rolünü araştırdık. Deneyde kullanılan 21 adet erkek Sprague Dawley sıçan 3 gruba ayrıldı. Sekiz hafta süren deney boyunca Sedanter+suyu (kontrol) grubu içme suyu alırken sedanter+fruktozlu su (F) ve aktivite+fruktozlu su (A+F) grupları %20 fruktoz içeren içme suyu aldılar. A+F grubu 8 hafta boyunca dönen tekerlek bulunan kafes yardımıyla istemli fiziksel aktivite yaptı. Deney sonunda alınan kan örneklerinde üre ve kreatinin seviyeleri, böbrek dokularında malondialdehit ve glutatyon düzeyleri incelendi. Ayrıca böbrek dokusunun histopatolojik incelemesi yapıldı. Böbrek fonksiyonlarının göstergesi olan serum kreatinin seviyesi F grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu ($p=0,012$). Malondialdehit (MDA) seviyesi F grubunda kontrol grubuna göre yüksek iken A+F grubunda kontrol grubuyla benzerdi (sırasıyla $p=0,024$ ve $p>0,99$). Glutatyon (GSH) seviyesi F ve A+F gruplarında kontrol grubuna göre yüksekti (sırasıyla $p=0,015$ ve $p=0,001$). GSH seviyesi A+F grubunda F grubuna göre anlamlı düzeyde yüksekti ($p=0,014$). Kontrol grubuna kıyasla F grubunun böbrek kesitlerinde glomerüler çap, glomeruloskleroz oranı ve kollajen yoğunluğunda artış görüldü. A+F grubunda kontrol grubuna benzer histolojik görünüm saptandı. Bu çalışma ile yüksek fruktozla beslenmeye bağlı böbrek yapısı ve fonksiyonlarında meydana gelen olumsuz etkilerin ve oksidatif hasarın istemli fiziksel aktivite ile önlenebileceği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: İstemli egzersiz. Oksidatif stres. Böbrek fonksiyonları. Yüksek fruktozlu diyet.

Improving Effect of Voluntary Exercise on High Fructose Diet Induced Kidney Dysfunction and Oxidant Status in Rats.

ABSTRACT

It is known that the increase in fructose consumption negatively affects kidney functions by increasing oxidative stress. Although exercise has been shown to have protective effects for the kidney, the effects of voluntary jogging exercise on changes due to fructose-rich diet are unknown. In our study, we investigated the possible effects of high fructose feeding on kidney function and histology and the role of voluntary physical activity in oxidative damage. The 21 male Sprague Dawley rats used in the experiment were divided into 3 groups. During the experiment, which lasted eight weeks, the sedentary + water (control) group received drinking water, while the sedentary + fructose water (F) and activity + fructose water (A + F) groups received drinking water containing 20% fructose. The A + F group performed voluntary physical activity for 8 weeks with the help of a cage with a rotating wheel. Urea and creatinine levels in blood samples taken at the end of the experiment, malondialdehyde and glutathione levels in kidney tissues were examined. In addition, histopathological examination of the kidney tissue was made. Serum creatinine level, which is an indicator of renal functions, was found to be higher in the F group compared to the control group ($p = 0.012$). While the malondialdehyde (MDA) level was higher in the F group compared to the control group, it was similar to the control group in the A + F group ($p = 0.024$ and $p > 0.99$, respectively). Glutathione (GSH) level was higher in F and A + F groups compared to the control group ($p = 0.015$ and $p = 0.001$, respectively). GSH level was significantly higher in the A + F group compared to the F group ($p = 0.014$). Compared to the control group, an increase in glomerular diameter, glomerulosclerosis rate and collagen density were observed in the kidney sections of the F group. Histological appearance similar to the control group was detected in the A + F group. As a result of this study, it was revealed that the negative effects and oxidative damage on kidney structure and functions due to high fructose feeding can be prevented by voluntary physical activity.

Key Words: Voluntary exercise. Oxidative stress. Renal functions. High-fructose diet.

Geliş Tarihi: 29.Mart.2021

Kabul Tarihi: 14.Haziran.2021

Dr. Oktay KAYA
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye
Tel.: 0505 666 64 40
E-posta: droktaykaya@gmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Oktay KAYA: 0000-0001-9639-8022
Deniz ERÇETİN: 0000-0001-9713-044X
Muhammed Ali AYDIN: 0000-0002-3741-4499
Melike SAPMAZ METİN: 0000-0001-9623-4116

Kronik böbrek hastalığı (KBH) yaygınlığı dünya genelinde %8–16 olarak bildirilmekte, yıllık ekonomik bakım maliyeti yüksek olup 2011'de Amerika Birleşik Devletleri'ndeki toplam sağlık bakımı harcamalarının %24'ünü oluşturmaktadır ayrıca KBH'nin son dönem böbrek yetmezliğine (SDBY) ilerlemesi bir halk sağlığı sorunu olarak görülmektedir¹. Bu nedenle KBH açısından yeni biyobelirteçlerin belirlenmesi ve hastalığın ilk aşamalarında uygulanabilecek önleyici müdahalelerin ortaya konması bu ilerleme oranını azaltabilir.

Son yüzyılda fruktoz tüketimindeki artışa paralel olarak, obezite, diyabet ve böbrek hastalıklarının prevalansındaki artış, yüksek miktarda fruktoz tüketiminin böbrek hastalığı gelişiminde nedensel bir faktör olabileceği hipotezinin öne sürülmesine yol açmıştır². Düzenli olarak yüksek fruktozlu içecekler tüketen insanların, kronik böbrek hastalığı geliştirme riskinin ~%60 arttığı bildirilmiştir³. Fruktoz, meyvelerde, sebzelerde ve balda bulunan bir monosakkarit olup günümüzde hazır gıda üretiminde yaygın olarak mısır şurubundan elde edilen fruktoz kullanılmaktadır. Fruktoz karaciğerde fruktoliz yoluyla metabolize edilir ve ekstrahepatik doku ve organların fonksiyonlarını bozma potansiyeline sahip glukoz, laktat, serbest yağ asidi (FFA), çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) ve ürik asit (UA) gibi metabolitlere dönüşür^{2,4}. Son zamanlarda fruktoz metabolizmasının (fruktoliz) mitokondriyal oksidatif strese, ürik asit gibi enflamatuvar araçların üretimine ve fibrozise neden olarak KBH oluşmasında etkin rol oynadığı belirtilmektedir². Gersch ve arkadaşlarının çalışmasında %60 fruktoz içeren diyet uygulamasının proteinüriyi alevlendirdiği, böbrek fonksiyonlarını kötüleştirdiği ve glomerüloskleroza hızlandırdığı ancak eşdeğer glukoz bazlı diyetle beslenen sıçanlarda bu bulguların gözlenmediği bildirilmiştir⁵. Ayrıca, fruktozdan zengin diyetle beslenmenin preglomerüler vasküler hastalık gelişimi ile birlikte glomerüler hipertansiyon ve azalmış renal kan akışıyla sonuçlandığı da belirtilmektedir⁶. Morfolojik değişimler açısından bakıldığında, yüksek fruktozlu bir diyetin böbrek ağırlığını artırdığı ve normal sıçan böbreğinde hafif tubulointerstisyel hasara neden olduğu bildirilmiş; olası mekanizmanın proksimal tübüler hücre çoğalmasının fruktoz ile doğrudan uyarılması olabileceği düşünülmüştür⁷.

Egzersiz KBH oluşumunda koruyucu bir faktör olarak düşünülebilir. Egzersizin çeşitli böbrek hastalığı modellerinde glomerüloskleroza ve interstisyel fibrozisi azaltarak böbrek için koruyucu etkiler gösterdiği bildirilmiş ancak bu amaçla planlanan çalışmalarda genelde zorunlu şekilde yaptırılan koşu bandı ya da yüzme egzersiz modelleri kullanılmıştır^{8,9}. Günümüzde modern yaşam koşulları düşünüldüğünde, kişiler tarafından istemli yapılan fiziksel aktivitelerin giderek azalmış olduğu görülmektedir. Ancak gördüğümüz kadarıyla literatürde düzenli ve uzun süre yapılan istemli fiziksel aktivitenin yüksek fruktozlu diyet alan sıçanlarda böbrek fonksiyonları ve histopatolojisi üzerine

etkileri incelenmemiştir. Bu çalışmanın amacı fruktozdan zengin beslenen sıçanlarda istemli fiziksel aktivitenin böbrek yapısı, fonksiyonları ve böbrek dokusunda oksidatif stresi önleyici olası koruyucu etkilerinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem

Deneyisel Dizayn: Bu çalışmada Sprague Dawley cinsi, 200-250 gr ağırlığında erkek sıçanlar kullanıldı. Tüm sıçanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsünde, 21-22°C'de barındırıldı ve 8 haftalık deneysel süreç boyunca ad libitum standart pellet yem ile beslendi. Sıçanlar her grupta 7 hayvan olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Sedanter + Su (kontrol) Grubu: Bu gruptaki deneklere revers ozmoz sisteminden geçirilmiş içme suyu verildi. Sedanter + Fruktozlu Su (F) Grubu: Deneklere revers ozmoz sisteminden geçirilmiş ve %20 fruktoz içeren içme suyu verildi¹⁰. Aktivite + Fruktozlu Su (A+F): Deneklere revers ozmoz sisteminden geçirilmiş ve %20 fruktoz içeren içme suyu verildi ve denekler çalışma boyunca istemli fiziksel aktivite yaptı. F ve A+F grubunda fruktozlu içme suyu günlük olarak taze hazırlandı. Bu çalışmanın öncesinde Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır.

İstemli fiziksel aktivite: Aktivite (A+F) grubundaki sıçanlar 8 haftalık deney süresi boyunca, istemli fiziksel aktivite yapabilmeleri için her kafeste tek sıçan olacak şekilde dönen tekerlek bulunan kafeslerde tutuldu. Kafeslerdeki dönen tekerlek aparatının dönme sıklığı bir kayıt düzeneği kullanılarak kaydedilerek her sıçanın fiziksel aktivite düzeyi belirlendi. Kafeslerde yer alan dönen tekerlek, daha önceki çalışmalara benzer şekilde 31,5 cm çapında ve 10 cm genişliğinde, tekerleğin kafes içi yüksekliği 7 cm, tekerleğin çevresi ise 1,081 metredir¹¹. Günlük tekerlek devirleri saat yönü, saat yönünün tersi ve toplam tur sayısı olarak kayıt edilerek kat edilen mesafe km/gün olarak belirlendi. Uygulamaya başlamadan önce aktivite gruplarındaki tüm sıçanlara bir hafta boyunca dönen tekerlekli kafeslerde tekerleği tanımları ve kullanabilmeleri için alıştırtma yaptırıldı¹².

Doku-kan örneklerinin alınması ve analizler: Çalışmanın sonunda sıçanlara anestezi için ketamin (60 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) intraperitoneal uygulandı. Üre ve kreatinin ölçümü için sol ventrikülden kan alındı. Böbrekler uzunlamasına ikiye bölünerek böbreğin bir yarısı histopatolojik inceleme için %10'luk formalin solüsyonuna konuldu, diğer yarısı malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) ölçümü için homojenize edildi ve analizler yapılmaya kadar -80°C'de saklandı. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan renk spektrofotometrik olarak ölçüldü¹³. Doku homojenatlarındaki serbest sülfidril (SH) gruplarının Ellman

Egzersiz ve Böbrek Fonksiyonları

ayırıcı ile oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak saptanması, GSH içeriğinin belirtilmesi için kullanıldı¹⁴. Doku protein miktar tayini Lowry metoduna göre yapıldı¹⁵.

Histolojik Analizler

Tüm gruplarda sıçanlardan alınan böbrek dokuları, %10'luk tamponlu nötral formaldehit içerisinde fikse edildi. Yıkanan ve artan alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilen dokular parafine gömüldü. Oluşturulan böbrek dokusuna ait bloklardan 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı, Hematoksilen-Eosin (H+E), Periyodik asit-Schiff (PAS) + Hemalen (PAS+HL) ve Sirius Red ile boyandı.

Böbrek kesitleri üzerinde yapılan tüm ölçümler ve skorlamalar iki araştırmacı tarafından kör olarak yapılmıştır.

H+E ile boyanmış kesitlerin farklı büyütmelerde incelenmesi sonucunda, kontrol grubu böbrek dokularının genel histolojik özellikleri, deney ve aktivasyon grubunda ise fruktoza bağlı ortaya çıkabilecek histopatolojik değişiklikler incelendi.

Fruktoz kaynaklı değişimlerin değerlendirilmesi için, böbrek glomerüllerindeki PAS (+) materyalin artmasıyla karakterize olan glomerülosklerotik değişiklikler, her bir denekte, PAS+HL boyalı 2'şer kesitte toplam 100 glomerül üzerinde, X400 büyütmede incelendi¹⁶. Her glomerül için, glomerülosklerotik değişiklikler skleroz derecesi baz alınarak 0-4 arasında skorlandı. 0: normal glomerül, +:glomerülün ≤ %25'ini oluşturan skleroz, ++: glomerülün ≤ %25-50'sini oluşturan skleroz, +++: glomerülün ≥ %50'sini oluşturan skleroz, ++++: glomerülün tümünü kaplayan skleroz olarak derecelendirme yapıldı (Tablo I).

Kollajen lif yoğunluğu/fibrozis ise Sirius Red boyası ile gösterildi ve fotoğraflandı. Her grupta her bir deneye ait Sirius Red boyalı 2 kesit üzerinde, korteks ve kortikomedullar alanlarda, peritübüler ve glomerüler interstisyumda, kırmızı boyanmış kollajen lif yoğunluğu X400 büyütmede semikantitatif olarak değerlendirildi. Medulla ve renal pelvis bölgeleri kıyaslandığında, kontrol ile fruktoz diyeti uygulanan gruplar arasında fark izlenmediği için bu bölgeler değerlendirme dışı bırakıldı. +: normal, ++: orta, +++: yoğun, ++++: çok yoğun boyanma olarak kabul edildi (Tablo I).

Morfometrik Analiz

Morfometrik analiz için 4-5 µm kalınlığındaki böbrek kesitleri H+E boyası ile boyandı. Her bir sıçan için, bir kesit üzerinde, kortikal ve kortikomedullar bölgelerde, rastgele 10 alanda izlenen toplam 30 glomerül, X200 büyütme altında değerlendirildi. Ölçümler iki araştırmacı tarafından kör olarak yapıldı. Her glomerülün çapı, mikrometrik oküler kullanılarak ışık mikroskobu (Olympus CX 31) altında ölçüldü. Seçilen her bir glomerülün en geniş ve en dar olmak üzere iki

farklı çapı ölçüldü. Glomerüllerin ortalama çapları hesaplandı (Tarlacacalisir ve ark.¹⁷'nin çalışmasından modifiye edilmiştir).

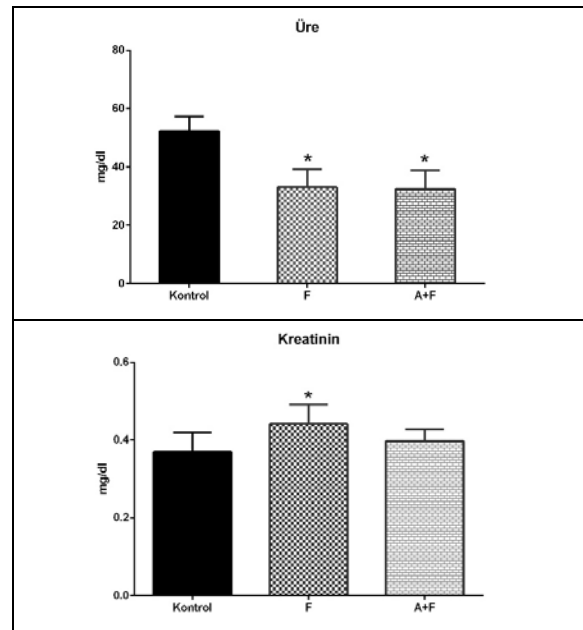
İstatistiksel Analiz: Analizler PASW statistic 2018 programı ile yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu tek örneklem Kolmogorov Smirnov testi ile incelendi. Varyansların homojenliği Levene testi ile kontrol edildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi kullanıldı. Gruplar arasında farklılık bulunması halinde farklılığın kaynaklandığı grupları belirlemek için Post Hoc Bonferroni çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Çalışmada p<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Bu çalışmada yer alan gruplara ait ortalama sıvı tüketimleri incelendiğinde, kontrol grubunda 56.90±4.10 ml/gün, F grubunda 64.51±9.92 ml/gün ve A+F grubunda 78.07±11.14 ml/gün olarak ölçülmüştür. A+F grubunun günlük fiziksel aktivite düzeyinin ortalama 5055±1355 m/gün olduğu saptandı.

Böbrek Fonksiyon Belirteçleri:

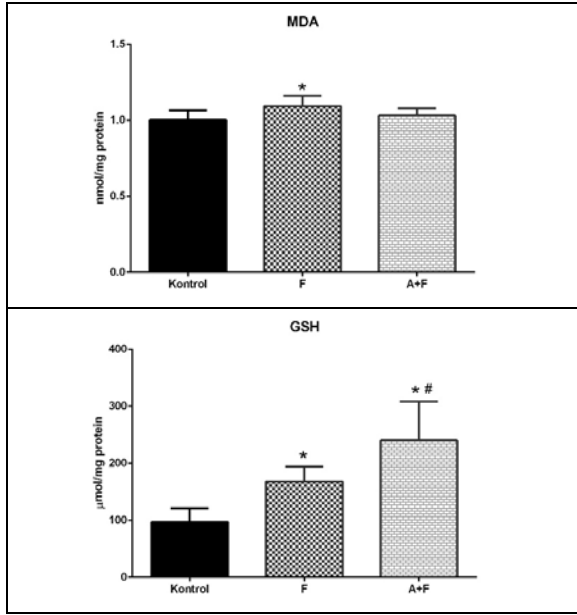
Serum üre, kreatinin seviyeleri şekil 1'de verilmiştir. Yüksek fruktoz alan gruplarda (F, A+F) üre seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşüktü (her ikisi için p= 0.001). Serum kreatinin seviyesi F grubunda kontrol grubuna göre anlamlı seviyede yüksek iken A+F grubunda kontrol grubuyla benzerdi (sırasıyla p=0,012 ve p=0,747).



Şekil 1:

Deney gruplarına ait böbrek fonksiyon belirteçleri.

* kontrol grubuyla karşılaştırıldığında p<0.05

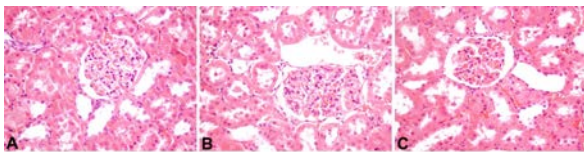


Şekil 2:

Deney gruplarına ait oksidatif stres belirteçleri. MDA: Malondialdehit, GSH: Glutasyon. * kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$, # F grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

Histopatolojik Bulgular:

Böbrek kesitleri H+E ile boyanarak incelendiğinde, kontrol grubunda normal histolojik morfolojiye sahip Malpighi cisimciklerinin bulunduğu, proksimal ve distal tübüllerin yapısının normal olduğu görüldü (Şekil 3A). F grubunda glomerüler hipertrofi tespit edilirken (Şekil 3B), glomerüler ya da peritübüler inflamasyon izlenmedi. A+F grubunda ise glomerüler yapı kontrole yakın görünümdeydi (Şekil 3C). Böbrek kesitlerinde, korteks ve kortikomedullar alanlarda ortalama glomerül çapları kontrol grubunda 117,60 µm, F grubunda 127,28 µm ve A+F grubunda 119 µm olarak ölçüldü (Tablo I).



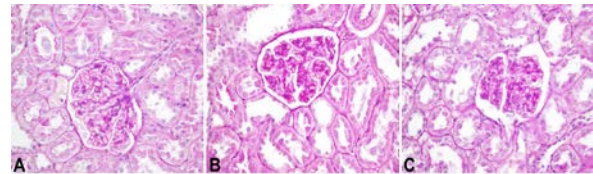
Şekil 3.

Deney gruplarına ait H+E boyanmış kesitlerde ışık mikroskopik bulgular. (A) Kontrol grubuna ait sıçan böbrek dokusunda, kortekste glomerül ve Bowman boşluğunu içeren normal histolojik morfolojiye sahip Malpighi cisimciklerinin olduğu görülmektedir. Proksimal ve distal tübüllerin yapısı normal görünüm sergilemektedir. (B) F grubuna ait deneklerin böbrek dokusunda ise glomerül çaplarının arttığı, proksimal tübüller içinde yer yer hiyalin kalınlıklar ve fırçası kenar kayıpları dikkati çekmektedir. (C) A+F grubunda, böbrek dokusunun histoloji olarak kontrol grubu deneklerine yakın yapı sergilediği görülmektedir. (A, B, C; X400).

Tablo I. Deneklere ait histopatolojik değerlendirme skorları

Histopatolojik parametre	Kontrol (n=7)	F (n=7)	A+F (n=7)	P
Glomerül çap (µm)	117,60	127,28	119	0.03
Glomerulosklerozis	+	+++	++	
İnterstisyel fibrozis	+	++	+	

Glomerüllerde, glomeruloskleroza yansıtan PAS (+) materyalin skoru Tablo I'de gösterilmiştir. Kontrol grubunun PAS boyalı böbrek kesitleri incelendiğinde, Malpighi cisimciklerinde, mor-menekşe renginde boyanan ve pariyetal yaprak hücrelerinin yerleştiği bazal membran ve glomerül bazal membran yapısının normal olduğu tespit edildi. Böbrek Malpighi cisimciklerinin çevresinde bulunan distal ve proksimal tübüllerin bazal membranları, proksimal tübül hücrelerinin apikal yüzeylerinde fırçası kenar oluşturan PAS (+) mikrovilli yapısının normal görünümde olduğu tespit edildi (Şekil 4A). F grubuna ait deneklerin PAS ile boyalı böbrek dokusunda, pariyetal hücrelerinin yerleştiği bazal membranlar, glomerül bazal membran (GBM) ve böbrek tübül hücrelerinin oturduğu bazal membranların kalınlığında artışın yanı sıra, glomerül içinde PAS (+) materyal miktarında da kontrol deneklerine kıyasla bir artış tespit edildi. Proksimal tübüllerde yer yer mikrovilli kaybı gözlemlendi (Şekil 4B). A+F grubunun PAS ile boyalı böbrek dokusunda, pariyetal hücrelerinin yerleştiği bazal membranlar, GBM, böbrek tübül hücrelerinin oturduğu bazal membranlar ve proksimal tübüllerin mikrovilluslarının normale yakın yapı sergilediği, glomerül içi PAS(+) materyalin ise F grubuna kıyasla azaldığı tespit edildi (Şekil 4C).

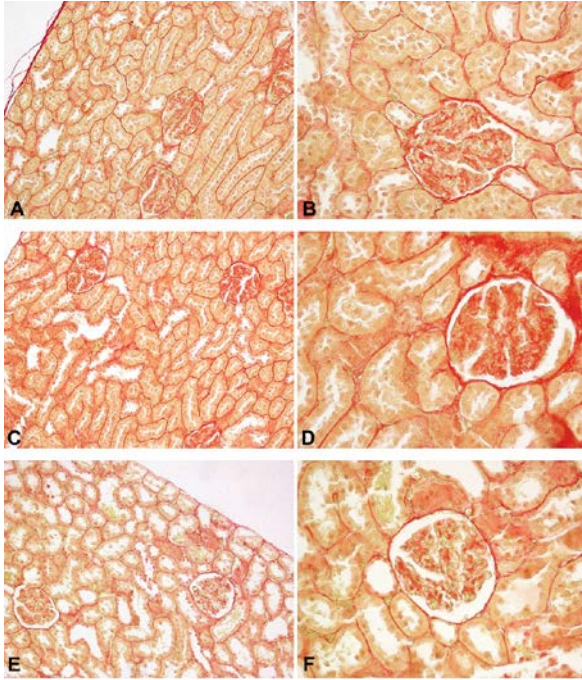


Şekil 4.

Deney gruplarına ait PAS+HL boyanmış kesitlerde ışık mikroskopik bulgular. (A) Kontrol grubuna ait sıçan böbrek dokusunun Malpighi cisimciklerinde, Bowman kapsülünün pariyetal hücrelerinin yerleştiği bazal membran, glomerül bazal membran (GBM), tübüller bazal membranlar ve proksimal tübüllerin mikrovilluslarının PAS (+) boyandığı, tüm bu yapılar normal histolojik görünümüne sahiptir. (B) F grubuna ait deneklerin böbrek dokusunda, pariyetal hücrelerinin yerleştiği bazal membranlar, GBM ve tübüller bazal membranların kalınlığında artışla birlikte glomerül içi PAS(+) madde yoğunluğunda da artış gözlenmektedir. (C) A+F grubunda, bazal membranların kalınlığının ve PAS(+) madde yoğunluğunun F grubuna kıyasla azaldığı izlenmektedir. (A, B, C; X400).

Egzersiz ve Böbrek Fonksiyonları

Çalışmamızda böbrek dokusunda kollajen lif birikimi Sirius red boyası ile değerlendirildi. Gruplara ait interstisyel dokuda kollajen yoğunluğu skoru Tablo I'de verilmiştir. Kontrol grubunun böbrek glomerüllerinin, tübüllerin ve damarların çevresini saran interstisyel doku yoğunluğunun normal oranda olduğu gözlemlendi (Şekil 5A-B). F grubuna ait deneklerin böbrek kesitlerinde ise, Sirius red ile kırmızı renkte boyanmış kollajen lif artışına bağlı olarak interstisyel dokuda kontrol grubuna göre artış olduğu tespit edildi (Şekil 5C-D). A+F grubunun kesitleri incelendiğinde kollajen lif yoğunluğunun kontrol grubu deneklerinin böbrek dokularına benzer oranda olduğu tespit edildi (Şekil 5E-F).



Şekil 5.

Deney gruplarına ait Sirius Red boyanmış kesitlerde ışık mikroskopik bulgular. (A, B) Kontrol grubuna ait sıçan böbrek dokusunda, glomerüller ve peritübüler interstisyumun normal yapıda olduğu görülmektedir. (C, D) F grubuna ait böbrek kesitlerinde ise Sirius red ile kırmızı boyanan kollajen liflerin yoğunluğunda artış gözlenmektedir. (E, F) A+F grubunda kollajen lif yoğunluğunun F grubuna kıyasla azaldığı izlenmektedir. (A, C, E; X200. B, D, F; X400).

Tartışma

Bu çalışmada, yüksek fruktoz alımı oluşturulan deneysel modelde istemli fiziksel aktivitenin böbrek fonksiyonları, histopatolojisi, oksidatif ve antioksidatif belirteçler üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen bulgular fruktozdan zengin beslenmenin böbreği yapısal ve işlevsel açıdan olumsuz etkileyebileceğini, fruktozdan zengin beslenmeye

bağlı serum kreatinin düzeyinde, glomerül çapında ve böbrek dokusundaki oksidan parametrelerde artış oluştuğunu ancak istemli egzersiz yapılmasının işlevsel açıdan böbrek fonksiyonunun önemli bir belirteci olan kreatinin düzeyindeki artışı, oksidan bir faktör olan MDA düzeyini baskılamış olabileceğini ve antioksidan mekanizmaları aktive edebileceğini göstermektedir.

Böbrek fonksiyonunun önemli bir göstergesi serum kreatinin düzeyleridir. Çalışmamızda yüksek fruktozla beslenen sıçanlarda serum kreatinin seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksekti. İstemli fiziksel aktivite grubunda kreatinin düzeyi fruktoz grubuna göre daha düşük bulunmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlılık sınırına ulaşmadı. Bu bulgular fruktozla beslenmenin neden olacağı serum kreatinin yüksekliğinin egzersiz ile düşme eğilimine gireceği şeklinde yorumlandı. Çalışmamız yüksek fruktozla beslenmiş sıçanlarda istemli fiziksel aktivitenin etkilerinin araştırıldığı ilk çalışma olması nedeniyle bir ön çalışma olarak düşünülebilir. Bu konuda koşu bandı kullanılarak yaptırılan egzersizlerin fruktozdan zengin beslenmeye bağlı etkilerinin incelendiği çalışmalar bulunmaktadır. Hu ve arkadaşlarının⁸ yakın zamanda yüksek fruktozla beslenen sıçanlarda 12 haftalık zorunlu koşu bandı egzersizinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, serum kreatinin seviyeleri kontrol ve yüksek fruktozla (%60'luk) beslenen gruplarda benzer, yüksek fruktozla beslenip egzersiz yapan grupta ise her iki gruba göre daha düşük bulunmuştur. Çalışma sonuçlarımızdaki farklılık diyetteki fruktozun yüzdesinin Hu ve arkadaşlarının çalışmasında daha yüksek olmasından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca Bizim 8 haftalık uygulamamıza karşın Hu ve arkadaşlarının modeli 12 hafta sürmüştür.

Bu çalışmada böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için kullandığımız bir diğer parametre olan serum üre düzeyi değerlendirildiğinde ise ilginç olarak yüksek fruktozla beslenen gruplarda serum üre düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü ($p=0,001$). Yüksek fruktozlu sıvı alan gruplarda üre düzeylerindeki bu düşüş su tüketiminin artmasına bağlı olarak oluşmuş olabilir. Çalışmada yer alan grupların ortalama sıvı tüketimleri incelendiğinde kontrol grubunda 56.90 ± 4.10 ml/gün iken F ve A+F gruplarında sırasıyla 64.51 ± 9.92 ve 78.07 ± 11.14 ml/gün olarak ölçülmüştür. Bu çalışma bulgularına göre fruktoz alan gruplarda sıvı tüketiminin daha fazla olması üre düzeyindeki azalmaya neden olan bir adaptasyon mekanizması olarak düşünülebilir.

Çalışmamızda, oksidatif hasarı belirlemek açısından böbrek dokularının MDA seviyeleri değerlendirildiğinde, yüksek fruktoz alan grupta MDA düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek iken istemli fiziksel aktivite yapan grupta kontrol grubuyla benzerdi. Bu bulgu yüksek fruktozlu beslenmenin böbrek fonksiyonlarında meydana getirdiği bozulmada

oksidatif stresin rolü olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonunun en önemli son ürünlerinden biridir ve yükselmesi serbest radikal üretiminin artışıyla ilişkilidir. Şener ve arkadaşlarının¹⁸ sıçanlara 12 hafta %10'luk fruktoz içeren içme suyu vererek metabolik sendrom modeli oluşturdukları çalışmalarında, yüksek fruktozlu diyet sonrası MDA seviyelerinde anlamlı olarak artış görülmüştür. Aynı çalışmada yüksek fruktozlu beslenmeyle beraber yüzme egzersizi yaptırılan hayvanların MDA seviyelerinin kontrol seviyeleriyle benzer olduğu görülmüştür. Yukarıdaki çalışmada yüzme egzersizine bağlı saptanan bulguların bizim bulgularımızla uyumlu olduğu dikkate alındığında böbrekte oksidan hasarın önlenmesinde egzersizin tipinin belirgin farklılık oluşturmadığı ve fiziksel aktif olmanın böbrek fonksiyonları açısından oksidatif hasarı önleyici etki oluşturarak düzeltici rol oynadığı görülmektedir.

Çalışmamızda ayrıca fruktozdan zengin beslenme ve istemli egzersize bağlı olası antioksidan özellikleri araştırmak amacıyla serumda GSH düzeylerindeki değişim incelenmiştir. Glutatyon (GSH) enzimatik olmayan bir antioksidandır. Bu çalışmada böbrek dokusu GSH seviyesi değerlendirildiğinde yüksek fruktozla beslenen gruplarda GSH düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti. Ayrıca istemli fiziksel aktivite yapan grupta GSH seviyesi yüksek fruktoz alan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksekti. Fruktozdan zengin beslenmenin GSH düzeyine etkileri tam olarak anlaşılabilmiş değildir ve bu konuda literatürde farklı bulgular yer almaktadır. Örneğin, Choi ve arkadaşlarının¹⁹ sıçanları 10 hafta %65 fruktoz içeren yem ile besledikleri çalışmalarında GSH seviyesinin düştüğü gösterilmiştir. Çalışmamızda yüksek fruktozla beslenen grupta GSH seviyesinin yüksek olarak saptanması oksidan stresin etkilerini ortadan kaldırmak için uyarılmasına bağlı olabilir. Tipi ve yoğunluğundan bağımsız olarak egzersizin prooksidan göstergeleri düşürüp antioksidan kapasiteyi artırdığı bilinmektedir²⁰. Çalışmamızda da literatür bilgileriyle uyumlu olarak egzersiz yapan grupta sedanter olan gruplara göre GSH seviyesinin yüksek olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada grupların H+E boyalı kesitleri incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla yüksek fruktozla beslenen sıçanların böbrek kesitlerinde, glomerüler hipertrofi nedeniyle glomerüler çap artışı görüldü. Glomerüler çap hipertrofinin bir göstergesidir. Kotyk ve arkadaşlarının çalışmasında, çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu olarak yüksek fruktozla beslenen sıçanlarda glomerüler çap kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. İstemli fiziksel aktivite yapan grupta ise glomerül çapları kontrol grubuna benzerdi²¹. Bu bulgu istemli egzersizlerin glomerüler hipertrofiyi azaltıcı rol oynadığının bir göstergesi olarak düşünülebilir. Glomerüler hipertrofi mezangiyal hücre proliferasyonu, mezangiyal matris artışı ve glomeruler inflamasyon kaynaklı olabileceği bildiril-

miştir^{16,22}. Çalışmamızda yüksek fruktoz alan grubun PAS boyalı kesitlerinde kontrol grubuna göre artmış bazal membran kalınlaşması ve mikrovilli kaybı olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra fruktoz alan gruplarda, glomerül içinde PAS(+) madde yoğunluğunun artmasıyla karakterize glomerulosklerozis tespit edilmiştir. Bulgularımızı destekler şekilde, Gersch ve arkadaşlarının 6 hafta boyunca yüksek fruktozla besledikleri sıçanların PAS boyalı böbrek kesitlerinde de artmış glomerulosklerozu ve interstisyel hasarı gösteren bulgular rapor edilmiştir⁵. Bu konuda yakın zamanda yapılan çalışmalarda, 5 haftadan 8 haftaya kadar değişen sürelerde fruktozdan zengin beslenmeye bağlı olarak böbrek kesitlerinde interstisyel kollajen liflerin artışı²³ ya da kontrol grubuna göre daha yüksek glomerüler skleroz ve interstisyel fibrozis olduğu gösterilmiştir²⁴. Tüm bu bulgular fruktozdan zengin beslenmenin böbrekte fonksiyonel değişim yanı sıra yapısal hasara da neden olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda Sirius red boyalı kesitler incelendiğinde ise yüksek fruktoz alan grupta kontrol grubuna göre artmış olan interstisyel kollajen lif yoğunluğu, istemli fiziksel aktivite yapan grupta kontrol grubuyla benzerdi. İstemli fiziksel aktivite yapan grupta kontrol grubuna benzer histolojik görünüm saptanması, fiziksel aktivitenin yapısal böbrek hasarından koruyucu bir etki oluşturması olarak yorumlanabilir.

Çalışmamızda bazı kısıtlılıklar bulunmaktadır. İlk olarak literatürde benzer gruplarda çalışmalar yapıldığı görüldüğünden, deneysel modelimizde normal içme suyu alan fiziksel aktivite grubu kullanılmadı. Böylece kullanılan deney hayvanı sayısı azaltılmış oldu. İkinci olarak çalışma modelimizde oksidatif stres ve antioksidan kapasitenin değerlendirilmesi için MDA ve GSH ölçümü yapıldı. Ek belirteçlerle daha detaylı olarak değerlendirilme yapılması mekanizmanın aydınlatılmasına katkıda bulunacaktır.

Tüm bu bulgular birlikte ele alındığında yüksek fruktozla beslenmenin böbrek fonksiyonları ve histolojisi üzerine olumsuz etkiler gösterdiğini ve bu etkilere oksidatif stresin katkısı olabileceğini düşündürmüştür. Çalışmamızın sonuçları istemli fiziksel aktivitenin yüksek fruktozla beslenmenin böbrek yapısı ve fonksiyonları üzerine olumsuz etkilerini oksidatif stresi azaltarak ve antioksidan etkiler oluşturarak önleyebileceğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, böbreğin istemli fiziksel aktivite için önemli bir hedef organ olduğunu göstermekte ve fruktozdan zengin beslenmenin böbrekte oluşturduğu etkileri önleyici bir faktör olarak günlük fiziksel aktivitenin önemine işaret etmektedir.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Onay Tarihi: 28.08.2019

Karar No: E.358913

Egzersiz ve Böbrek Fonksiyonları

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım: O.K., D.E., M.A.A., M.S.M.; Veri toplama ve işleme: O.K., D.E., M.A.A., M.S.M.; Analiz ve verilerin yorumlanması: O.K., D.E., M.A.A., M.S.M.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: O.K., D.E., M.A.A., M.S.M.

Destek ve Teşekkür Beyanı:

Proje çalışmalarını için destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Zhong J, Yang HC, Fogo AB. A perspective on chronic kidney disease progression. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2017; 1;312(3):F375-F384.
2. Nakagawa T, Johnson RJ, Andres-Hernando A, Roncal-Jimenez C, Sanchez-Lozada LG, Tolan DR, Lanaspa MA. Fructose Production and Metabolism in the Kidney. *J Am Soc Nephrol*. 2020 May;31(5):898-906. doi: 10.1681/ASN.2019101015.
3. Chapman CL, Grigoryan T, Vargas NT, Reed EL, Kueck PJ, Pietrafesa LD, Bloomfield AC, Johnson BD, Schlader ZJ. High-fructose corn syrup-sweetened soft drink consumption increases vascular resistance in the kidneys at rest and during sympathetic activation. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2020 Apr 1;318(4):F1053-F1065.
4. Zhang DM, Jiao RQ, Kong LD. High Dietary Fructose: Direct or Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue and Organ Functions. *Nutrients*. 2017 Mar 29;9(4):335.
5. Gersch MS, Mu W, Cirillo P, Reungjui S, Zhang L, Roncal C, Sautin YY, Johnson RJ, Nakagawa T. Fructose, but not dextrose, accelerates the progression of chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007 Oct;293(4):F1256-61.
6. Sánchez-Lozada LG, Tapia E, Bautista-García P, Soto V, Avila-Casado C, Vega-Campos IP, Nakagawa T, Zhao L, Franco M, Johnson RJ. Effects of febuxostat on metabolic and renal alterations in rats with fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008 Apr;294(4):F710-8.
7. Nakayama T, Kosugi T, Gersch M, Connor T, Sanchez-Lozada LG, Lanaspa MA, Roncal C, Perez-Pozo SE, Johnson RJ, Nakagawa T. Dietary fructose causes tubulointerstitial injury in the normal rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2010 Mar;298(3):F712-20.
8. Hu G, Xu L, Ma Y, Kohzuki M, Ito O. Chronic exercise provides renal-protective effects with upregulation of fatty acid oxidation in the kidney of high fructose-fed rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2020 Mar 1;318(3):F826-F834.
9. Yoshida K, Kawamura T, Xu HL, Ji L, Mori N, Kohzuki M. Effects of exercise training on glomerular structure in fructose-fed spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res*. 2003 Nov;26(11):907-14. doi: 10.1291/hypres.26.907. PMID: 14714583.
10. Kim M, Do GY, Kim I. Activation of the renin-angiotensin system in high fructose-induced metabolic syndrome. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2020 Jul 1;24(4):319-328.
11. Tayfur P., Palabiyik O., Uzun N., Sut N., Vardar S.A. Fruktözdan Zengin Beslenen Sıçanlarda İstemli Fiziksel Aktivitenin Metabolik ve Kardiyak İşlevlere Etkisi. *Genel Tıp Dergisi* 2019, 29, 2, 65-72. Doi:10.15321/GenelTipDer.2019253583. (Temmuz 2019)
12. Schultz RL, Kullman EL, Waters RP, Huang H, Kirwan JP, Gerdes AM, et al. Metabolic adaptations of skeletal muscle to voluntary wheel running exercise in hypertensive heart failure rats. *Physiological research*. 2013;62(4).
13. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979 Jun;95(2):351-8.
14. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*. 1959 May;82(1):70-7.
15. Lowry Oh, Rosebrough Nj, Farr Al, Randall Rj. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951 Nov;193(1):265-75.
16. Seçkin İ, Uzunalan M, Pekpak MA, Köktürk S, Sönmez HA, Güngör ZB ve ark. Deneysel kronik nefroz modeli sıçan glomerüllerinde TGF- β 1 ekspresyonu ve mezangiyal değişiklikler. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*. 2019;43(1):6-12.
17. Tarladacalisir YT, Kanter M, Uygun M. Protective effects of vitamin C on cisplatin-induced renal damage: a light and electron microscopic study. *Ren Fail*. 2008;30(1):1-8.
18. Şener TE, Çevik Ö, Çetinel Ö, Şener G. Oxidative stress and urinary system damage in fructose-induced rat model of metabolic syndrome: Effect of calorie restriction and exercise. *J Res Pharm*. 2020; 24(3): 318-325.
19. Choi HN, Park YH, Kim JH, Kang MJ, Jeong SM, Kim HH, Kim JI. Renoprotective and antioxidant effects of Saururus chinensis Baill in rats fed a high-fructose diet. *Nutr Res Pract*. 2011 Aug;5(4):365-9.
20. de Sousa CV, Sales MM, Rosa TS, Lewis JE, de Andrade RV, Simões HG. The Antioxidant Effect of Exercise: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med*. 2017 Feb;47(2):277-293.
21. Kotyk T, Dey N, Ashour AS, Balas-Timar D, Chakraborty S, Ashour AS, Tavares JM. Measurement of glomerulus diameter and Bowman's space width of renal albino rats. *Comput Methods Programs Biomed*. 2016 Apr;126:143-53.
22. Rodriguez-Puyol D. The aging kidney. *Kidney Int*. 1998;54: 2247-2265.
23. Abdel-Kawi HS., Hassanin KM.A, Hashem KS. The effect of high dietary fructose on the kidney of adult albino rats and the role of curcumin supplementation: A biochemical and histological study. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 2016;5:52-60.
24. Saleh R, Merghani BH, Awadin W. Effect of high fructose administration on histopathology of kidney, heart and aorta of rats. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*. 2017 4(1):71-79.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Klofarabin Bazlı Tedavi Alan Relaps veya Refrakter Akut Lösemi Tanılı Hastaların Retrospektif Değerlendirilmesi

Cumali YALÇIN, Fahir ÖZKALEMKAŞ, Vildan ÖZKOCAMAN, Tuba ERSAL, İbrahim Ethem PINAR, Bedrettin ORHAN, Ömer CANDAR, Rıdvan ALİ

Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Relaps veya refrakter akut lösemide klofarabin bazlı kurtarma tedavilerinin genel yanıt oranları %17-48 arasında değişmektedir. Çalışmamızda relaps veya refrakter akut lösemi tanılı hastalarda klofarabin bazlı kurtarma tedavisi sonrası yanıt oranları, enfeksiyon ile ilişkili komplikasyonları ve yan etkileri değerlendirildi. Ocak 2015 ile Aralık 2020 tarihleri arasında kliniğimizde klofarabin bazlı kurtarma tedavisi alan 12 hasta retrospektif olarak değerlendirildi. Hastaların %58 (n=7)'i erkek olup ortalama yaş 36,6±16,4 olarak saptandı. Hastaların %75 (n=9)'i akut lenfoblastik lösemi, %25 (n=3)'ü akut myeloid lösemi tanısı ile takip edilmekteydi. Klofarabin öncesi almış oldukları kemoterapi rejim sayısı medyan 3 idi. Hastaların %66 (n=8)'i son aldığı tedaviye refrakter, %33 (n=4)'ü erken nüks ile başvurdu. Hastalar klofarabin 22,5 mg/m² + sitozin arabinosid 1000 mg/m² dozunda intravenöz 1-5. gün olacak şekilde tedavi aldılar. Tedavi esnasında tüm hastalar febril nötropeni ile komplike oldu, hastaların %58 (n=7)'inde sepsis gelişti. Ciddi (grade 3-4) non- hematolojik yan etkiler arasında hepatotoksisite %33, diyare %25, bulantı-kusma %16, mukozit %16 civarındaydı. Klofarabine bağlı nörotoksisite izlenmedi. Hastaların birinde tam yanıt (%8) elde edildi. Hastaların %33 (n=4)'ü tedaviye yanıtızsıdı. İlk 30 gün içindeki mortalite oranı %50 (n=6) idi. Mortal seyreden hastaların bir tanesinde erken ölüm (<2 hafta) oldu. Refrakter veya erken nüks akut lösemi hastaları için esas amaç kurtarma tedavisi sonrası allojenik kemik iliği nakline ilerlemektir. Her ne kadar kemik iliği nakli ile kür sağlanabilse de 4 yıllık sağ kalım %25-30'u geçmemektedir. Dolayısıyla relaps veya refrakter akut lösemi hastalarında günümüzde halen güçlü ve etkili bir kurtarma tedavi rejimine ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Klofarabin, Relaps veya refrakter akut lösemi. Yan etkiler.

A Retrospective Study of Clofarabine Based Therapy in Patients With Relapsed or Refractory Acute Leukemia

ABSTRACT

Overall response rates of clofarabine-based rescue regimens in relapsed or refractory acute leukemia range from 17-48%. In our study, response rates, infection-related complications and side effects were evaluated after salvage therapy with clofarabine-based regimens in patients diagnosed with relapsed and/or refractory acute leukemia. Twelve patients who received clofarabine-based rescue therapy in our clinic between January 2015 and December 2020 were evaluated retrospectively. Fifty-eight percent of the patients were male and the mean age was 36.6±16.4 years. Seventy-five percent of the patients had a diagnosis of acute lymphoblastic leukemia, 25% had a diagnosis of acute myeloid leukemia. A median of 3 cycles of chemotherapy was given before clofarabine. Sixty-six percent of the patients were followed as refractory to the last treatment, and 33% as early relapse. Patients received intravenous treatment between 1st and 5th days at a dose of clofarabine 22.5 mg/m²+cytarabine 1000 mg/m². During the treatment, all patients were complicated with febrile neutropenia, 58% of them developed sepsis. Serious (grade 3-4) non-hematological side effects were hepatotoxicity in 33%, diarrhea in 25%, nausea and vomiting in 16%, and mucositis in 16%. Neurotoxicity related to clofarabine was not observed. One of the patients achieved complete response (8%), 33% of the patients were unresponsive. The mortality rate within the first 30 days was 50% (n = 6). Early death (<2 weeks) occurred in one of the severe patient. For patients with refractory or early relapse acute leukemia, the main goal is to progress to allogeneic bone marrow transplantation after salvage therapy. Although complete remission can be achieved with bone marrow transplantation, 4-year survival does not exceed 25-30%. Therefore, a powerful and effective salvage treatment regimen is still needed in patients with relapsed or refractory acute leukemia.

Key Words: Clofarabine. Relaps or Refractory leukemia. Advers events.

Geliş Tarihi: 25.Mart.2021

Kabul Tarihi: 15.Haziran.2021

Dr. Cumal YALÇIN
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları, Hematoloji B.D.,
Görükle/BURSA
Tel.: +90 543 727 95 80
E-posta: doktorcumali@hotmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Cumali YALÇIN: 0000-0002-5129-2977
Fahir ÖZKALEMKAŞ: 0000-0001-9710-134X
Vildan ÖZKOCAMAN: 0000-0003-0014-7398
Tuba ERSAL: 0000-0001-5419-3221
İbrahim Ethem PINAR: 0000-0001-9907-1498
Bedrettin ORHAN: 0000-0003-3970-2344

Akut lösemiler olgunlaşmamış hematopoetik hücrelerin kemik iliği ve periferik kanda birikimi ile karakterizedir. Akut miyeloblastik lösemi (AML) ve akut lenfoblastik lösemi (ALL) olmak üzere ikiye ayrılır. AML klonal bir hematopoetik kök hücre hastalığı olup, görülme sıklığı yaşla artmaktadır. Erişkinde görülen akut lösemilerin %70-80'ini oluşturur. ALL daha çok çocukluk çağında izlenmekle birlikte erişkin akut lösemilerin %20-30'unu oluşturmaktadır¹. Lösemik blastların kemik iliğini doğrudan istilası ve normal hematopoezin baskılaması, çevre kanında sitopenilere (anemi, trombositopeni, nötropeni) sebep olmaktadır². Primer refrakter veya dirençli hastalık, ALL için indüksiyon sonrası, AML için 2 kür indüksiyon sonrası tam yanıt (TY) alınamaması olarak tanımlanır³. Primer refrakter hastalık AML hastalarının %10-40'ında görülürken ALL hastalarında %25 civarında görülür⁴. Nüks hastalık ise TY sonrası kemik iliğinde \geq %5 blast olması veya periferik kanda blastların yeniden görülmesi veya ekstramedüller hastalık gelişmesi olarak tanımlanır. AML'de nüks, erken (<6 ay) veya geç (>6 ay) nüks olarak ayırt edilir⁵.

Refrakter veya erken nüks akut lösemi hastaları için kür elde edilebilecek tedavi yöntemi allojenik kemik iliği naklidir. Her ne kadar kemik iliği nakli ile kür sağlanabilse de 4 yıllık sağ kalım %25-30'u geçmemektedir⁶. Allojenik kemik iliği nakli ile en iyi sonuçlar kurtarma tedavisine tam yanıtli hastalarda alınmıştır. Kurtarma kemoterapi rejimleri uygulanması ve hastaların tolere etmesi zor, yüksek doz tedavilerdir. Birbirleri ile karşılaştırmalı çalışmaları bulunmamaktadır ve üstünlüğü kanıtlanmış bir rejim gösterilememiştir. Temel prensipte hastaları en az toksisiteyle, en çabuk şekilde ve en düşük hastalık yükü ile transplantasyona hazırlayan rejim tercih edilmelidir⁷.

Primer refrakter veya erken nüks eden AML hastalarının kemoterapi ile ikinci bir remisyon elde etme oranları %10-15 aralığındayken, geç nüks etmiş hastalarda bu oran %40-60 düzeyindedir⁸. Geç nüks etmiş AML hastalarında sitarabin ve daunoribisin indüksiyonu ile hastaların %50'sinde TY elde edilir⁹. Fludarabin, sitarabin, granülosit koloni uyarıcı faktör tedavi protokolü (FLAG) ile %46-63 oranında TY sağlanabilir¹⁰. ALL hastalarında nüks, remisyon elde edildikten 1 yıl veya daha geç bir dönemde gerçekleştiyse ilk remisyon indüksiyon tedavisi tekrarlanabilir. Relaps veya refrakter ALL hastalarında FLAG-idarubisin tedavi protokolü genel yanıt oranları %39-83, hiperfeksiyone siklofosamid, vinkristin, doksorubisin ve deksametazon tedavi protokolü genel yanıt oranları %47 ve klofarabin kombinasyonları genel yanıt oranları %17 civarındadır¹¹.

Bu çalışmamızda relaps veya refrakter akut lösemi hastalarında klofarabin bazlı tedavilerin etkinliğini ve yan etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hematoloji kliniğinde takip edilen Ocak 2015 - Aralık 2020 yılları arasında relaps veya refrakter akut lösemi tanımlı 12 hasta dahil edildi. Hastaların verileri hastane bilgi sistemi üzerinden ve hasta dosyası üzerinden elde edildi. Tedavi öncesi serum kreatinin yüksekliği (>2X NÜS), total bilirubin yüksekliği (>1.5X NÜS) ciddi enfeksiyon bulgusu ve santral sinir sistemi tutulumu olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Tüm hastalarda klofarabin bazlı tedavi esnasında gelişen yan etkiler, enfeksiyöz komplikasyonlar, tedavi yanıtları, genel sağ kalım süresi ve mortalite oranı değerlendirildi.

Biyostatistiksel Analiz

Verilerin hesaplanmasında Microsoft Excel 2010 kullanılmıştır. Analizler ve tanımlayıcı istatistikler için ise SPSS versiyon 15.0 kullanıldı. Verilerin uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi (p=0,552). Tanımlayıcı veriler normal dağılımlı değişkenler için ortalama \pm standart sapma ve normal dağılımlı olmayan değişkenler için medyan kullanılarak verildi. Kategorik veriler frekans (yüzde) olarak verildi.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 12 hastanın yaş ortalaması 36,6+16 olup, %58'i erkek idi. Dokuz hasta AML, üç hasta ALL tanısı ile takip edilmekteydi. Klofarabin + sitarabin tedavisi öncesi verilen medyan kemoterapi rejimi 3 idi. Sekiz hasta bir önceki tedaviye refrakter olup, dört hasta erken nüks ile başvurdu. Hastaların tamamı en az 2 seri kemoterapi tedavisi almıştı. Hastalar klofarabin 22,5 mg/m² + sitozin arabinosid 1000 mg/m² dozunda intravenöz 1-5. gün olacak şekilde tedavi aldılar. Tüm hastalar antibiyotik ve antifungal profilaksisi almıştı. Profilaktik olarak granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) tedaviye eklenmedi. Ancak nötropeni (nötrofil <1.000/mm³) geliştiğinde G-CSF tedavisinin başlandığı görüldü (Tablo I).

Hematolojik yan etkiler arasında anemi, trombositopeni ve nötropeni değerlendirildi. Hastaların tamamında ciddi (grade 3-4) hematolojik yan etkiler izlendi. Grade 3-4 non- hematolojik yan etkiler arasında hepatotoksisite, diyare, bulantı-kusma ve mukozit görüldü. Cilt reaksiyonları hastaların %55'inde grade 1-2 düzeyinde; ciltte soyulma ve el ayakta kızarıklık şeklinde izlendi. Ciddi cilt reaksiyonu izlenmedi. Hepatotoksisite gelişen hastalarda tedavinin ortalama 5.-7. gününde ALT piki izlenmiş olup, tedavinin ortalama 11.-13. gününde normale geriledi. Üç (%25) hastada akut renal yetmezlik tablosu gelişti. Klofarabine bağlı nörotoksisite gözlenmedi (Tablo II).

Akut Lösemi Hastalarında Klofarabin Tedavisi

Tablo I. Hastaların karakteristik özellikleri (n=12)

Özellik	Hasta sayısı	%
Yaş ortalaması	36,6±16,4	
Yaş aralığı	19-60	
Cinsiyet		
Kadın	5	42
Erkek	7	58
İmmunofenotip		
AML	3	25
ALL	9	75
Önceki tedaviye cevap		
Erken nüks	3	25
Refrakter	9	75
Önceki kemoterapi rejim sayısı	-	
2	4	33
3	5	42
4	2	17
5	1	8
Medyan	3	
ALL: Akut lenfoblastik lösemi, AML: Akut miyeloid lösemi		

Tablo II. Tedavi esnasındaki yan etkiler

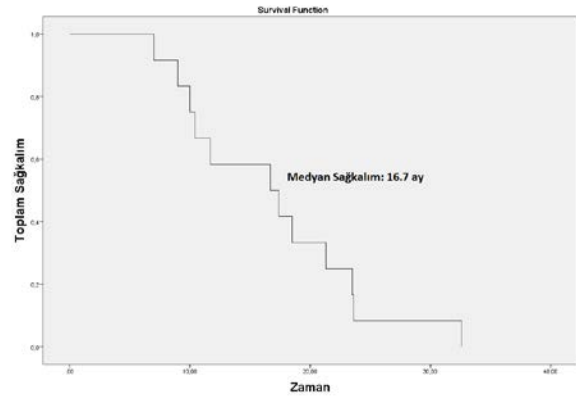
	Grade 1-2	Grade 3-4	Toplam
Hematolojik yan etkiler (anemi/nötropeni/ trombositopeni)		%100	%100
Non-hematolojik yan etkiler			
Hepatotoksosite			%83
ALT/AST atışı	%67(8)	%16(2)	
Hiperbilirubinemi	%33(4)	%33(4)	
Cilt reaksiyonları	%67(8)	-	%67
Bulantı-kusma	%50(6)	%16(2)	%67
Diyare	%33(4)	%25(3)	%58
Mukozit	%25(3)	%16(2)	%42
ALT: Alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz			

Tedavi esnasında tüm hastalar febril nötropeni ile komplike oldu. Sekiz hastada tedavinin herhangi bir döneminde hipotansiyon gelişti, 7 (%58) hastada sepsis bulguları mevcuttu. Sepsis nedenleri arasında başlıca invazif pulmoner aspergilloz (İPA), tiftitis ve pnömoni yer almaktaydı (Tablo III). Toplam mortalite oranı %58 (n=7) civarındaydı. Mortal seyreden 7 hastanın 6'sında miyelosupresyona sekonder gelişen sepsis bulguları izlendi. Bir hasta aplazik dönemde intrakranial kanama geliştikten sonra eks oldu. Bir hastada septik şok nedeniyle erken ölüm (<14 gün) gerçekleşti. 2 hasta İPA enfeksiyonu sonrası gelişen solunum yetmezliği ve sepsis tablosu nedeniyle eks oldu. Tiftitis gelişen üç hastanın ikisi aplazik dönemde eks oldu.

Tablo III. Tedavi sırasında gelişen enfeksiyöz komplikasyonlar

Febril nötropeni	%100(12)
Hipotansiyon	%66(8)
Sepsis	%58(7)
İnvaziv pulmoner aspergilloz	%33(4)
Pnömoni	%33(4)
Tiftitis	%25(3)
CMV pnömoni	%8(1)
Covid-19 enfeksiyonu	%8(1)
CMV: Sitomegalovirüs	

Tedavi yanıtları değerlendirildiğinde 1 (%8) hastada tam yanıt elde edildi. Hastaların %33 (n=4)'ü tedaviye yanıtız olarak değerlendirildi. Tüm hastaların genel sağ kalım süresi ise medyan 16,7 aydı (%95 güven aralığı (GA), 10-23.5) (Şekil 1).



Şekil 1:
Hastaların genel sağkalım oranı
(Kaplan Meier eğrisi)

Tartışma

Klofarabin ikinci jenerasyon purin analogudur. Hem DNA polimeraz enzim inhibisyonu hem de ribonükleotid redüktaz enzim inhibisyonu ile DNA sentezini engeller. Ayrıca mitokondriyal membran hasarı ile direkt apoptozisi uyarır¹². Ciddi hematolojik yan etkiler (anemi, nötropeni ve trombositopeni) hastaların neredeyse tamamında gözlenmektedir. Sık görülen non-hematolojik yan etkiler arasında febril nötropeni, bulantı-kusma, diyare, mukozit, cilt reaksiyonları ve hepatotoksosite görülmektedir. Ciddi hepatotoksite izlense de genellikle geri dönüşlüdür¹³.

Kantarjian ve arkadaşlarının yaptığı faz 1 çalışmasında klofarabinin doz kısıtlayıcı toksisitesi hepatotoksite olarak izlendi. Akut lösemide maksimum tolere edilen dozu 40 mg/m² den 5 gün boyunca bir saatlik

infüzyon şeklindeydi. Bu çalışmada klofarabinin akut lösemi tedavisinde cesaret verici etkisi gözlemlendi¹⁴.

Jeha ve arkadaşları tarafından 61 hasta üzerinde yapılan faz 2 çalışmasında hastaların %20'si tam yanıtlı, %10'u kısmi yanıtlı izlendi. Grade 3-4 yan etkiler arasında febril nötropeni (%49), ALT artışı (%43), hiperbilirubinemi (%16), hipokalemi (%46) görüldü. Sepsis veya septik şok %20, fungal enfeksiyon %15, viral enfeksiyon %16 hastada saptandı. Mortalite oranı %25 idi. Bu çalışmanın sonucunda 2004 yılında FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından klofarabinin en az 2 seri kemoterapi alan relaps veya refrakter ALL tanılı pediatrik hastaların tedavisinde kullanımına onay verildi¹⁵.

Relaps veya refrakter akut lösemi, yüksek riskli miyelodisplastik sendrom ve blastik faz kronik miyeloid lösemi tanılı toplam 62 yetişkin hasta üzerinde yapılan bir faz 2 çalışmasında klofarabin tedavisine genel yanıt oranı %48 izlendi. Hastaların %81'inde febril nötropeni gelişti. Klofarabin ile yaygın yan etkiler arasında geçici hepatotoksisite, mukozit, deri döküntüleri ve el-ayak sendromu bulunmaktaydı¹⁶. Bizim çalışmamızda hastaların tamamında febril nötropeni gelişti. Ciddi non-hematolojik yan etkiler arasında hepatotoksisite, bulantı-kusma, diyare ve mukozit bulunmaktaydı. Cilt reaksiyonları %68 oranında görüldü. Ancak tamamı grade 1-2 düzeyindeydi. Cilt reaksiyonları genellikle ciltte kızarıklık ve soyulma şeklindeydi. Antihistaminik ve topikal krem tedavileri ile bu lezyonlar geriledi. Ciddi hepatotoksisitesi olan hastalarda genellikle n-asetilsistein ve intravenöz sıvı replasmanı sonrası hepatotoksisite geriledi. Çalışmamızda gözlenen yan etkiler literatürde ki yapılan çalışmalar ile benzer nitelikteydi.

Klofarabin ve sitarabin kombinasyonları olaysız sağ kalımı iyileştirse de genel sağ kalıma etkileri gösterilememiştir. Altmış yaş ve üzeri AML tanılı hastalar üzerinde yapılan bir randomize kontrollü çalışmada klofarabin ve sitarabin kombinasyon tedavisi alan grupta tam yanıt oranı %63 iken yalnız klofarabin tedavisi alan grupta %31 saptandı. Kombinasyon tedavisi alan grupta mortalite oranı %19, yalnız klofarabin tedavisi alan grupta mortalite oranı %31 idi¹⁷. Faderl ve arkadaşlarının yaklaşık 320 hasta üzerinde yaptığı randomize kontrollü bir çalışmada hastalar plasebo + sitarabin tedavisi alan ve klofarabin + sitarabin (kombinasyon) tedavisi alan olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kombinasyon tedavisi alan grupta genel sağ kalım ortalama 6,6 ay iken diğer grupta genel sağ kalım ortalama 6,3 aydı. İki grup arasında genel sağ kalım açısından anlamlı fark izlenmedi. Ancak kombinasyon tedavisinin olaysız sağ kalımı önemli ölçüde iyileştirdiği gözlemlendi. Kombinasyon tedavisi alan grupta mortalite oranı %16 idi¹⁸. Bizim çalışmamızda tam yanıt oranı yapılan çalışmalara göre düşüktü. Bu durum çalışmaya dahil edilen hasta sayısının az olması, hastaların daha önce almış olduğu kemoterapi reji-

mi sayısının fazla olması ve son tedaviye refrakter hasta sayısının fazla olması ile ilişkili olabilir.

Mortalite oranı ise yapılan çalışmalara göre yüksekti. Bu durum hastaların çoğunun önceden aldığı kemoterapi tedavileri esnasında ciddi enfeksiyon ile komplike olması, hastalık yükünün fazla olması ve almış oldukları tedaviler sonunda genel durumlarının düşkün olması ile ilişkili olabilir. Çalışmamızda klofarabin ile ilişkili mortalite izlenmedi. Mortalitenin esas nedeni ise hastalık progresyonu ve miyelosupresyon sonrası gelişen sepsis veya septik şok olarak yorumlandı.

Yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada kanser tanısı olan hastalarda kanserli olmayanlara göre Covid-19 enfeksiyonuna bağlı yoğun bakım ünitesi ihtiyacı, ventilasyon desteği ve ölüm dahil ciddi olayların gelişme riski daha yüksek bulundu¹⁹. Çalışmamızda bir hastada klebsiella pnömoni enfeksiyonuna ek olarak Covid-19 enfeksiyonu sonrası solunum yetmezliği gelişti ve eks oldu.

Relaps veya refrakter akut lösemi hastalarında günümüzdeki tedaviler ile yanıt oranları halen düşük düzeydedir. Dolayısıyla bu hastalarda daha uzun sağ kalım avantajı sağlayacak yeni tedavi ajanlarının geliştirilmesine ve tedavi modalitelerine gereksinim vardır.

Etik Kurul Onay Bilgisi

Onaylayan kurul: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu.

Onay Tarihi: 20.01.2021

Karar No: 2021-2/3

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım: C.Y., F.Ö., V.Ö., R.A.; Veri toplama ve işleme: C.Y., B.O., Ö.C., İ.E.P.; Analiz ve verilerin yorumlanması: C.Y., F.Ö., T.E.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: C.Y., F.Ö., B.O.

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarlarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Emadi A, Baer MR. Acute Myeloid leukemia in adults. In: Greer JP, Arber DA, Glader B, List AF, Means RT, Paraskevas F, Rodgers G (eds). *Wintrobe's Clinical Hematology*. Wolters Kluwer business 13th edition. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2014.
2. Löwenberg B, Downing JR, Burnett A. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 1999;341:1051-62.
3. Creutzig U, Kaspers GJ. Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2004;22:3432-33.
4. Fielding AK, Richards SM, Chopra R, et al. Medical Research Council of the United Kingdom Adult ALL Working Party; Eastern Cooperative Oncology Group. Outcome of 609 adults after relapse of acute lymphoblastic leukemia (ALL); an MRC UKALL12/ECOG 2993 study. *Blood*. 2007;109:944-50.

Akut Lösemi Hastalarında Klofarabin Tedavisi

- Dohner H, Estey EH, Amadori S, et al. European LeukemiaNet. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*. 2010;115: 453-74.
- Duval M, Klein JP, He W, et al. Hematopoietic stem-cell transplantation for acute leukemia in relapse or primary induction failure. *J Clin Oncol*. 2010;28:3730-38.
- Camera A, Annino L, Chiurazzi F, et al. GIMEMA ALL - Rescue 97: a salvage strategy for primary refractory or relapsed adult acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2004;89:145-153.
- Estey E, Kornblau S, Pierce S, et al. A stratification system for evaluating and selecting therapies in patients with relapsed or primary refractory acute myelogenous leukemia. *Blood* 1996;88:756.
- Giles F, Verstovsek S, Garcia-Manero G, et al. Validation of the European Prognostic Index for younger adult patients with acute myeloid leukaemia in first relapse. *British journal of haematology*. 2006;134:58-60.
- Montillo M, Mirto S, Petti MC, et al. Fludarabine, cytarabine, and G-CSF (FLAG) for the treatment of poor risk acute myeloid leukemia. *Am J Hematol* 1998;58:105-109.
- Schlenk RF, Dohner K, Mack S, et al. Prospective evaluation of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation from matched related and matched unrelated donors in younger adults with high-risk acute myeloid leukemia: German-Austrian trial AMLHD98A. *J Clin Oncol*. 2010;28:4642-48.
- Bonate PL, Arthaud L, Cantrell WR Jr, et al. Discovery and development of clofarabine: a nucleoside analogue for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2006;5(10):855-63.
- Huguet F, Leguay T, Raffoux E et al. Clofarabine for the treatment of adult acute lymphoid leukemia: the Group for Research on Adult Acute Lymphoblastic Leukemia intergroup. *Leuk Lymphoma*. 2015;56(4):847-57.
- Kantarjian HM, Gandhi V, Kozuch P, et al. Phase I clinical and pharmacology study of clofarabine in patients with solid and hematologic cancers. *J Clin Oncol*. 2003;21(6):1167-73.
- Jeha S, Gaynon PS, Razzouk BI, et al. Phase II study of clofarabine in pediatric patients with refractory or relapsed acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2006;24(12):1917-23.
- Kantarjian H, Gandhi V, Cortes J, et al. Phase 2 clinical and pharmacologic study of clofarabine in patients with refractory or relapsed acute leukemia. *Blood*. 2003;102(7):2379-86.
- Faderl S, Ravandi F, Huang X, et al. A randomized study of clofarabine versus clofarabine plus low-dose cytarabine as front-line therapy for patients aged 60 years and older with acute myeloid leukemia and high risk myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2008;112:1638-45.
- Faderl S, Wetzler M, Rizzieri D, et al. Clofarabine plus cytarabine compared with cytarabine alone in older patients with relapsed or refractory acute myelogenous leukemia: results from the CLASSIC I Trial. *J Clin Oncol*. 2012;30(20):2492-9.
- Moujaess E, Kourie HP, Ghosn M. Cancer patients and research during COVID-19 pandemic: A systematic review of current evidence. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2020;150:102972.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

DeneySEL Olarak Travmatik Beyin Hasarı Oluşturulan Ratlarda Serum pNF-H Düzeyinin Beyin Hasarını Göstermede Etkinliği

Halil İbrahim ÇIKRIKLAR¹, Vahide Aslıhan DURAK¹, Tülin ALKAN²,
Birnur AYDİN², Deniz SİĞİRLİ³, Hakan SALCI⁴, Erol ARMAĞAN¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Bursa.

² Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

³ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Bursa.

⁴ Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Çalışmamızın amacı deneysel olarak hafif travmatik beyin hasarı oluşturulan sıçanlardan alınan serum örneklerinde pNF-H düzeyinin hasarı göstermede etkin olup olmadığını araştırmaktır. Marmarou modelinin modifiye edilerek kullanıldığı deneysel çalışmamızda farklı yüksekliklerden farklı ağırlıklarda bilyeler serbest düşme yöntemiyle bırakılarak sırayla 0.05, 0.1, 0.2 ve 0.4 Newton şiddetinde travma oluşturulması hedeflendi. Travmanın indüksiyonundan 2 saat sonra sıçanların kalbinden alınan kanlarda pNF-H düzeyi araştırıldı. Sonuç olarak deneysel olarak hafif travmatik beyin hasarı oluşturduğumuz ratlarda 2. saatte alınan kanlarda pNF-H düzeylerindeki değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçlar hafif travmatik beyin hasarından sonraki 2. saatte kanda çalışılan pNF-H'nin tanısız olarak etkin olmadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: pNF-H. Kafa Travması. Acil Servis.

The Effectiveness of Serum pNF-H Level Interpreting Brain Damage in Rats with Traumatic Brain Injury Model

ABSTRACT

The aim of our study is to investigate whether pNF-H level is effective in demonstrating traumatic brain injury in serum samples taken from rats with experimental traumatic brain injury. In our experimental study where the Marmarou model was modified and used, it was aimed to create trauma with the intensity of 0.05, 0.1, 0.2 and 0.4 Newton respectively by using balls of different weights from different heights with free fall method. The pNF-H level was investigated in the blood taken from the heart of rats 2 hours after the induction of trauma. As a result, the changes in pNF-H levels in the blood taken at the 2nd hour from rats with experimental traumatic brain injury were not found to be statistically significant. These results show that pNF-H, which is studied in the blood in the second hour after traumatic brain injury, is not diagnostically effective.

Key Words: Emergency department. pNF-H. Traumatic brain injury.

Geliş Tarihi: 17.Mayıs.2021

Kabul Tarihi: 15.Haziran.2021

Dr. Vahide Aslıhan DURAK
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Acil Tıp Anabilim Dalı,
Görükle, Bursa
Tel.: 0532 446 25 12
E-posta: aslidurakis@hotmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Halil İbrahim ÇIKRIKLAR: 0000-0002-8073-6207
Vahide Aslıhan DURAK: 0000-0003-0836-7862
Tülin ALKAN: 0000-0001-6466-5042
Birnur AYDİN: 0000-0002-8193-474X
Deniz SİĞİRLİ: 0000-0002-4006-3263
Hakan SALCI: 0000-0001-6548-8754

Travmatik beyin hasarı (TBH), ciddi bir ölüm ve sakatlık nedenidir. Bu nedenle erken tanı ve tedavi önemlidir¹.

Klinik olarak TBH; hastanın motor, göz ve sözel yanıtlarının bilinçli seviyesinin değerlendirildiği Glasgow Koma Skalası (GKS) skoruna göre hafif (GKS 13-15), orta (GKS 9-12) veya şiddetli (GKS 3-8) olarak sınıflandırılır². Hafif TBH tüm vakaların yaklaşık % 85'inden fazlasını oluşturur³. Son yıllardaki çalışmalar, GKS'nin, özellikle hafif TBH tanısı koymak veya prognozu tahmin etmek için yeterli olmadığını göstermiştir⁴. GKS skoruna göre hafif olarak sınıflandırılan TBH hastalarının başvuru sırasında intrakraniyal kanama riski olduğu görülmektedir². Bu yüzden mevcut kılavuzlara göre TBH'ni de-

ğerlendirmek için Bilgisayarlı Tomografi (BT) veya Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) taramaları kullanılır⁵.

Yapılan çalışmalar hafif TBH'nın yaklaşık %29'unun BT'de saptanmadığını göstermektedir⁶. BT kanamayı tespit edebilse de daha ince beyin yaralanmalarının tespitinde özellikle hassas değildir⁷. Kontrastsız BT'nin diğer sınırlılıkları zayıf prognostik yetenek, serebral perfüzyonun değerlendirilememesi ve beyin parankiminde altta yatan travma sonrası değişikliklerin tam olarak değerlendirilememesidir^{8,9}. Ek olarak, tekrarlanan BT taraması, çocuklar gibi risk altındaki popülasyonda yüksek radyasyon maruziyetine neden olmaktadır⁷.

BT anormallikleri olmayan TBH vakaları geri dönüş önlemleriyle taburcu edilir ancak bu hastalar subklinik yaralanmalara ve kalıcı fonksiyonel semptomlara sahip olabilir¹⁰. Bazı çalışmalar hafif TBH'nın ilerleyici nörokognitif disfonksiyona neden olabileceğini göstermektedir¹¹. Hafif TBH'nın, Parkinson hastalığı dâhil olmak üzere nörodejeneratif ve psikiyatrik hastalıkların gelişme riskinin artmasına neden olduğu bulunmuştur¹².

Akut kırıklar veya kanama hariç hemen hemen tüm travma sonrası lezyonlardaki değişiklikleri tespit etmek için MRG, BT'den daha duyarlı olmasına rağmen, rutin MRG elde etme yeteneği kaynak mevcudiyeti ve maliyeti nedeniyle sınırlıdır¹³. MRG ile tespit edilebilen anormallikleri ayırt edebilen bir biyobelirteç, BT ile tespit edilemeyen TBH tanısı için değerli olabilir¹⁰.

TBH'nın ardından, Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) ve/veya serumda, yaralanmanın şiddetine bağlı olarak bazı biyobelirteçler salınır. Bu biyobelirteçler TBH tanısında ve sonuç tahmininde hayati bilgiler sağlayabilir⁵. Ek olarak, güvenilir bir biyobelirteç, özellikle küçük çocuklarda hareketi önlemek amacıyla uygulanan sedasyon ihtiyacını ve radyasyona gereksiz maruziyeti azaltacaktır. Bu biyobelirteçlerin TBH'daki rolünün daha iyi anlaşılmasına ihtiyaç vardır¹⁴.

Fosfo Nörofilament Ağır Protein (pNF-H) TBH tespitinde araştırılan biyobelirteçlerden birisidir. Deneysel kafa travması çalışmalarında serumda pNF-H düzeylerinin yükseldiği göstermiştir^{15,16}. Nörofilamentler (NF), tübüler aksonal hücre iskeletinin nörona özgü ve birincil bileşenidir¹⁷. NF, sadece nöronlarda bulunur ve esas olarak akson için yapısal destek sağlama ve akson çapını düzenleme işlevi gören önemli bir hücre iskeleti bileşenidir¹⁸.

NF, farklı molekül ağırlıklı üç polipeptit alt biriminden oluşur: Nörofilament-Hafif Protein (NF-L; 68K) Nörofilament-Orta Protein (NF-M, 150K) ve Nörofilament-Ağır Protein (NF-H; 200K)¹⁸. NF'ler arasında, NF-H en umut verici aksonal yaralanma biyobelirteçidir¹⁹. NF-H'nin fosforilleşmiş şekli olan pNF-H'nin deneysel TBH sonrasında kanda salındığı gösterilmiştir¹⁶. Neselius ve arkadaşları amatör boksörler arasın-

daki maçların ardından BOS'ta pNF-H düzeylerinin arttığını bulmuşlardır²⁰. Simon ve arkadaşları, şiddetli TBH olan yetişkin hastaların BOS'unda pNF-H'nin kontrollere kıyasla arttığı bildirilmiştir¹⁹. Zurek ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada pNF-H serum düzeyinin pediatrik hastalarda kafa travmasının şiddeti ile iyi korele olduğu gösterilmiştir²¹.

Çalışmamızın amacı deneysel olarak hafif travmatik beyin hasarı oluşturulan ratlardan alınan serum örneklerinde pNF-H düzeyinin hasarı göstermede etkin olup olmadığını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan onay alınmıştır (Karar No: 2020 – 11/01). Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme Merkezi'nden temin edilen Sprague-Dawley 250-300/gram, toplam 32 adet erkek sıçan deneye dâhil edilmiştir. Sıçanlar travmatik hasar uygulanmadan önce 18-22°C oda sıcaklığında 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ortamda, yiyecek ve suya serbest ulaşımı sağlanacak şekilde kafeslerde tutulmuştur.

TBH'nın oluşturulması Fizyoloji Anabilim Dalı Nörovasküler Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Marmarou ve arkadaşlarının impakt akselerasyon modeli modifiye edilerek kullanılmıştır²². Buna göre sıçanlar 5 gruba ayrılmıştır (n=8):

Kontrol: Sıçanlara herhangi bir işlem uygulanmamıştır.

Grup A: Sıçanlara 20 cm yüksekten bırakılan 25 mg'lık bilye ile kafa travması oluşturulmuştur.

Grup B: Sıçanlara 20 cm yüksekten bırakılan 50 mg'lık bilye ile kafa travması oluşturulmuştur.

Grup C: Sıçanlara 80 cm yüksekten bırakılan 50 mg'lık bilye ile kafa travması oluşturulmuştur.

Grup D: Sıçanlara 80 cm yüksekten bırakılan 100 mg'lık bilye ile kafa travması oluşturulmuştur.

Böylece, Newton Yasasına göre sırasıyla 0.05, 0.1, 0.2 ve 0.4 Newton (N) şiddetinde travma oluşturulması hedeflenmiştir.

Tüm ratlar bir kutuya konularak sedasyon için %3 sevoflurana maruz bırakıldı. Sevoflurane konsantrasyonu, sıçandaki sağırılık refleksinin kaybı doğrulanarak hesaplandı. Yukarıda belirtildiği gibi Marmarou ve ark. tarafından açıklanan modelin modifiye edilmiş versiyonu kullanılarak kafa travması uygulandı. Travma sonrası ölen ratlar çalışma dışı bırakıldı. Travmanın indüksiyonundan 2 saat sonra sıçanların kalbinden anestezi altında kan örneği alındı ve ardından tüm sıçanlar servikal dislokasyon yöntemiyle öldürüldü.

Sıçanlardan alınan kan örnekleri +4 derecede 5000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıl-

Serum pNF-H Düzeyinin Beyin Hasarını Göstermede Etkinliği

mıştır. Serum örneklerindeki pNF-H düzeyleri sıçan ELISA ticari kitleri kullanılmak suretiyle kit prosedürüne uygun olarak ELISA prensibine göre spektrofotometre kullanılarak 450 nanometre dalga boyunda analiz edilmiştir.

Bioistatistiksel Analiz

Değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Shapiro-Wilk testi ile test edilmiştir. Değişkenler normal dağılıma uymadığı için medyan (minimum-maksimum) değerler ile verilmiş olup; ikiden fazla bağımsız grubun karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics 22.0 paket programında yapılmıştır. Anlamlılık düzeyi $\alpha=0,05$ olarak alınmıştır.

Kontrol grubunda ve travma oluşturulan gruplardan pNFH kan düzeyleri Tablo-I'de gösterilmiştir. Tablo-I'de görüldüğü gibi; sıçanlara 20 cm yüksekten bırakılan 25 mg'lık bilye ile 0,05 N şiddetinde kafa travması oluşturulması hedeflenen A grubunda pNF-H kan düzeyinin medyan değeri 391,09 (min-maks: 367,19-501,10) pg/mL iken kontrol grubunda medyan pNF-H değeri 392,72 (min-max: 367,19-501,10) pg/mL olarak hesaplanmıştır.

Tablo I. Kontrol ve Travma Gruplarında pNFH Kan Düzeyinin (pg/mL) Karşılaştırılması

Gruplar	Medyan	Min-Maks	p değeri
KONTROL	392,72	367,19-501,10	0,059
GRUP A	391,09	336,82-439,79	
GRUP B	442,73	393,99-604,89	
GRUP C	405,15	323,77- 469,82	
GRUP D	434,16	375,74-543,41	

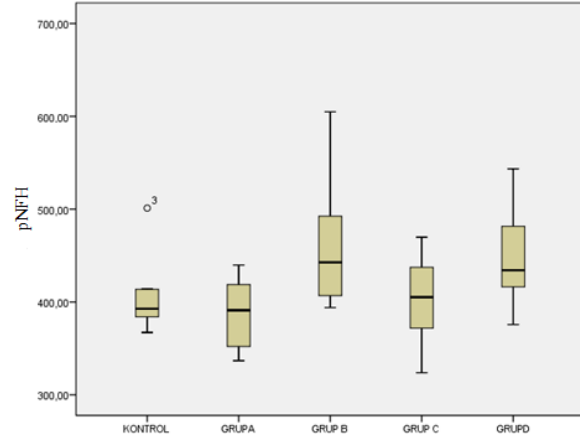
Min: minimum değer, Maks: maksimum değer

Sıçanlara 20 cm yüksekten bırakılan 50 mg'lık bilye ile 0,1 N şiddetinde kafa travması oluşturulması hedeflenen B grubunda pNF-H kan düzeyinin medyan değeri 442,73 (min-maks: 393,99-604,89) pg/mL olarak hesaplanmıştır.

Sıçanlara 80 cm yüksekten bırakılan 50 mg'lık bilye ile 0,2 N şiddetinde kafa travması oluşturulması hedeflenen C grubunda pNF-H kan düzeyinin medyan değeri 405,15 (min-maks: 323,77-469,82) pg/mL olarak hesaplanmıştır.

Sıçanlara 80 cm yüksekten bırakılan 100 mg'lık bilye ile 0,4 N şiddetinde kafa travması oluşturulması hedeflenen D grubunda pNF-H kan düzeyinin medyan değeri 434,16 (min-maks: 375,74-543,41) pg/mL olarak hesaplanmıştır.

Tüm gruplar değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,059$). Bundan dolayı gruplar ikili olarak karşılaştırılmamıştır (Şekil-1).



Şekil 1:
Gruplardaki pNF-H değerleri için kutu grafiği
(o: aykırı değer)

Tartışma ve Sonuç

TBH'nın ardından serumda, yaralanmanın şiddetine bağlı olarak bazı biyobelirteçler salınır. Bu biyobelirteçler TBH tanısında ve sonuç tahmininde hayati bilgiler sağlayabilir⁵. Bu biyobelirteçlerin TBH'daki rolünün daha iyi anlaşılmasına ve klinik tıpta yararlı olmak için hassasiyet, doğruluk, özgüllük düzeyinin iyileştirilmesine hala ihtiyaç vardır¹⁴.

Anderson ve arkadaşları kontrollü kortikal darbe cihazı kullanarak yaptıkları deneysel çalışmada ratlarda hafif, orta ve şiddetli kortikal kontüzyon oluşturmuşlardır¹⁶. Li ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmada sıçanları 1.25, 1.75 ve 2.25 metre yükseklikten kapalı kafa travmasına maruz bırakmıştır¹⁵. Benady ve arkadaşları hafif kafa travması oluşturmayı hedefledikleri deneysel çalışmada metal boruya yerleştirdikleri 30 gram ağırlığındaki metal cisim 80 cm'lik bir yükseklikten serbest düşüşle bırakarak hafif kafa travması oluşturmayı hedeflemişlerdir²³. Biz ise çalışmamızda Marmarou modelini modifiye edilerek TBH oluşturduk²². Farklı yüksekliklerden farklı ağırlıklarda bilyeler serbest düşme yöntemiyle bırakılarak sırayla 0.05, 0.1, 0.2 ve 0.4 N şiddetinde travma oluşturulması hedeflenmiştir.

Li ve arkadaşları tarafından deneysel kafa travması oluşturdukları ratlarda kanda pNF-H, Glial Fibriller Asidik Protein (GFAP), interlökin 6 (IL-6) ve amiloid beta (A β) düzeyleri ELISA ile değerlendirilmiştir¹⁵. Biz çalışmamızda pNF-H'nin serumdaki düzeyini araştırdık.

Nörofilamentlerin yalnızca nöronlarda bulunduğu göz önüne alındığında, bunların kandaki varlığı, beyin hasarını takiben nöronların hasarının ve/veya ölümünün bir göstergesidir¹⁶. Shaw ve arkadaşları deneysel olarak kafa travması oluşturulan sıçanların serumlarında pNF-H düzeyinin arttığını göstermişlerdir. pNF-

H'nin aksonal hasarın iyi bir belirteci olabileceği düşünölmektedir²⁵.

TBH sonrası pNF-H'nin kan ve BOS içindeki seviyeleri ELISA testi ile ölçölebilmekte olup serum ve BOS ELISA pNF-H değerleri arasında korelasyon vardır. Serum seviyeleri ile BOS seviyelerindeki korelasyon ve BOS örneklemeinin olası komplikasyonları göz önüne alındığında serum örneklemeinde ELISA ile pNF-H düzeylerinin çalışılması daha kullanışlı bir yöntem olarak öne çıkmaktadır²⁶. Bu yüzden biz çalışmamızda hafif TBH oluşturulan ratlarda kan pNF-H düzeyini araştırdık.

Li ve arkadaşları deneysel kafa travması oluşturdukları ratlarda darbeden 24 saat sonra kanda pNF-H düzeylerini ELISA ile değerlendirilmiş ve travma oluşturulan ratlarda anlamlı derecede daha yüksek serum pNF-H seviyeleri bulmuştur¹⁵. Yang ve arkadaşları deneysel çalışmada oluşturdukları TBH'nda serum pNF-H seviyelerinin, yaralanmadan 24 saat sonra yükseldiğini bulmuştur²⁷. Anderson ve arkadaşları TBH oluşturdukları deneysel çalışmada yaralanmadan sonra 1, 6, 12 ve 24. saatlerde ve 2, 3, 5 ve 7. günlerde toplanan kanlarda pNF-H düzeyini arařtırmışlardır¹⁶. Biz ise çalışmamızda deneysel olarak TBH oluşturduğumuz ratlardan travma sonrası 2.saatte aldığımız kanlarda pNF-H düzeyini araştırdık.

Acil servisler hastalarla ilgili hızlı kararların alınması gereken ortamlardır²⁸. TBH sonrası acil servise başvuran hastalar mümkün olduğunca çabuk deęerlendirilmelidir²⁹. TBH sonrası hastalar ilk 1-6 saat içinde hastanelerin acil servisine başvurmaktadır³⁰. Karasu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kafa travmalı hastaların %68'i ilk iki saat içerisinde, %11'inin 2-4 saat arasında ve %21'inin ise dört saatten sonra hastaneye ulaştığı belirlenmiştir³¹. Bizim daha önce yaptığımız prospektif çalışmada hastaların %77,8'i travmanın birinci saatinde, %12,7'si ikinci saatinde %9,5'i ise 2-6 saat arasında acil servise başvurmuştur³². Bu yüzden deneysel çalışmamızda TBH sonrası ikinci saatte kanda pNF-H düzeyini araştırmayı hedefledik.

TBH tahmininde araştırılan biyobelirteçler, hafif TBH varlığının tahmininde, tedavi başarısında, hastalığın şiddeti ve prognozunun kestiriminde kullanılabilirlerdir (33Shibahashi ve arkadaşları yaptığı klinik çalışmada serum pNF-H değerinin bitkisel yaşam/ölümü tahmin etmede yararlı olacağını bildirmişlerdir³⁴. Biz çalışmamızda pNF-H düzeyinin kafa travması sonrası erken dönemdeki tanısal etkinliğini araştırmayı hedefledik.

Daha önce yaptığımız bir deneysel çalışmada TBH oluşturduğumuz ratlardan 2.saatte alınan kanlarda Glial fibrillary acidic protein (GFAP) düzeyinin anlamlı bir şekilde yükseldiğini saptamıştık³⁵. Bu çalışmamızda ise benzer travma modelleri ile TBH oluşturduğumuz ratlarda 2.saatte kan pNF-H düzeyini araştırdık. Çalışmamızda travma grubundaki pNF-H düzeyi değişiklikleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır

(p=0,059). Anderson ve arkadaşları TBH oluşturdukları deneysel çalışmada yaralanmadan 6 saat sonra pNF-H yüksekliği tespit edilmiş ve düzeyler 24-48 saatte zirveye ulaşmıştır¹⁶. Bizim sonuçlarımız deneysel hafif beyin hasarı oluşturulan ratlarda pNF-H kan düzeyinin 2.saatte yükselmediğini göstermektedir.

Çalışmamızdaki en önemli kısıtlılık sadece 2.saatte alınan kanlarda pNF-H düzeylerini incelememizdir. Esasen pNF-H kan düzeyinin travmanın şiddetiyle korelasyonunu araştırmayı hedeflediğimiz çalışmamızda aynı saatte kan düzeyini çalışmamız gerekiyordu. Bu belirtecin erken tanısal değerini incelemek istediğimizden sadece 2.saatte alınan kan düzeylerine baktık.

Sonuç olarak deneysel olarak hafif travmatik beyin hasarı oluşturduğumuz ratlarda 2.saatte alınan kanlarda pNF-H düzeylerindeki değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçlar beyin hasarından sonraki 2.saatte kanda pNF-H düzeylerindeki değişikliklerin anlamlı olmadığını göstermektedir. Umut vaat eden bir biyobelirteç olan pNF-H'nin erken dönemdeki tanısal etkinliğini araştırmak için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Denepleri

Yerel Etik Kurulu

Onay Tarihi: 03.11.2020

Karar No: 2020-11/01

Araştırma Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım; H.İ.Ç.; Veri toplama ve işleme V.A.D, B.A.; Analiz ve verilerin yorumlanması T.A., H.İ.Ç., H.S., D.S., E.A.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması H.İ.Ç., V.A.D.

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Taylor CA, Bell JM, Breiding MJ, Xu L. Traumatic brain injury-related emergency department visits, hospitalizations, and deaths - United States, 2007 and 2013. *MMWR* Surveill. Summ 2017; 66:1-16.
2. Rabinowitz AR, Levin HS. Cognitive sequelae of traumatic brain injury. *Psychiatr. Clin. N. Am.* 2014; 37:1-11.
3. Pearson WS, Sugerma DE, McGuire LC, Coronado VG. Emergency department visits for traumatic brain injury in older adults in the United States: 2006-08. *West J Emerg Med* 2012;13(3), 289-293.
4. Papa L, Edwards D, Ramia M. Exploring serum biomarkers for mild traumatic brain injury. In *Brain Neurotrauma: Molecular, Neuropsychological, and Rehabilitation Aspects*; Kobeissy, F.H., Ed.; CRC Press/Taylor & Francis: Boca Raton, FL, USA, 2015; ISBN 9781466565982.
5. Azar S, Hasan A, Younes R, Najdi F, Baki L, Ghazale H, Kobeissy FH, Zibara K, Mondello S. Biofluid Proteomics and Biomarkers in Traumatic Brain Injury. *Methods Mol. Biol* 2017;1598:45-63.
6. Yuh EL, Mukherjee P, Lingsma HF, Yue JK, Ferguson AR, Gordon WA, Valadka AB, Schnyer DM, Okonkwo DO, Maas AIR et al. Magnetic resonance imaging improves 3-month out-

Serum pNF-H Düzeyinin Beyin Hasarını Göstermede Etkinliği

- come prediction in mild traumatic brain injury. *Ann. Neurol* 2013;73:224–235.
7. Wang KK, Yang Z, Zhu T, Shi Y, Rubenstein RJ, Tyndall A and Manley GT. An update on diagnostic and prognostic biomarkers for traumatic brain injury. *Expert Rev Mol Diagn* 2018;18(2): 165–180.
 8. Nadel J, McNally JS, DiGiorgio A & Grandhi R. Emerging Utility of Applied Magnetic Resonance Imaging in the Management of Traumatic Brain Injury. *Med Sci (Basel)* 2021;9(1).
 9. Smith LGF, Milliron E, Ho ML, Hu HH, Rusin J, Leonard J ve ark. Advanced neuroimaging in traumatic brain injury: an overview. *Neurosurg Focus* 2019;47(6): 17.
 10. Yue JK, Upadhyayula PS, Avalos LN, Deng H and Wang KK. Review: The Role of Blood Biomarkers for Magnetic Resonance Imaging Diagnosis of Traumatic Brain Injury. *Medicina* 2020;56:87
 11. Mac Donald CL, Barber J, Jordan M, Johnson AM, Dikmen S, Fann JR et al. Early clinical predictors of 5-year outcome after concussive blast traumatic brain injury. *JAMA Neurol* 2017;74, 821–829.
 12. Gardner RC and Yaffe K. Epidemiology of mild traumatic brain injury and neurodegenerative disease. *Mol. Cell. Neurosci*, 2015;66:75–80.
 13. Jagoda AS, Bazarian JJ, Bruns JJ, Cantrill SV, Gean AD, Howard PK, Ghajar J, Riggio S, Wright DW, Wears RL et al. Clinical policy: Neuroimaging and decisionmaking in adult mild traumatic brain injury in the acute setting. *Ann. Emerg. Med.* 2008; 52:714–748.
 14. Tomar GS, Singha GP, Lahkarb D, Sengarc K, Nigamd R, Mohand M, Anindyad R. Review: New biomarkers in brain trauma. *Clinica Chimica Acta*, 2018;487:325–329.
 15. Li Y, Zhang L, Kallakuri S, Cohen A, Cavanaugh JM. Correlation of mechanical impact responses and biomarker levels: A new model for biomarker evaluation in TBI. *J. Neurol. Sci* 2015;359(1–2): 280–286.
 16. Anderson KJ, Scheff SW, Miller KM, et al. The phosphorylated axonal form of the neurofilament subunit NF-H (pNF-H) as a blood biomarker of traumatic brain injury. *J. Neurotrauma* 2008;25(9):1079–1085.
 17. Julien JP, Mushynski WE. Neurofilaments in health and disease. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol* 1998;61:1–23.
 18. Posmantur RM, Zhao X, Kampfl A, Clifton GL, Hayes RL. Immunoblot analyses of the relative contributions of cysteine and aspartic proteases to neurofilament breakdown products following experimental brain injury in rats. *Neurochemical research* 1998;23(10):1265–1276.
 19. Siman R, Toraskar N, Dang A, McNeil E, M. McGarvey M, J. Plaum J, E. Maloney E, M.S. Grady MS. A panel of neuron-enriched proteins as markers for traumatic brain injury in humans. *J. Neurotrauma*, 2009;26 (11):1867–1877.
 20. Neselius S, Zetterberg H, Blennow K, Marcusson J, Brisby H. Increased CSF levels of phosphorylated neurofilament heavy protein following bout in amateur boxers. *PLoS ONE*, 2013;8(11):81249.
 21. Zurek J, Bartlova L, Fedora M. Hyperphosphorylated neurofilament NF-H as a predictor of mortality after brain injury in children. *Brain Inj* 2011;25 (2):221–226.
 22. Marmarou A, Foda MA, van den Brink W, Campbell J, Kita H, Demetriadou K: A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics. *J Neurosurg* 1994;80(2):291-300.
 23. Benady A, Freidin D, Pick CG, Rubovitch V. GM1 ganglioside prevents axonal regeneration inhibition and cognitive deficits in a mouse model of traumatic brain injury. *Scientific Reports*, 2018;8:13340
 24. Buki, A. and Povlishock, J.T. All roads lead to disconnection?–Traumatic axonal injury revisited. *Acta Neurochir (Wien)* 2006;148:181–193.
 25. Shaw G, Yang C, Ellis R, Anderson K, Mickle J, Scheff S, Pike B, Anderson D and Howland, D. Hyperphosphorylated neurofilament NF-H is a serum biomarker of axonal injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005;336:1268–1277.
 26. Gordon BA. Neurofilaments in disease: what do we know? *Curr Opin Neurobiol* 2020;61:105-115.
 27. Yang Z, Zhu T, Mondello S, Akel M, Wong AT, Kothari IM, Lin F, Shear DA, Gilsdorf JS, Leung LY, Bramlett HM, Dixon CE, Dietrich WD, Hayes RL, Povlishock TJ, Tortella FC, Kochanek PM, Wang KK. Serum-based phosphoneurofilament-heavy protein as theranostic biomarker in three models of traumatic brain injury: an operation brain trauma therapy study. *J Neurotrauma* 2019;36(2):348-359.
 28. Park HO, Kim JW, Kim SH, Moon SH, Byun JH, Kim KN ve ark. Usability verification of the Emergency Trauma Score (EMTRAS) and Rapid Emergency Medicine Score (REMS) in patients with trauma: A retrospective cohort study. *Medicine (Baltimore)* 2017;96(44):8449.
 29. Capizzi A, Woo J & Verduzco-Gutierrez M. Traumatic Brain Injury: An Overview of Epidemiology, Pathophysiology, and Medical Management. *Med Clin North Am* 2020;104(2), 213-238.
 30. Shackelford SA, Del Junco DJ, Reade MC, Bell R, Becker T, Gurney J ve ark. Association of time to craniectomy with survival in patients with severe combat-related brain injury. *Neurosurg Focus* 2018;45(6):2.
 31. Karasu A, Sabancı PA, Cansever T, et al. Kafa travmalı hastalarda epidemiyolojik çalışma. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2009;15(2):159-63.
 32. Çıkrıklar H, Ekici MA, Coşan D, Ekici A, Üstündağ Y, Karaali M, Kaynak M, Uz K, Baydemir C, Yürümez Y. Serum GFAP Düzeyi, Minor Kafa Travmalı Çocuklarda Beyin Tomografisine Alternatif Olabilir Mi? *Bozok Tıp Derg* 2014; 4(1):6-12.
 33. Czeiter E, Amrein K, Gravesteijn BY, Lecky F, Menon DK, Mondello S ve ark. Blood biomarkers on admission in acute traumatic brain injury: Relations to severity, CT findings and care path in the CENTER-TBI study. *EBioMedicine* 2020;56, 102785.
 34. Shibahashi K, Doi T, Tanaka S, Hoda H, Chikuda H, Sawada Y, Takasu Y, Chiba K, Nozaki T, Hamabe Y, Ogata T. The Serum Phosphorylated Neurofilament Heavy Subunit as a Predictive Marker for Outcome in Adult Patients after Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma*, 2016;15;33(20):1826-1833
 35. Çıkrıklar HI, Uysal O, Ekici MA, Ozbek Z, Cosan DT, Yuçel M, et al. Effectiveness of GFAP in determining neuronal damage in rats with induced head trauma. *Turk Neurosurg* 2016;26(6):878–89.

Üzerine Televizyon Düşmesi Sonucu Meydana Gelen Çocuk Ölümlerinin Retrospektif Değerlendirilmesi

Ertuğrul GÖK¹, Recep FEDAKAR², Süleyman SİVRİ³

¹ Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, Diyarbakır.

² Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, Bursa.

³ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.

ÖZET

Televizyon düşmesi, çocuklarda sıklıkla künt kafa travmasına bağlı önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Televizyon düşmesi nedeniyle ölen olguların detaylı incelenmesi alınacak tedbirler için yol gösterici olacaktır. Bu çalışmada Adli Tıp Kurumu Diyarbakır Grup Başkanlığı tarafından 2005-2014 yılları arasında Diyarbakır'da ölü muayeneleri veya otopsileri yapılmış olan 9174 olgunun ölü muayene veya otopsi raporları incelendi. İncelenen olgulardan üzerine televizyon düşmesi nedeniyle ölmüş olduğu kesin olan çocuk yaş grubundaki 24 olgu çalışmaya alındı. Olguların tamamının (n=24) künt kafa travmasına bağlı öldükleri, hepsinin yaş grubunun 1-4 yaş aralığında olduğu, olguların 13 (%54,2) tanesinin kız cinsiyette olduğu ve en çok olguya yaz mevsiminde (%45,8) rastlandığı saptandı. Televizyon düşmesine bağlı ölümlerin tamamının kaza kaynaklı önlenilebilir halk sağlığı sorunu olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: Kaza. Çocuk ölümü. Adli olgu. Kafa travması. Televizyon düşmesi.

Retrospective Assessment of Child Deaths as a result of Falling Television

ABSTRACT

Television falling is an important cause of morbidity and mortality in children, often due to blunt head trauma. Detailed analysis of the cases who died due to falling televisions will be a guide for the prevention protocols. In this study, postmortem examinations or autopsy reports of 9174 cases which were carried out by the Council of Forensic Medicine, Diyarbakir Group Chairmanship between 2005 and 2014 were examined. Of the examined cases, 24 cases in the pediatric age group whose cause of death was television falling were included in the study. It was found that all of the cases (n=24) died due to blunt head trauma, all of them were between the ages of 1 and 4, 13 (54.2%) of the cases were female, and most cases (45.8%) were observed in the summer season. It was determined that all deaths due to falling TVs are preventable public health problems caused by accident.

Key Words: Accident. Child death. Forensic case. Head trauma. Falling TV.

Çocukluk döneminde kazalara bağlı olarak yaralanma ve ölüm riski yüksektir. Çocukların fiziki olarak küçük olmaları, tecrübe ve koordinasyon eksiklikleri, motor sistemlerinin yeterince gelişmediğinden dolayı ani reaksiyon güçleri zayıf olması nedeniyle erişkinler için hayatı tehdit etmeyen durumlar çocuklar için

hayatı tehdit edebilir^{1,2}. Önemli bir halk sağlığı problemi olan ev kazalarına maruz kalan kitle daha çok okul öncesi çocuklardır³. Okul öncesi yaştaki çocukların kafalarının vücuda oranla daha büyük olması, kafa kemikleri henüz tam gelişmediği için beyin dokusunun kafa travmasından kolay etkilenmesi nedeniyle çocukluk çağı travmalarında kafa travmaları ciddi yaralanmalar olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle televizyonun hayatımıza girdiği ve çok yaygınlaştığı son yıllarda çocukluk çağı ev kazalarında televizyon düşmesi kaynaklı kafa travmasına bağlı hasarlar sık görülmektedir⁴. Bu nedenle çocukluk dönemi kazaların oluş mekanizmasını, morbiditesini ve mortalitesini bilmek, özellikle önlenilebilir kazaların önüne geçebilmek için koruyucu programların hazırlanmasına yardımcı olacaktır.

Bu çalışmanın amacı ev kazalarından olan üzerine televizyon düşmesi nedeniyle öldüğü saptanan çocuk

Geliş Tarihi: 09.Nisan.2021

Kabul Tarihi: 16.Haziran.2021

Dr. Ertuğrul GÖK
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi
Adli Tıp Anabilim Dalı, Diyarbakır
Tel.: 0554 584 27 20
E-posta: ertugrulgk@gmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Ertuğrul GÖK: 0000-0003-1573-283X
Recep FEDAKAR: 0000-0002-2029-9674
Süleyman SİVRİ: 0000-0003-0929-3420

olguları inceleyip, literatür eşliğinde tartışarak, elde edilen veriler ışığında ev kazalarına bağlı önlenilebilir ölümler üzerinde yapılabilecek hususları vurgulamaktır.

Gereç ve Yöntem

Mevcut çalışmada Adli Tıp Kurumu Diyarbakır Grup Başkanlığı tarafından 2005-2014 yılları arasındaki 10 yıllık periyotta adli otopsi veya sadece adli ölü muayenesi yapılmış olan 9174 adet adli ölüm olgusunun dosyası geriye dönük olarak taranmıştır. Üzerine televizyon düşmesi sonucu ölen çocuk olgular çalışmaya dahil edilmiştir. Bu çalışmanın etik kurul izni Adli Tıp Kurumu Başkanlığı Eğitim ve Bilimsel Araştırma Komisyonu'ndan 17/09/2019 tarih ve 21589509/2019/747 sayılı yazı ile alındı.

Çalışmaya dahil edilen olguların yaş, cinsiyet, yaralandığı mevsim, olayın olduğu yer, hastanede yatış süreleri, ölüm yerleri, ölüm nedenleri belirlendi ve istatistiksel analizleri yapıldı.

Biyostatistiksel Analiz

Olguların yaşları ortalama±standart sapma; dosya kayıtlarına göre televizyon düşmesi tespit edilen olguların sayısı (n) ve yüzde (%) olarak belirtilmiştir. İstatistiksel analiz için (Statistical Package for the Social Sciences) SPSS 13.0 programı kullanılmıştır.

Bulgular

2005-2014 yılları arasındaki 10 yıllık periyotta otopsi veya sadece ölü muayenesi yapılan 9174 adli olgu içerisinde 18 yaş altı 24 olgunun (%0,26) üzerine televizyon düşmesi sonucu öldüğü belirlenmiştir. Bu olguların 11'ine (%45,8) adli otopsi yapılmış, geri kalan olgulara ise sadece adli ölü muayenesi yapılmıştır. 24 çocuk olgunun hepsinin 1-4 yaş aralığında olduğu görüldü. Olguların 13'ü (%54,2) kız, 11'i (%45,8) erkek cinsiyet olarak tespit edildi. Olguların 20'si (%83,3) hastane ortamında ölmüş, geri kalanı hastaneye ölü duhul olarak gelmiştir. Hastaneye canlı olarak gelen hastaların (n=20), 10 tanesinin (%50) ilk gün içinde vefat ettiği tespit edilmiştir. Olguların tamamında (24/24) künt kafa travması bulguları olduğu saptanmıştır. Bu olguların 22'sinde (%92) kafatası kemik kırıkları saptanmıştır. Kafatasında kırık saptanan olguların 14'ünde (%64) sadece kafatası kaide kemiklerinde, dördünde (%18) sadece kafatası kubbe kemiklerinde, dördünde (%18) ise kafatasının hem kubbe hem de kaide kemiklerinde kırıklar olduğu saptanmıştır. Olguların ikisinde (%8,3) ise, (birisi kız, birisi erkek) kafatasında kırık saptanmamıştır. Kafatası kemiklerinde kırık olmayan olgulardan üç yaşındaki kız olguda subaraknoidal kanama (SAK), beyinde

ventrikül içi kanama saptanırken; bir yaşındaki erkek olguda ise SAK ve subdural hematoma saptanmıştır. Televizyon düşmesi nedeniyle incelenen olguların tamamında (n=24) beyinde SAK tespit edilmiştir. Kafatasında sadece kaide kemiği kırığı olan olgular (n=14) incelendiğinde; kemik kırıklarına ilave olarak üçünde (%21,4) beyin dokusunda kontüzyon, birisinde (%7,1) epidural hematoma, birisinde (%7,1) subdural hematoma, birisinde (%7,1) oksipital loblarda harabiyet ve birisinde (%7,1) akciğerlerde kontüzyon saptanmıştır. Kafatasında sadece kubbe kemiği kırığı olan olgular (n=4) incelendiğinde; kemik kırıklarına ilave olarak birisinde (%25) beyin dokusunda kontüzyon ve ikisinde (%50) ventrikül içi kanama saptanmıştır. Kafatasında kubbe ve kaide kemiklerinde birlikte kırık saptanmış olan olgular (n=4) incelendiğinde ise; kemik kırıklarına ilave olarak birisinde (%25) beyin dokusunda kontüzyon, birisinde (%25) epidural hematoma olduğu saptanmıştır.

Kazaların hepsi ev ortamında meydana gelmiş olup olguların oluş zamanı mevsimsel olarak incelendiğinde, en çok olgunun yaz aylarında meydana geldiği tespit edilmiştir (Tablo). Olgulardan alınmış olan örnekler üzerinde yapılmış olan toksikolojik analizlerde hiçbir toksik madde bulunmamıştır.

Tablo. Olguların mevsimlere göre dağılımı

Mevsim	Olgu Sayısı (n)	Yüzdesi (%)
Kış	3	12,5
İlkbahar	4	16,7
Yaz	11	45,8
Sonbahar	6	25
Toplam	24	100

Tartışma ve Sonuç

Çocukların çeşitli nedenlerden dolayı travmalara bağlı yaralanma ve ölme riski erişkinlerden daha yüksektir. Çünkü çocuklar etraftaki potansiyel risklerin farkında olmadan, yaşadığı çevreyi tanımak için devamlı bir araştırma halindedirler. Künt kafa travmaları çocukluk döneminde yaralanma ve ölümlere neden olan durumlardandır⁵. Künt kafa travmasına neden olarak çocuk ölümlerine yol açan televizyon düşmesi kazaları, adli ölüm olgularından olup doğal olmayan ölümlerdendir. Ceza Muhakemesi Kanunu'nun (CMK) 159. Maddesi, doğal olmayan bir ölüm meydana geldiği durumlarda, durumun Cumhuriyet Başsavcılığına bildirilmesi yükümlülüğünü getirmiş olup bu kapsama giren hallerde ölünün gömülmesini ancak Cumhuriyet savcısının yazılı iznine bağlamıştır⁶. Adli ölüm olgularının ihbarından sonra, Cumhuriyet Savcısı yönetiminde adli otopsi veya sadece adli ölü muayenesi yapıldıktan sonra defin ruhsatı verilmektedir⁷. Bizim çalışmamızdaki bütün olguların adli ölüm olguları olması nede-

Televizyon Düşmesi Sonucu Çocuk Ölümleri

niyle hepsine adli işlemler (adli otopsi/adli ölü muayenesi) yapılmıştır.

Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre; ülkemizde dışsal yaralanma ve zehirlenme nedenli ölümler, ölüm nedenleri arasında 6. sırada gelmektedir. Çocukluk çağı ile ilgili ölümler incelendiğinde beş yaş altı ölüm oranlarının yıllar geçtikçe azaldığı görülmektedir⁸. Çalışmamızda televizyon düşmesi sonucu ölen çocukların hepsi 1-4 yaş arasında idi. Literatürde çocukluk çağı kazaları incelendiğinde en yüksek oranın bizim çalışmamıza benzer şekilde 1-4 yaş arası çocuklarda olduğu görülmektedir⁹⁻¹¹. Mevcut çalışmanın verileri incelendiğinde kız cinsiyetin üzerine televizyon düşmesi nedenli ölüm oranı erkek cinsiyete göre daha fazla bulunmuştur. Bilimsel literatür incelendiğinde çocukluk çağı travmalarının cinsiyetle bağlantısı konusunda farklı sonuçlar mevcuttur. Pakiş ve ark., çocukluk çağı travmalarının %77.8'inin erkek cinsiyette meydana geldiğini göstermiştir⁹. Korkmaz ve ark., ise çocuk acil servisine travma nedeniyle başvuran olgularının %50'sinden fazlasının erkek hastalar olduğunu bildirmiştir¹². Bununla birlikte üzerine televizyon düşmesi sonucu ölen çocukları içeren bir çalışmada, olguların %70'ini kız çocuklar oluşturmaktaydı¹³.

Adli tıbbi değerlendirmede kafatasında tam kat kemik kırıkları, epidural kanama, subdural kanama, SAK, ventrikül içi kanama, kafa içi yumuşak doku kontüzyonları gibi patolojilerin varlığı, yaşamı tehlikeye sokan yaralanmalardandır^{13,14}. Çalışmadaki çocuklarda kafatası kemik kırıkları saptanmasının nedeni olarak çocuklar ayakta iken üzerine televizyon düşmesi sonucu yaralanmalarına bağlamaktayız. Olguların iki tanesinde kafatası kemiği kırığı olmamasına rağmen SAK olmasını çocukların kafa kemiklerinin esnek olmasından dolayı kırık olmadan beyin kanamasına sebep olmasına bağlamaktayız. Olguların çoğunun hastane öncesinde veya hastanedeki ilk günde ölmelelerinin sebebinin ise ciddi travma maruziyetinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmadaki kazalar mevsimsel olarak incelendiğinde en çok olgunun yaz mevsiminde gerçekleştiği görülmektedir (Tablo). Literatürdeki çalışmalarda da bizim sonuçlarımıza benzer şekilde çocukluk çağı kazalarının yaz mevsiminde daha fazla olduğu görülmektedir¹²⁻¹⁵. Bunun sebebi olarak, çocukların yaz mevsiminde hava şartlarından dolayı daha hareketli olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak üzerine televizyon düşmesi nedenli ölümler, önlenabilir çocuk ölümlerindedir. Toplumun temelini oluşturan çocukların sağlığının korunması öncelikle ev ortamını onlar için güvenli hale getirmekle olacaktır. Ev ortamının çocuklar için uygun hale getirilmesi, gerekli tedbirlerin alınması, ev kazalarından korunma yolları hususunda ailelerin eğitilmesi ile bu ölümlerin önüne geçilebilir. Fakat alınan tüm tedbirlere rağmen ölümlü bir kaza olmuşsa CMK usullerine uygun bir şekilde adli otopsi veya sadece adli ölü muayenesi yapıp, ölümün nedeni ortaya konulmalıdır.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Adli Tıp Kurumu Başkanlığı Eğitim ve Bilimsel Araştırma Komisyonu

Onay Tarihi: 17.09.2019

Karar No: 21589509/2019/747

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım; E.G, R.F., S.S.; Veri toplama ve işleme E.G.; Analiz ve verilerin yorumlanması R.F., E.G, S.S.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması R.F., S.S., E.G.

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Byard RW. Accidental Childhood Death and the Role of the Pathologist. *Pediatr Dev Pathol.*2000;3:405-418.
2. Korkmaz T, Zerrin E, Kahramansoy N. Acil Servise Gelen Pediatrik Adli Olguların Değerlendirmesi: Retrospektif bir çalışma. *Haseki Tıp Bülteni.*2014;52:271-277.
3. Schmettmann M, Williamson A, Black D. Stable Age Pattern Supports Role of Development in Unintentional Childhood Poisoning. *Inj Prev.* 2008;14:30-33.
4. Turan Y, Uysal C, Korkmaz M ve ark. Kaza ile Üzerine Cisim Düşmesine Bağlı Hastaneye Başvuran Hastaların Değerlendirilmesi. *Dicle Tıp Dergisi.*2015;42:51-54.
5. Savku E, Huban A, Yalcındağ FN. Çocukluk Çağında Televizyon Düşmesi Sonucu Görülen Göz Problemleri. *Turk J Ophthalmol.*2013;43:451-454.
6. 5271 sayılı Ceza Muhakemesi Kanunu (2004). T.C. Resmi Gazete, Kabul Tarihi: 17/12/2004. Erişim adresi: <https://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/1.5.5271.pdf>, Erişim tarihi:12/03/2021.
7. Gök E, Hakeri H. Adli Vakalarda Tıbben ve Hukuken Otopsi mi Organ Nakli mi Önceliklidir? Sözlü Bildiri. IV. Uluslararası Tıp Hukuku Kongresi (Online). 8-10 Ocak 2021.
8. Türkiye İstatistik Kurumu. Ölüm ve Ölüm Nedeni İstatistikleri, Sayı:33710, Yayımlı tarihi: 24/06/2020. Erişim adresi: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Olum-ve-Olum-Nedeni-İstatistikleri-2019-33710>, Erişim tarihi:16/06/2021
9. Pakiş İ, Karapirli M, Yayıcı N. Üzerine Kaza İle Cisim Düşmesine Bağlı Çocuk Ölümleri. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2010;2:81-84.
10. Türkoğlu A, Tokdemir M, Yaprak B, Börk T, Tunçöz FT, Şen M. Üzerine Televizyon Düşmesi Sonucu Meydana Gelen Çocuk Ölümleri: Olguların Sunumu. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi.* 2014;28:35-37.
11. Şahin S, Doğan Ş, Aksoy K. Çocukluk Çağı Kafa Travmaları. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 28:45-51, 2002.
12. Korkmaz MF, Bostancı M, Tutanç M. Bir Üçüncü Basamak Hastanede Yatan Adli Nitelikli Çocuk Hastaların Değerlendirilmesi. *J Pediatr Emerg Intensive Care Med.* 2019;6:140-145.
13. Demiray Şahan Sİ, Kara ZG, Kılıç İ, Değirmenci B, Akar T, Demirel B. Televizyon Düşmesine Bağlı Çocuk Ölümleri. 15. Adli Bilimler Kongresi, sayfa 140. 12-15 Nisan 2018, Antalya.
14. Balcı Y, Çolak B, Gürpınar K, Anolay NN. (Güncelleme Editörleri). Türk Ceza Kanunu'nda Tanımlanan Yaralama Suçlarının Adli Tıp Açısından Değerlendirilmesi Rehberi. Adli Tıp Uzmanları Derneği, Adli Tıp Kurumu Başkanlığı, Adli Tıp Derneği, 2019.
15. Demir U, Aşıröz M, Etili Y, Kartal E, Gümüş O, Hekimoğlu Y. Beş Yaşın Altındaki Çocukların Kazayla Ölümünün Analizi. *Adli Tıp Dergisi.* 2017;31:17-25.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Üç Yüz Yirmibeş Laparoskopik Adrenalektomi Vakasının Retrospektif Analizi: Tek Merkez Deneyimi

Mehmet Çağatay ÇİÇEK¹, Kadir Ömür GÜNSEREN¹, Soner CANDER²,
Hakan VURUŞKAN¹, İsmet YAVAŞCAOĞLU¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Bursa.

² Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji Bilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Kliniğimizde çeşitli adrenal bez patolojileri nedeniyle laparoskopik adrenalektomi (LA) uygulanan hastaların intra-operatif ve post-operatif sonuçlarını değerlendirmeyi amaçladık. 2008 - 2020 yılları arasında LA uygulanan hastaların verileri retrospektif olarak değerlendirildi. Hastaların yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri, adrenal kitlenin boyutu, operasyon süresi, kanama miktarı, preop ve postop hemoglobin değerleri, hastanede kalış süresi, intraoperatif ve postoperatif komplikasyonlar açısından değerlendirildi. Patoloji raporları incelenerek kaydedildi. Çalışmaya 196'sı (%60.3) kadın ve 129'u erkek olmak üzere toplam 325 hasta dahil edildi. Yüz elliyedi hastaya sağ ve 168 (%51.7) hastaya sol LA uygulandı. Ortalama yaş 51.6 ± 12.1 ve ortalama kitle boyutu 40.3 ± 20.2 mm idi. Ortalama operasyon süresi 97 ± 36.2 dk ve ortalama kanama miktarı 50.8 ± 44.1 ml idi. Ortalama hastanede kalış süresi 3.1 ± 2.2 gün idi. Intraoperatif dönemde bir hastada distal pankreas yaralanması, 2 hastada kanama ile toplam 3 hastada intra-operatif komplikasyon gelişti. Bir hastada açık cerrahiye geçildi. Post-operatif dönemde 7 hastada komplikasyon görüldü. Tüm postoperatif komplikasyonlar ek girişime gerek kalmadan konservatif izlem ile tedavi edildi. LA, adrenal kitlelerin cerrahi tedavisinde tecrübeli merkezlerde güvenle uygulanabilecek efektif ve minimal invazif bir tedavi yöntemidir.

Anahtar Kelimeler: Adrenal kitle. Laparoskopik adrenalektomi. Sonuçlar.

Retrospective Analysis of 325 Laparoscopic Adrenalectomy Cases: Single Center Experience

ABSTRACT

We aimed to evaluate intraoperative and postoperative outcomes of the patients who underwent laparoscopic adrenalectomy (LA) for various adrenal gland pathologies in our clinic. The data of patients who underwent LA between 2008 and 2020 were evaluated retrospectively. The demographic characteristics of the patients such as age and gender, size of the adrenal mass, operation time, estimated blood loss, preoperative and postoperative hemoglobin, length of hospital stay, intraoperative and postoperative complications were evaluated. Pathology reports were examined and recorded. A total of 325 patients, 196 (60.3%) female and 129 male, were included to study. Right LA was applied to 157 patients and left LA to 168 (51.7%) patients. The mean age was 51.6 ± 12.1 years and the mean tumor size was 40.3 ± 20.2 mm. The mean operation time was 97 ± 36.2 minutes and the mean estimated blood loss was 50.8 ± 44.1 ml. Mean length of hospital stay was 3.1 ± 2.2 days. In the intraoperative period, distal pancreatic injury in one patient, bleeding due to vascular injury in 2 patients, at totally, intraoperative complications developed in 3 patients. In one patient conversion to open surgery was needed. Complications were seen in 7 patients in the post-operative period. All post-operative complications were treated with conservative follow-up without the need for additional intervention. LA is an effective and minimally invasive treatment method that can be safely applied in experienced centers in the surgical treatment of adrenal tumors.

Key Words: Adrenal tumor. Laparoscopic adrenalectomy. Outcomes.

Geliş Tarihi: 28.Nisan.2021

Kabul Tarihi: 22.Haziran.2021

Dr. Mehmet Çağatay ÇİÇEK
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üroloji Anabilim Dalı
Tel.: 0530 645 26 02
E-posta: cgytcicek@gmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Mehmet Çağatay ÇİÇEK: 0000-0002-0471-5404
Kadir GÜNSEREN: 0000-0001-8673-3093
Soner CANDER: 0000-0001-6303-7896
Hakan VURUŞKAN: 0000-0002-3917-4847
İsmet YAVAŞCAOĞLU: 0000-0002-1788-1997

Cerrahi girişim gerektirecek adrenal patolojiler hastaneye yatan hastalarda 19/100,000 gibi görece seyrek görülmekle birlikte son yıllarda görüntüleme tekniklerindeki ilerlemeler bu patolojilerin daha fazla teşhis ve tedavi edilmesine olanak sağlamıştır¹⁻⁴. Cerrahi gerektiren adrenal kitleler genellikle hormon aktif kitleler, 4 cm'den büyük non-fonksiyonel adenomlar veya herhangi bir malignitenin adrenal metastazını düşündürülen kitleler ve adrenal kaynaklı maligniteler olarak genellenebilir². Adrenalektomiler açık cerrahi yöntem ve laparoskopik yöntemler kullanılarak uygulanmaktadır. Açık operasyon batın duvarında geniş bir

insizyon gerektirmekte postoperatif dönemde daha yüksek morbidite oranları ve daha uzun hastanede yatış süresine neden olmaktadır^{5,6}. Gagner'in 1992 de ilk laparoskopik adrenalektomi uygulamasından⁷ bu yana minimal invaziv tedaviler giderek önem kazanarak günümüzde laparoskopik adrenalektomi (LA) benign adrenal kitlelerin cerrahi tedavisinde altın standart yaklaşım haline gelmiştir^{2,8-11}. Adrenal glandın retroperitoneal bölgede olması, sağ tarafta çoğu zaman retrokaval bölgeye uzanması, derin yerleşimli olması ve diğer birçok laparoskopik prosedüre kıyasla daha az sayılarda yapılan bir operasyon olması sebebi ile ileri düzey zorlukta bir laparoskopik operasyon olarak sınıflandırılmaktadır.¹² Reynolds ve ark.¹³ ise LA öğrenmek için deneyimli bir laparoskopistin az sayıda vaka yapmasının yeterli olduğunu belirtmekle birlikte Rieder ve ark. laparoskopik nefrektomiden aşinalığından dolayı bu yorumun sadece ürologlar için geçerli olabileceğini belirtmişlerdir¹.

LA için retroperitonoskopik ve transperitoneal yaklaşımlar tarif edilmiştir. Tercih edilecek yöntem cerrahın tecrübesi ve tekniğine göre değişmekle birlikte en sık tercih edilen yöntem transperitoneal anterior yaklaşımdır¹.

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde LA serilerinin sonuçlarının operasyonların yapıldığı sağlık kurumlarının profiline göre, operasyonu uygulayan cerrahın tecrübesine göre ve kurumda yapılan yıllık operasyon sayısına göre değiştiği izlenmektedir^{9,14}. Biz bu çalışmada kliniğimizin 12 yıllık LA deneyimini sunmayı ve literatür eşliğinde intraoperatif ve postoperatif sonuçlarını değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Etik kurul onayının alınmasının (Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurul no:2021-4/29) ardından 2008 - 2020 yılları arasında kliniğimizde adrenal bezde kitle tanısı ile LA uygulanan hastaların verileri retrospektif olarak değerlendirildi. Aynı seansta bilateral LA uygulanan hastalar, preop tetkik ve görüntülemelerinde adrenal bezin primer malignitesi şüphesi olan hastalar, patolojisi adrenal bezin primer malignitesi (adrenokortikal karsinom) olarak raporlanan hastalar, 18 yaşından küçük hastalar çalışmaya alınmadı. Tüm hastalar Üroloji Anabilim Dalı tarafından transperitoneal lateral LA yöntemiyle opere edildi. Hastaların yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri, adrenal kitlenin boyutu, operasyon süresi, kanama miktarı, preop ve postop hemoglobin değerleri, hastanede kalış süresi, intraoperatif ve postoperatif komplikasyonlar açısından değerlendirildi. Hastaların patoloji raporları incelenerek kaydedildi. Kitle boyutu olarak, patoloji raporlarında ölçülen tümör boyutu esas alındı. Operasyon süresi kamera ve çalışma portlarının yerleştirilmesinden başlanarak cildin kapatılmasına kadar geçen süre ola-

rak değerlendirildi. Kanama miktarı ameliyat sırasında aspire edilen ve reseptale biriken sıvı miktarının ölçümü olarak kaydedildi. Preop hemoglobin değeri hastanın ameliyat öncesi yatışında değerlendirilen laboratuvar sonucu göre, postop hemoglobin değeri ise ameliyat sonrası birinci gündeki laboratuvar sonucuna göre kaydedildi

Hastaların tamamı ameliyat öncesi bilgisayarlı tomografi veya manyetik rezonans görüntüleme ile değerlendirilmişti. Rutin olarak her hasta için ameliyat öncesi endokrinoloji konsültasyonu istenmiş ve hastaların hormon profilleri değerlendirilmişti. Hastaların ameliyat kararları endokrinoloji kliniği ortak yapılan konseylerde verildi. Postoperatif dönemde hastalar yine endokrinoloji tarafından değerlendirilerek önerileri uygulandı. Hastaların taburculuk sonrası takipleri yine üroloji ve endokrinoloji bölümleri tarafından ortak olarak yapıldı.

Bulgular

Hastaların demografik özellikleri, intraoperatif sonuçları ve komplikasyonlar Tablo I'de sunulmuştur. Çalışmaya 345 hasta dahil edilmesinin ardından dışlama kriterlerinden sonra kalan 325 hastanın 196'sı (%60.3) kadın ve 129'u erkek idi. 157 hastaya sağ ve 168 (%51.7) hastaya sol LA uygulandı. Hastaların ortalama yaşı 51.6 ± 12.1 ve ortalama kitle boyutu 40.3 ± 20.2 mm idi. Ortalama operasyon süresi 97 ± 36.2 dk ve ortalama kanama miktarı 50.8 ± 44.1 ml olarak hesaplandı. Hastaların ortalama preoperatif hemoglobin değeri 12.9 ± 1.6 g/dL iken ortalama postoperatif hemoglobin değerleri 12.1 ± 5.9 g/dL idi. Ortalama hastanede kalış süresinin 3.1 ± 2.2 gün olduğu belirlendi. İntraoperatif dönemde bir hastada distal pankreas yaralanması gelişti, iki hastada peroperatif kan transfüzyonu gerektirecek kanama ve bir hastada kanama nedeniyle açığa geçilmesi ile toplam 4 hastada intra-operatif komplikasyon gelişti. Postoperatif komplikasyon; operasyon tarihinden sonraki 30 gün içinde gelişen komplikasyonlar olarak tanımlandı. Postoperatif dönemde 7 hastada komplikasyon görüldü. Komplikasyon gelişen hastalardan dördünde Clavien-Dindo sınıfı (CDC) 1 (hafif derecede solunum sıkıntısı), bir hastada CDC 2 (transfüzyon gerektiren kanama), bir hastada CDC 3 (distal pankreas yaralanmasına bağlı pankreatik drenaj) ve bir hastada CDC 4 (intrakranial hemoraji) komplikasyon gelişti. Hastaların demografik verileri, operatif veriler ve postoperatif komplikasyonlar Tablo I'de özetlemiştir. Tüm postoperatif komplikasyonlar ek girişime gerek kalmadan konservatif izlem ile tedavi edildi. Hastaların patoloji sonuçları Tablo II'de özetlenmiştir.

Laparoskopik Adrenalektomi

Tablo I. Hastaların demografik özellikleri, intraoperatif sonuçlar ve komplikasyonlar.

Cinsiyet (Kadın/Erkek) (n)	196 / 129
Yaş (yıl)	51.6 ± 12.1 52 (21-88)
Taraf (Sağ/Sol) (n)	157 / 168
Boyut (mm)	40.3 ± 20.2 36 (10-150)
Operasyon Süresi (dk)	97.0 ± 36.2 90 (20-210)
Kanama Miktarı (ml)	50.8 ± 44.1 50 (10-500)
Hemoglobin (Preop/Postop) (mg/dL)	12.9 ± 1.6 / 12.1 ± 5.9
Hastanede kalış süresi (gün) (ortalama, SD) (medyan, min-max)	3.1 ± 2.2 3 (1-26)
Postoperatif Komplikasyonlar (n)	
Uzamış drenaj (Distal pankreas yaralanmasına sekonder)	1 (CDC 3)
Transfüzyon gerektiren kanama	1 (CDC 2)
Solunum sıkıntısı (Hafif derecede)	4 (CDC 1)
İntrakranial kanama	1 (CDC 4)

n: sayı, mm: milimetre, dk: dakika, ml: mililitre, dL: desilitre, SD: standart sapma, min: minimum, max: maksimum, CDC: Clavien- Dindo komplikasyon sınıflaması

Tablo II. Hastaların patoloji sonuçlarına göre dağılımı

Adenom	159
Diğer Benign Patolojiler	60
Feokromasitoma	57
Malign Feokromasitoma	1
Metastaz	48

Tartışma ve Sonuç

Literatürde LA konusunda yapılan çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde LA, açık cerrahiye oranla daha düşük mortalite ve morbidite oranlarına sahip olması ve ayrıca daha az post operatif ağrı, daha kısa hastanede kalış süresi ve daha iyi kozmetik sonuçlar gibi çeşitli avantajlar sağlamanın yanı sıra. üzerinde bir hayli tartışma olmakla birlikte LA'nın adrenokortikal karsinom tedavisinde dahi açık adrenalektomi ile benzer onkolojik sonuçları olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur^{1,4,14-19}. Kliniğimizin LA serisi Avrupa ve Birleşik Devletler'deki merkezlerle kıyaslanabilir sayıda olmasından dolayı bu çalışmada serimizi analiz ederek literatür ile karşılaştırmayı ve bulgularımızı paylaşmayı planladık.

Laparoskopik adrenalektomi retroperitoneal veya transperitoneal yaklaşım ile uygulanabilir¹. Her iki yaklaşımın çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Retroperitoneal yaklaşım daha önce abdominal

cerrahi öyküsü olan hastada batın içi yapışıklıklardan uzak kalınmasına olanak sağlarken, daha dar çalışma alanı sunması nedeniyle özellikle büyük adrenal kitlelerin laparoskopik cerrahisinde zorluk oluşturabilir¹⁹. Suzuki ve ark retroperitoneal yaklaşımı, 5 cm'den küçük adrenal kitlelerde ve yeterli cerrahi deneyime sahip olunması halinde önermektedir²⁰. Bununla birlikte transperitoneal yaklaşımda karaciğer, pankreas ve dalak gibi adrenal beze komşu intraabdominal organların ekartasyonu gerekmektedir ve bu yaklaşım daha geniş çalışma alanı sağlayarak büyük boyutlu adrenal kitlelerin laparoskopik cerrahisini mümkün kılar¹⁹. Biz kliniğimizde geniş laparoskopik böbrek cerrahisi deneyimimizden kaynaklanan tecrübemizden dolayı rutin olarak transperitoneal lateral yaklaşımı tercih etmekteyiz.

Adrenal cerrahilerde önemli bir konu da adrenal kitlenin boyutudur. Bu parametrenin önemi hem büyük kitlelerin cerrahi diseksiyonu ve eksizyonundaki zorluklardan, hem de kitle boyutunun artması ile malignite riskinin doğru orantılı şekilde yükselmesinden kaynaklanmaktadır, Alemanno ve ark. yayınladığı derlemede 4 cm'den küçük adrenal kitlelerde malignite riski %2'nin altında iken bu oran 6 cm'nin üzerinde %25 olarak belirtilmiştir²¹. Günümüzde büyük boyutlu kitlelerde LA'nın güvenle uygulanabileceğini bildiren yayınlar bulunmaktadır^{18,22}. Biz çalışmamızda ortalama kitle boyutu 40.3 ± 20.2 mm ve medyan 36 (10-150) mm olarak saptadık.

Peroperatif kanama, LA'da en sık görülen komplikasyonlardan olmakla birlikte açık cerrahiye geçişi gerektirebilmektedir²³. Farklı çalışmalarda farklı açığa geçiş oranları bildirilmekle birlikte genel olarak açık cerrahiye geçiş oranları %0.2 ile %6.2 arasında değişmektedir²⁴. Bizim çalışmamızda sadece bir hastada (%0.3) açık cerrahiye geçilmiştir ve oransal olarak literatürdeki bildirilen çalışmalar ile uyum göstermektedir. Laparoskopik adrenalektomi uygulanan hastalarda transfüzyon gerektirecek kanama %0 ila %13.5 arasında değişmektedir²⁵. Kanama nedeni daha çok adrenal bezin etraf dokulardan diseksiyonu veya sürrenal venin diseksiyonu ve kapatılıp ligasyonu sırasında ortaya çıkabilmektedir. Carter ve ark.'nın ve bizim önceki çalışmamızda belirtildiğimiz gibi 6 cm'den büyük kitlesi olan hastaların daha küçük kitlesi olanlara kıyasla daha fazla kanadığını gösteren çalışmalar olmakla birlikte¹⁸ bizim serimizdeki kanama miktarı ortalama 50.8 ± 44.1 ml olup geniş hasta serileri olan çalışmalar ile uyumludur. Açık cerrahiye geçiş ve kanama miktarımızın düşük olmasını kliniğimizin gerek LA, gerekse laparoskopik böbrek cerrahisindeki yüksek tecrübemize bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Operasyon zamanı ele alındığında, literatürde operasyon süresini etkileyen faktörlerin ne olduğu üzerine bir fikir birliği yoktur. Bazı çalışmalar 6 cm'den büyük kitlelerde operasyon süresinin daha uzun olduğunu belirtmekte iken, bazı çalışmalar ise kitle boyutu-

nun operasyon süresini etkilemediği sonucuna varmıştır^{26,27}. Tiberio ve ark. çalışmasında ise multivariate analizde 140 dk'yı aşan operasyon süresinin perioperatif komplikasyonlarla ilişkili olduğunu saptamışlardır²⁸. Bizim serimizde operasyon süremiz literatür ile benzer olarak ortalama 97 ± 36.2 dk, medyan 90 (20-210) dk olarak hesaplanmıştır.

Laparoskopik cerrahiler açık cerrahilere göre hastanede kalış süresi açısından daha avantajlıdır²⁹. Güncel bir makalede 4 cm'den daha büyük adrenal kitleler için yapılan LA'nın hastanede kalış süresini uzattığı, yine benzer olarak başka bir çalışma ise 5 cm üzerindeki kitleler için aynı sonucu belirtilmiştir^{30,31}. Bu sonuçlardan farklı olarak Carter ve ark. Yaptıkları çalışmada 6 cm'den küçük ve 6 cm'den büyük adrenal feokromasitomalarda hastanede kalış süresi açısından fark saptamamışlardır³². Literatürde Carter ve ark. Çalışması ile benzer sonuçlar bildiren çalışmalar da mevcuttur^{26,33,34}. Hastanede kalış süresi ile ilişkilendirilen başka bir faktör de hastaların ASA skorlarıdır. Chen ve ark. ASA skorunun ≥ 3 olmasının komplikasyon gelişimi ve hastanede kalış süresini uzatan bağımsız bir faktör olduğunu bildirmişlerdir. Biz çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak hastanede kalış süresini ortalama 3.1 ± 2.2 gün olarak hesapladık.

Sonuç olarak LA, adrenal adenokarsinom cerrahisindeki yeri tartışmalı olmakla birlikte, bunun dışındaki adrenal kitlelerin cerrahi tedavisinde özellikle tecrübeli merkezlerde güvenle uygulanabilecek efektif ve minimal invazif bir cerrahi yöntemdir.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Onay Tarihi: 24.02.2021

Karar No: 2021-04/29

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım; İ.Y., H.V, M.Ç.Ç.; Veri toplama ve işleme M.Ç.Ç., K.Ö.G.; Analiz ve verilerin yorumlanması S.C., M.Ç.Ç.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması M.Ç.Ç., K.Ö.G., S.C.

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

- Rieder JM, Nisbet AA, Wuerstle MC, Tran VQ, Kwon EO, Chien GW. Differences in left and right laparoscopic adrenalectomy. *JSLs* 2010;14(3):369-73.
- Fiszer P, Toutouchi S, Pogorzelski R, Krajewska E, Cieśla W, Skórski M. Laparoscopic adrenalectomy--assessing the learning curve. *Pol Przegl Chir* 2012;84(6):293-7.
- Gupta PK, Natarajan B, Pallati PK, et al.: Outcomes after laparoscopic adrenalectomy. *Surg Endosc* 2011; 25(3): 784-94.
- Brix D, Allolio B, Fenske W, et al. Laparoscopic versus open adrenalectomy for adrenocortical carcinoma: surgical and oncologic outcome in 152 patients. *Eur. Urol* 2010;58:609-15.
- Wang HS, Li CC, Chou YH, Wang CJ, Wu WJ, Huang CH. Comparison of laparoscopic adrenalectomy with open surgery for adrenal tumors. *Kaohsiung J Med Sci* 2009;25:438-44.
- Vargas HI, Kavoussi LR, Bartlett DL, et al. Laparoscopic adrenalectomy: A new standard of care. *Urology* 1997;49:673-78.
- Gagner M, Lacroix A, Bolte E. Laparoscopic adrenalectomy in Cushing's syndrome and pheochromocytoma. *N Engl J Med* 1992;327:1033.
- Smith CD, Weber CJ, Amerson JR. Laparoscopic adrenalectomy: new gold standard. *World J Surg* 1999 Apr;23(4):389-96.
- Gumbs AA, Gagner M. Laparoscopic adrenalectomy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006 Sep;20(3):483-99.
- Agrusa A, Romano G, Frazzetta G, et al. Laparoscopic adrenalectomy for large adrenal masses: single team experience. *Int J Surg* 2014;12 Suppl 1:S72-4.
- Erbil Y, Barbaros U, Karaman G, Bozbora A, Ozarmağan S. The change in the principle of performing laparoscopic adrenalectomy from small to large masses. *Int J Surg* 2009 Jun;7(3):266-71.
- Maccabee DL, Jones A, Domreis J, Deveney CW, Sheppard BC. Transition from open to laparoscopic adrenalectomy: the need for training. *Surg Endosc* 2003;10:1566-9.
- Reynolds FD, Goudas L, Zuckerman RS, Gold MS, Heneghan S. A rural community based program can train surgical residents in advanced laparoscopy. *J Am Coll Surg* 2003;4:620-3.
- Pędziwiatr M, Wierdak M, Ostachowski M, et al. Single center outcomes of laparoscopic transperitoneal lateral adrenalectomy--Lessons learned after 500 cases: A retrospective cohort study. *Int J Surg*. 2015 Aug;20:88-94.
- Murphy MM, Witkowski ER, Ng SC, et al. Trends in adrenalectomy: a recent national review. *Surg Endosc* 2010;24:2518-26.
- Miller BS, Gauger PG, Hammer GD, Doherty GM. Resection of adrenocortical carcinoma is less complete and local recurrence occurs sooner and more often after laparoscopic adrenalectomy than after open adrenalectomy. *Surgery* 2012;152:1150-7.
- Cooper AB, Habra MA, Grubbs EG, et al. Does laparoscopic adrenalectomy jeopardize oncologic outcomes for patients with adrenocortical carcinoma? *Surg Endosc* 2013;27:4026-32.
- Cicek MC, Gunseren KO, Senol K, Vuruskan H, Yavascaoglu I. Is 6 cm Diameter an Upper Limit for Adrenal Tumors to Perform Laparoscopic Adrenalectomy? *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2021;31(3):301-5.
- Sautter AE, Cunningham SC, Kowdley GC. Laparoscopic Adrenalectomy for Adrenal Cancer-A Systematic Review. *Am Surg* 2016;82(5):420-6.
- Suzuki K, Kageyama S, Hirano Y, et al. Comparison of 3 surgical approaches to laparoscopic adrenalectomy: a nonrandomized, background matched analysis. *J Urol* 2001;166:437-43.
- Alemanno G, Bergamini C, Prosperi P, Valeri A. Adrenalectomy: indications and options for treatment. *Updates Surg* 2017;69(2):119-25.
- Bozkurt IH, Arslan M, Yonguc T, et al. Laparoscopic adrenalectomy for large adrenal masses: Is it really more complicated? *Kaohsiung J Med Sci*. 2015 Dec;31(12):644-8.
- Di Buono G, Buscemi S, Lo Monte AI, et al. Laparoscopic adrenalectomy: preoperative data, surgical technique and clinical outcomes. *BMC Surg* 2019;18:128.
- Nguyen PH, Keller JE, Novitsky YW, Heniford BT, Kercher KW. Laparoscopic approach to adrenalectomy: Review of perioperative outcomes in a Single Center. *Am Surg* 2011;77:592-6.
- Conzo G, Pasquali D, Della Pietra D, et al. Laparoscopic adrenal surgery: ten-year experience in a single institution. *BMC Surg* 2013;13 suppl2:S5.
- Balla A, Palmieri L, Meoli F, et al. Are adrenal lesions of 6 cm or more in diameter a contraindication to laparoscopic adrenalectomy? A case control study. *World J Surg* 2020;44:810-8.

Laparoskopik Adrenalektomi

27. Pearlstein SS, Kuo JH, Chabot JA, Lee JA. Periadrenal volume is a better predictor of prolonged operative time in laparoscopic retroperitoneal adrenalectomy than BMI. *World J Surg* 2020;44:578-84.
28. Tiberio GAM, Solaini L, Arru L, Merigo G, Baiocchi GL, Giulini SM. Factors influencing outcomes in laparoscopic adrenal surgery. *Langenbecks Arch Surg* 2013;398:735-43.
29. Zhu W, Wang S, Du G, Liu H, Lu J, Yang W. Comparison of retroperitoneal laparoscopic versus open adrenalectomy for large pheochromocytoma: a single-center retrospective study. *World J Surg Oncol*. 2019;17(1):111.
30. Chen Y, Scholten A, Chomsky-Higgins K, et al. Risk factors associated with perioperative complications and prolonged length of stay after laparoscopic adrenalectomy. *JAMA Surg* 2018;153:1036-41.
31. Chen W, Liang Y, Lin W, Fu GQ, Ma ZW. Surgical management of large adrenal tumors: Impact of different laparoscopic approaches and resection methods on perioperative and long-term outcomes. *BMC Urol* 2018;18:31.
32. Carter YM, Mazeh H, Sippel RS, Chen H. Safety and feasibility of laparoscopic resection for large (≥ 6 CM) pheochromocytomas without suspected malignancy. *Endocr Pract* 2012;18:720-6.
33. Chung HS, Kim MS, Yu HS, et al. Laparoscopic adrenalectomy using the lateral retroperitoneal approach: Is it a safe and feasible treatment option for pheochromocytomas larger than 6 cm? *Int J Urol* 2018;25:414-9.
34. Hwang I, Jung SI, Yu SH, Hwang EC, Yu HS, Kim SO. Is larger tumor size a contraindication to retroperitoneal laparoscopic adrenalectomy? *World J Urol* 2014;32:723-8.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Kronik Olarak İntraserebroventriküler Enjekte Edilen Histamin ve Antagonistlerinin Hipotalamo-Hipofizer-Aks Üzerindeki Etkisi

Burçin ALTINBAŞ^{1,3}, Gökçen GÜVENÇ BAYRAM^{2,3}, Murat YALÇIN³

¹ SANKO Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep.

² Dokuz Eylül Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

³ Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Merkezi sinir sistemi içerisinde nörotransmitter ve nöromodülatör etkiye sahip histamin, davranış durumunun, biyolojik ritmin, vücut ağırlığının, enerji metabolizmasının, termoregülasyonun, sıvı dengesinin, stresin ve üremenin düzenlenmesinde anahtar role sahiptir. Histaminin merkezi akut enjeksiyonlarının hipotalamo-hipofizer-gonadal (HPG) aks içerisinde etkili olduğunu ve histaminin merkezi H₁ ve H₂ reseptörlerinin bu etkiye aracılık ettiğini gösterdik. Fakat çalışmalarda, histaminin ve histamin reseptör antagonistlerinin uzun süreli merkezi tedavilerinin HPG aks içerisinde etkilerine dair açıklayıcı bir bilgi bulunmamaktadır. Çalışmada, kronik olarak intraserebroventriküler (i.s.v.) enjekte edilen histamin ve antagonistlerinin hipotalamo-hipofizer-gonadal (HPG) aksta rol oynayan, gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH), folikül stimüle edici hormonun (FSH), lüteinleştirici hormonun (LH) ve testosteron hormonunun plazma seviyelerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma Sprague-Dawley ırkı sıçanlarda gerçekleştirilmiştir. Histamin (100 nmol), histaminergik H₁ reseptör antagonisti klorfeniramin (100 nmol), histaminergik H₂ reseptör antagonisti ranitidin (100 nmol) veya histaminergik H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamid (100 nmol) i.s.v. olarak 7 gün boyunca enjekte edilmiştir. Histamin ve antagonistlerinin kronik enjeksiyonu GnRH'nın plazma seviyelerinde anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Kronik histamin veya klorfeniramin tedavisi sonucu plazma FSH seviyelerinde artış (p<0,05) ve LH ve testosteron (p<0,05) seviyelerinde ise bir düşüş gözlenmiştir. Kronik ranitidin veya tiyoperamid tedavisi ise plazma FSH düzeylerinde bir etki oluşturmamış fakat LH ve testosteron seviyelerinde artışlara neden olmuştur (p<0,05). Sonuç olarak elde edilen veriler, histamin ve merkezi H₁ reseptör antagonistinin uzun süreli tedavisinin, LH ve testosteron seviyeleri üzerinde inhibe edici etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Bunun yanında, merkezi H₂ ve H₃/H₄ reseptör antagonistleri ile yapılan kronik tedavinin üremenin düzenlenmesine katkı sağlayabileceği görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Histamin. Histamin antagonistleri. Merkezi Sinir Sistemi. Hipotalamo-hipofizer-gonadal aks. İntraserebroventriküler.

The Effect of Chronically Intracerebroventricular Injected Histamine and Its Antagonists on the Hypothalamic-Pituitary-Axis

ABSTRACT

Histamine, which has neurotransmitter and neuromodulatory effects in the CNS, has a key role in regulating behavioral state, biological rhythm, body weight, energy metabolism, thermoregulation, fluid balance, stress, and reproduction. We have shown that acute central injections of histamine are effective in the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis and that histamine central H₁/H₂ receptors mediate this effect. However, there is no explanatory information about the effects of long-term central treatments of histamine and histamine receptor antagonists in the HPG axis in studies. In the study, the effects of chronically intracerebroventricular (i.c.v.) injected histamine and its antagonists on plasma levels of gonadotropin-releasing hormone (GnRH), follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), and testosterone hormone, which play a role in the HPG axis, were investigated. Studies were performed in male Sprague-Dawley rats. Histamine (100 nmol), histaminergic H₁ receptor antagonist chlorpheniramine (100 nmol), H₂ receptor antagonist ranitidine (100 nmol), or H₃/H₄ receptor antagonist thioperamide (100 nmol) was injected i.c.v. for 7 days. Chronic injection of histamine and its antagonists did not make a significant difference in plasma levels of GnRH. Chronic histamine or chlorpheniramine treatment increased plasma FSH levels (p<0,05) and decreased LH/testosterone levels (p<0,05). Chronic ranitidine or thioperamide treatment did not have an effect on plasma FSH levels but caused increases in LH and testosterone levels (p<0,05). The resulting data suggest that long-term treatment of histamine and central H₁ receptor antagonist has inhibitory effects on LH and testosterone levels. Besides, it appears that chronic treatment with central H₂, H₃/H₄ receptor antagonists can contribute to the regulation of reproduction.

Key Words: Histamine. Histamine Antagonists. Central Nervous System. Hypothalamic-pituitary-gonadal axis. Intraserebroventricular.

Geliş Tarihi: 06.Mayıs.2021
Kabul Tarihi: 22.Haziran.2021

Dr. Burçin ALTINBAŞ
SANKO Üniversitesi,

İncilipınar Mah. Gazimuhtarpaşa
Bulvarı No: 36
Şehitkamil / Gaziantep
Tel.: 0506 230 55 02
E-posta: altinbasburcin@gmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:
Burçin ALTINBAŞ: 0000-0002-9534-736X
Gökçen GÜVENÇ BAYRAM: 0000-0002-1413-3651
Murat YALÇIN: 0000-0002-5600-8162

Hipotalamo-hipofizer-gonadal (HPG) aks, üremenin düzenlenmesinde görev yapan, birbiriyle bağlantılı nöral ve endokrin sistemlerin humoral bir bileşenidir¹. Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) nöronları GnRH üretimi yoluyla hipofiz gonadotropin üzerindeki bir membran reseptörüne bağlanır. Böylece folikül uyarıcı hormonun (FSH) ve luteinize edici hormonun (LH) biyosentezini ve salgılanmasını uyarak bu aksta merkezi düzenleyici bir rol oynar². Hipotalamustan GnRH salınımı her saatte bir veya günde birkaç kere olacak şekilde pulzatif olarak gerçekleşir. Koyunlarda hipotalamo-hipofizer portal sistemden direkt olarak GnRH ölçümleri, aralıklı GnRH salınımlarının, her plazma LH artışından hemen önce gerçekleştiğini göstermektedir³. Bu nedenle pulzatif bir hormon olduğundan LH artışlarının GnRH artışlarını göstermek açısından önemli bir kanıt olabileceğine inanılmaktadır. FSH ve LH testiküler fonksiyonun kontrolünde önemli rollere sahiptir. LH, testislerde Leydig hücrelerinden testosteron üretimini uyarak sırasıyla seksüel ve anabolik olayların gerçekleşmesine ve ayrıca sertoli hücreleri üzerindeki parakrin etkisiyle spermatogenezin korunmasına katkıda bulunur⁴. Sıçanlar ve fareler üzerinde yapılan çalışmalar, testosteronun spermatogenez için çok önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca çalışmalar testosteronun, erkek genitallerinin farklılaşması ve büyümesi için gerekli olduğunu da ortaya koymaktadır⁴. FSH, ergenlik öncesi dönemde sertoli hücre çoğalmasını uyarır ve testislerin boyutu ile spermatogenezin miktarı dahil olmak üzere apoptozu kısıtlayan bir faktör olarak işlev görür⁵. Bu nedenle FSH'nin ana etkisi, testosteronun yanı sıra sperm üretiminin artmasına katkıda bulunmaktadır⁴. Testis hormonları, GnRH hormon salınımını düşürerek veya GnRH stimülasyonunda hipofizer duyarlılığı düşürerek FSH ve LH salınımını azaltır. Erkeklerde ekzojen olarak testosteron uygulanmasının, GnRH salınımının sıklığını önemli ölçüde azalttığı, FSH ve LH salınımını inhibe ettiği bildirilmiştir^{6,7}. HPG aksın fonksiyonuna bağlı bu hormonal düzenleme, merkezi sinir sisteminde nörotransmisyon tarafından kontrol edilmektedir. Bu nörotransmisyonda şimdiye kadar aracılığı olan birçok nörotransmitter ve/veya nöromodülörün etkisi gösterilmiştir.

Histamin, hem sinir sisteminde bir nörotransmitter olarak hem de sinir dışı dokularda bir sinyal molekülü olarak bilinmektedir⁸. Mast hücrelerinin testiste periferik histaminin ana kaynağı olduğu gösterilmiştir⁹. Testislerden salınan histaminin testiste steroidojenik aktiviteyi düzenlediği¹⁰ ve hem periferik H₁ hem de H₂ reseptörlerinin aracılığı ile Leydig hücre fonksiyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı rapor edilmiştir¹¹. Bu çalışmalar, periferik histaminin erkek üremesinde çok önemli bir role sahip olduğunu kanıtlamaktadır. Beyindeki histaminin ana kaynağı ise nöronlar ve mast hücreleridir¹². Histaminerjik reseptörler aracılığıyla bir nörotransmitter görevi gören merkezi histaminin, enerji dengesi, susama, ağrı, öğrenme ve hafıza, dolaşım ve solunum sisteminin düzenlenmesi gibi çok sayıda merkezi sinir sistemi fonksiyonunu modüle ettiği gösterilmiştir¹²⁻¹⁶. Histaminerjik nöronların hücre gövdeleri, arka hipotalamusun tuberomamiller çekirdeğinde bulunmaktadır^{8,17} ve bu bölgeden çıkan histaminerjik lifler GnRH nöronlarının bulunduğu mediobazal hipotalamus ve medial preoptik alana kadar uzanmaktadır. Yine bu bölgelerde bol miktarda histaminerjik reseptörün varlığı da bildirilmiştir^{8,18,19}. Merkezi histamin, hipotalamusta bir nörotransmitter olarak önemli bir role sahiptir ve adrenokortikotropik hormon²⁰, beta-endorfin²¹, alfa-melanosit uyarıcı hormon¹⁸ ve prolaktin²² dahil olmak üzere hipotalamik aktivasyon yoluyla hipofiz hormonlarının nöroendokrin regülasyonunu dolaylı olarak modüle ettiği raporlanmıştır^{18,19,23,24}. Ayrıca, vazopressin ve oksitosin sekresyonlarının da histamin tarafından uyarıldığı ortaya konmuştur²⁵. Bunun yanında, merkezi histaminerjik reseptörlerin, özellikle merkezi H₁ reseptörlerinin, histamin tarafından düzenlenen nöroendokrin kontrole katkıda bulunduğu bilinmektedir. Çalışmalar ayrıca, histaminin HPG aksın düzenlenmesinde de görev aldığı göstermektedir. Bununla birlikte, merkezi histaminin, kadınlarda GnRH salınımının nöroendokrin kontrolünde önemli bir role sahip olduğu belirtilmektedir^{18,26}. Çalışmalarda, histaminin kadınlarda GnRH üzerinden LH salınımını artırdığı ve ayrıca östrojen kaynaklı LH salınımına H₁ reseptörleri üzerinden aracılık ettiği bildirilmiştir^{18,19,27}.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalardan elde edilen veriler göz önüne alınarak yakın zamanda laboratuvarımızda gerçekleştirdiğimiz bir çalışmada, akut olarak merkezi uygulanan histaminin plazma üreme hormonları (GnRH, LH, FSH, testosteron) seviyelerini artırdığını ve bu artışlara merkezi histaminin H₁ ve H₂ reseptörlerinin aracılık ettiğini gösterdik. Ortaya koyduğumuz bu sonuçlar akut olarak uygulanan egzojen histaminin etkilerinin aydınlatılmasına yönelik olup, kronik olarak uygulanan histamin veya antagonistlerinin üremede görevli hormonları nasıl etkileyeceğine dair bir kanıt üretmemektedir. Bu veriler ışığında literatürdeki bu eksiği gidermek adına bu çalışmamızda, kronik olarak merkezi yolla uygulanan histamin ve antagonistlerinin endojen histamin manipülasyonuna bağlı üreme hormonları üzerindeki olası etkilerinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hayvanlar

Çalışmada Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden sağlanan 250-300 g ağırlığında Sprague-Dawley türü 35 adet erişkin erkek sıçan kullanıldı. Laboratuvar ortamına adaptasyonları için sıçanlar, uygulamalardan bir hafta önce deney hayvanları merkezinden alındı ve her kafeste 3

Histamin ve Antagonistlerinin Üreme Hormonlarına Etkisi

hayvan olacak şekilde yem ve su alımları *ad libitum* olarak yapıldı. Hayvanların bulunduğu odanın ısı 20-24°C, nemi %60-70 değerlerinde sabit tutuldu. Oda 12 saat aydınlık/12 saat karanlık (07:00–19:00 saatleri arası aydınlık) döngüsüyle aydınlatıldı. Çalışmadaki tüm cerrahi ve deneysel uygulamalar, Bursa Uludağ Üniversitesi Etik Kurul Komitesi tarafından 2021–03/06 Karar No ile onaylandı.

Genel Hazırlık ve Cerrahi İşlemler

Sıçanlar, sevofluran (%2–4 / %100 O₂) ile anestezi altına alındı. Anestezi altında, sıçanların kafatasları stereotaksik alete yerleştirilerek sabitlendi ve kafa derisi orta hattın kesilip kemik net bir şekilde ortaya çıkarıldı. İntraserebroventriküler (i.s.v) yolla ilaçların verilmesi için Paxinos ve Watson'un Sıçan Beyin Atlası'nda belirtilen koordinatlara göre bregmanın 1,0 mm posterioru, orta hattın 1,5 mm lateralinde kafatasına bir delik açılarak, 22 G'lık paslanmaz çelik iğneden hazırlanmış kafatasından itibaren 4,5 mm vertikale ulaşacak olan kılavuz kanül bu delikten sokularak lateral ventriküle doğru itildi. Bu şekilde i.s.v için yerleştirilen kılavuz kanül dişçi akriliği ile kafatasına tutturuldu. Kılavuz kanül kullanılmadığında, kılavuz kanülün içinden sterilize edilmiş 28 G'lık paslanmaz çelik tıkaçı bir kanül geçirildi. Daha sonra sıçanlar ayrı kafeslere yerleştirildi ve 1 gün boyunca anestezi etkisinin ortadan kalkması için beklenildi. Cerrahi işlemlerin ardından sıçanlar, çalışma boyunca her gün penisilin (0,3 mg / kg; kas içi) ve ayrıca buprenorfin (25 µg / kg; deri altı) ile tedavi edildi.

Deneysel Protokol

Çalışmada kronik olarak uygulanacak histamin ve antagonistlerinin GnRH, FSH, LH ve testostere hormonları üzerine etkisini göstermek için hayvanlar 5 gruba ayrıldı. Her gruba ayrı bir ilaç enjeksiyonu yapıldı. Bu doğrultuda hayvanlara i.s.v yolla %0,9'luk tuzlu su (5 µL; n=7), histamin (100 nmol; n=7), histaminerjik H₁ reseptör antagonisti klorfeniramin (100 nmol; n=7), histaminerjik H₂ reseptör antagonisti ranitidin (100 nmol; n=7) veya histaminerjik H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamid (100 nmol; n=7) enjeksiyonları yapıldı. Enjeksiyonlar 7 gün boyunca her gün sabah 09:00-10:00 saatleri arasında gerçekleştirildi. Enjeksiyonların ardından plazma hormon düzeylerinin belirlenmesi için 30. dakikada orbital sinus punksiyonu yoluyla hayvanlardan 250 µL kan örneği toplandı. 7. gün deneysel çalışmaların bitiminde hayvanlara derin anestezi altında dekapitasyon işlemi uygulandı.

Kan Örneklerinin Toplanması

Sıçanlar, sevofluran (%2–4/%100 O₂) ile anestezi edildi. Anestezi altında, plazma hormon düzeylerinin belirlenmesi için gerekli kan örneklerinin toplanabilmesi amacıyla sıçanlardan heparinli kapiller tüpler kullanılarak orbital sinus punksiyonu yapıldı. Orbital

sinus punksiyonu için kapiller tüp gözün iç açısından yavaşça çevrilerek göz yuvarlağı doğrultusunda damarlara doğru ilerletildi ve tüpün damarları yırtması sonucu oluşan kanama ile kan ince pipetin kapillaritesi sayesinde dışarı alındı. Çalışmaya 7 gün boyunca devam edildi ve hergün için aynı deneysel protokole bağlı kalınarak uygulama gerçekleştirildi. Kan toplanan bölgede meydana gelebilecek hasarlanmayı en aza indirmek için kan örnekleri, hergün aynı sıçanda farklı bir göz kullanılarak alındı. Sıçanların her birinden günlük 250 µL kan toplandı. Kanlar, içerisinde EDTA içeren soğuk polipropilen tüplere alındı ve hemen ardından +4°C'de 14,000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Ayrılan plazmalar ölçüm gününe kadar -20°C'de saklandı.

Plazma GnRH, FSH, LH ve Testosteron Seviyelerinin Belirlenmesi

GnRH (Cat.No.: E-EL-0071), LH (Cat.No.: E-EL-R0026), FSH (Cat.No.: E-EL-R0391), ve testosteronun (Cat.No.: E-EL-0155), plazma konsantrasyonları, enzim immunoassay (ELISA) yöntemi kullanılarak kitlerde belirtilen talimatlara uygun şekilde sırasıyla pg/mL, mIU/mL, ng/mL ve ng/mL olarak ölçüldü. Tüm sıçan kitleri Elabscience Biyoteknoloji Co, Ltd. Wuhan, PCR'den satın alındı.

İlaçlar ve İntraserebroventriküler Yolla İlaç Uygulanması

Çalışmada kullanılan histamin, klorfeniramin, ranitidin ve tiyoperamid Sigma-Aldrich Co. (Deisenhofen, Almanya) firmasından temin edildi. İlaç solüsyonları deney gününde %0,9'luk tuzlu su içinde taze olarak hazırlandı. İlaçların dozları önceki çalışmalarımızdan seçilmiştir^{14-16,28}.

İntraserebroventriküler yolla ilaç enjeksiyonları toplam 5 µL içinde yapıldı ve bu miktar sıvı 60 saniye boyunca yavaş infüzyon tarzında uygulandı.

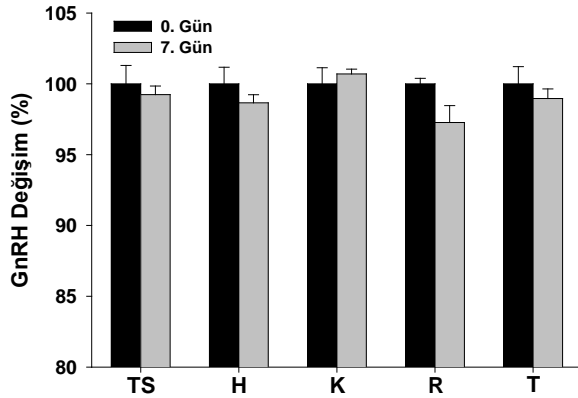
İstatistiksel Analiz

Çalışmadaki tüm sonuçlar 7 sıçanın "ortalama±standart hatası" olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi iki yönlü tekrarlanan RM-ANOVA'yı takiben *Bonferroni* testi ile yapılmıştır. $p < 0,05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı sayılmıştır.

Bulgular

Histamin ve Antagonistlerinin Plazma GnRH, FSH, LH ve Testosteron Hormon Seviyelerine Etkisi

Kronik olarak uygulanan merkezi enjeksiyonların 7. gününün sonunda alınan kan örneklerinden yapılan ELISA testlerinde histamin ve antagonistlerinin plazma GnRH hormon seviyesi üzerinde herhangi bir anlamlı yanıt oluşturmadığı görülmüştür (Şekil 1).



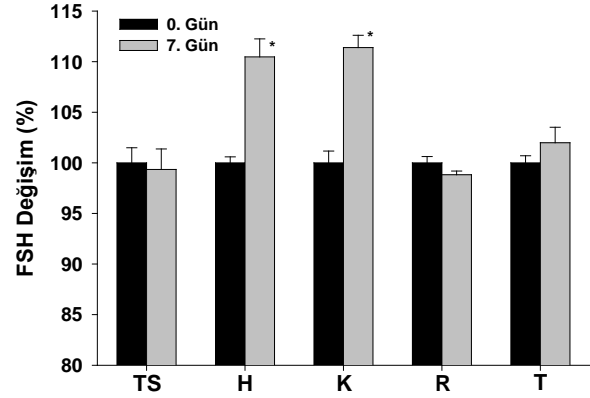
Şekil 1.

*Histamin ve Merkezi Reseptör Antagonistlerinin Plazma GnRH Seviyelerine Etkisi. Sıçanlar kronik olarak tuzlu su (5 µL; i.s.v.; n=7), histamin (100 nmol; i.s.v.; n=7), klorfeniramin (100 nmol; i.s.v.; n=7), ranitidin (100 nmol; i.s.v.; n=7) veya tiyoperamid (100 nmol; i.s.v.; n=7) ile 7 gün boyunca tedavi edildi. Sonuçlar, tedavi öncesine göre (0. gün) 7. gündeki % değişimi göstermektedir. Veriler 7 sıçanın "ortalama±standart hatası" olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi iki yönlü tekrarlanan RM-ANOVA'yı takiben Bonferroni testi ile yapılmıştır. *p<0,05, tedavi öncesi (0. gün) gruplara göre anlamlı farkı göstermektedir. i.s.v.; intraserebroventriküler, GnRH; gonadotropin salgılatıcı hormon, TS; tuzlu su, H; histamin, K; klorfeniramin, R; ranitidin, T; tiyoperamid.*

7. gün sonunda kronik olarak merkezi uygulanan histamin ve merkezi H₁ reseptör antagonisti klorfeniramin enjeksiyonları sonrası bazal değerlere göre plazma FSH hormonu seviyelerinde artışlar oluşmuştur (Şekil 2). Merkezi H₂ reseptör antagonisti ranitidin ve H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamid enjeksiyonları ise plazma FSH hormon seviyelerinde herhangi bir değişiklik oluşturmamıştır (Şekil 2).

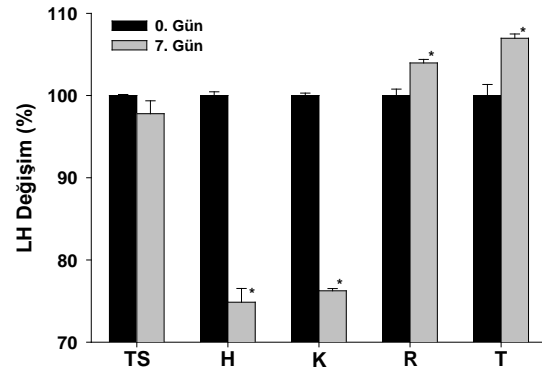
Plazma LH hormon seviyelerinde ise uzun süreli merkezi enjeksiyonlar sonrasında histamin ve merkezi H₁ reseptör antagonisti klorfeniramin enjeksiyonları sonrasında bazal değerlere göre plazma LH hormon seviyelerinde azalma görülürken merkezi H₂ reseptör antagonisti ranitidin, merkezi H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamid enjeksiyonları sonrası plazma LH hormon miktarlarında artışlar meydana gelmiştir (Şekil 3).

Yine kronik i.s.v. enjeksiyonlar sonrasında plazma testosteron seviyeleri üzerinde histamin ve H₁ reseptör antagonisti klorfeniramin bazal değerlere göre plazma testosteron hormon seviyelerinde azalma oluştururken merkezi H₂ reseptör antagonisti ranitidin, merkezi H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamid uygulanan gruplarda plazma testosteron hormon miktarlarında artışlar gözlemlenmiştir (Şekil 4).



Şekil 2.

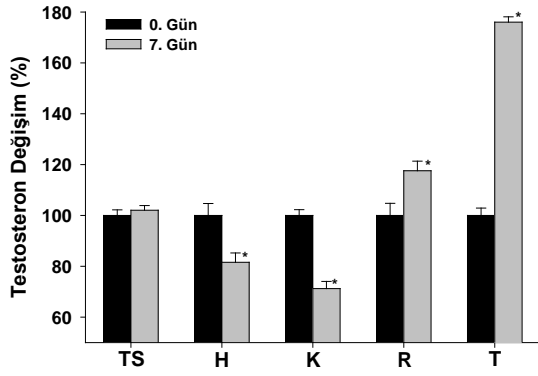
*Histamin ve Merkezi Reseptör Antagonistlerinin Plazma FSH Seviyelerine Etkisi. Sıçanlar kronik olarak tuzlu su (5 µL; i.s.v.; n=7), histamin (100 nmol; i.s.v.; n=7), klorfeniramin (100 nmol; i.s.v.; n=7), ranitidin (100 nmol; i.s.v.; n=7) veya tiyoperamid (100 nmol; i.s.v.; n=7) ile 7 gün boyunca tedavi edildi. Sonuçlar, tedavi öncesine göre (0. gün) 7. gündeki % değişimi göstermektedir. Veriler 7 sıçanın "ortalama±standart hatası" olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi iki yönlü tekrarlanan RM-ANOVA'yı takiben Bonferroni testi ile yapılmıştır. *p<0,05, tedavi öncesi (0. gün) gruplara göre anlamlı farkı göstermektedir. i.s.v.; intraserebroventriküler, FSH; folikül stimüle edici hormon, TS; tuzlu su, H; histamin, K; klorfeniramin, R; ranitidin, T; tiyoperamid.*



Şekil 3.

*Histamin ve Merkezi Reseptör Antagonistlerinin Plazma LH Seviyelerine Etkisi. Sıçanlar kronik olarak tuzlu su (5 µL; i.s.v.; n=7), histamin (100 nmol; i.s.v.; n=7), klorfeniramin (100 nmol; i.s.v.; n=7), ranitidin (100 nmol; i.s.v.; n=7) veya tiyoperamid (100 nmol; i.s.v.; n=7) ile 7 gün boyunca tedavi edildi. Sonuçlar, tedavi öncesine göre (0. gün) 7. gündeki % değişimi göstermektedir. Veriler 7 sıçanın "ortalama±standart hatası" olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi iki yönlü tekrarlanan RM-ANOVA'yı takiben Bonferroni testi ile yapılmıştır. *p<0,05, tedavi öncesi (0. gün) gruplara göre anlamlı farkı göstermektedir. i.s.v.; intraserebroventriküler, LH; Lüteinleştirici hormon, TS; tuzlu su, H; histamin, K; klorfeniramin, R; ranitidin, T; tiyoperamid.*

Histamin ve Antagonistlerinin Üreme Hormonlarına Etkisi



Şekil 4.

*Histamin ve Merkezi Reseptör Antagonistlerinin Plazma Testosteron Seviyelerine Etkisi. Sıçanlar kronik olarak tuzlu su (5 µL; i.s.v.; n=7), histamin (100 nmol; i.s.v.; n=7), klorfeniramin (100 nmol; i.s.v.; n=7), ranitidin (100 nmol; i.s.v.; n=7) veya tiyoperamid (100 nmol; i.s.v.; n=7) ile 7 gün boyunca tedavi edildi. Sonuçlar, tedavi öncesine göre (0. gün) 7. gündeki % değişimi göstermektedir. Veriler 7 sıçanın "ortalama±standart hatası" olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi iki yönlü tekrarlanan RM-ANOVA'yı takiben Bonferroni testi ile yapılmıştır. *p<0,05, tedavi öncesi (0. gün) gruplara göre anlamlı farkı göstermektedir. i.s.v.; intraserebroventriküler, TS; tuzlu su, H; histamin, K; klorfeniramin, R; ranitidin, T; tiyoperamid.*

Tartışma ve Sonuç

Çalışmanın sonuçları, kronik olarak merkezi uygulanan histamin ve antagonistlerinin plazma GnRH hormon seviyeleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmadığını ortaya koymaktadır. Diğer taraftan kronik olarak i.s.v. uygulanan histaminin ve merkezi H₁ reseptör antagonisti klorfeniramin enjeksiyonları sonucunda plazma FSH hormon seviyelerinde tuzlu su grubuna göre sırasıyla %11 ve %12 oranında artışlar oluşurken, plazma LH seviyelerinde sırasıyla %17 ve %19, plazma testosteron seviyelerinde ise sırasıyla %21 ve %31 oranında azalmaların olduğu görülmüştür. Ayrıca, merkezi H₂ reseptör antagonisti ranitidinin ve H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamidin uzun süreli merkezi enjeksiyonlarının sonucunda plazma LH seviyelerinde sırasıyla %10 ve %15, testosteron seviyelerinde ise sırasıyla %15 ve %74 oranında artışların olduğu ancak plazma FSH hormon seviyelerinde herhangi bir değişiklik oluşmadığı görülmektedir.

Hipotalamik GnRH hipofizden gonadotropinlerin sentezini ve sekresyonunu kontrol eden bir dekapetittir²⁹. GnRH hormonu hipotalamik nörosekretuar hücrelerden pulzatil olarak salgılanıp hipofize özelleşmiş bir portal sistem aracılığıyla adenohipofize taşınarak burada LH ve FSH hormonlarının sentezini

ve sekresyonunu uyarmaktadır^{29,30}. Hipofiz üzerindeki oluşturduğu bu etki ile dolaylı olarak gametogenez ve steroidogenez üzerinde önemli etkiler oluşturmaktadır²⁹. Testis hormonları, hem GnRH üretimini azaltarak hem de hipofiz gonadotropininin GnRH stimülasyonuna duyarlılığını azaltarak gonadotropin salınımı üzerinde negatif geri bildirim neden olmaktadır. Bu durumla uyumlu olarak, egzogen testosteron uygulamasının erkeklerde GnRH pulzasyon frekansında belirgin bir yavaşlamayı indüklediği⁶ ve doğrudan hipofiz etkisi ile LH ve FSH salınımını engellediği gösterilmiştir⁷. Erkeklerde LH, leydig hücrelerinden testosteron sentezini uyarırken FSH, spermatogenez uyarmak için sertoli ve germ hücrelerine etki etmektedir. Ayrıca LH, intra-testiküler testosteron salınımını da uyarak dolaylı olarak spermatogenez teşvik eder³¹. FSH, sertoli hücrelerindeki reseptörlerine ve testisteki spermatogonial membranlara bağlanır ve spermatogenezin başlangıcında ve normal sperm üretiminde önemlidir³¹.

Histaminin üremenin kontrolünde önemli bir role sahip olduğu bildirilmektedir^{18,19}. Merkezi histaminin, muhtemelen seks steroidlerine olan duyarlılığı ve HPG aks ile olan etkileşimi nedeniyle, cinsiyete özgü çeşitli gelişimsel, üreme ve davranışsal beyin işlevlerinde rol oynadığı görülmektedir⁸. Erkek sıçanlarda yapılan çalışmalar, kastrasyonun hipotalamik histamin düzeylerini artırdığını göstermektedir³². Bunun yanı sıra, histamin eksikliği olan (HDC-KO) farelerin yüksek testis ve serum androjen seviyelerine sahip olduğu, ancak testis ağırlığının azaldığı ve çiftleşme davranışları ve cinsel uyarılmalarının da güçlü bir şekilde bozulduğu bildirilmiştir³³. Yakın zamanda erkek sıçanlar üzerinde yaptığımız bir çalışmada histaminin akut olarak merkezi uygulanmasının HPG aksta görevli GnRH, FSH, LH ve testosteron hormonlarının plazma seviyelerinde artışlara yol açtığını gösterdik³⁴. Şimdiki çalışmada ise uzun süreli merkezi histamin enjeksiyonları sonucunda GnRH hormonunun plazma seviyelerinde herhangi bir değişimin olmadığını, FSH hormonunun plazma seviyelerinde ise artışların olduğunu ortaya koyduk. Ayrıca, kronik olarak merkezi histamin uygulaması sonrası LH ve testosteron hormonlarının plazma seviyelerinde azalmaların olduğunu gösterdik. Çalışmalarda merkezi histamin uygulamasının, ön hipofiz bezinden FSH ve LH hormonu salgılanması üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olmadığı, supraoptik çekirdekte lüteinleştirici hormon salgılatıcı hormon (LHRH) salgılayan nöronların uyarılması yoluyla HPG aksı uyardığı ortaya konmuştur^{35,36}. Bununla birlikte, bir başka çalışmada ise uzun süreli LHRH reseptör agonisti tedavisinin erkek sıçanların serum LH seviyelerinde azalmalara yol açtığı görülmüştür³⁷. GnRH analogunun kronik olarak uygulandığı bir başka çalışmada ise uzun süreli GnRH uyarılmasının FSH ve LH hormon üretimlerini baskıladığı gösterilmiştir³⁸. Bu çalışmaların sonuçları,

bulgularımızla bağlantılı olacak şekilde kronik histamin uygulamasının GnRH ve/veya LHRH reseptörlerinde duyarsızlığa neden olmuş olabileceğini düşündürmektedir. Bu durum, histaminin GnRH üzerinde anlamlı bir etki oluşturmamasını ve plazma LH ve buna bağlı plazma testosteron seviyelerinin azalmasını açıklar niteliktedir. Antiserum enjeksiyonu yapılan sıçanlarda GnRH inhibisyonu sonucunda LH salınımının baskılandığı fakat GnRH inhibisyonunun FSH üzerinde herhangi bir etkiye yol açmadığı bildirilmiştir^{39,40}. Bu çalışmanın yanında, LH salınımının tamamen GnRH salgılanmasına bağlı olduğu bilgisini güçlendiren ve GnRH'nin, FSH salınımını tek düzenleyicisi olmayabileceğini düşündüren çalışmalar da mevcuttur^{41,42}. Yine LHRH'nin de FSH salgısının sürdürülmesinde etkili olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmanın sonucu da, LHRH'nin FSH salgılanmasında gerekli olduğunu ancak LHRH'nin de FSH salınımının tek düzenleyicisi olmayabileceğine işaret etmektedir⁴³. Bu nedenden dolayı FSH salınımını seçici olarak düzenleyen ayrı bir FSH salgılatan hormonun varlığı da düşünülebilir. Bu çalışmalar da, yine kronik histamin uygulanmasının, plazma FSH hormonu seviyelerinde oluşan artışların kendi reseptörleri aracılığıyla yada başka bir mekanizmayı aktif etmesi yoluyla olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, mast hücreleri ve bazofillerden salınan histamin, rinit, ürtiker, astım ve sistemik anafilaksi dahil tüm alerjik hastalıkların patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır⁴⁴. Astım/rinitli hastalarda yapılan çalışmalar bu hastalarda düşük testosteron seviyelerinin olduğunu göstermektedir⁴⁵. Bu çalışmalar da yine çalışmamızla uyumlu olarak uzun süreli histamin tedavisinin LH ve testosteron hormonları üzerindeki baskılayıcı etkiyi açıklayabilir.

Çalışmamızın diğer aşamasında kronik uygulanan histamin antagonistlerinin GnRH, FSH, LH ve testosteron üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Daha önce yaptığımız çalışmanın sonucunda histaminin akut enjeksiyonunun GnRH, FSH, LH ve testosteron hormonları üzerinde oluşturduğu artışlara histaminin merkezi H₁ ve H₂ reseptörlerinin aracılık ettiğini rapor ettik³⁴. Bu çalışmada ise kronik olarak uygulanan histaminin merkezi H₁ reseptörlerinin, kronik histamin tedavisiyle aynı sonuçlara sahip olduğu verisine ulaştık. Çalışmamızda da klorfeniraminin reseptör bağlayıcı etkisiyle endojen histaminin bu reseptörlere bağlanmadığı ve buna bağlı olarak GnRH salınımını uyaramadığı ve paralelinde LH ve testosteron seviyelerinde düşüşlerin yaşandığı düşünülebilir. FSH'nin de önceden belirtildiği gibi salınımında birkaç faktörün olabileceğinin ortaya konması^{41,42}, uzun süreli klorfeniramin enjeksiyonu sonrası görülen FSH artışlarında klorfeniramin bağımlı ve/veya bağımsız etkinin olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, klorfeniraminin beyinde merkezi H₁ reseptörlerini yüksek oranda bloke etmesi⁴⁴ LH ve testosteron hormonlarının salınımındaki azalmayı açıklayabilmekte-

dir. Bunun yanında, hamilelik sırasında, nazal alerjisi olan deneklerde nazal epitel tabakasından alınan örneklerde histaminin H₁ reseptörünün mRNA seviyesinde artışların olduğu gösterilmektedir. Histaminin, hedef organları uyarma kabiliyetinin önlenmesi amacıyla klinikte H₁ reseptör antagonistleri sıkça kullanılmaktadır. H₁ reseptör antagonistleri, histaminin H₁ reseptörü ile etkileşimini rekabetçi bir şekilde inhibe eder, böylece histaminin vazodilatör etkilerini ortadan kaldırarak ödem, alevlenme ve kabarıklığın oluşumunu önler⁴⁶. Bu tip hastalıklara sahip kişilerin tedavide uzun süreli H₁ reseptör antagonisti kullanmaları kişilerin üreme faaliyetlerinde aksaklıkların oluşmasına yol açabilir. Son olarak ranitidin ve tiyoperamidin uzun süreli tedavilerinde GnRH ve FSH seviyelerinde anlamlı bir değişimin olmadığını, LH ve testosteron seviyelerinde ise artışların oluştuğunu ortaya koyduk. Yapılan birkaç çalışmada erkek hastalara intravenöz veya oral yolla kısa veya uzun süreli yapılan ranitidin tedavisinin HPG aksta görevli üreme hormonlarının plazma seviyelerinde herhangi bir değişikliğe yol açmadığı ortaya konmaktadır^{47,48}. Bu yüzden, GnRH'nin aralıklı salınımına sahip olması^{3,29,30} nedeniyle ranitidin enjeksiyonları sonrası GnRH seviyelerinde bir değişimin olmadığı düşünülebilir. Fakat LH ve testosteron hormon seviyelerindeki artışların muhtemelen GnRH salınımı sonrası^{41,42} ortaya çıktığı yada ranitidinin merkezi tedavisinin bir etkisi olduğu kanısına varmak mümkündür. Yine aynı ajanın FSH salınımında da anlamlı bir etkisinin olmaması FSH'nin de salınımının farklı faktörlere bağlı⁴¹⁻⁴³ olmasından dolayı olabileceği düşünülebilir. Son olarak, merkezi sinir sistemi içerisinde histaminin H₃/H₄ reseptörlerinin etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda, H₃/H₄ reseptörlerinin endojen histaminin inhibisyonunda görevli otoreseptörler olarak çalıştıkları görülmektedir^{49,50}. Bununla birlikte, H₃/H₄ reseptör antagonistlerinin intrahipotalamik ve subkutan enjeksiyonlarının hipotalamik histamin salınımını artırdığı da gösterilmiştir⁵¹. Bu veriler ışığında, kronik tioperamid enjeksiyonları sonrası LH'de oluşan artış ile testosteronda oluşan %74'lük yüksek orandaki artışların önceki çalışmalarla uyum gösterdiği görülmektedir.

Çalışmanın sonuçları, uzun süreli merkezi histamin tedavisinin LH ve testosteron hormonları üzerinde inhibe edici etkilere neden olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, çalışmada kullanılan H₁ reseptör antagonisti klorfeniraminin, merkezi histamin reseptörlerinde oluşturduğu blokaja bağlı LH ve testosteron hormonlarının salınımında etki gösteremediği, H₂ reseptör antagonisti ranitidinin muhtemelen HPG aksta etkili olmadığı ve H₃/H₄ reseptör antagonisti tiyoperamidin ise otoreseptör özelliğine bağlı olarak üreme hormonlarından özellikle LH ve testosteron hormon salınımının uyarılmasında etkili olduğu görülmektedir.

Histamin ve Antagonistlerinin Üreme Hormonlarına Etkisi

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Onay Tarihi: 16.03.2021
Karar No: 2021-03/06

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım; M.Y., B.A.; Veri toplama ve işleme M.Y., B.A., G.G.B.; Analiz ve verilerin yorumlanması M.Y., B.A., G.G.B.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması M.Y., B.A.

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Fink G. 60 YEARS OF NEUROENDOCRINOLOGY: MEMOIR: Harris' neuroendocrine revolution: of portal vessels and self-priming. *J Endocrinol* 2015;226(2).
2. Amory JK, Bremner WJ. Regulation of testicular function in men: implications for male hormonal contraceptive development. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003;85,357-361.
3. Clarke I, Cummins J. The temporal relationship between gonadotropin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. *Endocrinology* 1982;111,1737-9.
4. Huhtaniemi I. A short evolutionary history of FSH-stimulated spermatogenesis. *Hormones (Athens)* 2015;14,468-78.
5. Sharpe RM, McKinnell C, Kivlin C, Fisher JS. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction* 2003;125,769-784.
6. Matsumoto AM, Bremner WJ. Modulation of pulsatile gonadotropin secretion by testosterone in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;58,609-14.
7. Shekter CB, Matsumoto AM, Bremner WJ. Testosterone administration inhibits gonadotropin secretion by an effect on the human pituitary. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68,397-401.
8. Haas HL, Sergeeva OA, Selbach O. Histamine in the Nervous System. *Physiol Rev* 2008;88, 1183-241.
9. Badr FM. Effect of sexual maturation and androgens on prostaglandin levels in tissues of the male reproductive system in mice. *Endocrinology* 1976;98,1523-7.
10. Mayerhofer A, Bartke A, Amador AG, Began T. Histamine affects testicular steroid production in the golden hamster. *Endocrinology* 1989;125,2212-4.
11. Khan UW, Rai U. Differential effects of histamine on Leydig cell and testicular macrophage activities in wall lizards: precise role of H1/H2 receptor subtypes. *J Endocrinol* 2007;194,441-8.
12. Brown RE, Stevens DR, Haas HL. The physiology of brain histamine. *Prog Neurobiol* 2001;63,637-72.
13. Fogel WA, Stasiak A, Lewinski A, Maksymowicz M, Jochem J. Satiety signalling histaminergic system system and brain-gut peptides in regulation of food intake in rats with portocaval anastomosis. *J Physiol Pharmacol* 2008;59,135-44.
14. Yalcin M, Savci V, Jochem J. Involvement of the cholinergic system in the central histamine-induced reversal of critical haemorrhagic hypotension in rats. *J Physiol Pharmacol* 2009;60,133-7.
15. Altinbas B, Yilmaz MS, Savci V, Jochem J, Yalcin M. Centrally injected histamine increases posterior hypothalamic acetylcholine release in hemorrhage-hypotensive rats. *Auton Neurosci* 2015;187,63-9.
16. Altinbas B, Guvenc G, Erkan LG, Ilhan T, Niaz N, Yalcin M. Histamine restores hemorrhage induced hypotension by activating cholinergic neurons in nucleus tractus solitarius. *Brain Res* 2016;1649,132-40.
17. Schwartz JC, Arrang JM, Garbarg M, Pollard H, Ruat M. Histaminergic transmission in the mammalian brain. *Physiol Rev* 1991;71,1-51.
18. Knigge U, Warberg J. Neuroendocrine functions of histamine. *Agents Actions Suppl* 1991a;33,29-53.
19. Knigge U, Warberg J. The role of histamine in the neuroendocrine regulation of pituitary hormone secretion. *Acta Endocrinol* 1991b;124,609-19.
20. Kjaer A, Knigge U, Bach FW, Warberg J. Histamine- and stress-induced secretion of ACTH and beta-endorphin: involvement of corticotropin-releasing hormone and vasopressin. *Neuroendocrinology* 1992;56,419-28.
21. Mitsuma T, De-Heng S, Nogimori T, Chaya M, Hirooka Y, Ohtake K. Effect of histamine and its blockers on plasma beta-endorphin-like immunoreactivity in rats. *Endocrinol Exp* 1987;21,95-102.
22. Knigge UP. Histaminergic regulation of prolactin secretion. *Dan Med Bull* 1990;37,109-24.
23. Bugajski J, Janusz Z. Central histaminergic stimulation of pituitary-adrenocortical response in the rat. *Life Sci* 1983;33,1179-89.
24. Kjaer A, Larsen PJ, Knigge U, Warberg J. Histaminergic activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrinology* 1994;135,1171-7.
25. Radacs M, Galfi M, Juhasz A, Varga C, Molnar A, Laszlo F, Laszlo FA. Histamine-induced enhancement of vasopressin and oxytocin secretion in rat neurohypophyseal tissue cultures. *Regul Pept* 2006;134,82-8.
26. Lee AW, Devidze N, Pfaff DW, Zhou J. Functional genomics of sex hormone-dependent neuroendocrine systems: specific and generalized actions in the CNS. *Prog Brain Res* 2006;158,243-72.
27. Noris G, Hol D, Clapp C, Martinez- dela-Escalera G. Histamine directly stimulates gonadotropin-releasing hormone secretion from GT1-1 cells via H1 receptors coupled to phosphoinositide hydrolysis. *Endocrinology* 1995;136,2967-74.
28. Jochem J, Savci V, Filiz N, Rybus-Kalinowska B, Fogel WA, Yalcin M. Involvement of the histaminergic system in cytidine 5'-diphosphocholine-induced reversal of critical haemorrhagic hypotension in rats. *J Physiol Pharmacol* 2010;61,37-43.
29. King JA, Millar RP. Evolutionary aspects of gonadotropin-releasing hormone and its receptor. *Cell Mol Neurobiol* 1995;15:5-23.
30. d'Anglemont-de-Tassigny X, Fagg LA, Carlton MBL, Colledge WH. Kisspeptin Can Stimulate Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Release by a Direct Action at GnRH Nerve Terminals. *Endocrinology* 2008;149,3926-32.
31. Matsumoto AM, Karpas AE, Bremner WJ. Chronic human chorionic gonadotropin administration in normal men: evidence that follicle stimulating hormone is necessary for the maintenance of quantitatively normal spermatogenesis in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62,1184-92.
32. Orr EL, Quay WB. The effects of castration on histamine levels and 24 hour rhythm in the male rat hypothalamus. *Endocrinology* 1975;97,481-4.
33. Par G, Szekeres-Bartho J, Buzas E, Pap E, Falus A. Impaired reproduction of histamine deficient (histidine-decarboxylase knockout) mice is caused predominantly by a decreased male mating behavior. *Am J Reprod Immunol* 2003;50,152-8.
34. Niaz N, Guvenc G, Altinbas B, Toker MB, Aydin B, Udum-Kucusen D, et al. Intracerebroventricular injection of histamine induces the hypothalamic-pituitary-gonadal axis activation in male rats. *Brain Res* 2018;1699,150-7.
35. Miyake A, Ohtsuka S, Nishizaki T, Tasaka K, Aono T, Tanizawa O, et al. Involvement of H1 histamine receptor in basal

- and estrogen-stimulated luteinizing hormone-releasing hormone secretion in rats in vitro. *Neuroendocrinology* 1987;45,191–6.
36. Ojeda SR, McCann SM. Control of LH and FSH release by LHRH: influence of putative neurotransmitters. *Clin Obstet Gynaecol* 1978;5,283-303.
 37. Horvath JE, Bajo AM, Schally AV, Kovacs M, Herbert F, Kate G. Effects of long-term treatment with the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) agonist Decapeptyl and the LHRH antagonist Cetrorelix on the levels of pituitary LHRH receptors and their mRNA expression in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99,15048-53.
 38. Swerdloff RS, Heber D, Bhasin S, Rajfer J. Effect of GnRH superactive analogs (alone and combined with androgen) on testicular function in man and experimental animals. *J Steroid Biochem* 1983;19,491-7.
 39. Culler MD, Negro-Vilar A. Pulsatile follicle-stimulating hormone secretion is independent of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH): pulsatile replacement of LHRH bioactivity in LHRH immunoneutralized rats. *Endocrinology* 1987;20,2011–21.
 40. Kovacs M, Koppa M, Mezo I, Teplan I, Flerko B. Antiovaratory doses of antagonists of LH- RH inhibit LH and progesterone but not FSH and estradiol release. *J Neuroendocrinol* 1993;5,603–8.
 41. Lumpkin MD, DePaolo LV, Negro-Vilar A. Pulsatile release of follicle-stimulating hormone in ovariectomized rats is inhibited by porcine follicular fluid (Inhibin). *Endocrinology* 1986;114,201–6.
 42. Mizunuma H, Samson WK, Lumpkin MD, Moltz JH, Fawcett CP, McCann SM. Purification of a bioactive FSH-releasing factor (FSHRF). *Brain Res Bull* 1983;10,623–9.
 43. Culler MD, Negro-Vilar A. Evidence that pulsatile follicle stimulating hormone secretion is independent of endogenous luteinizing hormone-releasing hormone. *Endocrinology* 1986;118,609–12.
 44. Church MK, Casale TB. Principles of pharmacotherapy. *Allergy* 2012;147–69.
 45. Lokaj-Berisha V, Gacaferri-Lumezi B, Berisha N, Gashi-Hoxha S. A Pilot Study on BMI, Serum Testosterone and Estradiol Levels in Allergic Male Patients. *Open Access Maced J Med Sci* 2015;3,595-600.
 46. Habibi A, Riley ET. Antihistamines: H1- and H2- Blockers. *Complications in Anesthesia* 2007;92–3.
 47. Knigge U, Dejgaard A, Wollesen F, Ingerslev O, Bennett P, Christiansen PM. The acute and long term effect of the H2-receptor antagonists cimetidine and ranitidine on the pituitary-gonadal axis in men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1983;18,307-13.
 48. Corinaldesi R, Pasquali R, Paternico A, Stanghellini V, Paparo GF, Ricci Maccarini M, et al. Effects of short- and long-term administrations of famotidine and ranitidine on some pituitary, sexual and thyroid hormones. *Drugs Exp Clin Res* 1987;13,647-54.
 49. Prast H, Fischer HP, Prast M, Philippu A. In vivo modulation of histamine release by autoreceptors and muscarinic acetylcholine receptors in the rat anterior hypothalamus. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1994;350,599-604.
 50. Arrang JM, Garbarg M, Lancelot JC, Lecomte JM, Pollard H, Robba M, et al. Highly potent and selective ligands for histamine H3 receptors. *Nature* 1987;327,117-25.
 51. Jansen FP, Mochizuki T, Yamamoto Y, Timmerman H, Yamatodani A. In vivo modulation of rat hypothalamic histamine release by the histamine H3 receptor ligands, immepip and clobenpropit. Effects of intrahypothalamic and peripheral application. *Eur J Pharmacol* 1998;362,149-55.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Erianinin HT29 Kolorektal Kanser Hücrelerinin Proliferasyonu ve Koloni Oluşumu Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Sema SERTER KOÇOĞLU¹, Levent ELMAS², Mücahit SEÇME³

¹ Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir.

² Bakırçay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

³ Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Denizli.

ÖZET

Kolorektal kanser, dünyada kanser ilişkili ölümlerin en yaygın dördüncü sebebidir. Erianin antioksidan ve anti-tümör etkilere sahip Dendrobium ekstraktından elde edilen yeni bir dibenzil bileşiğidir. Bu çalışmada, erianinin HT29 kolorektal kanser hücreleri üzerine olan terapötik etkileri araştırılmıştır. Erianinin HT29 hücre canlılığı üzerine etkileri XTT test ile koloni oluşumu üzerine etkileri ise koloni formasyonu ile değerlendirilmiştir. Erianinin HT29 hücrelerinde IC₅₀ değeri 48. saatte 59.05 µM olarak belirlenmiştir. HT29 hücre dizisinde erianin uygulanan grupta koloni sayısı 67±33 iken kontrol grubunda 350±89 olarak hesaplanmıştır. Erianin, HT29 kolorektal kanser hücrelerinde koloni oluşumunu ise anlamlı derecede azaltmıştır. Yapılan çalışmaların sonuçları, erianinin kolorektal kanser tedavisinde doğal elde edilen bir bileşik olarak güvenli, kolay ulaşılabilir ve umut veren terapötik bir ilaç olabileceğini destekler niteliktedir. Gelecekte erianinin kolorektal kanser hücreleri üzerindeki etki mekanizmasını aydınlatacak daha kapsamlı ve çok merkezli desteklenecek ileri düzeyde klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Erianin, HT29, Kolorektal kanser.

Investigation of the Effects of Erianin on Proliferation and Colony Formation of HT29 Colorectal Cancer Cells

ABSTRACT

Colorectal cancer (CRC) is the 4th most common cause of cancer-related death in the global world. Erianin, a novel dibenzyl compound in Dendrobium extract, has antioxidative and antitumor activities. In this study, the therapeutic effects of erianin on HT29 colorectal cancer cells were investigated. Effects of erianin on cell viability were evaluated by XTT test. Effects of erianin on colony formation were evaluated by colony formation analysis. IC₅₀ values of Erianin on HT29 cells were determined as 59.05 µM at 48th hour. While the number of colonies in the HT29 cell line was 67±33 in the erianin treated group, it was calculated as 350±89 in the control group. Erianin significantly reduced colony formation in HT29 colorectal cancer cells. The results of the presented studies support that erianin as a natural product in the treatment of colorectal cancer can be a safe, easily accessible and promising therapeutic drug. In the future, more comprehensive and multi-center supported clinical studies are needed to elucidate the mechanism of action of erianin on colorectal cancer cells.

Key Words: Erianin, HT29, Colorectal cancer.

Geliş Tarihi: 18.Nisan.2021

Kabul Tarihi: 02.Temmuz.2021

Dr. Sema SERTER KOÇOĞLU
Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,
Balıkesir, Türkiye.
Tel.: 0537 665 93 19
E-posta: serteser_bio@hotmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Sema SERTER KOÇOĞLU: 0000-0002-3180-4007

Levent ELMAS: 0000-0002-6865-6466

Mücahit SEÇME: 0000-0002-2084-760X

2018 yılında, Birleşmiş Milletlerde, 145.600 yetişkine kolorektal kanser (KRK) teşhisi konulmuştur¹. Çevresel ve genetik faktörler, ileri yaş, uzun süreli kronik inflamasyon, kişisel veya ailede kolorektal polip öyküsü, sağlıksız diyetler, obezite ve yaşam tarzı gibi faktörlerin KRK geliştirme olasılığını artırdığı iyi bilinmektedir². Mikrosatellit kararsızlığı (MSI), *BRAF* mutasyonları, *PIK3CA* mutasyonları ve *KRAS* mutasyonları KRK'nın gelişimi ile yakından ilişkili ana faktörlerdir. Daha yakın zamanlarda, *SMAD4* kaybı, kemorezistans ve azalmış immün infiltrasyon ile anlamlı ilişkisi nedeniyle KRK hastaları için umut verici bir prognostik belirteç olarak tanımlanmıştır³.

İç organlarda gelişen bir kanser türü olan KRK hızlı bir şekilde invaze olup vücudun diğer organlarına yayılır. Son 5 yılda hayatta kalma oranı %10'un altın-

dadır^{1,4}. Mevcut tedavi yöntemleri hastalığın derecesine bağlı olarak cerrahi ve kemoterapidir⁵. Floropirimi-din-bazlı kemoterapi KRK hastaları için uygulanan standart kemoterapi yöntemidir. Kemoterapi ile tümör ilerlemesi durdurulabilir. Ancak, çoğu kemoterapi ajanı vücuttaki normal hücreler için toksik etki gösterir⁶. Genellikle, hastalarda hızlı bir şekilde kemoterapi ilaç direnci ve metastaz gerçekleşir ve teşhisi takiben 5 yıl içinde ölüme neden olur⁴. Hastaların ölümüne kanser hücrelerinin metastazı ve yayılması neden olur. Kolorektal kanserin ana tedavisi cerrahi rezeksiyondur. Son yıllarda, cerrahi sonrası kanserin yayılma riskinin arttığını gösteren çok sayıda çalışma vardır. Tümör damar yaralanması ve cerrahi, tümör hücrelerinin kan dolaşımına girmesine ve tümörün daha hızlı yayılmasına neden olmaktadır⁷. Kolorektal kanserin teşhis ve belirlenmesindeki zorluktan dolayı, KRK hastaları için daha güvenli, uygun maliyetli, daha az risk taşıyan ve hastaların yaşam konforunu arttıracak yeni tedavi ajanlarına ihtiyaç vardır⁷.

Doğal bileşikler, insanlar için kanser araştırmalarında güvenli bir profil çizmeleri ve tedavideki etkinlikleri dolayısıyla yüzyıllardır kullanılmaktadır⁸. Dendrobium, orkidegiller familyasına ait çeşitli biyolojik ve tıbbi özelliklere sahip çok büyük bir yayılım gösteren orkide cinsidir⁹.

Erianin [2-Methoxy-5-(2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-ethyl)-phenol], *Dendrobium chrysotoxum*'dan elde edilen anti-tümör ve antioksidan özelliklerinden dolayı tercih edilen doğal bir bibenzil bileşiğidir¹⁰. Erianinin antikarsinojenik özellikleri ve etki mekanizmasına ait çalışmalar sınırlıdır. Servikal kanser¹¹, mesane kanser¹², osteosarkoma¹³, akciğer kanseri¹⁴, meme kanseri¹⁵ erianinin antikarsinojen etkilerinin çalışıldığı kanser türleridir. Erianinin HT29 kolorektal hücrelerinin canlılığı ve koloni oluşumu üzerine etkileri daha önce çalışılmamıştır.

Bu çalışmada, erianinin HT29 hücreleri üzerindeki terapötik etkisi ilk kez çalışılmıştır. Erianinin KRK hücreleri üzerindeki terapötik etkisini göstermek için HT29 KRK hücre dizisi kullanılmıştır. Bu bağlamda bu çalışmada, erianinin HT29 KRK hücrelerinin canlılığı ve koloni oluşumu üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem

Hücre Kültürü ve Reaktifler

Bu çalışmada, HT29 KRK hücre dizisi (ATCC, USA) kullanılmıştır. Hücreler 2 mM L-glutamin, penisilin (20 units/mL), streptomisin (20µg/mL) ve %10 fetal sıgır serumu içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) kültür ortamında %95 hava ve %5 CO₂ basıncı altında 37°C'de inkübe edilmiştir. Erianin (Wuhan, China) dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözülmüştür. HT29 hücreleri 2 µM, 4 µM, 8 µM, 16

µM, 32 µM, 64 µM, 128 µM erianin ile 24, 48 ve 72. saatler için doz ve zaman-bağımlı olarak inkübe edilmiştir.

Hücre Sayımı

Hücre proliferasyonu deneyleri öncesinde, deneyde kullanılacak hücre sayısını belirlemek için hücre sayımı yapılmıştır. HT29 hücrelerinin sayım işlemi Neubauer sayım lamı kullanılarak, tripan mavisi boyama yöntemine göre uygulanmıştır. Temiz ve steril mikro santrifüj tüpü içerisine 50 µl tripan mavisi ve 50 µl hücre süspansiyonundan eklenip karıştırılmıştır. Elde edilen karışımdan 10 µl alınarak Neubauer hücre sayım lamına aktarılmış invert mikroskopta 10X büyütmede sayım işlemi gerçekleştirilmiştir. Kesin hücre sayısı, lamın dış kısmında bulunan 4 büyük alandaki toplam hücre sayısının ortalaması alınarak, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Hücre Konsantrasyonu (hücre/ml)} = (\text{Toplam Hücre sayısı} / 4) \times 10.000 \times \text{Dilüsyon Faktörü}$$

Hücre Canlılığı

Erianinin HT29 hücrelerindeki IC₅₀ dozunun ve hücre canlılığının belirlenmesi için XTT (2,3-bis (2-methoxy-4 nitro-5- sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide) üretici firmanın talimatlarına göre uygulanmıştır. Erianin 96 kuyucuklu plaklara her kuyucukta 1x10⁴ hücre olacak şekilde ekilmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonrası çeşitli konsantrasyonlarda erianin ile muamele edilmiş ve 24, 48 ve 72 saat için inkübasyona bırakılmıştır. Hücre canlılığı değerlendirmek için XTT karışımı üretici firmanın protokolüne uygun olarak hazırlanmıştır. Formazan oluşumu mikropipla okuyucu kullanılarak ve 630nm dalga boyu referans alınarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Hücre canlılığı aşağıdaki formül baz alınarak hesaplanmıştır. Kontrol ve erianin doz grupları her bir plaka için üç tekrarlı olarak çalışılmıştır.

$$\% \text{ Hücre Canlılığı} = \frac{\text{Ölçülen optik dansite değeri}}{\text{Kontrol optik dansite değeri}} \times 100$$

Koloni Formasyonu Analizi

Koloni oluşumunu belirlemek için HT29 hücreleri 6 kuyucuklu plakalara her kuyucukta 1000 hücre olacak şekilde ekilmiş ve 24 saat için inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası kontrol ve doz grupları oluşturulmuş ve 48 saat inkübe edilmiştir. Besiyeri her 2 günde bir değiştirilerek 37°C'de %5 CO₂'li ortamda 14 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda hücrelerin fikse edilmesi için %10'luk metanol kullanılmış ve -20°C'de 10 dakika bırakılmıştır. Fikse olan koloniler kristal viyole (% 0.5 dilution, Merckmilipor, ABD) boyası ile boyanmış ve PBS ile yıkanmıştır. Doz ve kontrol grupları 3 tekrarlı olarak yapılmış ve ışık mikroskobu kullanılarak manuel olarak sayılmıştır^{16,17}.

Erianinin HT29 hücreleri üzerine etkileri

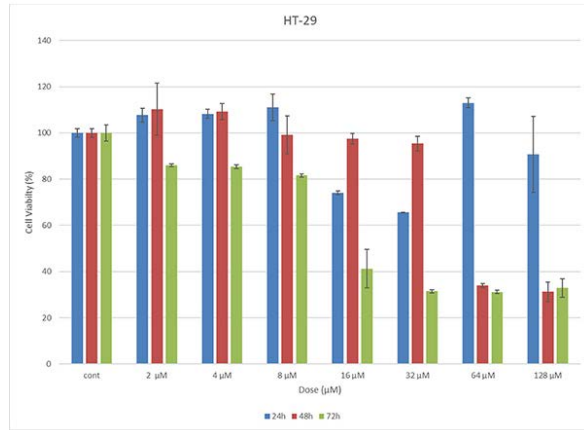
İstatistiksel Analiz

Kontrol ve doz grupları arasındaki istatistiksel anlamlılık karşılaştırılması 'Student t test' ile yapılmıştır. İstatistiksel analiz değerlendirmesi için SPSS 17.0 istatistik analiz programı kullanılmış ve $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Bulgular

Erianinin HT29 KRK Hücre Canlılığını Azaltır

Erianinin HT29 KRK hücrelerinin canlılığı üzerine etkileri XTT yöntemi ile belirlenmiştir. Erianin, HT29 kolon kanseri hücrelerinde doz ve zaman bağımlı olarak hücre canlılığını azaltmıştır. 24'üncü saatte erianin HT29 KRK hücre canlılığını %50'nin altına düşürdüğü bir doz belirlenmemiştir. 48 ve 72'inci saatte erianinin HT29 hücrelerinin canlılığını %50'nin altına düşürdüğü doz sırasıyla, 64 ve 16 μM olarak belirlenmiştir. Erianinin HT29 kolon kanseri hücrelerinde IC_{50} dozu 48'inci saatte 59.05 μM olarak belirlenmiştir (Şekil 1).

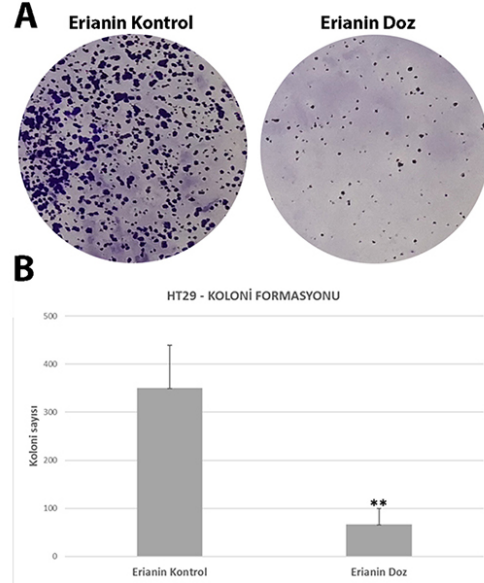


Şekil 1.

Erianinin HT29 KRK hücrelerinde hücre canlılığı üzerine etkileri. Data 3 bağımsız deneyin ortalama sonuçlarını göstermektedir. Erianinin IC_{50} değeri HT29 hücrelerinde 48 saat için 59.05 μM olarak bulunmuştur.

Erianin HT29 KRK Hücrelerinde Koloni Formasyonunu Azaltır

Erianinin HT29 KRK hücrelerinde koloni oluşumunu değerlendirmek için koloni formasyonu analizi uygulanmıştır. HT29 hücrelerinde, erianin uygulanan grupta kontrol grubuyla kıyaslandığında, koloni oluşumunun anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (Şekil 2A). HT29 hücre dizisinde erianin uygulanan grupta koloni sayısı 67 \pm 33 iken kontrol grubunda 350 \pm 89 olarak hesaplanmıştır (Şekil 2B). HT29 hücrelerinde koloni sonuçları erianin uygulanan grupta koloni sayısının % 80.85 azaldığını göstermiştir.



Şekil 2.

Erianin HT29 KRK hücrelerinde koloni oluşumu üzerine etkileri. A) Erianin ve kontrol gruplarında kristal viyole ile boyanmış kolonilerin morfolojik görüntüsü. B) Erianin uygulanan grupta kontrol grubuyla kıyaslandığında koloni sayısı anlamlı olarak azalmıştır ($\pm\text{SS}$, $n=3$, $p < 0.01$).

Tartışma ve Sonuç

Her yıl 1.2 milyondan fazla hastaya kolorektal kanser teşhisi konmakta ve 600.000'den fazla KRK hastası yaşamını yitirmektedir. Görülme sıklığı küresel olarak büyük ölçüde değişmekle birlikte insidansı erkeklerde kadınlardan daha yüksektir ve yaşla birlikte görülme sıklığı da artmaktadır¹⁸. Bu nedenle, KRK hastalarının prognozunu iyileştirmek için yeni ve güvenli tedavi stratejilerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Doğal ürünler yeni antikanser ilaçlarının keşfinde verimli kaynaklar haline gelmiştir. Şu anda kullanılmakta olan antikanser ilaçlarının yaklaşık %50'si doğrudan ya da dolaylı olarak doğal ürünlerden elde edilmektedir. Bu doğal ürünler; alkaloidler, polisakkaritler, polifenoller, diterpenoid ve doymamış yağ asitleri yapıdadırlar³. Kahverengi deniz yosunlarından elde edilen bir polisakkarit olan fucoidan'ın HT29 ve HCT116 hücrelerinde apoptozu indüklediğini gösterilmiştir³. *Curcuma Longa*'dan izole edilen bir polifenol olan Curcumin'in *in vitro* ve *in vivo* olarak, çoklu hücreyel yollar yoluyla etki gösteren KRK'ya karşı kanser önleyici özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir¹⁹. Andrographolide bir diterpenoiddir ve Asya'da binlerce yıldır geleneksel bir bitkisel ilaç olarak kullanılan *Andrographis paniculata* bitkisinin başlıca biyoaktif bileşenidir³. Andrographolidin'in insan kolon kanseri hücrelerinde antiproliferatif ve apoptotik özellikleri gösterilmiştir²⁰. Erianin, *Dendrobium chrysotoxum*'dan elde edilen anti-tümör ve anti-

oksidan özelliklerinden dolayı tercih edilen doğal bir bibenzil bileşiğidir. Bizim çalışmamızın sonuçlarında doğal bir ürün olan erianinin KRK kanser hücrelerinde antikanserijen etkileri gösterilmiştir ve doğal ürünler-KRK kanser ilişkisini gösteren diğer çalışmaları destekler niteliktedir.

Son yıllarda, geleneksel Çin tıbbi alternatif tıp konusunda oldukça gelişme kaydetmiş ve birçok kanser türünde etkili tedavi sonuçları elde edilmiştir^{21,22}. Farklı kanser hücrelerinde, doğal bileşiklerin aktif bileşenlerinin antikanserijen etkisinin ve altında yatan temel mekanizmaların aydınlatılması yeni anti-kanser ilaçların keşfinin önünü açacaktır. Bu amaçla erianinin antikanserijen etkisi çeşitli kanser türlerinde çalışılmıştır. Chen ve ark. Dendrobium özündeki yeni bir dibenzil bileşiği olan erianinin kalsiyum/kalmodülün aracılı ferroptoz yoluyla akciğer kanseri hücre büyümesini ve göçünü inhibe ettiğini göstermiştir¹⁴. Zhu ve ark. erianinin mitokondriyal apoptoz ve JNK yolakları yoluyla mesane kanseri hücresi büyümesini inhibe ettiğini ve mesane kanseri tedavisi için ümit veren bir terapi bileşiği olabileceğini önermiştir. Diğer bir çalışmada, erianinin insan nazofarengeal karsinomunda ERK yoluyla hücre apoptozunu indüklediği ve nazofarengeal kanser terapisi için umut vaat eden doğal bir bileşik olabileceği bildirilmiştir²¹. Ancak, erianinin HT29 kolon kanseri hücrelerinin canlılığı ve koloni oluşumu üzerine etkileri bilinmemektedir. Bu çalışmada, erianinin HT29 KRK hücrelerinin proliferasyonu ve koloni oluşumu üzerine etkileri ilk kez araştırılmıştır.

Erianinin kolorektal kanser hücre canlılığı üzerindeki etkilerini belirlemek için HT29 hücre hattı kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda erianinin HT29 hücrelerinde doz ve zaman bağımlı olarak sitotoksik etki gösterdiği XTT metodu ile belirlenmiştir. Erianinin IC₅₀ dozu 48'inci saatte HT29 hücrelerinde 59.05 µM olarak belirlenmiştir. Sun ve ark. erianinin T47D hücrelerinde hücre proliferasyonunu azalttığını göstermiştir¹⁵. Diğer bir çalışmada, erianinin insan servikal kanser hücrelerinde antiproliferatif etkisi gösterilmiştir¹¹. Aynı zamanda, erianinin osteosarkoma hücre proliferasyonunu baskıladığı da bildirilmiştir¹³.

In vitro koloni oluşturan analizler, kanser tedavilerinin sonucunu tahmin etmek için kullanılabilir ve genellikle antikanser ilaçları test etmek için kullanılır²³. Sunulan çalışmada, erianinin HT29 KRK hücrelerinin koloni oluşumu üzerine etkileri koloni formasyonu analizi ile değerlendirilmiştir. Bizim sonuçlarımız, erianinin HT29 KRK hücrelerinde kontrol grubuyla kıyaslandığında koloni oluşumunu anlamlı olarak azalttığını göstermiştir.

Sonuç olarak, biyoaktif bileşikler, yeni ajanlar ve biyomarkır moleküller kanser tedavisinde *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda araştırılmıştır. Bu tümörlerin onkogenezinin ve altında yatan temel mekanizmaların aydınlatılması yeni kanser terapilerin geliştirilmesinin

önünü açacaktır. Bu nedenle kolorektal kanser terapisinde yeni biyolojik ve kimyasal reaktiflere ihtiyaç artmaktadır. Bizim sonuçlarımız erianinin HT29 KRK hücre proliferasyonunu ve koloni oluşumunu anlamlı olarak azalttığını göstermiştir. Erianin, kolorektal kanser terapisi için tek başına ya da diğer moleküllerle kombine olarak bir aday olabilir. Gelecekte erianinin kolorektal kanser hücreleri üzerindeki etki mekanizmasını aydınlatacak daha kapsamlı ve çok merkezli desteklenecek ileri düzeyde klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Bu çalışma etik onam alınması gereken çalışmalar kapsamı dışında olan hücre kültürü çalışmasıdır ve 01.06.2020-01.10.2020 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım: S.S.K., M.S., L.E.; Veri toplama ve işleme: L.E., M.S.; Analiz ve verilerin yorumlanması: S.S.K., M.S.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: S.S.K.

Destek ve Teşekkür Beyanı: Çalışmaya yönelik yaptığı düzenleme katkısından dolayı Öğretim Görevlisi Ercan Koçoğlu'na teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. An BC, Hong S, Park HJ, vd. Anti-Colorectal Cancer Effects of Probiotic-Derived p8 Protein. *Genes* 2019; 10(8). doi:10.3390/genes10080624
2. Weng W, Goel A. Curcumin and colorectal cancer: An update and current perspective on this natural medicine. *Seminars in Cancer Biology* 2020. doi:10.1016/j.semcancer.2020.02.011
3. Huang X mei, Yang Z jie, Xie Q, Zhang Z kang, Zhang H, Ma J ying. Natural products for treating colorectal cancer: A mechanistic review. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2019; 117: 109142. doi:10.1016/j.biopha.2019.109142
4. Chung SS, Dutta P, Chard N, vd. A novel curcumin analog inhibits canonical and non-canonical functions of telomerase through STAT3 and NF-κB inactivation in colorectal cancer cells. *Oncotarget* 2019; 10(44): 4516-4531. doi:10.18632/oncotarget.27000
5. Gamage CDB, Park SY, Yang Y, vd. Deoxypodophyllotoxin exerts anti-cancer effects on colorectal cancer cells through induction of apoptosis and suppression of tumorigenesis. *International Journal of Molecular Sciences* 2019; 20(11): 2612. doi:10.3390/ijms20112612
6. Wang S, Wang L, Zhou Z, vd. Leucovorin Enhances the Anticancer Effect of Bortezomib in Colorectal Cancer Cells. *Scientific Reports* 2017; 7(1): 682 doi:10.1038/s41598-017-00839-9
7. Wang X, Li T. Ropivacaine inhibits the proliferation and migration of colorectal cancer cells through ITGB1. *Bioengineered* 2021; 12(1): 44-53. doi: 10.1080/21655979.2020.1857120
8. Hlosrichok A, Sumkhemthong S, Sritularak B, Chanvorachote P, Chaotham C. A bibenzyl from Dendrobium ellipsophyllum induces apoptosis in human lung cancer cells. *Journal of Natural Medicines* 2018; 72(3): 615-625. doi:10.1007/s11418-018-1186-x

Erianinin HT29 hücreleri üzerine etkileri

- Guo Z, Zhou Y, Yang J, Shao X. Dendrobium candidum extract inhibits proliferation and induces apoptosis of liver cancer cells by inactivating Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2019; 110: 371–379. doi:10.1016/j.biopha.2018.11.149
- Yang L, Hu Y, Zhou G, Chen Q, Song Z. Erianin suppresses hepatocellular carcinoma cells through down-regulation of PI3K/AKT, p38 and ERK MAPK signaling pathways. *Bioscience reports* 2020; 40(7): BSR20193137. doi:10.1042/BSR20193137
- Li M, He Y, Peng C, Xie X, Hu G. Erianin inhibits human cervical cancer cell through regulation of tumor protein p53 via the extracellular signal-regulated kinase signaling pathway. *Oncology Letters* 2018; 16(4): 5006–5012. doi:10.3892/ol.2018.9267
- Zhu Q, Sheng Y, Li W, vd. Erianin, a novel dibenzyl compound in Dendrobium extract, inhibits bladder cancer cell growth via the mitochondrial apoptosis and JNK pathways. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2019; 371: 41–54. doi:10.1016/j.taap.2019.03.027
- Wang H, Zhang T, Sun W, vd. Erianin induces G2/M-phase arrest, apoptosis, and autophagy via the ROS/JNK signaling pathway in human osteosarcoma cells in vitro and in vivo. *Cell Death and Disease* 2016; 7(6): e2247. doi:10.1038/cddis.2016.138
- Chen P, Wu Q, Feng J, vd. Erianin, a novel dibenzyl compound in Dendrobium extract, inhibits lung cancer cell growth and migration via calcium/calmodulin-dependent ferroptosis. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2020; 5(1): 51. doi:10.1038/s41392-020-0149-3
- Sun J, Fu X, Wang Y, vd. Erianin inhibits the proliferation of T47D cells by inhibiting cell cycles, inducing apoptosis and suppressing migration. *American journal of translational research*. 2016;8(7):3077–3086.
- Rajendran V, Jain MV. In vitro tumorigenic assay: colony forming assay for cancer stem cells. *Çinde: Methods in Molecular Biology* 2018; 1692: 89–95. doi:10.1007/978-1-4939-7401-6_8
- Franken NAP, Rodermond HM, Stap J, Haveman J, van Bree C. Clonogenic assay of cells in vitro. *Nature Protocols* 2006; 1(5): 2315–2319. doi:10.1038/nprot.2006.339
- Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer. *The Lancet* 2014; 383: 1490–1502. doi:10.1016/S0140-6736(13)61649-9
- Ruiz de Porras V, Layos L, Martínez-Balibrea E. Curcumin: A therapeutic strategy for colorectal cancer? *Seminars in Cancer Biology* 2021; 73: 321–330. doi:10.1016/j.semcancer.2020.09.004
- Khan I, Mahfooz S, Ansari IA. Antiproliferative and Apoptotic Properties of Andrographolide Against Human Colon Cancer DLD1 Cell Line. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets* 2019; 20(6): 930–942. doi:10.2174/1871530319666191125111920
- Liu YT, Hsieh MJ, Lin JT, vd. Erianin induces cell apoptosis through ERK pathway in human nasopharyngeal carcinoma. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2019; 111: 262–269. doi:10.1016/j.biopha.2018.12.081
- Zhu Q, Sheng Y, Li W, vd. Erianin, a novel dibenzyl compound in Dendrobium extract, inhibits bladder cancer cell growth via the mitochondrial apoptosis and JNK pathways. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2019; 371: 41–54. doi:10.1016/j.taap.2019.03.027
- Cho JG, Lim KH, Park SG. MED28 increases the colony-forming ability of breast cancer cells by stabilizing the ZNF224 protein upon DNA damage. *Oncology Letters* 2018; 15(3): 3147–3154. doi:10.3892/ol.2017.7718

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

MikroRNA-106a'nın Yüksek Ekspresyonu Kolorektal Kanserlerde Mikrosatellit İnstabilite Durumu ile İlişkilidir

Seçil AK AKSOY¹, Berrin TUNCA², Tuncay YILMAZLAR³, Ersin ÖZTÜRK⁴,
Fuat AKSOY³, Özgen IŞIK³, Ömer YERCI⁵, Nesrin UĞRAŞ⁵, Özkan KANAT⁶,
Melis MUTLU², Çağla TEKİN²

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi, İnegöl Meslek Yüksekokulu, İlk ve Acil Yardım Anabilim Dalı, Bursa.

² Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

³ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Bursa.

⁴ Bursa Medicana Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, Bursa.

⁵ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Bursa.

⁶ Bursa Acıbadem Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Kliniği, Bursa

ÖZET

Mikrosatellit instabilite (MSI), DNA tamir genlerindeki hatalardan kaynaklanan ve kolorektal kanserin (KRK) oluşmasına neden olan genetik bir durumdur. Sporadik KRK'larda MSI görülme sıklığı, prognoza olan etkisi literatürde çelişkilidir. Bununla birlikte MSI'ya sahip KRK'larda standart kemoterapi yetersiz kaldığı için yeni tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır. miRNA'lar (miRNA) kanserleşme sürecinde görev alan ve tanıda, prognozda ve tedavide belirteç olarak kullanılan küçük RNA molekülleridir. Mevcut çalışmada, Türk popülasyonuna ait sporadik gelişen KRK'larda MSI'nın görülme sıklığının tanımlanması ve bu tümörlerde miRNA'ların ekspresyon farklılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada, sporadik KRK tanısı almış 63 hasta değerlendirildi. Hastalara ait arşiv tümör ve normal dokularından DNA ve RNA izolasyonları yapıldı. DNA örneklerinden fragment analizine dayalı MSI testi gerçekleştirildi. qRT-PCR kullanılarak 38 farklı miRNA'nın ekspresyon profili incelendi. 63 hastada MSI görülme oranı %23.8 olarak belirlendi. MSI ve mikrosatellit stabil (MSS) tümörler karşılaştırıldığında, MSI tümörlerde, miR-124 ve miR-106a'nın yüksek ve miR-145'in ise düşük ekspresyon gösterdiği belirlendi ($p<0.05$). Bununla birlikte miR-106a'nın yüksek ekspresyonunun cerrahi sonrası nüks gelişimi ile ilişkili olduğu saptandı ($p=0.002$). Elde edilen bulgular ışığında miR-106a'nın özellikle MSI genotipine sahip KRK tümörlerde hedeflenmesi ile KRK hastalarında yeni tedavi protokollerinin oluşturularak nüks oluşumunun engellenebileceğini öngörmüştür.

Anahtar Kelimeler: Sporadik Kolorektal Kanser. Mikrosatellit İnstabilite. MikroRNA. miR-106a.

Upregulation of Microrna-106a is Associated with Microsatellite Instability Status in Colorectal Cancer

ABSTRACT

Microsatellite instability (MSI) is a genetic condition that results from errors in DNA repair genes and causes colorectal cancer (CRC). The incidence of MSI in sporadic CRCs and its effect on prognosis are contradictory in the literature. However, since standard chemotherapy is insufficient in CRCs with MSI, new treatment options are needed. miRNAs (miRNAs) are small RNA molecules that take part in the cancer process and are used as markers in diagnosis, prognosis and treatment. In the study, it is aimed to define the prevalence of MSI in sporadically developing CRCs belonging to the Turkish population and to determine the expression differences of miRNAs in these tumors. 63 patients diagnosed with sporadic CRC were evaluated in the study. DNA and RNA isolations were made from archive tumor and normal tissues of the patients. MSI test was performed based on fragment analysis from DNA samples. The expression profiles of 38 different miRNAs were examined using qRT-PCR. In 63 patients, the incidence of MSI was determined as 23.8%. When MSI and microsatellite stable (MSS) tumors were compared, it was determined that miR-124 and miR-106a showed high expression and miR-145 low expression in MSI tumors ($p<0.05$). However, high expression of miR-106a was found to be associated with postoperative recurrence ($p=0.002$). In the light of the findings obtained, we think that by targeting miR-106a especially in CRC tumors with MSI genotype, recurrence can be prevented by creating new treatment protocols in these tumors.

Key Words: Sporadic colorectal cancer. Microsatellite Instability. MicroRNA. miR-106a.

Geliş Tarihi: 29.Nisan.2021

Kabul Tarihi: 09.Temmuz.2021

Dr. Berrin TUNCA
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji AD
Tel.: 0224 295 41 61
E-posta: btunca@uludag.edu.tr

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Seçil AK AKSOY:0000-0002-3760-9755

Berrin TUNCA: 0000-0002-1619-6680

Tuncay YILMAZLAR: 0000-0003-1924-0795

Ersin ÖZTÜRK: 0000-0001-8593-5101

Fuat AKSOY: 0000-0001-5808-9384

Özgen IŞIK: 0000-0002-9541-5035

Ömer YERCI: 0000-0001-7118-5258

Nesrin UĞRAŞ: 0000-0003-0127-548X

Özkan KANAT: 0000-0001-6973-6540

Melis MUTLU: 0000-0002-6633-3428

Çağla TEKİN: 0000-0002-2568-3667

Kolorektal kanserler (KRK), kalınbağırsak boyunca oluşan agresif gastrointestinal sistem tümörleridir. KRK, Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) ve Dünyada genelinde en yaygın üçüncü kanser olup, yılda 690.000'den fazla ölümünün sebebinin oluşturmaktadır¹. Sağlık Bakanlığı 2014 verilerine göre de KRK, Türkiye'de hem kadın hem de erkekler arasında en sık gözlenen üçüncü kanserdir².

KRK, bir dizi genomik ve epigenomik değişiklik ile karakterize olan heterojen bir hastalıktır. KRK'nın %75-80'inde germline mutasyonlardan bağımsız olarak sporadik formda tümör gelişirken %20-25'nin ailesinde KRK öyküsü bulunmaktadır³.

Sporadik KRK'lerin yaklaşık % 70'i kromozomal instabilite (Chromosomal Instability; CIN) yolu ile gelişmektedir. CIN yolu ile meydana gelen KRK'lar, anöploid karyotip, tümör baskılayıcı gen lokuslarında sık heterozigotluk kaybı (LOH) ve kromozomal yeniden düzenlemelerle sonuçlanan sayısal veya yapısal kromozomal anormalliklerin birikimi ile karakterize edilmektedir⁴. Ayrıca, CIN tümörleri, spesifik onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonların birikmesi ile ayırt edilmektedir [örn., APC, KRAS, fosfatidilinositol-4,5-bifosfat 3-kinaz, katalitik alt birim alfa (PIK3CA), B-Raf proto-onkojen, serin / treonin kinaz (BRAF), SMAD4 ve TP53]^{5,6}. KRK oluşumunda diğer bir önemli yol, DNA yanlış eşleşme (MMR) genlerinin işlev bozukluğunun neden olduğu mikrosatellit instabilite (MSI) yoludur. MSI, toplumsal düzeyde farklılık gösterse de, sporadik KRK'ların yaklaşık %15'inde görülmektedir⁷.

Mikrostaellitler, bir ya da birden fazla bazın çeşitli tekrarları ile genomun belli bölgelerinde görülen kısa baz dizi tekrarlarıdır. DNA replikasyonuna bağlı hatalar sonucunda mikrosatellitler bölgelerinde delesyonlar veya insersiyonlar meydana gelmekte, bu durum MSI olarak isimlendirilmektedir^{8,9}. MSI oluşumunda DNA tamirinde görev alan MMR genlerindeki kayıpların etkili olduğu bilinmektedir. Bu mekanizma, MMR genlerinde meydana gelen metilasyonlar ya da bu genlerin somatik mutasyonlar sonucu inaktivasyonları ile meydana gelmektedir. *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* ve *PMS2* adlı MMR genlerindeki germ-line mutasyonların varlığı nedeniyle oluşan MSI, Lynch Sendromu ile ilişkilendirilirken, *MLH1* geni promotör bölge metilasyonları sonucunda meydana gelen MSI durumu büyük çoğunlukla sporadik KRK oluşumuna neden olmaktadır¹⁰. MSI, sporadik olarak meydana gelen KRK'ların yaklaşık %15'inden sorumludur. MSI genotipine sahip KRK'ların prognozları ile ilgili çelişkili sonuçlar bulunmaktadır¹¹. Bir meta-analiz, yüksek frekanslı MSI (MSI-H) KRK'ların, tümör evresinden bağımsız olarak daha iyi bir prognoza sahip olduğunu ileri sürmektedir. MSI tümörleri olan hastalar, gelecekte tedavinin başarısızlığına karşılık immünoterapi yapıldığında anti-PD-1 inhibitörlerine iyi yanıt oluş-

turmaktadır. Başka bir meta-analiz, MSI durumunun 5-FU tabanlı kemoterapinin metastatik KRK üzerindeki etkisini tahmin etmede yetersiz kaldığını ortaya koymaktadır. Evre II ve evre III KRK hastaları arasındaki MSI durumunun farklı etkisi ve evre II KRK MSI hastalarında 5-FU tedavisinin potansiyel zararı gibi bekleyen sorular hala mevcut olup büyük ölçüde cevapsız kalmaktadır^{12,13}. Evre II KRK hastalığının bu tartışmalı alanında uygulanması kolay ve nispeten ekonomik bir biyobelirtecin prognostik ve prediktif geçerliliğine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle MSI durumunun prognoz üzerine etkilerinin araştırılacağı kapsamlı çalışmaların planlanması gerekmektedir. Bu nedenle MSI durumunun prognoz üzerine etkilerinin araştırılması ile ilgili kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

MSI varlığı immünohistokimyasal yöntemler ile MMR proteinlerinin analiz edilmesi ile değerlendirilmekte ya da altın standart olarak kabul edilen DNA dizi analizi temelli fragment analizleri ile direkt olarak MSI bölgelerindeki tekrar sayılarının incelenmesi ile değerlendirilebilmektedir¹⁴. MSI bölgelerinin değerlendirilmesinde 1997 yılında oluşturulan Bethesda kriterleri kullanılmaktadır. Günümüzde onlarca mikrosatellit bölgesi belirteç olarak tanımlanmış olsa da D5S346, D2S123, D17S250, BAT25 ve BAT26 en sık takip edilen belirteçlerdir¹⁵.

İnsan genom projesi ile DNA baz dizilimi ortaya çıkartılarak, genomun sadece %2-3'lük kısmının mRNA'ya çevrildiği, %10-18'lik kısımdan protein sentezine yardımcı RNA'ların transkribe edildiği belirlenmiş olup genomun geriye kalan yaklaşık %80-87'lik kısmı ise çöp DNA olarak adlandırılmıştır¹⁶. Çöp olarak adlandırılan bu bölge üzerine yapılan çalışmalarda, protein kodlamayan ancak transkripsiyon sonrası gen düzenlenmesinde görev alan RNA'lar keşfedilmiştir¹⁷. Güncel araştırmalarda kodlama yapmayan küçük RNA'ların (microRNA:miRNA), KRK başta olmak üzere birçok kanserin oluşumunda ve gelişiminde görev aldıkları belirlenmiştir. miRNA'ların hedeflerini transkripsiyon sonrası baskılayarak veya teşvik ederek bir çok tümör hücresinin fizyolojik ve patolojik süreçlerinde anahtar rol oynadıkları kanıtlanmıştır. miRNA'ların anormal ekspresyonları birçok onkogenik ve tümör baskılayıcı genin regülasyonunda görev aldıkları için tümör baskılayıcı veya onkogenik özellik göstermektedirler. Günümüzde devam eden çalışmalarla, KRK'da hücre proliferasyonunu, hücre döngüsünü, metastaz sürecini ve apoptozu yöneten miRNA'lar tanımlanmaktadır^{18,19}.

Sporadik KRK'larda MSI durumu popülasyonlar arasında farklılık göstermektedir. Bununla birlikte sporadik KRK'larda miRNA'lar ve MSI ile yapılmış sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Mevcut çalışmada Türk popülasyonuna ait sporadik KRK tümörlerinde MSI frekansını belirleyerek bu genotipe sahip tümörlerdeki miRNA değişimlerini ve prognoza olan etkilerinin saptanması amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem

Hasta Seçimi

Çalışmada, sporadik KRK tanısı almış 63 hasta değerlendirildi. Neoadjuvan tedavi alan, üç yıldan az takip süresine sahip, primer KRK olmayan veya ailesinde kanser öyküsü bulunan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya ait etik kurul Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi klinik araştırmalar etik kurulu tarafından onay (2011-2/7) alındı.

DNA İzolasyonu

Tümör ve normal olarak işaretlenen parafilm gömülmüş doku örneklerinden işaretli alanlar 15 numara bistöri ucu ile kesildi ve üzeri etiketli 1.5 ml ependorf içerisine aktarıldı.

Kesilen dokuların her biri 1ml Ksilan (Sigma Aldrich, ABD) ve 1 ml Ethennol %99 HPLC Grage (Sigma Aldrich, ABD) ile muamele edildi. High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, İsviçre) kiti kullanılarak genomik DNA elde edildi. DNA kalitesi ve miktarı UV-Vİs Spektrofotometre/Nano Drop (Beckman Coulter, ABD) cihazında 280/260 nm dalga boyundaki optik dansitelerine ve konsantrasyonlarına bakılarak ölçüldü.

DNA Fragment Analizi

MSI analizi floresan işaretlemeye dayanan bir yöntemdir. Bu analiz, Bethesda kriterlerine uygun olarak seçilen, 5'ucu floresan işaretli D2S123, D5S346, D17S250, BAT25 ve BAT26 primerleri ile kapiller elektroforez sisteminde (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, ABD) fragment yöntemi ile gerçekleştirildi.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Kalitesi ve miktarı ölçülen DNA'ların her birinden 100 ng olacak şekilde ara stok hazırlandı. Multi HS Prime Premix (GeNET Bio, Kore) kit içeriğinde yer alan Multi HS Prime Taq Premix (2X)'ten 10 µl, dH₂O'dan 4.5 µl, her bir primer çiftinin her birinden

1µM olacak şekilde toplamda 2.5 µl eklenerek PCR karışımı oluşturularak primerlerin bağlanma ısısına göre uygun programlarda PCR amplifikasyonu gerçekleştirildi.

PCR örnekleri ve MSI analiz karışımı 96-kuyulu plakalara hazırlandı. Reaksiyon karışımı, 22 adet (60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 550 ve 600 baz) DNA fragmenti içeren 600'lük Size Standart'tan 40 µl PCR ürünlerinden ise 1.5 µl ilave edilerek oluşturuldu ve cihaza yükleme yapıldı.

MSI analizi MSI belirteçlerinin fragman yükseltilerinin, her hastanın tümör ve normal dokusunda karşılaştırılması ile gerçekleştirildi. Bu karşılaştırma sonucunda herhangi bir belirteçte tümör ve normal DNA arasında bir farklılık belirlenmezse hasta mikrosatellit stabil (MSS), bir belirteçte farklılık belirlenirse MSI-low (MSI-L), iki ve daha fazla belirteçte farklılık belirlenirse MSI-high (MSI-H) olarak tanımlanmaktadır.

miRNA Ekspresyon Analizi

Normal ve tümör doku olarak tanımlanmış hastaya ait parafin blok için ependorf tüpler oluşturuldu ve parafin bloklardan 0.2-0.4 cm kesilerek bu ependorflar içerisine alındı. Materyaller, BIOstic (MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA) ile 2 kez muamele edilerek parafinden arındırıldı. BIOstic ile doku üzerindeki parafin çözdürüldükten sonra materyaller, %100-%70 ve %40'luk alkol aşamalarından geçirildi ve alkol oda ısısında uçuruldu. Bu aşamalardan sonra 63 hastaya ait tümör doku ve 8 hastaya ait normal dokudan, parafin bloktan RNA izolasyonuna uygun ticari kit (Qiagen RNeasy FFPE kit) kullanılarak prosedüre uygun şekilde RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen total RNA'nın 5 ng'ından RT2 miRNA First Stand Kit MA03 (QIAGEN, Germantown, Maryland, USA) kullanılarak komplementer DNA (cDNA) elde edildi. Çalışmada, KRK gelişiminde diagnostik ve prognostik öneme sahip, aynı zamanda ilaç direnci üzerine etkisi belirlenen miRNA'ların değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda değerlendirilen miRNA'lar bu amaç doğrultusunda yapılan literatür araştırması sonu-

Tablo I. Custom array ile çalışılan 38 farklı miRNA ve KRK ile ilişkili hedef genleri

miRNA	Hedef genleri*	miRNA	Hedef genleri	miRNA	Hedef genleri*
hsa-miR-21	KRAS, AKT, MAPK	hsa-miR-16	RET, NF1	hsa-miR-137	ABCD2, CTNB1
hsa-miR-143	NRAS, STAT	hsa-miR-181b	IL1A, PAM2	hsa-miR-221	KRAS
hsa-miR-145	MAPK1, NF1A, MAPK14	hsa-miR-200c	PMS1, IL2	hsa-miR-223	BRAF, TGFB
hsa-miR-19a	PIK3CA, SOX2	hsa-miR-139-3p	AKT, NF1	hsa-miR-148a	ERK, RAF
hsa-let-7a	KRAS, MAPK	hsa-miR-26a	CTNNB1, CD4	hsa-miR-200a	JNK, Axin
hsa-let-7c	KRAS, MYC	hsa-miR-27a	Twist, CHD2	hsa-miR-15b	LGR5, PIK3
hsa-miR-17	MAP3K8, MYC, MLH1	hsa-miR-30a	DDL-1, P53	hsa-miR-15a	MEK, BCL2
hsa-miR-155	VHL, SOX4	hsa-miR-34a	RET, NF1	hsa-miR-15b	SMAD4, BAD
hsa-miR-29b	KRAS, LGR5	hsa-miR-96	ALK, BICRAL	hsa-miR-20a	MEK, SOS
hsa-miR-106a	RB1, CTNNB1	hsa-miR-133b	P53, PMS2	hsa-miR-99a	TP1, BAK
hsa-miR-139-5p	ZEB1, HRAS	hsa-miR-135b	FOXO1, CD47	hsa-miR-478	CD133
hsa-miR-191	PTEN, PIK3CA	hsa-miR-124	SMAD4	hsa-miR-320	MAP3K1, PTEN
hsa-miR-181	MTOR, SMAD4	hsa-miR-155	ERBB2, SMAD2		

*miRBAase, KEGG

cu belirlendi. Seçilen 38 farklı miRNA'nın tümör dokularındaki ekspresyon durumları, kromozomal lokalizasyonları ve hedef genleri ile ilgili bilgiler Tablo I'de verildi. Çalışmamızda kullanılmak üzere belirlendiğimiz miRNA'lar için dizayn ettirilmiş olan 384 kuyucuklu PCR arrayler düzenlendi. PCR arrayler içerisinde, her bir örnek için 3 adet PCR array kontrolü (miRTC, PPC, U6), 3 adet housekeeping gen (SNORD44, SNORD47, SNORD48) ve 42 miRNA (38 farklı, 4 tanesi 2 tekrar olacak şekilde) yer verildi.

İstatistiksel Analiz

Hastalara ait klinik ve patolojik özelliklerin nüks olan etkileri Bağımsız T, Ki-kare ve Tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) kullanılarak belirlendi. miRNA'ların ekspresyon düzeyleri web-tabanlı "RT2 Profiler PCR Array Data Analysis v3.5" programından yararlanılarak değerlendirildi. Tanı anından nüks kadar geçen süre hastalısız sağ kalım (Disease free survival- DFS) olarak tanımlandı ve değerlendirilen tüm parametrelerin DFS'ye olan etkileri Kaplan Meier Analizi ile belirlendi. Tüm istatistiksel analizlerde SPSS (20.0) ve Graphpad Prism 16.0 programlarından yararlanıldı. Parametrelerin DFS'ye olan etkilerinin değerlendirildiği Kaplan Meier analizi MedCalc 16.0 programı ile gerçekleştirildi. Tüm istatistik analizlerinde p değerinin 0.05'ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

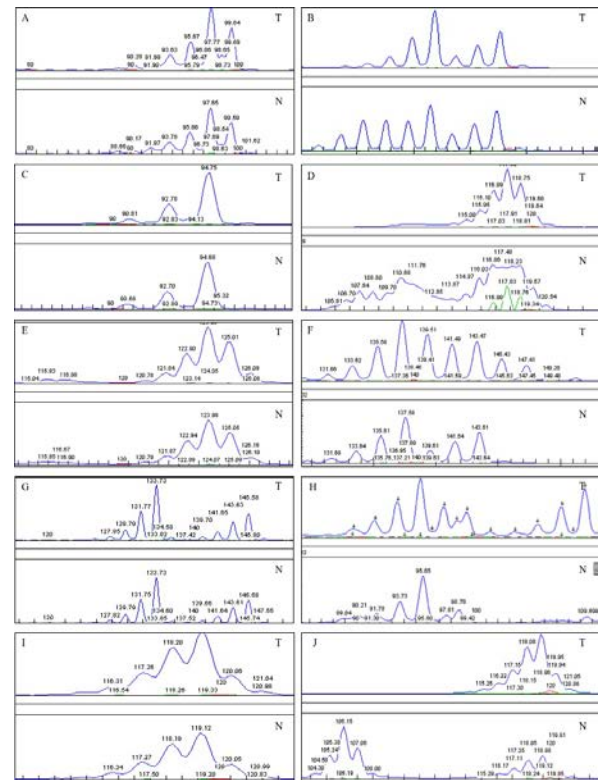
Bulgular

Çalışmada değerlendirilen 63 hastanın 35'i (%55.6) erkek, 28'i (%44.4) kadındı. Ortalama yaş 52.2 (42-64) olarak belirlendi. Evre I ve evre II hastalarına sadece cerrahi rezeksiyon uygulanırken, evre III ve evre IV hastalarının uygun görülenerine 5 Fluorourasil bazlı adjuvan kemoterapi (KT) ve gerekli görülün rektum tümörlerine ise ilave olarak radyoterapi (RT) uygulandı. RT alan hasta sayısı sınırlı olduğunda bu parametre çalışma dışı bırakıldı. Değerlendirilen hastaların %65'inin (n=26) KT aldığı tespit edildi. Hastaların ortalama takip süresi 56 ay olup takip süresinde 11 (%17.4) hastada sistemik veya lokal nüks gelişimi belirlendi. Hastalara ait klinik ve patolojik özellikler Tablo II'de verildi. KT tedavisi gören 26 hastanın ise 5'inde (%19.2) nüks gelişimi gözlemlendi. Nüks gelişimi gözlenen 5 hastanın 1 (%20)'inde MSI pozitifliği belirlendi.

D2S123, D17S250, D5S346, BAT25 ve BAT26 belirteçleri kullanılarak gerçekleştirilen MSI analizlerinde; 63 KKRK tümörünün 48'si (%76.2) MSS, 15'i ise (%23.8) MSI olarak tanımlandı. MSI tümörlerin %60'ı (n=9) MSI-L, %40'ı (n=8) ise MSI-H olarak belirlendi (Şekil 1). KT tedavisi sonrası nüks ile MSI durumu arasında herhangi bir anlamlılık belirlenmedi (p>0.05).

Tablo II. Hastaların klinik ve patolojik özellikleri

Özellikler	Sayı (%)
Cinsiyet	
Kadın	28 (%44.4)
Erkek	35 (%55.6)
Yaş	52.2 (42-64)
Tümör Lokalizasyonu	
Sağ Kolon	23 (%36.5)
Sol Kolon	28 (%44.4)
Rektum	12 (%19.1)
Tümör Evresi	
Evre I	5 (%7.9)
Evre II	18 (%28.6)
Evre III	21 (%33.3)
Evre IV	19 (%30.2)
Nüks	
Var	11 (%17.4)
Yok	52 (82.6)



Şekil 1.

MSI belirteçleri. (A) D2S123 normal, (B) D2S123 pozitif, (C) D17S250 normal, (D) D17S250 pozitif, (E) D5S346 normal, (F) D5S346 pozitif, (G) BAT25 normal, (H) BAT25 pozitif, (I) BAT26 normal, (J) BAT26 pozitif.

63 tümör doku 15 normal doku ile karşılaştırıldığında, 38 farklı miRNA arasında miR-143'ün, miR-145'in düşük ekspresyonları, ile miR-155'in, miR-106a ve miR-124'ün yüksek ekspresyon seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı belirlendi (Tablo III).

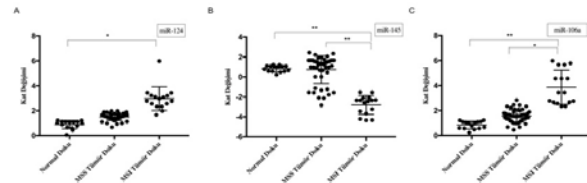
Mikrosatellit İnstabilite Tümörlerde mikroRNA'lar

Tablo III. Normal dokuya göre tümör dokuda ekspresyon farklılığı belirlenen miRNA'lar.

MiRNA	2'Delta CT	2' Delta CT	Kat Değişimi	P Değeri
miR-143	0.2349	0.0364	-3.245	0.001
miR-145	0.3848	0.1374	-2.938	0.023
miR-155	0.8374	2,9283	2.094	0.036
miR-106a	0.7348	2.3948	3.0293	0.001
miR-124	0.9384	1.9484	2.3449	0.042

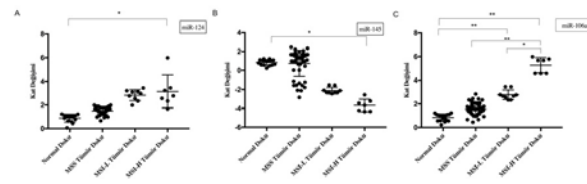
Tümörlerdeki MSI durumu ile miRNA ekspresyon seviyeleri birlikte değerlendirildiğinde, normal dokuya göre tümör dokuda anlamlı seviyede farklı ekspresyon gösteren 5 miRNA arasından miR-124, miR-106a ve miR-145 MSS tümörleri ile karşılaştırıldığında MSI tümörlerinde istatistiksel olarak anlamlı ekspresyon farklılıkları gösterdi (Şekil 2). Bununla birlikte miR-106a ekspresyonu MSI-H tümörlerde MSS tümörlerine göre 3.1, MSI-L tümörlere göre ise 2 kat artış gösterdi (Şekil 3; p=0.0001, p=0.034, sırasıyla).

MSI durumu ve miRNA ekspresyon değişimleri nüks gelişimi açısından değerlendirildiğinde, MSI durumu ile nüks gelişimi arasında bir ilişki saptanmazken yüksek miR-106a ekspresyonu kısa hastalıklı yaşam süresi arasında anlamlı istatistiksel ilişki olduğu belirlendi (Şekil 4, p=0.002).



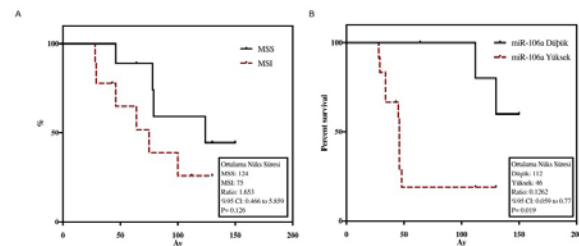
Şekil 2.

Normal doku ile karşılaştırıldığında MSS ve MSI tümör dokularında (A) miR-124, (B) miR-145, (C) miR-106a'nın ekspresyon değişimleri.



Şekil 3.

MSI-L ve MSI-H tümörlerinde (A) miR-124, (B) miR-145, (C) miR-106a'nın ekspresyon değişimleri.



Şekil 4.

Kaplan Meier analizi. (A) MSI durumunun hastalıklı yaşam süresi ile, (B) miR-106a ekspresyonunun hastalıklı yaşam süresi ile ilişkisi.

Tartışma ve Sonuç

Mikrosatellitler, insan genomu boyunca dağılmış tekrarlayan DNA dizileridir⁸. Yapılan çalışmalar, MSI tümörü olan erken evre KRK hastalarının genellikle daha iyi bir prognoza sahip olduğu ve 5FU bazlı kemoterapiye daha az yanıt verdiklerini göstermektedir¹⁰. Ancak son yapılan meta-analiz çalışmalarında bu konuda çelişkiler bulunmaktadır^{12,13}. Bunun temel sebepleri arasında MSI durumunun popülasyonlar arasında farklılık göstermesinin olabileceği düşünülmektedir. Bu güne kadar yapılan çalışmalarda Türk popülasyonuna ait sporadik KRK hastalarında MSI frekansı net olarak ortaya konulamamıştır. Mevcut çalışmamız sonucunda sporadik KRK'larda MSI frekansı %23.8 olarak belirlendi. MSI durumu ile KT sonrası nüks gelişimi değerlendirdiğinde istatistiksel bir anlamlılık gözlenmedi. Çalışmada değerlendirilen hastalarda kısıtlı KT tedavisi bulunduğu için 5FU-tabanlı KT ve MSI durumu ile ilgili daha kapsamlı çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bununla birlikte, MSI durumu ve kısa hastalıklı yaşam süresi arasında da anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Çalışmamızda ikinci aşamada MSS tümörleri ile MSI tümörleri arasında farklı ekspresyona sahip miRNA'ların belirlenmesi amaçlandı. Bu kapsamda KRK gelişiminde rol oynayan 38 farklı miRNA ekspresyonu incelendi. İlk olarak miRNA ekspresyonları normal doku ile karşılaştırılarak tümör dokuda incelendi. 38 farklı miRNA arasında miR-143'ün, miR-145'in düşük ekspresyonları, ile miR-155'in, miR-106a ve miR-124'ün yüksek ekspresyonları tümör dokuda istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

miR-143 ve miR-145'in düşük ekspresyonları birçok kanserde kötü prognoz ile ilişkilendirilmektedir²⁰. Brinza ve ark. 82 KRK tanılı hastada gerçekleştirdikleri çalışma ile miR-143 ve miR-145'in birbirlerinden bağımsız olarak uzak metastaz ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir²⁰. Bai ve ark., in-vitro ortamda KRK hücrelerinde miR-143'ün ekspresyonu arttırıldığında, ERBB3'nin inhibe edilerek hücrelerin invazyon ve metastaz kabiliyetlerinin baskılandığını göstermiştir²¹. Bununla birlikte birbirinden bağımsız gerçekleştirilen çalışmalarda miR-143 ve miR-145 KRK gelişimi ile ilişkili bulunmamıştır^{21,22}. Literatürde, bu çelişkili sonuçların nedeni farklı örneklem büyüklükleri ve etnik grup farklılıkları ile açıklanmıştır²³. Bizim gerçekleştirdiğimiz mevcut çalışmada miR-143 ve miR-145 normal doku ile karşılaştırıldığında tümör dokuda istatistiksel olarak anlamlı düşüş göstermiş ancak uzak metastaza katkıları belirlenmemiştir. Bununla birlikte mevcut çalışmamızda miR-145 MSI tümörlerde MSS tümörlere göre daha düşük ekspresyon göstermiştir. Ancak literatürde miR-145'in MSI durumu ile ilişkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır.

miR-155'in anormal ekspresyonu daha önce KRK'lar-
da belirlenmiştir²⁴. Ancak bazı çalışmalarda miR-
155'in tümör baskılayıcı özellikte, bazı çalışmalarda
ise onkogenik özellikte olduğu belirtilmektedir^{24,25}.
Mevcut çalışmamızda ise miR-155 normal dokuya
göre tümör dokuda yüksek eksprese bulunmuş, bu
nedenle bu miRNA'nın Türk popülasyonuna ait KRK
tümörlerinde onkogenik özellikte olduğu gösterilmiştir.
Fakat bulgularımız miR-155'in yüksek ekspresyonu-
nun uzak metastaz veya MSI durumu ile ilişkisini
tanımlamamaktadır. Literatürde ise farklı popülasyon-
larda yapılan iki çalışmada miR-155'in ekspresyonu,
MSI-H tümörlerde MSS tümörler ile karşılaştırıldı-
ğında, istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bu-
lunmuştur. Ancak miR-155'inde dahil olduğu miRNA
ekspresyon profillerinin değerlendirildiği farklı çalış-
malarda bu miRNA MSI durumu ile ilişkilendirilme-
miştir^{26,27}. Bu farklılıkların nedeni etnik kökene ve
çalışmaların bir kısmı IHC bir kısmı ise fragmant
analizi ile gerçekleştirildiğinden, metod farklılığına
dayandırılmıştır. Mevcut bulgular miR-155'in KRK
tümörlerinde onkogenik özellikte olduğunu göster-
mektedir.

miR-124, kanser gelişiminde belirlenen ve hedeflenen
miRNA'lar arasında yer almaktadır²⁹. Bu miRNA'nın
düzensiz ekspresyonu, Notch sinyalinde, nöron farklı-
laşması ve aktivasyonunda yer alan diğer genleri he-
defleyerek nöronal gelişimi ve nöral plastisiteyi dü-
zenlediği sinir sistemini etkilemektedir³⁰. miR-124,
medulloblastom ve servikal kanserde düşük ekspres-
yon gösterirken KRK'larda ekspresyon durumu net
bilinmemektedir.

miR-106a, farklı kanserlerde farklı ekspresyon profili
gösterirken KRK'larda onkogenik özelliğe sahiptir^{31,32}.
Çalışma ekibimiz tarafından önceki yıllarda gerçekleştirdiğimiz
araştırmamızda, erken evre KRK'larda miR-106a'nın KRK gelişimi ve kısa sağ kalım ile
ilişkili olduğu bulundu. Mevcut çalışmamızda da miR-
106a normal doku ile karşılaştırıldığında tümör doku-
larda yüksek ekspresyon gösterirken, bu miRNA'nın
yüksek ekspresyonunun nüks ile de ilişki olduğu belir-
lenmiştir. Çalışmamızla benzer olarak Liu H ve ark.
Yaptıkları çalışmada miR-106'nın KRK'larda nüks
gelişimine katkı sağladığını hasta-tabanlı ve in-vitro
çalışmalar ile göstermiştir³³. Mevcut çalışmamızda
miR-106a ekspresyonunun MSI-H tümörlerde, MSS
ve MSI-L tümörlere göre istatistiksel olarak anlamlı
arttığı şekilde belirlendi. Literatürde MSI durumunda
miR-106a ekspresyonunda anlamlı değişim saptayan
bir çalışma bulunmamaktadır.

Sporadik KRK'larda MSI frekansı toplumlar arasında
farklılık göstermektedir. Türkiye'de bu oran ise bilin-
memektedir. Bununla birlikte, MSI ve MSS durumları-
nda miRNA'ların ekspresyon değişimleri de etnik
köken ve coğrafyaya göre değişiklik gösterdiği için
literatürde çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Gerçek-
leştirdiğimiz çalışmada sporadik KRK'larda MSI

frekansı %23.8 olarak belirlenirken, miR-106a'nın
MSI-H tümörlerde yüksek eksprese olduğu ve bu
durumun nüks oluşumuna katkı sağladığı belirlendi.

Çalışmamız sınırlı sayıda hastadan oluşan retrospektif
bir çalışma olmasına rağmen Türk popülasyonunda
sporadik oluşan KRK tümörlerinde MSI görülme
sıklığının ve MSI durumunda miRNA değişimlerinin
belirlendiği ilk çalışmadır. Bununla birlikte miR-
106a'nın MSI-H tümörlerde prognostik önemini gös-
teren ve bu tümörlerde miR-106a'nın teröpatik bir
hedef olabileceği kullanılabileceğine dair katkı sağla-
yan ilk çalışmadır.

Günümüzde MSI tümörlerinin görülme sıklığı, prog-
noza etkisi ve bu tümörlerde uygulanması gereken
tedavi protokolleri net olarak ortaya konmamıştır. Son
çalışmalarda MSI ve özellikle MSI-H tümörlerde
immünoterapinin kullanılabilişliğini göstermektedir.
Pembrolizumab MSI tümörlerde kullanılan en yaygın
immünoterapi ilacıdır ancak bu ilaca karşı henüz yük-
sek başarı oranları gözlenememektedir. Özellikle MSI
tümörlerde 5FU tabanlı standart tedaviye de başarı
oranı düşük olduğu için bu tümörlerde yeni teröpatik
hedeflerin tanımlanmasına ve hedeflenmesine ihtiyaç
duyulmaktadır. Çalışmamızda Türk popülasyonuna ait
sporadik KRK'larda MSI görülme sıklığı belirlenmiş
olup bu tümörlerde teröpatik hedef olabilecek miR-
NA'lar araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda miR-
106a'nın MSI ve özellikle MSI-H tümörlerde yüksek
eksprese olduğu, bu miRNA'nın yüksek ekspresyonu-
nun nüks ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. İleri analiz-
ler gerekmele birlikte çalışmamızda miR-106a'nın
özellikle MSI genotipine sahip KRK tümörlerinde
hedefe yönelik tedavide kullanılabilecek teröpatik bir
hedef olabileceği belirlenmiştir. miR-106a'nın hedef-
lenmesi ile MSI alt grubuna sahip KRK'larda yeni ve
yüksek başarı oranına sahip tedavi protokollerinin
oluşturulabilmesine imkan sağlayabileceği öngörü-
lmektedir.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik

Araştırmalar Etik Kurulu

Onay Tarihi: 17.01.2012

Karar No: 2012-02/20

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikri Tasarım: B.T., E.O., T.Y., Ö.Y., Ö.K.; Veri Toplama ve
İşleme: S.A.A., F.A., O.I., N.U.; Analiz ve verilerin değer-
lendirilmesi: M.M., Ç.T., S.A.A., F.A., B.T.; Makalenin önemli
bölümlerinin yazılması: S.A.A., B.T., F.A., E.O.

Destek ve Teşekkür Beyanı:

Bu makalede yer alan çalışmalar KUAP(T)-2014/35 nolu proje
kapsamında Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler
Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Siegel R., Miller KD, Fedewa SA, Ahnen DJ, Meester RGS, Barzi A, Jemal A (2017) Colorectal cancer statistics, CA A Cancer J Clin. 67; 177–193.
2. Siegel, R. L., Miller, K. D. & Jemal, A. Cancer Statistics, (2017).CA Cancer J. Clin. 67,7–30.
3. Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, Starling N. Colorectal cancer. Lancet 2010; 375: 1030–1047.
4. Marisa L, de Reynies A, Duval A, et al. Gene Expression Classification of Colon Cancer into Molecular Subtypes: Characterization, Validation, and Prognostic Value. PLoS Med 2013;10:e1001453.
5. Fearon ER and Vogelstein B: A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 1990;61:759-767.
6. Becht E, de Reynies A, Giraldo NA, et al. Immune and stromal classification of colorectal cancer is associated with molecular subtypes and relevant for precision immunotherapy. Clin Cancer Res. 2016;22:4057-4066.
7. De la Chapelle A (2003) Microsatellite instability. The New England journal of medicine 349: 209–210.
8. Baudrin LG, Deleuze JF, How-Kit A. Molecular and computational methods for the detection of microsatellite instability in cancer. Front. Oncol. 2018;8:621.
9. Carr PR, Alwers E, Bienert S, Weberpals J, Kloor M, Brenner H, Hoffmeister M. Lifestyle factors and risk of sporadic colorectal cancer by microsatellite instability status: a systematic review and meta-analyses. Ann. Oncol. 2018;4:825–834.
10. Lu Y, Soong TD, Elemento O. A novel approach for characterizing microsatellite instability in cancer cells. PLoS One 2013;8(5):e63056.
11. Zaanani A, Taieb J. Predictive and prognostic value of MSI phenotype in adjuvant colon cancer: Who and how to treat? Bull Cancer. 2019;106(2):129-136.
12. Huang Z, Chen X, Liu C, Cui L. The Clinical Significance of Microsatellite Instability in Precision Treatment. Methods Mol Biol. 2020;2204:33-38.
13. Saridakis Z, Souglakos J, Georgoulas V. Prognostic and predictive significance of MSI in stages II/III colon cancer. World J Gastroenterol. 2014 Jun 14;20(22):6809-14.
14. Sakimoto T, Chika N, Suzuki O, Ishibashi K, Tachikawa T, Akagi K, Eguchi H, Okazaki Y, Ishida H. Evaluation of BRAF V600E Mutations in High-Level Microsatellite Instability (MSI-H) Colon Cancer - Comparison Between Genetic Testing and Immunohistochemical Staining. Gan To Kagaku Ryoho. 2016 Nov;43(12):1693-1695.
15. Siskova A, Cervena K, Kral J, Hucl T, Vodicka P, Vymetalkova. Colorectal Adenomas-Genetics and Searching for New Molecular Screening Biomarkers. Int J Mol Sci. 2020 May 5;21(9):3260.
16. Farazi TA, Hoell JI, Morozov P, Tuschl T. MicroRNAs in human cancer. Adv. Exp. Med. Biol. 2013;774:1–20.
17. Hussien BM, Hidayat HJ, Salihi A, Sabir DK, Taheri M, Ghafouri-Fard S. MicroRNA: A signature for cancer progression. Biomed Pharmacother. 2021 Mar 23;138:111528.
18. Pan G, Liu Y, Shang L, Zhou F, Yang S. EMT-associated microRNAs and their roles in cancer stemness and drug resistance. EMT-associated microRNAs and their roles in cancer stemness and drug resistance. Cancer Commun (Lond). 2021 Mar;41(3):199-217.
19. Ak S, Tunca B, Tezcan G, Cecener G, Egeli U, Yilmazlar T, Ozturk E, Yerci O. MicroRNA expression patterns of tumors in early-onset colorectal cancer patients. J Surg Res. 2014 Sep;191(1):113-22.
20. Brînzan C, Aşchie M, Cozaru G, Dumitru E, Mitroi A. The diagnostic value of miR-92a, -143, and -145 expression levels in patients with colorectal adenocarcinoma from Romania. Medicine (Baltimore). 2020 Aug 28;99(35):e21895.
21. Bai JW, Xue HZ, Zhang C. Down-regulation of microRNA-143 is associated with colorectal cancer progression. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2016; 20 (22): 4682-4687.
22. Jay C, Nemunaitis J, Chen P, et al. miRNA profiling for diagnosis and prognosis of human cancer. DNA Cell Biol. 2007; 26: 293–300.
23. Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. Cell Res 2008; 18: 997–1006.
24. Liu J, Chen Z, Xiang J, and Gu X. DNA methylation mediated silencing of microRNA-145 is a potential prognostic marker in patients with lung adenocarcinoma. Sci Rep. 2015;5:16901.
25. Orosz E, Kiss I, Gyöngyi Z, Varjas T. Expression of Circulating miR-155, miR-21, miR-221, miR-30a, miR-34a and miR-29a: Comparison of Colonic and Rectal Cancer. In Vivo. 2018 Nov-Dec;32(6):1333-1337.
26. Yamamoto H, Adachi Y, Taniguchi H, Kunimoto H, Noshio K, Suzuki H, Shinomura Y. Interrelationship between microsatellite instability and microRNA in gastrointestinal cancer. World J Gastroenterol. 2012 Jun 14;18(22):2745-55.
27. Valeri N, Gasparini P, Fabbri M, Braconi C, Veronese A, Lovat F, Adair B, Vannini I, Fanini F, Bottoni A, Costinean S, Sandhu SK, Nuovo GJ, Alder H, Gafa R, Calore F, Ferracin M, Lanza G, Volinia S, Negrini M, McIlhatton MA, Amadori D, Fishel R, Croce CM. Modulation of mismatch repair and genomic stability by miR-155. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Apr 13;107(15):6982-7.
28. Yamamoto H, Imai K. Microsatellite instability: an update. Arch Toxicol. 2015 Jun;89(6):899-921.
29. Qin Z, Liu X. miR-124, a potential therapeutic target in colorectal cancer. Onco Targets Ther. 2019 Jan 22;12:749-751.
30. Silber J, Hashizume R, Felix T, Hariono S, Yu M, Berger MS, Huse JT, VandenBerg SR, James CD, Hodgson JG, Gupta N. Expression of miR-124 inhibits growth of medulloblastoma cells. Neuro Oncol. 2013 Jan;15(1):83-90.
31. Ruan F, Wang YF, Chai Y. Diagnostic Values of miR-21, miR-124, and M-CSF in Patients With Early Cervical Cancer. Technol Cancer Res Treat.
32. Silva CMS, Barros-Filho MC, Wong DVT, Mello JBH, Nobre LMS, Wanderley CWS, Lucetti LT, Muniz HA, Paiva IKD, Kuasne H, Ferreira DPP, Cunha MPSS, Hirth CG, Silva PGB, Sant'Ana RO, Souza MHL, Quetz JS, Rogatto SR, Lima-Junior RCP. Circulating let-7e-5p, miR-106a-5p, miR-28-3p, and miR-542-5p as a Promising microRNA Signature for the Detection of Colorectal Cancer. Cancers (Basel). 2021 Mar 24;13(7):1493.
33. Liu Z, Qin Y, Dong S, Chen X, Huo Z, Zhen Z. Overexpression of miR-106a enhances oxaliplatin sensitivity of colorectal-cancer through regulation of FOXQ1.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

COVID-19 Pandemisinde Elektif Cerrahi Uygulanacak Hastaların Preoperatif Anksiyete Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Ayşe Neslihan BALKAYA, Ümran KARACA, Canan YILMAZ, Filiz ATA

SBÜ Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, Bursa.

ÖZET

COVID-19 önlemleri alınarak elektif cerrahilerin yeniden başlatıldığı pandemi sürecinde elektif cerrahi uygulanacak hastaların preoperatif anksiyete düzeylerinin ve anksiyete seviyelerini etkileyen faktörlerin değerlendirilmesi amaçlandı. 18-75 yaş grubu elektif cerrahi uygulanacak 450 hasta dahil edildi. Yazılı onamları alınan hastalar preoperatif dönemde değerlendirildi. Demografik verileri, eğitim durumu, medikal geçmişi, anestezi ve cerrahi deneyimleri sorgulandı. COVID-19 hakkında soruların olduğu anket formu ile yirmişer maddelik durumluk ve sürekli kaygı ölçeklerinden oluşan Spielberger Durumluk-Sürekli Anksiyete Ölçeği (STAI) hastalar tarafından dolduruldu. Durumluk (STAI-I) ve sürekli (STAI-II) kaygı ölçeklerinde büyük puan yüksek anksiyete seviyesini, küçük puan ise düşük anksiyete seviyesini belirtir. 49.26±15.51 yaş ortalaması olan hastaların ortalama anksiyete düzeyi STAI-I'de 41.46±8.43, STAI-II'de 37.79±9.73 olarak bulundu. Opere edilen kliniklere göre hastaların STAI-I puanları orta düzeyde anksiyete, STAI-II puanları ise hafif düzeyde anksiyete ile uyumluydu. Hastaların yaşı ile STAI-I arasında negatif yönde korelasyon görüldü ($r=-0.52$, $p=0.136$), STAI-II'de ise yaş ile pozitif korelasyon saptandı ($r=0.22$, $p=0.321$). Cinsiyet, eğitim durumu, geçirilmiş ameliyat öyküsü ve anestezi deneyimi açısından değerlendirildiğinde preoperatif STAI-I ve II puanlarında farklılık saptanmadı. COVID-19 pandemisi hakkında yeterli bilgi sahibi olmadığını düşünen hastaların (%17,6) STAI-I ve STAI-II puanları anlamlı yüksekti ($p=0.000$, $p=0.001$). Ailesinde geçirilmiş COVID-19 enfeksiyonu bulunan hastaların STAI-I ve II puanları ile diğer hastaların puanları benzerdi ($p=0.76$, $p=0.91$). Hastane yatışında COVID-19 ile enfekte olma tedirginliği bulunan hastaların (287 hasta, %63.8) STAI-I puanı hastanede COVID-19'a yakalanmaktan korkmayanlara (163 hasta, %36.2) göre yüksek bulundu ($p=0.05$). Postoperatif dönemde hastane yatışı sırasında COVID-19 ile enfekte olan hasta olmadı. Elektif cerrahi geçirecek hastalarda COVID-19 pandemisinde preoperatif anksiyete düzeyleri artmıştır. Preoperatif dönemde hastalara COVID-19 ile ilgili rutin bilgilendirme yapılmasının ve alınacak önlemlerden bahsedilmesinin anksiyete düzeyini azaltmada faydalı olacağı düşüncesindeyiz

Anahtar Kelimeler: COVID-19. Pandemi. Preoperatif anksiyete. STAI.

Evaluation of Preoperative Anxiety Levels of Patients Undergoing Elective Surgery in COVID-19 Pandemic

ABSTRACT

We aimed to evaluate the pre-operative anxiety levels of patients and the factors affecting their anxiety levels who will undergo elective surgery during the pandemic process in which elective surgeries are restarted by taking COVID-19 precautions. 450 patients between 18-75 years old, will undergo elective surgery were included in the study. Patients, whose written consents were obtained, were evaluated in the preoperative period. The demographic data, educational status, medical history, anesthesia and surgical experiences of the patients were questioned. A questionnaire containing questions about COVID-19 and the Spielberger State-Trait Anxiety Inventory (STAI) consisting of twenty-item state and trait anxiety scales were filled in by the patients. On the state (STAI-I) and trait (STAI-II) anxiety scales, a large score indicates a high level of anxiety, and a small score indicates a low level of anxiety. The average anxiety level of the patients with a mean age of 49.26 ± 15.51 years was found as 41.46 ± 8.43 in STAI-I and 37.79 ± 9.73 in STAI-II. According to the type of operation, STAI-I scores of the patients were compatible with moderate anxiety, and STAI-II scores were compatible with mild anxiety. There was a negative correlation between the age of patients and STAI-I scores ($r=-0.52$, $p=0.136$). and a positive correlation was found between STAI-II and the age of patients ($r=0.22$, $p=0.321$). No difference was found in preoperative STAI-I and II scores when evaluated in terms of gender, educational status, history of previous surgery and anesthesia experiences. STAI-I and STAI-II scores were significantly higher in the patients (17.6%) that thought they didn't have enough information about the pandemic ($p=0.000$, $p=0.001$). The STAI-I and II scores of the patients with a family history of COVID-19 infection were similar with the other patients ($p=0.76$, $p=0.91$). The STAI-I scores of the patients (287 patients, 63.8%) who were worried about being infected with COVID-19 during hospitalization were found to be higher than those who were not afraid of infected with COVID-19 (163 patients, 36.2%) ($p=0.05$). There was no patient infected with COVID-19 during hospitalization. Preoperative anxiety levels have increased in patients undergoing elective surgery in COVID-19 pandemic. We think that informing patients about COVID-19 routinely and talking about the precautions to be taken in the preoperative period will be beneficial in reducing their anxiety levels.

Key Words: COVID-19. Pandemic. Preoperative anxiety. STAI.

Geliş Tarihi: 12.Nisan.2021
Kabul Tarihi: 17.Ağustos.2021

Dr. Ayşe Neslihan BALKAYA
Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, Bursa.
Tel.: 0544 871 53 43
E-posta: aynesbalkaya@gmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Ayşe Neslihan BALKAYA: 0000-0001-8031-6264
Ümran KARACA: 0000-0001-5922-2300
Canan YILMAZ: 0000-0002-6626-3626
Filiz ATA: 0000-0003-2472-1681

Hastalık, hastaneye yatış, ameliyat kararı gibi durumlar hem psikolojik hem de fizyolojik yönden bireyleri etkiler. Hastaneye yatış ve tedavi durumunda hastalarda %10-30 oranında anksiyete görülürken cerrahi girişim kararı verilen hastalarda preoperatif dönemde bu oran %80'e kadar yükselebilmektedir¹. Anksiyetede korku, endişe, gerginlik ve sinirlilik şeklinde emosyonel bulgular hissedilirken, sempatik, parasempatik ve endokrin sistem etkilendiğinden terleme, bulantı-kusma, ishal, titreme, sıcak basması, takipne, taşikardi ve hipertansiyon gibi bulgular gözlenebilir^{2,3}. Preoperatif anksiyete düzeyi hastaların kişilik yapılarına bağlı olabileceği gibi geçireceği cerrahi girişimin tipine, önceden geçirilmiş hastalık ve/veya cerrahi işlem deneyimlerine, postoperatif ağrı, sakatlık ya da ölüm korkusu gibi durumlara bağlı olarak değişkenlik gösterir^{4,5}.

Aralık 2019 tarihinde Çin'de başlayan ve hızla diğer ülkelere yayılan SARS-CoV-2 enfeksiyonu (COVID-19) Dünya Sağlık Örgütü tarafından 11 Mart 2020 tarihinde tüm dünyada pandemi olarak kabul edilmiştir. İnsandan insana hızla bulaşan, özellikle de ciddi solunum yolları tutulumu yapan bu virüs mortal seyredebilmektedir. COVID-19 pandemisinin neden olduğu yüksek ölüm oranları, bulaşma şekli ve tedavisi hakkında net bilgi sahibi olamamak, virüsün kontrol altına alınamaması ve potansiyel risk altında olmak bireylerde korku, endişe yaratmakta ve stres düzeylerini arttırmaktadır. COVID-19 pandemisine karşı toplumun %16-28'inde anksiyete ve depresyon semptomlarının olduğu ve bireylerde uyku bozuklukları geliştiği bildirilmektedir⁶.

Ülkemizde de tüm dünyada olduğu gibi pandemi sebebiyle sağlık sisteminde değişiklikler olmuş, elektif cerrahi operasyonlar öncelikle ertelenmiş, vaka sayılarının azalması sonrası, ameliyathanelerde COVID-19 önlemleri alınarak elektif cerrahiler yeniden başlatılmıştır. Çalışmanın hipotezi COVID-19 pandemisinde elektif cerrahi geçirecek hastaların preoperatif anksiyete düzeylerinin artmış olmasıdır. Bu çalışmanın amacı ise pandemi sürecinde elektif cerrahi uygulanacak hastaların preoperatif anksiyete düzeylerinin ve anksiyete seviyelerini etkileyen faktörlerin değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem

SBÜ Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu onayı (24/06/2020, 2011-KAEK-25) ve hastaların yazılı onamları alınarak 22 Haziran-07 Ağustos 2020 tarihlerinde elektif cerrahi geçirecek 18-75 yaş arası, okuma yazma bilen, psikiyatrik hastalığı olmayan, psikiyatrik ilaç kullanmayan ve çalışmaya katılmayı kabul eden 450 hasta çalışmaya dahil edildi. Elektif cerrahi uygulanacak hastalar preoperatif dönemde anestezi polikliniğinde ya da cerrahi servise değerlendirildi. Demografik veriler, medikal geçmiş, anestezi-cerrahi deneyimleri ve COVID-19 hakkında soruların olduğu 15 soruluk anket formu ile Spielberger Durumluk-Sürekli Anksiyete Ölçeği I ve II hastalar tarafından dolduruldu. 15 soruluk anket formunda COVID ile ilgili hastalığı geçirme, yakalanma korkusu, bilgi düzeyi ile ilişkili sorular yöneltildi.

Spielberger Durumluk- Sürekli Anksiyete Ölçeği (STAI):

STAI, Spielberger ve arkadaşları tarafından 1970'de geliştirilmiş, Öner ve ark. tarafından 1983'te Türkiye'ye uyarlanarak geçerlilik ve güvenilirlik çalışması yapılmış bir ölçektir⁷. STAI yirmişer maddelik durumluk (STAI-I) ve sürekli (STAI-II) kaygı ölçeklerinden oluşan "Likert tipi kendini değerlendirme" ölçeğidir (b). STAI-I'de anksiyete "(1) hiç, (2) biraz, (3) çok ve (4) tamamıyla" şeklinde puanlanırken, STAI-II'de ise (1) hemen hiçbir zaman, (2) bazen, (3) çok zaman ve (4) hemen her zaman olarak puan almaktadır. STAI'de iki tür ifade bulunur; doğrudan ifadeler olumsuz duyguları, tersine dönmüş ifadeler ise olumlu duyguları gösterir. STAI-I'deki tersine dönmüş ifadeler 1,2,5,8,10,11,15,16,19 ve 20. maddelerken STAI-II'deki tersine dönmüş ifadeler ise 21,26,27,30,33,36 ve 39 uncu maddelerdir. Doğrudan ifadeler için elde edilen toplam ağırlık puanından ters ifadelerin toplam ağırlık puanı çıkarılır. Elde edilen sonuca değişmeyen bir değer eklenir, bu değer STAI-I için 50, STAI-II için 35'dir. En son elde edilen değer anksiyete puanıdır ve 20-80 arasında değişiklik gösterir. Büyük puan yüksek anksiyete seviyesini, küçük puan ise düşük anksiyete seviyesini belirtir (Tablo I).

Pandemide Preoperatif Anksiyete

Tablo I. Durumluk Sürekli Kaygı Ölçeği'nin puanına göre kaygı düzeyinin sınıflanması

STAI	Puan	Kaygı Düzeyi
	0-19	Kaygı yok
	20-39	Hafif düzeyde kaygı
	40-59	Orta düzeyde kaygı
	60-79	Ağır düzeyde kaygı
	>80	Panik düzeyde kaygı

STAI: Durumluk Sürekli Kaygı Ölçeği

İstatistiksel analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 23.0 programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma, kategorik yapıdaki veriler için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov Testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uyan değişkenlerin karşılaştırılmasında Student t test, normal dağılıma uymayan çoklu karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi yapıldı. Bağımlı değişkenlerin analizinde paired samples t testi kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirildi ve p<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya yaş ortalaması 49.26±15.51 olan toplam 450 hasta katıldı. Hastaların demografik verileri ve eğitim durumları Tablo II'de verildi. Çalışmaya en yoğun olarak Ortopedi ve Travmatoloji (%16,9) ile Beyin ve Sinir Cerrahisi (%14) kliniklerinin hastalarından katılım sağlandı, diğer kliniklerin katılım oranları Tablo III'de verildi.

Tablo II. Hastaların Sosyo-demografik Verileri ve Eğitim Durumları

	n=450 (%)
Cinsiyet (K/E)	191/259 (%42.4 / %57.6)
Yaş (yıl)	49.26±15.51
Kronik hastalık (Evet/Hayır)	191/259 (%42.4 / %57.6)
Düzenli ilaç kullanımı (Evet/Hayır)	189/261 (%42 / %58)
Sigara tüketimi (Evet/Hayır)	165/285 (%36.7 / %63.3)
Geçirilmiş ameliyat (Evet/Hayır)	326/124 (%72.4 / %27.6)
Anestezi tecrübesi (Evet/Hayır)	317/133 (%70.4 / %29.6)
Eğitim	
İlkokul	223 (%49.6)
Ortaokul	100 (%22.2)
Lise	77 (%17.1)
Üniversite	50 (%11.1)

K: Kadın, E: Erkek, Frekans, ort ± sd, %

Tablo III. Cerrahi Klinikler ve Cerrahi Girişim Türleri

CERRAHİ KLİNİK	CERRAHİ GİRİŞİM TÜRÜ
Ortopedi ve Travmatoloji (n=76, %16.9)	implant çıkarımı (12), küçük kemik cerrahisi (29), büyük kemik cerrahisi (8), total diz protezi (8), artroskopisi (18), amputasyon (1)
Beyin ve Sinir Cerrahisi (n=63, %14)	vertebra cerrahisi (48), ventriküloperitoneal shunt takılması (3), kraniyotomi (12)
Üroloji (n=89, %19.8)	perkütan nefrolitotomi (28), üreteroskopi (30), transüretral rezeksiyon-prostat/ mesane (31)
Genel Cerrahi (n=80 %17.8)	gastrointestinal sistem onkolojik cerrahi (19), tiroid cerrahisi (4), laparoskopik kolesistektomi (21), inguinal-umbilical herni (36)
Kardiyovasküler Cerrahi (n=81, %18.0)	kalp kapak cerrahisi (11), koroner arter bypass greft (57), karotis endarterektomi (13)
Kadın Hastalıkları ve Doğum (n=31, %6.9)	myomektomi (19), total abdominal histerektomi + bilateral salpingoofektomi (12)
Diğer branşlar	
Göz Hastalıkları (n=11, %2.4)	vitrektomi (11)
Göğüs Cerrahi (n=11%2.4)	VATS (11)
Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi (n=8, %1.8)	mammoplasti (8)

VATS: Video-Assisted Thoracic Surgery

Frekans,%

Hastaların ortalama anksiyete düzeyi STAI-I'de 41.46±8.43, STAI-II'de 37.79±9.73 olarak bulundu. Opere edilen kliniklere göre hastaların STAI-I puanları orta düzeyde anksiyete ile uyumlu iken STAI-II puanları ise hafif düzeyde anksiyete ile uyumluydu. Beyin ve Sinir Cerrahisi, Göz Hastalıkları, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi, Göğüs Cerrahi STAI-I ve II puanları arasında fark bulunmazken Ortopedi ve Travmatoloji, Üroloji, Genel Cerrahi, Kardiyovasküler Cerrahi, Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniklerinde opere olacak hastaların STAI-I ve II puanları arasında anlamlı fark bulundu (p<0.001) (Tablo IV).

Tablo IV. Kliniklere göre STAI-I ve STAI-II Puanlarının Karşılaştırılması

	STAI-I	STAI-II	P değeri
Ortopedi ve Travmatoloji	40.08±7.55	36.67±9.90	P=0.002**
Beyin ve Sinir Cerrahisi	41.19±7.55	39.50±9.90	P=0.108
Üroloji	42.13±9.40	39.08±10.23	P=0.000**
Genel Cerrahi	42.50±9.12	39.50±9.00	P=0.004*
Kardiyovasküler Cerrahi	41.51±8.24	35.08±9.44	P=0.000**
Kadın Hastalıkları ve Doğum	39.96±7.99	34.96±8.08	P=0.008*
Diğer branşlar	41.26±8.05	38.60±9.66	P=0.185

STAI, State Trate Anxiety Inventory, Durumluk- Sürekli Anksiyete Ölçeği, Paired- sample test, ort ± sd, p değeri, *p < 0.05 , **p< 0.001

Hastaların yaşı ile STAI-I arasında negatif yönde korelasyon ($r=-0.52$, $p=0.136$), STAI-II'de ise yaş ile pozitif korelasyon saptandı ($r=0.22$, $p=0.321$). Cinsiyet, geçirilmiş ameliyat öyküsü ve anestezi deneyimi açısından değerlendirildiğinde STAI-I ve II puanlarında farklılık saptanmadı. Çalışmaya en yoğun olarak ilkökul mezunu (%49,6) hastaların katıldığı görüldü (Tablo II). Eğitim düzeylerine göre STAI-I ve II puanları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark ve anlamlı bir ilişki saptanmadı. Medikal geçmişinde anestezi ve cerrahi işlem deneyimi olan hastaların STAI-I ve STAI-II puanları deneyimi olmayan hastalarla benzer bulundu. Anestezi deneyiminde sıkıntı (postoperatif şiddetli bulantı-kusma, geç uyanma, anestezi altında farkındalık, zor entübasyon, boğaz ağrısı gibi) yaşayanların STAI-I ve STAI-II puanları sıkıntı yaşamayan hastalarla benzer bulundu.

Tablo V. Cinsiyet, Eğitim Durumu, Medikal Öykü ve COVID-19 Pandemisine Göre STAI-I ve II Puanlarının Karşılaştırılması

	STAI-I	STAI-II
Cinsiyet		
Kadın	41.55 ± 8.46	37.74 ± 9.71
Erkek	41.40 ± 8.42	37.82 ± 9.70
	p=0.85	p=0.93
Eğitim Durumu		
İlkokul	42.74±8.53	38.08±9.98
Ortaokul	40.80±8.11	38.14±9.22
Lise	39.74±8.38	36.10±10.07
Üniversite	39.74±7.95	38.42±9.05
	p=0.69	p=0.47
Geçirilmiş ameliyat		
Evet	41.54 ± 8.55	37.67± 10.22
Hayır	41.27±8.11	38.11± 8.34
	p=0.75	p=0.63
Anestezi tecrübesi		
Evet	41.39 ± 8.62	37.86±10.12
Hayır	41.63± 8.00	37.61± 8.70
	p=0.78	p=0.80
Anestezi sırasında sıkıntı		
Evet	44.07± 3.37	38.16± 10.00
Hayır	41.31± 8.47	37.48± 9.60
	p=0.09	p=0.63
COVID-19 için yeterli bilgi		
Evet	40.84±8.51	37.14± 9.55
Hayır	44.63± 7.34	40.18±10.00
	p=0.000**	p=0.001**
Yakınlarında COVID-19 öyküsü		
Evet	42.00± 12.12	39.14± 11.50
Hayır	41.46± 8.38	37.77±9.71
	p=0.91	p=0.76
COVID-19 için sosyal tedirginlik		
Evet	41.57± 8.28	38.05± 9.93
Hayır	41.23± 8.70	37.23±9.60
	p=0.68	p=0.41
Hastanede olmanın COVID-19 tedirginliği		
Evet	38.44± 9.93	41.56± 8.21
Hayır	36.63± 9.29	41.30± 8.82
	p=0.05*	p=0.75

STAI, State Trate Anxiety Inventory, Durumluk- Sürekli Anksiyete Ölçeği, ort ± sd, p değeri, *p < 0.05, **p< 0.001, Student - t Testi, Kruskal Wallis testi

COVID-19 pandemisini güncel olarak takip etmeyen, bu konuda yeterli bilgi sahibi olmadığını düşünen hastaların (%17,6) STAI-I ve STAI-II puanları anlamlı yüksekti ($p=0.000$, $p=0.001$). 7 hastanın ailesi ya da yakınlarında geçirilmiş COVID-19 enfeksiyonu mevcuttu. Bu hastalarda STAI-I 42.0±12.12, STAI-II 39.14±11.50 olarak bulundu. Ailesinde ya da yakın çevresinde geçirilmiş COVID-19 enfeksiyonu bulunan hastaların STAI-I ve II puanları ile diğer hastaların puanları arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.76$, $p=0.91$). Çalışmaya COVID-19 enfeksiyonu geçirmiş hasta katılımı olmadı. Hastane yatışında COVID-19 ile enfekte olma tedirginliği bulunan hastaların (287 hasta, %63,8) STAI-I puanı hastanede COVID-19'a yakalanmaktan korkmayanlara (163 hasta, %36,2) göre yüksek bulundu ($p=0.05$) (Tablo V). Postoperatif dönemde hastane yatışı sırasında COVID-19 ile enfekte olan hasta olmadı.

Tartışma

COVID-19 pandemisi sürecinde elektif cerrahi uygulanacak hastaların preoperatif anksiyete düzeylerinin araştırıldığı çalışmamızda cerrahi kliniklere göre preoperatif anksiyete düzeyinde farklılık saptanmadı, tüm hastalarda orta dereceli preoperatif anksiyete olduğu görüldü. COVID-19 pandemisini güncel olarak takip etmeyen, bu konuda yeterli bilgi sahibi olmadığını düşünen hastaların hem durumluk hem de sürekli anksiyete puanları anlamlı yüksek bulundu. Ailesinde ya da yakın çevresinde geçirilmiş COVID-19 enfeksiyonu bulunan hastaların preoperatif anksiyete düzeyinin diğer hastalarla benzer olduğu görüldü. Hastane yatışında COVID-19 ile enfekte olma tedirginliği bulunan hastaların preoperatif anksiyete düzeyi hastanede COVID-19'a yakalanmaktan korkmayanlara göre yüksek bulundu.

Modern cerrahi tekniklerinin gelişmesi ve anestezinin daha güvenli hale gelmesine rağmen cerrahi uygulanacak hastaların çoğu preoperatif dönemde anksiyete yaşar. Preoperatif anksiyete sık görülen, hasta iyileşmesini ve taburculuğu geciktiren, hasta memnuniyetini azaltan bir durumdur ve birçok faktörden etkilenir. Preoperatif anksiyete değerlendirmelerinde en sık STAI ölçeği kullanılmaktadır. STAI-I Durumluk Anksiyete Ölçeği, belirli bir anın stresine bağlı olarak değişebilen anksiyete durumunu, STAI-II Sürekli Anksiyete Ölçeği ise kişinin genel anksiyetesini ve bunu etkileyen kişilik eğilimini yansıtır^{7,8}. Çalışmamızda COVID-19 pandemisi sürecinde preoperatif anksiyete düzeyleri STAI ölçeği kullanılarak değerlendirildi. Çalışmamızda hastaların preoperatif durumluk anksiyete düzeyi orta, sürekli anksiyete düzeyi ise hafif olarak bulundu. Preoperatif anksiyete puanları literatürle uyumlu olarak bulundu, hastalarda orta düzeyde preoperatif anksiyete olduğu görüldü⁸⁻¹⁰.

Pandemide Preoperatif Anksiyete

Preoperatif anksiyete her yaşta, cinsiyette ve sosyo-kültürel sınıfta görülebilmektedir ancak cinsiyet, yaş, eğitim durumu ve geçmiş medikal deneyimler hastaların anksiyete seviyelerini etkileyebilmektedir. İlerleyen yaş ile birlikte kazanılan hayat tecrübesi, çıkan sağlık sorunlarına bağlı olarak sağlık kuruluşlarına başvuruda artış olması ileri yaş bireylerde hastalık, cerrahi işlem gereksinimi gibi durumlara adaptasyonun kolay olmasını sağlayabilir. Daha kadenci bir bakış açısına sahip bazı yaşlılar ise hastalık varlığı, cerrahi işlem gereksinimi gibi stresli durumları daha kolay kabul edilebilir¹¹. Genç popülasyonda ise iletişim araçlarının daha sık kullanımı ve sağlık alanında yaşanan olumsuz olaylardan haberdar olmaları, iş ve ailelerine karşı daha çok sorumluluk hissetmeleri anksiyetenin yüksek olmasına sebep olabilir¹². Sun ve ark.'larının yaptığı çalışmada 40 yaş altındaki hastalarda preoperatif anksiyete prevalansının arttığı bildirilmiştir¹³. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak yaş ile durumluk anksiyete puanları arasında negatif korelasyon saptandı. Hastaların yaşı arttıkça preoperatif dönemde anksiyetenin azaldığı görüldü. İlerleyen yaşla birlikte gelişen fonksiyonel kısıtlılıklar, kronik hastalıklar, bozulmuş yaşam kalitesi, ölüm korkusu, eş-akraba kaybı gibi durumlar arttığı için ileri yaş bireylerde anksiyete artışı gözlenebilir, bizim çalışmamızda da yaş ilerledikçe bireylerde sürekli anksiyetenin arttığı görülmüştür.

Literatürde preoperatif anksiyete düzeyinin cinsiyet ile ilişkisi incelendiğinde, kadınlarda erkeklere göre daha yüksek anksiyete oranlarının olduğu görülmüştür^{14,15}. Kadın cinsiyette anksiyete ve depresyon geliştirme riskinin daha yüksek olması ve kadınların korkularını, duygu durum değişikliklerini daha kolay ifade edebilmelerine bağlanır. Bazı çalışmalarda ise cinsiyetin preoperatif anksiyete düzeyini etkilemediği görülmüştür^{9,12}. Bizim çalışmamızda da preoperatif anksiyete değerlendirilmesinde cinsiyet açısından fark saptanmamıştır, pandemi sürecinde hastane yatışlarında hastalarda genel olarak yüksek oranda COVID-19 ile enfekte olma korkusu bulunmasının bu durumu açıklayabileceği düşünüldü.

Hastaların eğitim durumları preoperatif anksiyete düzeylerine farklı şekillerde yansiyabilmektedir. Bazı çalışmalarda artan eğitim düzeyi ile birlikte preoperatif anksiyetenin azaldığı bildirilmiştir. Eğitim düzeyi arttıkça insanların daha çok araştıran ve sorgulayan bireyler haline gelerek her konuda daha bilinçli karar verebilecekleri vurgulanmıştır^{14,16}. Bunun tersi olarak artan eğitim düzeyi ile birlikte anksiyetenin de arttığını bildiren, bazı konularda detaylı bilgi sahibi olmanın anksiyeteyi arttırabileceğine dikkat çeken çalışmalar bulunmaktadır^{17,18}. Ancak eğitim düzeyinin ameliyat öncesi anksiyetenin belirleyicisi olamayacağını bildiren yayınlar da literatürde mevcuttur^{1,19}. Çalışmamızda da preoperatif anksiyete ile eğitim düzeyi arasında ilişki saptanmadı. Pandemi sürecinde hastaneye yatış,

COVID-19 maruziyeti korkusu, cerrahi işlem stresi, kişilik özellikleri gibi birçok faktörün bir arada bulunduğu preoperatif dönemde hasta eğitim düzeyinin preoperatif anksiyetenin bağımlı bir değişkeni olmadığı görüldü.

Anestezi ve cerrahi deneyimine sahip olmak hastaların daha rahat bir preoperatif süreç geçirmelerine yardımcı olabilir. Matthias ve ark. yaptıkları çalışmada önceden deneyimi olan hastaların preoperatif dönemde daha az endişeli olduğunu gözlemlemişlerdir¹⁴. Literatürde anestezi ve cerrahi deneyim öyküsü ile preoperatif anksiyete düzeyi arasında anlamlı ilişkili olmadığını gösteren bazı çalışmalar da mevcuttur^{17,20}. Bu çalışmalara benzer şekilde bizim çalışmamızda da medikal geçmişinde anestezi ve cerrahi deneyimi olan hastalarla deneyim sahibi olmayan hastaların preoperatif anksiyete düzeyleri arasında fark bulunmadı. Kötü anestezi ve cerrahi deneyimler, gelecekteki cerrahi operasyonlarla ilgili daha fazla endişe yaratabilmektedir^{11,21}. Çalışmamızda ise medikal öyküsünde kötü anestezi deneyimi bulunan hastaların durumluk anksiyete düzeyleri, kötü deneyim yaşamayan hastalarla benzer bulundu. Hastaların pandemi sürecinde opere olmaları nedeniyle yaşadıkları bulaş-hastalanma korkusu ve anksiyetelerinin, daha önce yaşadıkları kötü medikal deneyimleri önemsizleştirdiği ya da bu durumu yadsımlarına neden olduğu düşünüldü.

Ameliyat tipi ve ameliyat edecek klinik preoperatif anksiyetenin bir belirleyicisi olarak tanımlanabilir. Literatürde preoperatif anksiyete ve cerrahi prosedürün büyüklüğü ile ilişkili birçok çalışma yapılmıştır^{9,15,22,23}. Cerrahi prosedürün büyüklüğü ve invazivliği arttıkça hastalarda preoperatif anksiyete düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır. Cerrahi prosedürlerin sınıflandırılması, prosedürün uzunluğu, dahil edilen organ ve dokular, cerrahi kan kaybı, cerrahi nedeniyle hastanede kalış süresi gibi çeşitli özellikleri hesaba katar ancak cerrahi prosedürlerin invazivliğine ilişkin tek tip, uluslararası olarak onaylanmış bir sınıflandırma yoktur. Bu sebeple çalışmamızda kliniklere göre cerrahi prosedürlerin büyüklüğü sınıflandırılmamış, sadece kliniklere göre hasta dağılımı yapılarak preoperatif anksiyete bakılmıştır bu da çalışmamızın sınırlılıkları arasında yer almaktadır.

Postoperatif ağrı insidansının fazla olması ve hastalarda postoperatif sakatlık korkusundan dolayı ortopedik cerrahi geçirecek hastalarda preoperatif anksiyete yüksektir²⁴. Yapılan bazı çalışmalarda major girişim planlanan kardiyovasküler cerrahi hastalarında anksiyete sıklığı yüksek bulunmuştur, bu durumun kardiyak sebepli potansiyel ölüm korkusundan olduğu düşünülmektedir^{24,26}. Literatürde batın cerrahisi, ürogenital cerrahi, onkolojik cerrahi, toraks cerrahisi geçiren olgularda preoperatif anksiyete düzeyleri yüksek bulunmuştur^{8,24,27,28}. Kindler ve ark.'larının çalışmasında beyin ve sinir cerrahisi olgularında preoperatif anksiyete düzeyleri diğer branşlardan düşük saptanmıştır²⁸.

Literatürde jinekolojik ve obstetrik cerrahi geçirenlerde anksiyete düzeyi yüksek saptanmış ve bu durum sadece kadın cinsiyetle ilgili bir branş olmasına bağlanmıştır^{20,24}. Çalışmamızda cerrahi kliniklere göre preoperatif anksiyete düzeyinde farklılık saptanmadı. Tüm hastalarda orta dereceli preoperatif anksiyete ve hafif düzeyde sürekli anksiyete olduğu görüldü. Beyin ve sinir cerrahisi, göz hastalıkları, plastik ve rekonstrüktif cerrahi, göğüs cerrahisi hastaları hariç çalışmaya katılan diğer kliniklerin hastalarında durumluk anksiyete ile sürekli anksiyete arasında fark görüldü, bu branşlardaki hastalarda preoperatif süreçte anksiyete düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde arttı. Plastik ve rekonstrüktif cerrahide mammoplasti uygulanacak hastalarda isteğe bağlı, estetik kaygıyla da ilişkilendirilebilecek bir işlem yapılacak olması sebebiyle durumluk anksiyete ile sürekli anksiyete skorları arasında fark görülmüştü. Göz hastalıklarında opere olacak hastaların ise gözü lokal bir organ olarak algılanması ve cerrahi riskin daha düşük olduğunu düşünmeleri sebebiyle preoperatif anksiyetede belirgin artış yaşanmadığı düşünüldü. Preoperatif durumluk anksiyete ile sürekli anksiyete düzeyleri arasında farka rastlanmayan hastalarda bu durum hastaların kişilik yapılarına ve psikolojik durumlarına bağlı olabilir.

COVID-19 pandemisi, yaşamın her yönünü etkileyen ve sosyal dokuyu bozan ciddi etiyolojik, küresel bir sorun oluşturmuştur. Bireyler pandemiler sırasında değişen düzeylerde psikolojik sıkıntı yaşarlar ve bu durum yaygın olarak korku, stres, uyku bozuklukları ve anksiyete şeklinde görülür. Korukçu ve ark'larının COVID-19 korku Ölçeği kullanarak yaptıkları psikometrik çalışmada Türkiye'de COVID-19 için korku düzeyi yüksek bulunmuştur²⁹. Satıcı ve ark'larının yaptıkları çalışmada ise Türkiye'de COVID-19 ile enfekte olma korkusu ile anksiyete ve depresyon gelişimi arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir³⁰. Bizim çalışmamızda kendi sosyal çevrelerinde enfekte olmaktan korkan ve korkmayan hastaların hem durumluk hem de sürekli anksiyete puanları benzer bulundu. Hastaneye yatışta COVID-19 ile enfekte olma korkusu duyanların durumluk anksiyete puanları enfekte olmaktan korkmayan hastalardan yüksekti. Hastane yatışı sırasında COVID-19 ile enfekte olma konusunda endişelenmek, hastaların hiçbiri enfekte olmamasına rağmen, preoperatif dönem durumluk anksiyete düzeyi için güçlü bir faktördür. Hastanelerin hem normal işleyişine devam etmesi hem de COVID-19'lu hastalara bakım vermesi sebebiyle hastaneye yatış COVID-19 bulaşı açısından yüksek risk taşımaktadır. Bu sebeple hastanede yatış sürecinde COVID-19 bulaşına dair korku, preoperatif dönemde hastalarda yoğun anksiyete yaratabilmektedir.

Toplumda COVID-19 hakkında bilgi düzeylerinin artırılması ile bireylerin anksiyete düzeylerinde azalma sağlanabilir. Rakhmanov ve ark'ları yaptıkları

çalışmada COVID-19 ile ilgili bilgi düzeyi arttıkça anksiyete düzeyinde azalma olduğunu bildirmişlerdir³¹. Liu ve ark'larının çalışmasında da prenatal dönemde hamile kadınlarda COVID-19 ile ilgili bilgi düzeyinin artmasının anksiyeteyi azalttığı saptanmıştır³². Bizim çalışmamızda da COVID-19 hakkında yeterli bilgi sahibi olmayan, güncel durumu takip etmeyen hastalarda hem durumluk hem de sürekli anksiyete puanları pandemi sürecini takip ederek bilgi sahibi olanlara göre yüksek bulundu. Çalışmamızda COVID-19 hakkında güncel haberlerin, verilerin takip edilmesinin ve toplumda bilgi düzeyindeki artışın preoperatif anksiyete düzeyini azalttığı görülmüştür. Küresel bir sorun olan COVID-19 pandemisi uluslararası bir halk sağlığı sorunudur. COVID-19 pandemisinde toplumun büyük kısmının sosyal izolasyon ve karantina sürecinde olduğu düşünülürken toplumun bilgilendirmede medya önemli bir rol almıştır. Medyada net ve anlaşılır olarak hastalığın seyri, bulaş şekli, korunma yolları, tedavi şekli gibi bilgilerin verilmesi ile toplumsal anksiyetede azalma sağlanabilir. Hastaneye başvurularda ise sağlık personellerinin COVID-19 hakkında hastalara net ve anlaşılır bilgi vermesi önemlidir. Özellikle hastaların COVID-19 dışındaki sebeplerle hastane başvurularında hastalar için koruyucu hekimlik ön plana çıkmalı, hasta bilgilendirmeleri daha kapsamlı olarak yapılmalıdır.

Sonuç

Elektif cerrahi geçirecek hastalarda COVID-19 pandemisi döneminde preoperatif anksiyete düzeyleri artmıştır. Hastaların preoperatif anksiyete düzeylerinin belirlenerek ilerleyen dönemde anksiyeteyi azaltmak için yeni stratejilerin geliştirilmesi gerekmektedir. Çalışmamızda COVID-19 ile ilgili yetersiz ya da eksik bilgisi olan hastaların preoperatif anksiyete düzeyinin daha fazla olmasından dolayı preoperatif dönemde hastalara COVID-19 ile ilgili rutin bilgilendirme yapılmasının, ameliyathane ve servislerde alınacak önlemlerden bahsedilmesinin anksiyete düzeyini azaltmada faydalı olacağı düşüncesindeyiz.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu.

Onay Tarihi: 24.06.2020

Karar No: 2011-KAEK-25 2020/06-20

Araştırmacı Katkı Beyanı: Fikir ve tasarım: A.N.B., C.Y.; Veri toplama ve işleme: A.N.B., F.A., Ü.K.; Analiz ve verilerin yorumlanması: A.N.B., Ü.K., C.Y.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: A.N.B., C.Y., F.A.

Destek ve Teşekkür Beyanı: Çalışmamızda herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Mıngır T, Ervatan Z, Turgut N. Spinal anaesthesia and perioperative anxiety. *Turk J Anaesth Reanim* 2014; 42: 190-5. <https://doi.org/10.5152/TJAR.2014.99705>.
2. Jjala HA, French JL, Foxall GL, Hardman JG, Bedford NM. Effect of preoperative multimedia information on perioperative anxiety in patients undergoing procedures under regional anaesthesiology. *Br J Anaesth* 2010;104:369-74. <https://doi.org/10.1093/bja/aeq002>.
3. Sigdel S. Perioperative anxiety: a short review. *Glob Anaesth Perioper Med*. 2015;1(4): 107-108. <https://doi.org/10.15761/GAPM.1000126>.
4. Erkilic E, Kesimci E, Soykut C, Doger C, Gumus T, Kanbak O. Factors associated with preoperative anxiety levels of Turkish surgical patients: from a single center in Ankara. *Patient Prefer Adher*. 2017;11:291-6. <https://doi.org/10.2147/PPA.S127342>.
5. Badner NH, Nielson WR, Munk S, Kwiatkowska C, Gelb AW. Preoperative anxiety: Detection and contributing factors. *Can J Anaesth* 1990; 37: 444-7.
6. Rajkumar RP. COVID-19 and mental health: A review of the existing literature. *Asian J Psychiatr*. 2020;52:102066. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2020.102066>.
7. Spielberger C. State-trait anxiety inventory: a comprehensive bibliography. 1989, Palo Alto, CA, Mind Garden. pp 4-12.
8. Karadağ ŞA. Ameliyat Öncesi Anksiyetenin APAIS ve STAI-I Ölçekleri İle Değerlendirilmesi. *Hacettepe Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi*. 2018; 4(3): 38-47.
9. Demir A, Akyurt D, Ergün B, et al. Anxiety therapy in cardiac surgery patients. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010;18(3):177-82.
10. Domar AD, Everett LL, Keller MG. Preoperative anxiety: Is it a predictable entity? *Anesth Analg*. 1989;69: 763-67.
11. Shevde K, Panagopoulos G. A survey of 800 patients knowledge, attitudes, and concerns regarding anesthesia. *Anesth Analg*. 1991; 73: 190-98.
12. Won K, Gyeong B, Bong S, Hyeon L. Availability of preoperative anxiety scale as a predictive factor for hemodynamic changes during induction of anesthesia. *Korean J. Anesthesiol*. 2010;58:328-33, <https://doi.org/10.4097/kjae.2010.58.4.328>.
13. Sun GC, Hsu MC, Chia YY, Chen PY, Shaw FZ. Effects of age and gender on intravenous midazolam premedication: a randomized double-blind study. *Br J Anaesth*. 2008;101:632-39. <https://doi.org/10.1093/bja/aen251>.
14. Matthias AT, Samarasekera DN. Preoperative anxiety in surgical patients-experience of a single unit. *Acta Anaesthesiol Taiwanica*. 2012;50(1):3-6. <https://doi.org/10.1016/j.aat.2012.02.004>.
15. Perks A, Chakravarti S, Manninen P. Preoperative anxiety in neurosurgical patients. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2009;21(2):127-30.
16. Mulugeta et al. Preoperative anxiety and associated factors among adult surgical patients in Debre Markos and Felege Hiwot referral hospitals, Northwest Ethiopia *BMC Anesthesiology*. 2018;18:155. <https://doi.org/10.1186/12871-018-0619-0>.
17. Nigussie S, Belachew T, Wolancho W. Predictors of preoperative anxiety among surgical patients in Jimma University specialized teaching hospital, South Western Ethiopia. *BMC Surg*. 2014;14(1):1. <https://doi.org/10.1186/1471-2482-14-67>.
18. Yılmaz M, Sezer H, Gürler H, Bekar M. Predictors of preoperative anxiety in surgical inpatients. *J Clin Nurs*. 2012;21(7-8):956-64.
19. Wells JK, Howard GS, Nowlin WF, Vargas MJ. Presurgical anxiety and postsurgical pain and adjustment: effects of a stress inoculation procedure. *J Consult Clin Psychol*. 1986;54(6):831-35.
20. Jafar MF, Khan FA. Frequency of preoperative anxiety in Pakistani surgical patients. *JPMA*. 2009;59(6):359-63.
21. Wang TF, Wu YT, Tseng CF, Chou C. Associations between dental anxiety and postoperative pain following extraction of horizontally impacted wisdom teeth. *Medicine*; 2017;96(47): 8665. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000008665>.
22. Navarro-Gastón D, Munuera-Martínez PV. Prevalence of preoperative anxiety and its relationship with postoperative pain in foot nail surgery: A cross-sectional study. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;22;17(12):4481. <https://doi.org/10.3390/ijerph17124481>.
23. Caumo W, Schmidt AP, Schneider CN, Bergmann J, Iwamoto CW, Bandeira D, Ferreira MB. Risk factors for preoperative anxiety in adults. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2001;45(3):298-307.
24. Nomura M, Saeki S, Ogawa S, Tai K, Kajiwara K. Preoperative questionnaire survey about anxiety of patients for scheduled operation Masui. *The Japanese Journal of Anesthesiology*. 2000;49(8):913-19.
25. Tully PJ, Baker AR, Winefield HR, Turnbull DA. Depression, anxiety disorders and Type D personality as risk factors for delirium after cardiac surgery. *Aust NZJ Psychiatry*. 2010;44(11):1005-11.
26. Krannich JH, Weyers P, Lueger S, Herzog M, Bohrer T, Elert O. Presence of depression and anxiety before and after coronary artery bypass graft surgery and their relationship to age. *BMC Psychiatry*. 2007;7:47.
27. Arslan S, Ozer N, Ozyurt F. Effect of music on preoperative anxiety in men undergoing urogenital surgery. *AJAN*. 2008;26(2), 46-54.
28. Kindler CH, Harms C, Amsler F, Ihde-Scholl T, Scheidegger D. The visual analogue scale allows effective measurement of preoperative anxiety and detection of patient's 2000;90:706-12. <https://doi.org/10.1097/00005539-200003000-00036>.
29. Korukcu O, Ozkaya M, Boran OF, Boran M. The effect of the COVID-19 pandemic on community mental health: A psychometric and prevalence study in Turkey. *Health Soc Care Community*. 2020;00:1-10. <https://doi.org/10.1111/hsc.13270>.
30. Satici B, Gocet TE, Deniz ME, Satici SA. Adaptation of the fear of COVID-19 scale: its association with psychological distress and life satisfaction in Turkey. *Int J Ment Health Addict*. 2020(5); 8:1-9. <https://doi.org/10.1007/s11469-020-00294-0333>.
31. Rakhmanov O, Dane S. Knowledge and anxiety levels of African university students against COVID-19 during the pandemic outbreak by an online survey. *Int Dent J*. 2020;8:53-6.
32. Liu X, Chen M, Wang Y, Sun L, et al. Prenatal anxiety and obstetric decisions among pregnant women in Wuhan and Chongqing during the COVID-19 outbreak: a cross-sectional study. *BJOG*. 2020(9);10, 1229-40. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.16381>.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

T-47D Meme Kanseri Hücreleri Üzerinde Kurkuminin Doz Bağımlı Etkisinin İncelenmesi

Nuriye Ezgi BEKTUR AYKANAT¹, Sedat KAÇAR²

¹ Atılım Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

² Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.

ÖZET

Zingiberaceae familyasına ait zerdeçaldan elde edilen bir polifenol olan kurkumin, anti-inflamatuar, anti-tümör, anti-oksidatif ve antimikrobiyal etkiler dahil olmak üzere birçok etkiye sahiptir. Kurkuminin farklı kanser hücreleri üzerindeki etkileri hakkında birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışma, kurkuminin T-47D meme kanseri hücre canlılığı üzerindeki anti-kanser etkisini araştırmayı amaçlamaktadır. T-47D meme kanseri hücrelerine farklı dozlarda uygulanan kurkuminin etkisi MTT yöntemi ve inverted mikroskop ile araştırılmıştır. Kurkuminin T-47D hücrelerinde IC₅₀ dozu 24 saat sonunda 65,8 µM, 48 saat sonunda 46,4 µM ve 72 saat sonunda ise 26,6 µM olarak belirlenmiştir. Morfolojik değerlendirmede ise kurkumin uygulanmış hücreler yuvarlak ve flask yüzeyinden ayrılmış kitleler halinde gözlenmektedir. Sonuçlarımız, kurkuminin T-47D hücre proliferasyonunu önemli ölçüde azalttığını göstermektedir. Kurkumin, tek başına veya diğer moleküllerle kombinasyon halinde meme kanseri tedavisi için bir aday olabilir. Gelecekte, kurkuminin meme kanseri hücreleri üzerindeki etki mekanizmasını aydınlatmak için daha kapsamlı ve çok merkezli destekli ileri klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Kurkumin. Meme Kanseri. Sitotoksosite.

Investigation of Dose-Dependent Effect of Curcumin on T-47D Breast Cancer Cells

ABSTRACT

Curcumin, a polyphenol derived from turmeric belonging to the Zingiberaceae family, has multiple effects, including anti-inflammatory, antitumor, anti-oxidative and antimicrobial effects. There are many studies on the effects of curcumin on different cancer cells. This study aims at investigating the anti-cancer effect of curcumin on T-47D breast cancer cell. T-47D breast cancer cells will be examined by MTT assay and inverted microscopy. IC₅₀ doses are 65.8 µM for 24 h-long MTT, 46.4µM for 48 h-long MTT and 26.6 µM for 72 h-long MTT assay. In the inverted microscope, curcumin-treated cells appear to be rounded and detached from the bottom flask with a massive morphology. Our results showed that curcumin significantly reduced T-47D cell proliferation. Curcumin may be a candidate for breast cancer therapy, either alone or in combination with other molecules. In the future, more comprehensive and multicenter-supported advanced clinical studies are needed to elucidate the mechanism of action of curcumin on breast cancer cells.

Key Words: Curcumin. Breast Cancer. Cytotoxicity.

Dünya genelinde kadınlarda en sık görülen kanser türü olan meme kanseri, gelişmiş ülkelerde daha yüksek prevalansı ile tüm kadın malignitelerinin yaklaşık %25'ini oluşturmaktadır. Meme kanseri gelişimi

östrojen düzeyi, diyet, kalıtsal yatkınlık ve obezite gibi çeşitli faktörlerle ilişkilidir. Bu faktörler, gen mutasyonlarına, hücre döngüsü anormalliklerine ve PI3K, mTOR, MAPK, östrojen reseptörü (ER) ve CDK'ler gibi sinyal yollarındaki değişiklikler dahil olmak üzere epigenetik modifikasyon kontrolünün kaybına neden olmaktadır. Meme kanseri tanı ve tedavisinde son yıllarda önemli ölçüde gelişme katedilmesine rağmen, ilerlemiş meme kanserli hastaların prognozu hala kötüdür¹⁻³.

Yaygın olarak kullanılan baharat zerdeçalın (Curcuma longa Linn) sarı renginden sorumlu, doğal olarak oluşan bir fitokimyasal olan kurkumin (1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil), Curcuma longa bitkisinden elde edilir. Anti-inflamatuar, anti-oksidatif ve anti-tümör etkilerinin yanı sıra anti-proliferatif ve apoptotik etkileri nedeniyle, kolon ve mide gibi bazı kanser

Geliş Tarihi: 06.Temmuz.2021

Kabul Tarihi: 17.Ağustos.2021

Dr. Nuriye Ezgi BEKTUR AYKANAT
Atılım Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,
Kızılcaşar Mahallesi Gölbaşı,
Ankara
Tel.: 0534 411 19 79
E-posta Adresi: ezgi.bektur@gmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Nuriye Ezgi BEKTUR AYKANAT: 0000-0003-1453-7311
Sedat KAÇAR: 0000-0002-0671-8529

modellerinde klinik onkolojide kemopreventif bir ajan olarak kapsamlı bir şekilde çalışılmış ve terapötik bir ajan olarak kullanılmaktadır. Kurkumin, inflamatuvar sitokinler ve enzimler, transkripsiyon faktörleri, hücrenin hayatta kalması ve proliferasyonu ile ilişkili genlerin ekspresyonunu ve aktivitelerini etkiler^{1,2,4,5}.

Kurkuminin anti-kanserojen özelliği, hayvanlarda hem çeşitli kanserojenler hem de forbol esterler tarafından indüklenen tümör oluşumunun inhibisyonu ile gösterilmiştir. Ksenotransplant veya ortotransplant hayvan modellerinde, insan tümörlerinin büyümesi, kurkuminin tek başına veya kemoterapötik ajanlar/radyasyon ile kombinasyon halinde kullanılmasıyla inhibe edilmiştir. Hücre çalışmalarında, tümör hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir¹.

Çok hücreli bir organizmada çeşitli fizyolojik ve/veya patolojik koşulların neden olduğu programlanmış hücre ölümüne apoptoz denir. Sisplatin, kamptotesin gibi kemoterapötik veya anti-tümör ajanların hedef tümör hücrelerinde apoptoza neden olduğuna dair birikmiş kanıtlar vardır. Bu bağlamda kemopreventif ajanların apoptozu indüklemesi dikkat çekicidir⁶.

Sunulan çalışmamızda farklı dozlardaki kurkuminin T-47D meme kanseri hücreleri üzerindeki etkilerini 24, 48 ve 72 saat sonunda göstermeyi amaçladık. Yaptığımız literatür taramalarında kurkuminin genellikle 24 ve 48 saatteki etkinliği çalışılırken T-47D meme kanseri hücreleri üzerinde 72 saatteki etkinliğinin ve dozlarının çalışılmadığını gözlemledik. Çalışmamız diğer araştırmacılar tarafından yapılacak çalışmalar için referans olacak bir çalışmadır.

Gereç ve Yöntem

Hücre Kültürü

ATCC firmasından satın alınan T-47D hücre hattı %10 (h/h) Fetal Bovine Serum ve %1 (h/v) penisilin-streptomisin içeren RPMI-1640 hücre medyumunda 37 °C'de ve %5 CO₂ içeren inkübatör içerisinde çoğaltıldı. Medyum, hücre ortamındaki fenol kırmızısının renk değişimine bağlı olarak haftada 2-3 kez yenilendi. Pasajlama işleminde, hücreleri kaldırmak için %0,05 tripsin/0,53 mM EDTA solüsyonu kullanıldı.

MTT testi

MTT yöntemi, hücre canlılığının belirlenmesi için sıklıkla kullanılan ve spektrofotometre ile ölçülen yaygın bir kolorimetrik sitotoksikite testidir. MTT, hücreler tarafından aktif olarak emilen bir maddedir. Mitokondriyal reaksiyonla renkli, suda çözünmeyen bir formazana indirgenir. Hücre canlılığı, her hücrenin MTT indirgeme özelliği ile ölçülür ve MTT analizi sonucunda elde edilen boya yoğunluğu canlı hücre sayısı ile orantılıdır⁷.

Kurkuminin T-47D meme kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksitesi veya hücreler üzerindeki canlılığı arttırıcı etkisi MTT yöntemi ile belirlendi. T-47D hücreleri kuyu başına 5000 hücre olacak şekilde ekildi ve 24 saat sonra hücrelere kurkuminin farklı dozları verildi. Hücreler, 96'lı plakanın her bir oyuğuna 1/10 MTT (Boster Biyolojik Teknoloji, Pleasanton, CA, USA, Katalog # AR1156) eklenerek 37°C'de 4 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda her kuyudaki besiyeri pipetlendi ve 100 µL DMSO eklendi ve kuyucuklar çalkalayıcı üzerinde 5-8 dakika çalkalandı. Kuyucuklarda oluşan formazan tuzu kristalleri mikroskop altında kontrol edildi ve ardından bu kristalleri çözmek için 100 µL DMSO uygulandı. Sonunda, 96 kuyucuklu plaka bir mikropilaka okuyucusunda (800TS, BioTek Instruments, Winooski, VT, US) 570 nm'de analiz edildi. Kurkumin ile muamele edilmiş kuyulardan okunan optik yoğunluk, kontrole karşı canlı hücrelerin yüzdesine dönüştürüldü. Elde edilen veriler, kontrolün ortalama % fraksiyon±standart hata sapması olarak ifade edildi.

Inverted mikroskop

Hücreler, 6 kuyucuklu plakalarda 5 x 10³ hücre/kuyu yoğunluğunda çoğaltıldı ve değişen kurkumin dozlarına (0, 30, 50 ve 100 µM) maruz bırakıldı. Daha sonra plakalar inverted mikroskopta (ZEISS Axiovert 135, Oberkochen, Almanya) muamele edilmemiş ve kurkumin ile muamele edilmiş hücrelerde morfolojik değişiklikler ve hücre yoğunluğu açısından 100x büyütme altında incelendi.

İstatistiksel analiz

MTT verilerinin istatistiksel analizi SPSS yazılımı (Statistics for Windows, Version 21.0. IBM Corp. Armonk, NY, ABD) kullanılarak yapıldı. Sırasıyla Shapiro-Wilk testi ve Levene testi ile analiz edilen tüm veriler normal dağılım gösterdi ve homojen bir varyansa sahipti. Bu nedenle, post hoc Tukey testi ile tek yönlü bir varyans analizi yapıldı. İstatistiksel anlamlılık p<0,05, p<0,01 ve p<0,001 olarak ifade edildi.

Bulgular

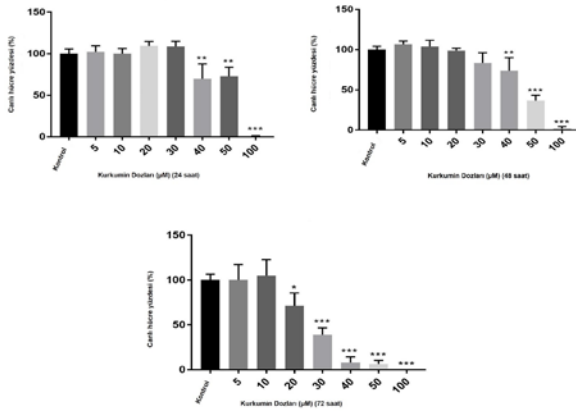
Kurkuminin Sitotoksik Etkisi

T-47D hücrelerinde zamana (24, 48 ve 72 saat) ve kurkuminin doza (0, 5, 10, 20, 30, 40, 50 ve 100 µM) bağlı sitotoksik analizi yapıldı. Tablo I, hücre canlılığının yüzdelerini ve istatistiksel olarak anlamlılık düzeyini göstermektedir.

Kurkuminin T-47D hücrelerinde IC50 konsantrasyonları, doz-canlılık grafiği aracılığıyla hesaplandı. Kurkuminin T-47D hücrelerinde IC50 dozu 24 saat sonunda 65,8 µM bulunmuştur. 5 µM kurkumin hücre proliferasyonuna neden olsa da kontrol grubu ile kar-

Kurkumin Meme Kanseri Hücre Proliferasyonunu Engeller

şılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Kontrol ve 10 μM kurkumin uygulaması sonucunda hücre canlılığı birbirine yakındı. 20 ve 30 μM kurkumin uygulaması hücrelerde bir miktar proliferasyona neden olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Ancak 40 μM kurkumin hücre canlılığını %69,8'e ($p<0.01$) ve 50 μM kurkumin ise hücre canlılığını %72,8'e ($p<0.01$) düşürdü. Son olarak, hücre canlılığı 100 μM 'de %0,7'ye düştü ($p<0.001$) (Şekil 1, Tablo I).



Şekil 1.

24, 48 ve 72 saat boyunca farklı kurkumin dozları uygulanmış T-47D hücrelerinin canlılığı ve istatistiksel anlamlılık dereceleri. Sonuçlar ortalama \pm SS olarak görüntülenir. *, ** ve ***, kontrol grubu hücreleri ile karşılaştırıldığında sırasıyla $p<0.05$, $p<0.01$ ve $p<0.001$ 'lik istatistiksel farklılıkları gösterir.

Tablo I. 24, 48 ve 72 saat sonunda 0-100 μM dozları arasında kurkumin uygulamasından sonra T-47D meme kanseri hücrelerinin hücre canlılığının yüzdesi.

Kürkumin Dozları (μM)	Hücre Canlılığı (%) (ortalama \pm SS)		
	24 h	48 h	72 h
Kontrol (0 μM)	100.0 \pm 5.7	100.0 \pm 4.1	100.0 \pm 6.7
5.0	102.3 \pm 7.3	106.5 \pm 4.1	100.0 \pm 17.1
10.0	100.0 \pm 6.2	104.0 \pm 7.6	104.9 \pm 18.0
20.0	109.4 \pm 5.2	98.9 \pm 3.0	71.5 \pm 14.0 ^a
30.0	108.8 \pm 5.9	83.5 \pm 12.7	39.0 \pm 7.7 ^c
40.0	69.8 \pm 17.9 ^b	73.9 \pm 16.1 ^b	7.9 \pm 6.3 ^c
50.0	72.8 \pm 11.0 ^b	36.6 \pm 6.8 ^c	6.3 \pm 4.0 ^c
100.0	0.7 \pm 0.4 ^c	1.8 \pm 2.5 ^c	0.0 \pm 2.0 ^c

a: anlamlı fark $p<0.05$, b: anlamlı fark $p<0.01$ and c: anlamlı fark $p<0.001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

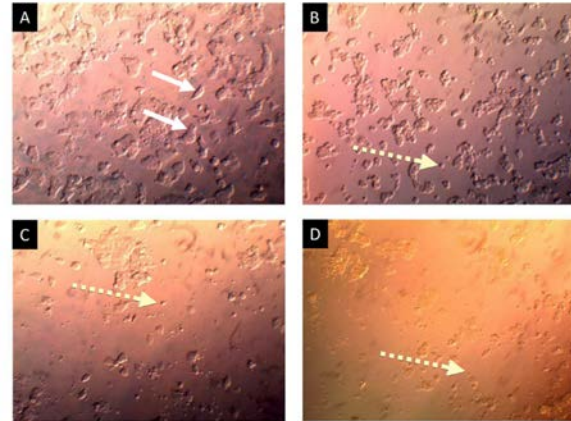
Kurkuminin T-47D hücrelerinde IC50 dozu 48 saat sonunda 46,4 μM bulunmuştur. 5 μM ve 10 μM kurkumin bir miktar proliferasyona neden olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). 20 μM kurkumin'de hücre canlılığı %98,9'a ve 30 μM kurkuminde hücre canlılığı %83,5'e düştü ancak hücre azalması istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Bununla

birlikte, 40 μM kurkuminde hücre canlılığı %73,9'a ($p<0.01$) ve 50 μM kurkuminde hücre canlılığı %36,6'ya ($p<0.001$) düştü. Son olarak, hücre canlılığı 100 μM 'de %1,8'e düşmüştür (kontrol ile karşılaştırıldığında $p<0.001$) (Şekil 1, Tablo I).

Kurkuminin T-47D hücrelerinde IC50 dozu 72 saat sonunda 26,6 μM bulunmuştur. Kontrol ve 5 μM kurkuminin canlılık düzeyleri birbirine yakın bulundu. 10 μM kurkumin bir miktar proliferasyona neden olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Bununla birlikte, 20 μM kurkumin hücre canlılığını %71,5'e ($p<0.05$), 30 μM kurkumin ise hücre canlılığını %39,0'a (kontrol karşısında $p<0.001$), 40 μM kurkumin ise %7,9'a ve 50 μM kurkumin'de %6,3'e düşmüştür (kontrol karşısında $p<0.001$). En yüksek doz olan 100 μM uygulamasında, canlılık %0 idi (kontrol ile karşılaştırıldığında $p<0.001$) (Şekil 1, Tablo I).

Mikroskopi Sonuçları

Şekil 2'te inverted mikroskoptan alınan görüntüler gösterilmektedir. Kontrol grubunda (A) kurkumin uygulanmamış meme kanseri hücreleri gözlenmektedir. 20 μM (B), 30 μM (C) ve 40 μM (D) Kurkumin uygulanmış hücreler yuvarlaklaşmış ve flask yüzeyinden ayrılmış hücre toplulukları olarak görünmektedir. T-47D hücrelerinin ölüm oranı, şekli yuvarlaklaşan T-47D hücrelerinin artışıyla doğru orantılıdır. Görüntülerde de görüldüğü gibi kurkumin, canlı hücre yoğunluğunu azaltmaktadır.



Şekil 2.

T-47D hücre morfolojisi (24 saat): (A) Kurkumin uygulanmamış kontrol grubu ile, sırasıyla 30 μM (B), 50 μM (C) ve 100 μM (D) konsantrasyonlarında kurkumin uygulanmış gruplar. Hücre morfolojisi ve miktarı inverted mikroskop kullanılarak gözlemlendi (100x). Kalın oklar normal canlı hücreleri gösterirken, kesikli oklar morfolojisi değişmiş hücreleri (yuvarlak ve/veya yüzeyden ayrılmış hücreler) gösterir.

Tartışma ve Sonuç

Vogel ve Pelletier tarafından 1815'te Curcuma longa'nın (zerdeçal olarak bilinir) rizomlarından ekstre edilen polifenol bileşeni olan kurkuminin, inflamasyon, artrit, metabolik sendrom, karaciğer hastalıkları, obezite ve nörodejeneratif hastalıkların yanı sıra çeşitli kanserleri önleme konusunda da etkin rol oynadığı gösterilmiştir^{8,9}.

Sanayileşmiş ülkelerde kanser, başlıca ölüm sebeplerinden biridir. Kanser hücrelerinde apoptozis, proliferasyon ve anjiyogenez sinyal yolları düzensizdir¹⁰. Son yıllarda kanserin erken teşhis edilip tedavi seçeneklerinin artmasından dolayı ölüm oranları azalmıştır. Ancak ilaca dirençli kanserlerde yenilikçi ve daha etkin ilaçların araştırılması zorunludur^{9,11}.

Günümüzde meme kanseri, tüm dünyada kadınlar arasında en yaygın malign tümör olup kanser kaynaklı ölüm nedenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Meme kanseri vakalarında tedavi ajanı olarak sıklıkla anti-östrojenler kullanılmaktadır. Bununla birlikte, farklı ilaç kombinasyonları meme kanseri tedavisinde çok daha pozitif sonuçlar vermektedir^{9,12}. Sunulan çalışmada T-47D meme kanseri hücreleri üzerine kurkuminin doz bağımlı etkisi araştırılmıştır.

Kurkuminin, sağlıklı hücreler üzerinde sitotoksik etkiye neden olmadan malign hücrelerde seçici olarak apoptozu indüklediği düşünülmektedir. Sağlıklı meme hücrelerine, günlük 8000 mg kadar yüksek kurkumin dozu uygulandığında bile çok düşük toksisite ile hemen hemen hiçbir değişiklik oluşturmadığı belirtilmiştir. Klinik onkolojide kurkuminin önemi artmaktadır. Preklinik çalışmalarda kurkuminin meme kanserinin başlaması ve ilerlemesini önlemede etkili olduğunu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar kurkuminin meme kanseri hücrelerinde anjiyogenezini inhibe ederek besin eksikliği ve hipoksiye neden olması sonucunda hücre ölümüne yol açtığını belirtmişlerdir^{13,14}.

Çalışmamızda kurkuminin T-47D hücrelerinde doz ve zaman bağımlı olarak sitotoksik etkisini MTT metodu ile belirledik. Kurkuminin T-47D hücrelerinde IC₅₀ dozu 24'üncü saatte 65.8 µM, 48'ince saatte 46.4 µM ve 72'ince saatte 26.6 µM olarak belirlenmiştir. 72 saatin sonunda 20 µM, 30 µM, 40 µM, 50 µM ve 100 µM kurkuminin artan dozlarına paralel olarak T-47D meme kanseri hücrelerinin ölümünü arttırdığını gözlemledik. Çalışmamız kurkuminin 24, 48 ve özellikle 72 saatte meme kanseri hücreleri üzerine etkisinin farklı dozlarla gösterilmesiyle doz çalışmalarında referans makale olarak kullanılabilir.

Yapılan *in vitro* çalışmalarda, kurkuminin MCF-7, MDA-MB-468 (MDA468), HCC1937 ve HCC1806 gibi çeşitli hormon-negatif hücre dizilerinde apoptozisi indükleyerek meme kanserinin yayılmasını durdurduğu gösterilmiştir^{15,16}. Meme kanseri hücrelerinin proliferasyonu zaman ve doza bağlı bir şekilde kur-

kumin tarafından inhibe edilmektedir. Mehta ve arkadaşları BT20, SK-BR-3, MCF-7, T-47D ve ZR75-1 meme kanseri hücre hatlarına kurkumin uygulamasından sonra MTT testi sonucunda meme kanseri hücrelerinin büyümesinin tamamen inhibe edildiğini göstermişlerdir¹⁷. Chiu ve arkadaşları kurkuminin MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde G2/M döngüsünü bloke ederek doza bağlı olarak hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ayrıca kurkuminin apoptozu indüklediğini ve NF-κB65'in protein ekspresyonunu azalttığını ve MDA-MB-231 hücrelerinin göç aktivitesini inhibe ettiğini belirtmişlerdir^{18,19}.

Kanser hücrelerinin kurkumin tarafından seçici olarak öldürüldüğünün kesin mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır. Ayrıca kurkuminin, birden fazla moleküler mekanizmanın kontrolünde kanser kök/progenitor hücrelerin ve onların soyunun proliferasyonunu baskılayarak anti-kanser özelliğini gösterdiği düşünülmektedir^{20,21}.

Sonuç olarak, biyoaktif bileşikler, yeni ajanlar ve biyomarkır moleküller kanser tedavisinde *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda araştırılmaktadır. Bu tümörlerin onkogenезisinin ve altında yatan temel mekanizmaların aydınlatılması yeni kanser terapilerin geliştirilmesinin önünü açacaktır. Bu nedenle meme kanser tedavisinde yeni biyolojik ve kimyasal reaktiflere ihtiyaç artmaktadır.

Bizim sonuçlarımız kurkuminin T-47D hücre proliferasyonunu anlamlı olarak azalttığını göstermiştir. Kurkumin, meme kanseri tedavisi için tek başına ya da diğer moleküllerle kombine olarak kullanılabilir. Gelecekte kurkuminin meme kanseri hücreleri üzerindeki etki mekanizmasını aydınlatacak daha kapsamlı ve çok merkezli desteklenecek ileri düzeyde klinik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Hücre kültürü çalışması olmasından dolayı Etik Kurul onayına gerek yoktur.

Araştırmacı Katkı Beyanı: Fikir ve tasarım: N.E.B.A.; Veri toplama ve işleme: S.K.; Analiz ve verilerin yorumlanması: N.E.B.A.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: N.E.B.A.

Destek ve Teşekkür Beyanı: Bu makalede yer alan çalışmalar herhangi bir kurum tarafından desteklenmemiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Liu D, Chen Z. The effect of curcumin on breast cancer cells. J Breast Cancer. 2013;16(2):133-7.
2. Hu S, Xu Y, Meng L, Huang L, Sun H. Curcumin inhibits proliferation and promotes apoptosis of breast cancer cells. Exp Ther Med. 2018;16(2):1266-72.
3. Shen H, Shen J, Pan H, Xu L, Sheng H, Liu B, et al. Curcumin analog B14 has high bioavailability and enhances the effect of

Kurkumin Meme Kanseri Hücre Proliferasyonunu Engeller

- anti-breast cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Sci.* 2021;112(2):815-27.
- Choudhuri T, Pal S, Aggarwal ML, Das T, Sa G. Curcumin induces apoptosis in human breast cancer cells through p53-dependent Bax induction. *FEBS Lett.* 2002;512(1-3):334-40.
 - Fabianowska-Majewska K, Kaufman-Szymczyk A, Szymanska-Kolba A, Jakubik J, Majewski G, Lubecka K. Curcumin from Turmeric Rhizome: A Potential Modulator of DNA Methylation Machinery in Breast Cancer Inhibition. *Nutrients.* 2021;13(2):332.
 - Patra S, Pradhan B, Nayak R, Behera C, Panda KC, Das S, et al. Apoptosis and autophagy modulating dietary phytochemicals in cancer therapeutics: Current evidences and future perspectives. *Phytother Res.* 2021.
 - Khojaste E, Ahmadizadeh C. Catechin Metabolites along with Curcumin Inhibit Proliferation and Induce Apoptosis in Cervical Cancer Cells by Regulating VEGF Expression In-Vitro. *Nutr Cancer.* 2021:1-10.
 - Bhatia M, Bhalerao M, Cruz-Martins N, Kumar D. Curcumin and cancer biology: Focusing regulatory effects in different signalling pathways. *Phytother Res.* 2021.
 - Giordano A, Tommonaro G. Curcumin and cancer. *Nutrients.* 2019;11(10):2376.
 - Al-Ejeh F, Kumar R, Wiegman A, Lakhani S, Brown M, Khanna K. Harnessing the complexity of DNA-damage response pathways to improve cancer treatment outcomes. *Oncogene.* 2010;29(46):6085-98.
 - Udagawa T, Wood M. Tumor–stromal cell interactions and opportunities for therapeutic intervention. *Curr Opin Pharmacol.* 2010;10(4):369-74.
 - Clusan L, Le Goff P, Flouriot G, Pakdel F. A closer look at estrogen receptor mutations in breast cancer and their implications for estrogen and antiestrogen responses. *Int J Mol Sci.* 2021;22(2):756.
 - Kunnumakkara AB, Anand P, Aggarwal BB. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. *Cancer Lett.* 2008;269(2):199-225.
 - Shakeri A, Ward N, Panahi Y, Sahebkar A. Anti-angiogenic activity of curcumin in cancer therapy: a narrative review. *Curr Vasc Pharmacol.* 2019;17(3):262-9.
 - Rowe DL, Ozbay T, O'Regan RM, Nahta R. Modulation of the BRCA1 protein and induction of apoptosis in triple negative breast cancer cell lines by the polyphenolic compound curcumin. *Breast cancer: basic and clinical research.* 2009;3:BCBCR. S3067.
 - Banerjee M, Singh P, Panda D. Curcumin suppresses the dynamic instability of microtubules, activates the mitotic checkpoint and induces apoptosis in MCF-7 cells. *The FEBS journal.* 2010;277(16):3437-48.
 - Mehta K, Pantazis P, McQueen T, Aggarwal BB. Antiproliferative effect of curcumin (diferuloylmethane) against human breast tumor cell lines. *Anticancer Drugs.* 1997;8(5):470-81.
 - Chiu T-L, Su C-C. Curcumin inhibits proliferation and migration by increasing the Bax to Bcl-2 ratio and decreasing NF- κ Bp65 expression in breast cancer MDA-MB-231 cells. *Int J Mol Med.* 2009;23(4):469-75.
 - Nagaraju GP, Aliya S, Zafar SF, Basha R, Diaz R, El-Rayes BF. The impact of curcumin on breast cancer. *Integrative Biology.* 2012;4(9):996-1007.
 - Chattopadhyay I, Biswas K, Bandyopadhyay U, Banerjee RK. Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Curr Sci.* 2004;44-53.
 - Pandya N, Khan E, Jain N, Satham L, Singh R, Makde RD, et al. Curcumin analogs exhibit anti-cancer activity by selectively targeting G-quadruplex forming c-myc promoter sequence. *Biochimie.* 2021;180:205-21.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Türkiye'deki Hemşirelerde Merhametin Araştırılması: Uluslararası Araştırma Sonuçları

Özlem AKMAN¹, Burcu ARKAN², Candan ÖZTÜRK³, Irena PAPADOPOULOS⁴

¹ İstanbul Aydın Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü.

² Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Psikiyatri Hemşireliği Anabilim Dalı, Bursa.

³ Yakın Doğu Üniversitesi, Hemşirelik Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği Anabilim Dalı, Lefkoşe, Kıbrıs.

⁴ Research Centre for Transcultural Studies in Health, Middlesex Üniversitesi, Londra, Birleşik Krallık.

ÖZET

Bu çalışmada Türkiye'de hemşirelerin merhamet kavramını nasıl tanımladıkları, görüşleri ve deneyimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırma geniş çaplı uluslararası bir çalışmanın parçası olarak online anket şeklinde tasarlanıp uygulanmıştır. İngiltere'de Middlesex University'den etik kurul izinleri alındıktan sonra, 15 farklı ülkeden hemşirelerin katılımı ile gerçekleştirilmiştir. Ana veri tabanı içinden Türkiye örneklemini oluşturan hemşirelerin (n=96) verileri bu çalışmada kullanılmıştır. Verilerin toplanmasında, Irena Papadopolos tarafından geliştirilen ve her ülke tarafından içerik geçerliliği yapılan anket kullanılmıştır. Bu çalışma ise, Türkiye'de çalışan hemşirelerin ankete verdikleri cevaplara odaklanarak yapılmıştır. Veriler, açık uçlu sorular içerik analizi kullanılarak, çoktan seçmeli sorular ise sayı ve yüzdeler olarak çözümlenmiştir. Türkiye'deki hemşirelerin hastalara, ailelerine ve topluma karşı merhametli bir bakım vermeyi önemstediklerini ortaya koymuştur. Aynı zamanda merhametin öğretilebileceği ancak yeterince öğretilmediği belirlenmiştir. Elde edilen nitel veriler; dokunmak, dinlemek ve anlamak, iletişim ve empati, acılarını hafifletmek, yakın ilişki kurmak olarak sınıflanmıştır. Türkiye'de hemşireler merhametli olmanın hastanın iyileşmesinde ve bakım kalitesinin artmasında önemli bir kavram olduğunu ve bunun davranışlara yansıtılarak gösterilmesi ve hastalara hissettirilmesi gerektiğini ifade ederek inançlarını belirtmişlerdir.

Anahtar Kelimeler: Hemşirelik. Merhamet. Bakım. Hasta hemşire ilişkisi. Dokunma.

Compassion Investigation in Nursing in Turkey: Implications of International Research Study

ABSTRACT

The study aimed to determine how nurses in Turkey define the concept of compassion, their views on compassion and how they show it in the fields of application. A part of a large-scale international study, the study was designed and conducted as an online survey. It was carried out with the participation of nurses from 15 different countries, after receiving research ethics committee approvals from Middlesex University in England. Turkey forms the main database through the nurse samples (n = 96) data are used in this study. In collection of the data a survey which was developed by Irena Papadopolos and tested for content validity by each country, was used. In this study the data was collected by focusing on the answers of the nurses working in Turkey to the survey. In collection of the data the open-ended questions were analyzed using content analysis, while the multiple-choice questions were analyzed as number and percentage. The study revealed that nurses in Turkey attach importance to giving compassionate care to patients, their families and community. Also the study found that compassion can be taught and yet it is not taught adequately. The qualitative data acquired was classified as touching, listening and understanding, communication and empathy, easing the pains and establishing affiliation. The nurses in Turkey stated that compassion is an important concept in the recovery of patients and the increase of care quality and it should be reflected on behaviors for the patients to feel it.

Key Words: Nursing. Compassion. Caring. Nurse-patient relationship. Touch.

Geliş Tarihi: 19.Nisan.2021

Kabul Tarihi: 17.Ağustos.2021

Dr. Burcu ARKAN
Bursa Uludağ Üniversitesi,
Sağlık Bilimleri Fakültesi, Psikiyatri Hemşireliği Anabilim Dalı,
Bursa.
İrtibat Telefonu: 0532 776 48 43
E-posta Adresi: arkanburcu@yahoo.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Burcu ARKAN: 0000-0002-7285-6196
Özlem AKMAN: 0000-0003-1460-3251
Candan ÖZTÜRK: 0000-0002-0909-5013
Irena PAPADOPOULOS: 0000-0001-6291-4332

Son yıllarda sağlık bakım sisteminde yüksek kalitede hemşirelik bakımının sürdürülmesinde uluslararası alanda pek çok boyutu ile tartışılan kavramlardan biri merhamettir. Merhamet “acı çeken bireylere karşı hissedilen derin farkındalık ve onu hafifletme isteği” olarak tanımlanmıştır^{1,2}. Genellikle, sıcaklık, nezaket, incelik gibi özellikler ile karıştırılmış, günlük yaşamımızda empati ve sempati ile aynı anlamlarda kullanılmış ancak birbirinden farklı kavramlar olduğu belirtilmiştir. Bu özellikler büyük önem taşımasına rağmen merhamet dediğimiz kavramın bunların ötesinde ol-

duğu bildirilmiştir^{3,4}. Merhametin, acı ve hassaslığı tanıyan öznel bir deneyim, saygı ve hassasiyet, acıyı hafifletme isteği ve kültürel yeterlilik gibi nitelikleri içerdiğine inanılmaktadır. Bu bağlamda merhametin üç önemli boyutundan söz edilebilir. Bunlardan birincisi, başkasının yaşadığı durumu tamamen anlayabilmek ve merhametin ifadesi olan bilişsel algılamadır. İkincisi, başka bir kişinin ne hissettiğini hissetmek olan duygusal boyut ve üçüncüsü bizi en yararlı bir şekilde yanıt vermek için harekete geçiren davranışsal boyuttur. Merhamet kavramını bu üç boyutta ele almak bu kavramı eksik bırakmamak için önemlidir⁵.

Merhamet, hemşirelik bakımının da temel bir bileşeni olarak kabul edilir. Ancak, merhametli bakımı tam olarak neyin içerdiğini tanımlamak zordur³. Bu durum merhametin, bağlamsal ve kültürel olarak spesifik olan bir değer ve bir duygu olduğunu gösterebilir. Merhametli bakım bir gülümseme, güven verici bir görünüm veya bir dokunuş gibi basit eylemler yoluyla verilebilmesine rağmen, sürecin kendisi karmaşıktır. Karmaşık olmasını da öznel deneyim olmasından almaktadır ve sağlık profesyoneli olan hemşirenin “hissi tarafı”dır⁶. Başkalarının acısını tamamen anlamak sınırlı olsa da değişik yollarla acıyı deneyimleyen hastaların, acılarını yürekte hissetmek ve gerçek merhameti göstermek bir sağlık profesyoneli olarak hemşirenin önemli sorumluluklarından biri olarak görülmektedir⁵. Aynı zamanda sağlık bakım sistemi içinde hasta ve hemşirelerin refahı ve bakım standartlarının artırılmasında merhametin gerekli olduğu açıktır. Yapılan çalışmalar merhamet kavramı ile kültür arasında bir ilişki olduğunu, kişilerin kültürel geçmişlerinin, maneviyatlarının ve sosyo politik durumun merhametli olmayı etkilediğini ve merhametli olmanın doğuştan olmakla birlikte toplumsallaşma yoluyla öğrenildiğini de belirtmektedir^{7,8}. Papadopoulos ve ark. (2016) 15 ülkede yaptıkları çalışmada da kişinin kültürel geçmişinin ve deneyimlerinin merhameti tanımlama biçimini etkilediğini belirtmişlerdir⁹.

Türkiye’de hemşirelikte merhamet kavramı ile ilgili literatür incelendiğinde, Öner et. al. (2011) de bakım kavramının analizi için yaptıkları derlemede merhametin bakım kavramı içinde yer aldığı görülmektedir¹⁰. Bugün tüm dünyada tartışılan hemşirelikte merhamet kavramının Türkiye’deki hemşireler tarafından bu kavramın nasıl açıkladığını gösteren sınırlı sayıda çalışma çalışmaya ulaşılabilmektedir. Bu çalışmada Türkiye’de hemşirelerin merhamet kavramını nasıl tanımladıkları, görüşleri ve uygulama deneyimleri nitel ve nicel bakış açısıyla değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma kesitsel ve tanımlayıcı tiptedir. Araştırma, hemşirelerin merhamet hakkındaki görüşleri, nasıl tanımladığı ve uygulama alanlarında nasıl gösterildiği konusunda geniş çaplı uluslararası bir çalışmanın parçası olarak online anket şeklinde tasarlanıp uygu-

lanmıştır. İngiltere’de Middlesex University’den etik kurul izinleri alındıktan sonra, 15 farklı ülkeden hemşirelerin katılımı ile gerçekleştirilmiştir. Ana veri tabanı içinden Türkiye örneklemini oluşturan hemşirelerin (n=96) verileri bu çalışmada kullanılmıştır.

Veri Toplama Araçları

Araştırmada kullanılan anket Irena Papadopolos tarafından geliştirilmiştir. Çalışmaya katılan her ülkenin araştırmacılarına, çalışmaya kimlerin dahil edilebileceği ile ilgili görüş sorulmuş ve öneriler doğrultusunda baş araştırmacı tarafından ankette düzenlemeler yapılmıştır. Bu değişiklikler ile, anketin kültürel önemi ve kullanışlılığı daha da artırılmış, anketin içerik geçerliliğine katkıda bulunmuştur. Daha sonra araştırmacılara, pek çok açıklayıcı bilgi ile anket gönderilmiş ve önerilen yönerge doğrultusunda her ülke kendi ana diline anketi çevirmiş ve daha sonra tekrar geri çevirisini yaparak tutarlılık sağlanmıştır. Hem evrensel aktarım kolaylığı hem de yerel uyum açısından kapsamlı içerik analiz ve yorumlara tabi tutulmuştur. Buna ek olarak araştırmacılar davet/bilgi mektubunu çevirmeleri de istenmiştir. Daha sonra her ülkedeki araştırmacılara, katılımcılara gönderilmek üzere bir anket bağlantı adresi gönderilmiş ve kartopu tekniği kullanılarak veriler toplanmıştır. Anket sekiz çoktan seçmeli soru (Soru 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9), iki açık uçlu soru (Soru 5, Soru 10)’dan oluşmuştur. Açık uçlu sorular hemşirelerin merhameti nasıl tanımladıklarını ve uygulamadaki kullanımlarını saptamaya yöneliktir.

Cevaplanan anket soruları, tekrar İngilizceye çevrilmiş ve raporlanmak üzere baş araştırmacıya gönderilmiştir. Bu çalışma ise, Türkiye’de çalışan hemşirelerin ankete verdikleri cevaplara odaklanarak hazırlanmıştır.

Verilerin Değerlendirilmesi

Açık uçlu sorular içerik analizi kullanılarak, çoktan seçmeli sorular ise sayı ve yüzdelik olarak çözümlenmiştir.

Bulgular

Tablo I’de, ankette yer alan çoktan seçmeli sorulara hemşirelerin verdiği cevaplar sayı ve yüzdelik olarak gösterilmiştir. Ankette yer alan açık uçlu sorular tabloda gösterilmiş ancak cevaplar içerik analizi ile gruplandırılarak tablonun sonunda ele alınmıştır.

Tablo I incelendiğinde; birinci soruda yer alan “merhamet kavramını nasıl tanımlarsınız?” sorusuna 96 katılımcının %4,2 (n=4) si diğer seçeneği, %71,9’u (n=69) “başkalarının çektiği acıların derin farkındalığı ve onu hafifletme isteği” cevabını vermiş, diğer seçeneği işaretleyip açıklama yazan iki kişi ise merhameti; “Başkalarının acılarına karşı olan farkındalığa sevginin eşlik etmesi”, “Yardımsızlık fedakârlık” şeklinde tanımlamışlardır.

Türkiye'deki Hemşirelerde Merhamet

Tablo I. Ankette Yer Alan Sorular ve Sorulara Hemşirelerin Verdiği Cevaplar

Sorular/Cevaplar	Frequency (n) Sayı	Percent (%) Yüzde
1- Merhamet kavramını nasıl tanımlarsınız?		
Empati ve nezaket	20	20,8
Başkalarının çektiği acılara karşı derin farkındalık	2	2,1
Başkalarının çektiği acıların derin farkındalığı ve onu hafifletme isteği	69	71,9
Diğer	4	4,2
Eksik dolduran	1	1,0
Toplam	96	100,0
2- Hemşirelikte merhamet ne kadar önemlidir?		
Çok önemli değil	6	6,3
Önemli	28	29,2
Çok Önemli	62	64,6
Toplam	96	100,0
3-Merhametin hemşirelere öğretilbileceğine inanıyor musunuz?		
Evet	57	59,4
Hayır	23	24,0
Bilmiyorum	15	15,6
Eksik dolduran	1	1,0
Toplam	96	100,0
4- Merhametin hemşirelere yeterince öğretildiğine inanıyor musunuz?		
Yeteri kadar öğretiliyor	10	10,4
Biraz öğretiyor	30	31,3
Yeteri kadar öğretilmiyor	44	45,8
Bilmiyorum	12	12,5
Toplam	96	100,0
5- Türkiye'de hemşireler tarafından merhamet pratik alanda nasıl gösteriliyor? (Lütfen örnek veriniz) (İçerik analizi yapıldı)		
6-Size göre merhametin gelişmesinde en etkili faktör nedir?		
Aile	32	33,3
Kültürel değerler	33	34,4
Kişinin kendi merhamet deneyimi	30	31,3
Eksik dolduran	1	1,0
Toplam	96	100,0
7-Lütfen en çok katıldığınız ifadeyi seçin:		
Türkiye'de hastalar yeteneğe merhametten daha fazla değer veriyor	25	26,0
Türkiye'deki hastalar tıbbi teknoloji kullanımına merhametten çok daha fazla değer veriyor	12	12,5
Türkiye'deki hastalar tıbbi tedaviye merhametli bakımdan daha fazla değer veriyor	54	56,3
Eksik dolduran	5	5,2
Toplam	96	100,0
8-Lütfen en çok katıldığınız ifadeyi seçin:		
Türkiye'deki hemşireler yöneticilerinden merhamet görüyor	5	5,2
Türkiye'deki hemşireler meslektaşlarından merhamet görüyor	36	37,5
Türkiye'deki hemşireler hastalardan merhamet görüyor	51	53,1
Eksik dolduran	4	4,2
Toplam	96	100,0
9- Türkiye'deki hastalar aşağıdaki hangi özelliğe sahip olan hemşireler tarafından bakılmayı tercih eder?		
İyi kişilerarası becerilere sahip bilgili hemşireler	78	81,3
İyi teknik becerilere sahip bilgili hemşireler	17	17,7
İyi yönetim becerilerine sahip bilgili hemşireler	0	0
Eksik dolduran	1	1,0
Toplam	96	100,0
10- Lütfen Türkiye'deki hemşirelerin merhametin anlamı ve kullanımına ışık tutabilecek her türlü yorum, tavsiye, görüş veya hikâye sununuz. (İçerik analizi yapıldı)		

İkinci sırada yer alan “Hemşirelikte merhamet ne kadar önemlidir?” sorusuna %64,6’sı (n= 62) “çok önemli “olarak cevap vermiştir.

Üçüncü sıradaki “merhametin hemşirelere öğretilbileceğine inanıyor musunuz?” sorusuna %59,4 (n=57) “evet” cevabını vermiş ve bununla bağlantılı olan dördüncü soruya ise “merhametin hemşirelere yeterince öğretildiğine inanıyor musunuz?” büyük çoğunluğunun “yeteri kadar öğretilmiyor” %45,8 (n=44) yönünde görüş bildirdiği görülmüştür.

Altıncı soru “size göre merhametin gelişmesinde en etkili faktör nedir?” incelendiğinde, en fazla %34,4 (n=33) “kültürel değerler” olduğu belirtilmiş ancak diğer seçeneklerin de yakın oranlarda olduğu görülmüştür.

“Lütfen en çok katıldığınız ifadeyi seçin” ifadesine ise yüksek oranda %56,3 (n=54) “Türkiye'deki hastalar tıbbi tedaviye merhametli bakımdan daha fazla değer veriyor” yanıtı verilmiştir.

“Lütfen en çok katıldığınız ifadeyi seçin” ifadesine ise katılımcıların dördü cevap vermezken, cevap verenlerin %53,1 (n=51)’i “Türkiye'deki hemşireler hastalardan merhamet görüyor” olarak yanıtlamışlardır.

Çoktan seçmeli soruların sonucunu oluşturan “Türkiye'deki hastalar aşağıdaki hangi özelliğe sahip olan hemşireler tarafından bakılmayı tercih eder?” sorusuna ise, bir kişi cevap vermemiş geri kalanların büyük çoğunluğu %81,3 (n=78) “iyi kişilerarası becerilere sahip bilgili hemşireler” şeklinde cevap vermiştir.

Beşinci (Türkiye'de hemşireler tarafından merhamet uygulamada nasıl gösteriliyor?) ve onuncu (Lütfen Türkiye'deki hemşirelerin merhametin anlamı ve kullanımına ışık tutabilecek her türlü yorum, tavsiye, görüş veya deneyiminizi paylaşınız) sorulara verilen cevaplar araştırmacılar tarafından analiz edilerek “dokunmak, dinlemek ve anlamak, iletişim ve empati, acıların hafifletmek, yakın ilişki kurmak” başlıkları altında gruplanmıştır.

Bu çalışmada hemşireler dokunma yolu ile hastalara onların yanında olduklarını hissettirmenin merhameti göstermede kullandıkları bir yol olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, merhameti göstermede hastayı dinleme ve anlamının, empati yapmanın, yakın ilişkiler kurmanın da önemli olduğunu ifade etmişlerdir. Acı çekmenin ne olduğunu bilmek ve hasta tarafından nasıl algılandığını anlamak ve onu hafifletmeye özen gösterme önemli olan diğer bir yanıtıdır.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada “merhamet kavramını nasıl tanımlarsınız?” sorusuna hemşirelerin yaklaşık dörtte üçü “başkalarının çektiği acıların derin farkındalığı ve onu hafifletme isteği” cevabını vermiştir.

Elde edilen cevaplar merhametin tanımının yapıldığı çalışmalar ile benzerlik göstermektedir^{1,2}. Gilbert (2005)¹¹ merhameti; başkasının acısını giderme isteğini, acının kaynağını anlamayla ilgili bilişsel süreci ve merhametli eylemlerde bulunmakla ilgili davranışsal süreci içerisinde barındırma olarak tanımlamıştır. Yani merhametin; güdü, duygu, düşünce ve davranışın bileşimi ile oluştuğu açıklanmıştır. Sprecher ve Fehr'in (2005) çalışmalarında ise merhamet merhametli (duyarlı) sevgi olarak kavramsallaştırılmıştır¹². Merhametli (duyarlı) sevgi, diğer insanları sıkıntılı ve ihtiyaç duydukları zamanlarında onları desteklemeye yönelik, davranışsal, bilişsel ve duygusal bir tutum olarak belirtilmiştir.

“Hemşirelikte merhamet ne kadar önemlidir?” sorusuna hemşirelerin tamamına yakın bir bölümü “önemli” / “çok önemli” cevaplarını vermiştir.

Merhamet hemşirelik mesleğinde çok önemlidir. Çünkü hemşirelik bakımının temelinde merhamet vardır¹³. Hemşirelerin en ayrıcalıklı rolü olan bakım, teknik bilgi ve becerilere sahip olmanın yanı sıra bakım verilen bireylere karşı merhametli olmayı da gerektirir. Merhamet hissi, hastalar için oldukça önemlidir. Bu durumun nedeni ise, hastaların teknik bakımdan çok, hizmet veren bireylerin merhametli tutum ve davranışlarına ihtiyaç duymalarıdır¹⁴. Hemşireler bakım verdikleri kişilerin en savunmasız anlarına ve özel durumlarına tanık olurlar¹⁵. Hümanistik bir yaklaşım ve merhamet mükemmel hemşirelik bakımının temeli olarak kabul edilmektedir¹⁶. Evrensel olarak, hastalar bakım ile merhameti eşit tutarlar. Bakım veren hemşire sıcak ve empatik, merhametli ve ilgili olarak tanımlanır¹⁷. Merhamet, hemşirelerin sadece hastayla terapötik iletişim kurmasını sağlamaz aynı zamanda yüksek kalitede bakım vermesini de sağlar¹⁸. Merhamet iyi bir hemşirenin özellikleri arasındadır. Bu nedenle hastaya bakım verirken memnuniyetin sağlanmasında anahtar ölçüttür^{13,19}.

“Merhametin hemşirelere öğretilebileceğine inanıyor musunuz?” sorusuna katılımcıların %59,4 (n=57) “evet” cevabını vermiş ve bununla bağlantılı olan dördüncü soruya ise “merhametin hemşirelere yeterince öğretilmediğine inanıyor musunuz?” büyük çoğunluğunun “Yeteri kadar öğretilmiyor” %45,8 (n=44) yönünde görüş bildirdiği görülmüştür.

Bu çalışma sonucu literatürü desteklemektedir. Arkan, Yılmaz ve Düzgün'ün²⁰ 2020 yılında hemşirelerin merhamet düzeylerinin değerlendirildiği çalışmada hemşirelerin merhamet seviyesinin orta düzeyde olduğu ve eğitim seviyesinin ise hemşirelerin merhamet düzeylerini etkilediği bulunmuştur. Özellikle hemşirelerin eğitim seviyesinin ve bakım verilen hastaya empati kurma durumlarının “bilinçli farkındalık” alt boyutunu ve ölçeğin toplam puan ortalamasını etkilediği bulunmuştur. Bununla birlikte lisansüstü mezunu ve bakım verdiği hastaya her zaman empati kuran hemşirelerin merhamet düzeyleri diğer hemşire-

lere göre daha yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla buradan eğitim seviyesinin ve empati duygusunun merhamet düzeyi üzerinde olumlu etkisi olduğu sonucuna varılabilir. Literatürde; empati kurma ile merhamet duygusu arasında yakın bir ilişki olduğu bildirilmektedir²¹⁻²³.

Ülkemizde ilgili literatür değerlendirildiğinde öğrencilerin merhamet düzeyini, hemşirelerin ise merhamet yorgunluğunu ölçen çalışmaların çoğunlukta olduğu fakat hemşirelerin merhamet duygusu ve düzeylerini inceleyen araştırmaların yeterli sayıda olmadığı dikkati çekmektedir. Sadece Arkan, Yılmaz ve Düzgün'ün 2020 yılında yaptığı çalışmada hemşirelerin merhamet düzeylerinin değerlendirilmiş ve hemşirelerin merhamet seviyesinin orta düzeyde olduğu belirlenmiştir²⁰. Sınırlı sayıda çalışma hemşirelere merhametin yeterli öğretilip öğretilmediğini değerlendirilmekte yeterli değildir. Hemşirelik öğrencileri üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde ise de şu sonuçlar ortaya çıkmıştır; Çingöl ve ark (2018)'larının 494 sağlık yükseköğrencisi üzerinde yaptığı çalışmada öğrencilerin merhamet düzeylerinin yüksek olduğu belirlenmiştir²⁴. Hacıkeleşoğlu ve Kartopu (2017) da beş ayrı fakültede öğrencilerin merhamet düzeyini incelemiştir. Araştırma sonucuna göre İlahiyat, Sağlık Bilimleri ve İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi öğrencilerinin diğer fakültele göre merhamet düzeylerini daha yüksek bulmuşlardır²⁵. Elde edilen bu bulgular eğitim süresince öğrencilere merhamet eğitimi verilmeye çalışıldığı fakat seviyesi ve düzeyi hakkında herhangi bir bilginin yer almadığı, hastanede çalışmaya başlayınca da merhamet hissinin zamanla merhamet yorgunluğuna dönüştüğü ifade edilebilir.

“Size göre merhametin gelişmesinde en etkili faktör nedir?” sorusu incelendiğinde, en fazla %34,4 (n=33) “Kültürel değerler” olduğu belirtilmiş ancak diğer seçeneklerin de yakın oranlarda olduğu görülmüştür.

Bu çalışma bulgusu Hacıkeleşoğlu ve Kartopu'nun 2017 yılında beş ayrı fakültede 490 öğrencinin merhamet düzeyinin incelendiği çalışma ile benzerlik göstermektedir. Çalışmada; namazlarını düzenli kılan, yaşamlarında dinin bir anlamı ve amacı olduğunu düşünen, toplumda yaşanan (kapkaç, rüşvet, hortumculuk gibi) birçok ahlaki sorunun dinî değerlerin yaygınlaştırılmasıyla çözülebileceğini düşünen, toplum içerisinde yaşanan bir takım sıkıntılara rağmen insanların mutlu olmalarının temelinde dinî duyguların bulunduğunu düşünen, doğruluk, yardımseverlik, fedakârlık gibi toplumsal ve kültürel değerleri önemseyen öğrencilerin merhamet düzeyinin diğer öğrencilere göre daha yüksek olduğu saptanmıştır²⁵. Kültürel değerler cevabı kadar yakın bir cevap alan diğer madde ise ailedir. Bu sonuç ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmasa da sonuç şaşırtıcı değildir. Çünkü insanlar aileleri, aileler toplumu oluşturduğu için merhamet duygusunun oluşmasında ailelerin yeri oldukça önemlidir.

Türkiye'deki Hemşirelerde Merhamet

“Lütfen en çok katıldığınız ifadeyi seçin” ifadesine ise yüksek oranda %56,3 (n=54) “Türkiye'deki hastalar tıbbi tedaviye merhametli bakımdan daha fazla değer veriyor” yanıtı verilmiştir.

Ülkemizde 2007 yılında 100.000 kişi başına düşen hekim sayısı 155 iken, bu oran 2012 yılında 173'e ve 2014 yılında 175'e yükselmiştir. Bu hızlı artışa rağmen Türkiye kişi başına düşen hekim sayısı bakımından 2012 yılı AB ortalama değeri olan 321'in oldukça gerisindedir. Ayrıca 2017 yılında 1.000 kişi başına düşen hemşire sayılarına bakıldığında OECD ortalamasının yaklaşık 8 hemşireden, 9 hemşireye yükselmiştir. İsviçre, Norveç, İzlanda, Finlandiya gibi ülkelerde bu oranın 14'ün üzerinde olduğu Türkiye'de ise 1.000 kişi başına 2.4 hemşire düştüğü belirlenmiştir. Bu kısıtlı ulaşım ülkemizde medikal tedaviyi daha değerli ve önemli hale getirmiştir²⁶.

Çoktan seçmeli soruların sonucunu oluşturan “Türkiye'deki hastalar aşağıdaki hangi özelliğe sahip olan hemşireler tarafından bakılmayı tercih eder?” sorusuna ise, bir kişi cevap vermemiş geri kalanların büyük çoğunluğu %81,3 (n=78) “iyi kişilerarası becerilere sahip bilgili hemşireler” şeklinde cevap vermiştir.

Bütün kişiler arası ilişkiler iletişime dayalı olarak gerçekleşmektedir. Hemşire de hem tedavi edici hem koruyucu hizmet alanlarında çalışırken bireylerle doğrudan iletişime girmektedir. Hemşirenin hastayla veya sağlıklı bireyle kurduğu mesleki etkileşim yardım edici anlamda bir ilişkidir. İletişim, hemşirenin bireye ulaşma ve yardım işlevini yerine getirirken yararlandığı en önemli araçtır. Hasta ile kurulan olumlu iletişim hemşirelik bakımının niteliğini, hasta memnuniyetini, uyumunu ve iyileşmesini arttırmaktadır. Olumsuz iletişimin ise; hemşirelik uygulamalarını güçleştirdiği, ağrı kontrolünü engellediği, hastadan uzaklaştırdığı, hastanın doğru değerlendirilmesini ve gereksinimlerinin karşılanmasını engellediği belirlenmiştir^{27,28}.

Soru 5 (Türkiye'de hemşireler tarafından merhamet pratik alanda nasıl gösteriliyor?) ve soru 10 (Lütfen Türkiye'deki hemşirelerin merhametin anlamı ve kullanımına ışık tutabilecek her türlü yorum, tavsiye, görüş veya deneyiminizi paylaşınız) sorularına verilen cevaplar incelendiğinde, verilerin aşağıdaki başlıklarda gruplandığı belirlenmiştir;

Dokunmak: Sözsüz iletişimin bir biçimi olan fiziksel dokunuş terapötik iletişimin temel bir özelliğidir. Dokunma hemşireler ve hastalar arasındaki engelleri aşmak için bir güvence, rahatlık biçimi ve bir araç olarak kullanılabilir. Burada hemşirenin hastaya fiziksel bakım yaparken uyguladığı dokunmanın dışında merhametli bir şekilde elini tutması, sırtına veya başına dokunması yer almaktadır^{29,30}. Bu çalışmada da hemşireler dokunma yolu ile hastalara onların yanında olduklarını hissettirmenin merhameti göstermede kullandıkları bir yol olduğunu belirtmişlerdir. Litera-

tür incelendiğinde merhametin gösterilmesinde kültürel veya etnik farklılıklar olsa da dokunmanın önemli olduğu belirtilmiştir³¹⁻³³.

Dinlemek ve anlamak: Dinleme, muhtemelen sağlık becerilerinin en eskisidir ve hemşirelik bakımının tüm yönlerinin kritik bir bileşenidir. Bu nedenle hastalarla anlamlı etkileşimler kurmak, onların ne istediğini anlamak, hastaların refahını arttırmak ve bakım kalitesini yükseltmek için önemlidir^{34,35}. Hastaların sağlık profesyonellerinden en büyük beklentilerinin dinlenmek ve anlaşılacak olduğu belirtilmektedir³⁶. Yapılan çalışmalarda merhametin gösterilmesinde aktif dinlemenin önemine vurgu yapılmaktadır^{31,33}. Ayrıca, hemşirelik becerilerinin kişilerarası nitelikleri arasında hastaya kişi olarak ilgi duymak, arkadaş canlısı ve neşeli olmak ve etkili bir dinleyici olmak gerektiği belirtilmektedir³⁷. Bu bağlamda, Türkiye'deki hemşireler de merhameti göstermede hastayı dinlemenin ve anlamının önemli olduğunu bildirmişlerdir.

İletişim ve empati: İletişimin kendisi sağlık hizmetlerinde merhametin gösterilmesi için önemli bir araç olarak tanımlanmıştır³⁸. Özellikle hemşirenin başlattığı ve hastanın kendisini ve hikayesini anlatmaya, endişelerini anlatmaya teşvik edildiği etkili ve merhametli iletişim şekli hastanın duyulduğu bir ortamın yaratılmasına yol açarak hemşire ve hasta arasında anlamlı bir bağlantı kurulmasını sağlar. Bu da hemşirelerin erişilebilir görünmesine ve hastalar tarafından bir bakım eylemi olarak algılanmasını neden olur^{35,39}. Bu çalışmada da hemşireler empatinin, sözlü ve sözsüz iletişimin merhameti göstermede önemli olduğunu belirtmişlerdir. Özellikle sözsüz iletişimde hastayı konuşmaya teşvik ederken, gülümseme, göz teması kurma, başını sallama ve söz tonunun önemli olduğu belirtilmektedir⁴⁰. Türkiye'deki hemşireler de güler yüzlü olmanın, merhameti göstermede önemli bir araç olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde İran'da yapılan bir çalışmada da sözsüz duygusal davranışların ve başkalarıyla empatinin sevgi ve merhamet ifadesi olduğu aynı zamanda merhameti göstermede güler yüzlü olmanın önemli olduğu sonucuna ulaşılmıştır³¹. Bir başka çalışmada da hemşireler, mizah ve gülümseme ile hastalarla iyi ilişkiler kurabileceğine inandıklarını ifade etmişlerdir⁴¹.

Acılarını hafifletmek: Merhamet kavramı için yapılan tanımlamalardan biri “acıyı tanımak ve acıyı hafifletmek için harekete geçmek, ya da acı çeken ile bağlantıda olmaktır” şeklindedir⁴². Goetz ve arkadaşları (2010) ise merhameti şu şekilde tanımlamıştır: “Başkalarının acılarına tanıklık etmede ortaya çıkan ve daha sonra yardım etme arzusunun motive eden duygusu”¹. Schantz (2007) ise, “merhamet insanları sadece kabul etmekle kalmaz, aynı zamanda başkalarının acılarını anlamaya, acılarını hafifletmeye veya ortadan kaldırmaya da teşvik eder” diye merhamet kavramı analiz etmiştir². Bu nedenle hemşireler olarak, acı çekmenin ne olduğunu bilmek ve hasta tarafından

nasıl algılandığını anlamak ve onu hafifletmeye özen göstermek gerekir. Merhametli bir hemşire, acı çeken hastaların durumuna açık bir şekilde yanıt verir ve girişimlerini gerçekleştirir. Bu girişim sadece fiziksel acıyı değil aynı zamanda duygusal acıyı da anlamak ve hafifletmek olmalıdır⁴³. Çalışma sonucumuz Amerikan hemşireleri yapılan çalışma sonucu ile de benzerlik göstermektedir⁴⁴.

Yakın ilişki kurmak: Hasta-hemşire ilişkisi iki kişiyi kısa ya da uzunca bir süre ilişkiye sokar. Bu ilişki hemşirenin, hastanın bedensel, toplumsal ve duygusal esenliğine yararlı olacak biçimde mesleki bilgi ve becerilerini uygulama rolünü gerçekleştirdiği bir etkileşimi başlatır. Lewis (2003) hemşire-hasta ilişkisi geliştirme kavramını kendimizin ötesine geçmeyle ilişkilendirmektedir; bir kişinin bakış açılarını dinlemeyi seçmek ve başka biriyle ilişki içinde olmaya özen göstermeyi gerektirdiğini belirtmektedir⁴⁵. Bu ifade, bu çalışmada hemşirelerin zaman içinde ilişkinin gelişimi, ilişkinin derinliği ve merhametli bir ilişki ile gelen güven ve uyumun inşasından bahseden yanıtlar ile yeniden teyit edilmiştir. Ayrıca bu ilişkinin gelişiminde hastalara eşit davranmak gerektiği de vurgulanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada da hemşirelerin hastalara yakınlık hissinin merhamete yol açabileceğini belirtilmiştir⁴⁶.

Aagard, Papadopoulus ve Biles tarafından yapılan çalışmada hemşirelerin merhameti gösterme davranışlarını sırayla dinlemek, yakın ilişki kurmak, acıları hafifletmek, dokunmak olarak saptamışlardır⁴⁴. Ayrıca merhametin tanımının ve içeriğinin anlatıldığı çalışmalarda ise empati yapmak, acıyı hafifletmek, değer verme ve saygı göstermek, dinlemek ve anlamak üzerinde durulmuştur^{47,48}. Bu merhamet davranışların sıralamasının değişme nedeni ise insanların farklı kültürlerde yetiştiği ve yetiştikleri kültürler onların merhameti nasıl tanımlayacaklarını, nasıl ifade edeceklerini şekillendirmesinden kaynaklandığını düşünmektedir.

Merhametli bakım, hasta bakımının kalitesinde önemli rol oynar. Katılımcılar merhametin hasta bakımında önemli olduğunu ve iyileşmeye katkı sağladığını belirtmişlerdir. Bunun yanında hemşirelik eğitim programlarında merhamet konusunun yeterince ele alınmadığını ve bu konunun programlara daha fazla entegre edilmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Bu nedenle hem hemşirelik programlarında merhamet kavramına yer verilmesi hem de çalışma ortamlarında hizmet içi eğitimler ile bu kavramın desteklenmesi gerektiği söylenebilir. Aynı zamanda merhametin uygulanmasında ve gösterilmesinde kültürel farklılıklar da göz önüne alınarak kılavuzların hazırlanması önerilmektedir.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Middlesex Üniversitesi Sağlık Bilimleri Etik Komitesi

Onay Tarihi: 29.01.2014

Karar No: MHESC1401

Araştırmacı Katkı Beyanı: Fikir ve tasarım: Ö.A., B.A., C.Ö., İ.P.; Veri toplama ve işleme: Ö.A., C.Ö., İ.P.; Analiz ve verilerin yorumlanması: Ö.A., B.A., C.Ö., İ.P.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: Ö.A., B.A., C.Ö., İ.P.

Destek ve Teşekkür Beyanı: Bu makale için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

- Goetz JL, Keltner D, Simon-Thomas E. Compassion: an evolutionary analysis and empirical review. *Psychological Bulletin* 2010;136(3):351-374. <https://doi.org/10.1037/a0018807>.
- Schantz ML. Compassion: a concept analysis. *Nursing Forum* 2007;42(2):48-55. <https://doi.org/10.1111/j.1744-6198.2007.00067.x>
- Von Dietze E, Orb A. Compassionate care: a moral dimension of nursing. *Nursing Inquiry* 2000;7(3):166-174. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1800.2000.00065.x>
- Van Der Cingel M. Compassion and professional care: exploring the domain. *Nursing Philosophy* 2009;10(2):124-136. <https://doi.org/10.1111/j.1466-769X.2009.00397.x>
- Scott PA. Emotion, moral perception, and nursing practice. *Nursing Philosophy* 2000;1(2):123-133. <https://doi.org/10.1046/j.1466-769x.2000.00023.x>
- Dewar B, Pullin S, Tocheris R. Valuing compassion through definition and measurement. *Nursing Management* 2011;17(9):32-37. doi: 10.7748/nm2011.02.17.9.32.c8301
- Larson M. Cultural immersion and compassionate care in a study abroad course: the Greek Connection. *Journal of Compassionate Health Care* 2014;1(8). <https://doi.org/10.1186/s40639-014-0008-6>
- Attree M. Patients' and relatives' experiences and perspectives of 'good' and 'not so good' quality care. *Journal of Advanced Nursing* 2001;33(4):456-466. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2648.2001.01689.x>
- Papadopoulos I, Zorba A, Koulouglioti C, Ali S, Aagard M, Akman O,... et al. International study on nurses' views and experiences of compassion. *International Nursing Review* 2016;63(3):395-405. <https://doi.org/10.1111/inr.12298>
- Öner AH, Şengün F, Üstün B. Bakım: Kavram Analizi (Care: Concept Analyse). *DEUHYO ED* 2011;4(3):137-140. <http://hdl.handle.net/20.500.12397/4597> Erişim Tarihi: 24.0.2020
- Gilbert P. Compassion and cruelty: a biopsychosocial approach. In P. Gilbert (Ed), *Compassion: Conceptualisations, research and use in psychotherapy* 2005 (pp.9-74). London, England: Routledge.
- Sprecher S, Fehr B. Compassionate love for close others and humanity. *Journal of Social and Personal Relationships* 2005;22(5):629-651. <https://doi.org/10.1177/0265407505056439>
- Lee Y, Seomun G. Development And Validation Of An Instrument To Measure Nurses' Compassion Competence. *Appl Nurs Res*; 2016;30:76-82. <https://doi.org/10.1016/j.apnr.2015.09.007>
- Arlı ŞK, Bakan AB. The Factors Affecting Compassion and Intercultural Sensitivity among the Surgical Nurses. *STED*; 2018;27(4): 277-283.

Türkiye'deki Hemşirelerde Merhamet

15. Bloomfield J, Pegram A. Care, compassion and communication. *Nursing Standard* 2015;29(25):45. doi:10.7748/ns.29.25.45.e7653
16. Bray L, O'Brien MR, Kirton J, Zubairu K, Christiansen A. The role of professional education in developing compassionate practitioners: A mixed methods study exploring the perceptions of health professionals and pre-registration students. *Nurse Education Today* 2014;34(3):480-486. https://doi.org/10.1016/j.nedt.2013.06.017
17. Berman A, Snyder SJ, Frandsen G. Kozier and Erb's. Fundamentals of Nursing Concept, Process, and Practice. 10th ed. Edinburgh, Pearson Education Limited, 2016, pp. 425-429.
18. Dewar B, Nolan M. Caring about caring: Developing a model to implement compassionate relationship centred care in an older people care setting. *International Journal of Nursing Studies* 2013;50(9):1247-1258. https://doi.org/10.1016/j.ijnurstu.2013.01.008
19. Jo NO, Hong YS, Han SS, Eom YL. Attributes Perceived By Cancer Patients As A Good Nurse. *Clinical Nursing Research* 2006;11:149-162.
20. Arkan B, Yılmaz D, Düzgün F. Determination of Compassion Levels of Nurses Working at a University Hospital *Journal of Religion and Health* 2020;59:29-39. https://doi.org/10.1007/s10943-019-00786-x
21. Alan H. Merhamet Yorgunluğu ve Yönetici Hemşirenin Rolü. (Compassion fatigue and The Role of The Nurse Manager) *Journal of Health and Nursing Management* 2018;5(2):141-146. doi:10.5222/SHYD.2018.141
22. Dikmen Y, Aydın Y. Hemşirelerde Merhamet Yorgunluğu: Ne? Nasıl? Ne Yapmalı? *Journal of Human Rhythm* 2016;2:13-21.
23. Figley CR. Compassion Fatigue: Psychotherapists' Chronic Lack of Self Care. *J Clin Psychol* 2002;58:1433-1441. https://doi.org/10.1002/jclp.10090
24. Çingöl N, Çelebi E, Zengin S, Karakaş M. Bir Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü Öğrencilerinin Merhamet Düzeylerinin İncelenmesi. *Klinik Psikiyatri Dergisi* 2018;21:61-67. doi:10.5505/kpd.2018.65487
25. Hacıkelleoğlu H, Kartopu S. Merhamet ve Dindarlık: Üniversite Öğrencileri Üzerine Ampirik Bir Araştırma. *The Journal of Academic Social Science Studies* 2017;59:203-227. doi:http://dx.doi.org/10.9761/JASSS7234
26. OECD (2021), Nurses (indicator). doi: 10.1787/283e64de-en (Accessed on 13 April 2021)
27. Alison T, Carolyn M, Nick B. Nurses' Communication Skills: An Evaluation of the, *Journal of Advanced Nursing* 2001;36(3):2-10.
28. Suikkala A, Leino H. Nursing Student-Patient Relationship: A Review Of the Literature From 1984 to 1998, *Journal of Advanced Nursing* 2001;33(1):42-50. https://doi.org/10.1046/j.1365-2648.2001.01636.x
29. Davin L, Thistlethwaite J, Bartle E, Russell K. Touch in health professional practice: a review. *The Clinical Teacher* 2019;16(6):559-564. https://doi.org/10.1111/tct.13089
30. Kelly MA, Nixon L, McClurg C, Scherpbier A, King N, Dornan T. Experience of touch in health care: a meta-ethnography across the health care professions. *Qual Health Res.* 2018;28(2):200-212. https://doi.org/10.1177/1049732317707726
31. Babaei S, Taleghani F, Kayvanara M. Compassionate behaviours of clinical nurses in Iran: an ethnographic study. *International Nursing Review* 2016;63(3):388-394. https://doi.org/10.1111/inr.12296
32. Jenkins C, Lapelle N, Zapka JG, Kurent JE. End-of-life care and African Americans: voices from the community. *Journal of Palliative Medicine* 2005;8(3):585-592. https://doi.org/10.1089/jpm.2005.8.585
33. Kim S, Flaskerud JH. Cultivating compassion across cultures. *Issues in Mental Health Nursing.* 2007;28(8):931-934. https://doi.org/10.1080/01612840701528132
34. Shipley SD. Listening: A concept analysis. In *Nursing Forum.* 2010;45(2):125-134. https://doi.org/10.1111/j.1744-6198.2010.00174.x
35. Bloomfield J, Pegram A. Care, compassion and communication. *Nursing Standard* 2015;29(25):45. doi:10.7748/ns.29.25.45.e7653
36. Kagan PN. Feeling listened to: A lived experience of humanbecoming. *Nursing Science Quarterly.* 2008;21(1):59-67. https://doi.org/10.1177/0894318407310779
37. Stein-Parbury J. Communication. In Crisp J, Taylor C, Douglas C, Rebeiro G (Eds) *Potter and Perry's Fundamentals of Nursing.* Fourth ANZ Edition. Mosby Elsevier, 2013, Sydney, 193-216.
38. Sinclair S, Norris JM, McConnell SJ, Chochinov HM, Hack TF, Hagen NA, et al. Compassion: a scoping review of the healthcare literature. *BMC Palliat Care* 2016;15(6):2-16. doi 10.1186/s12904-016-0080-0
39. Chang Y, Lin YP, Chang HJ, Lin CC. Cancer patient and staff ratings of caring behaviors: relationship to level of pain intensity. *Cancer Nursing* 2005;28(5):331-339.
40. Kelley KJ, Kelley MF. Teaching empathy and other compassion-based communication skills. *Journal for Nurses in Professional Development* 2013;29(6):321-324. doi: 10.1097/01.NND.0000436794.24434.90
41. Dean RAK, Gregory DM. Humor and laughter in palliative care: an ethnographic investigation. *Palliative and Supportive Care* 2004;2:139-148. doi: 10.1017/S1478951504040192
42. Baillie L. An exploration of the 6Cs as a set of values for nursing practice. *British Journal of Nursing* 2017;26(10):558-563. https://doi.org/10.12968/bjon.2017.26.10.558
43. Ohlen J. Practical wisdom: Competencies required in alleviating suffering in palliative care. *Journal of Palliative Care* 2002;18(4):293-299. https://doi.org/10.1177/082585970201800408
44. Aagard M, Papadopoulou I, Biles J. Exploring compassion in US nurses: Results from an international research study. *Online Journal of Issues in Nursing* 2018;23(1) doi:10.3912/OJIN.Vol23No01PPT44
45. Lewis SM. Caring as being in nursing: Unique or ubiquitous. *Nursing Science Quarterly* 2003;16(1):37-43. https://doi.org/10.1177/0894318402239065
46. Hooper C, Craig J, Janvrin DR, Wetsel MA, Reimels E. Compassion satisfaction, burnout, and compassion fatigue among emergency nurses compared with nurses in other selected inpatient specialties. *Journal of Emergency Nursing* 2010;36(5):420-427. https://doi.org/10.1016/j.jen.2009.11.027
47. Pommier EA. The compassion scale. *Dissertation Abstracts International Section A: Humanities and Social Sciences* 2011;72:1174.
48. Neff KD. The development and validation of a scale to measure self-compassion. *Self and Identity* 2003;2(3):223-250. https://doi.org/10.1080/15298860309027

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Hipotalamusta İyonotropik Glutamat Reseptör Ekspresyonu: İmmunohistokimyasal Lokalizasyon Çalışması

Duygu GÖK YURTSEVEN¹, Gonca TOPAL², F. Zehra MİNBAŞY¹, Özhan EYİGÖR¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

² Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp-Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Merkezi sinir sisteminde (MSS) nöron fonksiyonlarının düzenlenmesinde çok çeşitli nörotransmitter madde rol oynar. Glutamat, hipotalamusta en önemli eksitator amino asit nörotransmitterlerden biri olarak yer alır ve nöronlar üzerindeki düzenleyici işlevini iyonotropik ve metabotropik olarak iki alt ailede sınıflandırılan reseptörlerine bağlanarak gerçekleştirir. Glutamatın bazı nöroendokrin nöronlar üzerinde etkili olduğu yapılan elektrofizyolojik ve farmakolojik çalışmalarla belirlenmiştir. Çalışmamız kapsamında, glutamaterjik innervasyonun histomorfolojik olarak desteklediği çalışmaların bulunmaması sebebiyle hipotalamik glutamat reseptör alt birimlerine odaklanılmıştır. İyonotropik glutamat reseptör alt birimlerinden AMPA (GluA1, GluA2, GluA3, GluA4), Kainik asit (GluK5, GluK1, GluK2, GluK3) ve NMDA'nın (GluN1, GluN2A) hipotalamustaki dağılımları immünohistokimya yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Dişi sıçanların beyin dokularından vibratom aracılığıyla alınan kesitler, hipotalamik nöronlardaki glutamat reseptör alt birimlerinin varlığı ve yoğunluğu açısından değerlendirilmiştir. Çalışmada, AMPA reseptörlerinden GluA1 ve GluA2'nin yaygın olarak hipotalamusta lokalize olduğu, GluA3 ve GluA4 immünoreaksiyonunun ise çok sınırlı olduğu; kainat reseptör alt birimlerinden GluK5'in çok yaygın olduğu ve GluK1/2/3 içeren nöronların daha az sayıda olduğu, NMDA reseptör alt birimlerinden GluN1'in ise hipotalamusta yoğun olarak bulunduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, bu çalışma ile hipotalamik birçok nöronun iyon spesifik iGluR kanallarını farklı miktar ve yoğunlukta eksprese edebildiği, bunun da hedef nöronların glutamat tarafından farklı şekilde düzenlenmesine izin verebileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Glutamat. Kainik Asit. AMPA. NMDA. Hipotalamus.

Iontropic Glutamate Receptor Expression in the Hypothalamus: An Immunohistochemical Localization Study

ABSTRACT

A wide variety of neurotransmitters play a role in the regulation of neuron functions in the central nervous system (CNS). Glutamate is the major excitatory amino acid neurotransmitter in the hypothalamus. Glutamate performs its regulatory function on neurons by binding to its receptors, which are classified in two subfamilies as ionotropic and metabotropic. It has been determined by electrophysiological and pharmacological studies that glutamate is effective on some neuroendocrine neurons. Due to the lack of studies supporting glutamatergic innervation histomorphologically, our study focused on hypothalamic glutamate receptor subunits. The distributions of AMPA (GluA1, GluA2, GluA3, GluA4), kainic acid (GluK5, GluK1, GluK2, GluK3) and NMDA (GluN1, GluN2A) in the hypothalamus, which are ionotropic glutamate receptor subunits, were investigated using the immunohistochemistry method. Sections taken by vibratome from brain tissues of female rats were evaluated for the presence and density of glutamate receptor subunits in hypothalamic neurons. It was determined that the AMPA receptors subunits GluA1 and GluA2 are highly expressed in the hypothalamus while the synthesis of GluA3 and GluA4 is too limited. Very high number of GluK5-immunoreactive neurons was detected, where the expression of GluK1/2/3 was moderate. GluN1A, one of the NMDA receptor subunits, was found to be densely localized in the hypothalamus. In conclusion, with this study, many hypothalamic neurons can express ion-specific iGluR channels in different amounts and intensities, which would allow a differential regulation of the target neurons by glutamate.

Key Words: Glutamate. Kainic Acid. AMPA. NMDA. Hypothalamus.

Geliş Tarihi: 20. Temmuz. 2021

Kabul Tarihi: 19. Ağustos. 2021

Dr. Özhan EYİGÖR
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,
Bursa.
Tel.: 0224 295 40 65
E-posta: oeyigor@uludag.edu.tr

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Duygu GÖK YURTSEVEN: 0000-0003-4969-3584
Gonca TOPAL: 0000-0003-0426-2684
Zehra MİNBAŞY: 0000-0001-5757-8450
Özhan EYİGÖR: 0000-0003-3463-7483

Glutamat memeli merkezi sinir sisteminde (MSS) yerleşik nöronların regülasyonunda rol alan başlıca eksitator amino asit nörotransmitterdir¹. Bilinç, öğrenme ve hafıza gibi normal beyin fonksiyonların yanı sıra MSS'nin gelişiminde, sinaps iletimi ve eliminasyonu, hücre göçü, farklılanması ve ölümünde de major rol oynadığı bildirilmiştir². Glutamat konsantrasyonunun en fazla olduğu yer sinir terminallerinin içidir³. Glutamat, presinaptik terminallerdeki veziküllerden voltaj bağımlı Ca²⁺ kapılarının bulunduğu mekanizma ile salınır⁴. Glutamat sinaptik aralığa salınır salınmaz, pre- ya da post-sinaptik membrandaki reseptörlerine bağlanır ve onları aktive eder⁵. Glutamat aracılı nörotransmisyon, iyonotropik (iyon kanalı reseptörleri) ve metabotropik reseptörler (G-protein-bağlı reseptörler) üzerinden gerçekleşir^{1,6,7}.

İyonotropik glutamat reseptörleri, hızlı eksitator postsinaptik potansiyel oluşturarak nöronal depolarizasyon yaparken metabotropik reseptörler, nörotransmisyonunda modülatör olarak işlev görmektedir⁸. İyonotropik glutamat reseptörleri, farklı glutamat agonistlerine verdikleri yanıtlar karşılaştırılarak 3 alt gruba ayrılmaktadır; Kainat (KA, 2-karboksi-3-karboksimetil-4-izopropenilpirolidin), AMPA (α -amino-3-hidroksi-5- metil-4-isoksazol propionik asit)/ quisqualate ve NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptörleri⁹⁻¹¹. Bu reseptörlerin en ilgi çekici özelliklerinden biri, memeli beyindeki ekspresyon profilleri ile alt birim kompozisyonuna dayanan kanal özelliklerinin çeşitliliğidir. AMPA reseptörleri GluA1-4, kainat reseptörleri GluK1-5 ve NMDA reseptörleri GluN1, GluN2A-D, GluN3A-B alt birimlerinden oluşur^{9,11}. Bu alt birimler homomerik (tek bir alt birim) ya da heteromerik (birden fazla farklı alt birim kombinasyonu) olarak iyon kanalları oluştururlar ki bunlar fonksiyonel reseptör kanallarıdır¹²⁻¹⁴. Farklı reseptör grubuna ait iyon kanallarının glutamatın farklı fizyolojik etkilerinde aracı olduklarını belirleyen çalışmalar vardır^{15,16}. Bu nedenle glutamaterjik innervasyon alan nöron gruplarında eksprese olan farklı reseptör alt birimlerinin belirlenmesi önem kazanmaktadır.

Hipotalamus farklı organların fizyolojik yanıtlarını koordine ederek homeostazın sağlanmasından sorumlu beyin bölgesidir. Bunu gerçekleştirirken dış çevreden gelen, diğer beyin bölgelerinden alınan ve viseral afferentlerle ulaşan sinyalleri entegre eder ve böylece uygun bir nöroendokrin yanıtın ortaya çıkmasını sağlar. Bunun sonucunda hipotalamus organizmanın besin ve sıvı alımı dengesi, enerji kullanımı, vücut ağırlığı, kan basıncı, susama, vücut ısısı ve uyku döngüsü gibi birçok günlük fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar¹⁷. Hipotalamik fonksiyonların gerçekleşmesinde nörosekretuar ya da nöroendokrin hücreler (nöronlar) rol alırlar. Bu nöronlara ait hücre gövdeleri hipotalamus içerisinde çok sayıda gruplar oluştururlar. Glutamatın hipotalamik nöroendokrin nöronlar üzerindeki düzenleyici etkisi bilinmektedir¹⁸.

Literatürde hipotalamik nöronların glutamat reseptörlerini eksprese ettiklerine dair raporların olmasına rağmen, bu çalışmalar glutamat reseptörlerinin tüm alt ailelerini ya da alt ailelerin her alt birimini kapsamamaktadır. Hipotalamik nöronların glutamaterjik etkileşiminde yer alma olasılığı olan reseptör alt birimlerinin tümünü kapsayan ve ayrıca hipotalamik çekirdekler özelinde lokalizasyonlarını bir bütün olarak tanımlayan bir çalışma literatürde yoktur. Bu çalışmada; hipotalamik nöronlardaki glutamat reseptör ailelerinin tüm alt birimlerinin protein düzeyindeki ekspresyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak iyonotropik reseptörlerden kainat (GluK5, GluK1, GluK2, GluK3), AMPA (GluA1, GluA2, GluA3, GluA4) ve NMDA (GluN1, GluN2A) alt birimlerinin hipotalamustaki lokalizasyonları ile hipotalamik çekirdeklerdeki yoğunlukları immünohistokimyasal yöntem kullanılarak araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Çalışmada, 200-250 gr ağırlığında erişkin (2-3 aylık) Sprague Dawley cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar 25 °C oda ısısında, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık (07.00-19.00 arası aydınlık) dönemler şeklinde ayarlanmış ortamda tutulup, ad libitum olarak beslendi. Çalışmada kullanılan deney hayvanları, Uludağ Üniversitesi Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi'nin 19.04.2005/1 sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak kullanıldı.

Dokuların Hazırlanması

Herhangi bir enjeksiyon yapılmayan 10 dişi denek, derin eter anestezisi altında 0.13 M fosfat tamponu^a ile hazırlanan %4 paraformaldehitin^b kullanıldığı transkardiyak perfüzyon fiksasyonu yöntemi kullanılarak sakrifiye edildi. Bu yöntemde deneklerin göğüs kafesleri açılarak kateter kalp apeksinden aortaya yerleştirildi ve sabitlendi. Deneklerin kan basıncına uygun şekilde ayarlanan perfüzyon pompasına bağlı bu kateter yardımıyla öncelikle deneklerin dolaşım sistemleri %0.9 serum fizyolojik (NaCl, 150 ml) kullanılarak temizlendi, sonrasında denek başına taze hazırlanmış 400 ml fiksatif ile perfüzyon fiksasyon işlemi gerçekleştirildi. Perfüzyon sonrası çıkarılarak aynı fiksatifte +4°C'de gece boyu post-fiksasyon uygulanan beyinlerden vibrotom ile 30-50 μ m'lik koronal kesitler alındı. Hipotalamusun rostra-kaudal ekseninin tamamını içerecek şekilde alınan kesitler 5 seri halinde Tris-HCl tampon solüsyonu^c (pH 7.6) içine toplandı. Tris-HCl solüsyonunda 3x10 dk. yıkanarak fiksatiften arındırılan kesitler kriyoprotektan madde^d içinde -20°C'de saklandı.

Hipotalamusta Glutamat Reseptör Ekspresyonu

İmmünohistokimyasal İşlemler

İmmünohistokimyasal işlemlerin tümü cam sintilasyon viallerindeki yüzen kesitlere uygulandı. İmmünohistokimya uygulaması öncesinde kesitler -20°C'den oda sıcaklığına çıkartılarak solüsyon sıcaklığının ortam ısısına yükselmesi beklendi. Takiben, kriyoprotektan maddeden arındırılmak üzere kesitler tampon ile yıkandı. Çalışmanın tüm aşamalarında tampon madde olarak Tris-HCl solüsyonu kullanıldı. Tamponda yıkama ve inkübasyon işlemleri, orbital sallayıcı yardımı ile uygun ajitasyonla gerçekleştirildi. Kriyoprotektan arındırılan kesitlere spesifik olmayan bağlanmayı azaltmak için bloklayıcı tampon uygulandı. Çalışmada kullanılacak tüm sekonder antikorların eşekte üretilmiş olması nedeniyle bloklayıcı ajan olarak normal at serumu seçildi. Bloklayıcı tampon, Tris-HCl tamponunda, %10 normal at serumu (Sigma, Cat No: H1138, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), bakteri oluşumunu engelleyen %0.1 sodyum azid (BDH, Prod. No: 30111, BDH Laboratory Supplies, Poole, İngiltere) ve yüzey gerilimini azaltıp antikorların hücre içine girişini kolaylaştıran %0.2 Triton-X 100 (BDH, Prod. No: 43700, BDH Laboratory Supplies, Poole, İngiltere) içerecek şekilde hazırlandı. Bloklama işlemini primer antikor inkübasyonu takip etti. Kullanılan tüm primer ve sekonder antikorlar bloklayıcı tampon ile sulandırıldı. Primer antikor inkübasyonunu takiben yıkanan kesitler uygun sekonder antikorlar içeren solüsyona alındı ve uygun sürelerde inkübe edildi. İşaretleme için kromojen solüsyonu kullanılacak kesitler üreticisinin verdiği bilgilere göre Tris-HCl tamponda avidin-biotin solüsyonunda (ABC Elite Kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA) inkübe edildi. Oluşan kompleksi görünür hale getirmek amacıyla kesitlere son işlem olarak kromojen madde uygulaması yapıldı. Avidin-biotin kompleksi peroksidad enzimi ile işaretli olduğu için kromojen madde olarak diaminobenzidine (DAB, Sigma, D5637, St. Louis, MO) seçildi. Kromojen solüsyonu, 100 ml Tris-HCl tamponda, 50 mg DAB ve 5 µl hidrojen peroksit eklenerek hazırlandı. Kesitler bu son aşamadan sonra yıkanarak lamlara alındı. Kuruyan kesitler ışık mikroskopi inceleme öncesi DPX ile kapatıldı. Bu çalışmalar sırasında test edilen

antikorlar için belirlenen optimum dilüsyonlar Tablo I'de özetlenmiştir.

Tablo I. Çalışmada kullanılan antikorların özellikleri

Test Edilen Antikor	Optimum Dilüsyonlar	Optimum Inkübasyon Süresi	Sıcaklık	Tedarikçi Firma	Katalog Numarası
Tavşan anti-GluA1	1:1000	48 saat	+4 °C	Chemicon	AB1504
Fare anti-GluA2	1:1000	24 saat	+4 °C	Chemicon	MAB397
Fare anti-GluA3	1:1000	72 saat	+4 °C	Chemicon	MAB5416
Tavşan anti-GluA4	1:500	72 saat	+4 °C	Chemicon	AB1508
Tavşan anti-GluK5	1:2000	Tüm gece	+4 °C	Jennes & Eyigor	antikor referans no: R52-4
Fare anti-GluK1/2/3	1:2000	48 saat	+4 °C	Chemicon	MAB379
Mouse anti-GluN1 (IgG)	1:500	48 saat	OS	Pharmin-gen	556,308
Mouse anti-GluN2A (IgG)	1:2000	48 saat	OS	Millipore	MAB5216

OS: oda sıcaklığı

Hipotalamusta AMPA (GluA1, GluA2, GluA3, GluA4), Kainat (GluK5 ve GluK1/2/3) ve NMDA (GluN1, GluN2A) Reseptör Dağılımlarının Belirlenebilmesi İçin İmmünohistokimya Boyama Protokolü

Kriyoprotektan çıkarılan kesitler Tris-HCl tamponda 3x10 dk. yıkanarak zemin boyanmasının maskeleyenmesi amacıyla %10'luk normal at serumu ile 2 saat süreyle inkübe edildi. Primer antikor uygulamasında kesitler tablo I'de verilen dilüsyon ve sürelerde inkübe edildi. Tris-HCl tamponu ile 3x10 dk. yıkamanın ardından kesitler, kullanılan primer antikorunu tanıyan ve biyotin konjuge sekonder antikorlar (1:100-1:200; Jackson Immuno Research Laboratories, Inc. West Grove, PA) ile 2 saat inkübe edildi. Sekonder antikordan Tris-HCl tamponunda yıkama ile arındırılan kesitler avidin-biotin kompleksi (ABC Elite Kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA) solüsyonu ile 1 saat süreyle inkübe edildi. Yıkamanın ardından, kesitlere substrat kromojen solüsyonu (DAB) uygulandı. Tris-HCl tamponu ile yıkanan kesitler lamlara alınıp kurutuldu. Kuruyan kesitler ışık mikroskopi inceleme öncesi DPX ile kapatıldı.

- ^a **Sorenson'un Fosfat Tamponunun Hazırlanışı.** Solüsyon A [Na₂HPO₄12H₂O (0.13 M), (Merck, CAS no:10039-32-4, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya)] 46.54 g/lit, Solüsyon B [KH₂PO₄ (0.13 M), (ChemCruz, CAS no:7778-77-0, sc-203211, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Dallas, TX.)] 17.68 g/lit. Her iki solüsyon buzdolabında saklanır. Solüsyon A üzerine solüsyon B eklenerek pH 7.4'e ayarlanır.
- ^b **%4 Paraformaldehit Hazırlanışı.** 100 ml distile suda 40 gr paraformaldehit (Merck, Cat. No: 104005, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) magnetik karıştırıcı ve ısıtıcı üzerinde 58°C'ye kadar ısıtılarak çözülür. Sıcaklık kesilir. 1 N NaOH (Merck, CAS1310-73-2, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) ilave edilir ve solüsyon berraklaşınca kadar karıştırılır. Filtre kağıdından süzülür. Fosfat tamponu ile 1 lt'ye tamamlanır. pH ölçümü yapılarak konsantrite hidroklorik asit ya da 1 N NaOH ile son pH 7.4'e ayarlanır.
- ^c **Tris Tamponu (0.05 M) Hazırlanışı.** Trizma base (Merck, Cat. No: 108387, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) 6 g, distile su 1000 ml. Konsantrite hidroklorik asit ile pH 7.6'ya ayarlanır.
- ^d **Kriyoprotektan Hazırlanışı.** 0.05 M Tris tamponu (500 ml), sükröz (BDH, Prod. No: 302997, BDH Laboratory Supplies, Poole, İngiltere) (300 g), etilen glikol (Sigma-Aldrich, Lot# STBH2872, Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, MO) (300 ml) ve polivinilprolidon (Amresco, Cat. No: 1512B22, Solon, OH) (10 g). Maddeler verilen sıraya göre eklenir. Distile su ile 1 litreye tamamlanır.

Preparatların İncelenmesi

İmmünoperoksidaz boyaması yapılan kesitlerin incelenmesi, Olympus BX-50 fotomikroskopta 40X objektif kullanılarak dijital kamera (Olympus DP71 CCD color camera, 1,5 million pixel, Tokyo, Japonya) ile bilgisayar ekranına alınan görüntüler üzerinde anında tarama yapılarak gerçekleştirildi. Çalışmalar kapsamında yapılan tekli işaretlemeler sonucu hazırlanan kesitlerin koordinatları sıçan beyin atlasına¹⁹ göre belirlendi. Supraoptik çekirdek (SON) için bregma – 0.48 mm ile –1.44 mm, paraventriküler çekirdek (PVN) için bregma –1.32 mm ile –1.92 mm, lateral hipotalamus (LH) için ise bregma –2.04 mm ile –3.60 mm koordinatları arasındaki kesitler seçildi. Bu aralıklarda rostrakaudal düzlemde hipotalamusun 5 farklı seviyesinden alınan kesitlerde inceleme yapıldı. Kesitlerin birbirine eşit uzaklıkta (lateral hipotalamusta 350 µm'lik aralıkla) ve her denek için aynı koordinatta olmasına dikkat edildi. Kesitler, hipotalamik nöronlardaki iyonotropik glutamat reseptör alt birimlerinin varlığı ve yoğunluğu açısından semikantitatif olarak değerlendirildi (Tablo II). Belirli bir hipotalamik çekirdekteki nöronların çoğu ilgili alt birimi eksprese ediyorsa “+++”, orta düzeydeki ekspresyon için “++”, hafif düzeyde ekspresyon varsa “+” ve immünopozitifliğin olmadığı bölgeler için “–” olacak şekilde immünoperoksidaz reaksiyonların yoğunlukları sınıflandırıldı.

Bulgular

Bu çalışmada, glutamat reseptör alt birimlerinin hipotalamustaki yerleşim özellikleri ile hipotalamik çekirdeklerdeki yoğunlukları immünohistokimyasal yaklaşımla araştırıldı.

AMPA Reseptörleri

Yapılan immünoperoksidaz boyamalarında hipotalamusta GluA1, GluA2, GluA3 ve GluA4 alt birimlerine ait immünoreaksiyonun mikroskopik olarak değerlendirilmesiyle bu alt birimlerin dağılım paterni belirlendi. Buna göre GluA1 ve GluA2'nin hipotalamusta daha yoğun olarak yer aldığı, GluA3 ve GluA4'ün çok daha az sayıda nöronda eksprese olduğu ve seçici bir dağılım gösterdikleri tespit edildi.

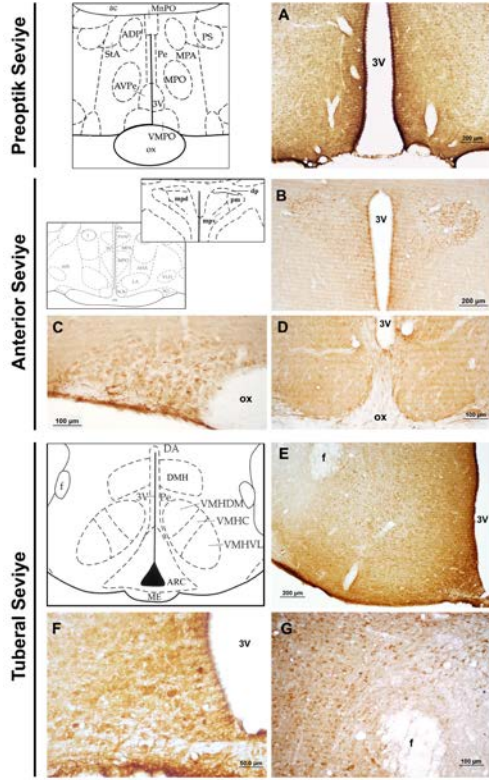
GluA1: GluA1 immünoreaktif hücelere preoptik bölgede anteroventral periventriküler nukleus (AVPe) ve medial preoptik nukleusda (MPO) rastlandı. İşaretli nöronlar AVPe'de orta yoğunlukta izlenirken MPO'da çok sayıda nöron görüldü. Median preoptik nukleusda (MnPO) az ile orta yoğunlukta işaretli nöron vardı (Şekil 1A). Anterior hipotalamik bölge incelendiğinde, PVN'de özellikle magnosellüler nöronların bulunduğu kısımlarda yoğun GluA1 işaretlenmesi gözlemlendi (Şekil 1B). SON'de çok sayıda nöronun GluA1-pozitif olduğu belirlendi (Şekil 1C). Suprakiazmatik çekirdekte (SCN) yoğun aksonal boyanma izlenirken az sayıda nöron gövdesinin immünoreaktif olduğu tespit edildi (Şekil 1D). Ventromedial çekirdekte (VMH) yaygın işaretli hücre gözlenirken, çekirdeğin özellikle dorso-medial ve santral bölümlerinde ventrolateral kısmına göre daha yoğun sayıda immünoreaktif hücre belirlendi (Şekil 1E). Arkuat çekirdekte (ARC) az sayıda, ancak sitoplazmik antijen-antikor reaksiyonunun yoğun olduğu bölgede GluA1-pozitif nörona rastlandı (Şekil 1F). Lateral hipotalamus incelendiğinde perifornikal alanda yoğunlaşmış GluA1-pozitif nöronlar görüldü (Şekil 1G).

Tablo II. Glutamat reseptör alt birimlerinin hipotalamik çekirdeklerdeki dağılımları ve immün reaksiyon düzeyleri

Hipotalamik Bölgeler	AMPA Reseptör Alt Birimi				Kainat Reseptör Alt Birimi		NMDA Reseptör Alt Birimi	
	GluA1	GluA2	GluA3	GluA4	GluK5	GluK1/2/3	GluN1	GluN2A
Preoptik Seviye								
Median preoptik nukleus (MnPO)	++	–	–	–	+++	+	+++	–
Anteroventral Periventriküler Nukleus (AVPe)	++	++	+	–	+++	+++	+++	–
Medial Preoptik Nukleus (MPO)	+++	++	+	–	++	+	+++	–
Lateral Preoptik Alan	–	–	–	–	–	–	–	–
Anterior Seviye								
Anterior Periventriküler Nukleus (APeV)	–	+	–	–	–	+	+++	–
Suprakiazmatik Nukleus (SCN)	+	++	+	–	+	+	+++	–
Paraventriküler Nukleus (PVN)	+++	++	–	–	+++	++	+++	–
Supraoptik Nukleus (SON)	+++	++	+	+	+++	+++	+++	–
Lateral Hipotalamik Alan (LH)	–	–	–	–	–	–	–	–
Tuberal Seviye								
Arkuat Nukleus (ARC)	++	+	+	+	+++	+++	+	–
Ventromedial Nukleus (VMH)	+++	+	+	–	+++	+++	+	–
Dorsomedial Nukleus (DMH)	–	+	–	–	++	–	+	–
Lateral Hipotalamik Alan (LH)	+++	–	–	–	+++	–	+++	–

Yoğun düzeydeki ekspresyon için “+++”, orta düzeydeki ekspresyon için “++” ve hafif düzeydeki ekspresyon için “+”, immünopozitifliğin olmadığı bölgeler için “–” ifadeleri kullanılmıştır.

Hipotalamusda Glutamat Reseptör Ekspresyonu



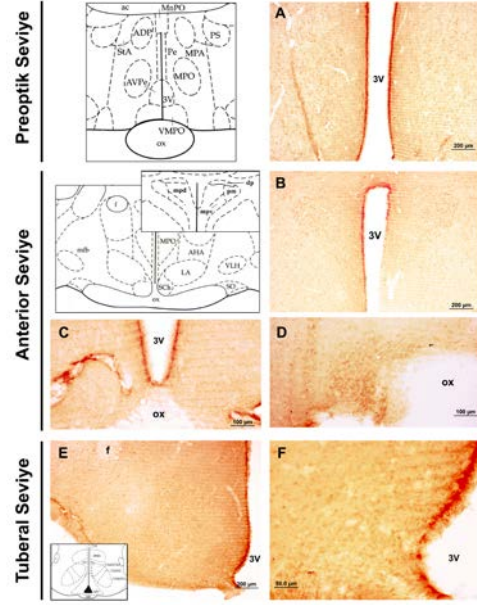
Şekil 1.

Hipotalamusun farklı seviyelerindeki GluA1 immünreaktivitesi. (A) Preoptik bölgedeki AVPe, MPO, MnPO'da lokalize GluA1-pozitif nöronlar görülmektedir. Anterior hipotalamusta PVN'de özellikle magnosellüler nöronların bulunduğu kısımlarda (B), SON'de (C) ve SCN'ta (D) yoğun GluA1 işaretlenmesi izlenmektedir. Mediobazal hipotalamusta VMH'da (E), arkuat çekirdekte (F) ve lateral hipotalamusun perifornikal alanında (G) yoğunlaşmış GluA1-immünreaktivitesi belirlenmiştir. 3V: Üçüncü ventrikül, f: forniks, ox: optik kiazma, ME: median eminens.

GluA2: Hipotalamusun preoptik bölgesinde AVPe'de orta düzeyde bir GluA2 ekspresyonu izlendi. MPO'da GluA2-pozitif nöron sayısının daha fazla olduğu ancak nöronlardaki immün reaksiyonun orta düzeyde kaldığı belirlendi. Az sayıda işaretli nörona periventriküler alanda rastlandı (Şekil 2A). Anterior hipotalamus seviyesi incelendiğinde, PVN'de (Şekil 2B) biraz daha fazla olmakla birlikte SCN (Şekil 2C) ve SON'de (Şekil 2D) orta düzeyde nöron yoğunluğu görüldü. Mediobazal hipotalamusta dorsomedial (Şekil 2E) ve arkuat (Şekil 2F) çekirdeklerde az sayıda nörona rastlandı. Ventromedial çekirdekte ise dağınık yerleşimli nöronlar görüldü (Şekil 2E-F).

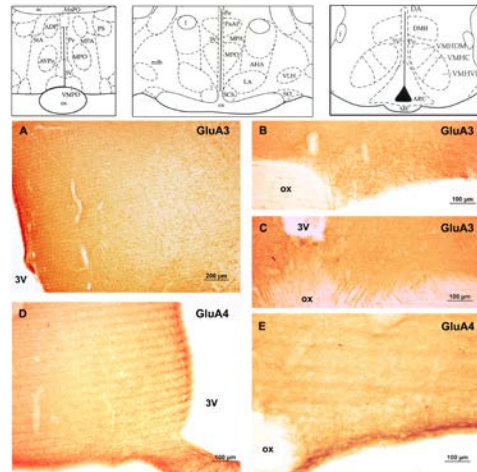
GluA3: Çok az sayıda ve dağınık yerleşimli GluA3-pozitif nörona AVPe, MPO, SON, SCN, ARC, VMH ve dorsomedial hipotalamusta (DMH) rastlandı (Şekil 3A-C). Lateral hipotalamus da dahil olmak üzere diğer alanlarda işaretli nöron görülmedi.

GluA4: GluA4 içeren nöronlara çok az sayıda arkuat (Şekil 3D) ve supraoptik (Şekil 3E) çekirdeklerde rastlandı.



Şekil 2.

Hipotalamusun farklı seviyelerindeki GluA2 immünreaktivitesi. Preoptik hipotalamik alanda yer alan AVPe, periventriküler çekirdek (Pe) ve MPO'da (A) lokalize GluA2-pozitif nöronlar görülmektedir. Anterior seviyedeki PVN (B), SCN (C) ve SON'de (D) GluA2 ekspresyonu izlenmektedir. Tuberal seviyede dorsomedial ve ventromedial çekirdek (E) ile arkuat çekirdekte (F) GluA2 alt birimini ekspresyon eden hücreler görülmektedir. 3V: Üçüncü ventrikül, f: forniks, ox: optik kiazma.



Şekil 3.

Hipotalamusun farklı seviyelerindeki GluA3 ve GluA4 immünreaktivitesi. GluA3 ekspresyonunun sınırlı olduğu, çok az sayıda nöronun AVPe (A), SON'de (B) ve SCN'de (C) yerleştiği izlenmektedir. GluA4 ekspresyonuna ise ARC (D) ile SON'deki (E) birkaç nöronda rastlanmıştır. 3V: Üçüncü ventrikül, ox: optik kiazma.

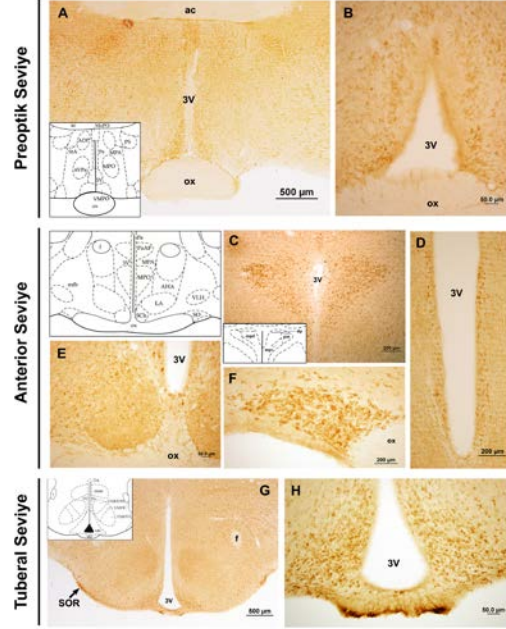
Kainat Reseptörleri

Hipotalamusta kainat reseptörlerinden GluK5'in çok sayıda nöronda eksprese olduğu ve yoğun bir dağılım özelliği gösterdiği belirlendi. Düşük afiniteli kainat reseptör alt birimleri olan GluK1, GluK2 ve GluK3'ün belirlenmesi için her üç alt birimi de tanıyacak bir ortak sekanstan elde edilen GluK1/2/3 antikoru ile yapılan boyamalarda, bu antikorun da hipotalamusta yerleşik nöronlarda immün reaksiyon verdiği ve dağılımının yaygın olduğu belirlendi.

GluK5: GluK5 reseptör alt birimine ait immün reaksiyon gösteren nöronlara tüm hipotalamik çekirdeklerde ve alanlarda rastlandı. Preoptik bölgede, en yoğun GluK5-pozitif nöron grupları MnPO'da (Şekil 4A) ve AVPe'de (Şekil 4B) yerleşti. MPO'da (Şekil 4A) orta yoğunlukta ve alana dağılmış şekilde lokalize, ancak güçlü immün reaksiyon veren nöronlar tespit edildi. Anterior hipotalamusta, PVN'de hem parvosellüler hem de magnosellüler kısımlarında çok sayıda immünopozitif nöron izlendi. Magnosellüler nöronların GluK5 ekspresyonunun parvosellüler nöronlara göre daha fazla olduğu tespit edildi (Şekil 4C). Bu seviyede, üçüncü ventrikül çevresindeki periventriküler alanda GluK5 içeren nöronlar görüldü (Şekil 4D). SCN'de çok az sayıda GluK5-pozitif nörona rastlandı (Şekil 4E). Çekirdeğin hemen çevresinde medial alanda dağınık yerleşimli GluK5'i eksprese eden nöronlar görüldü. SON'de çok sayıda GluK5 içeren ve sitoplazmik GluK5 miktarı fazla olan nöron gözlemlendi. Bu nöronların magnosellüler nöronlar olduğu belirlendi (Şekil 4F). Mediobazal bölgede en yoğun GluK5-pozitif nöron içeren çekirdeğin ARC'de olduğu belirlendi. Median eminensin dış zonundaki aksonal yapılarda yoğun GluK5 boyaması görüldü (Şekil 4H). VMH'nin anteromedial kısmında işaretli nöron sayısı fazla iken posterolateral kısmında daha az sayıda GluK5 eksprese eden nöron saptandı. Supraoptik retrokiazmatik çekirdekteki (SOR) nöronlarda da yoğun GluK5 reaksiyonu görülmektedir (Şekil 4G). Lateral hipotalamik alanda dağınık olarak yayılmış nöronların yanı sıra özellikle perifornikal bölgede GluK5 nöronlarının yoğunlaştığı ve belirgin bir sayıya eriştiği görüldü. Dorsomedial hipotalamik çekirdekte orta düzeyde bir ekspresyon ve işaretli nöron sayısı belirlendi (Şekil 4G).

GluK1/2/3: Hipotalamusta GluK5-pozitif nöronlar kadar çok olmamakla birlikte, kainat reseptör alt birimlerinden GluK1, 2, 3'ü tanıyan antikor ile işaretli çok sayıda nöron tespit edildi. Preoptik alanda, nöronların AVPe'de yoğunlaştığı daha az miktarda hücrenin ise MnPO ve MPO'da lokalize olduğu belirlendi (Şekil 5A, B). PVN'de posterior magnosellüler, medial parvosellüler ve dorsal parvosellüler bölümlerde belirgin, medial parvosellüler alanda ise daha az sayıda nöronun GluK1/2/3-pozitif olduğu görüldü (Şekil 5C). SON'de magnosellüler nöronların çoğunda yoğun sitoplazmik tutulum izlendi (Şekil 5E). SCN'nin ante-

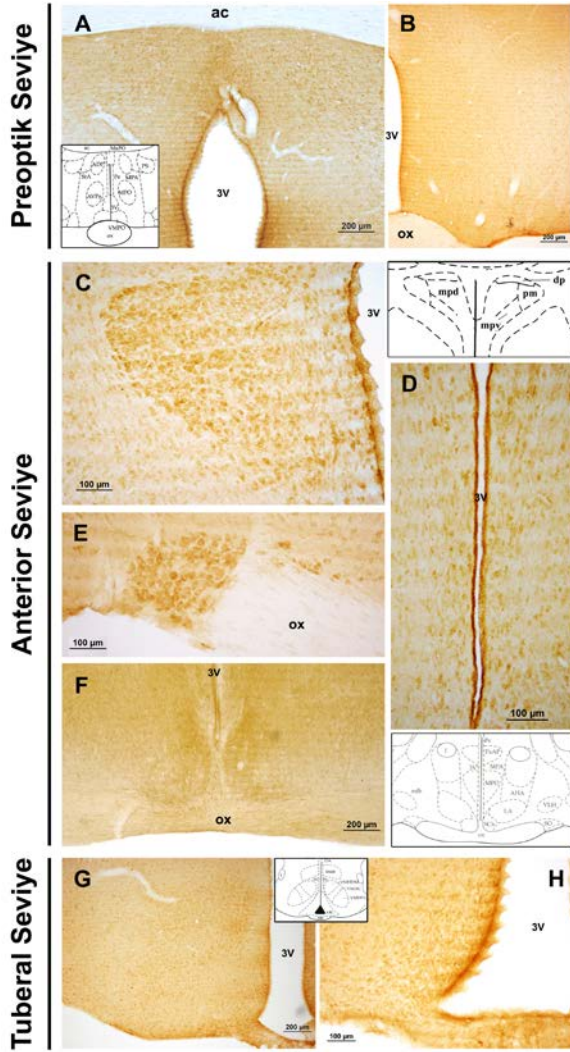
rior kısmında çok az sayıda nöron görülürken, posteromedial yerleşimli belirgin immünoreaktif akson varlığı tespit edildi (Şekil 5F). Anterior periventriküler çekirdekte (APeV) dağınık yerleşimli immünopozitif nöronlar belirlendi (Şekil 5D). Mediobazal hipotalamusta ise VMH (Şekil 5G) ve arkuat çekirdekte (Şekil 5H) çok sayıda GluK1/2/3'ü eksprese eden nöron gözlemlendi.



Şekil 4.

Hipotalamusun farklı seviyelerindeki GluK5 immünreaktivitesinin dağılımı. En yoğun GluK5-pozitif nöron içeren preoptik bölge çekirdekleri olarak MnPO (A) ve AVPe (B) görülmektedir. Üçüncü ventrikülün lateralinde yer alan MPO'da (A) orta yoğunlukta ve alana dağılmış nöronlar izlenmektedir. Anterior hipotalamus bölgesindeki PVN'de magnosellüler nöronlar daha belirgin olmak üzere parvosellüler nöronların büyük bir kısmında GluK5 immün reaksiyonu izlenmektedir (C). Üçüncü ventrikül çevresindeki periventriküler alanda GluK5-pozitif nöronlar izlenmektedir (D). SCN'de çok az sayıda GluK5-pozitif nörona rastlanırken, çekirdeğin medialine komşu çok sayıda GluK5 nöronu görülmektedir (E). SON'in çok sayıda GluK5-pozitif nöron içerdiği, bu nöronlarda yoğun reaksiyon olduğu görülmektedir. Nöron büyüklükleri itibariyle işaretli nöronların magnosellüler nöronlar olduğu anlaşılmaktadır (F). Mediobazal hipotalamusta yerleşik arkuat çekirdekte yoğun boyanmış çok sayıda nöron görülmektedir (H). Median eminensin dış zonunda yoğun boyalı aksonal yapılar dikkati çekmektedir (H). VMH'nin anteromedial kısmında işaretli nöronların daha fazla sayıda olduğu görülürken, posterolateral kısmında daha az sayıda GluK5'i eksprese eden nöron izlenmektedir. SOR'deki nöronlarda da yoğun GluK5 reaksiyonu görülmektedir (G). 3V: Üçüncü ventrikül, f: fornix, ox: optik kiazma, ac: anterior komissür.

Hipotalamusda Glutamat Reseptör Ekspresyonu



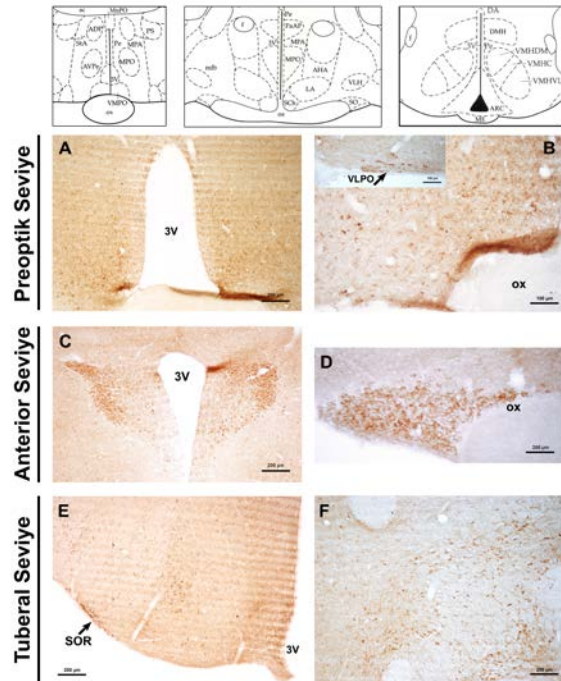
Şekil 5.

Hipotalamusun farklı seviyelerindeki GluK1/2/3 immünreaktivitesi. GluR1, 2, 3'ü tanıyan antikor ile işaretli nöronların preoptik alanda AVPe'de (A, B) yoğunlaştığı, daha az miktarda hücrenin ise MnPO (A) ve MPO'da (A, B) lokalize olduğu izlenmektedir. Anterior hipotalamik çekirdeklerden PVN'in posterior magnosellüler, medial parvosellüler ve dorsal parvosellüler bölümlerde belirgin (C), SON'deki magnosellüler nöronların çoğunda yoğun (E), SCN'nin anterior kısmında çok az sayıda (F) ve periventriküler çekirdekte (D) dağınık yerleşimli GluK1/2/3-immünopozitif nöronlar görülmektedir. Mediobazal hipotalamusta VMH (G) ve ARC'de (H) GluK1/2/3'ü eksprese eden nöronların dağılımı izlenmektedir. 3V: Üçüncü ventrikül, ox: optik kiazma, ac: anterior komissür.

NMDA reseptörleri

NMDA reseptörlerinden GluN1'in çok sayıda hipotalamik alanda ve nöronda eksprese olduğu, yoğun bir dağılım özelliği gösterdiği belirlendi.

GluN1: Preoptik seviyede, medial septal nukleus (MS), lamina terminalis'in vascular organı (VOLT) ile AVPe'de, medial preoptik alandaki ventromedial preoptik çekirdek (VMPO) ile ventrolateral preoptik çekirdekte (VLPO) ve forniks çevresindeki nöronlarda yoğun bir GluN1 ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 6A-B). Anterior seviyede perifornikal nukleusta (PeF), PVN'in (Şekil 6C) özellikle posterior magnosellüler kısmında belirgin olmak üzere, SON'de (Şekil 6D) ve retrokiazmatik supraoptik çekirdekte (SOR) (Şekil 6E) çok sayıda GluN1-pozitif nöronun lokalize olduğu görüldü. Tuberal seviyedeki alanda lokalize ARC'de, VMH'de ve DMH'de daha az sayıda GluN1'i eksprese eden nöron tespit edildi (Şekil 6E). Tuberal seviyedeki lateral hipotalamus incelendiğinde perifornikal alanda yoğunlaşmış GluN1-pozitif nöronlar görüldü (Şekil 6F).



Şekil 6.

Hipotalamusun farklı seviyelerindeki GluN1 immünreaktivitesi. Preoptik seviyede, AVPe'de (A), VMPO'da (A) ve VLPO'daki (B) nöronlarda yoğun GluN1 ekspresyonu gözlenmektedir. Anterior seviyede, PVN'in (C) özellikle posterior magnosellüler kısmında belirgin olmak üzere, SON'de (D) ve SOR'da (E) çok sayıda GluN1-pozitif nöronun lokalize olduğu görülmektedir. Tuberal seviyedeki çekirdeklerden ARC'de, VMH'de ve DMH'de az sayıda, lateral hipotalamik alanda (F) çok sayıda GluN1'i eksprese eden hücreler tespit edilmiştir. 3V: Üçüncü ventrikül, ox: optik kiazma.

GluN2A: GluN2A reseptör alt ünitesi ile ilgili incelenen kesitler, elimizdeki antikorun spesifik ve yeterli boyama yapmaması nedeniyle değerlendirilememiştir.

Tartışma ve Sonuç

Çalışmalarımız kapsamında yapılan immünohistokimyasal boyamalarda, iyonotropik glutamat reseptör alt birimlerinden AMPA reseptör ailesine ait alt üniteler olan GluA1, GluA2, GluA3, GluA4, kainat reseptör ailesine ait alt üniteler GluK5 ve GluK1/2/3 ve NMDA reseptör ailesine ait GluN1 alt birimini eksprese eden nöronların hipotalamustaki dağılım ve hipotalamik çekirdeklerdeki yerleşim düzenleri belirlenmiştir.

İyonotropik glutamat reseptörlerinin hipotalamusta dağılım motifini mRNA düzeyinde gösteren in situ hibridizasyon çalışmaları literatürde mevcuttur^{20,21}. In situ hibridizasyon tekniğinin kullanıldığı ve AMPA reseptör ailesinden GluA1-4'ün araştırıldığı bir çalışmada, GluA1 ve GluA2'nin hipotalamus boyunca güçlü bir ekspresyon gösterdiği, GluA3 ve GluA4 alt birimlerinin ise daha düşük yoğunlukta eksprese edildiği bildirilmiştir²². Aynı tekniğin kullanıldığı başka bir çalışmada ise, kainat reseptör ailesinden GluK5, AMPA reseptör ailesinden GluA1 ve GluA2, NMDA reseptör ailesinden GluN1, GluN2A ve GluN2B mRNA'larının çok yüksek yoğunlukta, diğer alt birimlerin (GluK1-3, GluA3-4, GluN2C-2D) ise daha zayıf bir hibridizasyon sinyali ile saptandığı gösterilmiştir²³. Farklı çalışmalarda ise GluA1 ve GluA2 immünoaktivitesi ve mRNA sinyalleri hipotalamusta medial preoptik nukleus, ARC, SCN, SON ve PVN'de gösterilirken, GluA3 ve GluA4'ün hipotalamik çekirdeklerde daha az eksprese edildiği bildirilmiştir^{20,24,25}. Hipotalamusun preoptik seviyesinden tuberal seviyesine kadar olan tüm bölgeleri göz önüne alındığında; nöron sayısının fazla olduğu, sitoplazmik tutulumun yoğun gözlemlendiği GluA1 ve GluA2 ekspresyonuna rastlanırken, GluA3 ve GluA4 alt birimleri için dağınık yerleşimli, daha az sayıda immünopozitif hücreye rastlanmıştır.

Sıçan hipotalamusu, korteks gibi beyin bölgeleriyle karşılaştırıldığı zaman orta derecede NMDA reseptör bağlama alanları gösterilmiş²⁶ olmakla birlikte non-NMDA reseptörleri ile karşılaştırıldığında bu oranın düşük olduğu bildirilmektedir²⁷. Hipotalamusta yaygın GluN1 mRNA varlığı in situ hibridizasyon çalışmaları ile belirlenirken^{14,23,28} çalışmamızda bu alt birimin nöronlardaki yoğun şekildeki lokalizasyonu immünohistokimyasal teknik kullanılarak gösterilmiştir.

Glutamatın hipotalamustaki dağılımı ile ilgili ultrastruktürel çalışmalar, suprakiazmatik, ventromedial, arkuat ile parvosellüler ve magnosellüler paraventriküler nukleuslarda presinaptik butonlarda glutamat immunopozitifliği gösterdiğini bildirmiştir^{18,25}. İmmünoaktif glutamat aksonlarının tüm mediobazal hipotalamus bölgelerindeki hücre gövdeleri ve dentritik uzantılar ile temas ettiği¹⁸ ve supraoptik nukleusta yerleşik magnosellüler nöroendokrin hücrelerdeki

sinaptik girdilerin üçte birinden fazlasının glutamat-pozitif olduğu bilinmektedir²⁹.

Hipotalamusun belirli alanlarına spesifik³⁰⁻³² ya da tek bir alt birimin hipotalamusta belirlenmesine yönelik³³⁻³⁵ immünohistokimyasal çalışmalar literatürde var olmasına rağmen, genel dağılımı belirleyen çalışma sayısı oldukça azdır. Bu tekniğin kullanılarak yapıldığı bir başka çalışmada, sıçan red nukleusundaki glutamat reseptör alt birimlerin ekspresyonu araştırılmış olup, işaretlenen nöronların immünoaktivite ve sayılarının ilgili reseptörün alt birim proteinlerine bağlı olarak değiştiği gösterilmiştir. Aynı çalışmada, red nukleusun magnosellüler kısmındaki nöronların GluA2, GluA4, GluK2/3, GluK5, GluN1 ve GluN2A reseptör proteinleri için immünopozitif boyanma, parvosellüler kısmındaki nöronlar için düşük-orta yoğunlukta bir boyanma gösterdikleri bildirilmiştir³⁶. SON'de lokalize magnosellüler nörosekretuar nöronların (MNC) eksitabilitesinin glutamat tarafından düzenlendiği bilinmektedir. NMDA reseptörleri, MNC'lerin sinaptik plastisitesine aracılık eden, bu nöronların hormon salınımlarını en üst düzeye çıkararak elektriksel aktivite için gerekli iyonotropik glutamat reseptör alt birimlerindedir. SON'daki GluN1 ve GluN2 alt birimlerinin ekspresyon profillerinin mRNA ve protein seviyelerinde araştırıldığı bir çalışmada; GluN1, GluN2B ve GluN2D alt birimlerinin güçlü, GluN2A alt biriminin ise daha zayıf bir ekspresyon paterni sergilediği gösterilmiştir³⁷.

Merkezi sinir sisteminde, GluN2A alt birimine ait ekspresyon bölgeseldir ve geçici olarak çeşitlilik gösterir. Bu alt birimin doğuma kadar eksprese edilmediği, en yüksek ekspresyon seviyesinin hipokampus ve korteksde izlendiği bildirilmiştir^{38,39}. Supraoptik çekirdekdeki NMDAR alt ünitelerinin ekspresyon profillerinin araştırıldığı başka bir çalışmada, mRNA düzeyinde GluN1 ve GluN2 alt birimlerinin tümünün güçlü bir şekilde eksprese edildiği, protein düzeyinde ise sadece GluN1, GluN2B ve GluN2D'nin güçlü immünoaktivite gösterdiği bildirilmiştir³⁷. Çalışmamız kapsamında yapmış olduğumuz immünohistokimyasal boyamalarda, GluN1 alt ünitesinin pek çok hipotalamik çekirdekte lokalize olduğu gösterilmiştir. GluN2A alt birimine ait protein ekspresyonuna ise, beyin kesitlerinde rastlanmamıştır. Bu alt birime ait olan özgül antikorun çok yüksek konsantrasyonda bile sinyal vermemesi, dilüsyon denemesi dışında uygulanan antijen retrieval protokolünün de sorunu çözücü bir katkısının olmaması sebebiyle çalışma kapsamında GluN2A proteinine ait ekspresyon elde edilememiştir.

Sıçan ve maymundaki yapılan çalışmalar, hipotalamusta kainat reseptörlerinin NMDA reseptörlerine benzer dağılım paterni olduğunu göstermiştir²⁷. Preoptik seviyede ve mediobazal hipotalamusta ise özellikle arkuat nukleus ile median eminente kainat reseptörlerinin yoğun olduğu gözlemlenmiştir^{23,27}. İmmünohistokimyasal çalışmalar GluK1 reseptör

Hipotalamusta Glutamat Reseptör Ekspresyonu

proteininin, AVPE, SCN, PVN, SON, ve ARC'de⁴⁰, GluK2 ve GluK5 reseptör proteininin hipotalamusta yaygın dağılımına karşın ekspresyonun özellikle AVPE, PVN'nin posterior magnosellüler ve medial parvosellüler bölümünde, SCN ve ARC'de⁴¹ yoğun olduğunu gösterdi. Yapmış olduğumuz çalışmada, GluK5 reseptör alt birimine ait immün reaksiyon gösteren nöronlara tüm hipotalamik çekirdeklerde ve alanlarda rastlanırken, GluK1/2/3'ü tanıyan antikörlerle işaretli nöronlara sadece AVPE, PVN, SON, ARC ve VMH'de rastlanmıştır.

Çalışma sonuçlarımız, non-NMDA ve NMDA glutamat reseptör alt birim proteinlerinin pek çok hipotalamik çekirdekte lokalize nöronlarca sentezlendiğini göstermiştir. Ayrıca immün boyamalarda benzerliklerin, bu bölgelerdeki hücrelerin glutamaterjik girdiyeye benzer şekilde yanıt verebileceğini göstermektedir.

Son yıllarda hem iyonotropik hem de metabotropik glutamat reseptör alt tiplerinin moleküler olarak görüntülenebilmesinde kullanışlı olabilecek ligandlar üzerinde çalışılmaktadır⁴². Beyin fonksiyonunda glutamaterjik sinyalizasyonun merkeziliği ve çeşitliliği göz önüne alındığında, glutamat reseptörlerinin moleküler olarak görüntülenebilmesi için selektivitesi ve sensitivitesi daha az yöntemlere sahip olduğumuz aşıkardır. Çalışmalarda çoklu işaretleme tekniği kullanılmadığı için her bir nöronda hangi alt birimlerin ko-eksprese olduğunu söylemek bu yaklaşımla mümkün değildir.

Çalışmalarımızda kullanılan immünohistokimya tekniği antikörlerin özgünlüğü seviyesinde sonuç vermektedir. Bu özellik immünohistokimya tekniğine belirli bir düzeyde limitasyon getirmektedir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçların literatürde yer alan ve glutamat reseptör alt birimlerinin mRNA seviyesinde ekspresyonunu gösteren çalışmalarla karşılaştırılarak bir bütün olarak değerlendirilmesi uygun olacaktır. Çalışmamızda laboratuvar ve deney hayvanları yetiştirme merkezimizin şartları doğrultusunda sadece dişi denekler kullanılmıştır. Hipotalamusta yer alan farklı nöronlarda protein ekspresyonunun cinsiyete bağlı olarak değişiklik gösterebileceği bilinmektedir. Bu kapsamda çalışmamızda erkek deneklerin kullanılmaması çalışmanın limitasyonudur.

Sonuç olarak, bu çalışmada sunulan bulgular hipotalamusta fonksiyonel glutamat reseptörü oluşturabilecek tüm alt birimlerin sentezlendiğini göstermesi açısından önemlidir. Hipotalamusta lokalize olan hedef nöronlardaki glutamaterjik fonksiyonun daha iyi aydınlatılabilmesi için, iGluR'lerin alt birimlerinin lokalizasyonlarının gösterilmesi glutamaterjik innervasyonun gösterilebilmesi açısından bir belirteç olarak kullanılabilir. Bu çalışmadan çıkan sonuçlar belirli hipotalamik alanda yerleşik nöronların glutamaterjik olarak hedeflenmesinde yol gösterici olacaktır. Aynı zamanda hipotalamusta yer alan nöroendokrin sistem-

lere terapötik yaklaşımlarda araştırmacılara bilgi sağlayacaktır.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Uludağ Üniversitesi Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi

Onay Tarihi: 19.04.2005

Karar No: 2005/1

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve Tasarım: Ö.E., F.Z.M.; Veri toplama ve işleme F.Z.M., D.G.Y., G.T.; Analiz ve verilerin yorumlanması Ö.E., F.Z.M., D.G.Y., G.T.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması F.Z.M., D.G.Y.

Destek ve Teşekkür Beyanı:

Bu makalede yer alan sonuçlar, TÜBİTAK tarafından desteklenen 104S286 nolu proje kapsamında yapılan çalışmalardan elde edilmiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Niciu MJ, Kelmendi B, Sanacora G. Overview of glutamatergic neurotransmission in the nervous system. *Pharmacol Biochem Behav* 2012;100:656-64.
2. Nakanishi S. Molecular Diversity of Glutamate Receptors and Implications for Brain Functions. *Science* 1992;258:597-603.
3. Danbolt NC. Glutamate Uptake. *Prog Neurobiol* 2001;65:1-105.
4. Meldrum BS. Glutamate As a Neurotransmitter in the Brain: Review of Physiology and Pathology. *J Nutr* 2000;130:1007S-15S.
5. Van Den Pol AN, Wuarin JP, Dudek FE. Glutamate Neurotransmission in the Neuroendocrine Hypothalamus. Brann DW, Mahesh VB (eds). *Excitatory Amino Acids: Their Role in Neuroendocrine Function*. 1st edition. Boca Raton: CRC Press; 1996. 1-54.
6. Hollmann M, Heinemann S. Cloned glutamate receptors. *Annu Rev Neurosci* 1994;17:31-108.
7. Ozawa S, Kamiya H, Tsuzuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Prog Neurobiol* 1998;54:581-618.
8. Koles L, Wirkner K, Illes P. Modulation of Iontropic Glutamate Receptor Channels. *Neurochem Res* 2001;26:925-32.
9. Bettler B, Mulle C. Neurotransmitter receptors II. AMPA and kainate receptors. *Neuropharmacology* 1995;34:123-139.
10. Kew JN, Kemp JA. Iontropic and metabotropic glutamate receptor structure and pharmacology. *Psychopharmacology* 2005;179:4-29.
11. Mori H, Mishina M. Structure and function of the NMDA receptor channel. *Neuropharmacology* 1995;34:1219-37.
12. Alt A, Weiss B, Ogden AM et al. Pharmacological characterization of glutamatergic agonists and antagonists at recombinant human homomeric and heteromeric kainate receptors in vitro. *Neuropharmacology* 2004;46:793-806.
13. Howe JR. Homomeric and heteromeric ion channels formed from the kainate type subunits GluR6 and KA2 have very small, but different, unitary conductances. *J Neurophysiol* 1996;76: 510-19.
14. Monyer H, Sprengel R, Herb A, et al. Heteromeric NMDA Receptors: Molecular and Functional Distinction of Subtypes. *Science* 1992;256:1217-21.

15. Lerma J, Paternain AV, Naranjo J R, Mellstrom B. Functional kainate-selective glutamate receptors in cultured hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:11688-92.
16. Paternain AV, Herrera MT, Nieto MA, Lerma J. GluR5 and GluR6 kainate receptor subunits coexist in hippocampal neurons and coassemble to form functional receptors. *J Neurosci* 2000;20:196-205.
17. Molina PE, (eds). *Endocrine Physiology*. 4th edition. New York: Mc Graw-Hill; 2004.
18. Van Den Pol AN, Wuarin JP, Dudek FE. Glutamate, the Dominant Excitatory Transmitter in Neuroendocrine Regulation. *Science* 1990;250:1276-8.
19. Paxinos G, Watson C, (eds). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 6th edition. Elsevier Academic Press: Amsterdam; 2009.
20. Herman JP, Eyigor O, Ziegler DR, Jennes L. Expression of Ionotropic Glutamate Receptor Subunit mRNAs in the Hypothalamic Paraventricular Nucleus of the Rat. *J Comp Neurol* 2000;422:352-62.
21. Van Den Pol AN, Hermans-Borgmeyer I, Hofer M, Ghosh P, Heinemann S. Ionotropic Glutamate-Receptor Gene Expression in Hypothalamus: Localization of AMPA, Kainate, and NMDA Receptor RNA with in Situ Hybridization. *J Comp Neurol* 1994;343:428-44.
22. Sato K, Kiyama H, Tohyama M. The differential expression patterns of messenger RNAs encoding non-N-methyl-D-aspartate glutamate receptor subunits (GluR1-4) in the rat brain. *Neuroscience* 1993;52:515-39.
23. Eyigor O, Centers A, Jennes L. Distribution of ionotropic glutamate receptor subunit mRNAs in the rat hypothalamus. *J Comp Neurol* 2001;431:101-24.
24. Brann DW, Mahesh VB. Excitatory Amino Acids: Function and Significance in Reproduction and Neuroendocrine Regulation. *Front Neuroendocrinol* 1994;15:3-49.
25. Van Den Pol AN. Glutamate and Aspartate Immunoreactivity in Hypothalamic Presynaptic Axons. *J Neurosci* 1991;11:2087-101.
26. Brann DW, Zamorano PL, Chorich LP, Mahesh VB. Steroid Hormone Effects on NMDA Receptor Binding and NMDA Receptor mRNA Levels in the Hypothalamus and Cerebral Cortex of the Adult Rat. *Neuroendocrinology* 1993;58:666-72.
27. Cotman CW, Monaghan DT, Ottersen OP, Storm-Mathisen J. Anatomical Organization of Excitatory Amino Acid Receptors and Their Pathways. *Trends Neurosci* 1987;10:273-80.
28. Kus L, Handa RJ, Sanderson JJ, Kerr JE, Beitz AJ. Distribution of NMDAR1 Receptor Subunit mRNA and [125I]MK-801 Binding in the Hypothalamus of Intact, Castrate and Castrate-DHTP Treated Male Rats. *Mol Brain Res* 1995;28:55-60.
29. Goldsmith PC, Thind KK, Perera AD, Plant TM. Glutamate-Immunoreactive Neurons and Their Gonadotropin-Releasing Hormone-Neuronal Interactions in the Monkey Hypothalamus. *Endocrinology* 1994;134:858-68.
30. Gu G, Varoqueaux F, Simerly RB. Hormonal Regulation of Glutamate Receptor Gene Expression in the Anteroventral Periventricular Nucleus of the Hypothalamus. *J Neurosci* 1999;19:3213-22.
31. Kawakami S. Glial and Neuronal Localization of Ionotropic Glutamate Receptor Subunit-Immunoreactivities in the Median Eminence of Female Rats: GluR2/3 and GluR6/7 Colocalize With Vimentin, Not With Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP). *Brain Res* 2000;858:198-204.
32. Michel S, Itri J, Colwell CS. Excitatory Mechanisms in the Suprachiasmatic Nucleus: the Role of AMPA/KA Glutamate Receptors. *J Neurophysiol* 2002;88:817-28.
33. Petralia RS, Wenthold RJ. Light and Electron Immunocytochemical Localization of AMPA-Selective Glutamate Receptors in the Rat Brain. *J Comp Neurol* 1992;318:329-54.
34. Petralia RS, Wang YX, Wenthold RJ. Histological and Ultrastructural Localization of the Kainate Receptor Subunits, KA2 and GluR6/7, in the Rat Nervous System Using Selective Antipeptide Antibodies. *J Comp Neurol* 1994;349:85-110.
35. Warembourg M, Leroy D. AMPA Glutamate Receptor Subunits in the Guinea Pig Hypothalamus: Distribution and Colocalization with Progesterone Receptor. *J Comp Neurol* 2002;453:305-21.
36. Minbay FZ, Serter S, Gok Yurtseven D, Eyigor O. Immunohistochemical localization of ionotropic glutamate receptors in the rat red nucleus. *Bosnian J Basic Med* 2017;17:29-37.
37. Doherty FC, Sladek CD. NMDA receptor subunit expression in the supraoptic nucleus of adult rats: dominance of NR2B and NR2D. *Brain Res* 2011;1388:89-99.
38. Portera-Cailliau C, Price DL, Martin LJ. N-methyl-D-aspartate receptor proteins NR2A and NR2B are differentially distributed in the developing rat central nervous system as revealed by subunit-specific antibodies. *J Neurochem* 1996;66:692-700.
39. Wenzel A, Fritschy JM, Mohler H, Benke D. NMDA receptor heterogeneity during postnatal development of the rat brain: differential expression of the NR2A, NR2B, and NR2C subunit proteins. *J Neurochem* 1997;68:469-78.
40. Eyigor O, Minbay Z, Cavusoglu I, Jennes L. Localization of Kainate Receptor Subunit GluR5-Immunoreactive Cells in the Rat Hypothalamus. *Brain Res Mol Brain Res* 2005;136: 38-44.
41. Minbay FZ, Eyigor O, Oksitosin Nöronlarında Kainat Reseptör Alt Birimlerinin Sentezi: İmmünohistokimyasal Çalışma. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2020;46:357-363.
42. Kim JH, Marton J, Ametamey SM, Cumming P. A Review of Molecular Imaging of Glutamate Receptors. *Molecules* 2020;25:47-9.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Sol Üst Lob Evre I Akciğer Kanseri Hastalar İçin Sol Üst Lobektomi Aşırı Tedavi mi? Propensity Skor Analizi

Hüseyin MELEK¹, Tolga Evrim SEVİNÇ¹, Deniz SİĞİRLİ², Ahmet Sami BAYRAM¹, Cengiz GEBİTEKİN¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, Bursa.

² Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Sol üst lobda yer alan küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) için sol üst lobektomi ve segmentektomi sonuçlarını karşılaştırmayı amaçladık. Kliniğimizde 1999-2016 yılları arasında sol üst lob yerleşimli KHDAK nedeniyle segmentektomi veya lobektomi uygulanan hastaların verilerini retrospektif olarak inceledik. Segmentektomi; lobektomi için uygun evre I hastalar ve sınırlı kardiyopulmoner rezervi nedeniyle lobektomi için uygun olmayan hastalarda uygulandı. Toplamda 127 hasta optimal veri eşleştirme algoritması kullanılarak propensity skoru analizine dahil edildi. 1: 2 eşleştirme algoritmasından sonra 90 hasta iki gruba ayrıldı; grup 1 segmentektomi (n=30) ve grup 2 lobektomi (n=60). Morbidite, mortalite, uzun dönem sağkalım oranları ve prognostik faktörler analiz edildi. Histopatolojik incelemede 57 hasta evre I [grup 1 (n = 18), grup 2 (n = 39)], 33 hasta evre II-IV [grup 1 (n = 12), grup 2 (n = 21)] tespit edildi. Morbidite oranı % 37.78 (37/90) [grup 1: n = 11 (% 36.67), grup 2: n = 23 (% 38.33), p = 1.000] ve mortalite oranı % 1.11 [grup 1: n = 1 (% 3.33), grup 2: n = 0 (% 0), p = 0.333] idi. Evre I hastalarda ortalama Kaplan-Meier sağkalım süresi grup 1 için 146.09 (% 95 CI: 111.70-180.49) ve grup 2 için 106.99 (% 95 CI: 77.68-136.30) idi (p = 0.185) olarak sonuçlandı. Bu çalışmada sol üst lobda segmentektomi veya lobektomi uygulanan erken evre KHDAK'li hastalar için benzer sonuçlar elde edildi. Özellikle lingulektomi veya trisegmentektomi, evre I KHDAK için lobektomiye kıyasla standart bir prosedür olarak önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Trisegmentektomi. Lingulektomi. Sol üst lobektomi. Akciğer rezeksiyonu.

Is Left Upper Lobectomy an Overtreatment for Patients with Stage I Lung Cancer in the Left Upper Lobe? A Propensity Score-Matched Analysis.

ABSTRACT

We aim to compare the outcomes of left upper lobectomy and segmentectomy for non-small cell lung cancer (NSCLC) located at the left upper lobe. We retrospectively reviewed the medical data of patients with NSCLC located in the left upper lobe who underwent segmentectomy or lobectomy between 1999 and 2016. Segmentectomy was preferred for patients with stage I who were also eligible for lobectomy and for patients who were not eligible for lobectomy due to limited cardiopulmonary reserve. In total, 127 patients were included into the propensity score analysis by using optimal data matching algorithm. After the 1:2 matching algorithm, 90 patients were divided into two groups; group 1 segmentectomy (n=30), and group 2 lobectomy (n=60). The morbidity, mortality, long-term survival rates and prognostic factors were analyzed. Histopathological investigation revealed 57 patients as stage I [group 1 (n=18), group 2 (n= 39)], 33 patients as stage II-IV [group 1 (n=12), group 2 (n= 21)]. Morbidity rate was 37.78% (37/90) [group 1: n=11 (36.67%), group 2: n=23 (38.33%), p=1.000] along with mortality rate of 1.11% [group 1: n=1 (3.33%), group 2: n=0 (0%), p=0.333]. In stage I patients, mean Kaplan-Meier survival time was 146.09 (95%CI: 111.70-180.49) for group I and 106.99 (95%CI: 77.68-136.30) for group 2 (p=0.185). This study revealed similar outcomes for patients with early stage NSCLC located at the left upper lobe undergoing either segmentectomy or lobectomy. In particular, lingulectomy or trisegmentectomy is recommended as a standard procedure for Stage I NSCLC compared to lobectomy.

Key Words: Trisegmentectomy. Lingulectomy. Left upper lobectomy. Lung resection.

Geliş Tarihi: 24.Nisan.2021

Kabul Tarihi: 26.Ağustos.2021

Dr. Tolga Evrim SEVİNÇ
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı,
Bursa.
Tel.: +90 551 715 24 15
E-posta: tes3408@gmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Hüseyin MELEK: 0000-0003-1822-8153
Tolga Evrim SEVİNÇ: 0000-0002-0150-0782
Deniz SİĞİRLİ: 0000-0002-4006-3263
Ahmet BAYRAM: 0000-0003-0684-0900
Cengiz GEBİTEKİN: 0000-0001-8718-9499

Yetmiş yıl önce, pnömonektomi küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) için standart cerrahi prosedür olarak kabul edilirken, lobektomi ancak akciğer rezervi kısıtlı olan hastalarda uygulanmaktaydı. Daha sonraki yıllarda, lobektominin daha az mortaliteyle pnömonektomiye benzer sağkalım oranı sağladığı tespit edildi¹. Akciğer Kanseri Çalışma Grubunun 1995 yılında yayınlamış olduğu prospektif randomize kontrollü çalışmanın sonuçlarına göre sublobar rezeksiyon yapılan hastalarda lobektomiye kıyasla lokal hastalık rekürrensının üç kat daha fazla olduğu gösterildi². Bu çalışmadan sonra lobektomi KHDAK için standart cerrahi tedavi yöntemi olarak kabul edildi³. Ancak bu çalışmada sublobar rezeksiyon grubunda segmentektomi uygulanan hastaların yanında wedge (kama) rezeksiyon uygulanan çok sayıda hasta yer almaktaydı. Son yıllarda teknolojiadaki gelişmeler ve artan ortalama yaşam süresi, erken evre akciğer kanseri tanısı alan hasta sayısının artmasına, nüks, metakron akciğer kanseri ve yaşlı hastalarda akciğer kanserine rastlanma yaygınlığına yol açtı. Bu nedenlerle birçok cerrah, solunum fonksiyonu üzerinde daha az etkisi olan, lobektomiye göre daha düşük morbidite/mortalite ve en az lobektomiye eşit onkolojik fayda sağlayan akciğer rezeksiyon yöntemlerini araştırmaya başladı. Son yirmi yılda segmental rezeksiyon ve lobektomiye karşılaştıran birçok çalışma yayınlandı. Bu çalışmaların sonucu olarak günümüzde segmentektominin seçilmiş hastalarda (düşük akciğer fonksiyonu nedeniyle lobektominin kontraendike olduğu, periferik yerleşimli ve ≤ 2 cm tümörler, ve belirtilen özelliklerden en az biri ile: saf adenokarsinoma in situ histolojisi, Toraks Bilgisayarlı Tomografide (BT) % 50'den fazla buzlu cam görünümü içeren nodüller ve uzun doubling time) yapılması önerilmektedir⁴.

Sağ ve sol akciğerler arasındaki anatomik farklılık nedeniyle cerrahi prosedür olarak farklı tanımlansa da sol üst lob trisegmentektomi (TS/S1-3 segmentektomi/üst divizyonektomi), sağ üst lobektomiye, lingulectomi (L/S4-5 segmentektomi) ise orta lobektomiye eşdeğerdir⁵. Ancak bu gerçek, çalışmalarda göz ardı edilmiştir. Anatomik karşılaştırmaları dikkate alan bir çalışma Houck ve arkadaşları tarafından yapılmış olup, sol üst lob apikal yerleşimli küçük tümörler için standart cerrahi tedavi olarak TS'yi önermişlerdir⁶. Hatta yazarlar, seçilmiş hastalarda TS yerine sol üst lobektominin aşırı tedavi olabileceğini belirtmişlerdir. Kliniğimizde 2007 yılından bu yana, seçilmiş hastalarda tercih ettiğimiz yaklaşım sol üst lobektomi yerine parankim koruyucu cerrahidir. Bu çalışmanın amacı sol akciğer üst lob yerleşimli evre I KHDAK hastalarda üst lobektomi ve parankimal koruyucu cerrahi (TS veya L) sonuçlarını karşılaştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Etik kurulu onamı alınarak (Karar No: 2020-9/20, 27.05.2020) 1999-2016 yılları arasında anatomik

pulmoner rezeksiyon (segmentektomi veya lobektomi) yapılan sol üst lobda yerleşimli KHDAK'li hastaların tıbbi verileri retrospektif olarak analiz edildi. Klinik evreleme, BT, kemik sintigrafisi, abdominal ultrasonografi ve 2006'dan sonra pozitron emisyon tomografisi (PET/CT) kullanılarak yapıldı. Semptomatik hastalarda kraniyal MR görüntülemesi, mediastinal lenf nodu metastaz şüphesi olan hastalarda invazif mediastinal evreleme için endobronşiyal ultrason, mediastinoskopi, mediastinotomi yöntemleri tercih edildi. Uygun hastalara cerrahi tedavi teklif edildi. Segmentektomi, sol üst lobektomi için uygun olan klinik evre I KHDAK hastalarda ve sınırlı kardiyopulmoner rezervi ve ciddi komorbiditesi nedeniyle lobektomiye uygun olmayan hastalarda tercih edildi. Belirtilen kriterlere uyan hastalardan segmentektominin risk ve faydalarını açıklayan bilgilendirilmiş onam ve tüm hastalardan ameliyat için onam alındı. Akciğer rezeksiyonu video yardımlı torakoskopi (VATS) veya tam kas koruyucu mini torakotomi kullanılarak yapıldı. Rezeke edilecek segmentin parankim sınırı, segment bronşunun klemlenmesi ve hastanın yeniden ventile edilmesiyle belirlendi. Fissür veya segmentler stapler kullanılarak ayrıldı. Segmentektomi sırasında, lobektomiye geçme kararı, peribronşiyal veya segmentler arası lenf düğümlerinin frozen patoloji sonuçlarına ve bunların akciğer kanseri metastazı için pozitif olup olmadığına göre verildi. Ayrıca segmentektominin parankimal cerrahi sınırları tümöre iki cm'den az olduğu taktirde lobektomi yapıldı. Tüm hastalara ek olarak mediastinal lenf nodu diseksiyonu yapıldı. Plevral çadır, pnömoperiton ve geçici frenik sinir paraliz yöntemleri kullanılmadı. Beş günden fazla süren hava kaçağı, uzamış hava kaçağı (UHK) olarak kabul edildi. Operasyondan 72 saat sonra çekilen akciğer grafisinde visseral plevra ile göğüs duvarı arasında % 20 veya 3 cm'den fazla pnömotoraks olması plevral boşluk olarak kabul edildi. Perioperatif mortalite, ameliyattan sonraki ilk 30 gün içinde meydana gelen ölüm veya ilgili akciğer rezeksiyon ameliyatı için hastanede kalış sırasında meydana gelen ölüm olarak tanımlandı. Doksan günlük ölüm oranı da hesaplandı. Patolojik evreleme, TNM evrelemesinin 8. baskısı kullanılarak yapıldı. N1 hastalığı olan hastalar adjuvan kemoterapi alırken, N2 hastalığı için kemoradyoterapi verildi. Ayrıca adenokarsinom veya büyük hücreli karsinom tanısı alan 4 cm'den büyük tümörleri olan hastalara da adjuvan kemoterapi verildi. Tüm hastalar ameliyat sonrası ilk iki yıl üç ay ve sonrasında 6 ay arayla BT çekilerek takip edildi. Lokal rekürrens segmentektomi hastalarında ipsilateral lob, hilum veya mediastende herhangi bir rekürrens gelişmesi olarak tanımlanırken, lobektomi hastalarında herhangi bir hiler veya mediastinal yapıda rekürrens gelişmesi olarak tanımlandı. Uzak nüks, ipsilateral akciğerin farklı lobunda herhangi bir nüks, kontralateral mediasten veya hilumun veya ekstratorasik metastaz olarak

Sol Üst Lobektomi Evre I KHDAK İçin Aşırı Tedavi mi?

tanımlandı⁷. Sağkalım, ameliyattan ölüme veya son takibe kadar geçen süre olarak belirlendi.

Aşağıdaki kriterlere sahip hastalar çalışmadan çıkarıldı:

1. TS/L dışındaki segmentektomiler (S1, S1+2 gibi)
2. Ekstended rezeksiyonlu hastalar (vertebra, göğüs duvarı, bronşiyal-arteriyel sleeve, intraperikardiyal vb.)

Toplamda 127 hasta, optimal veri eşleştirme algoritması kullanılarak eğilim skoru analizine dahil edildi. 1:2 eşleştirme algoritmasından sonra 90 hasta iki gruba ayrıldı; grup 1 segmentektomi (n=30), grup 2 lobektomi (n=60). Cinsiyet, yaş, birinci saniyedeki zorlu ekspiratuar volüm (FEV1), VATS, komplikasyon, tümör histopatolojik tipi, TNM evresi (tümör boyutu, lenf nodu metastaz varlığı), adjuvan tedavi ve karıştırıcı değişkenler için propensivite skoru eşleştirmesi yapıldı. Morbidite, 30-90 günlük mortalite, sağkalım oranları ve prognostik faktörler analiz edildi.

İstatistik Analizi

Sürekli değişkenlerin normalliği Shapiro-Wilk testi ile test edildi. Normal dağılım gösteren değişkenler için sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma olarak sunuldu, aksi takdirde medyan (minimum-maksimum) değerler verildi. Sırasıyla normal dağılımlı ve normal olmayan değişkenler için iki bağımsız grubu karşılaştırmak için bağımsız örnekler t testi veya Mann-Whitney U testi yapıldı. Kategorik değişkenler frekanslar ve yüzdelerle ifade edildi. Gruplar arası karşılaştırmalar Pearson Ki-kare testi, Fisher'in kesin ki-kare testi ve kategorik değişkenler için Fisher-Freeman-Halton testi ile yapıldı. Genel sağkalım, Kaplan-Meier yöntemiyle tahmin edildi ve iki örneğin sağkalım dağılımlarını karşılaştırmak için log-rank testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $\alpha = 0.05$ olarak alındı. İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corp., USA) ve NCSS version 10 (Hintze J. NCSS LLC.) yazılımları ile yapıldı.

Bulgular

Yaş ortalaması 60.81 ± 9.93 yıl (38-87y) olan 79 erkek ve 11 kadın hastanın verileri analiz edildi. Tercih edilen cerrahi yaklaşım 12 (%13.33) hastada VATS idi [grup 1: n=4 (%13.33), grup 2: n=8 (%13.33), p=1.000]. Histopatolojik incelemede tümör tipi 41 (%45.56) hastada skuamöz hücreli karsinom, 28 (%31.11) hastada adenokarsinom ve 21 (%23.33) hastada diğer hücre tipinde karsinomlar görüldü. TNM sınıflandırmasının 8. baskısına göre 57 (%63.33) hasta evre I, 23 (%25.56) hasta evre II ve 10 (%11.11) hastada evre III ve IV olarak saptandı. Ortalama tümör boyutu 2.94 ± 1.26 cm (min-maks: 0.2-5.5) idi, 22 hastada 2 cm veya daha küçük tümör vardı. Lenf nodu

metastazları (N1 veya N2) grup 1'deki rın %13.33'ünde ve grup 2'de %16.67'sinde doğrulandı (p = 0.767). Otuz bir hastaya adjuvan tedavi verildi [grup 1: n=10, (%33.33), grup 2: n=21 (%35.00), p = 1.000]. İki grup arasında cinsiyet, ortalama FEV1, tümör histolojik tipi, tümör boyutu, lenf nodu metastazı, hastanede kalış süresi, evre dağılımı ve adjuvan tedavi açısından istatistiksel fark yoktu (Tablo I).

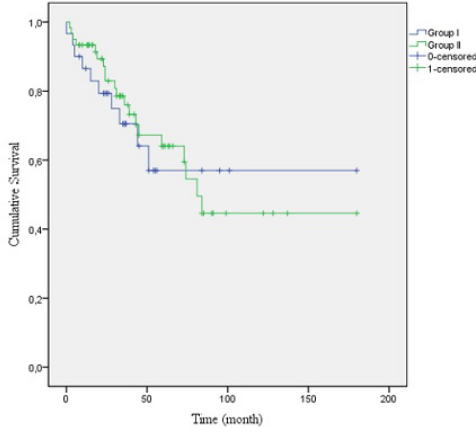
Tablo I. Hasta özellikleri

Değişkenler	Total (n=90)	TS/L (n=30)	ÜL (n=60)	p-value
Yaş	60.81 \pm 9.93	60.90 \pm 9.71	60.77 \pm 10.13	0.953
Cinsiyet Erkek	79 (%87.78)	27 (%90)	52 (%86.67)	0.746
Kadın	11 (%12.22)	3 (%10)	8 (%13.33)	
FEV1 (L)	216.09 \pm 70.07	211.50 \pm 93.40	218.31 \pm 57.44	0.805
FEV1 (%)	75.33 \pm 19.84	69.79 \pm 24.46	78.00 \pm 0.3	0.272
Histopatolojik tip Adenokarsinom	28 (%31.11)	9 (%30.00)	19 (%31.67)	0.869
Skuamöz hücreli karsinom	41 (%45.56)	13 (%43.33)	28 (%46.67)	
Diğerleri	21 (%23.33)	8 (%26.67)	13 (%21.67)	
VATS	12 (%13.33)	4 (%13.33)	8 (%13.33)	1.000
Lenf Nodu	76 (%84.44)	26 (%86.67)	50 (%83.33)	1.000
N1	7 (%7.78)	2 (%6.67)	5 (%8.33)	
N2	7 (%7.78)	2 (%6.67)	5 (%8.33)	
pEvre I IA1	13 (%14.4)	5 (%16.7)	8 (%13.3)	0.817
IA2	15 (%16.7)	4 (%13.3)	11 (%18.3)	
IA3	17 (%18.9)	8 (%26.7)	9 (%15)	
IB	12 (%13.3)	1 (%3.3)	11 (%18.3)	
pEvre II IIA	8 (%8.9)	1 (%3.3)	7 (%11.7)	
IIB	15 (%16.7)	6 (%20)	9 (%15.0)	
IIIA-B-IV	10 (%11.1)	5 (%16.7)	5 (%8.3)	
Tümör çapı (cm)	2.94 \pm 1.26	3.01 \pm 1.21	2.91 \pm 1.29	0.743
Adjuvan tedavi n (%)	31 (%34.44)	10 (%33.33)	20 (%66.67)	1.000
Hastanede kalış süresi (gün)*	6 (0:16)	6 (0:114)	6 (0:16)	0.450

TS: trisegmentektomi, L: Lingulektomi, ÜL:üst lobektomi, E: erkek, K:kadın, FEV1: Birinci Saniyedeki Zorlu Ekspiratuar Volüm, VATS: video-yardımlı torakoskopik cerrahi, L:litre. Veriler ortalama \pm standart sapma, medyan (min: maks) veya n (%) olarak sunuldu

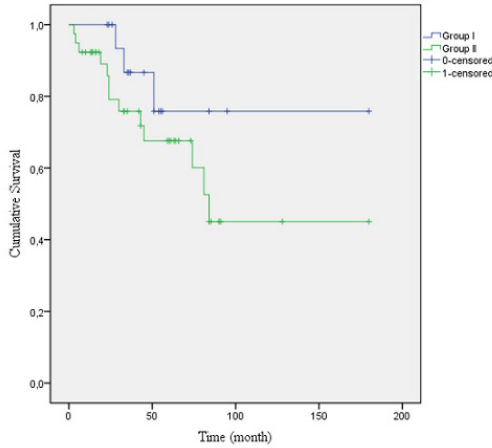
Otuz dört (%37.78) hastada [grup 1: n=11 (%36.67), grup 2: 23 (%38.33), p=1.000] komplikasyon görüldü. En sık görülen komplikasyon UHK (%17.7) idi. Cerrahi işlem sonrası komplikasyonlar Tablo II'de listelenmiştir. Mortalite oranı tüm gruplarda 30 günlük %1.11 [grup 1: n=1 (%3.33), grup 2: n=0 (%0), p = 0.333], 90 günlük ise %3.33 [grup 1: n=1 (%3.33), grup 2: n=2 (%3.33), p = 1.000] olarak saptandı. Sınırlı akciğer rezervi olan 79 yaşındaki bir hastaya (FEV1=0.90L, %37) lingulektomi yapıldı ve 27 gün süren UHK gelişti. Hasta pnömoni ve septisemi nedeniyle ex oldu. Diğer iki hasta problemsiz geçen postoperatif erken dönem sonrası taburcu edildi. Bir hasta lobektomiden 2 ay sonra pnömoni ve adjuvan kemoterapi alan başka bir hasta ameliyattan 2 ay sonra intrakraniyal kanama nedeniyle ex oldu. Toplam 5 yıllık sağkalım oranı %61.47 idi (grup 1: %56.98; grup 2: %64.05). Grup 1 için ortalama Kaplan-Meier sağkalım süresi 113.61 (%95 CI: 80.71-146.52) ve grup 2 için 105.84 (%95 CI: 81.98-129.70) idi. Sağkalım süresi açısından gruplar arasında istatistiksel fark yoktu (p = 0.780). Evre I hastalar için beş yıllık

sağkalım oranı %70.87 idi [grup 1: %75.83, grup 2: %67.61]. Evre I hastalarda ortalama Kaplan-Meier sağkalım süresi grup 1 için 146.09 (% 95 CI: 111.70-180.49) ve grup 2 için 106.99 (% 95 CI: 77.68-136.30) idi. Evre I hastalarda sağkalım süresi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p = 0.185$) (Şekil 1-2). Squamöz hücreli karsinom ($p=0.5$) ve adenokarsinom ($p=0.4$) alt tiplerine göre sağ kalım analizinde gruplar arasında fark saptanmadı.



Şekil 1.

Kaplan-Meier eğrileri, trisegmentektomi-lingülektomi ve sol üst lobektomi uygulanan hastaların genel sağkalımlarını karşılaştırır. Gruplar arasında sağkalım oranlarında fark yok



Şekil 2.

Kaplan-Meier eğrileri, Evre I KHDAK için trisegmentektomi-lingülektomi ve sol üst lobektomi uygulanan hastaların genel sağkalımlarını karşılaştırır. Gruplar arasında sağ kalım oranlarında fark yok

Takiplerde bir hastada (%1.11) lokal nüks görüldü. Segmentektomi grubunda lokal nüks görülmezken, lobektomi grubunda %1.67 oranında görüldü. Sadece evre I hastalar incelendiğinde, lokal nüks oranı %1.75 idi. Lokal rekürrens açısından iki grup arasında anlamlı fark yoktu ($p = 1.000$). Uzak nüks oranı gruplar arasında benzerdi (Tablo II).

Tablo II. Postoperatif komplikasyonlar, gruplarda nüks

Değişkenler	Total (n=90)	TS/L (n=30)	ÜL (n=60)	p-value
Komplikasyonlar n (%)	34 (%37.78)	11 (%36.67)	23 (%38.33)	1.000
Uzamış hava kaçağı (>5 gün)	16	5	11	
Pnömoni	7	3	4	
Plevral boşluk	9	3	6	
Atelektazi	5	2	3	
Aritmi	2	-	2	
Diğerleri	5	1	4	
Mortalite n (%)	1 (%1.11)	1 (%3.33)	-	0.333
90 gün mortalite n (%)	3 (%3.33)	1 (%3.33)	2 (%3.33)	1.000
Evre I nüks n (%)	7 (%12.28)	3 (%16.67)	4 (%10.26)	0.667
Evre I lokal nüks n (%)	1 (%1.75)	-	1 (%2.56)	1.000

TS: trisegmentektomi, L: Lingulektomi, ÜL: Üst lobektomi Veriler n (%) olarak sunuldu.

Tartışma ve Sonuç

Lobektomi, KHDAK tedavisinde altın standart cerrahi prosedürdür. Düşük kardiyopulmoner fonksiyon nedeniyle lobektomiye tolere edemeyen hastalarda, en iyi cerrahi seçenek segmentektomidir. Yirmi dört farklı segmentektomi tanımlanmıştır. Trisegmentektomi (TS), anatomik farklılıklardan dolayı segmentektomi olarak tanımlansa da aslında sağ üst lobektomiye eşittir ve sol akciğer segmentektomilerinin %24'ünü oluşturur⁸⁻¹⁰. Lobektomiye alternatif olarak TS yapılmasında ki en önemli amaç, linguler segmentin pulmoner fonksiyonunu korumaktır⁸. Ancak klinik olarak sol üst lobektomiye eş değer kabul edilebilmesi için onkolojik sonuçlarla desteklenmesi gerekir. Son yıllarda parankim koruyucu ameliyatların erken evre akciğer kanseri için daha popüler hale gelmesiyle segmentektomi ve lobektomi sonuçlarını karşılaştıran bir dizi çalışma yayınlandı. Lobektomi ile kıyaslandığında segmentektominin en büyük dezavantajı yüksek nüks oranlarıdır². Akciğer rezeksiyonu sonrası nüks, beklenen uzun vadeli sağkalımda keskin bir düşüşe yol açan en sık nedendir¹¹. Segmentektomi sonrası lokal nüksler, yetersiz cerrahi sınır, aynı lobda intrapulmoner metastazın ve hiler-mediastinal lenf nodu metastazının tanınmaması nedeniyle olabilir¹². Segmentektomi sonrası lokal nüksü belirlemede en önemli faktör rezeksiyon sınırındır^{3,12}. Sağ üst lob tümörlerinde minör fissür invazyonlarında bilobektomi tercih edilir. Benzer şekilde TS apikal yerleşimli tümörlere uygulanmalı ve cerrahi sınır 1 cm'den az ise lobektominin TS'ye tercih edilmesi savunulmaktadır³. VATS veya torakotomi ile yapılan segmentektomi veya lobektomi sonrası lokal nüks oranları, evre Ia için birçok çalışmada yayınlandığı gibi yaklaşık %3-5 ile neredeyse benzerdir^{9,13,14}. Serimizde TS/L veya lobektomi sonrası nüks oranı benzer olmakla birlikte, lokal nüks sade-

Sol Üst Lobektomi Evre I KHDAK İçin Aşırı Tedavi mi?

ce lobektomi grubunda evre I'de görülmüştür. Bu bulgunun açıklaması, segmentektomi sonrası yetersiz parankimal cerrahi sınır varsa lobektomi yapılması olabilir.

Patolojik N1 ve N2 hastalık olasılığı (pN1-2) klinik Evre I KHDAK'de düşüktür. Japon Akciğer Kanseri Kayıt Çalışmasında, cT1N0M0 akciğer karsinomu olan hastalarda %10 lenf nodu metastazı tespit edildiği bildirilmiştir¹⁵. Ancak segmentektomi uygulanan olgularda nüks olasılığının artması nedeniyle bronş çevresinde intraoperatif lenf nodu pozitifliği olması durumunda lobektomi yapılması önerilir. Bu bakımdan intraoperatif sentinal lenf nodu tespit yöntemleri ve frozen inceleme faydalı olabilir. Nomori H ve arkadaşları, segmentektomi sırasında frozen kesitlerinde lenf düğümlerinin negatif sonuçlanmasına rağmen, nihai patoloji raporunda rezeke edilen akciğer dokusunda lenf nodu metastazları ortaya çıkarsa, tamamlayıcı lobektominin gerekliliğini araştırdı. Bu nedenle lokal rekürrensi azaltmak için 10 tamamlayıcı lobektomi yaptılar ancak kalan akciğer dokusunda metastaz izlenmedi. Böylelikle, cT1N0M0 / pN1-2 KHDAK hastalarında lobektomide olduğu gibi aynı lokal kontrolü sağladığından, lenf nodu diseksiyonu ile birlikte yeterli cerrahi sınırlar elde edildiğinde segmentektomiden sonra tamamlayıcı lobektominin gereksiz olduğu sonucuna varmışlardır¹². Çalışmamızda TS / L grubunda pN2'li iki hasta ve pN1 lenf nodu metastazı olan iki hasta saptandı. Ancak bu hastalara tamamlayıcı lobektomi yapılmadı. pN1 hastalarına adjuvan kemoterapi, pN2 hastalarına kemoradyoterapi verildi. pN2 hastalarından biri 44 ay sonra kraniyal metastaz nedeniyle, diğeri 20 ay sonra akut miyokard enfarktüsü nedeniyle ex oldu. pN1 lenf nodu metastazı olan hastalar sırasıyla ameliyattan 45 ve 16 ay sonra hastalıklı olarak takip edilmektedir.

Akciğer kanseri 8. TNM Evreleme sisteminde; tümör çapındaki her bir santimetrelik artışın daha kötü prognoz göstergesi olması nedeniyle 5 cm'ye kadar olan tümör boyutları her bir santimetrede bir kademe yükselcek şekilde beş gruba ayrıldı (T1a, T1b, T1c, T2a, T2b)¹⁶. Tümör boyutunun anatomik akciğer rezeksiyonu sonrası sonuçlara etkisini araştıran çalışmalarda ise farklı sonuçlara ulaşıldı. Yu ve arkadaşları tümör boyutu 21-30 mm olan hastalarda segmental rezeksiyonun daha kötü sağkalım ile ilişkili olduğu için lobektomi yapılması önerdiler¹⁷. Diğer çalışmalarda ise segmentektomi ile lobektomi arasında benzer sonuçlar elde edildi^{18,19}. Sadece sol üst lob yerleşimli tümörleri içeren bir çalışmada TS/L ve sol üst lobektomi sonuçları karşılaştırılmış, TS/L'nin T1 tümörler yanında T2N0 tümörlerde de benzer onkolojik sonuçlara yol açtığı ve akciğer fonksiyonu iyi olan hastalarda bile lobektomiye alternatif olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir²⁰. Bizde çalışmamızda da benzer sonuçlara ulaştık. Ancak tümör çapına göre alt gruplar arasında sağ kalım analizi yapabilmek için mevcut hasta sayı-

mız yeterli değildi. Ayrıca çalışmamızda hücre tipine göre sağ kalım farkı saptanmadı.

Segmentektominin onkolojik sonuçlarına ek olarak olası avantaj ve dezavantajları da tartışılmalıdır. Literatürde segmentektominin lobektomi ile karşılaştırıldığında akciğer fonksiyonu üzerinde herhangi bir yararlı etkisinin olmadığını gösteren bazı çalışmaların aksine²¹, segmentektominin daha avantajlı olduğu ve akciğer fonksiyonunun korunmasına katkıda bulunduğu şeklinde genel fikir birliği mevcuttur²²⁻²⁴. Küratif tedaviden sonra yeni akciğer kanseri gelişme riski %1-6'dır²⁵. Günümüzde metakron akciğer tümörü sıklığı artmaktadır. Gelişmiş tarama teknikleri nedeniyle, erken evre akciğer kanseri insidansı artmış ve bu hastalarda iyi cerrahi sonuçlar elde edilmiştir. İlk hastalıktan kurtulan hastalar için ikincil bir hastalık geliştirme riski daha yüksektir. Bu nedenlerle ilk ameliyat olarak solunum fonksiyonlarını koruyucu segmentektomi yapmak, gelecekte ikinci bir cerrahi fırsatı sunabilir²².

Lobektomiye göre segmentektominin dezavantajlarından biri teknik olarak daha zor olmasıdır. TS ve sağ üst lobektomiye anatomik olarak birbirine eşdeğer kabul ederken, TS ve sağ üst lobektomiye birbirinden ayıran en önemli faktörlerden biri, sol tarafta minör fissür olmadığı için lingula segmentinden ayrımını yapmaktır. Lobektomi sırasında fissürü ayırmak için sıklıkla stapler kullanılır. Bununla birlikte, segmentektomilerde segmental planın ayrılması sırasında, stapler telleri kalan segmentin parankimini sıkıştırabilir ve mevcut parankimal ventilasyonu bozabilir²⁶. Bazı yazarlar, segmentlerin stapler veya başka yollarla ayrılmasında bir fark olmadığını iddia etmektedir²⁷. Biz daha az hava kaçağına yol açtığı için segmentasyon için stapler kullanıyoruz^{5,28}. Çalışmamızda TS/L grubunda 5 (%16.6) hastada UHK ve 3 (%10) hastada plevral boşluk izlendi. Bu komplikasyonlar nedeniyle cerrahi müdahale uygulanmadı. Birçok cerrah VATS ile segmentektomi yapılmasının zor olduğuna inanmasına rağmen, teknik olarak uygulanabilir olduğu birçok kez kanıtlanmıştır. Çalışmalarda, VATS'ın evre I KHDAK için güvenli ve etkili olduğu gösterilmiştir^{5,6}. Biz de son yıllarda segmentektomi için VATS'ı tercih etmekteyiz.

Literatürde TS'nin sonuçlarını sol üst lobektomi ile karşılaştıran çok az çalışma vardır. Bu çalışmalar klinik ve onkolojik sonuçlarımızı desteklemektedir^{6,20,29,30}. Iwasaki A ve arkadaşları, çapı 2 cm'den küçük olan ve sol üst bölümde yer alan tümörler ile evre I KHDAK için bir çalışma yürüttüler ve çalışmaya 86 hastayı dahil ettiler. Otuz bir hastaya TS, 55 hastaya lobektomi yapıldı. TS grubundaki hastalarda daha düşük FEV1 değerine sahipti ve yaş olarak daha yaşlıydı, ancak morbidite ve mortalite açısından iki grup arasında fark bulunmadı. TS'li hastalarda nüks oranı %3.2, beş yıllık sağkalım oranı % 69.7 ve lobektomi hastalarında sırasıyla bu oranlar %3.6 ve %72.5

olarak sonuçlandı. Yazarlar, TS'nin apikal tümörler için standart tedavi olabileceği sonucuna varmışlardır²⁹. Başka bir çalışma, sol akciğer apikal lokalizasyonu olan küçük boyutlu akciğer kanseri için lingula rezeksiyonunun gereksiz olduğunu ve TS sonrası sağkalım oranlarının evre IA ve IB hastalığı için lobektomiye benzer olduğunu bildirmiştir¹⁰. Witte B ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma. 2 cm'den büyük tümör çaplarının, nodal tutulumun ve önceki neoadjuvan tedavinin, titiz bir nodal diseksiyon koşulu altında seçilmiş hastalar için bu seçeneği mutlaka dışlamadığı sonucuna varmıştır³⁰. Çalışmamızda TS uygulanan 18/30 hastada evre I hastalık mevcuttu. TS'nin küçük çaplı sol üst apikal segmental KHDAK için standart cerrahi rezeksiyon olduğu konusunda hemfikiriz^{6,20}.

Sonuç olarak güncel kanaat, klinik evre I hastalığın standart cerrahi tedavisi olan lobektomi sonuçları ile karşılaştırıldığında, anatomik segmentektomi sonuçlarının perioperatif morbidite/mortalite, nüks ve sağkalıma bakıldığında farkın istatistiksel olarak önemsiz olmasıdır. Bu nedenle, seçilmiş hastalarda sol üst lobektomiye alternatif olarak anatomik TS/L düşünülmelidir.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu.

Onay Tarihi: 27.05.2020

Karar No: 2020-9/20

Araştırmacı Katkı Beyanı: Fikir ve tasarım: H.M.; Veri toplama ve işleme: H.M., T.E.S.; Analiz ve verilerin yorumlanması: H.M., D.S.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: H.M., T.E.S., D.S., A.S.B., C.G.

Destek ve Teşekkür Beyanı: Çalışmamızda herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Van Schil PE, Balduyck B, De Waele M, Hendriks JM, Hertoghs M, Lauwers P. Surgical treatment of early-stage non-small-cell lung cancer. *EJC Suppl.* 2013 Sep;11(2):110-22.
2. Ginsberg RJ, Rubinstein LV. Randomized trial of lobectomy versus limited resection for T1 N0 non-small cell lung cancer. Lung Cancer Study Group. *Ann Thorac Surg* 1995;60:615-22; discussion 622-3.
3. Siene W, Stremmel C, Kirschbaum A, Hinterberger L, Stoelben E, Hasse J, et al Frequency of local recurrence following segmentectomy of stage IA non-small cell lung cancer is influenced by segment localisation and width of resection margins--implications for patient selection for segmentectomy. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2007 Mar;31(3):522-7.
4. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf
5. Gossot D. Totally thoracoscopic left upper lobe trisegmentectomy. *Ann Cardiothorac Surg.* 2014 Mar;3(2):197-201.
6. Houck WV, Fuller CB, McKenna RJ Jr. Video-assisted thoracic surgery upper lobe trisegmentectomy for early-stage left apical lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 2004 Nov;78(5):1858-60. Review
7. Landreneau RJ, Normolle DP, Christie NA, Awais O, Wizorek JJ, Abbas G et al. Recurrence and survival outcomes after anatomic segmentectomy versus lobectomy for clinical stage I non-small-cell lung cancer: a propensity-matched analysis. *J Clin Oncol.* 2014 Aug 10;32(23):2449-55.
8. Nomori H, Okada M, editors. *Illustrated Anatomical Segmentectomy for Lung Cancer.* Springer 2012, ISBN 978-4-431-54143-1
9. Okada M, Mimae T, Tsutani Y, Nakayama H, Okumura S, Yoshimura M, Miyata Y. Segmentectomy versus lobectomy for clinical stage IA lung adenocarcinoma. *Ann Cardiothorac Surg.* 2014 Mar;3(2):153-9
10. Soukiasian HJ, Hong E, McKenna RJ Jr. Video-assisted thoracoscopic trisegmentectomy and left upper lobectomy provide equivalent survivals for stage IA and IB lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2012 Sep;144(3):S23-6.
11. Dziedzic DA, Rudzinski P, Langfort R, Orłowski T; Polish Lung Cancer Study Group (PLCSG). Risk Factors for Local and Distant Recurrence After Surgical Treatment in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer.* 2016. pii: S1525- 7304(16)00003-6.
12. Nomori H, Mori T, Izumi Y, Kohno M, Yoshimoto K, Suzuki M. Is completion lobectomy merited for unanticipated nodal metastases after radical segmentectomy for cT1 N0 M0/pN1-2 non-small cell lung cancer? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2012 Apr;143(4):820-4.
13. Zhong C, Fang W, Mao T, Yao F, Chen W, Hu D. Comparison of thoracoscopic segmentectomy and thoracoscopic lobectomy for small-sized stage IA lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 2012 Aug;94(2):362-7.
14. Bao F, Ye P, Yang Y, Wang L, Zhang C, Lv X, Hu J. Segmentectomy or lobectomy for early stage lung cancer: a meta-analysis. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2014 Jul;46(1):1-7.
15. Sawabata N, Miyaoka E, Asamura H, Nakanishi Y, Eguchi K, Mori M, et al. Japanese Lung Cancer Registry Study of 11,663 surgical cases in 2004: demographic and prognosis changes over decade. *J Thorac Oncol.* 2011;6:1229-35
16. Rami-Porta R, Bolejack V, Crowley J, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revisions of the T Descriptors in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 2015; 10(7): 990-1003
17. Yu X, Zhang R, Zhang M, Lin Y, Zhang X, Wen Y, et al; written on behalf of the AME Thoracic Surgery Collaborative Group. Segmental resection is associated with decreased survival in patients with stage IA non-small cell lung cancer with a tumor size of 21-30 mm. *Transl Lung Cancer Res.* 2021 Feb;10(2):900-913. doi: 10.21037/tlcr-20-1217. PMID: 33718031; PMCID: PMC7947415.
18. Carr SR, Schuchert MJ, Pennathur A, Wilson DO, Siegfried JM, Luketich JD, et al. Impact of tumor size on outcomes after anatomic lung resection for stage IA non-small cell lung cancer based on the current staging system. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2012 Feb;143(2):390-7. doi: 10.1016/j.jtcvs.2011.10.023. Epub 2011 Dec 9. PMID: 22169444.
19. Chan EG, Chan PG, Mazur SN, Normolle DP, Luketich JD, et al. Outcomes with segmentectomy versus lobectomy in patients with clinical T1cN0M0 non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2021 May;161(5):1639-1648.e2. doi: 10.1016/j.jtcvs.2020.03.041. Epub 2020 Mar 23. PMID: 32331817.
20. Aprile V, Bertoglio P, Dini P, Palmiero G, Mussi A, Ambrogio MC, et al. Is left upper lobectomy always worthwhile for early stage lung cancer? A comparison between left upper lobectomy,

Sol Üst Lobektomi Evre I KHDAK İçin Aşırı Tedavi mi?

- trisegmentectomy, and lingulectomy. *J Surg Oncol.* 2018 Mar;117(4):618-624. doi: 10.1002/jso.24884. Epub 2017 Oct 19. PMID: 29049856.
21. Takizawa T, Haga M, Yagi N, Terashima M, Uehara H, Yokoyama A, et al. Pulmonary function after segmentectomy for small peripheral carcinoma of the lung. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1999 Sep;118(3):536-41.
 22. Harada H, Okada M, Sakamoto T, Matsuoka H, Tsubota N. Functional advantage after radical segmentectomy versus lobectomy for lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 2005 Dec;80(6):2041-5
 23. Keenan RJ, Landreneau RJ, Maley RH Jr, Singh D, Macherey R, Bartley S, et al. Segmental resection spares pulmonary function in patients with stage I lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2004;78:228-33.
 24. Kobayashi N, Kobayashi K, Kikuchi S, Goto Y, Ichimura H, Endo K, Sato Y. Long-term pulmonary function after surgery for lung cancer. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2017 May 1;24(5):727-732
 25. Loukeri AA, Kampolis CF, Ntokou A, Tsoukalas G, Syrigos K. Metachronous and synchronous primary lung cancers: diagnostic aspects, surgical treatment, and prognosis. *Clin Lung Cancer* 2015;16(1):15-23.
 26. Asakura K, Izumi Y, Kohno M, et al. Effect of cutting technique at the intersegmental plane during segmentectomy on expansion of the preserved segment: comparison between staplers and scissors in ex vivo pig lung. *Eur J Cardiothorac Surg* 2011;40:e34-8.
 27. Miyasaka Y, Oh S, Takahashi N, et al. Postoperative complications and respiratory function following segmentectomy of the lung - comparison of the methods of making an inter-segmental plane. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2011;12:426-9
 28. Ojanguren A, Gossot D, Seguin-Givelet A. Division of the intersegmental plane during thoracoscopic segmentectomy: is stapling an issue? *J Thorac Dis.* 2016 Aug;8(8):2158-64.
 29. Iwasaki A, Hamanaka W, Hamada T, Hiratsuka M, Yamamoto S, Shiraishi T, Shirakusa T. Comparison between a case-matched analysis of left upper lobe trisegmentectomy and left upper lobectomy for small size lung cancer located in the upper division. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2007 Oct;55(7):454-7.
 30. Witte B, Wolf M, Hillebrand H, Huertgen M. Split-lobe resections versus lobectomy for lung carcinoma of the left upper lobe: a pair-matched case-control study of clinical and oncological outcomes. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2014 Jun;45(6):1034-9.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Gastrointestinal Yerleşimli Lipomalar: 19 Olgunun Retrospektif Analizi

Mine ÖZŞEN¹, Ömer YERCI¹, Nesrin UĞRAŞ¹, Özgen IŞIK², Tuncay YILMAZLAR²

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Bursa.

² Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Bu tanımlayıcı çalışmada gastrointestinal sistem yerleşimli lipoma tanısı alan olguların sunulması ve bu tümörlerin klinikopatolojik özelliklerinin literatür bilgileri eşliğinde değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivi taranarak gastrointestinal sistem yerleşimli lipoma tanısı alan 19 olgu retrospektif olarak incelendi. Olguların 11'i kadın (%57,9), 8'i erkekti (%42,1). Ortalama yaş değeri 62,3 yaş olarak saptandı (yaş dağılımı 36-78). 19 olgunun 14'ü kolon, 3'ü ince barsak, 1'i mide ve 1'i rektum yerleşimliydi. Angiolipoma tanısı alan inen kolon yerleşimli tek olgu dışında kalan tüm olgular klasik lipoma morfolojisindeydi. Genellikle insidental olarak saptanan lipomalar, obstrüksiyon, intusepsiyon ve kanama gibi ciddi gastrointestinal semptomlara yol açabilen, adenokarsinomalara eşlik edebilen ve malignitelerle ayırıcı tanısı yapılması gereken tümörlerdir. Tüm olgular operasyon öncesinde uygun radyolojik ve endoskopik yöntemlerle incelenmeli ve her olgu için en uygun tedavi seçeneği değerlendirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Gastrointestinal sistem. Mezenkimal tümörler. Lipoma. Tedavi. Semptom.

Lipomas of the Gastrointestinal Tract: Retrospective Analysis of 19 Cases

ABSTRACT

In this descriptive study, we aimed to present lipoma cases diagnosed in the gastrointestinal tract and to evaluate the clinicopathological features of these tumors based on literature review. In this study, patient files of 19 cases diagnosed with lipoma of the gastrointestinal tract were retrospectively reviewed from the archives of the Department of Pathology of Faculty of Medicine. Eleven of the cases were female (%57,9), and eight (42,1%) were male. The mean age was 62,3 years (range: 36-78 years). Of the 19 cases, 14 were located in the colon, 3 in the small intestine, 1 in the stomach and 1 in the rectum. The classical morphology of lipoma was seen in all cases except one case that was diagnosed with angiolipoma located in the descending colon. Generally, incidentally detected lipomas, which can be accompanied by adenocarcinomas, are tumors that can lead to gastrointestinal symptoms such as obstruction, intussusception and bleeding, and differential diagnosis of malignancies is required. All cases should be examined by appropriate radiological and endoscopic methods before operation and the most appropriate treatment option should be evaluated for each case.

Key Words: Gastrointestinal tract. Mesenchymal tumors. Lipoma. Treatment. Symptoms.

Geliş Tarihi: 29.Nisan.2021

Kabul Tarihi: 26.Ağustos.2021

Dr. Mine ÖZŞEN
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı,
Bursa
Tel. 0532 160 17 37
E-posta: m.isikoglu@hotmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Mine ÖZŞEN: 0000-0002-5771-7649
Ömer YERCI: 0000-0001-7118-5258
Nesrin UĞRAŞ: 0000-0003-0127-548X
Özgen IŞIK: 0000-0002-9541-5035
Tuncay YILMAZLAR: 0000-0003-1924-0795

Gastrointestinal lipomalar, fibröz kapsül ile çevrili matür yağ dokusundan oluşan, genellikle submukozal yerleşimli, yavaş büyüyen, benign mezenkimal tümörlerdir¹. Kolonda adenomatöz poliplerden sonra en sık görülen ikinci benign tümörler olan lipomalar, gastrointestinal sistemin (GİS) benign lezyonlarının % 4'ünü oluştururken, insidansı çeşitli klinik çalışmalarda ve otopsi serilerinde % 0,15-4,4 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir^{2,3}.

Lipomalar, gastrointestinal sistemde en sık sağ kolon lokalizasyonunda saptanırken, bunu sıklık sırasıyla sigmoid kolon, sol kolon ve transvers kolon izlemektedir. Özofagus ve mide yerleşimi nispeten daha nadir görülen lokalizasyonlardır^{4,5}.

Bu çalışmada gastrointestinal sistem yerleşimli lipoma tanısı alan olguların sunulması ve bu tümörlerin klini-

kopatolojik özelliklerinin literatür bilgileri eşliğinde değerlendirilmesini amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamıza Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivi retrospektif olarak taranarak histopatolojik tanısı verifiye edilmiş (endoskopik veya cerrahi yolla), GİS yerleşimli, lipoma tanısı alan 19 olgu dahil edildi. Olgulara ait hematoksilen-eozin ve immünohistokimyasal boyama yapılmış preparatlar yeniden değerlendirilerek histopatolojik özellikler kaydedildi.

Yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu gibi demografik bilgiler ile anamnez, radyolojik görüntülemeler, tedavi, tedavi sonrası takip süreleri gibi klinik bilgiler elektronik hastane veri tabanı taranarak hasta dosyalarından elde edildi. Çalışmaya ait etik kurul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (2018-16/10) onaylandı.

Bulgular

Endoskopik veya cerrahi olarak histopatolojik tanısı verifiye edilmiş, GİS lipoma tanısı alan 19 olgu tespit edildi. Olgulara ait genel özellikler Tablo I'de özetlenmektedir. Olguların 11'i kadın (%57,9), 8'i erkekti (%42,1). Ortalama yaş 62,3±9 yıl olarak saptandı.

Tablo I. Olguların klinikopatolojik bulguları (n=19)

Değişkenler		Olgu Sayısı
Cinsiyet	Kadın	11
	Erkek	8
Yaş	≤50	2
	50-70	13
	≥70	4
Tümör Çapı	<5 cm	15
	≥5 cm	2
Klinik Prezantasyon	Karın ağrısı	10
	Barsak alışkanlıklarında değişiklik	4
	Kanama	2
	Akıntı	1
Tedavi	Hemikolektomi	9
	Polipektomi	7
	Eksizyonel Biyopsi	2
	Wedge Rezeksiyon	1

Ortalama tümör çapı 2,5+1,6 cm idi. İki olgunun ise tümör çapına ulaşılamadı. Tümörlerden 14'ü kolon, 3'ü ince barsak, 1'i mide ve 1'i rektum yerleşimliydi. İnce barsak yerleşimli tümörlerden 2'si duodenum ve

1'i terminal ileum, kolon yerleşimli olgulardan ise 5'i inen kolon, 4'ü çekum, 4'ü çıkan kolon ve 1'i sigmoid kolonda lokalizeydi.

Klinik prezantasyon 10 olguda karın ağrısı, 4 olguda barsak alışkanlıklarında değişiklik, 2 olguda gastrointestinal sistem kanaması ve 1 olguda rektal akıntı şikayetiyleydi. 2 olgu ise insidental olarak saptandı.

On sekiz olguda tümör endoskopik muayeneyle, akut batın semptomlarıyla başvuran tek olguda ise yapılan acil operasyon sonrası saptandı. Endoskopik girişim yapılan olguların hiçbirinde işleme bağlı morbidite ya da mortalite gelişmedi.

Fizik muayene, radyolojik ve endoskopik değerlendirmeler doğrultusunda; 9 olguda polip, 5 olguda malignite, 1 olguda yabancı cisim ve 1 olguda lipoma ön tanısı ile operasyon planlandı. Akut batın semptomlarıyla başvuran tek olguya çekumda nekroz ve palpable kitle ön tanısıyla acil cerrahi uygulandı. 2 olguda ise ön tanılara ulaşılamadı.

Toplam 7 olguda lipomalar endoskopik olarak yönetildi ve 6 olgu polipektomi ile lipomanın eksizyonu sonrası takibe alındı. Kolonoskopi sonucu terminal ileumda polip ön tanısıyla biyopsi yapılan 1 olgu ise patoloji sonucunun lipoma gelmesi üzerine eksizyon uygulanmaksızın takip edildi..

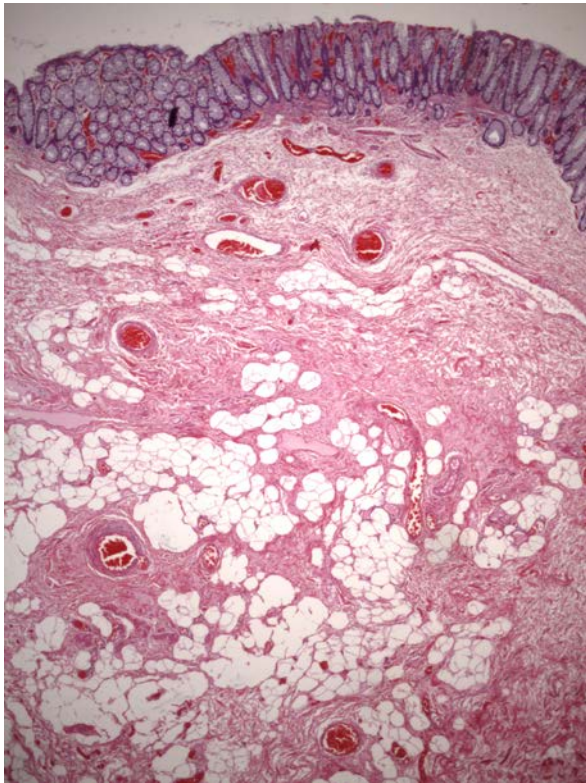
Cerrahi olarak tedavi edilen toplam 12 olgu mevcuttu. Bunlardan biri akut batın nedeniyle acil olarak opere edilen, diğerleri ise elektif cerrahi uygulanan olgulardı. Ameliyat endikasyonu 5 olguda malignite şüphesi, 1 olguda endoskopik olarak çıkarılamayan polip, 1 olguda GİS kanama, 1 olguda polipozis koli ve 1 olguda obstrüksiyonu. Polipozis koli tanılı olguda lipoma yapılan kolonoskopi esnasında insidental olarak saptandı. En sık uygulanan cerrahi prosedür sağ hemikolektomi iken bunu sol hemikolektomi, subtotal kolektomi, laparoskopik sağ hemikolektomi ve laparoskopik mide wedge rezeksiyonu izlemekteydi. Sadece acil sağ hemikolektomi uygulanan olguda postoperatif komplikasyon (postoperatif pnömoni ve derin cerrahi alan enfeksiyonu) saptanırken, hiçbir olguda rekürrens veya mortalite gelişmedi.

Makroskopik değerlendirmede, tüm rezeksiyon materyallerinde mukozada ülserasyon oluşturmamış, iyi sınırlı, kesit yüzeyleri parlak sarı renkte soliter lezyon izlendi (Şekil 1). Histopatolojik incelemede, normal kolon mukozasının altında, submukozal büyüme gösteren, çevresinde ince fibröz kapsülün izlendiği ve fibröz bantlarla ayrılmış matür adipositlerden oluşan tümöral lezyon izlendi. Tümör hücrelerinde pleomorfizm, hiperkromatik nükleus, lipoblast formasyonu izlenmedi ve tümörde atipik mitotik figür ile nekroz saptanmadı. Angiolipoma tanısı alan inen kolon yerleşimli tek olgu dışında kalan tüm olgular klasik lipoma morfolojisindeydi (Şekil 2).

Gastrointestinal Yerleşimli Lipomalar



Şekil 1:
Makroskopik değerlendirme. Mukozada ülserasyon oluşturmamış, iyi sınırlı, kesit yüzeyleri parlak sarı renkte soliter lezyon



Şekil 2:
Submukozada matür adiposit ve konjesyone damar proliferasyonu içeren nodüler lezyon (H&Ex25)

Tartışma ve Sonuç

Erişkin çağda en sık görülen yumuşak doku tümörleri olan lipomalar, gastrointestinal sistemde nispeten nadir görülen, gastrointestinal stromal tümör dışı mezzenkimal tümörlerdir. Genellikle 5-6. dekada tanı alan bu tümörler, kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülmektedir^{4,6}. Bu çalışmadaki olguların ortalama yaşı 62,3 olarak saptanmış olup kadınların erkeklere oranı 1,3'tür.

Lipomaların etiyojileri henüz net olarak aydınlatılmamıştır. Endokrin ve genetik etkenlerin yanı sıra

travma gibi çeşitli durumlar da etiyojide suçlanan etkenler arasındadır. Bazı yayınlarda gastrointestinal sistem yerleşimli lipomaların kronik inflamasyona sekonder gelişen psödö lezyonlar olduğunu öne sürülmektedir^{7,8}.

Gastrointestinal sistemde herhangi bir lokalizasyonda saptanabilen lipomaların en sık yerleşim yeri kolondur (sırasıyla çekum, sağ kolon ve sigmoid kolon). Kolon yerleşimini %20-25 sıklıkla ince barsak ve %5 sıklıkla mide yerleşimi izlemektedir. Lipomalar midede genellikle antrum lokalizasyonunda saptanırken oldukça nadir görüldüğü özofagusta üst 1/3'lük kısma yerleşmektedir⁹. Bu serideki mide yerleşimli tek olguda tümör korpusta lokalizedir. Literatürle uyumlu olarak 14 olguyla kolon lokalizasyonu en sık yerleşim yeri olup, lipomaların 8'i sağ kolon, 6'sı ise sol kolon yerleşimlidir.

Lipomalar genellikle soliter submukozal lezyonlardır ancak nadiren intermusküler veya subserozal yerleşimli ya da multiple sayıda (özellikle çekum lokalizasyonunda) olabilmektedir. Sesil ya da pediküle formda saptanabilir. Boyutları değişken olmakla birlikte genellikle 3-5 cm arasındadır. Literatürde 20 cm'e varan olgularda bildirilmiştir^{2,10,11}. Bu çalışmada yer alan tümörlerin ortalama çapı 2,5 cm'dir. Tümörlerin 2'si intramusküler kalan tamamı ise submukozal yerleşimlidir.

Lipomaların yavaş büyüme özelliği nedeniyle olgular başlangıçta genellikle asemptomatiktir ve insidental olarak saptanır. Semptomatik hale genellikle tümör boyutu 2 cm'i aştığında geçmeye başlarlar ve olgularda gastrointestinal kanama, anemi, karın ağrısı, intüpsiyon, obstrüksiyon, dispeptik şikayetler ile barsak alışkanlıklarında değişiklikler görülür. Gastrointestinal kanama tümörün üzerini örten mukozanın ülser olması sonucu meydana gelir ve gizli kanama olabileceği gibi abondan da olabilmektedir^{12,13}. Jiang ve ark.'larının literatürde yer alan kolon yerleşimli 33 olguyu derledikleri yayınlarında %54,5 oran ile rektal kanama en sık şikayet olarak saptanmıştır. Diğer sık rastlanan şikayetler ise karın ağrısı (%42,4) ve barsak alışkanlıklarında değişikliklerdir (%24,2)¹⁴. Bu çalışmadaki olgularda ise en sık klinik başvuru nedeni karın ağrısıdır.

Bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans veya endoskopik ultrasonografi gibi çeşitli radyolojik görüntüleme yöntemleri tanıya yardımcıdır. Küçük boyutlu tümörler (2 cm'in altı) özellikle BT görüntülemelerde tanı zorluğu yaratsa da -70 ile -120 HU arasındaki değerleri lipoma için tanısal kabul edilmektedir. Endoskopik ultrasonografi ile yapılan değerlendirmelerde genellikle submukozal yerleşimli hiperkoik lezyon şeklinde saptanırlar. Kolonoskopide saplı veya sapsız, düzgün yüzeyli, submukozal yerleşimli lezyonlar şeklinde saptanırlar. Forseps ile tutulan lezyonun bırakıldığında eski haline dönmesi önemli bir özelliktir. Biyopsi ile tanı imkanı, özellikle 2,5

cm'in altında ve sapsız lezyonlarda polipektomi ile tedavi olanağı sunması kolonoskopinin avantajları iken submukozal yerleşimi nedeniyle özellikle yüzeysel biyopsilerin tanı için yetersiz kalabileceği de unutulmamalıdır^{1,2,7}. Bu seride radyolojik görüntülemelerine ulaşılabilen tümörler düzgün sınırlı, yumuşak doku ekojenitesinde kitle lezyonu şeklinde bulgu vermektedir.

Mikroskopik olarak submukozal yerleşimli, matür lipositlerden oluşan, yer yer fibröz septaların izlendiği iyi sınırlı benign neoplazilerdir. Özellikle büyük boyutlara ulaşan lipomalarda ülserasyon, iltihabi granülasyon dokusu ve yağ nekrozu da saptanabilmektedir. Lipomaların anjiolipoma, kondroid lipoma, myolipoma, myelolipoma, fibrolipoma, fibrohistiyositik lipoma, işsi hücreli lipoma ve pleomorfik lipoma gibi çeşitli varyantları da tanımlanmıştır. Ayırıcı tanıda ilk sırada yer alan liposarkomada gözlenen hiperkromatik nükleuslu hücreler, bizar hücreler, lipoblastlar, lipositler arası boyut ve şekil farklılıkları, geniş fibröz bantlar ile artmış mitoz gibi histopatolojik bulgular ayırıcı yardımcıdır. Gastrointestinal sistem lipomalarda malign transformasyon oldukça nadir görülürken, nüks beklenen bir durum değildir^{15,16}. Ayrıca literatürde gastrointestinal sistem kaynaklı lipoma ve adenokarsinoma birlikteliği de bildirilmiştir¹⁷. Bu çalışmada 19 olgudan 1'i anjiolipoma özelliğindedir, diğer olgular klasik lipoma morfolojisindedir.

Moleküler genetik incelemelerde lipomalarda, 12q13-15'de lokalize HMGA2/HMGIC'in füzyon transkripti ve nadiren kromozomal değişiklikler gösterilmiştir^{16,18}.

İnsidental olarak saptanan lipoma olgularında herhangi bir tedavi veya takip gerekmezken, semptomatik olgularda tümörün elektif şartlarda endoskopik, laparoskopik veya laparotomik yöntemlerle çıkarılması gerekmektedir¹⁹.

Bu çalışmanın en önemli kısıtlılığı retrospektif dizaynı ve olgu sayısının az olmasıdır ancak mevcut demografik, klinik ve patolojik bulgular literatür ile uyumludur.

Sonuç olarak, küçük boyutlu olduklarında herhangi bir semptoma neden olmaksızın insidental olarak saptanan lipomalar, büyük boyutlara ulaştıklarında gastrointestinal sistem malignitelerini taklit eder özellikler kazanabilmektedir. Gastrointestinal sistemde özellikle submukozal yerleşimli lezyonların ayırıcı tanısında nadir görülen lipomalarda akla getirilmelidir. Gereksiz rezeksiyonların önlenmesi adına operasyon öncesinde olgular mutlaka uygun radyolojik ve endoskopik yöntemlerle incelenmeli, malignite ekarte edilmeli ve komplikasyongelişimini en aza indirecek en uygun tedavi seçeneği açısından değerlendirilmelidir.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu.

Onay Tarihi: 17.09.2018

Karar No: 2018-16/10

Araştırmacı Katkı Beyanı: Fikir ve tasarım: M.Ö., Ö.Y., N.U.; Veri toplama ve işleme: M.Ö., Ö.I., T.Y.; Analiz ve verilerin yorumlanması: M.Ö., N.U., Ö.I., Ö.Y.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: M.Ö., N.U., Ö.I.

Destek ve Teşekkür Beyanı: Bu makalede yer alan çalışmaya finansal destek sağlayan bir kişi ya da kurum bulunmamaktadır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Kang HC, Menias CO, Gaballah AH, Shroff S, Taggart MW, Garg N, Elsayes KM. Beyond the GIST: mesenchymal tumors of the stomach. *Radiographics*. 2013 Oct;33(6):1673-90. doi: 10.1148/rg.336135507.
2. Tascilar O, Cakmak GK, Gun BD, Ucan AH, Balbaloglu H, Cesur A, Emre AU, Comert M, Erdem LO, Aydemir S. Clinical evaluation of submucosal colonic lipomas: decision making. *World J Gastroenterol*. 2006 Aug 21;12(31):5075-7.
3. Chung Y, Ho Y, Nyam D, et al: Management of colonic lipomas. *Aust NZ J Surg* 68:133-5, 1998.
4. Gould DJ, Anne Morrison C, Liscum KR, Silberfein EJ. A lipoma of the transverse colon causing intermittent obstruction: a rare cause for surgical intervention. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2011 Jul;7(7):487-90.
5. Aytaç B, Yerci Ö, Gürel S, Ferik Z. Colonic Lipomas Mimicking Colon Cancer. *Türk Patoloji Derg*. 2010;26(3):196-9.
6. Zhang H, Cong JC, Chen CS, Qiao L, Liu EQ. Submucosal lipoma: a case report and review of the literature. *World J Gastroenterol*. 2005 May 28;11(20):3167-9.
7. Chehade HH, Zbibo RH, Nasreddine W, Abtar HK. Large ileocecal submucosal lipoma presenting as hematochezia, a case report and review of literature. *Int J Surg Case Rep*. 2015;10:1-4.
8. Eryılmaz MA, Yücel A, Yücel H, Arıncıl M. Cervico-Thoracic Giant Lipoma in a Child. *Türk Arch Otorhinolaryngol*. 2016 Jun;54(2):82-85. doi: 10.5152/tao.2016.1620. Epub 2016 Jun 1.
9. Thompson WM. Imaging and findings of lipomas of the gastrointestinal tract. *AJR Am J Roentgenol*. 2005 Apr;184(4):1163-71.
10. Dassanayake SUB, Dinamithra NP, Nawarathne NMM. Submucosal lipoma of the sigmoid colon as a rare cause of mucoid diarrhea: a case report. *J Med Case Rep*. 2016 Jan 20;10:17.
11. Narindra Rajaonarison Ny Ony L, Ahmad A, Bruneton JN. Lipomas of the digestive tract: General aspects and imaging. *Cureus*. 2014 September;6(9): e208.
12. Lin Y, Chiu N, Li AF, Liu C, Chou Y, Chiou Y. Unusual gastric tumors and tumor-like lesions: Radiological with pathological correlation and literature review. *World J Gastroenterol* 2017 April 14; 23(14): 2493-2504.
13. Val-Bernal JF, Hermans S, Gómez-Román JJ. Incidental, low-fat variant of spindle cell lipoma: a novel tumour of the small intestine. *Pol J Pathol*. 2018;69(1):82-86. doi: 10.5114/pjp.2018.75341.
14. Jiang L, Jiang LS, Li FY, Ye H, Li N, Cheng NS, Zhou Y. Giant submucosal lipoma located in the descending colon: a case report and review of the literature. *World J Gastroenterol*. 2007 Nov 14;13(42):5664-7.
15. Fletcher CDM, Bridge JA, Hogendoorn P, Mertens F. *World Health Organization Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone: Adipocytic tumors* 4th ed. Lyon, France: IARC Press, 2013; 20-43.

Gastrointestinal Yerleşimli Lipomalar

16. Fisher C, Montgomery EA, Thway K. Biopsy Interpretation Series Biopsy Interpretation of the Soft tissue tumors. 2th ed. Philadelphia;2011. 355-402.
17. Namikawa T, Munekage E, Mizuta H, Kobayashi M, Saibara T, Hanazaki K. Simultaneous occurrence of gastric lipoma and early gastric cancer. *Endoscopy*. 2014;46 Suppl 1 UCTN:E338
18. Henderson-Jackson EB, Bui MM. Molecular Pathology of Soft-Tissue Neoplasms and Its Role in Clinical Practice. *Cancer Control*. 2015 Apr;22(2):186-92.
19. El-Dika S, Vahabzadeh A, Karageorge L, Kinsey A. A large pedunculated lipoma endoscopically resected with the assistance of a detachable nylon endoloop. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2007 Nov;3(11):880-1.

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Ebeveynleri COVID-19 Geçiren Çocuk ve Ergenlerde Psikolojik Sağlık, Depresyon, Anksiyete ve Travma Sonrası Stres Bozukluğu Belirtileri

Mehtap EROĞLU¹, Neşe YAKŞI²

¹ Niğde Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Niğde.

² Niğde Merkez Toplum Sağlığı Merkezi, Niğde.

ÖZET

Aralık 2019'da, Çin'de Yeni Koronavirüs (SARS-CoV-2) olarak bilinen bir koronavirüs tespit edilmiş ve dünya çapında bir salgın haline gelmiştir. COVID-19'dan korunmanın temel yolu, izolasyon ve sosyal uzaklaşma stratejileri olmuştur. Bu çalışmada, COVID-19 nedeni ile izole edilen ebeveynlerin çocuklarını depresyon, anksiyete ve travma sonrası stres bozukluğu (TSSB) belirtileri açısından değerlendirdik. Çalışmaya anne ve/veya babası son 3 ay içinde COVID-19 enfeksiyonu geçirmiş 52 çocuk dahil edilmiştir. Çocukların yaşları 7 yaş ile 17 yaş arasındadır ve 27'si kızdır. Tüm çocuklara, Çocuklar için Depresyon Ölçeği, Çocuklar için Travma Sonrası Stres Tepki Ölçeği, Çocukluk Anksiyete Tarama Ölçeği, Psikolojik Sağlık Ölçeği uygulanmıştır. Çocukların %19.2'sinde depresif semptomların olduğu, depresyon semptomların kronik hastalığı olanlarda %40, tanı almış psikiyatrik hastalığı olanlarda %50 olduğu tespit edilmiştir. Çocuklarda, değişen düzeylerde TSSB belirtileri saptanmıştır. Annesi izole edilenlerde, ağır TSSB belirtileri oranı %35.1; babası izole edilenlerde %6.7'dir. Her iki ebeveyni de COVID-19 enfeksiyonu geçiren çocuklarda anksiyete puanı en yüksek bulunurken, bunu sırasıyla sadece annesi geçiren çocuklar ve sadece babası geçirenler izlemiştir. Bilim adamlarının koronavirüsü iyi anladıkları, ülkemizde Sağlık Bakanlığı'nın süreci iyi yönettiği, koronavirüsün yayılmasını kısıtlamak için kendi alacağı ve ülkemizde alınacak koruyucu önlemlerin fark oluşturacağı fikrine katılmayan çocuklarda depresyon semptom sıklığı daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, bilim adamlarının koronavirüsü iyi anladıkları fikrine katılmayan ve ülkemizde uygulanan kuralların günlük yaşamlarına çok fazla müdahalede bulunduğunu düşünen çocuklarda, ağır TSSB belirti sıklığının daha yüksek olduğu gösterilmiştir. COVID-19 salgını ile günlük yaşamları kısıtlanmış olan çocukların; bilişsel, duygusal, fiziksel ve psikolojik gelişimlerinin henüz tamamlanmamış olduğu dikkate alındığında, bu süreçte yaşayabilecekleri sorunlara karşı uyumlarını arttırmak, psikolojik dayanıklılıklarını güçlendirmek için ruhsal destek sunulmalı ve etkin stratejiler izlenmelidir.

Anahtar Kelimeler: COVID-19. Çocuk. Depresyon. Travma sonrası stres. Anksiyete. Algılanan tehdit.

Psychological Resilience, Symptoms of Depression, Anxiety, and Post-Traumatic Stress Disorder in Children and Adolescents whose Parents With COVID-19

ABSTRACT

In December 2019, a coronavirus known as Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) was detected in China and turned into a pandemic. The main strategy to avoid COVID-19 infection has been isolation and social distancing strategies. Therefore, we evaluated the children of parents who were isolated due to COVID-19 in terms of depression, anxiety, and post-traumatic stress disorder (PTSD) symptoms. Fifty-two children whose mother and / or father had been infected with COVID-19 in the last three months were included in the study. The children's ages vary between the ages of 7 and 17; 27 of them are girls. The Child Depression Scale, Post-Traumatic Stress Response Scale for Children, Childhood Anxiety Screening Scale, and Psychological Resilience Scale were administered to all children. It was determined that 19.2% of the children had depressive symptoms; the frequency of depression symptoms was 40% in those with chronic disease and 50% in those with a diagnosed psychiatric disorder. Various levels of PTSD symptoms were observed in all children included in the present study. While the rate of severe PTSD symptoms was 35.1% in those whose mothers were isolated; it was found to be 6.7% in those whose fathers were isolated. Children whose both parents were infected with COVID-19 had the highest anxiety scores, followed by children whose only mothers were infected and whose only fathers were infected, respectively. The depression symptoms were found to be more frequent in children who disagreed with the idea that scientists understand the coronavirus well, that the Ministry of Health in Turkey manages the process well, that the measures taken by themselves or the government will make a difference. In addition, it has been shown that severe PTSD symptoms are more frequent in children who disagree with the idea that scientists understand the coronavirus well and who think that the rules applied in Turkey interfere too much with their daily lives. Children whose daily life was restricted by the COVID-19 Pandemic; considering that their cognitive, emotional, physical, and psychological development has not yet been completed, psychological support should be provided, and effective strategies should be followed to increase their adaptation to the problems they may experience during this process, to strengthen their psychological resilience.

Key Words: COVID-19. Child. Depression. Post-traumatic stress. Anxiety. Perceived threat.

Geliş Tarihi: 16.Nisan.2021
Kabul Tarihi: 31.Ağustos.2021

Dr. Mehtap EROĞLU
Niğde Eğitim ve Araştırma Hastanesi,

Aşağı Kayabaşı Mahallesi
Hastaneler Cad 51100, Niğde
Tel.: 0507 173 57 58
E-posta: drmehtap.eroglu@gmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:
Mehtap EROĞLU:
0000-0002-5879-9412
Neşe YAKŞI: 0000-0002-6175-2359

Aralık 2019'da, Çin'de koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) olarak bilinen yeni bir tip koronavirüs hastalığı tespit edilmiştir¹. Bundan birkaç ay sonra, COVID-19 dünya çapında bir salgın haline gelmiş ve halk sağlığı için önemli bir tehdit oluşturmuştur. COVID-19, çocuklar ve ergenler de dahil olmak üzere dünyanın dört bir yanındaki insanların yaşamlarını benzeri görülmemiş bir şekilde etkilemiştir. Büyük bir pandeminin, bireylerin ruh sağlığı üzerinde yaygın zararlı etkileri olabilir^{2,3}. Yayılımı hızlı bir salgın, toplumda korku, sıkıntı ve anksiyeteye neden olur⁴⁻⁶. Bir pandeminin neden olduğu uzun vadeli stres ve anksiyete, depresyon semptomlarını daha da tetikleyebilir^{7,8}.

Tüm dünyada, COVID-19 enfeksiyonundan korunmanın temel yolu, izolasyon ve sosyal uzaklaşma stratejileri olmuştur⁹. İzolasyon, bulaşıcı hastalık tanısı almış kişileri henüz enfekte olmayanlardan ayırmak olarak tanımlanmaktadır¹⁰. İzolasyon, bir salgın sırasında bulaşıcı bir hastalığın daha fazla yayılmasını önlemeyi amaçlayan en önemli ve etkili halk sağlığı önlemlerinden biridir. Bununla birlikte, izolasyonun, belirsizlik duyguları, uykusuzluk ve diğerlerinden kopma gibi psikolojik etkileri geniş kapsamlı ve uzun sürelidir¹¹. Sosyal izolasyonun, kişiler arası iletişimi azaltarak insanların yalnızlık duygularının artmasına ve bunun da depresif belirtilere yol açtığı bilinmektedir¹². İzolasyon, anksiyete, depresyon ve uykusuzluk gibi olumsuz ruh sağlığı sonuçlarıyla ilişkilidir¹³⁻¹⁶. COVID-19 ile enfekte olunması nedeni ile hastanın izole edilmesi ya da hastanede takip edilmesini gerektirecek düzeyde hastalığın şiddetli olması; hastanın kendisi kadar beraber yaşadığı bireyleri özellikle de çocuklarını ruhsal açıdan olumsuz etkileyebilmektedir. Ebeveynlerinden ayrı kalan çocuklar, psikiyatrik rahatsızlık açısından risk altındadırlar. Birincil bakım verenden ayrılmanın çocuğu daha savunmasız hale getirebileceği ve çocuğun ruh sağlığına tehdit oluşturabileceği bilinmektedir¹⁷⁻¹⁹. Çocuklarda, mutsuzluk, kaygı, ölüm korkusu, ebeveynlerini kaybetme korkusu gibi olumsuz etkiler gelişebilir^{20,21}. İzolasyon tedbirleri genel olarak toplumun yararına olsa da, psikolojik etkileri göz ardı edilemez¹⁹. Normal deneyimin ötesinde olan bu durumlar; stres, endişe ve çaresizlik hissine yol açar. Küçük çocuklarda ve ergenlerde salgın, yetişkinlere kıyasla duygusal ve sosyal gelişim üzerinde daha fazla olumsuz bir etkiye sahiptir. Çocuk ve ergenler üzerindeki etkinin niteliği, çocuğun gelişim yaşı, mevcut eğitim durumu, özel ihtiyacının olup olmaması, önceden var olan ruhsal rahatsızlık durumu veya enfeksiyon korkusu gibi faktörlerden etkilenmektedir²².

Ortaya çıkış nedeninin tam olarak bilinmemesi, virüsün gözle görülememesi ve toplumun tüm kesimindeki bireylerin risk altında olması salgını küresel bir travmaya dönüştürmüştür. Travma sonrası beklenen psikolojik tepkilerin tamamı salgın döneminde adım

adım gözlenmiştir^{23,24}. Herhangi bir afet sonrasında beklendiği gibi, COVID-19 pandemisinde de tüm gelişim aşamalarındaki çocuklarda, yüksek oranda depresyon, anksiyete ve travma sonrası stres semptomlarının olduğu bildirilmiştir²⁵⁻²⁸.

Sonuç olarak bazı gruplar, pandeminin psikososyal etkilerine karşı diğerlerinden daha savunmasız olabilir. Kritik bir gelişim döneminde oldukları için çocuklar ve ergenler, ruh sağlıklarını korumak ve geliştirmek için özel bir özeni hak ediyorlar. Biz bu çalışmamızda COVID-19 ile enfekte olup evde ya da hastanede izole edilmiş olan hastaların çocuklarını depresyon, anksiyete ve travma sonrası stres bozukluğu (TSSB) belirtileri açısından değerlendirdik.

Gereç ve Yöntem

Katılımcılar ve Prosedür

Çalışma tanımlayıcı tipte bir çalışmadır. Çalışmaya anne ve/veya babası son 3 ay içinde COVID-19 enfeksiyonu geçirmiş 52 çocuk dahil edilmiştir. Çalışma verisi Haziran 2020-Eylül 2020 tarihleri arasında toplanmıştır. Çocuklar Niğde Toplum Sağlığı Merkezinde değerlendirilmiş ve Çocuklar için Depresyon Ölçeği, Çocuklar için Travma Sonrası Stres Tepki Ölçeği, Çocukluk Anksiyete Tarama Ölçeği, Psikolojik Sağlamlık Ölçeği ve Bilgi Toplama Formu uygulanmıştır. Çalışma uygulanmadan önce etik kurul izni (Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Etik Kurulu/Karar no: 2020/05-18) ve Niğde Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden kurum izni alınmıştır.

Kullanılan Ölçekler

Çocuklar İçin Depresyon Ölçeği, Kovacs tarafından 1981'de geliştirilmiştir²⁹. Beck depresyon ölçeği esas alınarak hazırlanan bu ölçek altı ile on yedi yaş arası çocuk ve ergenlere uygulanabilir ve 27 maddeden oluşmaktadır. Kendini değerlendirme ölçeği olup son iki haftayı değerlendirir. Üç cümlelik her sette verilen cevaplara 0 ile 2 arasında puanlar verilir. Bu puanların toplanması ile depresyon puanı elde edilir. Ölçekten alınabilecek en yüksek puan 54'dür. Alınan puanın yüksekliği, depresyon düzeyinin ağırlığını gösterir. Ülkemizde geçerlik ve güvenilirlik çalışması Öy (1991) tarafından³⁰ yapılmış ve patoloji kesim noktası 19 puan olarak saptanmıştır.

Çocuklar için Travma Sonrası Stres Tepki Ölçeği (ÇTSS-TÖ), TSSB belirtilerinin şiddetini araştırmak için Pynoos ve arkadaşları (1987) tarafından geliştirilmiştir³¹. ÇTSS-TÖ çeşitli travmatik yaşantılar sonrasında çocuk ve ergenlerde ortaya çıkan stres tepkilerini değerlendirmek amacıyla geliştirilmiş 20 maddelik bir ölçektir. Ölçeğin Türkçe'ye çevrisi ile geçerlilik ve güvenilirlik çalışması yapılmış olup; Türkçe'de test-tekrar test güvenilirliği 0.86, görüşmecisi arası güveni-

COVID-19 Pandemisi ve Çocuk Psikolojisi

lirliği 0.98 olarak bulunmuştur³². ÇTSS-TÖ beşli Likert tipi yarı yapılandırılmış bir ölçektir. Toplam puanının 12-24 arasında olması hafif TSSB tepkisi, 25-39 arası orta düzeyde, 40-59 arası ağır ve 60'ın üstü çok ağır derecede TSSB tepkisine işaret etmektedir.

Çocukluk Anksiyete Tarama Ölçeği (ÇATÖ), Çocukluk çağı anksiyete bozukluklarını tarama amacıyla Birmaher ve ark.³³ tarafından geliştirilen ve Türkçe geçerlik ve güvenilirliği Çakmakçı ve ark.³⁴ tarafından yapılan ÇATÖ'nün ebeveyn ve çocuk formu mevcuttur. Toplam 41 maddeden oluşan ÇATÖ'de 25 ve üzeri puanın kaygı bozukluğu için uyarı niteliği taşıdığı kabul edilmektedir.

Çocuk ve Genç Psikolojik Sağlık Ölçeği, Liebenberg ve ark. tarafından geliştirilen ve ilk olarak 28 maddeden oluşan ölçek, sonrasında 12 maddelik kısa form şeklinde geliştirilmiştir³⁵. Ölçeğin Türkçeye uyarlama çalışması ise Arslan tarafından yapılmıştır³⁶. Beşli likert yapıda olup "Beni tamamen tanımlıyor (5)" ile "Hiç tanımlamıyor (1)" arasında derecelendirilmektedir. Ölçek puanı arttıkça psikolojik sağlık da artmaktadır.

Bilgi Toplama Formu, sosyodemografik veriler, tanı almış tıbbi hastalık ve psikiyatrik hastalık, pandemi sürecinde ebeveynlerin yaşadığı iş kaybı, ailede COVID-19 hastalığı geçiren kişi ve izolasyon süreci, COVID-19 ile ilgili algılanan tehdit ve bilgi düzeyi, ekran başında geçirilen süre, günlük uyku süresi sorularını içermektedir.

İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizinde; tanımlayıcı verilerin sunulmasında frekans ve yüzde dağılımı ile ortalama, minimum ve maksimum değerler; kategorik değişken analizinde Ki-kare testi, Fisher Exact Testi; sürekli değişkenlerin analizinde Mann Whitney U Testi, Kruskal Wallis Testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

Bulgular

Çalışmaya anne ve/veya babası son 3 ay içinde COVID-19 enfeksiyonu geçirmiş 52 çocuk dahil edilmiştir. Çocukların yaş ortanca değeri 12 (7-17) olup, 27 (%51.9)'si kızdır. Dokuz (%17.3) çocuğun kronik hastalığı, 10 (%19.2) çocuğun ise psikiyatrik bir hastalığı bulunmaktadır. Beş çocuğun Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB), bir çocuğun anksiyete, bir çocuğun davranış problemi ve üç çocuğun hem anksiyete hem DEHB tanısı bulunmaktadır. Çocukların 25 (%48.1)'inin sadece annesi, 15 (%28.8)'inin sadece babası ve 12 (%23.1)'sinin her iki ebeveyni de COVID-19 enfeksiyonu geçirmiştir. COVID-19 enfeksiyonu geçiren ebeveynin izolasyon süreci %53.8 oranında hastanede geçirilmiştir. Çocukların 16 (%30.8)'sının evinde birden fazla COVID-19

enfeksiyonu geçiren kişi bulunmaktadır. Araştırma zamanında ise bir çocuğun ebeveyninin COVID-19 nedeni ile hastanede yatmakta olduğu ifade edilmiştir. Ortanca hastanede yatış süresi 12 (1-20) olup, hastane çıkışından ortalama 60 (14-90) gün geçmiştir.

Çocuk Depresyon Ölçeği'nden alınan puanın kesim noktası 19 alındığında çocukların %19.2'sinde depresyon semptomlarının olduğu görülmüştür. Kronik tıbbi hastalığı olan çocuklarda depresyon semptom sıklığı %40, olmayanlarda %14.3 olarak bulunmuştur. Tanı almış psikiyatrik hastalığı olan çocuklarda depresyon semptom sıklığı %50, olmayanlarda %11.9 olarak bulunmuştur ($p=0.015$). Depresif semptomu olmayan çocuklarda psikolojik sağlık ölçek puanı, depresif semptomu olan çocuklarınkinden daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Depresyonla ilişkili olabilecek bazı değişkenler Tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo I. Ebeveyni COVID-19 Geçiren Çocuklarda Depresyon Sıklığı ve İlişkili Faktörler

		Depresif n (%)	Non-depresif n (%)	p değeri
Cinsiyet	Kız	5 (18.5)	22 (81.5)	1.000*
	Erkek	5 (20.0)	20 (80.0)	
Yaş		15 (8-17)	11 (7-17)	0.148§
Pandemi sürecinde iş kaybı	Evet	3 (33.3)	6 (66.7)	0.349
	Hayır	7 (16.3)	36 (83.7)	
Kronik hastalık	Evet	4 (40.0)	6 (60.0)	0.085
	Hayır	6 (14.3)	36 (85.7)	
Tanı almış psikiyatrik hastalık tanısı	Evet	5 (50.0)	5 (50.0)	0.015
	Hayır	5 (11.9)	37 (88.1)	
Psikolojik sağlık ölçek puanı		42 (30-49)	52 (34-60)	<0.001§
Annenin COVID-19 pozitifliği	Evet	9 (24.3)	28 (75.7)	0.247
	Hayır	1 (6.7)	14 (93.3)	
Pozitif ebeveyn	Anne	6 (24.0)	19 (76.0)	0.342‡
	Baba	1 (6.7)	14 (93.3)	
	Her ikisi	3 (25.0)	9 (75.0)	
İzolasyon yeri	Ev	7 (29.2)	17 (70.8)	0.157
	Hastane	3 (10.7)	25 (89.3)	

*Fisher Exact Testi, §Mann Whitney U Testi, ‡Ki-kare Testi

En az bir ebeveyni COVID-19 enfeksiyonu geçirmiş çalışma grubumuzda tüm çocuklarda değişen düzeylerde TSSB belirtileri görülmüştür. Yirmi dört (%46.2) çocukta hafif düzeyde, 14 (%26.9) çocukta orta düzeyde ve 14 (%26.9) çocukta ağır düzeyde TSSB belirtileri gelişmiştir. Annesi COVID-19 enfeksiyonu geçiren çocuklarda, ağır TSSB belirtileri oranı %35.1 iken, geçirmeyen çocuklarda %6.7 olarak bulunmuştur ($p=0.043$). Psikolojik sağlık ölçek puanı hafif/orta TSSB belirtileri olan çocuklarda, ağır TSSB belirtileri olan çocuklardan daha yüksek bulunmuştur ($p=0.037$). TSSB ile ilişkili olabilecek bazı değişkenler Tablo II'de gösterilmiştir.

Tablo II. Ebeveyni COVID-19 Geçiren Çocuklarda TSSB Sıklığı ve İlişkili Faktörler

		Hafif/Orta TSSB n (%)	Ağır TSSB n (%)	p değeri
Cinsiyet	Kız	18 (66.7)	9 (33.3)	0.279 [¶]
	Erkek	20 (80.0)	5 (20.0)	
Yaş		12 (7-17)	13 (8-17)	0.917 [§]
Pandemi sürecinde iş kaybı	Evet	7 (77.8)	2 (22.2)	1.000*
	Hayır	31 (72.1)	12 (27.9)	
Kronik hastalık	Evet	7 (70.0)	3 (30.0)	1.000*
	Hayır	31 (73.8)	11 (26.2)	
Tanı almış psikiyatrik hastalık tanısı	Evet	6 (60.0)	4 (40.0)	0.300*
	Hayır	32 (76.2)	10 (23.8)	
Psikolojik sağlık ölçek puanı		52 (30-60)	47.5 (34-53)	0.037 [§]
Annenin COVID-19 pozitifliği	Evet	24 (64.9)	13 (35.1)	0.043*
	Hayır	14 (93.3)	1 (6.7)	
Pozitif ebeveyn	Anne	16 (64.0)	9 (36.0)	0.109*
	Baba	14 (93.3)	1 (6.7)	
	Her ikisi	8 (66.7)	4 (33.3)	
İzolasyon yeri	Ev	17 (70.8)	7 (29.2)	0.736 [¶]
	Hastane	21 (75.0)	7 (25.0)	

*Fisher Exact Testi, [§]Mann Whitney U Testi, [¶]Ki-kare Testi
TSSB: Travma Sonrası Stres Bozukluğu

Çalışma grubumuzda anksiyete ortanca puanı 25.50 (0-68)'dir. Her iki ebeveyni de COVID-19 enfeksiyonu geçiren çocuklarda anksiyete puanı en yüksek bulunurken, bunu sırasıyla sadece annesi geçiren çocuklar ve sadece babası geçirenler izlemiştir (p=0.018). Cinsiyet, aile tipi, ebeveyn öğrenim durumları, pandemi sürecinde iş kaybı, ev tipi, kronik hastalık, psikiyatrik hastalık, pozitif ebeveyn izolasyon yeri, evde birden fazla COVID-19 pozitif vaka bulunması ile anksiyete ölçek puanı arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır (p<0.05). Psikolojik sağlık ölçek puanı ile anksiyete ölçek puanı arasında negatif yönde orta düzeyde bir korelasyon tespit edilmiştir (r=-0.441, p=0.001). Yaş, aylık aile geliri, ekran başında geçirilen süre, günlük uyku süresi ve pozitif ebeveynin hastanede yatış süresi ile anksiyete ölçek puanı arasında herhangi bir korelasyon saptanmamıştır (p<0.05).

COVID-19 ile ilgili düşünceler değerlendirildiğinde; bilim adamlarının koronavirüsü iyi anladıkları (p=0.023), ülkemizde Sağlık Bakanlığı'nın süreci iyi yönettiği (p=0.011), koronavirüsün yayılmasını kısıtlamak için alacağı kişisel koruyucu önlemlerin fark oluşturacağı (p=0.030) ve ülkemizde alınacak koruyucu önlemlerin fark oluşturacağı (p<0.001) fikrine katılmayan çocuklarda, depresyon semptom sıklığı daha yüksek bulunmuştur (Tablo III). Ayrıca, bilim

Tablo III. Katılımcıların COVID-19 ile düşünceleri ile Depresyon, TSSB ve Anksiyete Arasındaki İlişki

		Depresyon		p değeri*	TSSB		p değeri*	Anksiyete	
		Depresif n(%)	Non- depresif n(%)		Hafif/ Orta TSSB n(%)	Ağır TSSB n(%)		Ortanca (min-maks)	p değeri**
Koronavirüsle ilgili kendini ne kadar kaygılı görüyorsunuz?	Hiç	2 (18.2)	9 (81.8)	0.921	8 (72.7)	3 (27.3)	0.164	18 (0-51)	0.118
	Kısmen/biraz/orta	5 (17.9)	23 (82.1)		23 (82.1)	5 (17.9)		24 (4-48)	
	Fazla/çok fazla/çok çok fazla	3 (23.1)	10 (76.9)		7 (53.8)	6 (46.2)		30 (10-68)	
Önümüzdeki 6 ay boyunca koronavirüse yakalanma konusunda kendini ne kadar risk altında görüyorsunuz?	Hiç	2 (14.3)	12 (85.7)	0.591	10 (71.4)	4 (28.6)	0.076	28 (0-48)	0.413
	Kısmen/biraz/orta	7 (24.1)	22 (75.9)		24 (82.8)	5 (17.2)		24 (4-55)	
	Fazla/çok fazla/çok çok fazla	1 (11.1)	8 (88.9)		4 (44.4)	5 (55.6)		29 (13-68)	
Önümüzdeki 6 ay boyunca koronavirüse yakalanma konusunda ailen ve arkadaşlarını ne kadar risk altında görüyorsunuz?	Hiç	0 (0.0)	5 (100.0)	0.513	4 (80.0)	1 (20.0)	0.736	15 (0-42)	0.050
	Kısmen/biraz/orta	6 (20.7)	23 (79.3)		22 (75.9)	7 (24.1)		25 (4-55)	
	Fazla/çok fazla/çok çok fazla	4 (22.2)	14 (77.8)		12 (66.7)	6 (33.3)		31 (13-68)	
Yaşadığım ülkede çok fazla kişinin etkileneceğini düşünmüyorum.	Hiç katılmıyorum	1 (12.5)	7 (87.5)	0.700	6 (75.0)	2 (25.0)	0.062	23 (0-47)	0.262
	Biraz/çok az katılıyorum	6 (18.2)	27 (81.8)		27 (81.8)	6 (18.2)		24 (4-51)	
	Fazla/tamamen katılıyorum	3 (27.3)	8 (72.7)		5 (45.5)	6 (54.5)		29 (13-68)	
Muhtemelen koronavirüs hastalığına yakalanacağım.	Hiç katılmıyorum	2 (11.1)	16 (88.9)	0.553	13 (72.2)	5 (27.8)	0.989	22 (0-48)	0.699
	Biraz/çok az katılıyorum	6 (23.1)	20 (76.9)		19 (73.1)	7 (26.9)		26 (8-55)	
	Fazla/tamamen katılıyorum	2 (25.0)	6 (75.0)		6 (75.0)	2 (25.0)		26 (15-68)	
Koronavirüs hastalığına yakalanmak ciddi hastalığa neden olabilir.	Hiç katılmıyorum	0 (0.0)	4 (100.0)	0.545	4 (100.0)	0 (0.0)	0.130	18 (0-28)	0.164
	Biraz/çok az katılıyorum	4 (18.2)	18 (81.8)		18 (81.8)	4 (18.2)		20 (4-48)	
	Fazla/tamamen katılıyorum	6 (23.1)	20 (76.9)		16 (61.5)	10 (38.5)		29 (8-68)	
Bilim adamlarının koronavirüsü iyi anladıklarını düşünüyorum.	Hiç	4 (57.1)	3 (42.9)	0.023	3 (42.9)	4 (57.1)	0.030	32 (16-47)	0.212
	Kısmen/biraz/orta	3 (14.3)	18 (85.7)		19 (90.5)	2 (9.5)		20 (0-48)	
	Fazla/çok fazla/çok çok fazla	3 (12.5)	21 (87.5)		16 (66.7)	8 (33.3)		25 (4-68)	
Ülkemizde Sağlık Bakanlığı süreci iyi yönetiyor ve ona güveniyorum.	Hiç	3 (75.0)	1 (25.0)	0.011	2 (50.0)	2 (50.0)	0.544	33 (28-41)	0.071
	Kısmen/biraz/orta	2 (22.2)	7 (77.8)		7 (77.8)	2 (22.2)		32 (8-68)	
	Fazla/çok fazla/çok çok fazla	5 (12.8)	34 (87.2)		29 (74.4)	10 (25.6)		20 (0-55)	
Koronavirus kapmış olabileceğini düşündün mü?	Evet	7 (29.2)	17 (70.8)	0.157 [¶]	15 (62.5)	9 (37.5)	0.111	30 (8-68)	0.010 [§]
	Hayır	3 (10.7)	25 (89.3)		23 (82.1)	5 (17.9)		18 (0-42)	

*Ki-kare Testi, **Kruskal Wallis Testi, [¶]Fisher Exact Testi, [§]Mann Whitney U Testi
TSSB: Travma Sonrası Stres Bozukluğu

Tablo III. (Devamı)

		Depresyon			TSSB		Anksiyete		
		Depresif n(%)	Non- depresif n(%)	p değeri*	Hafif/ Orta TSSB n(%)	Ağır TSSB n(%)	p değeri*	Ortanca (min-maks)	p değeri**
Aile veya arkadaşlarından korona- virüsle ilgili bilgiler duydun mu?	Evet	9 (20.5)	35 (79.5)	1.000 [§]	32 (72.7)	12(27.3)	1.000 [§]	27 (4-68)	0.770 [§]
	Hayır	1 (12.5)	7 (87.5)		6 (75.0)	2 (25.0)		24 (0-47)	
Senin için olumsuz yönleri olsa da toplumun yararına olacak şeyleri yapmanın ne kadar önemli oldu- ğunu düşünüyorsun?	Hiç	0 (0.0)	2 (100.0)	0.166	2 (100.0)	0 (0.0)	0.551	9 (0-18)	0.276
	Kısmen/biraz/orta	5 (35.7)	9 (64.3)		11 (78.6)	3 (21.4)		27 (6-51)	
	Fazla/çok fazla/çok çok fazla	5 (13.9)	31 (86.1)		25 (69.4)	11(30.6)		27 (4-68)	
Ülkemizde koyulan kurallar bizim günlük yaşamımıza çok fazla müdahalede bulunuyor.	Hiç	0 (0.0)	8 (100.0)	0.282	7 (87.5)	1 (12.5)	0.041	20 (8-42)	0.386
	Kısmen/biraz/orta	5 (20.0)	20 (80.0)		21 (84.0)	4 (16.0)		25 (0-48)	
	Fazla/çok fazla/çok çok fazla	5 (26.3)	14 (73.7)		10 (52.6)	9 (47.4)		28 (9-68)	
Doktorlar ve hemşirelere ne kadar güveniyorsun?	Hiç	0 (0.0)	0 (0.0)	0.242 [§]	0 (0.0)	0 (0.0)	1.000	-	0.780 [§]
	Biraz/çok az	2 (40.0)	3 (60.0)		4 (80.0)	1(20.0)		30 (9-41)	
	Fazla/tamamen	8 (17.0)	39 (83.0)		34 (72.3)	13(27.7)		25 (0-68)	
Koronavirüsün yayılmasını kısıtla- mak için senin almaya çalıştığın koruyucu önlemler sence bir fark oluşturacak mı?	Hiç	1 (50.0)	1 (50.0)	0.030	2 (100.0)	0 (0.0)	0.397	27 (20-34)	0.917
	Kısmen/biraz/orta	6 (37.5)	10 (62.5)		10 (62.5)	6 (37.5)		27 (0-51)	
	Fazla/çok fazla/çok çok fazla	3 (8.8)	31 (91.2)		26 (76.5)	8 (23.5)		26 (6-68)	
Koronavirüsün yayılmasını kısıtla- mak için ülkemizde alınan koruyu- cu önlemler sence fark oluşturacak mı?	Hiç	2(100.0)	0 (0.0)	<0.001	1 (50.0)	1 (50.0)	0.752	35 (28-41)	0.582
	Kısmen/biraz/orta	5 (41.7)	7 (58.3)		9 (75.0)	3 (25.0)		28 (8-44)	
	Fazla/çok fazla/çok çok fazla	3 (7.9)	35 (92.1)		28 (73.7)	10(26.3)		25 (0-68)	

*Ki-kare Testi, **Kruskal Wallis Testi, [§]Fisher Exact Testi, [§]Mann Whitney U Testi
TSSB: Travma Sonrası Stres Bozukluğu

adamlarının koronavirüsü iyi anladıkları fikrine katılmayan çocuklarda (p=0.030) ve ülkemizde uygulanan kuralların günlük yaşamlarına çok fazla müdahalede bulunduğunu düşünen çocuklarda (p=0.041), ağır TSSB belirti sıklığının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Tablo III). Koronavirüs kapmış olabileceğini düşünen çocuklarda ise anksiyete puanı anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (p=0.010).

Tartışma ve Sonuç

COVID-19 ile enfekte olan kişilerin çocuklarının değerlendirildiği çalışmamızda; %19.2'sinde depresyon semptomlarının olduğu saptanmıştır. Alan yazında yer alan birçok çalışmada, olumsuz yaşam olaylarına bağlı olarak psikolojik stresin çocuklarda gözlenen zararlı etkilerini ortaya koymuş, bu tür durumlarda kaygı, depresyon gibi belirtiler ile yaygın olarak karşılaşıldığı belirtilmiştir¹⁸. Enfekte olan ebeveynlerin izole edilmesi nedeni ile çocukların bu süreçte ebeveynlerinden ayrı kalmaları psikolojik stresin boyutunu arttırmaktadır. Salgına karşı koruyucu olan bu tedbir, diğer yandan sosyal bağları azaltarak, ruh sağlığı için bir risk faktörü haline dönüşebilmektedir. Yapılan bir çalışmada, COVID-19 nedeniyle ebeveynlerinden soyutlanarak kurumlarda izolasyona alınan çocukların, en çok zarar gören çocuklar oldukları bildirilmiştir¹⁹. Benzer şekilde, izolasyon nedeniyle ebeveynleri kendilerinden ayrılmış olan çocukların da bu zorunlu mesafeden dolayı stresli, endişeli, sıkıntılı ve güvensiz hissettikleri belirtilmiştir³⁷. Çocukların

iyilik hali yalnızca beslenme ve tıbbi bakıma değil, aynı zamanda uygun ebeveyn arkadaşlığına da bağlıdır. Bu nedenle, bu kritik dönemde ebeveynlerden kopmak; TSSB, anksiyete, psikoz, depresyon, suçluluk gibi psikiyatrik sonuçlara neden olabilir³⁸. Ebeveynlerin, COVID-19'un çocuklar ve ergenler üzerindeki psikososyal kötü etkilerini azaltma açısından önemli rolleri vardır. Çalışmamızda enfeksiyon nedeni ile annesinin izole edildiği çocukların %24'ünde, babasının izole edildiği çocukların %6.7'sinde; her iki ebeveynin izole edildiği çocukların %25'inde depresyon semptomlarının varlığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlarımız, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da COVID-19'a bağlı psikiyatrik açıdan kötü etkilenimi azaltma açısından annenin rolünün dikkate alınması gerektiğini düşündürmesi açısından önemlidir. Gelecek çalışmaların örneklem sayısını artırarak, bu durumu değerlendirmelerinde fayda olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca ebeveyni evde izole edilen çocukların %29.2'sinde, hastanede izole edilenlerin %10.7'sinde depresyon semptomlarının olduğu saptanmış olan çalışmamızda, izolasyon yerinden ziyade çocuk ile iletişim kurulamayan ve karşılıklı vakit geçirilemeyen izolasyon sürecinin asıl olumsuz etki yaratmış olduğunu görmekteyiz.

Çocukların bilişsel yetenekleri halen gelişmekte olduğu için salgını anlamaları ve sorunlarla baş etme becerileri sınırlı düzeydedir, bu nedenle benzer sorun karşısında yetişkinlere göre daha endişeli olabilirler³⁹. Günlük rutinlerin bozulması ve izolasyon gibi önemli yaşam değişiklikleri, çocuklar arasında ebeveynlerin-

den daha yüksek düzeyde kaygıya yol açabilir. Belirsizlik, izolasyon sürecinde yaşanabilecek kaygı ve korku gibi bazı olumsuz duyguları tetikleyebilmektedir⁴⁰. Çocuklara kendileri için anlamlı olan doğru açıklamalar sunmak kaygılarını hafifletmeye yardımcı olacaktır. Genel popülasyon içinde, salgının psikolojik etkisine özellikle açık oldukları için çocuklara özel ilgi gösterilmelidir⁴¹.

Çalışmamızda, kronik tıbbi hastalığı olanlarda depresyon semptom sıklığı %40, olmayanlarda %14.3; tanı almış psikiyatrik rahatsızlığı olanlarda %50, olmayanlarda %11.3 olarak saptanmıştır. İspanya'da yapılan bir çalışmada, kronik hastalığı olanlarda nüfusun geri kalanına göre daha fazla anksiyete, depresyon ve stres düzeylerinin olduğu belirtilmiştir⁴². COVID-19'un özellikle kronik hastalığı olanlarda mortalite riskini arttırdığı bilgisi dikkate alındığında, en yüksek depresyon oranının kronik hastalığı olanlarda olacağı beklenmektedir. Fakat psikiyatrik rahatsızlığın çocuğun baş etme becerisini olumsuz etkileyerek, çocuğu depresyona yatkın duruma getirebileceğini düşündüğümüzde aslında sonuç çok da şaşırtıcı değildir. Zaten psikiyatrik rahatsızlığı olmayanlarda en düşük depresyon oranı da bunu desteklemektedir. Psikolojik sağlamlık ile depresyon semptomları arasındaki ilişkiyi değerlendirdiğimizde; istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde psikolojik sağlamlık ölçek puanı düşük olanlarda daha fazla depresyon semptomlarının olduğunu tespit ettik. Alan yazındaki araştırmalar da, psikolojik sağlamlık seviyesi yüksek bireylerin ruhsal olarak daha sağlıklı olduklarını⁴³, zorluklar karşısında yılmadıklarını⁴⁴ ve iyimser olduklarını⁴⁵ göstermektedir.

TSSB'nin değerlendirildiği çalışmamızda, ebeveyni COVID-19 nedeni ile izole edilen tüm çocuklarda değişen oranlarda TSSB belirtilerinin olduğu saptanmıştır. Çocukların %73.1'inde hafif ya da orta düzeyde, %26.9'unda ağır düzeyde TSSB belirtilerinin olduğu; tanı almış psikiyatrik rahatsızlığının %40'ında, tanı almış psikiyatrik rahatsızlığı olmayanların %23.8'inde ağır düzeyde TSSB belirtilerinin olduğu tespit edilmiştir. Annesinin izole edildiği çocukların %35.1'inde; annesi izole edilmeyenlerin %6.7'sinde ağır düzeyde TSSB belirtilerinin olduğu istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde saptanmıştır. Ebeveyni izole edilen çocukların değerlendirildiği çalışmamızda oranlar yukarıda belirtildiği şekilde olup; herhangi bir sağlık problemi nedeni ile karantinaya alınan çocukların değerlendirildiği başka bir çalışmada, karantinada kalan çocukların travma sonrası stres puanlarının, karantinada kalmamış akranlarına kıyasla 4 kat daha fazla olduğu ve izole edilen ya da karantinada kalan çocukların %30'unun TSSB ölçütlerini karşıladıkları belirtilmektedir⁴⁶. Çalışmamızda psikolojik sağlamlık ile TSSB belirtileri arasındaki ilişki de değerlendirilmiş olup; psikolojik sağlamlık ölçek puanı yüksek olanların istatistiksel olarak an-

lamlı bir şekilde daha hafif düzeyde TSSB semptomlarına sahip olduğu saptanmıştır.

Çocukların COVID-19 ile ilgili düşünceleri ve psikiyatrik semptom arasındaki ilişkiye bakıldığında, bilim adamlarının koronavirüsü iyi anladıkları fikrine katılmayanlarda, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla depresif semptom ve daha ağır TSSB belirtisi; ülkemizde sağlık bakanlığının süreci iyi yönettiği fikrine katılmayanlarda, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla depresif semptom; koronavirüsü kapmış olabileceğini düşünenlerde, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla anksiyete belirtisi; ülkemizde uygulanan kuralların günlük yaşamlarına çok fazla müdahalede bulunduğunu düşünenlerde, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha ağır TSSB belirtisi; koronavirüs yayılmasını kısıtlamak için kendi kişisel koruyucu önlemlerin ve ülkemizde alınan koruyucu önlemlerin hiçbir fark oluşturmayacağını düşünenlerde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla depresif semptom olduğunu saptadık. Çin'de yapılan bir çalışmada; bireylere detaylı, güncel ve doğru sağlık bilgilerinin verilmesinin (örn. tedavi ve yerel salgın durumu hakkında) psikolojik etki, stres, depresyon ve kaygı düzeyinin azalmasını sağladığı gözlemlenmiştir⁴⁷. Bu nedenle, çalışmamızda Sağlık Bakanlığı'na daha az güvenen kişilerde daha fazla depresif semptomun görülmesi beklenen bir durumdur. Çaresizlik, karamsar bir bakış açısına neden olmakta iken; yeterli ve etkili hissetme, iyimser bakış açısı sağlamada önemli bir rol oynamaktadır. Birey, kendini engellerin üstesinden gelmek için yeterli ve yetkin hissediyorsa, eğilim iyimserlik yönünde olacaktır⁴⁸. Fakat çalışmamızda olduğu gibi bilim adamlarının virüsü iyi anlamadıklarını düşünmek, kişiyi çaresiz hissettirip karamsar bakış açısıyla daha depresif hissetmesine neden olmaktadır. Belirsizlik, kişilerde psikolojik sıkıntıya neden olarak TSSB semptomlarının ağırlaşmasına da neden olabilir. Hong Kong'ta yapılan bir araştırmada, COVID-19 salgınından korunmada en etkin yöntemin, kişisel hijyen uygulamalarını artırmak olduğu görülmüştür⁴⁹. Bu nedenle çalışmamızda da olduğu gibi, kişi tarafından günlük yaşama çok fazla müdahale olarak düşünülen ve psikolojik baskı olarak algılanan ülkenin aldığı genel koruyucu önlemlerin yerine, kişileri bilgilendirip kişisel koruyucu önlemlerin alınmasını sağlamak daha yararlı olacaktır. Çünkü psikolojik sıkıntı ve baskı TSSB'nin bir yordayıcısıdır.

Dünya nüfusunun %42'sini oluşturan çocuklar ve ergenlerin akut psikososyal gereksinimlerinin farkına varılmamasının, uzun dönemde bazı psikososyal problemlere yol açabileceği akılda tutulmalıdır⁵⁰. COVID-19 salgını ile günlük yaşamları kısıtlanmış olan çocukların; bilişsel, duygusal, fiziksel ve psikolojik gelişimlerinin henüz tamamlanmamış olduğu dikkate alındığında, bu süreçte yaşayabilecekleri sorunlara karşı uyumlarını arttırmak, psikolojik dayanıklılıklarını

COVID-19 Pandemisi ve Çocuk Psikolojisi

güçlendirmek için ruhsal destek sunulmalı ve etkin stratejiler izlenmelidir. Çocuğa gerekli ve uygun bilgilendirilmenin yapılması, çocuğun kendini ifade etmesinin sağlanması, değişen ve aksayan koşulların belirlenip yapılabileceklerin planlanması, çocuğa baş etme stratejilerinin ve sorun çözme yöntemlerinin öğretilmesi bunların başlıcalarıdır⁵¹. Çocuklar yoğun stres altındayken güvende hissedebilmeleri için bazı bilgileri emin olana kadar sorabilirler. Bu nedenle çocuklarla bu süreci konuşurken aynı şeyleri defalarca tekrar etmeniz gerekebilir. Çocuklara durumu aktarırken bizimle rahatça konuşabileceklerini, soru sorabileceklerini belirtmeli ve onları ciddiyetle dinlemeliyiz. Gereksiz detay vermeden ve yalan söylemeden kısa ve net konuşmak, sadece doğruyu anlatmak, medyada çıkan bilgileri filtreden geçirerek aktarmak önemlidir. Bütün çocukların bu kadar enerjik olduğu bir dönemde sosyal yaşamdan izole olmaları kolay değildir. Bu nedenle aile bireylerinin birbirine destek olmaları, birlikte aktiviteler gerçekleştirmeleri; çocuğun projelerini ve ödevlerini birlikte yapmaları bu dönemin en az zararlı atlatılmasını sağlayabilir.

Çalışmamızda örneklem sayısının düşük olması, psikiyatrik semptomlar ile bazı değişkenler arasındaki ilişkinin tespit edilmesini engellemiş olabilir. Bu durum çalışmamızın önemli bir kısıtlılığıdır. Fakat ölçeklerin çocuk psikiyatristi tarafından görüşme şeklinde uygulanmış olması ve literatür taramasında bu konuda Türkiye’de yapılmış bir çalışmaya rastlanmamış olması çalışmamızı güçlü kılmaktadır.

Sonuç olarak çalışmamızda ebeveyni COVID-19 enfeksiyonu geçiren çocuklarda depresyon, anksiyete ve TSSB sıklığının artmış olduğu gösterilmiştir. Karantina sürecinde ebeveyninden uzak kalma ve onu kaybetme korkusu yaşayan çocuklara, özellikle artmış risk grubunda olanlara, gerekli psikososyal desteğin sağlanması ve anlayabilecekleri şekilde pandemi süreci ile ilgili bilgilendirilmeleri oldukça önemlidir.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Etik Kurulu.

Onay Tarihi: 01.06.2020

Karar No: 2020-05/18

Araştırmacı Katkı Beyanı: Fikir ve Tasarım: M.E., N.Y.; Veri toplama: M.E.; Veri işleme: N.Y.; Verilerin analizi: N.Y.; Verilerin Yorumlanması: M.E., N.Y.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: M.E., N.Y.

Destek ve Teşekkür Beyanı: Çalışmamızda herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan,

China: a single-centered, retrospective, observational study. *The Lancet Respir. Med.* 2020;8(5):475-481.

2. Terhakopian A, Benedek DM. Hospital disaster preparedness: mental and behavioral health interventions for infectious disease outbreaks and bioterrorism incidents. *Am. J. Disaster Med.* 2007;2(1):43-50.
3. Fasina OF, Jonah GE, Pam V, Milaneschi Y, Gostoli S, Rafanelli C. Psychosocial effects associated with highly pathogenic avian influenza (H5N1) in Nigeria. *Vet. Ital.* 2010;46(4):459-465.
4. Bonanno GA, Ho SM, Chan JC, et al. Psychological resilience and dysfunction among hospitalized survivors of the SARS epidemic in Hong Kong: a latent class approach. *Health Psychol.* 2008;27(5):659.
5. Chong M-Y, Wang W-C, Hsieh W-C, et al. Psychological impact of severe acute respiratory syndrome on health workers in a tertiary hospital. *Br J Psychiatry.* 2004;185(2):127-133.
6. Sim M. Psychological trauma of Middle East Respiratory Syndrome victims and bereaved families. *Epidemiol health.* 2016;38.
7. Elizarrarás-Rivas J, Vargas-Mendoza JE, Mayoral-García M, et al. Psychological response of family members of patients hospitalised for influenza A/H1N1 in Oaxaca, Mexico. *BMC Psychiatry.* 2010;10(1):1-9.
8. Keita MM, Taverne B, Savané SS, et al. Depressive symptoms among survivors of Ebola virus disease in Conakry (Guinea): preliminary results of the PostEboGui cohort. *BMC Psychiatry.* 2017;17(1):1-9.
9. Shen K, Yang Y, Wang T, et al. Diagnosis, treatment, and prevention of 2019 novel coronavirus infection in children: experts’ consensus statement. *World J Pediatr.* 2020;16(3):223-231.
10. Manuell ME, Cukor J. Mother Nature versus human nature: public compliance with evacuation and quarantine. *Disasters.* 2011;35(2):417-442.
11. Brooks SK, Webster RK, Smith LE, et al. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. *Lancet.* 2020;395(10227):912-920.
12. Ge L, Yap CW, Ong R, Heng BH. Social isolation, loneliness and their relationships with depressive symptoms: a population-based study. *PLoS one.* 2017;12(8):e0182145.
13. Rossi R, Soggi V, Talevi D, et al. COVID-19 pandemic and lockdown measures impact on mental health among the general population in Italy. *Front Psychiatry.* 2020;11:790.
14. Seyahi E, Poyraz BC, Sut N, Akdoğan S, Hamuryudan V. The psychological state and changes in the routine of the patients with rheumatic diseases during the coronavirus disease (COVID-19) outbreak in Turkey: a web-based cross-sectional survey. *Rheumatol. Int.* 2020;40(8):1229-1238.
15. Shahrouf G, Dardas LA. Acute stress disorder, coping self-efficacy and subsequent psychological distress among nurses amid COVID-19. *J Nurs Manag.* 2020;28(7):1686-1695.
16. Shi L, Lu Z-A, Que J-Y, et al. Prevalence of and risk factors associated with mental health symptoms among the general population in China during the coronavirus disease 2019 pandemic. *JAMA Netw. Open.* 2020;3(7):e2014053-e2014053.
17. Cooper K. Don't let children be the hidden victims of COVID-19 pandemic. In:2020.
18. Jiao WY, Wang LN, Liu J, et al. Behavioral and emotional disorders in children during the COVID-19 epidemic. *J Pediatr.* 2020;221:264.
19. Liu JJ, Bao Y, Huang X, Shi J, Lu L. Mental health considerations for children quarantined because of COVID-19. *Lancet Child & Adolesc. Health.* 2020;4(5):347-349.
20. Control CfD, Prevention. Data and statistics on children’s mental health. Retrieved April. 2019;17:2019.

21. Dalton L, Rapa E, Stein A. Protecting the psychological health of children through effective communication about COVID-19. *Lancet Child & Adolesc. Health.* 2020;4(5):346-347.
22. Singh S, Roy MD, Sinha CPTMK, Parveen CPTMS, Sharma CPTG, Joshi CPTG. Impact of COVID-19 and lockdown on mental health of children and adolescents: A narrative review with recommendations. *Psychiatry Res.* 2020:113429.
23. Wu P, Fang Y, Guan Z, et al. The psychological impact of the SARS epidemic on hospital employees in China: exposure, risk perception, and altruistic acceptance of risk. *Can J Psychiatry.* 2009;54(5):302-311.
24. Sim K, Chan YH, Chong PN, Chua HC, Soon SW. Psychosocial and coping responses within the community health care setting towards a national outbreak of an infectious disease. *J Psychoso Res.* 2010;68(2):195-202.
25. Xie X, Xue Q, Zhou Y, et al. Mental health status among children in home confinement during the coronavirus disease 2019 outbreak in Hubei Province, China. *JAMA Pediatr.* 2020;174(9):898-900.
26. Liang L, Ren H, Cao R, et al. The effect of COVID-19 on youth mental health. *Psychiatr Q.* 2020;91(3):841-852.
27. Oosterhoff B, Palmer CA, Wilson J, Shook N. Adolescents' motivations to engage in social distancing during the COVID-19 pandemic: associations with mental and social health. *J Adolesc Health.* 2020;67(2):179-185.
28. Chen F, Zheng D, Liu J, Gong Y, Guan Z, Lou D. Depression and anxiety among adolescents during COVID-19: A cross-sectional study. *Brain Behav. Immun.* 2020.
29. Kovacs M. Rating scales to assess depression in school-aged children. *Acta Paedopsychiatrica: Int J Child & Adolesc Psychiatry.* 1981.
30. Öy B. Çocukluk Depresyonu Derecelendirme Ölçeği: Sağlıklı ve Çocuk Ruh Sağlığı Kliniğine Başvuran Çocuklarda Uygulanması. *Türk Psikiyatri Derg.* 1991;2(2):137-140.
31. Pynoos RS, Frederick C, Nader K, et al. Life threat and posttraumatic stress in school-age children. *Arch. Gen. Psychiatry.* 1987;44(12):1057-1063.
32. Erden G, Kılıç E, Uslu R, Kerimoğlu E. Çocuklar için travma sonrası stres tepki ölçeği: Türkçe geçerlik, güvenilirlik çalışması. *Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Derg.* 1999;6(3):143-149.
33. Birmaher B, Brent DA, Chiappetta L, Bridge J, Monga S, Baugher M. Psychometric properties of the Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders (SCARED): a replication study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 1999;38(10):1230-1236.
34. Karaceylan Çakmakçı F. Çocuklarda anksiyete bozukluklarını tarama ölçeği geçerlik ve güvenilirlik çalışması. *Yayınlanmamış tıpta uzmanlık tezi, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Kocaeli.* 2004.
35. Liebenberg L, Ungar M, Vijver FVd. Validation of the child and youth resilience measure-28 (CYRM-28) among Canadian youth. *Res. Soc. Work Pract.* 2012;22(2):219-226.
36. ARSLAN G. Çocuk ve Genç Psikolojik Sağlık Ölçeği'nin (ÇGPSÖ) psikometrik özellikleri: Geçerlilik ve güvenilirlik çalışması. *Ege Eğitim Derg.* 2015;16(1):1-12.
37. Dubey S, Biswas P, Ghosh R, et al. Psychosocial impact of COVID-19. *Diabetes Metab Syndr.* 2020;14(5):779-788.
38. Humphreys KL. Future directions in the study and treatment of parent-child separation. *J Clin Child Adolesc Psychol.* 2019;48(1):166-178.
39. Imran N, Zeshan M, Pervaiz Z. Mental health considerations for children & adolescents in COVID-19 Pandemic. *Pak. J. Med. Sci.* 2020;36(COVID19-S4):S67.
40. Orrù G, Rebecca C, Gemignani A, Conversano C. Psychological intervention measures during the COVID-19 pandemic. 2020.
41. Wang G, Zhang Y, Zhao J, Zhang J, Jiang F. Mitigate the effects of home confinement on children during the COVID-19 outbreak. *Lancet.* 2020;395(10228):945-947.
42. Ozamiz-Etxebarria N, Dosil-Santamaria M, Picaza-Gorochategui M, Idoiaga-Mondragon N. Stress, anxiety, and depression levels in the initial stage of the COVID-19 outbreak in a population sample in the northern Spain. *Cad Saude Publica.* 2020;36:e00054020.
43. Campbell-Sills L, Cohan SL, Stein MB. Relationship of resilience to personality, coping, and psychiatric symptoms in young adults. *Behav Res Ther.* 2006;44(4):585-599.
44. Steinhardt M, Dolbier C. Evaluation of a resilience intervention to enhance coping strategies and protective factors and decrease symptomatology. *J Am Coll Health.* 2008;56(4):445-453.
45. Benard B. *Resiliency: What we have learned.* WestEd; 2004.
46. Sprang G, Silman M. Posttraumatic stress disorder in parents and youth after health-related disasters. *Disaster Med Public Health Prep.* 2013;7(1):105-110.
47. Wang C, Pan R, Wan X, et al. Immediate psychological responses and associated factors during the initial stage of the 2019 coronavirus disease (COVID-19) epidemic among the general population in China. *Int. J. Environ. Res Public Health.* 2020;17(5):1729.
48. Gillham JE, Shatté AJ, Reivich KJ, Seligman ME. Optimism, pessimism, and explanatory style. 2001.
49. Kwok KO, Li KK, Chan HH, et al. Community responses during the early phase of the COVID-19 epidemic in Hong Kong: risk perception, information exposure and preventive measures. *MedRxiv.* 2020.
50. Dalton L, Rapa E, Ziebland S, et al. Communication with children and adolescents about the diagnosis of a life-threatening condition in their parent. *Lancet.* 2019;393(10176):1164-1176.
51. Çaykuş ET, Çaykuş TM. COVID-19 Pandemi Sürecinde Çocukların Psikolojik Dayanıklılığını Güçlendirme Yolları: Ailelere, Öğretmenlere Ve Ruh Sağlığı Uzmanlarına Öneriler. *ASEAD.* 2020;7(5):95-113.

OLGU BİLDİRİMİ

9 Yaşında Bir Çocukta Servikal Meningioma: Bir Olgu Sunumu

Yağmur TUNÇBİLEKLİ¹, Reyhan KASAB¹, Mine ÖZŞEN², Selin YİRMİBEŞ²,
Şahsine TOLUNAY², M. Özgür TAŞKAPILIOĞLU¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Bursa.

² Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Pediyatrik spinal tümörler içerisinde spinal meningiomların görülme sıklığı %4,3 gibi oldukça düşük oran olmasına rağmen metastatik kitleleri taklit edebildiğinden ayırıcı tanıda mutlaka akılda tutulmalıdır. Bu olgu sunumunda, travma sonrası başlayan boyun ve sol omuza yayılan ağrı, sol kolunda güçsüzlük şikâyeti olan ve servikal meningiom saptanan 9 yaşında erkek hasta bildirilmiştir. Tedavide altın standart cerrahi rezeksiyondur.

Anahtar Kelimeler: Pediyatrik meningiom. Servikal meningiom. Spinal tümör.

Cervical Meningioma in a 9-Year-Old Child: A Case Report

ABSTRACT

Although the incidence of spinal meningiomas among pediatric spinal tumors is quite low, at 4.3%, it should be kept in mind in differential diagnosis as it can mimic metastatic masses. In this case report, a 9-year-old male patient with cervical meningioma with complaints of post-traumatic pain spreading to the neck and left shoulder, weakness in the left arm was reported. The gold standard in treatment is surgical resection.

Key Words: Pediatric meningioma. Cervical meningioma. Spinal tumor.

İlk olarak 1922 yılında Cushing tarafından tanımlanan meningiomlar, meningotelyal (araknoidal) hücrelerden kaynaklanan tümörlerdir. Genellikle yavaş büyüyen Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) evre I tümörlerdir. Daha nadir görülen ve agresif bir kliniğe sahip alt tipleri de vardır. Yetişkin yaş grubunda çok sık rastlanan neoplazmlar olmalarına karşın, pediyatrik grupta oldukça nadir görülürler. Ayrıca çocukluk çağında görülen

meningiomlar yerleşim yeri, kliniği ve prognostik özellikleri açısından da yetişkin gruptan oldukça farklıdır¹. Spinal meningiomlar, pediyatrik grupta kranial bölgeye oranla çok daha az görülmekle birlikte yetişkinden farklı olarak daha çok üst servikal bölgeye yerleşim gösterirler. Pediyatrik spinal meningiomlar, genellikle berrak hücreli histolojik tiptedirler (DSÖ evre II). Bu tip daha agresif davranış, daha yüksek nüks oranı ve metastaz olasılığı ile karakterizedir².

Bu yazımızda kliniğimizde opere edilmiş olan pediyatrik spinal meningioma olgusu takdim edilmiştir.

Geliş Tarihi: 08.Nisan.2021

Kabul Tarihi: 07.Mayıs.2021

Dr. M. Özgür TAŞKAPILIOĞLU
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
Tel.: 0224 295 27 22
E-posta:ozgurt@uludag.edu.tr

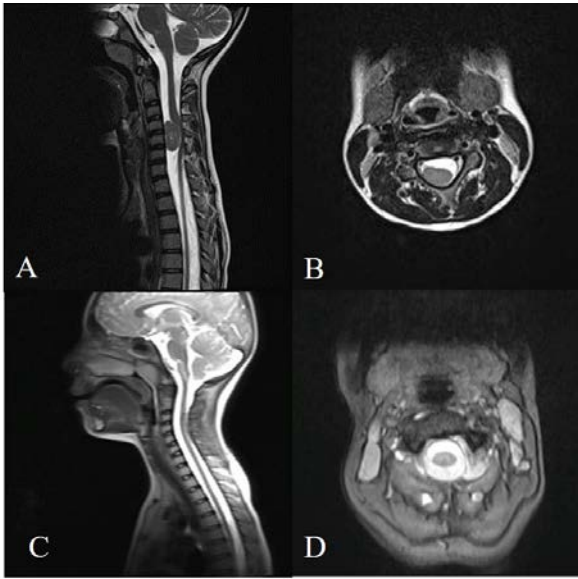
Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Yağmur TUNÇBİLEKLİ: 0000-0003-1359-4445
Reyhan KASAB: 0000-0001-7620-2571
Mine ÖZŞEN: 0000-0002-5771-7649
Selin YİRMİBEŞ: 0000-0002-8211-6175
Şahsine TOLUNAY: 0000-0002-9038-0515
M Özgür TAŞKAPILIOĞLU: 0000-0001-5472-9065

Olgu Sunumu

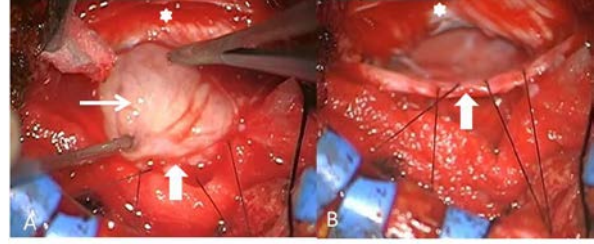
Daha önce bilinen bir hastalığı bulunmayan 9 yaşında erkek hasta, travma sonrası başlayan boyun ve sol omuza yayılan ağrı ve sol kolunda güçsüzlük şikâyeti ile hastanemize başvurdu. Hastanın yapılan nörolojik muayenesinde; sol kolda distalde belirgin 4/5 kas gücünde monoparezi mevcut olup, his kusuru yoktu. Derin tendon refleksleri üst ekstremitelerde hipoaktif ve sağda babinski pozitifliği.

Hastanın yapılan kontrastlı ve kontrastsız spinal manyetik rezonans görüntüleme (MRG)'lerinde; C4-5 düzeyinde spinal kord anteriorunda kordu belirgin indante ederek incelmeye sebep olan 22 x 12mm boyutunda, T2A da hafif hiperintens, T1A da izointens, içerisinde milimetrik hipointens ve hiperintens odaklar bulunan, kontrastlı incelemelerde belirgin homojen kontrast tutulumu gösteren, intradural ekstre-meduller yerleşimli lezyon mevcuttu (Şekil 1A, B). Hasta opere edildi. Peroperatif nöromonitörizasyon kullanılarak C4-5-6 laminoplasti yapıldı. Mikroskop altında mikroşirurjikal teknikle dura lineer açıldı. Kordu ileri derecede posteriora deplase etmiş, solda spinal sinir kılıfından köken almış, kirli beyaz renkte, düzgün sınırlı, kapsüllü, az kanamalı tümör dokusu, kord yapıları korunarak total çıkartıldı (Şekil 2). Postoperatif nörolojik muayenesinde preoperatif döneme göre değişiklik saptanmayan hastanın patolojisi Ber-rak Hücreli Meningioma (DSÖ evre II) olarak raporlandı. (Şekil 3). Postoperatif 6. ay kontrolünde çekilen Servikal MR T2A kesitlerde nüks izlenmedi (Şekil 1C, D).



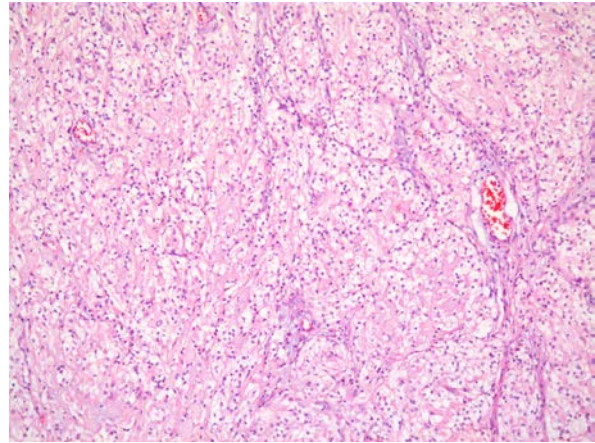
Şekil 1:

A-B) C 4-5 düzeyinde spinal kord anteriorunda kordu belirgin indante ederek incelmeye sebep olan 22 x 12mm boyutunda, T2A da hafif hiperintens, içerisinde milimetrik hipointens ve hiperintens odaklar bulunan intradural ekstre-meduller yerleşimli lezyon. C-D) T2A sagittal ve aksiyel görüntülerde C 4-5-6 düzeyinde postoperatif değişiklikler saptandı. Nüks kitle izlenmedi.



Şekil 2:

A) Peroperatif tümörün eksizyonu, B) Tümör eksizye edildikten sonra operasyon loju. Yıldız: spinal kord, kalın ok: duramater, ince ok: meningioma



Şekil 3:

Stromal hyalinizasyon zemininde küçük, yuvarlak nükleuslu, geniş şeffaf sitoplazmalı poligonal hücreler (H&Ex200)

Tartışma ve Sonuç

Meningiomlar en sık 2. dekatta görülürler. Fakat her yaşta hatta fetal gelişim sırasında bile ortaya çıkabilirler¹. İstatistiklere göre primer santral sinir sistemi tümörlerinin % 2,5'i menenjiomlardır. Serviko-okspital lokasyonda bulunan menenjiomlar ise bunun yalnızca % 3,7'sini oluştururlar. Bir diğer ilginç nokta ise spinal menenjiomlarda 4/1 oranında bariz bir kadın üstünlüğü görülmesine karşın, pediatrik vakalarda kadın üstünlüğü görülmemesidir³⁻⁴.

Çocukluk çağı menenjiomları nonspesifik semptomlarla karakterize olduğundan teşhisleri zordur ve çocuklarda kooperasyon güçlüğü olması bu durumu daha da zorlaştırmaktadır. Bu nedenle servikookspital bölgede görülen menenjiomlar, sıklıkla kafa içi basınç artışı bulguları ile tespit edilirler. Bu yaş grubunda, intradural-ekstre-medüller tümörler genellikle, primer beyin tümörlerinin (Özellikle schwannom ve nörofibrom) leptomeningeal metastazlarından kaynaklanır. Bu lokalizasyondaki kitleler spinal kordun karşı tarafa itilmesine ve aynı taraftaki BOS mesafesinin genişlemesine yol açar. İnadural ekstre-medüller neoplazmı

Pediyatrik Servikal Meningioma

olan hastalar genellikle progresif myelopati ile başvurular ve en sık görülen semptom güçsüzlük olmakla birlikte yaygın sırt ağrısı veya radiküler ağrı da olabilir². Bizim olgumuzda travma sonrası başlayan boyun ve sol omuza yayılan ağrı ve sol kolunda güçsüzlük şikâyeti için yapılan radyolojik incelemede servikal meningiom saptandı.

Meningiomas, pediyatrik yaş grubunda genellikle Nörofibromatozis (NF) tip 2 ile ilişkilidir ve spinal meningiomlu tüm çocuklarda bu tanı araştırılmalıdır. Pediyatrik spinal tümörler içerisinde spinal meningiomasların görülme sıklığı %4,3 oranında bildirilmiştir⁵⁻⁶. Çocuklarda radyasyon tedavisinin meningiom ile ilişkili olduğu iyi bilinmektedir. Bizim olgumuzda NF tip 2 birlikteliği ya da radyasyon öyküsü bulunmaktaydı.

Meningiomaslar, BT'de izodens-hiperdens görünürler. Hiperdensite, bu lezyonların hücresel yapısını yansıtır, ancak kalsifikasyon da hiperdensiteye neden olabilir. MRG'de, T1 ve T2 ağırlıklı görüntülerde, iyi sınırlı, spinal kord ile izointens görünümde kitlelerdir. Kontrast tutulumu homojen ve değişkendir. İntrakranial meningiomaslarda görülen dural kuyruk bulgusu spinalde daha nadir görülür. Bu durum schwannoma ile ayırıcı tanısını zorlaştırmaktadır. Bizim olgumuzda yapılan kontrastlı ve kontrastsız MRG'lerinde; C4-5 düzeyinde, kontrastlı incelemelerde belirgin homojen kontrast tutulumu gösteren, intradural ekstramedüller yerleşimli lezyon mevcuttu.

Pediyatrik spinal meningiomaslar, genellikle berrak hücreli histolojik tiptedirler (DSÖ Grade II). Bu tip daha agresif davranış, daha yüksek nüks oranı ve metastaz olasılığı ile karakterizedir. Spinal berrak hücreli meningiomasların nüks oranı %80 iken, diğer histolojik tiplerin nüks oranı %4,8'dir. Tedavi cerrahidir. Komplet çıkarılmasına rağmen nüks olasılığı yüksektir.

Pediyatrik spinal meningiomaslar çok nadir görülen, malign seyirli patolojilerdir. Erkeklerde daha sık görülür ve NF-2 ile ilişkisi vardır. Cerrahi rezeksiyon tedavide altın standarttır.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Çalışma Olgu Sunumu olup etik kurul iznine gerek yoktur. Hastadan gerekli izinler alınmıştır.

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım: M. Ö. T.; Veri toplama ve işleme: Y.T, R.K.; Patoloji preparatlarının incelenmesi: M.Ö, S.Y, Ş.T; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: Y.T, M.Ö.T; Son halinin gözden geçirilmesi: Tüm yazarlar

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Ben Nsir A, Boubaker A, Jemel H, Cervico-occipital meningioma in a 5-year-old child: a case report. Turk Neurosurg. 2014, 24(1):131-134.
2. Ceyhan Bilgici M, Sarı Karabağ, İ. Pediyatrik Spinal Kitleler. Trd Sem. 2014, 7: 406-425.
3. Gao X, Zhang R, Mao Y, Wang Y, Childhood and juvenile meningiomas. Childs Nerv Syst. 2009, 25(12):1571-1580.
4. Ceylan D, Yıldız C, Tokmak M, Özek E, İplikçiöğlü A.C, Torakoservikal bileşke yerleşimli spinal ekstradural meningiom: Bir olgu sunumu, Türk Nöroşirürji Dergisi. 2013, Cilt: 23, Sayı: 3, 298-302.
5. Wang XQ, Zeng XW, Zhang BY, Dou YF, Wu JS, Jiang CC, et al. Spinal meningioma in childhood: clinical features and treatment. Childs Nerv Syst. 2012, 28: 129-36.
6. Liu PI, Liu GC, Tsai KB, Lin CL, Hsu JS, Intraspinal clear-cell meningioma: case report and review of literature. Surg Neurol. 2015, 63: 285-8.

OLGU BİLDİRİMİ

Ventriküloperitoneal Şant Kateter Distal Ucunun Torasik Migrasyonu: Olgu Sunumu

Reyhan KASAB¹, Pınar ESER¹, Yağmur TUNÇBİLEKLİ¹, Ahmet Sami BAYRAM²,
M. Özgür TAŞKAPILIOĞLU¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Bursa.

² Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Hidrosefali, beyin omurilik sıvısında artış ile seyreden, serebral ventriküllerde genişlemeye ve serebral kortekste incelmeye neden olan artmış intrakraniyal basınç ile karakterize yaygın bir nöroşirürjikal hastalıktır. Hidrosefalinin yönetiminde en sık kullanılan tedavi yöntemi ventriküloperitoneal şanttır. Şant işlemi sonrası daha çok mekanik obstrüksiyonlar ve enfeksiyonlar görülmektedir. Torasik migrasyon oldukça nadir görülür fakat görüldüğü zaman ivedilikle müdahale edilmesi gereken bir tablodur.

Anahtar Kelimeler: Hidrosefali. Ventriküloperitoneal şant. Şant komplikasyonu. Torasik migrasyon.

Thoracic Migration of the Distal Tip of the Ventriculoperitoneal Shunt Catheter: a Case Report

ABSTRACT

Hydrocephalus is a common neurosurgical pathology characterized by increased production of cerebrospinal fluid, causing high intracranial pressure, which results with dilatation of cerebral ventricles and thinned cerebral cortex. The most common treatment of hydrocephalus is ventriculoperitoneal shunt. Mechanic obstruction and infection are seen frequently after shunt procedures. Thoracic migration of distal shunt catheter is rare complication, but when present it must be carried out immediately.

Key Words: Hydrocephalus. Ventriculoperitoneal shunt. Shunt complication. Thoracic migration.

Hidrosefali, beyin omurilik sıvısında (BOS) artış ile seyreden, serebral ventriküllerde genişlemeye ve serebral kortekste incelmeye neden olan, artmış intrakraniyal basınç ile karakterize yaygın bir nöroşirürjikal hastalıktır. Bu bozukluğun nedeni BOS üretimi ve absorpsiyonu arasındaki dengesizlik veya BOS dolaşımında tıkanmadır. Hidrosefalinin yönetiminde en sık kullanılan tedavi yöntemi ventriküloperitoneal (VP) şanttır. Şant disfonksiyonu nedenleri arasında valv arızası, proksimal veya distal kateter tıkanıklığı, en-

feksiyon, distal kateter yer değiştirmesi (migrasyon), şant kopması, veya bu sorunların kombine bir şekilde görülmesi sayılabilir¹.

Bu çalışmada nadir olarak görülen VP şant kataterinin torasik migrasyonu olgusu sunulmaktadır.

Olgu Sunumu

Akut hidrosefali nedeni ile 20 aylık kadın hastaya Mart 2018'de 100 mmH₂O sabit basınçlı VP şant takılmış idi. Hasta beyin ve sinir cerrahisi polikliniğinde yıllık olarak takip edilmekte idi (Şekil 1A). Hasta polikliniğimize nefes darlığı ve öksürük şikayetleri ile başvurdu. Kan tetkiklerinde anormallik saptanmadı. Yapılan radyolojik incelemeler neticesinde şantın distal kateter ucunun sol toraks boşluğunda olduğu tespit edildi (Şekil 1B). Plevral efüzyon veya hidrotoraks görülmedi, Tanıyı desteklemek amacıyla kontrastsız toraks bilgisayarlı tomografi (BT) incelemesi yapıldı (Şekil 2). Kranial uçta malpozisyon olmadığı kranial BT ile teyit edildi. Nörolojik muayenesi doğal, vital bulguları stabil idi, hastanın takipleri sırasında aralıklı olarak saturasyon düşüklüğü meydana geldi. Hasta opere edildi. Eski subksifoid cilt insiz-

Geliş Tarihi: 26.Nisan.2021

Kabul Tarihi: 21.Haziran.2021

Dr. M. Özgür TAŞKAPILIOĞLU
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
Tel.: 0224 295 27 22
E-posta:ozgurt@uludag.edu.tr

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

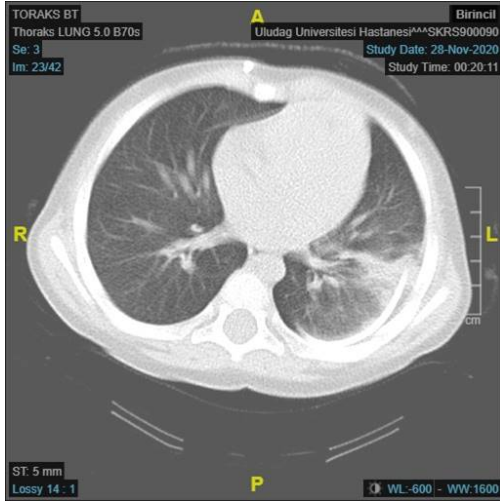
Reyhan KASAB: 0000-0001-7620-2571
Pınar ESER OCAK: 0000-0003-0132-9927
Yağmur TUNÇBİLEKLİ: 0000-0003-1359-4445
Sami BAYRAM: 0000-0003-0684-0900
M Özgür TAŞKAPILIOĞLU: 0000-0001-5472-9065

yonu açılarak, şantın distal ucu bulundu ve dikkatli bir şekilde çekildi. Berrak vasıfta, aktif BOS gelişi izlendikten sonra, yeni subkostal insizyon yapılarak periton içine yerleştirildi (Şekil 3). Postoperatif dönemde hastanın dispne ve öksürük şikayetleri geriledi. İki gün sonra taburcu edilen hastada postoperatif 3. ay kontrollerinde sorun izlenmemiştir.



Şekil 1:

A; VP şant operasyonu sonrası şant trasesini gösteren direkt grafi, B; erken VP şantın peritoneal kataterinin sol diafragmadan toraks kavitesine migrasyonu



Şekil 2:

Toraks BT'sinde VP şantın peritoneal kataterinin sol toraks kavitesinde olduğu izlenmektedir



Şekil 3:

Hastanın postoperatif PAAC grafisinde şantın peritoneal ucunun batında olduğu izlenmektedir.

Tartışma

Ventriküloperitoneal şant komplikasyonları peritoneal boşluktan ventrikülere kadar herhangi bir noktada izlenebilir. VP şant torasik migrasyonu oldukça nadir görülür, fakat görüldüğü zaman hızlı bir şekilde müdahale edilmelidir. Bildirilen vakalarda pnömöni ve/veya hidrotoraks görülebilir^{2,3}. Olgumuzda şantın peritoneal ucu torasik kavitede olmasına rağmen sadece hafif öksürük şikayeti mevcuttu.

Hidrotoraks olması için şantın abdominal ucunun torasik kavitede olması şart değildir, zira Taub ve ark torasik komplikasyonları 3 grupta incelemiştir; 1) şant yerleştirme esnasında torasik duvarın zedelenmesi ve buna bağlı pnömotoraks 2) diafram kusuru sonrası şantın toraks içine migrasyonu 3) plevral efüzyon.

Migrasyonlar 3 tipe ayrılmıştır: İnternal (tip I), eksternal (Tip II) ve kombine (Tip 3)⁴. İnternal migrasyonlar da kendi içinde 3 tipe ayrılmıştır: torasik, abdominal ve pelvik⁴. Torasik migrasyon supradiafragmatik (SD) ve transdiafragmatik (TD) olarak iki alt grupta incelenmiştir^{4,5}. SD migrasyon, yanlışlıkla kaburgalara göre çok derin oluşturulan bir tünel içindeki kateterin distal ucunun yukarı doğru retraksiyonundan kaynaklanıyor olabilir. Öte yandan, TD migrasyon, diyaframın kas sistemi erozyonlarından, diyaframın anatomik açıklıkları veya doğuştan diyafram kusuru (Bochdalek veya Morgagni hernisi) olanlarda görülebilir. İki giriş yolu radyolojik olarak gösterilebilir; SD migrasyonda kateterin tamamı torasik kavitede görülürken, TD migrasyonlarda kateterin bir parçası halen diafram altında görülür. Bizim vakamızda da TD migrasyon görülmekteydi.

VP şant toraksa migre olduğunda sıklıkla plevral efüzyona neden olur. Solunum sıkıntısı genellikle ilk başvuru şikayetidir. Tansiyon pnömotoraksa bağlı şok ile prezente olan bir olgu da bildirilmiştir⁶. Bizim olgumuz da polikliniğimize nefes darlığı ve öksürük şikayetleri ile başvurmuş idi. Literatürde karşılaşılan olguların yaşları 5 aylık ile 10 yaş arasındadır; şant ameliyatı ile solunumsal şikayetlerin başlaması arasındaki süre 6 hafta ile 8 ay arasında izlenmektedir. Bizim olgumuzda ise şant cerrahisi ile nefes darlığı ve öksürük şikayetleri arasındaki süre yaklaşık 2,5 yıl idi. Literatürde bir olguda şant cerrahisi ile şikayetlerin başlaması arasındaki süre 10 yıl olarak bildirilmiştir⁷. Yazarlar aradaki bu farkı hastanın bir süre asemptomatik olabileceğine bağlamışlardır. Kliniğimizde şanlı hastaların yıllık kontrollerinde ayakta batın grafisi, PA akciğer grafisi rutin olarak çektiğinden olgumuzda asemptomatik bir periyod olsa dahi migrasyonun literatürde bildirilen periyoddan daha geç olduğunu düşünmekteyiz.

Plevral efüzyon olması için abdominal ucun kavitede olması şart değildir, bazı vakalarda BOS bağımlı asit oluşumu ile birlikte plevral efüzyon görülebilir⁷. Şan-

Şantın Torasik Migrasyonu

tın abdominal ucu batın içerisinde olduğu durumlarda plevral efüzyon varlığında torasentez yapıp torasik boşluktaki sıvıdan $\beta 2$ transferin bakılması ile tanı konulmuştur³. Saha ve ark. asemptomatik torasik migrasyonu olan bir olgu bildirmiştir⁸. Bazı vakalarda tanı için transtorasik USG kullanılırken, olgumuzda x-ray ve BT ile tanı konulmuştur^{2,3}.

VP şant işlemi sonrası daha çok mekanik obstrüksiyonlar ve enfeksiyonlar görülmektedir. Torasik migrasyon oldukça nadir görülür fakat görüldüğü zaman ivedilikle müdahale edilmesi gerekir. VP şant uygulanmış hastalar aradan uzun yıllar geçse dahi öksürük, göğüs ağrısı gibi ÜSYE semptomları görüldüğünde olası şant komplikasyonu yönünden araştırılmalıdır.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Çalışma Olgu Sunumu olup etik kurul iznine gerek yoktur. Hastadan gerekli izinler alınmıştır.

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım: M. Ö. T, P.E; Veri toplama ve işleme: R.K, Y.T; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: R.K, P.E, M.Ö.T; Son halinin gözden geçirilmesi: Tüm yazarlar

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Porcaro F, Procaccini E, Paglietti MG, Schiavino A, Petreschi F, Cutrera R. Pleural effusion from intrathoracic migration of a ventriculo-peritoneal shunt catheter: pediatric case report and review of the literature. *Italian Journal of Pediatrics* 2018; 44:42.
2. Ergün R, Ökten Aİ, Gezeran Y. Hydrothorax: Transdiaphragmatic Migration of a Ventriculoperitoneal Shunt Catheter. *Pediatr Neurosurg* 2008;44:62-64
3. Akyüz M, Uçar T, Göksu E. A thoracic complication of ventriculoperitoneal shunt: symptomatic hydrothorax from intrathoracic migration of a ventriculoperitoneal shunt catheter. *Br J Neurosurg*. 2004;18(2):171-173.
4. Taub E, Lavyne MH. Thoracic Complications of Ventriculoperitoneal Shunts: Case Report and Review of the Literature. *Neurosurgery* 1994;34(1):181-183.
5. Allouh MZ, Al Barbarawi MM, Asfour HA, Said RS. Migration of the Distal Catheter of the Ventriculoperitoneal Shunt in Hydrocephalus: A Comprehensive Analytical Review from an Anatomical Perspective. *Clin Anat* 2017;30(6):821-830
6. Dickman CA, Gilbertson D, Pittman HW, Rekatte HL, Daily WJ. Tension hydrothorax from intrapleural migration of a ventriculoperitoneal shunt. *Pediatr Neurosci*. 1989;15:313Y316
7. Glatstein MM, Roth J, Scolnik D, Haham A, Rimon A, Koren L, Constantini S. Late Presentation of Massive Pleural Effusion From Intrathoracic Migration of a Ventriculoperitoneal Shunt Catheter: case report and review of the literature. *Pediatr Emer Care* 2012;28: 180-182
8. Saha H, Burman SS, Saha K, Ghosh D. Spontaneous Asymptomatic Migration of Ventriculoperitoneal Shunt into Thoracic Cavity: A Case Report with Review of Literature. *J Pediatr Neurosci*. 2018;13(3):352-354.

DERLEME

COVID-19 Tanı Testleri, Tedavisindeki Aşılar ve İlaçlar; Güncel Durum

Derya Selcen SALMANOĞLU¹, Emine Esin ÇALIŞKAN², Meliz SOFU³,
Yiğit UYANIKGİL^{3,4,5}, Emel Öykü ÇETİN UYANIKGİL²

- ¹ Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Teknolojiler Anabilim Dalı, İzmir.
- ² Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasotik Teknoloji Anabilim Dalı, Biyofarmasotik ve Farmakokinetik Bilim Dalı, İzmir.
- ³ Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Anabilim Dalı, İzmir.
- ⁴ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir.
- ⁵ Ege Üniversitesi Kordon Kanı, Hücre-Doku Araştırma ve Uygulama Merkezi, İzmir.

ÖZET

COVID-19 (Koronavirüs Hastalığı 19) olarak adlandırılan SARS-CoV-2 (Şiddetli akut solunum yolu sendromu koronavirüs-2) virüsünün neden olduğu enfeksiyon başlangıçta Aralık 2019'da Çin'de tespit edilmiştir ve daha sonra dünyaya hızla yayılmıştır. 13 Ocak 2020 tarihinde Tayland Halk Sağlığı Bakanlığı Çin'in Wuhan şehrinde yaşayan 8 Ocak 2020 tarihinde Tayland'a giden 61 yaşında Çinli bir kadında ilk impote olguyu bildirmiştir. Daha sonra 11 Mart'ta Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) bu salgını küresel bir pandemi ilan etmiştir. Hastalığın yayılmasını önlemek ve pandemiyi kontrol etmek için ilaçların etkinliği araştırılmakta olup çok sayıda COVID-19 aşı adayları ve ilaç adayları geliştirilmektedir. ABD- Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), Aralık 2020'de sırasıyla Pfizer ve Moderna tarafından geliştirilen iki mRNA aşısı için acil kullanım onayı yayınlamıştır. Şu anda geliştirilmekte olan diğer COVID-19 aşıları mRNA, DNA, viral vektör, subünite, inaktive edilmiş ve canlı zayıflatılmış aşıları kapsayan çeşitli platformlara dayanmaktadır. Bu derlemede COVID-19 tanı ve/veya tedavisinde kullanılan testler, aşılar ve ilaçların rolünü incelenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Koronavirüs. SARS-CoV-2. İlaç. Aşı. Test.

COVID-19 Diagnostic Tests, Vaccines and Medicines in Its Treatment; Current status

ABSTRACT

The infection caused by the SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2) virus, called COVID-19 (Coronavirus disease 19), was initially detected in China in December 2019, and then spread rapidly around the world. On January 13, 2020, the Ministry of Public Health of Thailand reported the first imported case in a 61-year-old Chinese woman living in Wuhan, China, who went to Thailand on January 8, 2020. Later, on March 11, the World Health Organization (WHO) declared this outbreak a global pandemic. The effectiveness of drugs is being investigated to prevent the spread of the disease and control the pandemic, and many COVID-19 vaccine candidates and drug candidates are being developed. The U.S. Food and Drug Administration (FDA) issued emergency-use approval for two mRNA vaccines developed by Pfizer and Moderna, respectively, in December 2020. Other COVID-19 vaccines currently in development are based on a variety of platforms including mRNA, DNA, viral vector, subunit, inactivated and live attenuated vaccines. This review examines the role of tests, vaccines and drugs used in the diagnosis and/or treatment of COVID-19.

Key Words: Coronavirus. SARS-CoV-2. Drug. Vaccine. Test.

Geliş Tarihi: 24.Haziran.2021
Kabul Tarihi: 03.Ağustos.2021

Dr. Emel Öykü ÇETİN UYANIKGİL
Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,
Farmasotik Teknoloji Anabilim Dalı,
Biyofarmasotik ve Farmakokinetik Bilim Dalı,
İzmir.
Tel.: +90 232 311 39 51
E-posta: emeloykucetin@ege.edu.tr

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Derya Selcen SALMANOĞLU: 0000-0001-7435-1725
Emine Esin ÇALIŞKAN: 0000-0002-8837-1222
Meliz SOFU: 0000-0001-6106-2203
Yiğit UYANIKGİL: 0000-0002-4016-0522
Emel Öykü ÇETİN UYANIKGİL: 0000-0001-8822-9130

İnsan koronavirüsleri (CoVs) ilk olarak 1960'ların sonlarında keşfedilmiştir¹. Karakteristik taç benzeri görünümü nedeniyle Korona olarak adlandırılmaktadırlar. Koronavirüsler, insanlar ve hayvanları enfekte eden Coronaviridae familyasının, Orthocoronavirinae alt familyası içinde yer alan tek iplikli, pozitif polariteli RNA virüsleridir. Bu virüsler, alfacoronavirus (α), betacoronavirus (β), gammacoronavirus (γ), ve deltacoronavirus (δ) olmak üzere 4 major cins ile sınıflandırılmaktadırlar. Şu ana kadar, 7 insan koronavirüsü tanımlanmıştır. Bunlar: α türü olan HCoV 229E, HCoV NL63 ve β türüne ait olan HCoV-OC43, HCoVHKU1, SARS-CoV, MERS-CoV ve SARS-CoV-2 koronavirüsleridir^{2,3}.

İnsan koronavirüsleri hem hafif (OC43, HKU1, 229E ve NL63) hem de şiddetli (SARS-CoV-1, SARS-CoV-2 ve MERS) hastalığa neden olabilirler. Taksonomik olarak SARS-CoV-2, Sarbecovirus alt cinsine ait SARS-ilişkili koronavirüs türlerinin bir parçasıdır.

Koronavirüsler esas olarak epitel hücrelerini hedef alırlar. Koronavirüs türüne bağlı olarak, aerosol, fomit veya fekal-oral yolla bir konakçıdan başka bir konakçıya bulaşmaktadır. İnsan koronavirüsleri solunum yollarının epitel hücrelerini enfekte ederken, hayvan koronavirüsleri genellikle sindirim sisteminin epitel hücrelerini enfekte etmektedir⁴.

Sadece 21. yüzyılın ilk yirmi yılında, insan koronavirüslerinin neden olduğu Şiddetli akut solunum yolu sendromu koronavirüs-1 (SARS-CoV1), Ortadoğu Solunum Yolu Sendromu koronavirüs (MERS-CoV) ve şimdi, yeni bir koronavirüs olan Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu koronavirüs-2 (SARS-CoV2 veya nCoV-19) olmak üzere üç pandemik bulaşıcı hastalık ortaya çıkmıştır.

Atipik pnömöni (SARS) ilk olarak 2002 yılının sonlarında Çin'in Guangdong eyaletinden bildirilmiştir⁵. Hem SARS-CoV hem de MERS-CoV hayvanlardan insanlara bulaşan zoonotik virüslerdir. Bunlar yarasaları doğal rezervuarları olarak kullanırlar ve yarasalardan ara konakçılara (örneğin, SARS-CoV için misk kedileri, MERS-CoV için develer) iletirler ve insanlarda enfeksiyona yol açarlar⁶.

SARS-CoV-2 diğer koronavirüsler gibi, çoklu yapısal ve yapısal olmayan proteinleri kodlayan ~30 kilobazlık bir genom boyutuna sahiptir. Bu ve diğer ortaya çıkan patojenik insan Cov'lerinin genomu, dört ana protein olan spike (S) proteini, zarf (E) proteini, membran (M) proteini ve nükleokapsid (N) proteini ile yaklaşık 16 yapısal olmayan proteini (nsp1-16) ve beş ila sekiz yardımcı proteini kodlar. Bunlar arasında, büyük multi fonksiyonel transmembran proteini olan S glikoproteini; viral bağlanma, füzyon, konakçı hücreye giriş ve iletimde önemli bir rol oynar. S proteini, farklı fonksiyonel domainlere ayrılan S1 ve S2 subunitlerden oluşur. S1 alt birimi, N-terminal domaini (NTD), reseptör bağlanma domaini (RBD) ve korun-

muş reseptör bağlanma motifi (RBM) içerir. S2 alt birimi ise füzyon peptidi (FP), heptad tekrarı (HR) 1 ve 2 olmak üzere üç operasyonel domaine sahiptir^{6,7}.

Viral S proteini, virüsün bağlanmasına ve anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) yoluyla konakçı hücreye daha fazla girmesine aracılık eder. Viral antijenlerin veya viral gen sekanslarının uygulanmasını kullanan COVID-19 aday aşuların çoğunluğu, viral S proteinlerine karşı nötrleştirici antikoları indüklemeyi, insan ACE2 reseptörü yoluyla alımını önlemeyi ve bu nedenle enfeksiyonu engellemeyi amaçlamaktadır.

SARS-CoV-2 hastalarında hafif/ortadan şiddetliye, hızla ilerleyen ve fulminan hastalık arasında değişen çok çeşitli klinik bulgular görülmektedir. SARS-CoV-2'nin semptomları spesifik değildir ve hastalık asemptomatikten şiddetli pnömöniye kadar değişebilmektedir. Asemptomatik SARS-CoV-2 vakalarının insidansı %1.6 ila %51.7 arasında değişmektedir ve bu kişiler tipik klinik semptomlar veya bulgular göstermemektedir ve akciğer bilgisayarlı tomografisinde (BT) belirgin anormallikler görülmemektedir. COVID-19 enfeksiyonlarında genellikle ateş, öksürük, dispne, miyalji, halsizlik, baş ağrısı, boğaz ağrısı, tat veya koku kaybı, polipne ve diğer semptomlar görülür. Ağır vakalarda, akciğerlerdeki hava keseciklerine sıvı dolması sonucu gelişen, septik şoka sebep olan Akut Respiratuar Distress Sendromu'na (ARDS) neden olabilir⁸⁻¹⁰. Tian ve ark. sindirim sistemi ile ilgili vaka raporlarından ve retrospektif klinik çalışmalardan elde ettikleri bilgiler ışığında anoreksi, ishal, kusma, bulantı, karın ağrısı ve gastrointestinal kanamayı içeren gastrointestinal semptomların, vakaların %3- %79'unda ortaya çıktığı sonucuna varmışlardır¹¹.

Şu anda COVID-19'un erken tespiti için kullanılan en yaygın moleküler yöntem, ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonudur (RT-PCR). Klinikte COVID-19 enfeksiyonu ve patolojik durumu teşhis etmek için RT-PCR bazlı moleküler tanı yöntemi ve BT bazlı tıbbi görüntüleme teknolojileri kullanılmaktadır. Ayrıca, hastanın antikolarını tespit etmeyi amaçlayan serolojik testlerde kullanılmaktadır.

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), enfeksiyöz patojenleri tespit etmek için altın standart olarak kabul edilir ve daha önceki salgınlarda da CoV'leri tespit etmek için başarıyla kullanılmıştır. PCR, primerler spesifik olarak viral genomun spesifik bölgesine bağlandığından DNA/ RNA hedefine karşı oldukça duyarlıdır. Salgının başlangıcında SARS-CoV-2 salgınına yanıt olarak tüm dünyadaki laboratuvarlarda RT-PCR kantitatif test yöntemi öncelikli olarak kullanılmıştır.

İmmünoglobulinler M ve G (IgM ve IgG), SARS-CoV-2 serolojik tanısı için en sık kullanılan biyobelirteçlerdir. SARS-CoV-2 ile şu anda veya daha önce enfekte olmuş olanları tespit etmek için kullanılan çeşitli tanı testleri, IgM ve IgG antikolarının varlığını tespit eden kan örneği analizine dayanarak geliştiril-

COVID-19 Tanı Testleri, Tedavisindeki Aşılar ve İlaçlar

miştir. IgM antikorları ilk olarak enfeksiyondan sonraki ilk birkaç hafta boyunca serumda saptanabilir hale gelir ve daha sonra izotip IgG'ye dönüşür. Bu nedenle, IgM erken evre enfeksiyonun bir göstergesini sağlarken, IgG mevcut veya önceki enfeksiyonu gösterir. Bu test, SARS-CoV-2 için epidemiyoloji ve aşı geliştirmede önemli bir rol oynar ve hem kısa hem de uzun dönem antikor yanıtını, antikor miktarını ve çeşitliliğinin bir değerlendirmesini sağlar. Bu testlerin yapılması kolaydır, hızlı bir yanıt sağlar ve bu nedenle viral enfeksiyonları teşhis etmek için yüksek çıktılı bir yöntemdir¹².

COVID-19'un patogenezi iki ana sürecin yönlendiği düşünülmektedir. Enfeksiyonun başlangıcında, hastalık öncelikle SARS-CoV-2 koronavirüsünün replikasyonu ile gerçekleşmektedir. Daha sonra enfeksiyon sırasında, hastalık, doku hasarına yol açan virüse karşı abartılı bir bağışıklık/enflamatuvar tepki oluşturmaktadır. Bu anlayışa dayanarak, antiviral tedavilerin hastalığın erken evrelerinde en büyük etkiye sahip olacağı beklenmektedir, immüno-supresif/ antiinflamatuvar tedavilerin ise COVID-19'un ileri aşamalarında daha faydalı olması muhtemeldir¹³.

Dünya çapında SARS-CoV-2'ye karşı terapiler ve profilaktik aşılar geliştirmek için çabalar sürmektedir. Terapötikler hastaneye yatış süresini kısaltmayı ve enfekte hastaların sağkalımını arttırmayı amaçlarken, profilaktik aşılar SARS-CoV-2'ye karşı koruyucu bağışıklık oluşturmayı amaçlamaktadır. Sınırlı ventilatör ve hastane kapasitesi gibi acil pandemik ortam sonuçları göz önüne alındığında, SARS-CoV-2'ye karşı başarılı profilaktik aşıların geliştirilmesi kritik öneme sahiptir.

Aşılar her yıl milyonlarca hayat kurtarmaktadır. Aşılar, hedefledikleri virüsleri ve bakterileri tanımak ve savaşmak için vücudun doğal savunmasını (immün sistem) hazırlama ve eğitme yoluyla çalışırlar. Aşılanmadan sonra, vücut hastalığa neden olan virüs, bakteri gibi mikroplara maruz kalırsa, hemen onları yok etmeye ve hastalığı önlemeye hazır halde bulunmaktadır.

18 Şubat 2021 itibariyle, ülkelerde üç platformda en az yedi farklı aşı kullanıma sunulmuştur. Aşılanma da tüm ülkelerdeki savunmasız popülasyonlara öncelik verilmiştir. 14 Haziran 2021 tarihinde SARS-CoV-2 Vaccine ClinicalTrials.gov arama verilerine göre 194 pre-klinik ve klinik aşı çalışması bulunmaktadır¹⁴. Bunlardan 46 tanesi Faz 3 aşamasındadır¹⁵.

DSÖ verilerine göre dünya genelinde 14 Haziran 2021 tarihi itibari ile 185 pre-klinik, 102 klinik aşamada olmak üzere toplam 287 aşı adayları bulunmaktadır¹⁶. Dünyanın dört bir yanındaki bilim adamları COVID-19 için potansiyel birçok aşı geliştirmektedirler. Bu aşıların tümü, COVID-19'a neden olan virüsleri vücudun immün sistemine güvenli olarak tanıtmak ve bunları bloke etmek için tasarlanmıştır.

COVID-19 için birkaç farklı potansiyel aşı türü geliştirilmektedir. Aşılar yaygın olarak kullanılan klasik aşı platformları (virüs bazlı, protein bazlı ve virüs benzeri parçacıklar) ve yeni jenerasyon platformları (viral vektör, nükleik- asit bazlı aşılar (RNA, DNA), antijen sunan hücreler) olmak üzere iki platforma ayrılmaktadırlar¹⁷.

Virüs bazlı aşılar, artık bulaşıcılığı olmayan inaktive virüs veya canlı zayıflatılmış virüsten oluşabilirler. İnaktive virüslerin hepsi çoğalmadığından, immün sistemi uyarmak için adjuvanlar gerektirirler. Canlı zayıflatılmış virüs aşıları, patojenik özelliklerini kaybedene ve enjeksiyon akabinde hafif bir enfeksiyona neden olana kadar klasik olarak hücre kültüründe pasajlanarak üretilmektedirler.

Protein bazlı aşılar, güvenli immün yanıt oluşturmada, COVID-19 virüsünün dışını taklit eden zararsız protein parçaları veya protein kabuklarını kullanırlar. Protein bazlı aşılar, virüs veya virüsle enfekte hücrelerden, rekombinant protein veya virüs benzeri parçacıklardan saflaştırılmış bir proteinden oluşabilirler.

Virüs benzeri parçacıklar, bir virüs parçacığı oluşturmak için gerekli olan yapısal viral proteinlerden oluşur ancak viral genom ve yapısal olmayan proteinlerden yoksundurlar. Bu aşılar, güçlü bir immün yanıtı indüklemek için bir adjuvan gerektirir.

Viral vektör aşıları, hastalığa sebep olamayan ancak immün yanıt oluşturmak için koronavirüs proteinleri üretmek için platform işlevi gören güvenli virüsleri kullanılırlar. Viral vektör aşıları, sıklıkla patojeniteyi azaltmak için zayıflatılmış bir rekombinant virüsten (yani viral vektörden) oluşur, viral antijenleri kodlayan genler, rekombinant DNA teknikleri kullanılarak klonlanmaktadır. Vektör aşılarının replike ve replike olmayan olmak üzere iki türü vardır.

RNA ve DNA aşıları, güvenli immün cevabı tetikleyen bir protein üretmek için genetik olarak tasarlanmış olan RNA veya DNA'yı kullanan son teknoloji yaklaşımlardır¹⁸.

Nükleik asit bazlı aşılar DNA veya mRNA'dan oluşurlar ve yeni virüsler ortaya çıktığında kolaylıkla adapte edilebilirler. Bu sebeple bunlar klinik çalışmalara giren ilk COVID-19 aşıları arasında yer almışlardır. Kendi kendini kopyalayan RNA aşıları, hücre başına daha fazla aşı antijeni eksprese edildiğinden daha düşük doz kullanılarak koruyucu immüniteyi indüklemesi muhtemeldir. mRNA çok kararlı değildir. Bu yapılar degradasyonu önlemek için modifiye nükleositler içerirler. Hücrelere mRNA (mesajcı RNA) girmesini sağlamak için bir taşıyıcı molekül gereklidir. En yaygın olarak lipid nanopartiküller kullanılmaktadır. Nükleik asit bazlı aşılar humoral ve hücrel immün yanıtı indükler, ancak çoklu dozlar gereklidir. Antijen sunan hücreler, bağışıklık sisteminin aşıya verdiği yanıtta önemli bir bileşendir. Bilindiği üzere dendritik hücreler bireyden alınır, daha sonra istenen

antijeni sunmak için manipüle edilir ve aynı bireye geri infüze edilir¹⁷.

SARS-Cov-2 İçin Klinik Denemelerde Olan Mevcut Aşı Adayları:

ABD'de mevcutta olan ilk iki aşı (Pfizer-Biontech ve Moderna) mRNA aşılardır. Diğer aşılarda (ABD'de Janssen-Johnson & Johnson ve ABD dışındaki Astra-Zeneca, Sputnik-V ve Casino) insan ve primat adenovirüs vektörleri kullanılarak yapılan aşılardır. ABD dışında mevcut olan başka bir aşı türü ise inaktive tüm virüs SARS-CoV- 2 aşısıdır (Bharat Biotech ve Sinovac). Bu aşılardan hiçbiri canlı aşı değildir.

mRNA-1273 Aşısı (Moderna/US NIAID)

Boston merkezli Moderna Therapeutics, SARS-CoV-2'nin genom sekanslamasından 63 gün sonra klinik çalışmalara giren ilk aşı adayını üretmek için Ulusal Alerji ve Enfeksiyon Hastalıkları Enstitüsü (NIAID) ile ortaklık kurmuştur. Bu aşı, konakçı immün hücreler yoluyla alımını artıran bir lipid nanopartikül (LNP) vektöründe enkapsüle edilmiştir. SARS-CoV-2, spike (S) proteininin stabilize edilmiş prefüzyon formunun sentezi için bilgi içeren mRNA molekülüne dayanmaktadır.

mRNA-1273 aşısı, proteini eksprese etmek için mRNA kullanma prensibine dayanan ABD şirketi Moderna tarafından üretilmektedir. mRNA-1273, SARS CoV-2 glikoproteinini transmembran bağlantı ve intakt S1 (bağlanma)- S2 (füzyon) bölünme bölgesi ile kodlamaktadır. 30 Kasım 2020 tarihinde Moderna, 196 doğrulanmış COVID-19 vakada yapılan birincil etkinlik analizi sonuçlarını açıklamıştır. Şiddetli hastalık geliştiren 30 birey arasında, bu vakaların hiçbiri aşı adayını ile aşılanmamış olup bu da mRNA-1273'ün ağır hastalığa karşı güçlü bir şekilde koruyucu olduğunu göstermiştir. 8 Aralık 2020'de ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) bu aşı için 18 yaşından büyük bireylerde acil kullanım izni yayınlamıştır.

30 Aralık 2020 tarihinde mRNA-1273 aşısının Faz 3 denemesinden elde edilen güvenlik ve etkinlik sonuçları, New England Journal of Medicine'de yayınlanmış olup aşı adayının %94.1 etkinlik ve güvenlik profili doğrulanmıştır. 4 Ocak 2021'de İsrail, Moderna'nın aşı adayını da onaylamıştır ve daha sonra Avrupa İlaç Ajansı (EMA) aşığı yetkilendirme için öneride bulunmuştur¹⁹.

Moderna Inc. Faz 3 klinik çalışmalarında %94.5 etkinlik elde ettiğini açıklamıştır ve son zamanlarda ABD'de FDA acil durum onayı almıştır. Bu aşının birincil dezavantajı düşük yarı ömrü olması, düşük stabilite ve viral vektörlerden 10 kat daha düşük bir transfeksiyon oranı sergilemesidir¹².

BioNTech/Pfizer Aşısı (Almanya /ABD) (20)

11 Aralık 2020'de FDA, lipid nanopartikülle formüle edilen COVID-19 hastalığına neden olan SARS-CoV-2 virüsünün prefüzyon spike glikoproteinini kodlayan nükleosit-modifiye mRNA aşısı olan Pfizer-BioNTech COVID-19 (BNT162b2) aşısı için 16 yaş ve üstü bireylerde COVID-19 hastalığının önlenmesi için acil kullanım iznini (EUA) yayınlamıştır. Pfizer-BioNTech COVID-19 aşısı ile aşılanma, 3 hafta arayla intramusküler olarak 2 doz (her biri 30 µg, 0.3 mL) uygulanmaktadır. Denemeler kapsamında BioNTech ve Pfizer'in mRNA aşısının BNT162b1, BNT162b2, BNT162a1 ve BNT162c2 olmak üzere dört adayı vardır. Bunların her biri farklı bir mRNA formatı ve antijenini temsil etmektedir. BNT162b1 ve BNT162b2 ikisi de nükleosit modifiye mRNA (modRNA) aşısıdır. BNT162b1, spike proteininin trimerize reseptör-bağlama domainini kodlarken, BNT162b2 tam spike proteinini kodlamaktadır. Öte yandan, BNT162a1 üridin mRNA (uRNA) bazlı bir aşıdır ve BNT162c2 kendi kendini kopyalayan mRNA (saRNA) bazlı bir aşıdır²¹.

Kasım ayında büyük miktarda tanıtıma neden olan aşı, Alman şirketi BioNTech ve Pfizer tarafından geliştirilen aşıdır. Faz 1 randomize plasebo kontrollü klinik çalışmalardan elde edilen sonuçlar, BNT162b2'nin hem genç (18-55 yaş) hem de yaşlılarda (65-85 yaş) minimum yan etki yarattığını gösterilmiştir. Ayrıca, bu çalışmalarda BNT162b1 ve BNT162b2 olmak üzere iki farklı aday değerlendirilmiştir. Her iki adayın da benzer şekilde aşılananlarda SARS-CoV-2'ye karşı yüksek doza bağlı nötralize edici antikor titrelerinin üretimini indüklemiştir. BNT162b1 ve BNT162b2, sentetik mRNA'nın enjekte edildiği ve konakçı tarafından hızla proteine çevrildiği mRNA aşılardır. mRNA, genetik bilgi taşıyan oldukça yeni bir ilaç sınıfıdır.

Pfizer ve BioNTech tarafından gerçekleştirilen çalışma verilerine göre 21.720'si BNT162b2 ile aşılanan 21.728'i plasebo olmak üzere toplam 43.448 katılımcıya enjeksiyon yapılmıştır. Bu 43.448 katılımcıdan 170'inde COVID-19 gelişmiştir. Bunlar arasında 162'sinin plasebo grubuna, 8'inin de aşı adayını ile aşılanan gruba ait olduğu tespit edilmiş ve bu verilerle BNT162b2 aşısının COVID-19'un önlenmede %95 etkili olduğu bulunmuştur (%95 güvenilir aralık, 90.3-97.6). Yaş, cinsiyet, ırk, etnik köken, temel vücut kitle indeksi ve birlikte var olan koşulların varlığı ile tanımlanan alt gruplarda benzer aşı etkinliği (genellikle %90-%100) gözlenmiştir. BNT162b2'nin güvenlik profili, enjeksiyon bölgesinde kısa süreli, hafif ila orta şiddette ağrı, yorgunluk ve baş ağrısı ile karakterize edilmiştir²².

Her iki aşının da birbirine benzer, hem lokal (ağrı, eritem, şişme ve lenfadenopati) hem de sistemik yan etkileri (ateş, baş ağrısı, miyalji, bulantı veya kusma) içeren güvenlik endişesi olmayan yan etki profilleri

COVID-19 Tanı Testleri, Tedavisindeki Aşılar ve İlaçlar

rapor edilmiştir²³. Aşının ilk dozu immün sistemi güçlendirirken, ikinci doz immün yanıtı güçlendirmektedir^{24,25}. Protein subunit aşı adayları inaktive patojen aşılarına benzer şekilde, genellikle son derece uygun bir güvenlik profili sergiler. Ancak çoklu destek dozları gerektirir ve düşük dereceli hücrel tepkiler ortaya çıkarmaktadırlar.

Novavax Aşısı (Gaithersburg, MA, ABD)

Maryland merkezli bir biyoteknoloji şirketi olan Novavax, bir bakulovirüs-Sf 9 sisteminde eksprese edilen ve Matrix M1 adlı bir adjuvan içeren rekombinant SARS-CoV-2 S glikoprotein nanopartikül aşı geliştirmiştir. Şirketin nanoparçacık teknolojisi kullanılarak ürettiği NVX-CoV2373, kararlı bir prefüzyon proteindir. NVX-CoV2373 ilk olarak aşı ile aşılanan makaklarda (*Macaca fascicularis*) test edilmiştir. Bu aşılama sonrası maymunların COVID-19'a karşı korunduğu ve herhangi bir üst veya alt hava yolu enfeksiyonu veya akciğer hastalığı belirtisi göstermediği gözlenmiştir²⁶.

Novavax, protein bazlı COVID-19 aşı adayı NVX-CoV2373'ün, Birleşik Krallık'ta (İngiltere) yapılan Faz-3 klinik çalışmasında %89.3'lük bir aşı etkinliği ile birincil hedefi karşıladığını açıklamıştır²⁷.

LV-Smenp-DC Aşısı (Shenzhen Geno-immün Tıp Enstitüsü, Çin)

LV-Smenp-DC aşısı, SARS-CoV-2 yapısal proteinlerinin korunmuş domainlerini eksprese eden ve Smenp minigenlerini proteazını kullanarak lentiviral vektör ile dendritik hücrelerin (DC) mühendisliği ile hazırlanmaktadır²⁸.

INO-4800 (Inovio Pharmaceuticals, ABD)

INO-4800, SARS-CoV-2 genetik sekansına dayanan DNA plazmid bazlı bir aşıdır. Inovio Pharmaceuticals biyoteknoloji şirketi tarafından, Cellectra adı verilen el tipi bir akıllı cihaz kullanarak intramusküler veya intradermal olarak optimize plazmidleri doğrudan hücrelere taşımak için tasarlanmıştır²⁹. Şu anda ABD genelinde 6578 sağlıklı bireyde güvenlik, tolere edilebilirlik ve immünojeniteyi belirlemek için faz 2/3 klinik çalışmalarda bulunmaktadır³⁰.

24 Aralık yayınlanan makalede 18-50 yaş arası 40 gönüllü üzerinde yapılan bir faz 1 çalışmasından elde edilen ara verilerin sonuçlarına göre 1.dozdan 8 hafta sonra toplam 11 lokal ve sistemik advers olay (AEs) tespit edilmiş olup bunlardan altısı aşı ile ilgili olarak kabul edilmiştir. İlgili altı yan etkiden beşi, enjeksiyon bölgesi ağrısı ve eritem dahil olmak üzere enjeksiyon bölgesi reaksiyonlarıdır. Aşı ile ilişkili grade 1 sistemik yan etki olarak da mide bulantısı tespit edilmiştir. Ayrıca INO-4800 dengeli humoral ve hücrel immün tepkiler üretmiş iki doz INO-4800 aşılanmayı takiben

antikor veya T hücresi yanıtı ya da her ikisini de göstermiştir²⁹.

Oxford / Astra Zeneca Aşısı (İngiltere / ABD)- Janssen Aşısı (Hollanda / ABD)

Hem AZD-1222 (ChAdOx1 nCoV-19) olarak da adlandırılan Oxford Üniversitesi/AstraZeneca (ChAdOx1) hem de Janssen (Ad26.COV2) aşıları spike geni ile değiştirilen E1 geninin silinmesiyle inaktive edilen adenovirüslerin genetik modifikasyonuna dayanmaktadır. Janssen Ad26.Cov2 aşısı insan adenovirüsüne Oxford aşısı şempanze (ChAdOx1) adenovirüsüne dayanmaktadır. 8 Aralık 2020'de üretici, AZD-1222'nin kabul edilebilir bir güvenlik profiline sahip olduğunu ve hastaneye yatış veya ciddi reaksiyonlar olmaksızın semptomatik COVID-19'a karşı etkili olduğunu açıklamıştır. AZD-1222'nin şu anda ABD, İngiltere, Hindistan ve diğer ülkelerde Faz 3 klinik çalışmaları yürütülmektedir. Son zamanlarda, İngiltere ve Hindistan AZD-1222'nin acil kullanımını onaylamış ve aşlamaya başlamıştır.

23 Nisan- 21 Mayıs tarihleri arasında İngiltere'deki Oxford Üniversitesi Klinik Aşı Bilimi ve Tropikal Tıp Merkezinin de içinde bulunduğu beş merkezde gerçekleşen gönüllü-kör, çok merkezli, randomize kontrollü Faz 1/2 çalışması yapılmıştır ve 15 Ağustos 2020'de ön rapor olarak yayınlanmıştır³¹. Çalışma ChAdOx1 nCoV-19 (n=543) ve MenACWY (n=534) olmak üzere 1077 gönüllüde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada birçoğu ağrı, ateş, titreme, kas ağrısı, baş ağrısı ve halsizlik dahil olmak üzere lokal ve sistemik reaksiyonlar ChAdOx1 nCoV-19 grubunda daha yaygın görülmüş olup; profilaktik parasetamol kullanımı ile azaltılmıştır. ChAdOx1 nCoV-19 ile ilgili ciddi advers etkiler gözlenmemiştir. ChAdOx1 nCoV-19 grubunda, S proteinine özgü T hücresi yanıtlarının 14. günde zirveye ulaştığı anti-spike IgG yanıtlarının ise 28. güne kadar yükseldiği bulunmuştur³¹. 30 Mayıs-8 Ağustos 2020 tarihleri arasında gerçekleşen faz 2/3 çalışmasında 560 gönüllü çalışmaya alınmıştır ve gönüllüler rastgele olarak 18- 55 yaş, 56- 69 yaş ve 70 yaş ve üzeri 3 gruba deneysel aşı ve kontrol grubuna ayrılmışlardır³².

ChAdOx1 nCoV-19 aşısı verilen gönüllülerde kontrol aşısı verilenlere göre lokal ve sistemik reaksiyonlar daha yaygın bulunmuş ve daha önce bildirilenlere (enjeksiyon bölgesi ağrısı, ateş, kas ağrısı, baş ağrısı) benzer bulunmuştur. Ancak daha yaşlı yetişkinlerde (≥56 yaş) genç yetişkinlere göre daha az yaygın bulunmuştur. Çalışmada, ChAdOx1 nCoV-19 aşısının yaşlı yetişkinlerde gençlere göre daha düşük bir reaktöjenite profili ile güvenli ve iyi tolere edildiğini gösterilmiştir. İmmünojenite, ikinci aşılama sonrası tüm yaş gruplarında benzer bulunmuştur. ChAdOx1 nCoV-19 aşısının, 70 yaş ve üstü yetişkinler de dahil olmak üzere tüm yaş gruplarında tek dozdan 28 gün

sonra SARS-CoV-2 spike glikoproteinine ve RBD'ye spesifik bir antikor yanıtını indüklediği gösterilmiştir³². 27 Şubat 2021'de FDA, SARS-CoV-2'nin neden olduğu COVID-19 hastalığının önlenmesi için üçüncü aşı olan Janssen COVID-19 aşısının ABD'de 18 yaş ve üstü bireylerde kullanımı için acil kullanım izni (EUA) yayınlamıştır³³. Janssen'in faz II çalışması, 65 yaş ve üstü sadece 15 gönüllü ile yapılmıştır ve advers etki oranları %36 oranı ile 65 yaş ve üstü olan katılımcılarda genç (%64) olanlardan daha düşük bulunmuştur³⁴. Janssen COVID-19 aşısı olan bazı kişilerde düşük trombosit seviyeleri ile birlikte beyin, karın ve bacaklarda damarlarda pıhtı görülmüştür. Bu pıhtı ve düşük trombosit seviyeleri çoğu 18 ila 49 yaş arasındaki kadınlarda görülmekle birlikte semptomlar aşılamadan yaklaşık bir ila iki hafta sonra başlamıştır³³. 13 Nisan 2021'de FDA ve CDC (Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri), beyindeki büyük kan damarlarında serebral venöz sinüs trombozu (CVST) olarak adlandırılan bir tür kan pıhtısının ciddi yan etki raporları nedeniyle Janssen COVID-19 aşısının kullanımında bir duraklama önermiştir. FDA ve CDC'nin, aşı kullanımını duraklatma önerisinden sonra yeni bilgiler de dahil olmak üzere mevcut tüm verileri gözden geçirilmiştir. Bu veriler, Janssen COVID-19 aşısının bilinen ve potansiyel faydalarının 18 yaş ve üstü bireylerde bilinen ve potansiyel risklerinden daha ağır bastığını değerlendirmelerine sebep olmuştur.

Corona Vac Aşısı (SinoVac Inc., Çin)

Corona Vac, Sinovac Research and Development Co. tarafından geliştirilen inaktive edilmiş bir viral vektör aşısıdır. Çin sağlık çalışanları gibi yüksek riskli grupları aşılama için 28 Ağustos 2020 tarihinde tüm inaktive SARS-CoV-2 virüsünü kullanarak Corona Vac aşısının acil kullanımını onaylamıştır.

Plasebo veya CoronaVac iki farklı aşı dozu (3 veya 6 µg/0.5 ml) alan 18 ila 59 yaşları arasında 600 sağlıklı gönüllüde yapılan faz 2 randomize, çift-kör, plasebo-kontrollü doz yükseltme güvenliği ve immünojenite çalışmaları yapılmıştır. Corona Vac her iki dozda da iyi tolere edilmiş ve advers reaksiyonların çoğu hafif bulunmuştur. Bildirilen semptomların en yaygın olanı enjeksiyon bölgesinde ağrıdır. Her iki Corona Vac dozunun, aşılama bireylerin %90'ından fazlasında serokonversiyona neden olmuştur³⁵.

Ad5-nCoV Aşısı (Cansino Biologics Inc, Pekin Biyoteknoloji Enstitüsü)

Çin Pekin Biyoteknoloji Enstitüsü ve Cansino Biologics tarafından geliştirilen Ad5-nCoV, SARS-CoV-2'nin rekombinant S proteinini eksprese eden rekombinant, replikasyon-defektif bir adenovirüs tip-5 vektör (Ad5) aşısıdır. E1 ve E3 genlerinden yoksun Ad5 vektöründe plazminojen aktivatör sinyal peptid geni ile optimize edilmiş tüm S proteininin geninin klon-

lanmasıyla hazırlanmıştır. Corona Vac aşısının şu anda 14 günlük aralıkla iki dozluk bir enjeksiyon rejimi ile faz 3 klinik çalışmaları bulunmaktadır.

25 Haziran 2020'de, Çin Merkez Askeri Komisyonu, bir yıl boyunca Ad5-nCoV aşısını "özel olarak ihtiyaç duyulan ilaç" olarak kullanılmasını onaylamıştır. Şu anda Rusya, Suudi Arabistan ve Pakistan'da faz 3 klinik çalışma aşamasındadır. Mart 2020'de Çin Wuhan'da bir rehabilitasyon merkezinde aşı adayının tek merkezli, açık etiketli, randomize olmayan, doz yükseltme faz 1 denemesi yapılmıştır. Bu çalışmada 195 kişiden 108'ine düşük doz (n=36), orta doz (n=36) veya yüksek doz (n=36) olmak üzere aşı uygulanmıştır. Aşılama 108 kişide en yaygın görülen advers reaksiyonu, enjeksiyon bölgesinde 58 kişide (%54) ağrı olmuştur ve en sık bildirilen sistematik advers reaksiyonu 50 kişide ateş (%46), 47 kişide yorgunluk (%44), 42 kişide baş ağrısı (%39) ve 18 kişide kas ağrısı (%17) olmuştur. Aşılamadan sonraki 28 gün içinde ciddi bir yan etki kaydedilmemiştir. 14. günde ELISA antikorları ve nötrleştirici antikorlar önemli ölçüde artmış ve aşılamadan 28 gün sonra zirveye ulaşmıştır. Spesifik T hücreleri yanıtı ise aşılamadan sonraki 14. günde zirveye ulaşmıştır³⁶.

Sputnik V Aşısı (Gam-COVID-Vac, Rusya)

Sputnik V olarak da bilinen Gam-COVID-Vac Rusya'daki Gamaleya Araştırma Enstitüsü bilim adamları, ilk bağışıklamadan sonra viral vektöre karşı ortaya çıkan antikorlara bağlı olarak azaltılmış immünojenite sorununu aşmak için şimdiye kadar tek olan heterolog birincil-ikincil SARS-CoV-2 aşı adayını geliştirmişlerdir. Birincil aşılama için kullanılan adenoviral vektör serotipi, ikincil olarak kullanılan adenoviral serotipten farklıdır. Rekombinant adenovirüs tip 26 vektör (rAd26), Rekombinant adenovirüs tip 5 vektör (rAd5) olmak üzere iki vektör içeren SARS-CoV-2 spike glikoproteinini için gen taşıyan heterolog COVID-19 aşısıdır.

Bu nedenle, ilk aşılama sırasında S proteinine genetik bilgiyi taşımak için replikasyon- defektif Ad26 ve ikincisi için rekombinant replikasyon- defektif Ad5 iki vektörlü adenovirüs aşısı geliştirilmiştir³⁷.

Rusya Savunma Bakanlığı'na bağlı Burdenko Hastanesi'nde askeri ve sivil gönüllülerde yapılan faz 1/2 randomize olmayan çalışmanın bulguları, rekombinant adenoviral vektörler rAd26-S ve rAd5-S'ye dayanan heterolog aşının güvenli, iyi tolere edildiğini ve sağlıklı katılımcıların %100'ünde güçlü humoral ve hücreli immün yanıtları indüklediğini göstermektedir. Bildirilen tüm advers etkiler çoğunlukla hafif bulunmuştur. En sık görülen sistemik ve lokal reaksiyonlar, rekombinant viral vektörlere dayanan aşılama için tipik olan enjeksiyon bölgesinde ağrı, hipertermi (vücut ısısı 37-38°C), baş ağrısı, asteni ve kas ve eklem ağrısı bulunmuştur³⁸. 24 Kasım'da, Sputnik V ikinci faz 3 ara raporunun sonuçlarında, heterolog immunizasyon

COVID-19 Tanı Testleri, Tedavisindeki Aşılar ve İlaçlar

rejiminin her iki dozunu aldıktan bir hafta sonra 18.794 kişiden elde edilen veriler analiz edilmiş bu aşı adayının %91.4 etkinliği ortaya konulmuştur³⁹.

Türkiye’de Yürüten Aşı Çalışmaları

Ülkemizde 13 Haziran 2021 tarihi itibarı ile 48.721 ölümle 5.330.447 toplam vaka görülmüş olup toplam 33.765.656 aşı yapılmıştır⁴⁰. Türkiye’de yeni tip koronavirüse karşı geliştirilecek aşılar için Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB) ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından hızlıca harekete geçirilen destekler ile 17 yerli aşı çalışması yürütülmektedir. ClinicalTrials.gov’da “COVID-19 Turkey vaccine” arama verilerine göre TÜSEB destekli Erciyes Üniversitesi ERUCOV-VAC inaktif aşısının faz 1, 2, Koçak Farma Koçak-19 inaktif adjuvanlı COVID-19 aşısının faz 1, TÜBİTAK destekli VETAL Inc. Monitor CRO inaktif SARS-CoV-2 aşının faz 1, TÜBİTAK destekli Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Monitor CRO, Nobel Pharmaceuticals VLP (Virüs-benzeri parçacık) aşının faz 1, çalışmaları devam etmektedir. Ayrıca CoronaVac inaktif aşısının Faz 3 çalışmaları Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi olmak üzere 25 merkezde çalışmaları sürmektedir. Pfizer-BioNTech mRNA aşısının Faz 1, 2, 3 çalışmaları da ülkemizde devam etmektedir⁴¹. Yerli imkânlarla geliştirilmekte olan, TÜSEB tarafından desteklenen intranasal COVID-19 aşı projesi, Faz I aşamasına geçmek üzeredir. Marmara Üniversitesi, Akdeniz Üniversitesi-Hacettepe Üniversitesi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Atatürk Üniversitesi yürütücülüklerinde Ar-Ge çalışmaları ve hayvan deneyleri devam etmektedir⁴². Ayrıca Ege Üniversitesi, COVID-19’a karşı koruma sağlamak üzere İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma Uygulama Merkezi (ARGEFAR) bünyesindeki EÜ Aşı ve Araştırma Geliştirme Grubu ile TÜBİTAK desteğiyle DNA Aşısı geliştirmektedir. Çalışma grubu, koronavirüse karşı dört farklı DNA aşısı prototipi tasarlamışlardır. Hayvan deneylerini ve farelerde aşılama ile uyarılan bağışıklık yanıtını incelemişlerdir ve DNA aşısı prototiplerinden iki tanesinin güçlü hücrel ve humoral bağışıklık yanıtı oluşturduğunu saptamışlardır. Bu iki aşı adayıyla gönüllü insanlarda faz çalışmalarına geçmeyi planlamaktadırlar⁴³.

SARS-Cov-2 İçin Klinikte Kullanılan Antiviral İlaçlar

COVID-19 tedavisi için değişik antiviral ilaçlar salgın boyunca denenmiştir. Şu anda COVID-19 tedavisi için onaylanan bir antiviral ajan bulunmamaktadır. COVID-19 tedavisinde kullanılan antiviraller arasında remdesivir, favipiravir, umifenovir, lopinavir/ ritonavir ve ribavirin bulunur. Bu antivirallerin monoterapi ve başka ilaçlarla kombinasyon halinde kullanımı-

nın değerlendirilmesine dair klinik araştırmalar sürmektedir⁴⁴.

Favipiravir

Favipiravir, 2014 yılında Japonya’da Toyama Chemical tarafından geliştirilen RNA’ya bağımlı RNA polimerazının selektif inhibitörüdür. Bazı ülkelerde influenza, ebola ve norovirüs tedavisi için onaylanmıştır⁴⁵. Favipiravir iyi karakterize edilmiş bir güvenlik profiline sahiptir. Yaygın görülen yan etkiler arasında gastrointestinal yan etkiler, ürik asit yükselmesi, nötrofil sayısında azalma, aspartat aminotransferaz (SGOT) ve alanin transaminaz (SGPT) artışı, psikiyatrik semptom reaksiyonları ve kan trigliseridlerinde yükselme yer almaktadır. Düşük ve yüksek favipiravir dozları arasında benzer yan etki oranları gözlenmektedir⁴⁶.

Ön klinik sonuçlar, favipiravirin, lopinavir-ritonavir ile karşılaştırıldığında COVID-19 hastalarında göğüs görüntülemesinde anlamlı ölçüde daha fazla iyileşme göstermektedir (favipiravir ile %91.4, lopinavir-ritonavir ile %62.2 iyileşme). Favipiravir uygulanan hastalarda lopinavir-ritonavir alanlara kıyasla daha hızlı viral klirens (4 güne karşı 11 gün) ve daha az advers olay (%11.4’e karşı %55.6) gözlenmiştir⁴⁷.

Çin’de yürütülen favipiravir ve umifenovir kullanımını karşılaştıran randomize kontrollü bir klinik çalışmada, favipiravir grubunda öksürük ve ateş şikayetleri bulunan hafif ve orta şiddetli COVID-19 hastalarının umifenovir ile tedavi edilen hastalara kıyasla daha kısa sürede iyileştiği gözlemlenirken oksijen terapisi gören veya solunum desteğine gereksinim duyan hastalarda herhangi bir farklılık gözlenmemiştir⁴⁸. Ancak anormal karaciğer fonksiyon testleri, psikiyatrik semptom reaksiyonları, sindirim sistemi reaksiyonları ve yükselmiş serum ürik asit gibi bazı anti-viral ilişkili yan etkiler favipiravir grubunda daha yüksek oranda görülmüştür⁴⁹.

Tayland’da hastanede yatan ancak oksijen tedavisine ihtiyaç duymayan hastalarda yapılan retrospektif gözlemsel bir çalışma sonucunda favipiravir ile tedavinin yedinci gününde klinik iyileşme oranı %92.6 olarak bulunmuştur⁵⁰.

Umifenovir

Umifenovir, viral S-proteinleri ve ACE2 reseptörleri arasındaki etkileşimi hedefleyerek viral zarfın membran füzyonunu inhibe eder ve virüsün hücre içine girişini engeller. Rusya ve Çin’de umifenovir, influenza A ve B’nin profilaksisi ve tedavisi için onaylanmıştır^{49,51}.

Çin’de 67 COVID-19 hastalarında yapılan randomize olmayan bir çalışmada, ortalama 9 günlük bir süre boyunca umifenovir ile tedavinin, daha düşük mortalite oranı ve daha yüksek taburcu etme oranı ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir⁵².

1052 hastanın dahil edildiği ve standart bakıma kıyasla çeşitli antiviral ilaçların etkinliğinin değerlendirildiği bir meta analiz çalışmasında umifenovir ile tedavi edilen grup 14. günde daha yüksek negatif RT-PCR oranı ile ilişkilendirilmiştir. Ancak ateş düşmesi, öksürük hafiflemesi ve hastanede kalış süresi açısından anlamlı bir farklılık görülmemiştir⁵³.

Umifenovir ve lopinavir-ritonavir veya lopinavir-ritonavir monoterapisi alan 16, COVID-19 hastasının tek merkezli, geriye dönük bir kohort çalışmasının sonuçları 14 günlük uygulamadan sonra, kontrol grubuna kıyasla umifenovir ile tedavi edilen hastaların %94'ünde SARS-CoV-2, RT-PCR ile saptanamazken, kontrol grubunda bu oran %53 bulunmuştur. Umifenovir deney grubu ayrıca göğüs BT'sinde de daha yüksek oranda iyileşme göstermiştir⁵⁴. Şubat 2020'de Changzhou ve Wuhu, Çin'de yürütülen benzer bir retrospektif çalışmada, lopinavir-ritonavir monoterapisi verilen hastalarda %44.1 viral yük tespitine kıyasla umifenovir alan 16 hastanın tümünde viral yüklerin tespit edilemediği gösterilmiştir. Bu, umifenovirin COVID-19 tedavisinde lopinavir-ritonavirden daha etkili olabileceğini düşündürmektedir⁵⁵.

Umifenovirin yan etkileri arasında bulantı, ishal, yüksek serum aminotransferaz seviyeleri ve baş dönmesi bulunur, ayrıca karaciğerde metabolize edildiğinden karaciğer fonksiyon bozukluğu olan hastalarda dikkatli kullanılmalıdır⁴⁹.

Remdesivir

Remdesivir, viral replikasyon için gerekli bir enzim olan RNA'ya bağımlı RNA polimerazın bir inhibitörü olarak görev yapan geniş spektrumlu bir antiviral ajandır. Ebola tedavisinde kullanılmak için üretilmiştir. Ancak bu virüse karşı etkili değildir⁵⁶. Ebola'yı tedavi etmek için klinik çalışmalarda kullanılan dozlara benzer şekilde, remdesivir, 1. günde 200 mg yükleme dozu olarak uygulanır, ardından dokuz gün boyunca günlük 100 mg IV dozu uygulanır⁵¹. Remdesivirin SARS-CoV-2 ve ilişkili koronavirüslere karşı etkinliği *in vitro* çalışmalar ve hayvan modellerinden çıkarılabilir. Yapılan bir çalışmada SARS-CoV-2 enfeksiyonlu bir fare modelinde profilaksi için remdesivir kullanımını akciğerlerdeki viral yükte bir azalmaya ve solunum fonksiyonunda iyileşmeye yol açtığı gösterilmiştir⁵⁷.

Ulusal Alerji ve Bulaşıcı Hastalıklar Enstitüsü (NIAID) tarafından yapılan ilk randomize, plasebo kontrollü klinik çalışmada plasebo grubuna kıyasla remdesivir tedavisi alan 1000 COVID-19 hastasında iyileşme süresi daha kısa bulunmuştur. Ancak, remdesivir alan tedavisi alanlar ile almayanlar arasındaki ölüm oranında önemli bir fark görülmemiştir⁴⁵. Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün (NIH) hastanede yatan yetişkin COVID-19 hastalarında gerçekleştirdiği çok uluslu, randomize, çift kör ve plasebo kontrollü yapılan bir çalışmada, özellikle oksijen desteğine ihtiyaç duyan

hastalarda remdesivir tedavisinin iyileşme süresini kısalttığı ancak hafif ve orta seviyedeki COVID-19 hastalarında herhangi bir yarar sağlamadığı görülmüştür⁵⁸. Şiddetli COVID-19 sebebiyle hastaneye yatırılan bir hasta kohortunda yapılan başka bir çalışmada, remdesivir ile tedavi edilenlerin %68'inde klinik iyileşme gözlemlenmiştir⁵⁹. Çelişkili klinik sonuçlara rağmen, FDA, 1 Mayıs 2020'de şiddetli COVID-19 hastalarına hastanede intravenöz remdesivir uygulaması için bir "acil kullanım izni" vermiştir. Çeşitli klinik araştırmalar, remdesivir uygulamasının ardından hepatoksisite gibi ciddi yan etkiler bildirmiştir⁵¹. İlacın gerçek etkinliği ve faydasının anlaşılabilmesi için farklı yaş gruplarında ve hastalığın farklı evrelerinde daha fazla klinik araştırmaya ihtiyaç vardır. Tüm bunların yanında maliyet ve bulunabilirliği bu ilacın kullanımını sınırlamaktadır¹.

Lopinavir/ Ritonavir

Lopinavir/ritonavir kombinasyonu, HIV pozitif hastalarda antiretroviral tedavi olarak kullanılmaktadır. Lopinavir, yeni viral oluşum için gerekli bir enzim olan HIV proteazı inhibe etmektedir⁶⁰. Lopinavirin oral biyoyararlanımının düşük olmasından ve CYP3A enziminin substratı olması nedeniyle lopinavir, CYP3A enzim inhibitörü ritonavir ile birlikte uygulanmaktadır⁶⁰. Lopinavir/ ritonavir kombinasyonunun COVID-19 tedavisinde doz rejimi günde iki kez 400mg/100mg'dır⁶¹. *in vitro* SARS-Cov-2 virüsüne karşı antiviral etki göstermiştir ancak mevcut veriler, COVID-19 tedavisinde lopinavir/ ritonavirin sınırlı bir rol oynadığını göstermektedir⁶². SARS-CoV 2 enfeksiyonu geçiren 199 hastada yapılan başka bir çalışmada standart bakıma kıyasla lopinavir/ ritonavir tedavisinin klinik iyileşme süresini ve ölüm oranını değiştirmedeği görülmüştür. Ancak kör bir çalışma olmaması ve tedaviye gecikmeli başlanması bu çalışmayı sınırlandırmaktadır⁶³. Bir meta analizinde lopinavir/ritonavir ile tedavi gören COVID-19 hastalarında, solunum yetmezliği gelişmesinde, invaziv mekanik ventilasyon ihtiyacında ve ARDS gelişme riskinde hafif bir düşme görülmesine rağmen hastanede kalış süresinde herhangi bir değişiklik görülmemiştir⁶¹. Lopinavir/ ritonavirin en yaygın yan etkisi ishal ve mide bulantısı gibi gastrointestinal rahatsızlıklar (%28) ve hepatotoksisite (%2-10)'dir⁵¹. Lopinavir/ritonavir tedavisinin gerçek faydalarını kanıtlamak için sürdürülen çalışmalar devam etmektedir.

Ribavirin

Ribavirin, viral RNA'ya bağımlı RNA polimerazı inhibe eden bir guanin analogudur⁶⁴. Hepatit C, solunum sinsiyal virüsü ve Lassa Ateşi gibi bazı viral hemorajik ateşleri tedavi etmek için kullanılan antiviral bir ilaçtır⁴⁴. 2003'te SARS-CoV ve 2012'de MERS-CoV salgınları sırasında kesin bir terapötik fayda sağlamadığından, COVID-19 salgını sırasında

COVID-19 Tanı Testleri, Tedavisindeki Aşılar ve İlaçlar

daha az sayıda klinik test yapılmıştır⁶⁴. Hastanede yatan 115 hasta ile yapılan tek merkezli retrospektif bir kohort çalışmasında ribavirin ile tedavi edilen grubun kontrol grubuna kıyasla PCR testinin negatife dönme süresi ve ölüm oranında bir iyileşme görülmemiştir⁶⁵. Hong Kong'da COVID-19 hastalarında çok merkezli, prospektif, açık etiketli, randomize bir faz II çalışması yapılmış olup bu çalışmada kontrol grubundaki hastalar 14 gün boyunca 12 saatte bir lopinavir 400 mg ve ritonavir 100 mg almıştır. Diğer grup 14 gün boyunca her 12 saatte bir lopinavir 400 mg, ritonavir 100 mg, 12 saatte bir ribavirin 400 mg ve 8 milyon IU doz interferon β -1b ile tedavi edilmiştir. Elde edilen sonuçlar kombinasyon tedavisinin iyi tolere edildiğini ve hafif ila orta şiddetli COVID-19 hastalarında nazofaringeal sürüntünün negatife dönüş süresini ve hastanede kalış süresini kısalttığını göstermiştir⁶⁶. Ayrıca, SARS-CoV tedavisi için ribavirin klinik çalışmaları, hemolitik anemi, hipokalsemi ve hipomagnezemi ve karaciğer toksisitesi dahil olmak üzere doza bağlı advers ilaç reaksiyonları göstermiştir, aynı zamanda teratojeniktir ve gebelikte kontrendikedir⁵¹.

SARS-Cov-2 İçin Klinikte Kullanılan İmmünomodülatörler

Interleukin-1 İnhibitörleri (Anakinra, Canakinumab, Rilonacept)

Sitokin fırtınası, akciğer makrofajlarının hiperaktif olarak IL-1 ve diğer sitokinlerin salındığı bir süreçtir. IL-1 ailesi lökositlerden ve endotel hücrelerinden integrinlerin eksprese edilmesini indükleyerek inflammatuar yanıtları başlatır ve düzenler. En güçlü protinflatuar sitokinler IL-1 α ve IL-1 β 'dir. Bu açıdan interlökin 1, COVID-19 tedavisinde potansiyel bir hedefdir⁶⁷. IL-1 inhibitörleri arasında anakinra, canakinumab, rilonacept bulunur. Anakinra, romatoid artrit tedavisinde kullanılan rekombinant bir insan IL-1 reseptör antagonistidir ve IL-1 α ve IL-1 β 'yi inhibe eder⁶⁸. Anakinra yetişkinlerde SC olarak günde 100 ile 200 mg arasında veya haftada üç kez 100 mg olarak değişen dozlarda uygulanır⁶⁹.

Faz III randomize kontrollü bir çalışmadan elde edilen veriler, anakinra ile IL-1 reseptör blokajının, sepsisli hastaların sağkalımında önemli iyileşme ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur⁷⁰. Orta veya şiddetli COVID-19 pnömonisi olan 9 hastadan oluşan küçük bir vaka serisinde, anakinra kullanımının iyi tolere edildiği ve klinik ve biyolojik belirteçlerin iyileştirilmesinde etkili olduğu bulunmuştur⁷¹. Standart tedavi grubuna kıyasla yüksek doz anakinra ile tedavi edilen COVID-19 hastalarında yapılan geriye dönük bir çalışmada elde edilen ön kanıtlar, hastalarda solunum fonksiyonlarında iyileşme ve artmış sağ kalım oranı göstermiştir⁷². Yapılan başka bir kohort çalışmasında anakinranın ağır COVID-19 hastalarında invaziv me-

kanik solunum desteği ihtiyacını ve ölüm oranını azalttığı gösterilmiştir⁷³.

Interleukin-6 İnhibitörleri (Tocilizumab, Sarilumab, Siltuximab)

Ağır COVID-19 hastalarında diğer proinflammatuar sitokinlerin yanı sıra serumda yüksek IL-6 seviyeleri gözlenir. Yüksek IL-6 seviyesi kötü prognozla ilişkilendirildiğinden bu sitokinlerin inhibe edilmesinin ağır COVID-19 hastalarında iyileşmeye sebep olacağı düşünülmüştür⁷⁴. Ağır COVID-19 hastalarında kullanılan ve olumlu sonuçlar veren tek IL-6 inhibitörü tocilizumab'tır⁴⁴. Tocilizumab, IL-6 reseptörüne yüksek afinite ile bağlanan bir rekombinant insan IL-6 reseptörü karşıtı monoklonal antikordur. Sitokin salınım sendromu (CRS), romatizmal artrit ve sistemik juvenil idiyopatik artrit tedavisi için onaylanmıştır⁷⁵. COVID-19'a bağlı gelişen sitokin fırtınası için önerilen doz IV 8 mg/kg (maksimum 800 mg/doz) şeklindedir⁷⁴.

Yapılan çalışmalar tocilizumab ile tedavi edilen 21 COVID-19 hastasında yan etki olmaksızın ateş ve IL-6 seviyesinde düşme, oksijen tedavisi ve mekanik ventilasyon ihtiyacında azalma ve radyolojik akciğer bulgularında iyileşme ile sonuçlanmıştır. Araştırmacılar, 21 hastadan 20'sinin tamamen iyileştiğini ve tocilizumab tedavisini izleyen iki hafta içinde taburcu edildiğini doğrulamıştır⁷⁶. 544 hasta ile yapılan çok merkezli, retrospektif bir kohort çalışmada, tocilizumab tedavisinin uygulama yolundan bağımsız olarak mekanik ventilasyon ihtiyacını ve ölüm riskini azalttığını gösterilmiştir⁷⁷. Roumier ve ark. 80 yaşından küçük, hastalık süresi 5 günden fazla, şiddetli pnömonisi olan ve hızla kötüleşen 30 hastada (%23'ü yoğun bakımda tedavi gören) tocilizumab tedavisini incelemişlerdir. Ortalama 8 gün takip edilen hastalarda tocilizumab, mekanik ventilasyon ihtiyacını ve yoğun bakıma yatış riskini azaltmıştır⁷⁸. Mekanik ventilasyona ihtiyaç duyan 100 şiddetli COVID-19 hastasıyla yapılan prospektif bir çalışma sonucunda 10 gün içinde 77 hastada klinik iyileşme veya stabilizasyon görülmüştür ve 15 hasta tamamen iyileşerek taburcu olmuştur. 20 hasta ölmüştür⁷⁹. Yapılan bir meta-analizde standart tedavi gören 2488 hasta ve tocilizumab ile tedavi gören 1153 hasta incelendiğinde tocilizumab grubundaki mortalite oranının (% 22.4) kontrol grubundan (% 26.21) daha düşük olduğu gösterilmiştir⁸⁰.

Janus Kinase (Jaks) İnhibitörleri (Barisitinib, Ruxolitinib)

Janus Kinazlar (JAK'lar), gerektiğinde konakçı hücrelerde sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin yoğunluğunu arttıran transmembran proteinleridir. Janus Kinaz inhibitörleri (JAKi); çoklu, proinflammatuar sitokinlerin eş zamanlı bloke ederek sitokin fırtınasını engelleyebilir ve hücre viral endositozu engelleyerek antiviral etkisiyle diğer immunomodülatörlerden üstünlük gösterir.

rebilir⁸¹. JAK inhibitörleri arasında ruxolitinib, baricitinib, fedratinib, upadacitinib, tofacitinib ve filgotinib bulunur ve bunlar esas olarak miyelofibroz veya romatoid artrit, ülseratif kolit ve psöriazis dahil diğer inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılır⁸². JAK inhibitörleri, SARS-CoV-2 için nispeten güvenli terapötikler olarak kabul edilmelerine rağmen virüslere karşı savunmada önemli bir sitokin olan IFN- α 'yı inhibe etmektedirler⁸³. İtalya'da yapılan açık etiketli bir çalışmada lopinavir/ritonavire ek olarak baricitinib ile tedavi edilen 12 hastada kontrol grubuna kıyasla ateş, nefes darlığı ve öksürükte düşüş sağladığı görülmüştür. Bunun yanı sıra solunum fonksiyon testlerinde iyileşme ve daha düşük CRP seviyesi gözlemlenmiştir, hastaların hiçbiri yoğun bakım ünitesine ihtiyaç durmamıştır⁸⁴. Tromboembolizm riski JAKi'lerin kullanımlarını sınırlayan önemli bir durumdur ve kullanılırken bu yan etki göz önünde bulundurulmalıdır. Ancak ruxolitinib bu yan etki riskine sahip değildir⁸⁵.

Tümör Nekroz Faktörü (Tnf) İnhibitörleri (Adalimumab, Infliximab, Etanercept)

TNF, bazı otoimmün hastalıklar ve septik şok dahil olmak üzere çeşitli akut ve kronik inflamasyonda rol oynayan önemli bir proinflamatuvar sitokindir. TNF- α , esas olarak makrofajlar tarafından üretilir, ancak aynı zamanda monositler, B hücreleri ve diğer dokular tarafından da üretilebilir⁸⁶. Ateş, apoptoz, kaşeksi ve inflamasyona neden olur ve aynı zamanda tümör oluşumunu ve viral replikasyonu inhibe eder⁴⁴. Birincil işlevi bağışıklık düzenlemesidir ve sepsise IL-1 ve IL-6 üreten hücreler aracılığıyla yanıt verir⁶⁸. Anti-TNF ajanları (adalimumab, infiximab), romatoid artrit, ankilozan spondilit, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve psoriatik artritin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır⁶⁹. SARS hastalarında serum TNF- α seviyeleri orta derecede yükselirken, COVID-19 enfeksiyonu olan hastalarda hastalığın şiddeti arttıkça artan serum seviyeleri gözlenmiştir⁸¹. Romatizmal hastalıkları olan ve COVID-19 enfeksiyonu geçirmiş 600 hasta değerlendirildiğinde anti TNF ajanı kullanan hastaların hastaneye yatış oranının daha düşük olduğu görülmüştür⁸⁷. Kuzey Amerikalı enfeksiyon uzmanları tarafından bildirilen 77 hastadan oluşan bir vaka serisi, enfeksiyondan önce anti-TNF tedavisi kullanan 16 hastayı gözlemlemiştir. Diğer sitokin bloke edici biyolojikler, JAK inhibitörleri veya diğer immünespresörler ile tedavi gören 61 hastanın aksine anti-TNF kullanan hiçbir hastanın solunum desteğine ihtiyaç duymadığı veya ölmediği görülmüştür⁸⁸.

Hidroksiklorokin / Klorokin

Klorokin ve hidroksiklorokin, sistemik lupus eritematозus (SLE) ve romatoid artrit (RA) gibi inflamatuvar hastalıkların tedavisi ve ayrıca malaryanın önlenmesi ve tedavisi için kullanılan ilaçlardır⁵¹. Bu ilaçlar anti

inflamatuvar etkilerini T ve B hücrelerinin reseptörlerini inhibe ederek gösterir⁸⁹. Bu sayede IL-1 ve IL-6 gibi makrofajlardan sitokin üretimi azalır. Ayrıca TNF- α , interferon- α ve γ 'yı inhibe ederler ve SARS-CoV-2'ye karşı *in vitro* antiviral etki göstermişlerdir (90). Bunların tümü, SARS-CoV-2 sitokin fırtınasında rol oynayan inflamatuvar sitokinlerdir⁹¹. Doku kültüründe yapılan *in vitro* deneyler, klorokin ve hidroksiklorokinin endozomal pH'ı artırabildiğini, virüs-hücre füzyonunu önleyebildiğini ve ACE2 reseptörünün glikosilasyonunu ve dolayısıyla SARS-CoV-2 S proteininin ACE2'ye bağlanmasını inhibe edebileceğini göstermiştir^{92,93}.

Pandeminin başlangıç döneminde yapılan çalışmalar, COVID-19 hastalarının tedavisinde bu ilaçlarla umut vaat ettiğini göstermiştir. Bu ilaç dünya çapında daha fazla COVID-19 hastasında kullanıldığından, COVID-19 tedavisi için etkinliği konusunda çelişkili kanıtlar ortaya çıkmıştır.

28 Mart 2020'de COVID-19 hastalarında klorokin ve hidroksiklorokin kullanımına FDA tarafından izin verilmiştir. Ancak FDA, ciddi kalp ritmi sorunlarına ilişkin raporlar olduğu için 24 Nisan 2020'de COVID-19 için klinik uygulamalar ve hastane ortamı dışında klorokin ve hidroksiklorokin kullanımına ilişkin bir güvenlik uyarısı yayınlamıştır^{45,93}. COVID-19 için farmakolojik tedavi alan birçok hastada, QT uzaması, Torsade de Pointes (TdP) ve aritmi dahil olmak üzere ciddi kardiyak yan etkiler gösterilmiştir. Belgelenen ek yan etkiler arasında hepatit, akut pankreatit, nötropeni ve anafilaksi bulunur⁵¹. Ülkemizde de bu ilaç 7 Mayıs 2021 tarihi itibarı ile COVID -19 rehberinden çıkarılmıştır.

Sonuç olarak, SARS-CoV- 2, hızla küresel bir pandemiye yol açan, yaşamları ve geçim kaynaklarını endişe verici bir hızda yok eden oldukça bulaşıcı yeni bir koronavirüsdür. Bu hastalık için dünyanın dört bir yanında birçok ilaç ve aşı adayı araştırılmaktadır. Aşıların ve ilaçların, bu virüsün ortaya çıkardığı küresel halk sağlığı hasarını azaltacağı öngörülmektedir.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Makale türünün derleme olması sebebi ile etik kurul onayına ihtiyaç yoktur.

Araştırmacı Katkı Beyanı: Fikir ve tasarım: E.Ö.Ç.U., Y.U.; Veri toplama ve işleme: D.S.S., M.S., E.E.Ç.; Analiz ve verilerin yorumlanması: E.Ö.Ç.U., Y.U.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: D.S.S., M.S., E.Ö.Ç.U., Y.U.

Destek ve Teşekkür Beyanı: Çalışmamızda herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

- Kahn, J. S., & McIntosh, K. (2005). History and Recent Advances in Coronavirus Discovery. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 24(11), S223–S227. <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000188166.17324.60>
- Gouveia, C. C., & Campos, L. (2020). Coronavirus disease 2019: Clinical review. *Acta Medica Portuguesa*, 33(13), 4585–4596. <https://doi.org/10.20344/AMP.13957>
- Yang, C. L., Qiu, X., Zeng, Y. K., Jiang, M., Fan, H. R., & Zhang, Z. M. (2020). Coronavirus disease 2019: A clinical review. In *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* (Vol. 24, Issue 8, pp. 4585–4596). Verduci Editore s.r.l. https://doi.org/10.26355/eurev_202004_21045
- Bhatta, M., Nandi, S., Dutta, S., & Saha, M. K. (2021). Coronavirus (SARS-CoV-2): a systematic review for potential vaccines. In *Human Vaccines and Immunotherapeutics* (pp. 1–18). Bellwether Publishing, Ltd. <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1865774>
- Du, L., He, Y., Zhou, Y., Liu, S., Zheng, B. J., & Jiang, S. (2009). The spike protein of SARS-CoV - A target for vaccine and therapeutic development. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 7, Issue 3, pp. 226–236). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2090>
- Jiang, S., Hillyer, C., & Du, L. (2020). Neutralizing Antibodies against SARS-CoV-2 and Other Human Coronaviruses. *Trends in Immunology*, 41(6), 545. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.04.008>
- Chan, J. F. W., Kok, K. H., Zhu, Z., Chu, H., To, K. K. W., Yuan, S., & Yuen, K. Y. (2020). Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerging Microbes and Infections*, 9(1), 221–236. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1719902>
- Menni, C., Valdes, A. M., Freidin, M. B., Sudre, C. H., Nguyen, L. H., Drew, D. A., Ganesh, S., Varsavsky, T., Cardoso, M. J., El-Sayed Moustafa, J. S., Visconti, A., Hysi, P., Bowyer, R. C. E., Mangino, M., Falchi, M., Wolf, J., Ourselein, S., Chan, A. T., Steves, C. J., & Spector, T. D. (2020). Real-time tracking of self-reported symptoms to predict potential COVID-19. *Nature Medicine*, 26(7), 1037–1040. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0916-2>
- Singh, R., Kang, A., Luo, X., Jeyanathan, M., Gillgrass, A., Afkhami, S., & Xing, Z. (2021). COVID-19: Current knowledge in clinical features, immunological responses, and vaccine development. *The FASEB Journal*, 35(3), e21409. <https://doi.org/10.1096/fj.202002662R>
- Rodríguez-Morales, A. J., Cardona-Ospina, J. A., Gutiérrez-Ocampo, E., Villamizar-Peña, R., Holguin-Rivera, Y., Escalera-Antezana, J. P., Alvarado-Arnez, L. E., Bonilla-Aldana, D. K., Franco-Paredes, C., Henao-Martinez, A. F., Paniz-Mondolfi, A., Lagos-Grisales, G. J., Ramírez-Vallejo, E., Suárez, J. A., Zambrano, L. I., Villamil-Gómez, W. E., Balbin-Ramon, G. J., Rabaan, A. A., Harapan, H., ... Sah, R. (2020). Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. In *Travel Medicine and Infectious Disease* (Vol. 34, p. 101623). Elsevier USA. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101623>
- Tian, Y., Rong, L., Nian, W., & He, Y. (2020). Review article: gastrointestinal features in COVID-19 and the possibility of faecal transmission. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 51(9), 843–851. <https://doi.org/10.1111/apt.15731>
- Chilamakuri, R., & Agarwal, S. (2021). COVID-19: Characteristics and Therapeutics. *Cells*, 10(2), 1–29. <https://doi.org/10.3390/cells10020206>
- Therapeutic Management | COVID-19 Treatment Guidelines*. (n.d.).
- Search of: SARS-CoV-2 Vaccine | Phase Early Phase 1, 1, 2, 3, 4 - Search Details - ClinicalTrials.gov*. (n.d.). Retrieved April 28, 2021, from <https://clinicaltrials.gov/ct2/results/details?cond=SARS-CoV-2+Vaccine&phase=01234>
- Search of: SARS-CoV-2 Vaccine | Phase 3 - Search Details - ClinicalTrials.gov*. (n.d.). Retrieved April 28, 2021, from <https://clinicaltrials.gov/ct2/results/details?cond=SARS-CoV-2+Vaccine&phase=2>
- COVID-19 vaccine tracker and landscape*. (n.d.).
- van Riel, D., & de Wit, E. (2020). Next-generation vaccine platforms for COVID-19. In *Nature Materials* (Vol. 19, Issue 8, pp. 810–812). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41563-020-0746-0>
- COVID-19 vaccines*. (n.d.). Retrieved April 28, 2021, from <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/covid-19-vaccines>
- Kyriakidis, N. C., López-Cortés, A., González, E. V., Grimaldos, A. B., & Prado, E. O. (2021). SARS-CoV-2 vaccines strategies: a comprehensive review of phase 3 candidates. In *npj Vaccines* (Vol. 6, Issue 1, pp. 1–17). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41541-021-00292-w>
- Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine | FDA*. (n.d.). Retrieved April 28, 2021, from <https://www.fda.gov/emergency-preparedness-and-response/coronavirus-disease-2019-covid-19/pfizer-biontech-covid-19-vaccine>
- Li, Y. Der, Chi, W. Y., Su, J. H., Ferrall, L., Hung, C. F., & Wu, T. C. (2020). Coronavirus vaccine development: from SARS and MERS to COVID-19. In *Journal of Biomedical Science* (Vol. 27, Issue 1, p. 104). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00695-2>
- Polack, F. P., Thomas, S. J., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., Perez, J. L., Pérez Marc, G., Moreira, E. D., Zerbini, C., Bailey, R., Swanson, K. A., Roychoudhury, S., Koury, K., Li, P., Kalina, W. V., Cooper, D., Frenck, R. W., Hammitt, L. L., ... Gruber, W. C. (2020). Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *New England Journal of Medicine*, 383(27), 2603–2615. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2034577>
- FACT SHEET FOR RECIPIENTS AND CAREGIVERS EMERGENCY USE AUTHORIZATION (EUA) OF*. (2021). www.janssencovid19vaccine.com
- Polack, F., Thomas, S., ... N. K.-... E. J. of, & 2020, undefined. (n.d.). Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. *Mass Medical Soc*. Retrieved April 28, 2021, from <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2034577>
- Baden, L. R., El Sahly, H. M., Essink, B., Kotloff, K., Frey, S., Novak, R., Diemert, D., Spector, S. A., Roupael, N., Creech, C. B., McGettigan, J., Khetan, S., Segall, N., Solis, J., Broz, A., Fierro, C., Schwartz, H., Neuzil, K., Corey, L., ... Zaks, T. (2021). Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *New England Journal of Medicine*, 384(5), 403–416. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2035389>
- Guebre-Xabier, M., Patel, N., Tian, J. H., Zhou, B., Maciejewski, S., Lam, K., Portnoff, A. D., Massare, M. J., Frieman, M. B., Piedra, P. A., Ellingsworth, L., Glenn, G., & Smith, G. (2020). NVX-CoV2373 vaccine protects cynomolgus macaque upper and lower airways against SARS-CoV-2 challenge. *Vaccine*, 38(50), 7892–7896. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.10.064>
- Novavax COVID-19 Vaccine Demonstrates 89.3% Efficacy in UK Phase 3 Trial | Novavax Inc. - IR Site*. (n.d.).
- Immunity and Safety of Covid-19 Synthetic Minigene Vaccine - Full Text View - ClinicalTrials.gov*. (n.d.). Retrieved April 28, 2021, from <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04276896>
- Tebas, P., Yang, S. P., Boyer, J. D., Reuschel, E. L., Patel, A., Christensen-Quick, A., Andrade, V. M., Morrow, M. P., Kraynyak, K., Agnes, J., Purwar, M., Sylvestre, A., Pawlicki, J., Gillespie, E., Maricic, I., Zaidi, F. I., Kim, K. Y., Dia, Y., Frase,

- D., ... Humeau, L. M. (2021). Safety and immunogenicity of INO-4800 DNA vaccine against SARS-CoV-2: A preliminary report of an open-label, Phase 1 clinical trial. *EClinicalMedicine*, 31. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2020.100689>
30. Safety, Immunogenicity, and Efficacy of INO-4800 for COVID-19 in Healthy Seronegative Adults at High Risk of SARS-CoV-2 Exposure - Full Text View - ClinicalTrials.gov. (n.d.).
 31. Folegatti, P. M., Ewer, K. J., Aley, P. K., Angus, B., Becker, S., Belij-Rammerstorfer, S., Bellamy, D., Bibi, S., Bittaye, M., Clutterbuck, E. A., Dold, C., Faust, S. N., Finn, A., Flaxman, A. L., Hallis, B., Heath, P., Jenkin, D., Lazarus, R., Makinson, R., ... Yau, Y. (2020). Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *The Lancet*, 396(10249), 467–478. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31604-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31604-4)
 32. Ramasamy, M. N., Minassian, A. M., Ewer, K. J., Flaxman, A. L., Folegatti, P. M., Owens, D. R., Voysey, M., Aley, P. K., Angus, B., Babbage, G., Belij-Rammerstorfer, S., Berry, L., Bibi, S., Bittaye, M., Cathie, K., Chappell, H., Charlton, S., Cicconi, P., Clutterbuck, E. A., ... Zizi, D. (2020). Safety and immunogenicity of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine administered in a prime-boost regimen in young and old adults (COV002): a single-blind, randomised, controlled, phase 2/3 trial. *The Lancet*, 396(10267), 1979–1993. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32466-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32466-1)
 33. Janssen COVID-19 Vaccine | FDA. (n.d.). Retrieved April 28, 2021, from <https://www.fda.gov/emergency-preparedness-and-response/coronavirus-disease-2019-covid-19/janssen-covid-19-vaccine>
 34. Soiza, R. L., Scicluna, C., & Thomson, E. C. (2021). Efficacy and safety of COVID-19 vaccines in older people. In *Age and ageing* (Vol. 50, Issue 2, pp. 279–283). NLM (Medline). <https://doi.org/10.1093/ageing/afaa274>
 35. Zhang, Y. J., Zeng, G., Pan, H. X., Li, C. G., Kan, B., Hu, Y. L., Mao, H. Y., Xin, Q. Q., Chu, K., Han, W. X., Chen, Z., Tang, R., Yin, W. D., Chen, X., Gong, X. J., Qin, C., Hu, Y. S., Liu, X. Y., Cui, G. L., ... Zhu, F. C. (2020). Immunogenicity and safety of a SARS-CoV-2 inactivated vaccine in healthy adults aged 18-59 years: Report of the randomized, double-blind, and placebo-controlled phase 2 clinical trial. In *medRxiv* (p. 2020.07.31.20161216). medRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.07.31.20161216>
 36. Zhu, F. C., Li, Y. H., Guan, X. H., Hou, L. H., Wang, W. J., Li, J. X., Wu, S. P., Wang, B. Sen, Wang, Z., Wang, L., Jia, S. Y., Jiang, H. D., Wang, L., Jiang, T., Hu, Y., Gou, J. B., Xu, S. B., Xu, J. J., Wang, X. W., ... Chen, W. (2020). Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *The Lancet*, 395(10240), 1845–1854. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31208-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31208-3)
 37. Gam-COVID-Vac - Clarivate. (n.d.). Retrieved April 28, 2021, from <https://clarivate.com/drugs-to-watch/drugs-to-watch-listing/gam-covid-vac/>
 38. Logunov, D. Y., Dolzhikova, I. V., Shcheblyakov, D. V., Tukhvatulin, A. I., Zubkova, O. V., Dzharullaeva, A. S., Kovyrshina, A. V., Lubenets, N. L., Grousova, D. M., Erokhova, A. S., Botikov, A. G., Izhaeva, F. M., Popova, O., Ozharovskaya, T. A., Esmagambetov, I. B., Favorskaya, I. A., Zrelkin, D. I., Voronina, D. V., Shcherbinin, D. N., ... Gintsburg, A. L. (2021). Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *The Lancet*, 397(10275), 671–681. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00234-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00234-8)
 39. Second interim analysis of clinical trial data showed a 91.4% efficacy for the Sputnik V vaccine on day 28 after the first dose; vaccine efficacy is over 95% 42 days after the first dose | Official website vaccine against COVID-19 Sputnik V. (n.d.). Retrieved April 28, 2021, from <https://sputnikvaccine.com/newsroom/pressreleases/second-interim-analysis-of-clinical-trial-data-showed-a-91-4-efficacy-for-the-sputnik-v-vaccine-on-d/>
 40. Türkiye’de Durum (13.06.2021) | COVID-19 Türkiye Web Portalı. (n.d.).
 41. Search of: Vaccine | COVID-19 | Turkey | Phase 1, 2, 3 - List Results - ClinicalTrials.gov. (n.d.).
 42. TUSEB. (n.d.).
 43. Dr. Özlem Ak. (2021). Dr. Özlem Ak [. *TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi*.
 44. Onwudiwe, O. A., Weli, H., Shaanu, T. A., Akata, N. M., & Ebong, I. L. (2020). Pharmacological treatment of COVID-19: an update. *Journal of Global Health Reports*. <https://doi.org/10.29392/001c.17372>
 45. Lam, S., Lombardi, A., & Ouanounou, A. (2020). COVID-19: A review of the proposed pharmacological treatments. *European Journal of Pharmacology*, 886(August), 173451. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173451>
 46. Joshi, S., Parkar, J., Ansari, A., Vora, A., Talwar, D., Tiwaskar, M., Patil, S., & Barkate, H. (2021). Role of favipiravir in the treatment of COVID-19. In *International Journal of Infectious Diseases* (Vol. 102). International Society for Infectious Diseases. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.10.069>
 47. Cai, Q., Yang, M., Liu, D., Chen, J., Shu, D., Xia, J., Liao, X., Gu, Y., Cai, Q., Yang, Y., Shen, C., Li, X., Peng, L., Huang, D., Zhang, J., Zhang, S., Wang, F., Liu, J., Chen, L., ... Liu, L. (2020). Experimental Treatment with Favipiravir for COVID-19: An Open-Label Control Study. *Engineering*, 6(10), 1192–1198. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2020.03.007>
 48. Chen, C., Zhang, Y., Huang, J., Yin, P., Cheng, Z., Wu, J., Chen, S., Zhang, Y., Chen, B., Lu, M., Luo, Y., Ju, L., Zhang, J., & Wang, X. (2020). Favipiravir versus Arbidol for COVID-19: A randomized clinical trial. *MedRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.03.17.20037432>
 49. Sahebnasagh, A., Avan, R., Saghafi, F., Mojtahedzadeh, M., Sadromomtaz, A., Arasteh, O., Tanzifi, A., Faramarzi, F., Negarandeh, R., Safdari, M., Khataminia, M., Rezai Ghaleno, H., Habtemariam, S., & Khoshi, A. (2020). Pharmacological treatments of COVID-19. In *Pharmacological Reports* (Vol. 72, Issue 6). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/s43440-020-00152-9>
 50. Rattanaumpawa, Pinyo; Jirajariyavej, Supunnee; Lerdlamyong, K., & Palavutitotai, Nattawan; Saiyarin, J. (2020). Real-world Experience with Favipiravir for Treatment of COVID-19 in Thailand: Results from a Multicenter Observational Study. *All about Your Eyes*, 191–192. <https://doi.org/10.1515/9780822396086-023>
 51. Sanders, J. M., Monogue, M. L., Jodlowski, T. Z., & Cutrell, J. B. (2020). Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 323(18), 1824–1836. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.6019>
 52. Wang, Z., Yang, B., Li, Q., Wen, L., & Zhang, R. (2020). Clinical features of 69 cases with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*, 71(15), 769–777. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa272>
 53. Huang, D., Yu, H., Wang, T., Yang, H., Yao, R., & Liang, Z. (2021). Efficacy and safety of umifenovir for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. *Journal of Medical Virology*, 93(1), 481–490. <https://doi.org/10.1002/jmv.26256>
 54. Deng, L., Li, C., Zeng, Q., Liu, X., Li, X., Zhang, H., Hong, Z., & Xia, J. (2020). Arbidol combined with LPV/r versus LPV/r alone against Corona Virus Disease 2019: A retrospective cohort study. *Journal of Infection*, 81(1), e1–e5. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.002>

COVID-19 Tanı Testleri, Tedavisindeki Aşılar ve İlaçlar

55. Zhu, Z., Lu, Z., Xu, T., Chen, C., Yang, G., Zha, T., Lu, J., & Xue, Y. (2020). Arbidol monotherapy is superior to lopinavir/ritonavir in treating COVID-19. *Journal of Infection*, *81*(1), e21–e23. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.060>
56. Lin, H. X. J., Cho, S., Meyyur Aravamudan, V., Sanda, H. Y., Palraj, R., Molton, J. S., & Venkatachalam, I. (2021). Remdesivir in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) treatment: a review of evidence. *Infection*, *2019*(0123456789). <https://doi.org/10.1007/s15010-020-01557-7>
57. Reza Hashemian, S. M., Farhadi, T., & Velayati, A. A. (2020). A review on remdesivir: A possible promising agent for the treatment of COVID-19. *Drug Design, Development and Therapy*, *14*, 3215–3222. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S261154>
58. Beigel, J. H., Tomashek, K. M., Dodd, L. E., Mehta, A. K., Zingman, B. S., Kalil, A. C., Hohmann, E., Chu, H. Y., Luetkemeyer, A., Kline, S., Lopez de Castilla, D., Finberg, R. W., Dierberg, K., Tanson, V., Hsieh, L., Patterson, T. F., Paredes, R., Sweeney, D. A., Short, W. R., ... Lane, H. C. (2020). Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. *New England Journal of Medicine*, *383*(19), 1813–1826. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2007764>
59. Grein, J., Ohmagari, N., Shin, D., Diaz, G., Asperges, E., Castagna, A., Feldt, T., Green, G., Green, M. L., Lescure, F.-X., Nicastrì, E., Oda, R., Yo, K., Quiros-Roldan, E., Studemeister, A., Redinski, J., Ahmed, S., Burnett, J., Chelliah, D., ... Flanigan, T. (2020). Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19. *New England Journal of Medicine*, *382*(24), 2327–2336. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2007016>
60. McKee, D. L., Sternberg, A., Stange, U., Laufer, S., & Naujokat, C. (2020). Candidate drugs against SARS-CoV-2 and COVID-19. In *Pharmacological Research* (Vol. 157, p. 104859). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104859>
61. Meini, S., Pagotto, A., Longo, B., Vendramin, I., Pecori, D., & Tascini, C. (2020). Role of Lopinavir/Ritonavir in the Treatment of Covid-19: A Review of Current Evidence, Guideline Recommendations, and Perspectives. *Journal of Clinical Medicine*, *9*(7), 2050. <https://doi.org/10.3390/jcm9072050>
62. Choy, K. T., Wong, A. Y. L., Kaewpreedee, P., Sia, S. F., Chen, D., Hui, K. P. Y., Chu, D. K. W., Chan, M. C. W., Cheung, P. P. H., Huang, X., Peiris, M., & Yen, H. L. (2020). Remdesivir, lopinavir, emetine, and homoharringtonine inhibit SARS-CoV-2 replication in vitro. *Antiviral Research*, *178*, 104786. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104786>
63. Cao, B., Wang, Y., Wen, D., Liu, W., Wang, J., Fan, G., Ruan, L., Song, B., Cai, Y., Wei, M., Li, X., Xia, J., Chen, N., Xiang, J., Yu, T., Bai, T., Xie, X., Zhang, L., Li, C., ... Wang, C. (2020). A Trial of Lopinavir–Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19. *New England Journal of Medicine*, *382*(19), 1787–1799. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001282>
64. Khalili, J. S., Zhu, H., Mak, N. S. A., Yan, Y., & Zhu, Y. (2020). Novel coronavirus treatment with ribavirin: Groundwork for an evaluation concerning COVID-19. *Journal of Medical Virology*, *92*(7), 740–746. <https://doi.org/10.1002/jmv.25798>
65. Tong, S., Su, Y., Yu, Y., Wu, C., Chen, J., Wang, S., & Jiang, J. (2020). Ribavirin therapy for severe COVID-19: a retrospective cohort study. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *56*(3), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106114>
66. Hung, I. F. N., Lung, K. C., Tso, E. Y. K., Liu, R., Chung, T. W. H., Chu, M. Y., Ng, Y. Y., Lo, J., Chan, J., Tam, A. R., Shum, H. P., Chan, V., Wu, A. K. L., Sin, K. M., Leung, W. S., Law, W. L., Lung, D. C., Sin, S., Yeung, P., ... Yuen, K. Y. (2020). Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir–ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial. *The Lancet*, *395*(10238), 1695–1704. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31042-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31042-4)
67. Dinarello, C. A. (2011). Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*, *117*(14), 3720–3732. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-07-273417>
68. Rizk, J. G., Kalantar-Zadeh, K., Mehra, M. R., Lavie, C. J., Rizk, Y., & Forthal, D. N. (2020). Pharmacological Immunomodulatory Therapy in COVID-19. *Drugs*, *80*(13), 1267–1292. <https://doi.org/10.1007/s40265-020-01367-z>
69. Soy, M., Keser, G., Atagündüz, P., Tabak, F., Atagündüz, I., & Kayhan, S. (2020). Cytokine storm in COVID-19: pathogenesis and overview of anti-inflammatory agents used in treatment. *Clinical Rheumatology*, *39*(7), 2085–2094. <https://doi.org/10.1007/s10067-020-05190-5>
70. Shakoory, B., Carcillo, J. A., Chatham, W. W., Amdur, R. L., Zhao, H., Dinarello, C. A., Cron, R. Q., & Opal, S. M. (2016). Interleukin-1 Receptor Blockade Is Associated With Reduced Mortality in Sepsis Patients With Features of Macrophage Activation Syndrome. *Critical Care Medicine*, *44*(2), 275–281. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000001402>
71. Aouba, A., Baldolli, A., Geffray, L., Verdon, R., Bergot, E., Martin-Silva, N., & Justet, A. (2020). Targeting the inflammatory cascade with anakinra in moderate to severe COVID-19 pneumonia: Case series. In *Annals of the Rheumatic Diseases* (Vol. 79, Issue 10, pp. 1381–1382). BMJ Publishing Group. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2020-217706>
72. Cavalli, G., De Luca, G., Campochiaro, C., Della-Torre, E., Ripa, M., Canetti, D., Oltolini, C., Castiglioni, B., Tassan Din, C., Boffini, N., Tomelleri, A., Farina, N., Ruggeri, A., Rovere-Querini, P., Di Lucca, G., Martinenghi, S., Scotti, R., Tresoldi, M., Ciceri, F., ... Dagna, L. (2020). Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: a retrospective cohort study. *The Lancet Rheumatology*, *2*(6), e325–e331. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30127-2](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30127-2)
73. Huet, T., Beaussier, H., Voisin, O., Jouvesshomme, S., Dauriat, G., Lazareth, I., Sacco, E., Naccache, J. M., Bézie, Y., Laplanche, S., Le Berre, A., Le Pavec, J., Salmeron, S., Emmerich, J., Mourad, J. J., Chatellier, G., & Hayem, G. (2020). Anakinra for severe forms of COVID-19: a cohort study. *The Lancet Rheumatology*, *2*(7), e393–e400. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30164-8](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30164-8)
74. Alijotas-Reig, J., Esteve-Valverde, E., Belizna, C., Selva-O'Callaghan, A., Pardos-Gea, J., Quintana, A., Mekinian, A., Anunciacion-Llunell, A., & Miró-Mur, F. (2020). Immunomodulatory therapy for the management of severe COVID-19. Beyond the anti-viral therapy: A comprehensive review. *Autoimmunity Reviews*, *19*(7), 102569. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102569>
75. Wu, R., Wang, L., Kuo, H. C. D., Shannar, A., Peter, R., Chou, P. J., Li, S., Hudlikar, R., Liu, X., Liu, Z., Poiani, G. J., Amorosa, L., Brunetti, L., & Kong, A. N. (2020). An Update on Current Therapeutic Drugs Treating COVID-19. In *Current Pharmacology Reports* (Vol. 6, Issue 3, pp. 56–70). Springer. <https://doi.org/10.1007/s40495-020-00216-7>
76. Xu, X., Han, M., Li, T., Sun, W., Wang, D., Fu, B., Zhou, Y., Zheng, X., Yang, Y., Li, X., Zhang, X., Pan, A., & Wei, H. (2020). Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *117*(20), 10970–10975. <https://doi.org/10.1073/pnas.2005615117>
77. Guaraldi, G., Meschiarì, M., Cozzi-Lepri, A., Milic, J., Tonelli, R., Menozzi, M., Franceschini, E., Cuomo, G., Orlando, G., Borghi, V., Santoro, A., Di Gaetano, M., Puzzolante, C., Carli, F., Bedini, A., Corradi, L., Fantini, R., Castaniere, I., Tabbi, L., ... Mussini, C. (2020). Tocilizumab in patients with severe COVID-19: a retrospective cohort study. *The Lancet Rheumatology*, *2*(8), e474–e484. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30173-9](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30173-9)
78. Jamilloux, Y., Henry, T., Belot, A., Viel, S., Fauter, M., El Jammal, T., Walzer, T., François, B., & Sève, P. (2020). Should we stimulate or suppress immune responses in COVID-19? Cytokine and anti-cytokine interventions. *Autoimmunity Reviews*, *19*(7), 102567. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102567>

79. Nasonov, E., & Samsonov, M. (2020). The role of Interleukin 6 inhibitors in therapy of severe COVID-19. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 131, 110698. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110698>
80. Boregowda, U., Periseti, A., Nanjappa, A., Sridharan, G. K., Gajendran, M., & Goyal, H. (2020). Addition of tocilizumab to the standard of care reduces mortality in severe COVID-19: A systematic review and meta-analysis. In *medRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.07.10.20150680>
81. Stebbing, J., Phelan, A., Griffin, I., Tucker, C., Oechsle, O., Smith, D., & Richardson, P. (2020). COVID-19: combining antiviral and anti-inflammatory treatments. In *The Lancet Infectious Diseases* (Vol. 20, Issue 4, pp. 400–402). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30132-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30132-8)
82. Owji, H., Negahdaripour, M., & Hajjighramani, N. (2020). Immunotherapeutic approaches to curtail COVID-19. *International Immunopharmacology*, 88(July), 106924. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106924>
83. Elli, E. M., Baratè, C., Mendicino, F., Palandri, F., & Palumbo, G. A. (2019). Mechanisms Underlying the Anti-inflammatory and Immunosuppressive Activity of Ruxolitinib. *Frontiers in Oncology*, 9, 1186. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01186>
84. Cantini, F., Niccoli, L., Matarrese, D., Nicastrì, E., Stobbione, P., & Goletti, D. (2020). Baricitinib therapy in COVID-19: A pilot study on safety and clinical impact. In *Journal of Infection* (Vol. 81, Issue 2, pp. 318–356). W.B. Saunders Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.017>
85. *FDA issues tofacitinib safety alert | rheumatology.medicinematters.com*. (n.d.). Retrieved April 27, 2021, from <https://rheumatology.medicinematters.com/rheumatoid-arthritis-/tofacitinib/fda-issues-tofacitinib-safety-alert/16527134>
86. *NIH clinical trial testing antiviral remdesivir plus anti-inflammatory drug baricitinib for COVID-19 begins | National Institutes of Health (NIH)*. (n.d.). Retrieved April 27, 2021, from <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/nih-clinical-trial-testing-antiviral-remdesivir-plus-anti-inflammatory-drug-baricitinib-covid-19-begins>
87. Gianfrancesco, M., Hyrich, K. L., Hyrich, K. L., Al-Adely, S., Al-Adely, S., Carmona, L., Danila, M. I., Gossec, L., Gossec, L., Izadi, Z., Jacobsohn, L., Katz, P., Lawson-Tovey, S., Lawson-Tovey, S., Mateus, E. F., Rush, S., Schmajuk, G., Simard, J., Strangfeld, A., ... Robinson, P. C. (2020). Characteristics associated with hospitalisation for COVID-19 in people with rheumatic disease: Data from the COVID-19 Global Rheumatology Alliance physician-reported registry. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 79(7), 859–866. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2020-217871>
88. Winthrop, K. L., Brunton, A. E., Beekmann, S., Polgreen, P., Baddley, J., Saag, K. G., Calabrese, C., Calabrese, L., Robinson, P. C., Wallace, Z. S., & Curtis, J. R. (2021). SARS CoV-2 infection among patients using immunomodulatory therapies. In *Annals of the Rheumatic Diseases* (Vol. 80, Issue 2, pp. 269–271). BMJ Publishing Group. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2020-218580>
89. Sperber, K., Quraishi, H., Kalb, T. H., Panja, A., Stecher, V., & Mayer, L. (1993). Selective regulation of cytokine secretion by hydroxychloroquine: Inhibition of interleukin 1 alpha (IL-1- α) and IL-6 in human monocytes and T cells. *Journal of Rheumatology*, 20(5), 803–808. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8336306/>
90. Yao, X., Ye, F., Zhang, M., Cui, C., Huang, B., Niu, P., Liu, X., Zhao, L., Dong, E., Song, C., Zhan, S., Lu, R., Li, H., Tan, W., & Liu, D. (2020). In Vitro Antiviral Activity and Projection of Optimized Dosing Design of Hydroxychloroquine for the Treatment of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clinical Infectious Diseases*, 71(15), 732–739. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa237>
91. Das, S., Bhowmick, S., Tiwari, S., & Sen, S. (2020). An Updated Systematic Review of the Therapeutic Role of Hydroxychloroquine in Coronavirus Disease-19 (COVID-19). *Clinical Drug Investigation*, 40(7), 591–601. <https://doi.org/10.1007/s40261-020-00927-1>
92. Guzik, T. J., Mohiddin, S. A., Dimarco, A., Patel, V., Savvatis, K., Marelli-Berg, F. M., Madhur, M. S., Tomaszewski, M., Maffia, P., D'Acquisto, F., Nicklin, S. A., Marian, A. J., Nossalski, R., Murray, E. C., Guzik, B., Berry, C., Touyz, R. M., Kreutz, R., Dao, W. W., ... McInnes, I. B. (2020). COVID-19 and the cardiovascular system: Implications for risk assessment, diagnosis, and treatment options. In *Cardiovascular Research* (Vol. 116, Issue 10, pp. 1666–1687). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa106>
93. Li, X., Wang, Y., Agostinis, P., Rabson, A., Melino, G., Carafoli, E., Shi, Y., & Sun, E. (2020). Is hydroxychloroquine beneficial for COVID-19 patients? *Cell Death and Disease*, 11(7). <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2721-8>

DERLEME

Semptomatik Kalça Ağrısının Nadir Görülen Bir Nedeni: Sinoviyal Pit: Olgu Bazlı Derleme

Uğur ERTEM, JaleİRDESEL

Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Sinoviyal pitler; genellikle 1 cm'den küçük çaplı, çevresi ince bir skleroz tabaka ile çevrili radyolüsent yuvarlak lezyonlar şeklinde gözlenirler ve sıklıkla femur boynunun proksimal üst kısmında yerleşirler. Çoğunlukla asemptomatik seyrederler ama bazen kalça ağrısına neden olabilirler. Bu olgu bazlı derlemede, kliniğe non-travmatik sağ kalça ağrısı ile başvuran 57 yaşındaki bir kadın hasta üzerinden konu irdelenecektir. Çeşitli analjezik ilaçlardan fayda görmeyen hastada yapılan sağ kalça manyetik rezonans görüntüleme (MRG) sinoviyal pit saptanmış ve konservatif tedavi ile ağrısı kontrol altına alınmıştır. Bu derlemede çok yaygın bir bulgu olan kalça ağrısının nispeten çok akla gelmeyen nedenlerinden biri olan sinoviyal pit ve radyolojik olarak ayırıcı tanısında göz önünde bulundurulacak hastalıklar vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sinoviyal pit. Kalça ağrısı. Manyetik rezonans görüntüleme.

A Rare Cause of Symptomatic Hip Pain: Synovial Pit: Case-Based Review

ABSTRACT

Synovial pits are usually observed as radiolucent round lesions less than 1 cm in diameter, surrounded by a thin layer of sclerosis, and are often localized in the proximal upper part of the femoral neck. They are mostly asymptomatic, but sometimes they can cause hip pain. In this case-based review, a 57-year-old female patient who applied to the outpatient clinic with non-traumatic right hip pain will examine the subject. In the patient who did not benefit from various analgesic drugs, a synovial pit was detected in the magnetic resonance imaging (MRI) of the right hip and the pain was controlled with conservative treatment. In this review, synovial pit, which is one of the relatively unimaginable causes of hip pain, which is a very common finding, and diseases that will be considered in the differential diagnosis of radiological findings are emphasized.

Key Words: Synovial pit. Hip pain. Magnetic resonance imaging.

Kalça ağrısı yetişkinlerde sık görülen ve fonksiyonel özüllülüğe neden olabilen bir durumdur. Spor yapan yetişkinler arasında kalça ağrısı görülme insidansı %49, kronik kalça ağrısı insidansı %31 gibi yüksek seviyelerdedir¹. 60 yaşın üzerindeki yetişkinler arasında kalça ağrısı görülme oranı ise %12 ila %15 arasında değişmektedir^{2,3}. Displazik kalça, Perthes hastalığı, femur başı epifiz kayması, femoroasetabular sıkışma

sendromu ve labral problemler genç yaştaki popülasyonda en sık kalça ağrısı nedenlerinin başında gelmektedir⁴. Yaşlı popülasyonda ise kalça kırıkları ağrı, fonksiyon kaybı ve mortalitenin önemli ve sık bir nedenidir⁵. Bunun dışında kalça osteoartriti yaşlılardaki önemli kalça ağrısı nedenlerinden biridir⁶.

Femur boynunun herniasyon piti 1982'de Pitt ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Araştırmacılar bu terimi ilk olarak, proksimal üst kadranda yer alan femur boynunun X-ışını görüntülerinde keskin sınırlı yuvarlak ila oval parlak alanları belirtmek için kullanmışlardır^{7,8}. Daha sonraki yıllarda bu konu ile ilişkili sınırlı sayıda olgu raporu ve inceleme makalesi yayınlanmıştır. Bu lezyonlar sinoviyal herniasyon pitleri veya sinoviyal pitler olarak isimlendirilmeye başlanmıştır⁷.

Sinoviyal pitler, semptomatik kalça ağrısının nispeten nadir görülen nedenlerinden biridir. Genellikle 1 cm'den küçük çaplı, çevresi ince bir skleroz tabaka ile çevrili, radyolüsent yuvarlak lezyonlar şeklinde gözlenirler ve sıklıkla femur boynunun proksimal üst kısmında yerleşirler. Bu radyolüsent görünüm genellikle

Geliş Tarihi: 12.Temmuz.2021

Kabul Tarihi: 19.Ağustos.2021

Öğr. Gör. Uğur ERTEM
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Bursa
Tel.: 0555 600 70 54
E-posta: ugurerterem@uludag.edu.tr,
ugurerterem@hotmail.com

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Uğur ERTEM: 0000-0003-2142-2264
JaleİRDESEL: 0000-0002-1456-9121

tesadüfen saptanmasına ve iyi huylu olarak kabul edilmesine rağmen, kalça semptomları olan hastalarda bazen klinik açıdan önemli olabilmektedir⁹. Genellikle tek taraflı olarak yerleşirler. Genel popülasyonda görülme sıklığının %5 olduğu düşünülmektedir⁷. Bunun dışında yaşlı erkek hastalarda kadın hastalara göre daha sık olarak gözlenmektedir¹⁰.

Sinoviyal pit tanısı için düz grafi, magnetik rezonans görüntüleme (MRG) veya bilgisayarlı tomografi (BT) kullanılır. BT, sinoviyal çukuru, genellikle sklerotik sınırlar ve üzerinde lineer bir kortikal defekt bulunan, iyi tanımlanmış bir subkortikal litik çukur olarak gösterir. MRG'de ise tipik görünümü T1 sekanslarda düşük sinyal intensitesi, T2 sekanslarda iyi sınırlı düşük sinyal periferi ile parlak ve iyi sınırlı lezyon şeklindedir. Düz grafi sinoviyal pit tanısı için diğer yöntemlere göre daha az hassastır^{11,12}.

Sinoviyal pitlerin MRG'ye göre ayırıcı tanısında osteoid osteoma, intraosseöz ganglion kisti, stres kırığı, Brodie apsesi ve metastatik lezyonlar öncelikli olarak düşünülmektedir^{12,13}.

MRG'ye göre Sinoviyal Pit Ayırıcı Tanısı

1. Osteoid Osteoma

Osteoid osteoma; etrafı yoğun sklerotik kemik ile çevrili, ortası gevşek vaskülarize dokudan oluşan ve bunun içinde değişen düzeyde kalsifiye osteoid dokunun küçük bir nidus oluşturmasıyla karakterize olan bir kemik tümörüdür¹⁴. MRG'de osteoid osteomadaki perinidal ödem ve inflamasyon, kimyasal şift görüntülemesi kullanılarak diğer tümör infiltrasyon tiplerinden ayırt edilebilir¹⁵. Femur boynundaki osteoid osteomada, bu perilezyonel ödemin karakteristik yarım ay görüntümü tanımlanmıştır¹⁶. Ayrıca MRG'de nidus, bir osteoblast kenarı ve bir skleroz kenarına neden olan bir reaktif kemik oluşumu bölgesiyle çevrili vasküler osteoid doku ve örtülmüş kemik dokudan oluşur¹⁷. MRG'deki karakteristik özellikleri, nispeten genç yaşlarda görülmesi ve gece ağrısı gibi klinik tablosu sayesinde sinoviyal pitten ayrılabilirler¹⁸.

2. İntraosseöz Ganglion Kisti

İntraosseöz ganglion kisti, nadir görülen kemiklerin kistik kusurlarındandır^{19,20}. MRG'de ganglion kistleri T1 ağırlıklı görüntülerde hipointens lezyonlar olarak ve T2 ağırlıklı görüntülerde hiperintens veya heterojen lezyonlar olarak görünürler²¹. Genellikle iyi sınırlıdır, radyolüsenttirler ve bazen sklerotik bir sınır gösterebilirler. Bu lezyonu olan hastalar genellikle asemptomatiktir. Çoğu soliter olmasına rağmen, multifokal intraosseöz ganglion kistleri bildirilmiştir¹³. Klinik bulguları, lokalizasyonları ve MRG bulgularıyla sinoviyal pitten ayrılabilirler. İntraosseöz ganglion kistleri alt ekstremitte kemiklerinde üst ekstremitteye göre daha sıklıkla gözlenirler. Alt ekstremitte ayak bileği çevresinde, özellikle distal tibia ve medial malleolde gözlenirler²⁰.

3. Brodie Apsesi

Brodie apsesi subakut osteomyelitinin en sık görülen formudur. Genellikle uzun kemiklerin metafizlerinde, sklerotik ince duvarla çevrili iyi sınırlı lezyonlar olarak görülürler^{22,23}. Periostal reaksiyon, kortikal kırık veya görülebilen matriks genellikle yoktur²⁴. Hastalar başlangıçta hafif veya orta şiddetli ağrıdan yakınır. Ağrı aktiviteden bağımsız olarak şiddetlenebilmektedir. Aspirin ile rahatlayan gece ağrısı sıklıkla ifade edilir. Bu bulgular ve radyolojik görüntüleme yöntemleri ile değerlendirildiğinde osteoid osteoma ile karışabilir²⁵. Sinoviyal pitten görüntüleme ve karakteristik klinik bulgularıyla ayırt edilir.

4. Stres Kırığı

Femur boynu stres kırıkları, uygun şekilde tanı ve tedavi edilmezse yıkıcı sonuçları olan aşırı kullanım yaralanmalarıdır²⁶. Genellikle sporcular ve askerlerle ilişkilendirilen uygun yapılandırılmamış antrenman programları, anatomik varyantlar, uygun olmayan veya eski koşu ayakkabıları ve sert antrenman yüzeyleri başta olmak üzere, stres kırık oluşumuna katkıda bulunan birçok faktör vardır¹³. İnguinal ağrı sık rastlanılan bir problemdir. Bunun yanında travma öyküsü olmaksızın süregelen ağrılarda femur boynu stres kırıkları göz ardı edilmemelidir²⁷. MRG'de daha radyografik bulgular ortaya çıkmadan yaygın, spesifik olmayan ödem gözlenebilir. Başlangıçta kemik iliği ödemi T1 ağırlıklı sekanslarda kötü tanımlanmış düşük sinyal ve T2 ağırlıklı sekanslarda yüksek sinyal bölgesi olarak görülür. Kırık çizgisi tanısaldır¹³. Femur boynu stres kırıkları ani başlayan kalça ağrısı olan hastalarda ayırıcı tanıda akla gelmelidir. Kendine özgü klinik özellikleri ve MRG bulguları ile sinoviyal pitten ayrımı yapılabilir.

5. Metastatik Lezyonlar

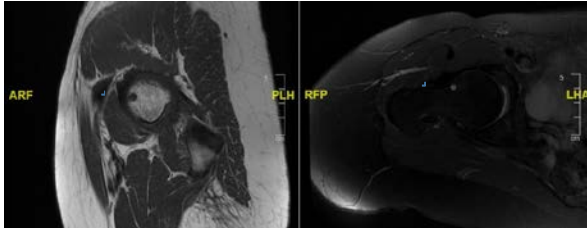
MRG'de, T1 ağırlıklı sekanslarda fokal veya yaygın hipointensite, STIR görüntülerinde orta-yüksek sinyal yoğunluğu ve difüzyon ağırlıklı görüntülerde yüksek sinyal yoğunluğu bulunduğu lezyonun malign olduğu düşünülür²⁸. Kemik metastazlarında ağrı dışında alkalin fosfataz ve kalsiyum değerinde yükseklik olabilmektedir²⁹. Tedavi ve klinik özellikleri farklı olan atipik metastatik lezyonlar ile sinoviyal pit'in ayırıcı tanısı önemlidir. Görüntüleme, klinik ve laboratuvar bulguları ayırıcı tanı açısından yol gösterici olmaktadır.

Olgu Sunumu

57 yaşında kadın hasta, 2 ay önce başlayan ve giderek artarak devam eden sağ kalça ağrısı nedeniyle başvurdu. Ağrı sızı şeklinde lokalize karakterde olup zaman zaman sağ kalça ön yüzden kasığa yayılıyordu. Hasta çalışmıyordu ve ağrıyı başlatan zorlama veya travma öyküsü yoktu. Ağrısı nöropatik karakterde değildi.

Sinoviyal Pit

Özgeçmişinde alerjik rinit dışında tıbbi sorunu bulunmuyordu. Geçmişte travma öyküsü yoktu. Analjezik ilaçlar ve anti-histaminik türevi ilaç kullanımı dışında düzenli ilaç kullanmıyordu. Daha önce kısa süreli ve düzensiz steroid olmayan anti-enflamatuar ilaçlar ve miyorelaksanlar gibi tedavi yöntemleri küçük bir rahatlama sağlamış, ancak ağrısını tam anlamıyla geçirmemişti. Düzenli egzersiz yapmadığını ifade ediyordu. Ağrısı hareketle vizüel analog skalaya (VAS) göre 7, istirahatte VAS'a göre 3 değerindeydi. Fizik muayene de kalça dış rotasyonu ağrılıydı. Bunun dışında lomber bölge muayenesi doğal, lomber eklem hareket açıklığı tam ve ağrısız, Patrick testi kalça lehine pozitif, düz bacak kaldırma testi ve sakroiliak testler negatifti. Nörolojik muayenesi normaldi. Laboratuvar tetkiklerinde hemogram, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, 25(OH) Vit D, parathormon, alkalin fosfotaz, akut faz reaktanları normaldi. Lomber MRG'de ağrısını açıklayacak patoloji saptanmadı. Kalça MRG'de femur boyun anteriorunda izlenen sinoviyal pit ile uyumlu kistik özellikte lezyon saptandı (Şekil 1).



Şekil 1:
Sinoviyal pit MRG görüntüsü

Avasküler nekroz görünümü ve kırık yoktu, ayrıca eklem yüzeyleri, labrum normaldi. Sinoviyal pit dışında ağrısını açıklayacak herhangi bir patoloji bulunmayan hastanın ağrısının kaynağı sinoviyal pit olarak düşünüldü. Hasta fizik tedavi programına alındı ve evde düzenli yapması açısından egzersiz programı reçete edildi. Egzersiz olarak özellikle eksantrik tip kuvvetlendirme, eklem hareket açıklığı ve germe egzersizleri reçete edildi. Bunun dışında ağrısı için kısa süreli meloksikam 15mg 1x1 şeklinde ilaç tedavisi başlandı. İlk aşamada perilezyonel kemik ödemi olmadığı için enjeksiyon düşünülmeyen hastaya konservatif tedaviden yarar görmezse kist içi enjeksiyon ya da cerrahinin tedavi seçenekleri arasında olduğu anlatılarak takip önerildi. Hastanın 6 aylık takip sonucunda konservatif tedavi ile ağrısının hareketle VAS 2'ye gerilediği gözlemlendi.

Tartışma ve Sonuç

Sinoviyal pitler genellikle asemptomatik seyreden ve tesadüfen tanınan lezyonlardır. Büyük boyutlu olan ve takiplerde büyüyen sinoviyal pitler semptomatik olabilmektedirler³⁰. Kavanagh ve ark. nin paylaştığı olguda; 59 yaşında hasta, küçük bir travmayı takiben

kasıklara yayılan sağ kalça ağrısı ile başvurmuştur. İstirahat, steroid olmayan anti-enflamatuar ilaçlar ve fizyoterapi gibi konservatif tedavilerle ağrıda hafif bir azalma sağlanmakla birlikte istenen ağrı yanıtı elde edilmeyince çekilen kalça MRG'de sinoviyal pit ve çevresinde hafif miktarda kemik ödemi saptanmıştır. Kalça eklemine uygulanan steroid enjeksiyonu sonrası ağrının 6 gün içinde tamamen geçtiği belirtilmiştir. Bizim olgumuz Kavanagh ve ark.'nın olgusunda olduğu gibi kalça ağrısı tablosu ile başvurmuş ve kalça MRG ile sinoviyal pit tanısı konmuştur¹². Non-travmatik kalça ağrısı romatoid artrit, juvenil artrit, ankilozan spondilit, tümörler ve metabolik kemik hastalığı gibi sistemik hastalıklardan da kaynaklanabilmektedir³¹. Bu hastalıkların kendine has klinik özellikleri sayesinde kolayca sinoviyal pit ile ayırıcı tanısı yapılabilmektedir. Ayrıca bu hastalıkların radyolojik bulguları sinoviyal pitten tamamen farklıdır. Genç erişkinlerde kalça bozukluklarında uzmanlaşmış hekimler tarafından üçüncü basamak bakımında, en sık kalça ağrısı sebepleri olarak femoroasetabular sıkışma sendromu, kalça displazisi ve femur başı osteonekrozu gözlenmiştir. Yaşlı erişkinlerde ise osteoartrit yaygın olarak gözlenmektedir³². Semptomatik kalça ağrısı nedeni olarak sinoviyal pit sık gözlenmesi bile mutlaka ayırıcı tanıda akılda tutulmalıdır. MRG'de sinoviyal pitlerin karakteristik görünümünün bilinmesi ayırıcı tanı açısından önemlidir. Ayırıcı tanıya giren hastalıklar düşünüldüğünde yanlış tanı konulması, hastaların gereksiz yere ileri tetkik edilmesine neden olabilir.

Bu olgu bazlı derlemede, kalça ağrısı gibi çok sık rastlanan bir problemin nispeten nadir bir nedeni olan sinoviyal pit ve sinoviyal pit ile radyolojik olarak ayırıcı tanıya giren hastalıklara kısaca değinilmiştir. Sinoviyal pit'in tanınması hastaların doğru yönlendirilmesi ve tedavisi açısından önem arz etmektedir. Bu derlemenin bu konudaki farkındalığı arttıracaklarını düşünmekteyiz.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Çalışma olgu bazlı derleme makale olup etik kurul iznine gerek yoktur. Olgudan gerekli izinler alınmıştır.

Araştırmacı Katkı Beyanı:

"Fikir ve tasarım: U.E., J.İ.; Veri toplama ve işleme: U.E., J.İ.; Analiz ve verilerin yorumlanması: U.E., J.İ.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: U.E., J.İ."

Destek ve Teşekkür Beyanı:

Yazarların destek ve teşekkür beyanı yoktur.

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarlarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Thorborg K, Rathleff MS, Petersen P, Branci S, Hölmich P. Prevalence and severity of hip and groin pain in sub-elite male football: a cross-sectional cohort study of 695 players. Scand J Med Sci Sports 2017;27:107.

2. Christmas C, Crespo CJ, Franckowiak SC, et al. How common is hip pain among older adults? Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Fam Pract* 2002;51:345.
3. Cecchi F, Mannoni A, Molino-Lova R, et al. Epidemiology of hip and knee pain in a community based sample of Italian persons aged 65 and older. *Osteoarthritis Cartilage* 2008;16:1039.
4. Müezzinoğlu ÜS, Sarman H, Memişoğlu K. Genç Erişkinlerde Kalça Ağrısına Yaklaşım (Femoroasetabuler Sıkışma ve Kalça Osteoartriti). *Türkiye Klinikleri J Orthop & Traumatol-Special Topics* 2015;8(1):25-9.
5. Şener N, Korkmaz M, Yılmaz M, Ordu S, Çetinus ME. Kalça Kırığı Nedeniyle Opere Edilen Hastalarda Yaşam Kalitesinin Değerlendirilmesi. *Bakırköy Tıp Dergisi* 2015;11(3):103-8.
6. Sinici E, Tunay S, Tunay V, Kılıç E. Primer kalça protezi uygulanan hastalarda yaşam kalitesinin değerlendirilmesi. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2008;42(1):22-25.
7. Pitt MJ, Graham AR, Shipman JH, Birkby W. Herniation pit of the femoral neck. *AJR Am J Roentgenol.* 1982 Jun;138(6):1115-21.
8. Panzer S, Augat P, Scheidler J. Herniation pits and their renaissance in association with femoroacetabular impingement. *Rofo.* 2010 Jul;182(7):565-72.
9. Amjad A, Hafez AT, Ditta AN, Jan W. Synovial Pit of the femoral neck: a rare disease with rare presentations. *J Surg Case Rep.* 2020 Jul 2;2020(6):rjaa195.
10. Nokes SR, Vogler JB, Spritzer CE, Martinez S, Herfkens RJ. Herniation pits of the femoral neck: appearance at MR imaging. *Radiology.* 1989 Jul;172(1):231-4.
11. Gao Z, Yin J, Ma L, Wang J, Meng Q. Clinical imaging characteristics of herniation pits of the femoral neck. *Orthop Surg.* 2009 Aug;1(3):189-95.
12. Kavanagh L, Byrne C, Kavanagh E, Eustace S. Symptomatic synovial herniation pit-MRI appearances pre and post treatment. *BJR Case Rep.* 2017 Jan 5;3(2):20160103.
13. Gould CF, Ly JQ, Lattin Jr GE, Beall DP, Sutcliffe 3rd JB. Bone tumor mimics: avoiding misdiagnosis. *Curr Probl Diagn Radiol.* May-Jun 2007;36(3):124-41.
14. Şen C, Akman Ş, Gedik K. Femur boynunda osteoid osteoma. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 1998;32:170-3.
15. Costa FM, Canella C, Vieira FG, Vianna EM, Meohas W, Marchior E. The usefulness of chemical-shift magnetic resonance imaging for the evaluation of osteoid osteoma. *Radiol Bras* 2018;51(3):156-61
16. Klontzas ME, Zibis AH, Karantanas AH. Osteoid Osteoma of the Femoral Neck: Use of the Half-Moon Sign in MRI Diagnosis. *AJR Am J Roentgenol* 2015;205:353-7.
17. French J, Epelman M, Jaramillo D, et al. Magnetic resonance imaging evaluation of osteoid osteoma: utility of the dark rim sign. *Pediatr Radiol.* 2020 Nov;50(12):1742-50.
18. Kransdorf MJ, Stull MA, Gilkey FW, Jr Moser RP. Osteoid osteoma. *Radiographics* 1991 Jul;11(4):671-96.
19. Li S, Sun C, Zhou X, et al. Treatment of Intraosseous Ganglion Cyst of the Lunate: A Systematic Review. *Ann Plast Surg.* 2019 May;82(5):577-81.
20. Demir Ş, Batur ÖC, Tosun HB. Nadir Görülen Kemik Tümörü: İntraosseöz Ganglion Kisti. *Firat Med J* 2018;23(4):189-91.
21. Lin JD, Koehler SM, Garcia RA, Qureshi SA, Hecht AC. Intraosseous ganglion cyst within the L4 lamina causing spinal stenosis. *Spine J.* 2012 Nov;12(11):e9-12.
22. Özdemir ZM, Kerimoğlu Ü. Ekstremitenin Travmatik Olmayan Acilleri. *Trd Sem* 2016;4:323-39.
23. Cohen MD, Cory DA, Kleiman M, Smith JA, Broderick NJ. Magnetic resonance differentiation of acute and chronic osteomyelitis in children. *Clin Radiol* 1990;41:53-6.
24. Acu B, Beyhan M, Topaloğlu Aşçı S, Güven ME, Pınarbaşı T. Cilde Fistülize Olan Brodie Apsesinin Radyolojik Bulguları. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2014;6(3):207-14.
25. Öztürk İ, Sönmez MM. Subakut osteomyelit. *TOTBİD Dergisi* 2011;10(3):210-5.
26. Steele CE, Cochran G, Renninger C, Deafenbaugh B, Kuhn KM. Femoral Neck Stress Fractures: MRI Risk Factors for Progression. *J Bone Joint Surg Am.* 2018 Sep 5;100(17):1496-1502.
27. Özturan KE, Yücel İ, Çakıcı H, Şenocak E, Şahin Ö. Total Diz Protezi Cerrahisinin Nadir Görülen Bir Komplikasyonu: Femur Boynu Stres Kırığı. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2011;37(1):41-3.
28. Nakanishi K, Kobayashi M, Nakaguchi K, et al. Whole-body MRI for Detecting Metastatic Bone Tumor: Diagnostic Value of Diffusion-weighted Images. *Magn Reson Med Sci.* 2007;6(3):147-55.
29. Alpar S, Uçar N, Turgut A. Akciğer Kanseri Hastalarda Uzak Metastaz ile Organa Özgül Semptomların İlişkisi. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2004;52(1):14-8.
30. Freedman Y, Tal S. Synovial herniation pits: a pseudo-lesion of the femoral neck. *Isr Med Assoc J.* 2004 Mar;6(3):189.
31. DeAngelis NA, Busconi BD. Assessment and Differential Diagnosis of the Painful Hip. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 2003 January ;406(1):11-8.
32. Dick AG, Houghton JM, Bankes MJK. An approach to hip pain in a young adult. *BMJ* 2018;361:k1086.

DERLEME

Covid-19 Enfeksiyonunun ARDS komplikasyonunda IL-10 ve IL-10 (-1082G/A) Gen Varyasyonunun Potansiyel Rollerinin İncelenmesi

Nevra ALKANLI¹, Arzu AY²

¹ Haliç Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul.

² Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Edirne.

ÖZET

COVID-19 yeni koronavirüs hastalığı olarak bilinmektedir ve COVID-19 enfeksiyonundan kaynaklanan komplikasyonlar yaş, cinsiyet ve komorbiditeler gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Tüm yaş gruplarını etkileyebilen COVID-19 enfeksiyonu etkilenen popülasyonların bireysel özelliklerine bağlı olarak doğrulanmış vakaların bir kısmında ciddi rahatsızlık ve ölüm nedeni olarak ortaya çıkabilmektedir. Bu enfeksiyon özellikle yaşlı bireylerde ve hipertansiyon, diabetes mellitus, astım gibi komorbiditelere sahip kişilerde daha şiddetli seyretmektedir. Ancak COVID-19 enfeksiyonunun oldukça genç olan bireylerde de görülebileceği bildirilmiştir. Bu yüzden doku proteinlerinin ekspresyon düzeyleri gibi intrinsik faktörlerin yanı sıra, genetik varyasyonlar gibi genetik faktörler de enfeksiyon patogenezine katkıda bulunabilmektedir. COVID-19 hastalarının yarısından fazlasında en sık görülen komplikasyonlardan biri yoğun bakım tedavisi gerektiren ARDS (Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu) dir. COVID-19'da viral enfeksiyona yanıt olarak İnterlökin-10 (IL-10) gibi sitokinler salgılanmaktadır. COVID-19 enfeksiyonu sırasında gelişen sitokin fırtınası kontrolsüz inflamasyona neden olmaktadır. Böylece çoklu organ yetmezlikleri gelişebilmekte ve ARDS ile ilişkili sendromlar indüklenebilmektedir. Sitokin fırtınası COVID-19 hastalarında anlamlı derecede artmış IL-10 düzeyleri ile ilişkilendirilmiştir. ARDS patogeneğinde inflamasyon önemli bir belirteçdir. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengesizlik sonucunda ARDS gelişebilmektedir. IL-10 geninin promotör bölgelerindeki genetik varyasyonlar sonucunda IL-10 mRNA ve protein düzeylerinde değişiklikler ortaya çıkmaktadır. IL-10'un patolojik proinflamatuvar işlevi engelleyerek COVID-19 enfeksiyonundaki mortalitenin azalmasına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. ARDS gelişen COVID-19 hastalarında IL-10 geninin promotör bölgesinde tanımlanan IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonu genotip dağılımlarına göre IL-10 ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi, ARDS'nin patolojik mekanizmalarının daha iyi anlaşılabilmesi ve ARDS'ye yönelik terapötik stratejilerin geliştirilebilmesi bakımından oldukça önemlidir. Bu derlemede COVID-19 enfeksiyonunda gelişen ARDS komplikasyonunda IL-10 ve IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonlarının rolünün incelenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: COVID-19. Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu. İnterlökin. IL-10. Genetik Varyasyon.

Examination of the Potential Roles of IL-10 and IL-10 (-1082G/A) Gene Variation in ARDS Complication of COVID-19 Infection ARDS Complication of COVID-19 and IL-10 Gene Variation

ABSTRACT

COVID-19 is known as the novel coronavirus disease and complications proceed from COVID-19 infection vary depending on various factors such as age, gender and comorbidities. COVID-19 infection which can affect all age groups may occur as a cause of serious illness and death in some of the confirmed cases, depending on the individual characteristics of the affected populations. Therefore, besides intrinsic factors such as the expression levels of tissue proteins, genetic factors such as genetic variations may also contribute to the pathogenesis of the infection. One of the most common complications in COVID-19 patients is ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome). In COVID-19, cytokines such as IL-10 are released in response to viral infection. Cytokine storm that develops during COVID-19 infection causes uncontrolled inflammation. Thus, multiple organ failure can develop and ARDS-related syndromes can be induced. Cytokine storm has been associated with significantly increased IL-10 levels in COVID-19 patients. Changes occur in IL-10 mRNA and protein levels as a result of genetic variations in the promoter regions of the IL-10 gene. It is thought that IL-10 can contribute to the reduction of mortality in COVID-19 infection by preventing pathological proinflammatory function. Determining IL-10 expression levels according to IL-10 (-1082G/A) gene variation genotype distributions defined in the promoter region of IL-10 gene in COVID-19 patients with ARDS very important in terms of better understanding of the pathological mechanisms and developing of therapeutic strategies. In this review, it is aimed to examine the role of IL-10 and IL-10 (-1082G/A) gene variation in ARDS complication of COVID-19 infection.

Key Words: COVID-19. Acute Respiratory Distress Syndrome. Interleukin. IL-10. Genetic Variation.

Geliş Tarihi: 08.Mayıs.2021
Kabul Tarihi: 06.Eylül.2021

Dr. Öğr. Üyesi Nevra ALKANLI
T.C. Haliç Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Biyofizik AD. İstanbul
Tel.: 0546 585 18 41
E-posta:nevraalkanli@halic.edu.tr

Yazarların ORCID ID Bilgisi:
Nevra ALKANLI: 0000-0002-3745-8838
Arzu AY: 0000-0002-8412-091X

SARS-CoV-2'nin neden olduğu COVID-19 dünya çapında sosyal ve ekonomik sorunlara yol açan önemli bir halk sağlığı sorunudur. COVID-19 patogenezi bakıldığında enfeksiyon virüsün çeşitli dokularda ekprese edilen Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 2 (ACE 2) reseptörlerine bağlanması ile başlamakta ve böylece aşırı immün yanıt tetiklenmektedir. Proinflamatuar sitokinlerin aşırı üretimi sonucunda ortaya çıkan sitokin fırtınası COVID-19 enfeksiyonunun şiddetli progresyonu ve organ hasarı ile ilişkilendirilmiştir. COVID-19 enfeksiyonunun patofizyolojik mekanizması tam olarak açıklanamamıştır, ancak inflamasyon ile ilişkili yolaklardaki genlerde ortaya çıkan genetik varyasyonların enfeksiyonun seyri ve ciddiyetine olan etkileri araştırılmaktadır. Yaşlı yetişkinlerde ve komorbiditeleri olan kişilerde COVID-19 enfeksiyonu daha şiddetli seyretmektedir. COVID-19 enfeksiyonu ateş, öksürük, nefes darlığı, halsizlik, kas ağrıları, tat ve koku bozuklukları, ishal, baş ağrısı gibi çeşitli semptomlar ile karakterizedir. Ayrıca enfeksiyon sırasında ARDS, tromboembolik durumlar, kardiyovasküler rahatsızlıklar ve bunlara bağlı olarak ikincil enfeksiyonlar gibi komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir¹.

Genetik varyasyonlar ile yapılmış çalışmaların sonuçları popülasyonlar arasında farklılıklar göstermektedir². İmmünite ve inflammatuar yanıtta etkili olan IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonu gibi IL-10 gen varyasyonları ve ARDS gelişimi arasında anlamlı ilişkiler olduğu düşünülmektedir³. Antiinflammatuar bir sitokin olarak bilinen IL-10, diğer proinflammatuar sitokinlerin modülasyonunda da önemli rol oynamaktadır. IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonu sonucunda ortaya çıkan guanin / adenin baz yer değiştirmesi, IL-10 düzeylerinin düzenlenmesinde etkilidir². COVID-19 komplikasyonlarından biri olan ARDS'de IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonunun GG homozigot genotipi daha düşük hastalık şiddeti ile ilişkilendirilmiştir³.

COVID-19 enfeksiyonu ile ilişkili ARDS gelişiminde IL-10'un hastalığıdaki olası rolü ile ARDS ve IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonu arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılabilmesi, hastalık ile ilgili terapötik stratejilerin geliştirilebilmesi için farklı popülasyonlar ile daha kapsamlı çalışmaların gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Bu derlemenin amacı, COVID-19 enfeksiyonunun komplikasyonlarından biri olan ARDS'nin fizyopatolojisi hakkında genel bilgi verilmesinin yanısıra; IL-10'un ve bu genin promotör bölgesinde tanımlanan IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonunun hastalık gelişimindeki olası rolünün incelenmesidir.

Koronavirüsler

Koronavirüsler insanlarda ve hayvanlarda hastalığa neden olabilen geniş bir virüs ailesidir. İlk olarak 2002 yılında SARS-CoV tanımlanmıştır ve bu koronavirüs şiddetli akut solunum sendromuna (SARS) neden olmuştur. Daha sonra 2012 yılında MERS-CoV ve

2019 yılında SARS-CoV-2 koronavirüsleri tanımlanmıştır. Bu koronavirüslerden MERS-CoV Orta Doğu Solunum Sendromuna (MERS), SARS-CoV-2 ise COVID-19 enfeksiyonuna neden olmuştur. İnsanları enfekte edebilen yedi koronavirüs arasında olan HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 ve HKU1 koronavirüsleri üst solunum yolu enfeksiyonlarının yaklaşık %10-%30'undan sorumludur. SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2 olarak bilinen, yüksek mortalite ve morbidite oranları ile ilişkilendirilen diğer koronavirüsler ise ARDS gibi ciddi solunum yolu enfeksiyonlarına yol açabilmektedirler⁴.

Coronaviridae ailesine ait olan koronavirüsler alfa (α), beta (β), gama (γ) ve sigma (δ) olmak üzere dört grupta sınıflandırılmaktadırlar. SARS-CoV-2, RNA genomu tutan N (nükleokapsid) proteini ile S (spike), E (zarf) ve M (zar) proteinlerinden oluşmaktadır. Bu proteinlerden S proteini ACE 2 reseptörünü tanımakta ve ona bağlanmaktadır. ACE 2 yolağı virüsün girişinde ve akciğer alveoler epitel hücrelerine replikasyonda önemli rol oynamaktadır⁵.

COVID-19 Patogenezi

SARS-CoV-2 koronavirüsünden kaynaklanan bir enfeksiyon olarak ortaya çıkan COVID-19, dünya çapında hızla yayılan önemli bir halk sağlığı sorunu ve küresel pandemi olarak bilinmektedir. COVID-19 enfeksiyonu gözlenen bireylerin bazılarında asemptomatik ya da hafif semptomlar gözlenmesine rağmen, bu enfeksiyondan etkilenen ve progresif solunum yetmezliği, ölümcül pnömoni ile karakterize olan şiddetli vakalar da görülebilmektedir. COVID-19'un klinik yönetiminin belirlenmesi için genetik özelliklerin yanında hastalık sonuçlarını etkileyebilecek olan gen ve protein ekspresyon modellerinin incelenmesi de önemlidir. SARS-CoV-2 enfeksiyonu solunum yolu hastalığı olarak bilinmekle birlikte bu enfeksiyonun sistemik patogeneze ve birçok organın etkilenmesine neden olarak ölüme yol açabileceği bildirilmiştir. COVID-19 enfeksiyonunun bulaşması ile ilgili belirsizlikler olmasına rağmen bu enfeksiyonun doğrudan temas, solunum damlacıkları ve viral partiküllerin yutulması yoluyla bulaşabileceği düşünülmektedir. Bireye iletilen virüs, S proteininin ACE 2 reseptörü ile etkileşimi yoluyla insan hücrelerine doğrudan girebilmektedir⁵. ACE 2'nin insan alveoler epitel hücrelerinde, dil ve oral mukoza epitel hücrelerinde, lökositler, kan damarları, kalp, böbrek, bağırsak gibi diğer hücrelerde yüksek oranda ekprese edildiği bilinmektedir^{2,6,7}.

Tip II transmembran serin proteaz (TMPRSS2), ACE 2 reseptörüne bağlanmaktadır ve bu proteolitik bir süreçtir. Bu süreçte S proteininin aktive olmasıyla hücreye viral giriş gerçekleşmektedir. İmmünglobulin süper ailesine ait olan transmembran glikoprotein olarak bilinen CD147 epitel hücrelerde bulunmaktadır. SARS-CoV tarafından bağlanan diğer bir reseptör

Covid-19 ARDS Komplasyonu ve IL-10 Gen Varyasyonu

olarak bilinen bu glikoprotein inflamatuvar dokularda, enfekte olmuş hücrelerde yüksek düzeyde ekspresyon edilmektedir¹.

COVID-19 patogenezi oldukça karmaşıktır ve ilk olarak viral replikasyon üst solunum yolunun mukozal epitelinde gerçekleşmektedir^{6,8}. Bu durumda enfeksiyon asemptomatik olarak gelişmektedir. COVID-19 patogenezi esas olarak SARS-CoV-2'nin akciğerlerde ACE 2 reseptörlerine bağlanması yoluyla alt solunum yollarında tetiklenen inflamasyon ile karakterizedir. COVID-19 enfeksiyonu gelişen hastalardan bazılarında solunum semptomları dışında çoklu organ tutulumlarına yol açabilen hasarlar da ortaya çıkabilmektedir^{6,9-11}.

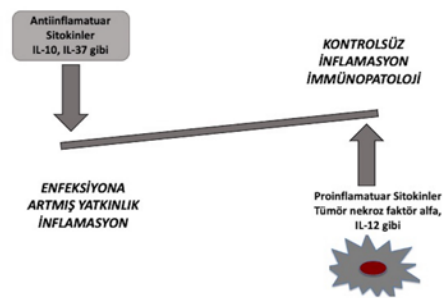
COVID-19 enfeksiyonunun erken aşamalarında TMPRSS2, katepsin B ve L (Cat B/L) proteinleri gibi proteinlerin ekspresyon profilleri ve interferon gama üretimi enfeksiyonun sonucunu belirleyebilecek olan önemli yolaklardır^{12,13}. Enfeksiyonun ilerleyen aşamalarında ise hücrel immün yanıtlar önemli belirleyiciler haline gelmektedir. Bu yolaklarda ortaya çıkan interferon gama üretimindeki ve hücre migrasyonu veya aktivasyonundaki dengesizlikler, inflamatuvar mediyatörlerin salınımı ve immün hücrelerde farklılıklara neden olabilen kötü hastalık prognozuna yol açabilmektedir. Akciğer enfeksiyonu ile birlikte yoğun inflamatuvar yanıt gelişmektedir. Hafif ya da orta dereceli enfeksiyon durumunda normal lenfosit-nötrofil oranları ve CD8+, CD4+ hücrelerinde yükselme gösterilmiştir. Enfeksiyonun şiddetli olması durumunda yüksek nötrofil-lenfosit oranları, düşük CD4+ sayıları, düzenleyici T hücrelerinde eksiklikler gözlenmektedir¹⁴⁻¹⁹. Sistemik inflamatuvar düzeyler COVID-19 enfeksiyonunun şiddeti ile ilişkilendirilmiştir. Hafif COVID-19 enfeksiyonunda düşük sitokin ve kemokin düzeyleri belirlenmiştir. Şiddetli COVID-19 enfeksiyonunda ise yüksek seviyelerde IL-10 düzeyleri tespit edilmiştir^{16,17}.

COVID-19 enfeksiyonunda koroner kalp hastalıkları, kalp yetmezliği, serebrovasküler hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli komplikasyonlar da ortaya çıkmaktadır. Artmış sempatik stimülasyon, hiperkoagulabilite ve inflamasyonun bu komplikasyonlara katkıda bulunduğu düşünülmektedir²⁰⁻²². Ayrıca COVID-19 enfeksiyonunun diğer belirleyici bir komplikasyonu da böbrek yetmezliğidir. Bu durum virüsün doğrudan bir etkisi olabileceği gibi enfeksiyonun ardından gözlenen hipoksi sonucunda ortaya çıkan bir durum da olabilir. Önceden var olan kardiyovasküler hastalıklar ve böbrek hastalıkları COVID-19 enfeksiyonu için önemli risk faktörleri olarak bildirilmiştir. Bu yüzden bu risk faktörlerinin enfeksiyonun şiddetlenmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Bunların dışında gastrointestinal sistem bulguları da COVID-19 enfeksiyonu ile ilişkilendirilmiştir. COVID-19 enfeksiyonunda karın ağrısı, iştahsızlık, karaciğer fonksiyonlarında bozukluklar, diyare, bulan-

tı ve kusma gibi çeşitli bulgular gözlenmektedir. Şiddetli COVID-19 enfeksiyonundan ölen hastalarda yapılmış ölüm sonrası analizlerde gastrointestinal mukozal dejenerasyon, ince bağırsaklarda dilatasyon ve stenoz gibi çeşitli değişiklikler tespit edilmiştir. Ayrıca bu enfeksiyondan ölen hastaların mide, duodenal ve rektal epitel hücrelerinde viral proteinler saptanmıştır. COVID-19 enfeksiyonunun gastrointestinal semptomlarının SARS-CoV-2 virüsünün gastrointestinal hücreler ile doğrudan etkileşiminden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. COVID-19 enfeksiyonu sonucunda testis dokusu da etkilenebilmektedir^{7,23-27}.

Sitokinler ve IL-10 Gen Varyasyonları

Stimülasyon sonucunda immün hücreler tarafından sitokinler üretilmektedir. Sitokinler spesifik reseptörlere bağlanarak hedef hücrelerin aktivasyonunun, proliferasyonunun ve farklılaşmasının upregüle edilmesinde, immün reaksiyonların düzenlenmesinde ve diğer sitokinlerin üretimini indüklenebilmesinde veya inhibe edilebilmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Sitokinler işlevlerine göre proinflamatuvar sitokinler ve antiinflamatuvar sitokinler olmak üzere iki grupta sınıflandırılmaktadırlar. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasında ortaya çıkan dengesizlikler sonucunda immün sistemin düzgün çalışması engellenmektedir²⁸ (Figür 1). Sitokin genlerindeki dengesizlikler sitokin genlerinde ortaya çıkan genetik varyasyonlar ile ilişkilendirilmiştir. Bu sitokinlerden biri olan IL-10 önemli bir immüno-regülatör sitokindir ve esas olarak makrofajlar tarafından salgılanmaktadır. IL-10 makrofajlar dışında ayrıca Th1 ve Th2 lenfositleri, dendritik hücreler, monositler ve mast hücreleri, sitotoksik T hücreleri, B lenfositleri tarafından da salgılanmaktadır^{29,30}.



Figür 1.

Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki denge

IL-10 aktivitesi IL-10 reseptörü (IL-10R) aracılığıyla gerçekleşmektedir. IL-10'un IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 gibi diğer sitokinlerin ekspresyonlarını upregüle ettiği bildirilmiştir. B hücrelerinde apoptozu önleyebilen IL-10, hücre proliferasyonunun artırılmasında ve immünglobulin sınıf değişimlerinde etkili bir immüno-modülatördür. 4 intron ve 5 ekson içeren IL-10 geni

immünomodülatör pleiotropik bir sitokindir ve kromozom 1q31-32 üzerinde lokalizedir. IL-10 geninde tanımlanmış olan genetik varyasyonlar arasında IL-10 (-1082G/A), IL-10 (-892C/T) ve IL-10 (-592C/A) gen varyasyonları bulunmaktadır³¹⁻³⁴ (Figür 2). IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonu genotip dağılımlarının belirlenmesinde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi uygulanmaktadır. PZR yönteminde G alel spesifik primeri, A alel spesifik primeri, kontrol fragment primeri ve reverse primer kullanılmaktadır. PZR yöntemi kullanılarak IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonu genotip dağılımları GG ve AA homozigot genotipleri ile GA heterozigot genotipi olarak belirlenmektedir. PZR yönteminde kullanılan primer dizileri ve PZR koşulları Tablo I ve Tablo II'de sunulmuştur³⁵ (Figür 3)

Tablo I. IL-10 (-1082G/A) Gen Varyasyonunu için Primer Dizileri

IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonu için primer dizileri	
G-Alel Spesifik Primeri	F1: 5'-ACTACTAAGGCTTCTTTGGGAG-3'
A-Alel Spesifik Primeri	F2: 5'-ACTACTAAGGCTTCTTTGGAA-3'
Forward Kontrol Primeri	FK: 5'-GACTCCAGCCACAGAAGCT-3'
Reverse Primer	RP: 5'-GGATGTGTCCAGGCTCT-3'

G: Guanin; A: Adenin; F1: Forward 1; F2: Forward 2; FK: Forward Kontrol; RP: Reverse Primer

Tablo II. IL-10 (-1082G/A) Gen Varyasyonu için PZR Koşulları

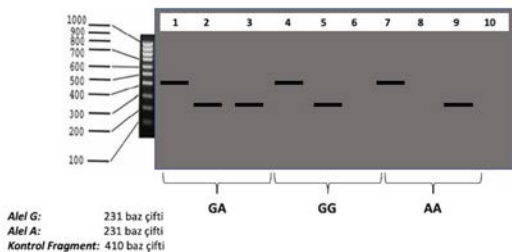
IL-10 (-1082G/A) Gen Varyasyonu	Başlangıç
}	95°C'de 5 dakika
	94°C'de 60 saniye
	50°C'de 30 saniye 30 döngü
	72°C'de 30 saniye
	Sonlanma: 72°C'de 10 dakika

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu



Figür 2.

IL-10 geni ve IL-10 gen varyasyonları



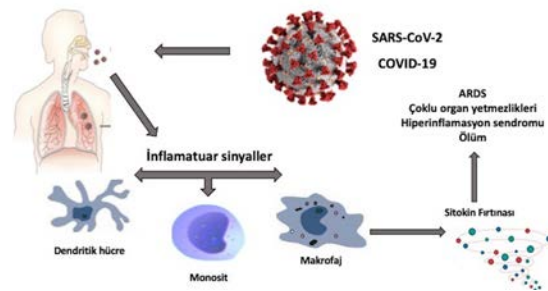
Figür 3.

PZR sonucunda elde edilen IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonları genotip dağılımları

IL-10 gen varyasyonları astım, sistemik lupus eritematozus, sedef hastalığı, romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, tüberküloz, pnömoni gibi çeşitli hastalıkların patofizyolojisinde ve klinik seyirlerinde önemli rol oynamaktadırlar. Endojen ve eksojen faktörler tarafından IL-10 üretimi tetiklenebilmektedir ve IL-10 salınımı genin promotör bölgesindeki microsatellites olarak bilinen dinükleotid tekrarlarına ve genin promotör bölgesindeki tek nükleotid gen varyasyonlarına bağlıdır. IL-10'un immün sistem düzenlenmesindeki rolü ve IL-10 ekspresyonunun polimorfik regülasyonları birlikte değerlendirildiğinde hastalık patofizyolojisi hakkında önemli bilgiler sağlanabilir³¹⁻³³.

COVID-19 Enfeksiyonunda Sitokin Fırtınası ve IL-10'un Potansiyel Rolü

COVID-19 enfeksiyonu tüm dünyada yaklaşık 1.1 milyondan fazla ölüme ve 42 milyondan fazla vakaya neden olmuştur. Şiddetli COVID-19 enfeksiyonunda sitokin salınım sendromu olarak da adlandırılan patolojik bir durum gelişmektedir ve bu durum çok sayıda inflamatuvar sitokin ve kemokinlerin hızlı bir şekilde uzun süreli olarak sistemik yükselmesi ile karakterizedir. Sitokin salınım sendromu sonucunda organ yetmezliği ve ölüme kadar ilerleyebilen ARDS ilişkili hemofagositik sendrom indüklenebilmektedir³⁶ (Figür 4). COVID-19 enfeksiyonu süresince gelişebilen sitokin fırtınasının karakteristik bir özelliği, ağır ve kritik COVID-19 hastalarında IL-10 düzeylerindeki dramatik yükselmedir³⁷. Yoğun bakım tedavisi gören COVID-19 hastalarında yoğun bakım tedavisi görmeyen hastalara kıyasla anlamlı derecede daha yüksek periferik IL-10 konsantrasyonu belirlenmiştir¹. IL-10 düzeyleri IL-16 gibi diğer sitokinler ve CRP gibi inflamatuvar belirteçler ile ilişkilendirilmiştir. IL-10'un COVID-19 enfeksiyonunun şiddeti ile ilişkili önemli bir immün belirteç olduğu düşünülmektedir. IL-10 ekspresyonlarındaki artış COVID-19 enfeksiyonunun kötü sonuçları ile ilişkilendirilmiştir³⁷.



Figür 4.

COVID-19 Enfeksiyonunda Sitokin Fırtınası ve IL-10'un Potansiyel Rolü

Bir meta-analiz çalışmasında IL-6 ve IL-10'un COVID-19 şiddetinin tahmin edilebilmesinde önemli faktörler olduğu belirlenmiştir. Serum IL-10 düzeyleri COVID-19 enfeksiyonunda yükselmektedir ve bu

Covid-19 ARDS Komplikasyonu ve IL-10 Gen Varyasyonu

durum klinik açıdan önemlidir³⁸. Antiinflamatuvar veya immün inhibitör mekanizma olarak düşünülen artmış IL-10 düzeyleri, proinflamatuvar sitokinlerin negatif geri besleme döngüsü sonucunda birikmesi yoluyla uyarılmaktadır. COVID-19 enfeksiyonunda gelişen bir komplikasyon olan ARDS tedavisinde immüno-regülatör ve antifibrotik etkiler gösterebilen rekombinant IL-10 önemli bir terapötik faktör olarak önerilmiştir³⁹⁻⁴¹. Buna karşın, COVID-19 enfeksiyonunda IL-10 düzeylerindeki anormal yükselmenin COVID-19 şiddetinin belirlenmesinde patolojik bir rol oynayabileceği de düşünülmektedir. IL-10 genellikle immüno-supresif ve antiinflamatuvar bir sitokin olarak bilinmesine rağmen otoimmün hastalıklar, çeşitli kanser türleri gibi hastalıklarda immün sistemi aktive edebilen proinflamatuvar bir sitokin olarak da düşünülebilmektedir. Rekombinant IL-10 proinflamatuvar etki göstererek immün sistemi aktive edebilmekte ve böylece inflamasyonun artışında etkili olabilmektedir. Şiddetli pnömoni ve proinflamatuvar mediyatörler aracılığıyla ortaya çıkan ciddi organ hasarı COVID-19 hastalarında mortalite ile ilişkilendirilmiştir. IL-10, COVID-19 enfeksiyonunda mortalitenin azaltılmasında potansiyel bir rol oynayabilmektedir. Şiddetli COVID-19 enfeksiyonu olan hastalarda anormal derecede yüksek IL-10 düzeyleri gözlenmektedir. IL-10'un COVID-19 patogenezinde proinflamatuvar etki göstererek immün aktive edici bir rol oynayabileceği bildirilmiştir. Ayrıca şiddetli COVID-19 enfeksiyonu olan hastaların periferik kanlarında IL-4, IL-7, IL-18, IFN-gama, TNF-alfa gibi inflamatuvar sitokinlerin ve çeşitli kemokinlerin arttığı belirlenmiştir³⁷. Şiddetli COVID-19 enfeksiyonu olan hastalarda periferik CD8+T hücre sayısında toplam bir azalma gözlenmektedir. COVID-19 enfeksiyonunun ilerleyen dönemlerinde hastaların periferik kanlarındaki CD8+T hücrelerinin arttığı tespit edilmiştir¹⁴. Bu durumun aşırı aktivasyon ve proliferasyon aracılığıyla serum IL-10 düzeylerindeki artma ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir³⁷. Yüksek sistemik IL-10 düzeylerine sahip olan şiddetli COVID-19 hastalarında IL-10 düzeylerinin hastalığın progresyonunda önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir. COVID-19 enfeksiyonu ile ilişkili immüno-patolojik yolak önemlidir⁴².

Akciğerlerde başlangıç aşamasında COVID-19 enfeksiyonunda IL-10 erken indüksiyonunun gerçekleşmesi diğer proinflamatuvar mediyatörlerin yol açtığı inflamasyona karşı önemli bir faktördür. Endojen IL-10 üretimindeki artış, sitokin fırtınasının diğer mediyatörlerinin üretimini uyarılmasında etkili olarak immün aktive edebilen bir proinflamatuvar faktör olarak etki gösterebilir. Ayrıca IL-10, ciddi COVID-19 hastalarında viral sepsise bağlı olarak daha yüksek hiperinflamasyonuna neden olabilmektedir^{43,44}. IL-10 sitotoksik efektör CD8+T hücrelerinde artışa neden olmaktadır ve böylece COVID-19 hastalarında adaptif immünite hiperaktivasyonu gerçekleşmektedir. Bu da COVID-19 enfeksiyonunun şiddetindeki artış ile ilişkilendirilmiştir. IL-10 ölümcül bir immüno-patolojik

süreçte önemli rol oynayabilmektedir. COVID-19 hastalarında sistemik inflamatuvar sitokin üretimini indükleyebilen IL-10, T hücre aktivasyonu ve proliferasyonunu da uyarabilen bir sitokindir. IL-10'un patolojik proinflamatuvar işlevi engelleme yoluyla COVID-19 enfeksiyonundaki mortalitenin azalmasına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Ciddi COVID-19 enfeksiyonu gelişen hastalarda IL-10 aktivitesinin engellenebilmesinde zaman oldukça önemli bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. COVID-19 enfeksiyonunun başlangıcında IL-10 aktivitesinin engellenebilmesi için nötralize edici bir antikör kullanılmasının, immün aktive edici etkilerinin sınırlandırılabilmesi bakımından önemli olabileceği düşünülmektedir. COVID-19 enfeksiyonunun patogenezinde ve tedavisinin belirlenmesinde sistemik olarak artmış IL-10'un rolünü belirleyebilmek için kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır³⁷.

COVID-19 Komplikasyonu ARDS Fizyopatolojisi:

COVID-19 enfeksiyonunun ilk aşamalarında akciğer hasarı pulmoner vasküler bozukluk ile ilişkilendirilmiştir. ARDS tanısı ve tedavisi hakkında farklı görüşler bildirilmiştir. ARDS genellikle akciğerlerde gaz değişim kısıtlamasına ve sıvı birikmesine neden olabilen ve böylece sistemik hipoksiye yol açabilen ciddi bir hasar ile karakterizedir. ARDS hastalarında taşipne ve siyanoz ile birlikte nefes darlığı da görülmektedir. Bu yüzden ARDS gelişen hastalarda kalp ve beyin gibi organların düzgün çalışması etkilenebilmektedir⁴.

ARDS'nin L (Low) ve H (High) fenotipleri olmak üzere iki grupta sınıflandırıldığı bildirilmiştir. Bu sınıflandırmanın, ARDS patofizyolojisinin daha iyi anlaşılabilmesi ve bu fenotiplere göre farklı terapötik stratejilerin geliştirilebilmesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir^{45,46}.

ARDS'de L fenotipi erken aşamalarda ortaya çıkan, subplevral interstisyum ile sınırlı hafif bir inflamasyon ile karakterize olan fenotiptir⁴⁷. Bu fenotipte akciğerlerde homojen olmayan alanlarda farklı elastik özellikler ve ara sıra konsolidasyon ile birlikte buzlu cam görünümleri gözlenmektedir. Nominal kompliyans ve düşük akciğer ağırlığı ile karakterize olan L tipi fenotipte düşük elastans gözlenmektedir. Pulmoner vasküler düzensizlik, endotel hücrelerinin ve arteriyel düz kas hücrelerinin yüzeylerinde bulunan ACE 2 reseptörüne SARS-CoV-2 afinitesi ile ilişkilendirilmiştir⁴.

COVID-19 enfeksiyonunun düz kas kasılması kaybına yol açarak zayıf hipoksik vazokonstriksiyona ve akciğerlerin bazı bölgelerinde düşük vasküler dirence neden olabileceği düşünülmektedir⁴⁸. Viral replikasyon sonucunda epitelde ve endotelde hücre hasara yol açabilecek proinflamatuvar sitokinler salgılanmaktadır. Doğuştan gelen immün sistemin aşırı aktivasyonu ve sitokin fırtınası mikrovasküler sistemde önemli hasar gelişimi ile ilişkilendirilmiştir^{49,50}. Ayrıca COVID-19 enfeksiyonundan kaynaklanan trombozun

sistemik bir hiperkoagülasyon tarafından tetiklenmesi alveoler birimlere kan akışının engellenmesine neden olabilen birçok mikrotrombin oluşumuna yol açmaktadır^{51,52}. Yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören hastaların yaklaşık %20-%30 kadarında azalmış bölgesel akciğer kompliyansı ile karakterize olan ARDS gelişmektedir. Böylece azalmış ventilatuar yanıt ve zayıf oksijenasyon ortaya çıkmaktadır⁴.

ARDS'nin H fenotipi hipoksemi, azalmış pulmoner kompliyans, bilateral akciğer infiltratları ile karakterizedir⁵³. SARS-CoV-2 yapısında bulunan spike proteini olarak adlandırılan S proteini ACE 2 reseptörüne bağlanma yoluyla konakçı hücreye giriş yapılabilmesinde rol olan önemli bir belirleyicidir. ACE 2 reseptörüne bağlanma sonucunda konakçı serin proteaz tip 2 olarak bilinen TMPRSS2, S proteinini böler. Böylece viral ve hücrel membran füzyonu gerçekleşmektedir. SARS-CoV-2'nin replikasyona yardımcı olacak genetik materyali sitoplazmada serbest kalmaktadır. Akciğerlerde Tip II alveoler epitel hücreleri virüs replikasyonunda önemlidir ve virüsün konakçı hücreye girişi sonucunda konakçı immün yanıt tetiklenmektedir. Böylece IL-6, IL-12, IL-17, IL-18, IL-33 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımı indüklenmektedir. Bu proinflamatuvar sitokinler enfeksiyon bölgesinde nötrofilleri ve monositleri toplama yoluyla diğer proinflamatuvar sitokinleri ve kemokinleri aktive etmektedir. Bu şekilde hiperinflamasyon durumu ortaya çıkmakta ve ARDS gelişimi ile ilişkili olarak akciğerlerde doğrudan hasar meydana gelmektedir⁴.

ARDS gelişiminde genetik yatkınlık ve inflamatuvar sitokinler de önemli rol oynamaktadırlar. ACE 2 ve IL-10, Tümör Nekroz Faktör (TNF) ve Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF) gibi çeşitli genler arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu düşünülmektedir. COVID-19 enfeksiyonunda sitokin fırtınası ortaya çıkabilmekte ve ARDS gelişebilmektedir. Önemli sitokinler olarak bilinen IL-6 ve IL-8 plazma düzeylerindeki artışlar, ARDS'nin negatif sonuçları ile ilişkilendirilmiştir. ARDS hastalarında gelişen pulmoner infiltrasyon ve buna bağlı olarak gelişen akciğer hasarı da artmış IL-6 düzeyleri ile ilişkilendirilmiştir. Makrofaj aktivasyon sendromu gelişen hastaların yaklaşık yarısında ARDS sonucunda akciğer hasarı gelişebilmektedir. COVID-19 hastalarında serum C-Reaktif Protein (CRP), laktat dehidrogenaz, kreatinin, kreatin kinaz, ferritin, IL-6 ve D-dimer düzeylerinin arttığı belirlenmiştir¹.

ARDS ve IL-10 Gen Varyasyonu

Sepsis ve travma gibi klinik risklere sahip olan hastaların bir bölümünde ARDS gelişebilmektedir. Bireyler arası farklı sonuçlar gösteren genetik varyasyonlar doğuştan gelen immünitede, pulmoner defansta ve inflamatuvar yanıtta önemli rol oynamaktadırlar. Çeşitli genetik varyasyonlar ve ARDS, sepsis, pnömoni gelişimi arasında anlamlı ilişkiler olduğu düşünülmektedir.

Bu genetik varyasyonlar arasında, IL-10 geni gibi sitokin genlerinde ortaya çıkan genetik varyasyonlar bulunmaktadır⁵⁴.

IL-10 önemli bir antiinflamatuvar sitokin olarak bilinmektedir. Nitrik oksit sentezinde, inflamatuvar hücrelerin apoptozunda ve makrofaj aktivasyonunun baskılanmasında önemli rol oynayan IL-10, diğer proinflamatuvar sitokinlerin modülasyonunda da etkilidir. İnsanlarda dolaşımdaki yüksek IL-10 düzeyleri ve septik şok, yaralanma şiddeti, ölüm oranları arasında anlamlı bir ilişki olduğu bildirilmiştir. ARDS hastalarında yüksek plazma IL-10 düzeyleri ve düşük IL-10 bronkoalveolar lavaj konsantrasyonu artmış mortalite ile ilişkilendirilmiştir⁵⁴.

IL-10 geninde tanımlanan IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonu genin promotör bölgesinde -1082 pozisyonunda guanin / adenin baz yer değiştirmesi ile karakterize bir genetik varyasyondur ve bu genetik varyasyon IL-10 düzeylerinin düzenlenmesinde etkilidir. IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonunun GG homozigot genotipini ve G alelini taşıyan bireylerde in vitro uyarımı takiben dolaşımda daha yüksek IL-10 düzeyleri, daha yüksek IL-10 mRNA ekspresyonu ve buna bağlı olarak daha yüksek IL-10 üretimi belirlenmiştir⁵⁵⁻⁵⁷.

ARDS gibi kritik hastalıklarda IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonunun GG homozigot genotipi düşük hastalık şiddeti, azalmış hastaneye yatış oranı, organ disfonksiyonu ve mortalite ile ilişkilendirilmiştir^{58,59}. ARDS gibi kritik hastalıkların gelişiminde proinflamatuvar ve antiinflamatuvar yanıtlar arasındaki denge oldukça önemlidir. Pnömoni hastalarında yüksek IL-10 üretimi ile ilişkili olan genotipin daha fazla immunosupresyona yol açabileceği ve bu durumun şiddetli hastalık yükü ile sonuçlanabileceği düşünülmektedir. Yoğun inflamasyon ARDS gibi hastalıkların patogeneğinde belirleyici bir özelliktir ve yüksek proinflamatuvar durumu olan hastalarda yüksek IL-10 düzeyleri ile ilişkili olan genotiplerin faydalı yönde modüle edici, koruyucu bir etkiye sahip olabileceği de bildirilmiştir. Amerikalı bir popülasyon ile gerçekleştirilmiş çalışmada ARDS olan hastalarda IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonunun GG homozigot genotipi daha düşük mortalite ve organ yetmezliği ile ilişkilendirilmiştir. Ancak ARDS ve IL-10 gen varyasyonları, ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişkilerin doğrulanabilmesi için farklı popülasyonlar ile gerçekleştirilmiş daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır^{54,60}.

Sonuç

SARS-CoV-2'nin neden olduğu COVID-19 enfeksiyonu tüm dünyada küresel bir kriz yaratmıştır. COVID-19 enfeksiyonunun riskinin ve ciddiyetinin düzenlenmesinde etkili olabilecek genetik varyasyonların belirlenmesi önemlidir. Çeşitli etnik gruplarda COVID-19 enfeksiyon oranının belirlenmesinde genetik varyasyonlar gibi genetik risk faktörlerinin rolü ve enfeksiyonun şiddeti arasındaki ilişkinin araştırılması-

Covid-19 ARDS Komplıkasyonu ve IL-10 Gen Varyasyonu

nı amaçlayan sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Solunum yolu enfeksiyonlarına yatkınlıklarda genetik ve kazanılmış risk faktörlerinin birlikte etkili olabileceği düşünölmektedir. şiddetli COVID-19 enfeksiyonu ve bu enfeksiyonun önemli komplikasyonlarından biri olan ARDS gelişimine yatkınlıkta önemli genetik varyasyonlar gibi prognostik faktörlerin belirlenebilmesi oldukça önemlidir. IL-10 geninde tanımlanan IL-10 (-1082G/A) gen varyasyonu gibi sitokin gen varyasyonlarının proinflatuar ve antiinflatuar sitokin düzeylerini etkileyebilme yoluyla COVID-19 enfeksiyonu olan hastalarda, hastalığın progresyonunu modöle edebileceği düşünölmektedir. IL-10 geni hücrel ve humoral immüitenin düzenlenmesindeki potansiyel rolü nedeniyle çeşitli otoimmün hastalıkların, inflamatuvar hastalıkların, neoplazmaların patofizyolojik mekanizmalarında etkili olabilecek aday bir gen olarak gösterilmektedir. IL-10 geninin promotör bölgesinde ortaya çıkan IL-10 (-1082G/A), IL-10 (-892C/T) ve IL-10 (-592C/A) gen varyasyonları sonucunda IL-10 mRNA ve protein düzeylerinde değişiklikler saptanmıştır. IL-10 geninde tanımlanan bu genetik varyasyonlar ve COVID-19 komplıkasyonlarından biri olan ARDS gibi hastalıklara yatkınlığın altında yatan patolojik süreçler ile ilgili mekanizmalar arasındaki ilişkileri araştırmaya yönelik daha kapsamlı çalışmalar yapılması gerekmektedir. Böylece COVID-19 ile ilişkili ARDS patogenezinde, IL-10'un potansiyel rolüne bağlı olarak hastalık için yeni tedavi yöntemlerinin belirlenebilmesine yönelik stratejilerin geliştirilebilmesi mümkün olabilecektir.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Çalışma derleme makale olup etik kurul iznine gerek yoktur.

Araştırmaı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım: N.A., A.A.; Veri toplama ve işleme: N.A., A.A.; Analiz ve verilerin yorumlanması: N.A., A.A.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: N.A., A.A.

Destek ve Teşekkür Beyanı:

Yazarların destek ve teşekkür beyanı yoktur.

Kaynaklar

- Öztürk R, Taşova Y, Ayaz A. COVID-19: pathogenesis, genetic polymorphism, clinical features and laboratory findings. *Turk J Med Sci*. 2020;50:638-657. doi:10.3906/sag-2005-287.
- Sungnak W, Huang N, Bécavin C et al. SARSCoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nature Medicine*. 2020;26(5): 681-687. doi: 10.1038/s41591-020-0868-6.
- Ulrich H, Pillat MM. CD147 as a target for COVID-19 treatment: suggested effects of azithromycin and stem cell engagement. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2020;16:434-440. doi: 10.1007/s12015-020-09976-7.
- Montenegro F, Unigarro L, Paredes G et al. Acute respiratory distress syndrome (ARDS) caused by the novel coronavirus disease (COVID-19): a practical comprehensive literature review. *Expert Rev Respir Med*. 2021;15(2):183-195. doi: 10.1080/17476348.2020.1820329.
- Mulinari Turin de Oliveira N, Fernandes da Silva Figueiredo I, Cristine Malaquias da Silva L et al. Tissue Proteases and Immune Responses: Influencing Factors of COVID-19 Severity and Mortality. *Pathogens*. 2020;9(10):817. doi: 10.3390/pathogens9100817.
- Jin Y, Yang H, Ji W et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of COVID-19. *Viruses*. 2020;12 (4):372. doi: 10.3390/v12040372.
- Zou X, Chen K, Zou J et al. The single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to Wuhan 2019-nCoV infection. *Frontiers in Medicine*. 2020;14(2):185-192. doi: 10.1007/s11684-020-0754-0.
- Xiao F, Tang M, Zheng X et al. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology*. 2020;158(6): 1831-1833.e3. doi: 10.1053/j.gastro.2020.02.055.
- Zhou Y, Zhang Z, Tian J et al. Risk factors associated with disease progression in a cohort of patients infected with the 2019 novel coronavirus. *Annals of Palliative Medicine*. 2020;9(2):428-436. doi: 10.21037/apm.2020.03.26.
- Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A et al. Baseline characteristics and outcomes of 1591 patients infected with SARS-CoV-2 admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *The Journal of the American Medical Association*. 2020;323(16):1574-1581. doi: 10.1001/jama.2020.53948.
- Cheng Y, Luo R, Wang K et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney International*. 2020;97(5):829-838. doi: 10.1016/j.kint.2020.03.005.
- Coutard B, Valle C, de Lamballerie X et al. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res*. 2020;176:104742. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104742.
- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S et al. SARS-CoV-2 Cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280.e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
- Xu Z, Shi L, Wang Y et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*. 2020;8(4):420-422. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
- Wu F, Zhao S, Yu B et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579:265-269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3.
- Qin C, Zhou L, Hu Z et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*. 2020;28:71(15):762-768. doi: 10.1093/cid/ciaa248.
- Thevarajan I, Nguyen THO, Koutsakos M et al. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19. *Nat Med*. 2020;26(4):453-455. doi: 10.1038/s41591-020-0819-2.
- Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight*. 2020;4:5(11):e138999. doi: 10.1172/jci.insight.138999.
- McFadyen JD, Stevens H, Peter K. The Emerging Threat of (Micro) Thrombosis in COVID-19 and Its Therapeutic Implications. *Circ Res*. 2020;31:127(4):571-587. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317447.
- Guo YR, Cao QD, Hong ZS et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. *Mil Med Res*. 2020;13:7(1):11. doi: 10.1186/s40779-020-00240-0.
- Inciardi RM, Lupi L, Zaccone G et al. Cardiac Involvement in a Patient With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol*. 2020;5(7):819-824. doi: 10.1001/jamacardio.2020.1096.

22. Shi S, Qin M, Shen B et al. Association of Cardiac Injury With Mortality in Hospitalized Patients With COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol.* 2020;5(7):802-810. doi: 10.1001/jamacardio.2020.0950.
23. Wang D, Hu B, Hu C et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA.* 2020;323(11):1061-1069. doi: 10.1001/jama.2020.1585.
24. Yang X, Yu Y, Xu J et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med.* 2020;8(5):475-481. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5.
25. Jin X, Lian JS, Hu JH et al. Epidemiological, clinical and virological characteristics of 74 cases of coronavirus-infected disease 2019 (COVID-19) with gastrointestinal symptoms. *Gut.* 2020;69(6):1002-1009. doi: 10.1136/gutjnl-2020-320926.
26. Lin L, Jiang X, Zhang Z et al. Gastrointestinal symptoms of 95 cases with SARS-CoV-2 infection. *Gut.* 2020;69:997-1001. doi:10.1136/gutjnl-2020-321013.
27. Tian Y, Rong L, Nian W et al. Review article: gastrointestinal features in COVID-19 and the possibility of faecal transmission. *Aliment Pharmacol Ther.* 2020;51(9):843-851. doi: 10.1111/apt.15731.
28. Bello RO, Chin VK, Abd Rachman Isnadi MF et al. The Role, Involvement and Function(s) of Interleukin-35 and Interleukin-37 in Disease Pathogenesis. *Int J Mol Sci.* 2018;19(4):1149. doi: 10.3390/ijms19041149.
29. Gastl GA, Abrams JS, Nanus DM et al. Interleukin-10 production by human carcinoma cell lines and its relationship to interleukin-6 expression. *Int J Cancer.* 1993;55(1):96-101. doi: 10.1002/ijc.2910550118.
30. Pisa P, Halapi E, Pisa EK et al. Selective expression of interleukin 10, interferon gamma, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in ovarian cancer biopsies. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(16):7708-7712. doi: 10.1073/pnas.89.16.7708.
31. Spits H, de Waal Malefyt R. Functional characterization of human IL-10. *Int Arch Allergy Immunol.* 1992;99(1):8-15. doi: 10.1159/000236329.
32. Eskdale J, Gallagher G. A polymorphic dinucleotide repeat in the human IL-10 promoter. *Immunogenetics.* 1995;42(5):444-445. doi: 10.1007/BF00179416.
33. Eskdale J, Kube D, Gallagher G. A second polymorphic dinucleotide repeat in the 5' flanking region of the human IL10 gene. *Immunogenetics.* 1996;45(1):82-83. doi: 10.1007/s002510050174.
34. Pandey M, Awasthi S, Singh U et al. Association of IL-10 Gene Polymorphism (-819C>T, -592C>A and -1082G>A) with Preterm Birth. *Indian J Pediatr.* 2018;85(2):93-101. doi: 10.1007/s12098-017-2496-9.
35. Al-shehmany AS, El-Kafoury AA, Haroun MA et al. Contribution of IL-10 (SNP -819 C/T and SNP-1082 G/A) polymorphisms variants to the risk of type 1 diabetes in Egyptian population. *Iraqi Journal of Biotechnology.* 2014;13(1):54-60.
36. Castelli V, Cimini A, Ferri C. Cytokine Storm in COVID-19: "When You Come Out of the Storm, You Won't Be the Same Person Who Walked in". *Front Immunol.* 2020;11:2132. doi: 10.3389/fimmu.2020.02132.
37. Lu L, Zhang H, Dauphars DJ et al. A Potential Role of Interleukin 10 in COVID-19 Pathogenesis. *Trends Immunol.* 2021;42(1):3-5. doi: 10.1016/j.it.2020.10.012.
38. Dhar SK, Vishnupriyan K, Damodar S et al. IL-6 and IL-10 as predictors of disease severity in COVID-19 patients: results from meta-analysis and regression. *Heliyon.* 2021;7(2):e06155. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e06155.
39. Zhao Y, Qin L, Zhang P et al. Longitudinal COVID-19 profiling associates IL-1RA and IL-10 with disease severity and RANTES with mild disease. *JCI Insight.* 2020;5(13):e139834. doi: 10.1172/jci.insight.139834.
40. Diao B, Wang C, Tan Y et al. Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Front Immunol.* 2020;11:827. doi: 10.3389/fimmu.2020.00827.
41. Hu WC. Use interleukin-10 as the therapeutic agent for COVID-19. *OSFPREPRINTS.* 2020 doi: 10.31219/osf.io/arfhb.
42. Lu L, Zhang H, Zhan M et al. Preventing Mortality in COVID-19 Patients: Which Cytokine to Target in a Raging Storm? *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:677. doi:10.3389/fcell.2020.00677.
43. Lauw FN, Pajkrt D, Hack CE et al. Proinflammatory effects of IL-10 during human endotoxemia. *Journal of Immunology.* 2000;165(5):2783-2789. doi: 10.4049/jimmunol.165.5.2783.
44. Li H, Liu L, Zhang D et al. SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses. *Lancet.* 2020;395(10235):1517-1520. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30920-X.
45. Potus F, Mai V, Lebret M et al. Novel insights on the pulmonary vascular consequences of COVID-19. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2020;319(2):L277-L288. doi: 10.1152/ajplung.00195.2020.
46. Gattinoni L, Chiumello D, Caironi P et al. COVID-19 pneumonia: different respiratory treatments for different phenotypes? *Intensive Care Med.* 2020;46(6):1099-1102. doi: 10.1007/s00134-020-06033-2.
47. Song YG, Shin HS. COVID-19, A Clinical Syndrome Manifesting as Hypersensitivity Pneumonitis. *Infect Chemother.* 2020;52(1):110-112. doi: 10.3947/ic.2020.52.1.110.
48. Gattinoni L, Chiumello D, Rossi S. COVID-19 pneumonia: ARDS or not? *Crit Care.* 2020;24(1):154. doi: 10.1186/s13054-020-02880-z.
49. Conti P, Ronconi G, Caraffa A et al. Induction of pro-inflammatory cytokines (IL-1 and IL-6) and lung inflammation by Coronavirus-19 (COVI-19 or SARS-CoV-2): anti-inflammatory strategies. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2020;34(2):327-331. doi: 10.23812/CONTI-E.
50. Garg S, Garg M, Prabhakar N et al. Unraveling the mystery of Covid-19 cytokine storm: from skin to organ systems. *Dermatologic Therapy.* 2020;33:e13859. doi: 10.1111/dth.13859.
51. Ciceri F, Beretta L, Scandroglio AM et al. Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS): an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis. *Crit Care Resusc.* 2020;22(2):95-97.
52. Cressoni M, Caironi P, Polli F et al. Anatomical and functional intrapulmonary shunt in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2008;36(3):669-675. doi: 10.1097/01.CCM.0000300276.12074.E1.
53. Jain A, Doyle DJ. Stages or phenotypes? A critical look at COVID-19 pathophysiology. *Intensive Care Med.* 2020;46(7):1494-1495. doi: 10.1007/s00134-020-06083-6.
54. Gong MN, Thompson BT, Williams PL et al. Interleukin-10 polymorphism in position -1082 and acute respiratory distress syndrome. *Eur Respir J.* 2006;27(4):674-681. doi: 10.1183/09031936.06.00046405.
55. Turner DM, Williams DM, Sankaran D et al. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet.* 1997;24(1):1-8. doi: 10.1111/j.1365-2370.1997.tb00001.x.
56. Suárez A, Castro P, Alonso R, Mozo L, Gutiérrez C. Interindividual variations in constitutive interleukin-10 messenger RNA and protein levels and their association with genetic polymorphisms. *Transplantation.* 2003;75(5):711-717. doi: 10.1097/01.TP.0000055216.19866.9A.

Covid-19 ARDS Komplikasyonu ve IL-10 Gen Varyasyonu

57. Galley HF, Lowe PR, Carmichael RL et al. Genotype and interleukin-10 responses after cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth.* 2003;91(3):424-426. doi: 10.1093/bja/aeg174.
58. Gallagher PM, Lowe G, Fitzgerald T et al. Association of IL-10 polymorphism with severity of illness in community acquired pneumonia. *Thorax.* 2003;58(2):154-156. doi: 10.1136/thorax.58.2.154.
59. Schaaf BM, Boehmke F, Esnaashari H et al. Pneumococcal septic shock is associated with the interleukin-10-1082 gene promoter polymorphism. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168(4):476-80. doi: 10.1164/rccm.200210-1164OC.
60. Ghafouri-Fard S, Noroozi R, Vafaei R et al. Effects of host genetic variations on response to, susceptibility and severity of respiratory infections. *Biomed Pharmacother.* 2020;128:110296. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110296.

