



VAN
S A Ğ L I K
BİLİMLERİ
VAN HEALTH SCIENCES JOURNAL DERGİSİ



Yıl/Year:2022 Cilt/Volume:15 Sayı/Issue:1

ISSN: 2667-5072

VAN SAĞLIK BİLİMLERİ DERGİSİ

VAN HEALTH SCIENCES JOURNAL

Yayın Kurulu

Dergi Sahibi

Prof. Dr. Semiha DEDE

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü, Van, Türkiye

Editör

Prof. Dr. Nuriye Tuğba BİNGÖL

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Van, Türkiye

Editör Kurulu

Prof. Dr. Nalan ÖZDAL

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Van, Türkiye, (Editör Yardımcısı)

Doç. Dr. Hamit Hakan ALP

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Van, Türkiye, (Editör Yardımcısı)

Dr. Öğr. Üyesi Can ATEŞ

Aksaray Üniversitesi, Tıp Fakültesi (İstatistik Editörü)

Doç. Dr. Okan ARIHAN

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi (İngilizce Editörü)

Alan Editörleri

Nalan ÖZDAL, Van YYÜ, VETERİNER FAKÜLTESİ (Alan Editörü)

Nurettin MENGEŞ, Van YYÜ, ECZACILIK FAKÜLTESİ (Alan Editörü)

Gökhan GÖRGİŞEN, Van YYÜ, TIP FAKÜLTESİ (Alan Editörü)

Pınar KOLUSARI, Van YYÜ Diş HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ (Alan Editörü)

Mehmet UĞUR, Van YYÜ, Diş HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ (Alan Editörü)

Selver KARAASLAN, Van YYÜ, SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ (Alan Editörü)

Yayın Kurulu

Nazmi YÜKSEK, Van YYÜ, Veteriner Fakültesi, Van, Türkiye

Yavuz YARDIM, Van YYÜ, Eczacılık Fakültesi, Van, Türkiye

Gökhan OTO, Van YYÜ, Tıp Fakültesi, Van, Türkiye

Fatmagül YUR, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Muğla Türkiye

Mehmet TAŞPINAR, Aksaray Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Aksaray, Türkiye

Ahmet Cemil TALMAÇ, Van YYÜ, Diş Hekimliği Fakültesi, Van, Türkiye

Canser Yılmaz DEMİR, Van YYÜ, Tıp Fakültesi, Van, Türkiye

Selver KARAASLAN, Van YYÜ, Van Sağlık Yüksekokulu, Van, Türkiye

Muneef AYYASH, Hebrew University, Kudüs

Arjun L. KHANDARE, National Institute of Nutrition, Hyderabad, India

Fadma ABI, Faculty of Medicine and Ibn Rochd University Hospital, Casablanca, Morocco (Fas)

Badre Eddine LMIMOUNI, School of Medicine and Pharmacy, University Mohamed The Fifth,

Rabat, Morocco (Fas)

DRJI, I2OR-6263, ESJI, Root Indexing, ResearchBib, Index Copernicus, Google Scholar, BASE, OpenAIRE, Asos Index, J-Gate, SIS, Türkiye Atf Dizini, InfoBase Index, IPIndexing, CABI, CAS (Chemical Abstract), EBSCO

İçindekiler

ORJİNAL ARAŞTIRMA MAKALELERİ

1. Sağlık Çalışanlarında Stres ve Stres Yönetimi Üzerine Bir Algı Çalışması: Sivas Numune Hastanesi Örneği A Perception Study on Stress and Stress Management in Healthcare Professionals: Sivas Sample Hospital Example Bilge Döndü DURDU, İlhan ÇETİN, Mustafa FİLİZ.....	1-12
2. Kastrasyon Duyarlı Metastatik Prostat Kanseri İki Prognostik Belirteç: ALP ve Gleason Skoru Two Prognostic Markers in Castration Sensitive Metastatic Prostate Cancer: ALP and Gleason Score Serkan YILDIRIM, Atiker Pınar ERDOĞAN	13-19
3. Evaluation of The Distribution of Oncology Patients Admitting to Emergency Department According to Clinical Symptoms Acil Servise Başvuran Onkoloji Hastalarının Klinik Semptomlara Göre Dağılımının Değerlendirilmesi Dilek ATİK.....	20-28
4. Erzincan Bölgesinde Çocuk Hastalarda Süpernumerer Dişlerin Yaygınlığının ve Özelliklerinin Araştırılması Investigation of Prevalence and Characteristics of Supernumerary Teeth in Pediatric Patients in Erzincan Region Serhat KARACA, Belen ŞİRİNOĞLU ÇAPAN.....	29-36
5. Bromelain has Antioxidant Effect On Methotrexate Hepatotoxicity and Nephrotoxicity Bromelain Metotreksat Hepatotoksitesi ve Nefrotoksitesi Üzerine Antioksidan Etkilidir Ali GÜREL, Kürşat KAYA.....	37-42
6. Comparison of Splenectomy Indications According to Clinicopathological Variables Splenektomi Endikasyonlarının Klinikopatolojik Değişkenlere Göre Karşılaştırılması Tolga KALAYCI, Mustafa YENİ.....	43-50
7. The Effect of Di (2-Ethylhexyl) Phthalate on Lipid Peroxidation and Antioxidant Levels in Rats Di (2-Etilhekzil) Fitalatın Ratlarda Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Düzeylerine Etkisi Merve ESKİCİ KAYA, Emine ALTIN, Ali ERTEKİN.....	51-59
8. Sıçanlarda CCl4 ile Oluşturulan Karaciğer Hasarında <i>Rheum Ribes L.</i> (Işkın, Kuersetin ve Resveratrol Tedavilerinin Sitoprotektif Etkisi Cytoprotective Effect of <i>Rheum Ribes L.</i> , Quercetin And Resveratrol Treatments On CCl4 Induced Liver Damage in Rats Sevgi ÖZTAŞ, Sema KAPTANOĞLU, Gökna OTO.....	60-68
9. Sigara ve Renklendirici İçeceklerin Mine-Dentin Kompleksinin Rengi ve Refraktif İndeksi Üzerindeki Etkileri The Effects of Cigarettes and Beverages on The Color of The Enamel-Dentin Complex and The Refractive Index Alperen DEĞİRMENCİ, Emine KARA.....	69-79

VAKA RAPORU

10. A Case of Emphysematous Pyelonephritis Improved with Medical Treatment

Medical Tedavi ile Düzelen Amfizematöz Piyelonefrit Olgusu

Mehmet ÇELİK, Ali AYRANCI, Serdar GÖK.....

80-83

11. An Extremely Large Lung Abscess; Surgical or Medical Treatment?

Büyük Bir Akciğer Apsesi; Drenaj mı Medikal Tedavi mi?

Ömür GÜNGÖR.....

84-87

DERLEME

12. Virus Benzeri Partiküller ve Aşıların Geliştirilmesinde Önemi

Virus-Like Particles and Its Importance in Vaccine Development⁹

Buket GÜL, Ferah ALKAN.....

88-94

13. miRNA'lar: Biyogenez, Analiz Yöntemleri ve Biyobelirteç Potansiyeli

miRNAs: Biogenesis, Analysis Methods and Biomarker Potential

İrem Gülfem ALBAYRAK.....

95-102

Orjinal Araştırma Makalesi/ Original Paper

Sağlık Çalışanlarında Stres ve Stres Yönetimi Üzerine Bir Algı Çalışması: Sivas Numune Hastanesi Örneği

A Perception Study on Stress and Stress Management in Healthcare Professionals: Sivas Sample Hospital Example

Bilge Döndü DURNA^{1*}, İlhan ÇETİN², Mustafa FİLİZ³

¹ Sivas Numune Hastanesi, Sivas, TÜRKİYE.

² Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A. D., Sivas, TÜRKİYE.

³ Artvin Çoruh Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Artvin, TÜRKİYE

* Sorumlu yazar: Mustafa FİLİZ. E-mail: mustafa2108@artvin.edu.tr

ÖZET

Amaç: Bu çalışma, sağlık çalışanlarının stres algılarını ve stres düzeylerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot: Veriler araştırmanın yapıldığı 27.02.2017-24.03.2017 tarihleri arasında araştırmaya katılmayı kabul eden sağlık çalışanları ile yüz yüze görüşülerek toplanmıştır. Çalışmanın evreni Sivas Numune Hastanesi'nde görev yapan 1950 sağlık personelidir. Araştırmanın örneklemini ise çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul eden 600 sağlık personelidir. Veri toplama aracı olarak "Algılanan Stres Ölçeği" ve katılımcıların demografik özelliklerini belirlemek üzere araştırmacılar tarafından oluşturulan "Kişisel Bilgi Formu" sorular kullanılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde iki grup arasındaki farkı belirlemek için bağımsız iki örnek t testi ve ikiden fazla grup durumunda parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında tek yönlü ANOVA testi uygulanmıştır.

Bulgular: Elde edilen bulgulara göre, sağlık çalışanlarının genel olarak ortalamanın üstünde stres yaşadıkları, ebe-hemşire mesleğinde olanların diğer meslek gruplarına göre daha çok stres yaşadıkları ve kadınların stres seviyelerinin erkeklerin stres seviyesine göre daha yüksek oldukları görülmüştür. Diğer yandan yaş, eğitim, hizmet yılı, kurumda çalışma süresi, çalışılan bölüm, mevcut bölümde çalışma süresi, medeni durum ve çalışılan bölümde risk durumu değişkenlerine göre çalışanların stres düzeyleri arasında ilişki görülmemiştir.

Sonuç: Genel olarak sağlık çalışanların orta düzeyde stres yaşadıkları, kadınların erkeklere göre daha fazla stres yaşadıkları, yaş, eğitim seviyesi gibi değişkenler arasında stres düzeyi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Stres, Stres yönetimi, Sağlık çalışanları, Algılanan stres.

ABSTRACT

Objective: This study was conducted to determine the stress perceptions and stress levels of healthcare professionals.

Material and Method: The data were collected by face-to-face interviews with healthcare professionals who agreed to participate in the research between 27.02.2017-24.03.2017, when the research was conducted. The population of the study is 1950 health personnel working in Sivas Numune Hospital. The sample of the study is 600 health personnel who voluntarily agreed to participate in the study "Perceived Stress Scale" as data collection tool and "Personal Information Form" questions created by the researchers to determine the demographic characteristics of the participants were used. In order to determine the difference between the two groups in the evaluation of the data, an independent two-sample t-test and a one-way anova test were applied in the comparison of the parameters between groups in the case of more than two groups.

Results: According to the results, it was observed that healthcare workers generally experience stress above average, those in the midwife-nurse profession experience more stress than other occupational groups, and the stress levels of women are higher than that of men. On the other hand, there was no correlation between the stress levels of the employees according to the variables of age, education, years of service, duration of service in the institution, the department employed, the duration of the current department, marital status and the risk status in the department.

Conclusion: In general, health workers experience moderate stress, there was no significant relationship between stress level among variables such as age, education level, and women experience more stress than men.

Keywords: Stress, Stress management, Healthcare workers, Perceived stress.

Atıf Yapmak İçin. Durna BD, Çetin İ, Filiz M. Sağlık çalışanlarında stres ve stres yönetimi üzerine bir algı çalışması: Sivas Numune Hastanesi örneği. *Van Sag Bil Derg* 2022, 15, (1) 1-12. <https://doi.org/10.52976/vansaglik.808956>.

Geliş Zamanı:10/11/2020

Kabul Zamanı:12/02/2021

Basılma Zamanı: 30/04/2022

GİRİŞ

Yirmi birinci yüzyılda birçok problem olmakla beraber, hayatın birçok döneminde karşımıza çıkması ve etki dairesinin büyük olmasından dolayı stres, önemli bir faktör olmaktadır. Günümüz toplumu algılasa da algılamasa da birçok yönden stres oluşturan faktörlerle karşı karşıya kalmaktadır. Stresin az olması bireyi daha dikkatli yaşamaya sevk ederken, yoğun stres ciddi tehlikelere yol açmaktadır.

Stres, Latince "estrica", eski Fransızcada ise "estrece" terimlerinden oluşmuştur. Avrupa'da sıkıntı, bela, müsibet ve felaket anlamlarını temsil etmiştir (Altıntaş, 2003). Stresin değişik medeniyetler ve toplumlarda da karşılığını bulmak mümkündür. Örneğin, Çince de stresi ifade eden kavram, tehlike ve fırsatın karışımını içermektedir (Rowshan, 2000; Gökler ve Işıtan, 2012).

Stres, hem somut hem de soyut bütün güçlüklerle karşı mücadele ederek orta halin yakalanmasıdır. Stres, hayatın bir parçadır. Yani hayat akışı içerisinde birey istese de istemezse de stres oluşturuca faktörlere maruz kalmaktadır (Demir, 2002; İstar, 2012). Stres hayatın her yerinde olduğu gibi iş ortamında da önemli bir faktör olmaktadır. Zamanının çoğunu iş ortamında geçiren çalışanlar üzerinde, stres faktörlerinden ve strese bağlı hastalıklardan sıklıkla söz edilmektedir. Bu da gösteriyor ki bireylerde strese yol açan unsurlar arasında, ilk sırayı çalışma hayatının yer aldığını söylemek doğru olacaktır (Güney, 2013; Yıldız ve ark., 2015). Özellikle son yıllarda artan iş temposu, yüksek iş beklentileri, kalite anlayışının artması ve müşteri isteklerinin yükselmesi ile beraber stres olgusu daha çok gündem olmaktadır. Birleşmiş Milletlerin 1992'de hazırlamış olduğu raporda, stresi bir hastalık olarak vurgularken, Dünya Sağlık Örgütü, stresin dünya üzerinde bir salgın hastalık haline geldiğini öne sürmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir araştırmada, çalışanların yaklaşık %40'ının iş stresine maruz kaldıklarını bulgulamıştır (Sauter ve ark., 1999).

Stresin iş yerinde önemli bir bileşeni de örgütsel strestir. Örgütsel stres, bireyi olağan fonksiyonlarından alıkoyan ruhsal veya fizyolojik davranışlarında değişiklik meydana getiren işle alakalı faktörlerin neticesinde oluşan psikolojik bir durumdur (Sökmen, 2010). Başka bir ifadeyle örgütsel stres, örgütle ya da işle ilgili herhangi bir beklentiye karşı bireyin enerjisinin harekete geçmesidir. Örgütsel stres, çalışanın sahip olduklarının talepleri yeteri kadar karşılamadığında ortaya çıkan bir durum olarak da adlandırılabilir (Aydın ve Kutlu, 2007; Gökgez, 2013). Örgütsel strese neden olan faktörler fiziksel ve yönetsel olarak ikiye ayrılmaktadır. Fiziksel faktörlere, işyerinin işi yapmak için uygun olmaması, havasız ve gürültülü bir çalışma alanı, araç-gereçlerin yetersiz olması gibi durumlar örnek verilebilir. Yönetsel faktörlere ise, örgütsel kararlara katılmama, rol belirsizliği, aşırı iş yükü, yanlış ücret politikası gibi durumlar örnek verilebilir (Arrington, 2008).

Sonuç olarak örgütsel stres, çalışanın sahip olduğu yetenek ve kapasitesinin iş gereklerini yerine getirememesi durumunda ortaya çıkan duysal ve ruhsal tepkiler bütünü olarak ifade edilmektedir (Park, 2007). İşin şartlarını yerine getirmede, çalışanın bireysel olanakları ve kişisel becerileri arasında bir uyumsuzluk söz konusu olduğunda örgütsel stres oluşmaktadır (Gökgez, 2013).

Stres, örgüt üzerinde çeşitli boyutlarda etkiye sahip olmaktadır. Örgütün verimliliğini sağlamada en önemli kaynak olan insan kaynaklarının yabancılaşma ve düşük performans sergilemelerine neden olmaktadır. Diğer yandan yoğun strese maruz kalan bir çalışan hem yeterli iş gücünü ortaya koymayacaktır. Hem de sağlığını kaybettiği için sağlık harcamalarının artmasına neden olacaktır. Bu durum, iki yönlü örgütlere zarar verecektir (Okutan ve Tengilimoğlu, 2002). Örneğin, Fransa'da 2007 yılı itibari ile iş stresinin ulusal maliyeti 2 ila 3 milyar avro iken İngiltere'de 2009-2010 yılları arasında 9,8 milyon çalışma gününün stres kaynaklı devamsızlıklar yüzünden zarara uğradığı tespit edilmiştir (EIOSH, 2014).

Her kurumda çalışanlar belli oranda stres oluşturuvcu faktörlere maruz kalmaktadır. Ancak bazı kurum ve meslekler daha fazla stres oluşturuvcu faktörleri içerebilmektedir. Literatürde gardiyanlık, emniyet çalışanları, öğretmenler, ambulans şoförleri, hemşireler, doktorlar, itfaiyeciler, diş hekimleri ve askerler gibi meslek gruplarının daha fazla stres yaşadıkları görülmüştür (Çınar, 2011). Bütün sağlık sistemlerinde çalışanların motive olması istenilen bir durumdur (Filiz, 2020). Sağlıkta dönüşüm programının önemli bir hedefi de motive olmuş ve stres yükü azaltılmış çalışanların sağlanmasıdır (Filiz ve Karagöz, 2020). Ancak ne kadar hedef belirlense ve önlem alınsa da sağlık çalışanları birçok stres oluşturuvcu faktörlere maruz kalmaktadır. Stres artıkça bireyin işinde hata yapma olasılığı da artmaktadır. Sağlık çalışanlarının yaptıkları hatalar hastaların ciddi zarar görmelerine hatta ölümlerine yol açtığı için yapılan hata ciddi sonuçlar doğurmaktadır. Çalışanların stresi kontrol edebilmeleri ve en önemlisi stres oluşturan unsurların belirlenerek etkisinin azaltılması önem arz etmektedir.

Bu çalışmada; sağlık çalışanlarında stres yaşama düzeyleri ve stres yönetimi algıları araştırılmıştır. Sağlık çalışanlarının stres yönetim becerileri üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada, örneklem geniş tutularak derinlemesine veri sağlanması amaçlanmıştır. Ayrıca bu çalışmada sağlık çalışanlarının gerek mesleki gerekse kurumsal olarak çalışma koşullarının iyileştirilmesi, hasta ve çalışan açısından hizmet kalitesinin ve iş doyumunun artırılması, karşılaşılan risklerin en asgariye indirilmesi ve stresin azaltılmasına yönelik yapılacak çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

MATERYAL ve METOT

Araştırmanın Evren ve Örnekleme: Araştırmanın evreni Sivas Numune Hastanesi'nde görev yapan 1950 sağlık personelidir. Araştırmanın örnekleme ise çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul eden 504 sağlık personeli oluşturmaktadır. Veriler

araştırmanın yapıldığı 27.02.2017-24.03.2017 tarihleri arasında araştırmaya katılmayı kabul eden sağlık çalışanları ile yüz yüze görüşülerek yapılmıştır. Çalışmada 600 adet anket elde edilmiştir. Ancak 96 adet anket, hatalı veya eksik doldurulduğu için analize dahil edilmemiştir. Bu yüzden 504 adet anket üzerinden analiz yapılmıştır. Literatür analiz edildiği zaman 1.000.000-100.000.000 arasındaki evreni 384 örneklem %95 güven aralığı ve %5 hata payı ile temsil edebildiği görülmüştür (Yazıcıoğlu ve Erdoğan, 2004). Bu açıdan 1950 sağlık çalışanı için 384 sağlık çalışanın örneklem olarak alınması yeterli olacaktır. Ancak çalışmada daha iyi sonuçlar elde etmek ve örneklem sayısına erişimin kolay olmasından dolayı 600 sağlık çalışanına ulaşılmıştır. Çalışmada hastanede görev alan sağlık çalışanları, yardımcı sağlık hizmetleri statüsünde çalışanlar ve idari çalışanlar dahil edilmiştir.

Veri Toplama Araçları: Araştırmada veri toplama aracı olarak "Kişisel Bilgi Formu" ve "Algılanan Stres Ölçeği" kullanılmıştır

Kişisel bilgi formu; bu bölümde katılımcıların cinsiyet, yaş, eğitim durumu, medeni durum, çalışma süresi, çalışılan birimin riskli alanda yer alıp almaması gibi değişkenler olmak üzere toplamda 10 sorudan oluşmaktadır.

Algılanan Stres Ölçeği; tek boyuttan oluşana ölçek, Cohen ve ark., (1983) tarafından geliştirilen ve Eskin ve ark., (2013), tarafından Türkçe güvenilirlik ve geçerlilik çalışması yapılmıştır. "Algılanan Stres Ölçeği" Ölçek, 0,76 değeri ile güvenilirlidir. Bu çalışmada ise Cronbach Alpha değeri 0,84.5 olarak bulgulanmıştır. Bu değer literatüre göre verilerin güvenilirliği için yeterli görülmektedir. Cronbach Alfa güvenilirlik katsayısı, bir veri toplama aracının yeterli olarak görülebilmesi için mümkün olduğunca 1'e yakın olmalıdır. 0.70 ve üzeri değer aldığımda ise iyi bir güvenilirliğe işaret etmektedir (Karagöz, 2016). Bu ölçek, yaygın olarak literatürde kullanıldığı için tercih edilmiştir. 14 adet maddeden oluşan ölçek, algılanan stresin düzeyini ölçmektedir. 5'li likert şeklinde tasarlanan ölçekte (1) "Hiçbir zaman", (2)

“Neredeyse Hiçbir zaman”, (3) “Bazen”, (4) “Oldukça sık” ve (5) “Çok sık” şeklinde kodlanmıştır. Verilen cevaplar bu kodlar üzerinden toplanmıştır. Ancak ifadelerin olumsuzluğu sebebiyle recode denilen ters kodlamaları yine bu sisteme göre yapılmış bazı sorularda (4, 5, 6, 7, 9, 10 ve 13) kodlar ters bir şekilde programa girilmiştir.

Araştırmanın Etik Yönü: Çalışma gerçekleşmeden önce Cumhuriyet Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulundan etik kurul onayı için başvuru yapılmış ve 13/02/2017 tarihli 38623810-021 sayılı karar ile onay alınmıştır. Daha sonra Sivas Numune Hastanesinde araştırmayı yapmak üzere, etik kurul kararıyla beraber izin başvurusu yapılmış ve 17/02/2017 tarihli 75723911-044 sayılı kararı ile izin alınmıştır. Çalışma için gerekli izinler alındıktan sonra araştırmaya dahil olan sağlık personeline anket ile ilgili bilgi verilmiş ve yazılı onamları alınarak veriler toplanmıştır.

Verilerin Değerlendirilmesi: Elde edilen veriler, bilgisayar destekli istatistik analiz programlarından biri olan SPSS 18.0 versiyonu ile analize tabi tutulmuştur. Verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotlar (Sayı, Yüzde, Ortalama, Standart sapma) kullanılmıştır. Öncelikle katılımcılara yönelik demografik bilgilerin ve diğer cevapların frekans tablolarına yer verilmiştir. Çalışma kapsamındaki hipotezlerin test edilmesinde iki grup arasındaki farkı belirlemek için bağımsız iki örnek t testi ve ikiden fazla grup durumunda parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında tek yönlü ANOVA testi uygulanmıştır.

BULGULAR

Araştırma kapsamına alınan sağlık çalışanlarının tanıtıcı özellikleri tablo 1’de gösterilmiştir. Sağlık çalışanlarının, %39,3’ünün 34-41 yaş grubunda, %60,3’ünün kadın, %36,7’sinin lisans mezunu, %77,2’sinin evli olduğu görülmüştür. Diğer

yandan katılımcıların, %50,6’sının ebe-hemşire olarak görev yaptığı, %51,8’i riskli birimlerde çalıştığı, %36,5’i meslekte toplam hizmet süresinin 9-16 yıl olduğu, %55,8’i şu anki buldukları hastanede çalışma süresinin 1-8 yıl olduğu, %62,9’u çalıştığı bölümde çalışma süresinin 1-8 yıl arasında olduğu, %41,7’inin ise servislerde çalıştığı belirlenmiştir.

Tablo 2’ye göre geçtiğimiz bir ay içinde, beklenmedik şeylerin olması nedeniyle duyulan rahatsızlığa verilen %52,6 bazen cevabı ile insanların stres yaşadıkları söylenebilir. Katılımcıların hayatlarındaki önemli olayları kontrol edememekten dolayı %46,8 oranı ile bazen stres yaşadıkları söylenebilir. Katılımcılar %49,8 oranıyla kendilerini bazen sınırlı ve stresli hissetmişlerdir. Gündelik zorlukların üstesinden %53,8 oranında başarıyla geldiği ve bu durumun kendilerinde stres yaratmadığı söylenebilir. Stres yaşamadan hayatlarındaki önemli değişikliklerle etkili bir biçimde başa çıktıklarını %47,4 oranında hissetmişlerdir. Kişisel sorunlarını ele alma yeteneğine stres yaşamadan %51,6 oranında güven duydukları söylenebilir. Her şeyin yolunda gittiğini %45,8 oranında hissederek bazen stres yaşadıkları söylenebilir. Yapılması gereken şeylerle başa çıkılmadığının fark edilmesine %48,6 oranında bazen seçeneğini tercih etmişlerdir. Hayatlarındaki zorlukları %46,8 oranında kontrol etmişlerdir. Her şeyin üstesinden gelinme hissini %45 sıklığında hissetmişlerdir. Kontrol dışında gelişen olaylar yüzünden öfkelenme sıklığına %45,2 oranında bazen denilmiştir. Başarmak zorunda olunan şeyleri düşünme oranı %67,6 olarak tespit edilmiştir. Zamanlarını nasıl kullanacaklarını %43,7 oranında kontrol edebilmişlerdir. Problemlerin üstesinden gelinemeyecek kadar biriktiğini hissetme sıklığına %54,8 oranında bazen cevabı vermişlerdir.

Tablo 1. Katılımcıların Demografik Özellikleri

Değişkenler		Sayı	%
Cinsiyet	Kadın	304	60,3
	Erkek	200	39,7
Yaş	18 – 25	38	7,5
	26 – 33	134	26,6
	34 – 41	198	39,3
	42 – 49	109	21,6
	50 yaş ve üzeri	25	5,0
Eğitim durumu	Lise	42	8,3
	Ön lisans	183	36,3
	Lisans	185	36,7
	Lisansüstü	94	18,7
Medeni durum	Evli	389	77,2
	Bekar	94	18,7
	Eşinden ayrılmış	16	3,2
	Eşi vefat etmiş	5	1,0
Meslek grubu	Doktor	64	12,7
	Ebe-Hemşire	255	50,6
	Sağlık Teknikeri	143	28,4
	İdari personel	42	8,3
Çalışılan birimin risk sınıflandırması	Riskli birim	261	51,8
	Risksiz birim	243	48,2
Meslekte çalışma süresi (yıl)	1–8 Yıl	140	27,8
	9–16 Yıl	184	36,5
	17–24 Yıl	127	25,2
	25- 32 Yıl	38	7,5
	33 Yıldan fazla	15	3,0
Kurumda çalışma süresi (yıl)	1 Yıldan az	24	4,8
	1–8 Yıl	281	55,8
	9– 16 Yıl	121	24,0
	17–24 Yıl	51	10,1
	25- 32 Yıl	22	4,4
Çalıştığı Bölümde Çalışma Süresi(yıl)	1 Yıldan az	75	14,9
	1-8 Yıl	317	62,9
	9-16 Yıl	78	15,5
	17-24 Yıl	22	4,4
	25-32 Yıl	12	2,4
Katılımcıların Çalıştığı Bölüm	Laboratuvar	44	8,7
	Radyoloji Birimleri	31	6,2
	Yoğun Bakım Üniteleri	50	9,9

Servisler	210	41,7
Birimler	152	30,2
İdare	17	3,4

Tablo 2. Katılımcıların Verdiği Cevapların Frekans Dağılımı

Geçtiğimiz bir ay içinde,	Hiçbir Zaman		Neredeyse Hiçbir Zaman		Bazen		Oldukça Sık		Çok Sık	
	N	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1.Beklenmedik bir şeylerin olması nedeniyle ne sıklıkta rahatsızlık duydunuz?	48	9,5	58	11,5	265	52,6	101	20,0	32	6,3
2.Hayatınızdaki önemli şeyleri kontrol edemediğinizi ne sıklıkta hissettiniz?	33	6,5	69	13,7	236	46,8	117	23,2	49	9,7
3.Kendinizi ne sıklıkta sinirli ve stresli hissettiniz?	8	1,6	23	4,6	251	49,8	153	0,4	69	13,7
4.Ne sıklıkta gündelik zorlukların üstesinden başarıyla geldiniz?	6	1,2	23	4,6	204	40,5	212	42,1	59	11,7
5.Hayatınızda ortaya çıkan önemli değişikliklerle etkili bir şekilde başa çıktığınızı ne sıklıkta hissettiniz?	7	1,4	36	7,1	222	44,0	178	35,3	61	12,1
6.Kişisel sorunlarınızı ele alma yeteneğinize ne sıklıkta güven duydunuz?	14	2,8	21	4,2	209	48,6	198	39,3	62	12,3
7.Her şeyin yolunda gittiğini ne sıklıkta hissettiniz?	27	5,4	89	17,7	231	46,8	129	25,6	28	5,6
8.Ne sıklıkta yapmanız gereken şeylerle başa çıkamadığınızı fark ettiniz?	32	6,3	114	22,6	245	45,0	89	17,7	24	4,8
9.Hayatınızdaki zorlukları ne sıklıkta kontrol edebildiniz?	23	4,6	48	9,5	236	45,2	69	33,5	28	5,6
10.Ne sıklıkta her şeyin üstesinden geldiğinizi hissettiniz?	16	3,2	38	7,5	227	45,0	188	37,3	35	6,9
11.Ne sıklıkta kontrolünüz dışında gelişen olaylar yüzünden öfkelen-diniz?	9	1,8	42	8,3	228	45,2	157	31,2	68	13,5
12.Kendinizi ne sıklıkta başarmak zorunda olduğunuz şeyleri düşünürken buldunuz?	3	0,6	27	5,4	133	26,4	165	32,7	176	34,9
13.Ne sıklıkta zamanınızı nasıl kullanacağınızı kontrol edebildiniz?	14	2,8	56	11,1	220	43,7	161	31,9	53	10,5
14.Ne sıklıkta problemlerin üstesinden gelemeyeceğiniz kadar b-riktüğünü hissettiniz?	42	8,3	94	18,7	276	54,8	65	12,9	27	5,4

Tablo 3'e göre stres ortalama puanları cinsiyete göre anlamlı bir farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Ortalamalara bakıldığında zaman kadınların ortalaması (2,9979) erkeklerden (2,8596) daha yüksektir. Buna göre kadınlar erkeklere göre daha çok strese girmekte ve daha yüksek stres seviyesine sahip oldukları görülmüştür.

Tablo 4'e göre meslek gruplarının ortalama değerlerine bakıldığında, birbirine yakın olmadığı görülmektedir. Güven aralıklarının bazılarının kesişmemesi de farklı meslek gruplarının ortalama-ları arasında fark olduğu yorumu yapılır.

Tablo 3. Cinsiyete Göre Bağımsız Örneklem Testi

	Cinsiyet	N	Ortalama	SS	t	p
Stres ortalaması	Kadın	304	2,9979	0,51542	2,952	0,003
	Erkek	200	2,8596	0,51280		

Tablo 4. Meslek Gruplarına Göre Belirleyici İstatistikler

	N	Ort	ss	Min	Max
Ebe-Hemşire	255	3,0042	0,48466	1,21	5,00
Sağlık Teknikeri	143	2,9206	0,57912	1,57	4,86
Doktor	64	2,7924	0,46163	1,86	3,79
İdari Personel	42	2,8776	0,53552	1,71	4,07

Tablo 5'te yapılan ANOVA testinde, p değeri 0,05'den küçük olduğundan ($p=0,019<0,05$) gruplar arasında fark vardır. Bu durumda meslek gruplarının stres ortalamaları farklıdır. Bu farklılığı tespit etmek için Post Hoc çoklu karşılaştırma testlerinden hangisinin kullanılacağına karar vermede homojenlik testine bakılır. Homojenlik testinin sig. değeri (0,05)'ten büyük ise ana kütle varyanslarının

aynı (homojen) olduğuna karar verilir ve çoklu karşılaştırmada eşit varyans yaklaşımını kullanan Tukey testi uygulanır. Homojenlik testinin sig. değeri (0,05)'ten küçük ise ana kütle varyanslarının farklı olduğuna karar verilir ve çoklu karşılaştırmada eşit olmayan varyans yaklaşımını kullanan Tamhane T2 testi kullanılır.

Tablo 5. Meslek Gruplarına Göre Tek Yönlü Varyans Analizi

	Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar Arası	2,658	3	0,886	3,344	0,019
Gruplar İçi	132,471	500	0,265		
Toplam	135,129	503			

Tablo 6'ya göre p değeri 0,05'den büyük olduğundan ($p=0,189>0,05$) ana kütle varyanslarının aynı (homojen) olduğuna karar verilir. Bu durumda,

çoklu karşılaştırmada "eşit varyans" yaklaşımını kullanan Tukey testi yapılabilir

Tablo 6. Varyansların Homejenlik Testi

Stres Ortalaması			
Levene İstatistiği	Serbestlik Derecesi 1	Serbestlik Derecesi 2	P
1,597	3	500	0,189

Tablo 7'ye bakıldığında, ebe-hemşire ve sağlık teknikeri meslek gruplarının p değeri 0,05'ten büyük olduğundan ($p=0,405>0,05$), bu iki meslek gruplarının ortalamaları arasında fark yoktur (Ebe-Hemşire= 3,0042, Sağlık Teknikeri= 2,9206). Bu meslek gruplarının ortalamaları arasındaki fark rassal sebeplerden meydana gelmiştir. Ebe-Hemşire ile doktor meslek gruplarının p değeri 0,05'ten küçük olduğundan ($p=0,018<0,05$), bu iki meslek gruplarının ortalamaları arasında farklılık vardır (Ebe-Hemşire= 3,0042, Doktor=2,7924). Ebe-Hemşire ve idari personel meslek gruplarının p değeri 0,05'ten büyük olduğundan ($p=0,452>0,05$), bu iki meslek gruplarının ortalamaları arasında fark yoktur (Ebe-Hemşire= 3,0042, İdari personel= 2,8776). Bu meslek gruplarının ortalamaları arasındaki fark rassal sebeplerden meydana gelmiştir. Dolayısıyla Ebe-Hemşire ve İdari Personel meslek gruplarının ortalamaları aynı, Doktorların ortalaması ise bu iki meslek

grubunun ortalamalarından farklıdır. Sağlık Teknikeri ile Doktor arasında p değeri 0,05'ten büyük olduğundan ($p=0,348>0,05$), bunlar arasında stres açısından farklılık yoktur. Sağlık Teknikeri ile idari Personel arasında p değeri 0,05'ten büyük olduğundan ($p=0,964>0,05$), bunlar arasında stres açısından farklılık yoktur. Doktor ile İdari Personel arasındaki p değeri 0,05'ten büyük olduğundan ($p=0,839<0,05$), bunlar arasında stres açısından farklılık yoktur. Tablo 8'e göre, yapılan ANOVA testinde çalışmaya katılan personelin yaş, eğitim, hizmet yılı, kurumda çalışma süresi, çalışılan bölüm, mevcut bölümde çalışma süresi, medeni durum ve çalışılan bölümde risk durumu değişkenlerine göre gruplar arasında fark yoktur. Bu durumda yukarıda ifade edilen değişkenlere göre grupların stres ortalamaları benzer olup herhangi bir farklılık görülmemiştir.

Tablo 7. Meslek Gruplarına Göre Tukey Testi

Meslek Grubu		Ortalamalar Farkı	P	Grup Sonuçları
1.Grup	2.Grup			
Ebe-Hemşire	Sağlık teknikeri	0,08362	0,405	3,0042
	Doktor	0,21179*	0,018	
	İdari personel	0,12665	0,452	
Sağlık teknikeri	Ebe-Hemşire	-0,08362	0,405	2,9206
	Doktor	0,12817	0,348	
	İdari personel	0,04303	0,964	
Doktor	Ebe-Hemşire	-0,21179*	0,018	2,7924
	Sağlık teknikeri	-0,12817	0,348	
	İdari personel	-0,08514	0,839	
İdari personel	Ebe-Hemşire	-0,12665	0,452	2,8776
	Sağlık teknikeri	-0,04303	0,964	
	Doktor	0,08514	0,839	

TARTIŞMA

Sağlık çalışanlarının stres algıları ve stres düzeylerini belirli değişkenlere göre değerlendirilmesi amaçlanan bu çalışmada önemli bulgulara rastlanmıştır. Bu bölümde analiz sonucunda elde edilen bulgular doğrultusunda, literatürde yapılan

benzer çalışmaların bulguları ile karşılaştırılarak tartışılmıştır.

Çalışmada elde edilen bulgulara göre kadınlar erkeklere göre daha çok strese girmekte ve daha yüksek stres seviyesine sahip oldukları görülmüştür. Bu sonucu destekler nitelikte Misra (2000), Liu ve

ark., (2007), Gür ve ark., (2018), Alaşık (2020) ve Taçgın (2020) çalışmalarında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kadınların daha hassas olmaları ve duygusal yönlerinin güçlü olmasından dolayı stres algılarının ve düzeylerinin yüksek olması beklenen

bir durumdur. Hem iş ortamı hem de aile hayatında kadından beklenen rollerinde stres üzerinde önemli etkisi olduğu düşünülmektedir.

Tablo 8. Belirli Değişkenlere Göre Tek Yönlü Varyans Analizi

		Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Yaş Değişkeni	Gruplar Arası	1,042	4	0,260	0,969	0,424
	Gruplar İçi	134,088	499	0,269		
	Toplam	135,129	503			
Eğitim Değişkeni	Gruplar Arası	0,803	3	0,268	0,997	0,394
	Gruplar İçi	134,326	500	0,269		
	Toplam	135,129	503			
Hizmet Yılı Değişkeni	Gruplar Arası	1,128	4	0,282	1,050	0,381
	Gruplar İçi	134,001	499	0,269		
	Toplam	135,129	503			
Kurumda Çalışma Süresi Değişkeni	Gruplar Arası	1,345	5	0,269	1,001	0,416
	Gruplar İçi	133,785	498	0,269		
	Toplam	135,129	503			
Çalışan Bölüm Değişkeni	Gruplar Arası	2,234	5	0,447	1,674	0,139
	Gruplar İçi	132,896	498	0,267		
	Toplam	135,129	503			
Çalışılan Bölümde Çalışma Süresine Göre	Gruplar Arası	0,062	4	0,016	0,058	0,994
	Gruplar İçi	135,067	499	0,271		
	Toplam	135,129	503			
Medeni Duruma Göre	Gruplar Arası	0,877	3	0,292	1,089	0,353
	Gruplar İçi	134,252	500	0,269		
	Toplam	135,129	503			
Çalışılan Birimin Risk Durumu	Gruplar Arası	0,044	1	0,044	0,162	0,687
	Gruplar İçi	135,086	502	0,269		
	Toplam	135,129	503			

Bu çalışmada çalışanların yaş değişkeni ile stres düzeyleri arasında herhangi bir ilişki olmadığı görülmüştür. Bu sonuçlardan farklı olarak Aslan ve ark., (1996) ve Aslan ve ark., (2008) çalışmalarında yaş artıca stres düzeyinin azaldığı görülmüştür. Diğer ifade ile kişi yaşlandıkça iş ortamından kaynaklı strese daha az maruz kaldığı görülmüştür. Sünter (2006) ve Atasoy ve Yorgun (2013) yaptıkları çalışmada yaş değişkenine göre en yüksek stres

düzeyine sahip grubun 30-39 yaş grubunda ki kişilerin olduğu görülmüştür. Literatürde yaş değişkenine göre farklı farklı sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Bundan dolayı yaş değişkeni ve stres düzeyi hakkında kesin bir fikre varmak ve farklılığın nedenini açıklamak mümkün görülmemektedir.

Bu çalışmada çalışanların eğitim düzeyi değişkeni ile stres düzeyleri arasında herhangi bir ilişki olmadığı görülmüştür. Bu sonuçların aksine olarak Atasoy ve

Yorgun (2013) çalışmalarında ön lisans mezunlarının diğer gruplara nispeten daha çok stres yaşadıkları görülmüştür. Çakar (2016) çalışmasında ilköğretim mezunlarının nispeten daha az stres düzeyine sahip olduklarını bulgulamıştır. Diğer yandan Gür ve ark., (2018) çalışmalarında okuryazar eğitim düzeyine sahip çalışanların nispeten çok daha fazla stres yaşadıklarını bulgulamıştır.

Genel itibariyle eğitim düzeyi artıkça daha fazla sorumluluk veya çok yönlü düşünebilme gibi becerilerin artmasından dolayı eğitim seviyesi ile stres paralellik göstermektedir. Bu çalışmada bu ilişkinin saptanmamasının nedeni olarak katılımcıların büyük çoğunluğunun birbirine yakın olan lisans ve ön lisans mezunu olmasından dolayı kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada çalışanların hizmet yılı değişkeni ile stres düzeyleri arasında herhangi bir ilişki olmadığı görülmüştür. Arıkan ve Karabulut (2004) ise çalışmalarında hizmet yılı artıkça ortalama stres düzeyinin arttığı, ancak hizmet yılı ile stres düzeyi arasında ilişki olmadığı görülmüştür. Sünter (2006) yaptığı çalışmada ise hizmet yılı 10 yıl ve üstü olan çalışanların hizmet yılı 5 yıl ve altı olan çalışanlara nispeten daha fazla stres düzeyine sahip oldukları görülmüştür. Atasoy ve Yorgun (2013) yapmış oldukları çalışmada hizmet yılı 6-10 yıl arasında olan çalışanların diğer hizmet yılı gruplarına göre daha fazla stres yaşadıkları görülmüştür. Çalışmanın ilk yıllarında var olan motivasyon sayesinde ve emekliliğe yakın yıllarda stres düzeyinin az olması beklenen bir durumdur. Ancak genel olarak 5 yıl ve üzeri hizmet yılından sonra stres düzeyinin arttığı görülmüştür. Bu çalışmada ise hizmet yılı ile stres düzeyi arasında herhangi bir ilişki olmadığı görülmüştür. Literatürden farklı sonuç elde edilmesinin katılımcıların %64,3'nün 16 ve altı hizmet yılına sahip olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmada elde edilen bulgulara göre ebe-hemşirelerin doktorlardan daha yüksek stres düzeyine sahip oldukları görülmüştür. Çalışmada diğer

meslek grupları arasında herhangi bir farklılık olmadığı görülmüştür. Engindeniz (2010), Atasoy ve Yorgun (2013) yapmış oldukları çalışmada sağlık memurlarının diğer meslek gruplarına göre daha fazla stres yaşadıkları görülmüştür. Ebe, hemşire ve sağlık memurları gibi meslek gruplarının birden fazla üste karşı sorumlu olmalarından dolayı stresin yaşandığı düşünülmektedir. Diğer ifade ile bu meslek grupları matris yapıda çalıştıkları için daha fazla stres içeren faktörlerle karşılaşmaktadır.

Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen verilere göre sağlık çalışanlarının orta düzeyde stres yaşadıkları, kadınların erkeklere göre daha fazla stres yaşadıkları, yaş, medeni durum, çalışma süresi, meslek, kurumda çalışma süresi, çalışılan bölüm ve çalışılan bölümün riskli olup olmaması gibi değişkenlerle stres düzeyi ve stres yönetimi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Kurumlar, bir sorun ortaya çıktıktan sonra değil, daha en başında önleyici hizmet verme yoluyla stresle mücadele etmelidir. Görev tanımı ve dağılımı, astları yetkilendirme personel açısından iyi yapılmalıdır. Çalışanı güdüleyici takdir etme ve ödüllendirerek teşvik etme faaliyetleri artırılmalıdır. İşyerinde kişilerarası iletişimin ve motivasyon yükseltici etkinliklerin var olması, mevcut stres kaynaklarını minimize etmekte ve çalışanların verimliliklerini arttırmaktadır. Sağlık çalışanlarına yönelik ulusal düzeyde veya her kurum kendi içerisinde stres yönetimine yönelik eğitim verilmeli. Hasta yoğunluğunun dağılımını ayarlayıcı tedbirler alınmalıdır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Bu makale 531392 numaralı tezden üretilmiştir.

KAYNAKLAR

- Alaşık O. (2020). Gazi Üniversitesi Tıp, Diş Hekimliği ve Sağlık Bilimleri Fakülteleri Son Sınıf Öğrencilerinde Algılanan Stres Düzeyi ve Depresyon Belirtileri Sıklığının Değerlendirilmesi. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi. Ankara.
- Altıntaş E (2003). Stres Yönetimi. Alfa Yayınları. İstanbul.
- Arıkan D, Karabulut N. (2004). Hemşirelerde işe bağlı gerginlik ve bunu etkileyen faktörlerin belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi*, 7(1), 10-19.
- Arrington P. (2008) Stress at Work: How Do Social Workers Cope? National Association of Social Workers, Washington.
- Aslan SH. (2008). İşe bağlı gerginlik ölçeğinin sağlık alanında çalışanlarda geçerlik ve güvenilirliği. *Düşünen Adam*, 11(2), 4-8.
- Aslan SH, Aslan H, Gürkan BS, Girginer HU (1996). İşe bağlı gerginlik ölçeğinin bir hemşire örneğinde geçerlik ve güvenilirliği. *Psikiyatri Psikoloji Psikiyatri Dergisi*, 4(4), 276-283.
- Atasoy A, Yorgun S. (2013). Sağlık çalışanlarında iş gerilimi ve iş stres düzeyinin değerlendirilmesi. *Sağlıkta Performans ve Kalite Dergisi*, 6(2), 71-88.
- Aydın R, Kutlu Y. (2007) Hemşirelerde iş doyum ve kişiler arası çatışma eğilimi ile ilgili değişkenler ve iş doyumunun çatışma eğilimi ile olan ilişkisini belirleme. *Cumhuriyet Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi*, 5(2), 37-45.
- Cohen S, Kamarck T, Mermelstein R. (1983). A global measure of perceived stress. *Journal of Health and Social Behavior*, 24, 385-396.
- Çakar T. (2016). Türk imalat sanayinin örgütsel stres faktörlerinin ölçülmesi. *Fırat Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi* 28(2), 109-118
- Çınar O. (2011). Eğitim ve sağlık alanı çalışanlarının iş stresi düzeyler. *ESOSDER*, 9(33), 101-121.
- Demir AH. (2002). İlköğretim Öğrencilerinde Stres Yaratan Yönetici Davranışları ve Öğrencilerin Başa Çıkma Davranışları, Ankara Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Engindeniz F. (2010). İzmir İl Sağlık Müdürlüğü Acil Hizmetler Şubesi ve 112 Ambulans Servisinde Çalışan Personelin İş Stresinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Halk Sağlığı Anabilim Dalı. İzmir.
- Eskin M, Harlak H, Demirkıran F, Dereboy Ç. (2013). Algılanan stres ölçeğinin Türkçeye uyarlanması: güvenilirlik ve geçerlilik analizi. *New Symposium Journal* 51(3), 132-140.
- EIOSH. European Agency for Safety and Health at Work. The Business Case for Managing Stress and Psychosocial Risks National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), (2014), Stress at Work. <http://www.cdc.gov/niosh/docs/99-101/pdfs/99-101.pdf>. (Erişim Tarihi: 03/01 2020).
- Filiz M, Karagöz N. (2020). Kamu hastane birliklerinin ülke sağlık politikalarına katkısını belirlemede sağlık personelinin algısı [Sivas İli Örneği]. *Cumhuriyet Üniversitesi İİBF Dergisi*, 21(1), 105-127.
- Filiz M. (2020). Sağlık kurumlarında liderlik tarzı ve örgütsel bağlılık arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların sistematik derlemesi. *Dicle Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi* 10(20), 276-296.
- Gökgöz H. (2013). Stresin Çalışanların Performansı Üzerine Etkisi: Öğretim Elemanları Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi Trakya Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü İşletme Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Edirne.
- Gökler R, Işıtan İ. (2012) Modern çağın hastalığı; stres ve etkileri. *Tarih Kültür ve Sanat Araştırmaları Dergisi*, 1(3), 154-168.
- Güney S. (2013). Sendikacılık akademisi ders notları 3. Türkiye İşçi Sendikaları Konfederasyonu, Ankara.
- Gür K, Erol S, Sengel A. (2018). Destek hizmetleri sunan mavi yakalı çalışanlarda stres algısı ve stres yönetimi. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, 27(2), 118-128.

- İştar E. (2012). Stres ve verimlilik ilişkisi. *Akademik Bakış Dergisi*, 33, 1-21.
- Karagöz Y. (2016) SPSS and AMOS 23 Applied statistical analysis. Nobel Press, Ankara.
- Liu C, Xie B, Chou C-P KC, Zhou D, Palmer P. (2007). Perceived stress, depression and food consumption frequency in the college students of China Seven Cities. *Physiology Behavior*, 92(4), 748-754.
- Misra R MM. (2000). College students' academic stress and its relation to their anxiety, time management, and leisure satisfaction. *American Journal of Health Studies*, 16(1), 41-47.
- Okutan M, Tengilimoğlu D. (2002). İş ortamında stres ve stresle başa çıkma yöntemleri: bir alan uygulaması. *Gazi Üniversitesi İİBF Dergisi*, 4(3), 15-42.
- Park J. (2000). Work Stress and Job Performance, Perspectives Statistics, Canada, December.
- Rowshan A. (2000). Stres Yönetimi. Sistem Yayıncılık. İstanbul.
- Sauter S, Murphy L, Colligan M, Swanson N, Hurrell J, Scharf F, et al. (1999). Stress at Work. Prepared by a NIOSH working group. Publication, No. 99-101. Cincinnati, OH: National Institute for Occupational Safety and Health.
- Sökmen A. (2010). Yönetim ve Organizasyon, 1. Baskı, Detay Yayıncılık, Ankara.
- Sünter AT, Canbaz S, Dabak Ş, Öz H, Pekşen Y. (2006). Pratisyen hekimlerde tükenmişlik, işe bağlı gerginlik ve iş doyumunu düzeyleri. *Genel Tıp Dergisi* 16(1), 9-14.
- Taçgın FT. (2020). Üniversite Çalışanlarının Stres Algılarına Yönelik Bir Araştırma. Karabük Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü İşletme Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Karabük.
- Yazıcıoğlu Y, Erdoğan S. (2004). SPSS Uygulamalı Bilimsel Araştırma Yöntemleri, Ankara: Detay Yayıncılık.
- Yıldız V, Güç K, Erdem S. (2015). Stresle başa çıkma tutumlarının insani değerler açısından incelenmesi: kamu kurumu çalışanları üzerine bir çalışma. *Kara Harp Okulu Bilim Dergisi* 25(1), 41-62.

Orjinal Araştırma Makalesi/ Original Paper

Kastrasyon Duyarlı Metastatik Prostat Kanserinde İki Prognostik Belirteç: ALP ve Gleason Skoru

Two Prognostic Markers in Castration Sensitive Metastatic Prostate Cancer: ALP and Gleason Score

Serkan YILDIRIM^{1*}, Atike Pınar ERDOĞAN²

¹ Bitlis Tatvan Devlet Hastanesi, Bitlis, TÜRKİYE.

² Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, TÜRKİYE.

* Sorumlu yazar: Serkan YILDIRIM;E-mail: serkan9128@yahoo.com

ÖZET

Amaç: Prostat kanseri erkeklerde sık görülen bir kanserdir metastatik olgularda özellikle kastrasyon duyarlı dönemde doğru tedavi seçilmesi hastaların sağ kalımlarını uzatmaktadır. Bu sebeple hastaların sağ kalımına etki eden prognostik parametreler değerlidir. ALP ve Gleason skoru çalışmamızda değerlendirilmiştir.

Materyal ve Metot: Çalışmamız retrospektif ve Türkiye'den 5 merkezin katıldığı çok merkezli bir çalışmadır. Çalışmaya metastatik, kastrasyon sensitif prostat kanserli hastalar dahil edilmiştir. ALP ile Gleason skorunun genel sağ kalıma ve birbirine üzerine etkisi araştırılmıştır. ALP kestirim değeri belirlenerek bu değerin altındaki ve üstündeki hastalar olmak üzere, Gleason skoru 9-10 olan hastalar ile ≤ 8 olan hastalar olmak üzere iki gruba ayrılarak incelenmiştir.

Bulgular: ALP parametresi kestirim değerinden düşük olan grubun genel sağ kalımı medyan 51.5 ay, ALP parametresi kestirim değerinden yüksek olan grubun genel sağ kalımı medyan 43.16 ay olarak hesaplandı ($p=0.111$). Gleason 9-10 olan hastaların genel sağ kalımı medyan 40.93 ay, Gleason ≤ 8 olan hastaların genel sağ kalımı medyan 58.5 ay olarak saptandı ($p=0.016$). ALP parametresi kestirim değerinden düşük olan olgular içinde Gleason skoru 9-10 olan hastaların genel sağ kalımı medyan 41.8 ay, ≤ 8 olan hastaların genel sağ kalımı medyan 76.2 ay olarak saptandı ($p=0.025$).

Sonuç: ALP ve Gleason skoru metastatik kastrasyon sensitif prostat kanserli hastalarda genel sağ kalım üzerine prognostik değere sahiptir. Gleason skoru prognoz açısından ALP parametresinden daha güçlü bir parametredir. Ancak iki parametrenin birlikte kullanılması hastaların sağ kalımlarını daha doğru şekilde değerlendirilmesini sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Prostat kanseri, ALP, Gleason skoru.

ABSTRACT

Objective: Prostate cancer is a common cancer in men. Choosing the right treatment in metastatic cases, especially in the castration-sensitive period, prolongs the survival of the patients. For this reason, prognostic parameters that affect the survival of patients are valuable. ALP and Gleason score were evaluated in our study.

Material and Method: Our study is a retrospective and multicenter study in which 5 centers from Turkey participated. Patients with metastatic, castration-sensitive prostate cancer were included in the study. The effects of ALP and Gleason score on overall survival and on each other were investigated. The ALP cut-off value was determined, and the patients below and above this value were divided into two groups as patients with a Gleason score of 9-10 and patients with a Gleason score of ≤ 8 .

Results: The median overall survival of the group with the ALP parameter lower than the cut-off value was 51.5 months, and the median overall survival of the group with a higher ALP parameter than the cut-off value was 43.16 months ($p=0.111$). The median overall survival of patients with Gleason 9-10 was 40.93 months, and the median overall survival of patients with Gleason ≤ 8 was 58.5 months ($p=0.016$). Among the patients whose ALP parameter was lower than the cut-off value, the median overall survival of patients with a Gleason score of 9-10 was 41.8 months, and the median overall survival of patients with ≤ 8 was 76.2 months ($p=0.025$).

Conclusion: ALP and Gleason score have prognostic value on overall survival in patients with metastatic castration-sensitive prostate cancer. The Gleason score is a stronger prognostic parameter than the ALP parameter. However, using the two parameters together can provide a more accurate assessment of patients' survival.

Keywords: Prostate Cancer, ALP, Gleason score.

Atıf Yapmak İçin: Yıldırım S, Erdoğan AP. Kastrasyon duyarlı metastatik prostat kanserinde iki prognostik belirteç: ALP ve Gleason skoru. *Van Sag Bil Derg* 2022, 15,(1),13-19.

<https://doi.org/10.52976/van-saglik.850376>.

Geliş Zamanı: 30/12/2020

Kabul Zamanı: 19/11/2021

Basılama Zamanı: 30/04/2022

GİRİŞ

Prostat kanseri, erkeklerde sık görülen bir kanserdir. Dünyada, 2012 yılında 1100000 vaka görülmüştür (Humphrey, 2014). Prostat kanseri tanısı olan hasta sayısı sürekli artmaktadır. Bu Prostat Spesifik Antigen (PSA) taramasının artması yanında bazı çevresel ve genetik faktörlere de bağlı olduğu düşünülmektedir (Garnick, 1993; Kramer ve ark. 1993; Hankey ve ark., 1999). Hastalığın histolojik tanısı, tedavinin her aşmasında mutlak olarak gerekmektedir. Histolojik tanı ise yaygın olarak ultrasound eşliğinde yapılan iğne biyopsisi sonucu elde edilmektedir. Kanser tanısı konulduktan sonra dünyada yaygın olarak Gleason skoru bu hastalığı patolojik olarak sınıflamak için kullanılır. Bu sisteminde büyüme paterni ve diferansiasyona göre hastalara skorlama yapılır. Yüksek skorlarda organa sınırlı hastalık, daha az ve lokal tedavi sonrası prognoz daha kötüdür (Gleason ve Mellinger, 1974; Bostwick, 1994).

Alkaline phosphatase (ALP), primer olarak karaciğer ve kemikten kaynaklanmaktadır (Brown ve Sim, 2010). Sağlıklı insanlarda kemik kaynaklı ALP, bunun yaklaşık yarısını oluşturur. Kemik metastazı olan prostat kanserinde yaygın karaciğer tutulumu yoksa, ALP yüksekliğinin kaynağı bu kemik tutulumudur (Cook ve ark., 2006). ALP yüksekliği, kastrasyon rezistan metastatik prostat kanserinde düşük sağ kalım ve daha fazla iskelet komplikasyonu ile ilişkilidir (Brown ve ark., 2005; Coleman ve ark. 2005; Armstrong ve Febbo, 2009). Ayrıca birçok çalışmada aldığı tedaviden bağımsız olmak üzere ALP nin sağ kalım ile ilişkisi ve prognoz üzerine etkisi gösterilmiştir (Halabi ve ark., 2013; Halabi ve ark., 2014; Fizazi ve ark., 2015; Guinney ve ark., 2017). Ancak bu çalışmalar, daha çok kastrasyon direnci geliştikten sonraki dönemi göstermektedir. Kastasyon sensitif dönemde bu ilişkiyi gösteren fazla çalışma yoktur.

Bu iki prognostik belirtecin; kastrasyon sensitif kemik metastazları bulunan hastalarda genel sağ kalım üzerinde ayrı ayrı ve birbiri ile olan ilişkilerinin araştırılması amacıyla bu retrospektif çalışma dizayn edildi.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma, Türkiye'den 5 merkezin katıldığı çok merkezli retrospektif bir çalışmadır. Bu merkezlere başvuran hastaların dosyaları incelenmiştir. Çalışmamıza dahil edilme kriterleri: 18 yaşından büyük olmak, daha önce herhangi bir lokal tedavi (cerrahi yada radyoterapi) almamış olmak, prostat adenokarsinom patolojik tanısı olmak, kemik metastazı bulunmak ve herhangi bir sistemik tedavi almamış olmak.

Kastrasyon sensitif olan hastalar çalışmaya dahil edildiği için, daha önce medikal ya da cerrahi kastre ve tanı anında Gleason skoru ile ALP düzeyi belirlenmemiş olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Bu çalışmada, ALP ve Gleason skorunun genel sağ kalıma ve bir birbiri üzerine etkisi araştırıldı. Genel sağ kalım; metastatik kastrasyon sensitif prostat kanseri tanısı konulmasından ölüme ya da son vizite kadar geçen süre olarak hesaplandı. Hastalar Gleason skoruna göre iki gruba ayrıldı (Gleason 9-10 vs ≤ 8) ve genel sağ kalımları karşılaştırıldı. ALP için bir kestirim (cut-off) değeri belirlendi. Bu değer üstünde ve altında olmak üzere, hastaların iki gruba ayrıldı ve genel sağ kalımları karşılaştırıldı.

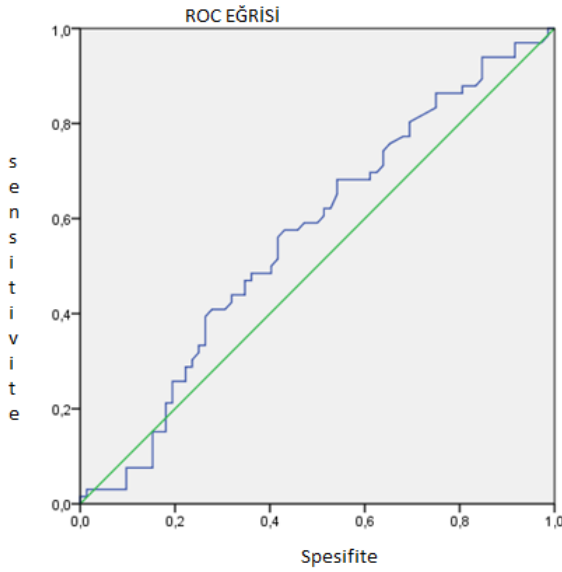
Sonrasında bu iki değişkenin birbiri ile ilişkisini incelemek amacıyla ALP kestirim değerinin altında kalan ve üstünde olan hastaların genel sağ kalımları Gleason skoruna göre ayrı ayrı karşılaştırıldı (Manisa Celal Bayar Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu, 22.03.2021, 141)

Tüm analizler SPSS istatistiksel yazılım program paketi (Windows için SPSS, 20.0) kullanılarak gerçekleştirildi. Ki-kare testi ile iki grup arasındaki klinik özelliklerdeki farklılıkları analiz edildi. Receiver operating characteristic (ROC) eğri analizi ile ALP için eğri çizdirildi. Spesifite ve sensitivite değerleri Microsoft Excel programına aktararak sensitivite ve spesifitenin toplam en büyük skora ulaştığı değer cut-off (kestirim değeri) olarak belirlendi. OS, log-rank testi ile hesaplandı. Sağ kalım eğrilerini çizmek için Kaplan-Meier yöntemi kullanıldı. P değeri 0.05'ten küçük olduğunda farkların istatistiki olarak anlamlı olduğu varsayıldı.

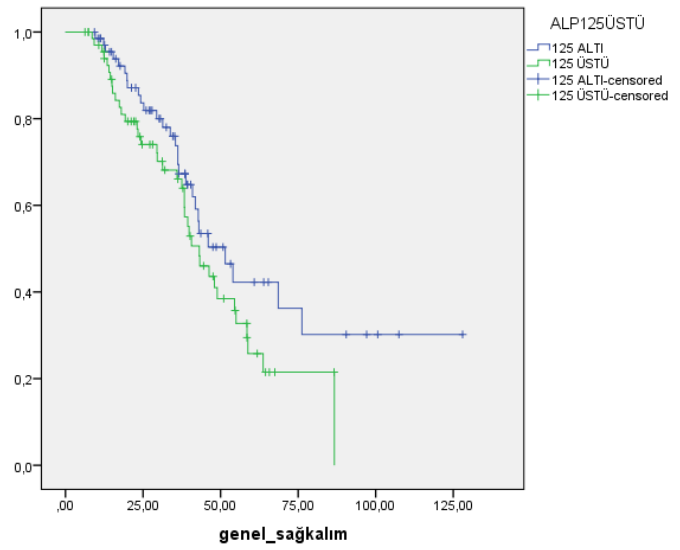
BULGULAR

Toplam 138 hasta çalışmaya alındı. ALP için ROC analizi sonucunda kestirim değeri 125 olarak belirlendi (Şekil 1). ALP parametresi kestirim değerinin altında olan grupta yaş ortalaması 69.49 (en genç 48, en yaşlı 85), ALP parametresi kestirim değerinin üzerinde olan grupta yaş ortalaması 67.5 (en genç 43, en yaşlı 89) saptandı (Tablo 1). ALP parametresi kestirim değerinden düşük olan grubun genel sağ kalımı

medyan 51.5 ay, ALP parametresi kestirim değerinden yüksek olan grubun genel sağ kalımı medyan 43.16 ay olarak hesaplandı. Bu iki grubun genel sağ kalım süreleri arasında istatistiki anlamlı fark saptanmadı ($p=0.111$) (Şekil 2).



Şekil 1. ALP için Receiver operating characteristic (ROC) eğrisi.



Şekil 2. ALP kestirim (cut-off) değerinin üstündeki ve altındaki hastaların sağ kalım eğrileri.

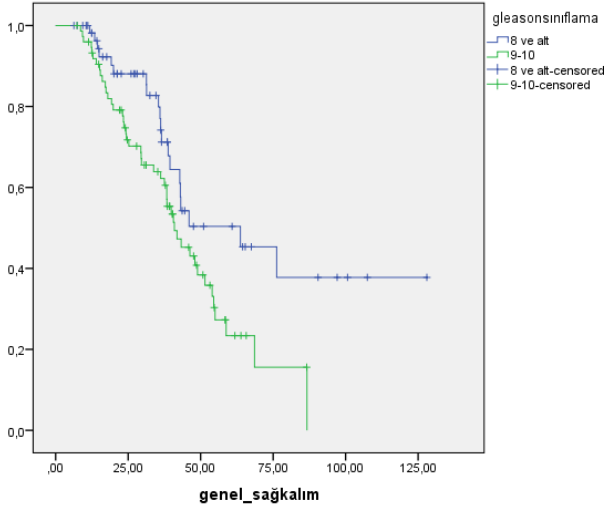
Tablo 1. Hastaların genel özellikleri

	ALP >125 (Kestirim değeri)	ALP <125	Toplam
Gleason Skoru 9-10	43	32	75
Gleason Skoru ≤ 8	26	37	63
Yaş (ortalama)	67.5	69.4	68.5
Sadece kemik metastazlı hasta sayısı	31	32	63
Kemik ve lenf nodu metastazlı hasta sayısı	27	30	57
Visseral metastazlı hasta sayısı	11	7	18

Gleason skoru 9-10 olan hasta sayısı 75, ≤ 8 hasta sayısı 63 idi. Gleason 9-10 olan grubun yaş ortalaması 67.1 iken Gleason ≤ 8 olan grubun yaş ortalaması 69.9 idi. Gleason 9-10 olan hastaların genel sağ kalımı

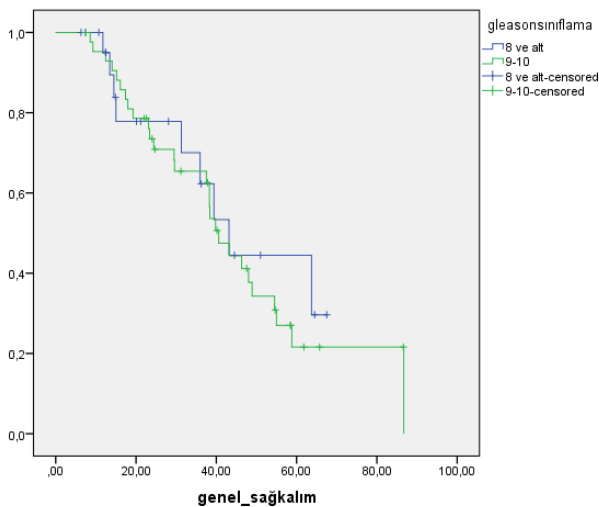
medyan 40.93 ay, Gleason ≤ 8 olan hastaların genel sağ kalımı medyan 58.5 ay olarak saptandı. Gleason skoru ≤ 8 olan grubun genel sağ kalımı istatistiki

anlamlı şekilde daha uzun olarak saptandı. ($p=0.016$) (Şekil 3).



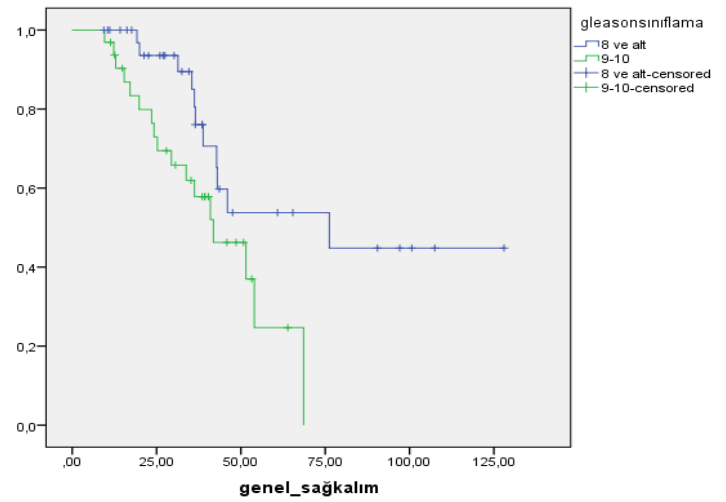
Şekil 3. Tüm popülasyonda Gleason skoru ≤ 8 olan hastalarla 9-10 olan hastaların sağ kalım eğrileri.

ALP parametresi kestirim değerinden yüksek olan olgular içinde Gleason skoru 9-10 hasta sayısı 43, ≤ 8 olan hasta sayısı 26 idi. Bu iki grubun genel sağ kalımları karşılaştırıldığında Gleason skoru 9-10 olan hastaların genel sağ kalımı medyan 40.6 ay, ≤ 8 olan hastaların genel sağ kalımı medyan 58.5 ay olarak saptandı. İki grup arasında istatistiki anlamlı fark saptanmadı ($p=0.5$) (Şekil 4).



Şekil 4. ALP kestirim değerinden yüksek olan olgularda Gleason skoru ≤ 8 olan hastalarla 9-10 olan hastaların sağ kalım eğrileri.

ALP parametresi kestirim değerinden düşük olan olgular içinde Gleason skoru 9-10 hasta sayısı 32, ≤ 8 olan hasta sayısı 37 idi. Bu iki grubun genel sağ kalımları karşılaştırıldığında Gleason skoru 9-10 olan hastaların genel sağ kalımı medyan 41.8 ay, ≤ 8 olan hastaların genel sağ kalımı medyan 76.2 ay olarak saptandı. Gleason skoru ≤ 8 olan hastaların genel sağ kalımı istatistiki olarak anlamlı şekilde daha uzun saptandı ($p=0.025$) (Şekil 5).



Şekil 5. ALP kestirim değerinin altındaki olgularda Gleason skoru ≤ 8 olan hastalarla 9-10 olan hastaların sağ kalım eğrileri.

TARTIŞMA

Kastrasyon sensitif metastatik prostat kanseri tedavisi son yıllarda birçok büyük çalışmanın yapıldığı bir alan olmuştur. CHARTED çalışması bunlardan biridir ve kemohormonal tedavinin (andojen deprivasyon tedavisi ile birlikte kemoterapi) sadece hormonal tedaviye (androgen deprivasyon tedavisi) olan üstünlüğünü göstermiştir (Sweeney ve ark., 2015). Bu çalışmada Gleason skoruna göre hastalar iki gruba ayrılmışlardır. Gleason ≤ 7 olan hastaların kemohormonal tedaviden Gleason >7 olan hastalara göre daha fazla fayda gördüğü görülmüştür. Aynı şekilde STAMPEDE (James ve ark., 2016), GETUG-15 (Gravis ve ark., 2016) çalışmalarında da benzer şekilde Gleason yüksek olan hastalar kemohormonal tedaviden daha az fayda görmüşlerdir. Bu dolaylı olarak bize Gleason skoru yüksek olan hastaların

prognozunun daha kötü olduğunu ve daha düşük sağ kalıma sahip olduklarını göstermektedir.

ALP'nin sağ kalım üzerine etkileri kastrasyon sensitif hastalarda bir metaanalizde gösterilmiştir. Bu metaanaliz sonuçlarına göre yüksek volümlü veya düşük volümlü hastalık olmasına bakılmaksızın ALP değeri yüksek olan hastaların daha kötü sağ kalıma sahip oldukları belirlenmiştir (Mori ve ark., 2020).

Bu iki parametrenin de (ALP ve Gleason skoru) prognostik olduğu çalışmamızda da gösterilmiştir. Gleason skorunun genel sağ kalıma etkisi istatistiki olarak anlamlı seviyede olmuştur ($p=0.016$). ALP parametresinin sağ kalıma etkisi istatistiki olarak anlamlı saptanmamıştır. Ancak arada 8 aylık bir sayısal farklılık vardır.

ALP ve Gleason skoru parametrelerinin ilişkisini incelemek amacıyla çalışmamızda ek analiz yapılmıştır. Bu analiz sonuçlarına göre ALP parametresi kestirim değeri üstünde olan grupta, Gleason skoru 9-10 olan hastalarla, ≤ 8 olan hastalar arasında istatistiki olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Ancak arada 18 aylık bir genel sağ kalım farkı vardır. Hasta sayısı az olması nedeniyle istatistiki anlama ulaşmadığı düşünülmüştür.

ALP parametresi kestirim değeri altında olan hastalarda ise Gleason skoru ≤ 8 olan olguların genel sağ kalımı Gleason skoru 9-10 olan hastaların genel sağ kalımından istatistiki olarak anlamlı şekilde daha uzun saptanmıştır.

Bütün bu veriler incelendiğinde hem ALP hem de Gleason skorunun metastatik kastrasyon sensitif prostat kanserli olgularda genel sağ kalım üzerine prognostik değerinin olduğu görülmektedir. Yüksek ALP ve Gleason skorunun 9-10 olması genel sağ kalımı düşürmektedir. Ancak Gleason skoru sağ kalım üzerinde ALP parametresine nazaran daha güçlü bir parametre olduğu görülmektedir. Prognostik değeri arttırmak açısından iki parametrenin birlikte kullanılması daha uygun olacaktır. Özellikle ALP parametresi düşük olan hastalarda Gleason skorunun prognostik kıymeti daha büyümetedir. Çalışma-

mıza göre en uzun sağ kalıma sahip alt grup ALP parametresinin kestirim değerinin altında ve Gleason skorunun ≤ 8 olduğu hastalardır. En kötü prognoza sahip alt grup ise ALP parametresi kestirim değerinin üstünde ve Gleason skoru 9-10 olan hastalardır.

Çalışmamızın retrospektif olması ve hasta sayısının az olması kısıtlı yönleridir. Bu çalışmaya bakarak kesin sonuçlar elde edilemez. Daha büyük çapta randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

ALP ve Gleason skoru metastatik kastrasyon sensitif prostat kanserli hastalarda genel sağ kalım üzerine prognostik değere sahiptir. Gleason skoru prognoz açısından ALP parametresinden daha güçlü bir parametredir. Ancak iki parametrenin birlikte kullanılması hastaların sağ kalımlarını daha doğru şekilde değerlendirilmesini sağlayabilir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Armstrong AJ, Febbo PG. (2009). Using Surrogate biomarkers to predict clinical benefit in men with castration resistant prostate cancer: an update and review of the literature. *Oncologist*, 14(8),816-827.
- Brown JE, Cook RJ, Major P, Lipton A, Saad F, Smith M et al. (2005). Bone turnover markers as predictors of skeletal complications in prostate cancer, lung cancer, and other solid tumors. *Journal of National Cancer Institute*, 97(1), 59-69.
- Brown JE, Sim S. (2010). Evolving Role of bone biomarkers in castration-resistant prostate cancer. *Neoplasia*, 12(9), 685-696.
- Bostwick DG. (1994). Gleason Grading of prostatic needle biopsies. Correlation with grade in 316 matched prostatectomies. *The American Journal of Surgical Pathology*, 18(8), 796-803.
- Coleman RE, Major P, Lipton A, Brown JE, Lee K, Smith M et al. (2005). Predictive value of bone resorption and formation markers in cancer pa-

- tients with bone metastases receiving the bisphosphonate zoledronic acid. *Journal of Clinical Oncology*, 23(22), 4925-4935.
- Cook RJ, Coleman R, Brown J, Lipton A, Major P, Hei YJ et al. (2006). Markers of bone metabolism and survival in men with hormone refractory metastatic prostate cancer. *Clinical Cancer Research*, 12(11), 3361-3367.
- Fizazi K, Massard C, Smith M, Rader M, Brown J, Milecki P et al. (2015). Bone-related parameters are the main prognostic factors for overall survival in men with bone metastases from castration-resistant prostate cancer. *European Urology*, 68(1), 42-50.
- Garnick MB. (1993). Prostate cancer: screening, diagnosis, and management. *Annals of Internal Medicine*, 118(10), 804-818.
- Gleason DF, Mellinger GT. (1974). Prediction of Prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *The Journal of Urology*, 111, 58-64.
- Gravis G, Boher JM, Joly F, Soulié M, Albiges L, Priou F et al. (2016). Androgen deprivation therapy (ADT) plus docetaxel versus ADT alone in metastatic noncastrate prostate cancer: impact of metastatic burden and long-term survival analysis of the randomized phase 3 GETUG-AFU15 trial. *European Urology*, 70, 256-262
- Guinney J, Wang T, Laajala TD, Winner KK, Bare JC, Neto EC et al. (2017). Prediction of overall survival for patients with metastatic castration resistant prostate cancer: development of a prognostic model through a crowd sourced challenge with open clinical trial data. *Lancet Oncology*, 18(1), 132-142.
- Halabi S, Lin CY, Small EJ, Armstrong AJ, Kaplan EB, Petrylak D et al. (2013). Prognostic model predicting metastatic castration-resistant prostate cancer survival in men treated with second-line chemotherapy. *Journal of National Cancer Institute*, 105(22), 1729-1737.
- Halabi S, Lin CY, Kelly WK, Fizazi KS, Moul JW, Kaplan EB et al. (2014). Updated prognostic model for predicting overall survival in first-line chemotherapy for patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 32(7), 671-677.
- Hankey BF, Feuer EJ, Clegg LX, Hayes RB, Legler JM, Prorok PC et al. (1999). Cancer surveillance series: interpreting trends in prostate cancer--part I: Evidence of the effects of screening in recent prostate cancer incidence, mortality, and survival rates. *Journal of National Cancer Institute*, 91(12), 1017-1024.
- Humphrey PA, Stewart BW, Wild P (2014, 3-9 February). Cancers of the male reproductive organs. World Cancer Report 2014, Geneva, Switzerland.
- James ND, Sydes MR, Clarke NW, Mason MD, Dearnaley DP, Spears MR et al. (2016). Addition of docetaxel, zoledronic acid, or both to first-line long-term hormone therapy in prostate cancer (STAMPEDE): survival results from an adaptive, multiarm, multistage, platform randomized controlled trial. *Lancet*, 387, 1163-1177.
- Kramer BS, Brown ML, Prorok PC, Potosky AL, Gohagan JK (1993). Prostate cancer screening: what we know and what we need to know. *Annals of Internal Medicine*, 119(9), 914-923.
- Mori K, Janisch F, Parizi MK, Mostafaei H, Lysenko I, Enikeev DV et al. (2020). Prognostic value of alkaline phosphatase in hormone-sensitive prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Clinical Oncology*, 25(2), 247-257.
- Sweeney CJ, Chen Y-H, Carducci M, Liu G, Jarrard DF, Eisenberger M et al. (2015). Chemohormonal therapy in metastatic hormone-sensitive prostate cancer. *New England Journal of Medicine*, 373(8), 737-746.

Orjinal Araştırma Makalesi/ Original Paper

Evaluation of The Distribution of Oncology Patients Admitting to Emergency Department According to Clinical Symptoms

Acil Servise Başvuran Onkoloji Hastalarının Klinik Semptomlara Göre Dağılımının Değerlendirilmesi

Dilek ATİK^{1*}

¹ Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Acil Tıp A.D., Karaman, TÜRKİYE.

* Sorumlu yazar: Dilek ATİK. E-mail: dr.dilekgok82@hotmail.com

ÖZET

Amaç: Kanser, sistemik bir hastalık olup her evresinde tüm sistemleri farklı şekilde etkileyebilir. Kanserli hastalar mevcut malignitelerinin doğrudan veya dolaylı neden olduğu akut semptomlar nedeniyle sıklıkla acil servise başvurmaktadırlar. Bu çalışma ile acil kliniğine başvuran onkoloji hastalarının başvuru nedenleri ve sık karşılaşılan problemlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Bu çalışma kesitsel retrospektif bir çalışmadır. Bu başvurulardan acil servisteki değerlendirme sonunda acil servis tanılarının yanında ICD-10'a göre malign neoplazm tanularından değerlendirilip, hasta kayıt bilgisayarına kaydedilen 18 yaş ve üzerindeki tüm olgular örnekleme oluşturmaktadır. Hastaların demografik incelemesinde betimleyici istatistik kullanıldı. Çalışmada verileri değerlendirilirken nitel olması halinde ki-kare(χ^2) testi veya Fisher exact testi uygulandı.

Bulgular: Belirtilen dönemde çalışmaya 43'ü (%58.1) kadın, 32'si (%42.6) erkek olmak üzere 75 hasta dahil edildi. En sık rastlanılan şikayet %77 (n=57) ağrı şikayeti olup sırası ile %36.5(n=26) nefes darlığı, %35.1(n=25) bulantı-kusma idi. Hastalarda mevcut maligniteler içinde en sık görülen ilk üç kanser sırasıyla akciğer %26.7 (n=20), %14.6 (n=11) prostat ve %10.7(n=8) meme kanserleri idi.

Sonuç: Günümüz şartlarında artan malignite hastalarının hem kanser hastalığına bağlı hem de tedavi protokollerinden dolayı yaşam kaliteleri düşmektedir. Özellikle bu hasta grubu hem hastalığın vücuda yansıdığı rahatsızlık hem de tedavi esnasında oluşan yan etkilerden dolayı ileri dönemlerde bu özellikli hasta grupları için onkoloji uzmanları ile iş birliği ile acil tıp kliniklerine üniter açılacağı ve acil servis planlamalarında özel yaklaşım politikalarının belirlenmesinde katkı sağlayacağı kanısındayız.

Cited: The distribution of oncology patients admitting to emergency department according to clinical symptoms. *Van Sag Bil Derg* 2022, 15, (1) 20-28. <https://doi.org/10.52976/vansaglik.860904>.

Received date: 14/01/2021

Accepted date: 19/01/2022

Published date: 30/04/2022

Anahtar Kelimeler: Onkoloji hastaları, Maligniteye bağlı semptomlar, Acil servis.

ABSTRACT

Objective: Cancer is a systemic disease, and can affect all systems differently at each stage. Cancer patients often admit emergency departments due to acute symptoms directly or indirectly caused by their current malignancies. With this study, the purpose was to investigate the causes of admission and common problems of oncology patients admitting to the emergency department.

Material and Method: This study has a cross-sectional and retrospective design. At the end of the evaluation in the emergency department, all cases who were aged 18 and over, who were evaluated based on malignant neoplasm diagnoses according to ICD-10, and recorded in the patient registration computer made up the study sampling. Descriptive statistics were used in the demographic examination of the patients. In the study, in case the data were qualitative, the Chi-Square (χ^2) Test or Fisher's Exact Test were used.

Results: A total of 75 patients were included in the study during the specified period, including 43 (58.1%) women and 32 (42.6%) men. The most common complaint was pain with 77% (n=57), followed by shortness of breath with 34.6% (n=26), and %33.3 (n=25) nausea and vomiting. In patients, the top 3 most common malignancies were lung 26.7% (n=20), 14.6% (n=11) prostate, and 10.7% (n=8) breast cancer, respectively.

Conclusion: In today's conditions, the quality of life of patients with increased malignancies is reduced because of the cancer disease and treatment protocols. We believe that specific units can be opened in emergency medicine clinics in cooperation with oncology specialists for this patient group in the future because of the discomfort in which the disease is reflected in the body, and due to the side effects that occur during treatment, which will contribute to the determination of special approach policies in emergency department planning.

Keywords: Oncology patients, Symptom due to malignancy, Emergency departments.

INTRODUCTION

Cancer is a systemic disease and can affect all systems differently at each stage. According to TUIK 2018 data, circulatory system diseases make up the first cause of death in our country, and cancer-related deaths rank the second (Tuik, 2018). Cancer patients often admit emergency departments due to acute symptoms directly or indirectly caused by their current malignancies (WHO, 2019). In the U.S.A., it is reported that more than 4.5 million cancer patients are reported to be admitting to emergency departments due to different symptoms (Rivera et al., 2017). Today, oncology disease and related treatment protocols are increasing, and the life expectancy of patients is prolonged accordingly. Emergency department treatment services become important in acute conditions related to cancer and its treatment in this process (Bozdemir et al., 2009; Klemencic and Perkins, 2019). It is important for oncology patients to ensure the comfort of life with early diagnosis and appropriate treatment especially in the palliative period (Dunne-Daly, 1994; Neilan, 1994). In a study conducted in the literature, it is reported that cancer patients admit to emergency departments (ED) more frequently during palliative periods especially in the last six months of their lives because of decreased functional capacities, impaired pain control, and changes in consciousness (McCarthy et al., 2000). Although the care of cancer patients is managed in the oncology department in the healthcare system more often, treatment or visits of this patient group to the emergency department with possible side effects of their diseases may sometimes be inevitable (Bluethmann et al., 2016).

With this study, the purpose was to investigate the causes of admission and common problems of oncology patients admitting to the emergency department.

MATERIAL and METHOD

Study Design

The present study was conducted at Yozgat Bozok University Emergency Medicine Clinic between

01.01.2019 and 31.12.2019 by examining the hospital automation system and the files of patients who had previously been diagnosed with cancer and who admitted to the emergency department with complaints related to their diseases. This study has a cross-sectional and retrospective design. The approval was received from the local ethics committee to conduct the study (Yozgat Bozok University, Clinical Research Ethics Committee; 2017-KAEK-189_2019.12.11_02, 11.12.2019). Since there is no Oncology Unit in our hospital, the patients who are scheduled to be hospitalized are consulted in the Internal Diseases Unit and surgery units. At the end of the evaluation in the emergency department, all cases who were aged 18 and over, who were evaluated based on malignant neoplasm diagnoses according to ICD-10, and recorded in the patient registration computer made up the study sampling.

Each case admitting to the Emergency Department is recorded in the database at the end of the evaluation with one or more diagnostic codes to identify the cause of admission and chronic diseases. Neoplastic disease diagnosis codes were used for pre-histologically finalized cancer diagnosis. The patients who were recorded as malignant neoplastic disease were identified from the hospital records, and all hospital admission of these cases were determined during this period.

Patient population

The cases and their admissions were evaluated individually. The age, gender, and descriptive characteristics of the cases were recorded. Emergency admission-related complaints and emergency department findings were evaluated; and the type of cancer and the date of diagnosis were obtained. The admission complaint reasons were also determined. The emergency forms and general patient files records were used comparatively to access the data.

Statistics analysis

The patients were evaluated in terms of demographic characteristics, previous diseases, causes of

admission, common clinical and laboratory abnormalities, and their results. The resulting data were recorded in a form prepared for the study. All statistical data were analyzed with SPSS 20.0 for Windows Program (version 20.0; SPSS, Chicago, IL). Descriptive statistics were used in the demographic examination of the patients. In the study, in case the data were qualitative, the Chi-Square (χ^2) Test or Fisher's Exact Test were used. When evaluating the study data, the numeric values were expressed as mean \pm standard deviation. The results were evaluated for a significance level of $p < 0.05$.

RESULTS

Between 01.01.2019 and 31.12.2019, there were 16500 emergency service applications and an average of 45 patient applications per day. A total of 75 patients were included in the study during the specified period, including 43 (58.1%) women and 32 (42.6%) men. The mean age was 58.5 years, and the median value was 59 (min: 35, max: 86). The complaints of the patient about the emergency department are given in Table 1. In this respect, the most common complaint was pain with 77% (n=57), followed by shortness of breath with 34.6% (n=26), and %33.3 (n=25) nausea and vomiting. In patients, the top 3 most common malignancies were lung 26.7% (n=20), 14.6% (n=11) prostate, and 10.7% (n=8) breast cancer, respectively. A total of 60.5% (n=45) of the patients were discharged from the emergency department after the first intervention, and 10.1% (n=7) were admitted to the intensive care unit, and 30.4% (n=23) were admitted to the wards. The organ and other organ metastasis, from which the malignancy of the patients originated, are shown in Table 1. In this respect, 4% (n=3) had bone metastasis, and 5% (n=7) had lung metastasis (Table 1).

Table 1. Demographic Distribution of Patients

Demographic data	%(n)
Gender	
Female %(n)	58.1(43)
Male %(n)	42.6(32)
Age mean (min; max)	58.5 (35;86)
Cancer type	
Lung cancer	26.7(20)
Prostate cancer	14.6(11)
Breast cancer	10.7(8)
Liver cancer	3(2.7)
Pancreas cancer	1(1.3)
Stomach cancer	2(2.7)
Colon cancer	3(4)
Bladder cancer	1(1.3)
Brain cancer	4(5.3)
Symptoms	
	%
Pain	77(57)
Shortness of breath	34.6(26)
Hemoptysis	6.4(5)
Oral intake disorder	30(22)
Melena	4.1(3)
Nausea and vomiting	33.3(25)
Epileptic seizures	4.1(3)
Loss of consciousness	4.1(3)
Hematuria	10.6(8)
Metastasis	
Bone metastasis	4(3)
lung metastasis	5(7)
The frequency of the admission of the patients	
Admitted 1 time	28.1(21)
Admitted 2 times	14.7(11)
Admitted 3 times	16(12)
Admitted 4 times	10.8(8)
Admitted 5 times	10.8(8)
Admitted 6 times	9.5(7)
Admitted 7 times	4.1(3)
Admitted 8-10 times	5.6(4)

As seen in Table 2, when the variables in the dataset were evaluated according to the gender of the patients, the difference in cancer types was found to be statistically significant ($\chi^2: 48.900; p<0.001$). When the ages of the patients were evaluated according to their gender in our study, the mean age of the male gender was significantly higher than that of the female gender ($z: -3.760; p<0.01$). The number of emergency department admissions was high in male gender, and this difference was found to be significant ($z: -4.207; p<0.01$). The evaluation of the emergency department admission symptoms of patients by gender is shown in Table 3. In this respect, there was no significant difference in symptoms such as pain, dyspnea, and nausea-vomiting (>0.05); however, there was a significant difference in dysuria and hematuria symptoms (0.026, 0.020). Other organ metastasis of the patients did not differ according to their gender ($p=0.782$). Although 44% ($n=33$) of patients had admissions to the emergency department with chemotherapy-related complaints, there were no differences between the groups according to the gender variable ($p=0.056$).

The frequency of the admission of the patients to the emergency department is summarized in Table 1. In this respect, 28.1% ($n=21$) of the patients admitted 1 time, 16% ($n=12$) 3 times, and 14.7% ($n=11$) admitted twice. When the relation between the frequency of admission and the effect of existing symptoms was evaluated, there were no negative or positive correlations (>0.05).

The types of cancer according to the symptoms of the admission of the patients are given in Table 3. When evaluated, it was found that pain symptoms were common admission symptoms of cancer types of the entire group of patients with 73.3% ($n=13$) in lung cancer patients, 66.7% ($n=12$) in breast cancer, 75% ($n=7$) in prostate cancer patients. The difference of the pain symptom between the cancer groups was not found to be statistically significant ($\chi^2=0.806, p=.977$). When the cancer types of the patients admitting to the emergency department with dyspnea

symptoms were evaluated, as shown in Table 3, 61.1% ($n=11$) had lung ca, 22.2% ($n=4$) had breast ca, 16.7% ($n=3$) had prostate ca. The difference in inter-group dyspnea complaints in terms of cancer types was found to be statistically significant (14.240; $p=0.07$). Hemoptysis symptoms were present in 6.4% ($n=5$) of the patients, and were only seen in lung cancer patients. In our study, 12% of the patient population with gastrointestinal cancer presented to the emergency department with different symptoms. While 15.9% ($n=9$) of cancer patients who applied to the emergency department with pain symptoms had gastrointestinal cancer, 29.6% ($n=8$) of patients who presented with nausea and vomiting had gastrointestinal cancer. Depending on the patient population in our study, 33% ($n=3$) of patients with gastrointestinal malignancies had Melena symptoms.

Table 2. Distribution of Patients by Gender Factor

	Female	Male	P value
Cancer Type			<0.05*
Brain cancer%(n)	2.3(1)	9.7(3)	
Lung cancer	35.5(9)	20.9(11)	
Gastrointestinal cancer	9.3(5)	16.1(4)	
Prostate cancer	-	35.4(11)	
Breast cancer	30.2(8)	-	
Age	54.23±10.7	64.58±10.6	<0.01*
Symptoms			
Pain	56.1(25)	43.9(32)	0.575
Shortness of breath	46.2(12)	53.8(14)	0.648
Oral intake disorder	45.4(10)	54.6(12)	0.117
Dysuria	33.3(3)	66.7(6)	0.026*
Hematuria	11.1(1)	88.9(8)	0.020*
Nausea and vomiting	63(17)	37(10)	0.114

Fisher's Exact Test were used. The results were evaluated for a significance level of $p < 0.05$ (*). The "-" sign could not be made statistically for the small number of group.

On the other hand, 75% (n = 3) of the patients who developed symptoms due to brain tumor presented to the emergency department with epileptic seizures.

Hematuria %10.6(n=8) and dysuria%12(n=9) symptoms are more common in prostate cancer patients, and were found to be significantly higher compared to other cancer types (12.831; p=.005) (23.610; p=.001). Although 63% (n=16) of the patients who admitted to the Emergency Department with nausea-vomiting symptoms had post-chemotherapy complaints, 37% (n=9) showed these symptoms related to their current diseases, independent from their cancer treatments. The increase in this symptom after the treatment was also found to be statistically significant between the groups (Fisher: 0.022; p=.012). Moderate and positive correlation was detected between

nausea-vomiting and emergency department symptom chemotherapy (rs:.583; p=.004). Oral intake disorder was present in 30% (n=22) of the patients; and no significant differences were detected between the patients when compared to the symptoms of oral intake disorder (x2:14.046; p=.221).

In the laboratory examinations of the patients, the most commonly detected hematological problem was anemia ((38.7% (n=29) % for below Hb:10 g/dl). A total of 2.6% (n=2) patients had neutropenia in laboratory parameters. These two patients were receiving Chemotherapy. In biochemical examinations, the most common abnormalities were urea/creatinine elevation (57/60%), and hyponatremia (117) in 1.3% (n=1) patients

Table 3. The types of cancer according to the symptoms of the admission of the patients

Cancer type	Lung(n)	Prostate(n)	Breast(n)	Liver(n)	Pancreas(n)	Stomach(n)	Colon(n)	Brain(n)	P value
Symptoms									
Pain	13	7	16	3	1	2	3	2	0.977
Shortness of breath	16	4	6	-	-	-	-	-	0.007*
Oral intake disorder	2	4	5	3	1	2	3	-	0.221
Melena	-	-	-	-	-	1	2	-	-
Nausea and vomiting	7	5	4	3	1	2	2	1	0.298
Epileptic seizures	-	-	-	-	-	-	-	3	-
Loss of consciousness	-	-	-	1	-	-	-	2	-
Hemoptysis	5	-	-	-	-	-	-	-	-
Dysuria	2	5	1	-	-	-	-	1	0.001*

The Chi-Square (χ^2) Test or Fisher’s Exact Test were used. The results were evaluated for a significance level of $p < 0.05$. The "-" sign could not be made statistically for the small number of groups..

DISCUSSION

Cancer is increasingly important in the world, and remains as one of the important health problems in our country. Prolonged life expectancy, and depending on this, the increase in chronic diseases, such as cancer, improvements in diagnosis and treatment protocols increase the frequency of admissions to

emergency departments (Barbera et al., 2010). Emergency departments should decrease malignancy-related symptoms, management of side effects associated with treatment, treatment of oncological emergencies and accompanying diseases in this group of patients (Mayer et al,2011; Guddati et al.,2013). Yaylaci et al (2009) in their study, they also reported that cancer patients' emergency service applications are too high to be ignored (Yaylaci et al., 2009). However,

Koçak et al (2012), in the study they reported, they talk about the data of 100 patients in the 3-month period within the scope of the research (Kocak et al., 2012). We think that the reason why the rate of oncology patients admitted to the emergency room in our study was lower than in these studies, is because our hospital does not have an oncology department and because oncology patients prefer the emergency departments of hospitals where they are treated more frequently.

According to the results obtained in our study, there were more frequently admissions to our emergency department with symptoms, such as pain, dyspnea, weakness, oral intake disorder, nausea-vomiting. Female gender was found to be more in cancer patients admitting to the ED. However, the frequency of emergency departments is high for the male gender. When the symptoms were evaluated according to the gender, especially hematuria and dysuria were found to be significantly higher in the male gender, and symptoms, such as pain, dyspnea, and nausea-vomiting, which had a high frequency, did not differ between the genders. Regarding the increased rate of admissions, we believe that male patients have low tolerance to symptoms that develop, and might have lower tolerance limits.

In their study conducted in the USA, Rivera et al. reported that approximately 60% of patients admitted to the emergency department were scheduled for hospitalized treatment (Rivera et al., 2017). In our study, the group of patients who were scheduled for hospitalized treatment was approximately 40%. The difference in these rates might be because of the 3.5-fold more hospitalization of cancer patients than other patient groups in Rievera et al.'s study, especially because it was related to the patient population and insurance coverage in the healthcare system (Rivera et al., 2017). Also, Grewal et al. emphasized in their study that hospitalization rates were low, especially in emergency departments that did not have oncology units (Grewal et al., 2019). It is considered

that the hospitalization rates of the patients were affected because there was no oncology unit in our study.

In the studies conducted in the light of the literature, the prevalence of pain was reported as 50% at different stages of cancer (Bonica, 1985; Posternak et al., 2016). Many guidelines were issued for the management of cancer pain (Greco et al., 2014). Despite these guidelines and the presence of opioids (the basis of moderate-to-severe cancer pain management), inadequate treatment is common (Fallon et al., 2018). In the study of Ayşe et al., They reported that pain was the most common symptom, as in our study (Neufeld et al., 2017). According to the results of our study, oncology patients most often admit to emergency departments with pain symptoms. We believe that there is a frequency of admissions to emergency departments in cancer patients, especially because pain management is inadequate. In the results of the present study, dyspnea complaints were high, especially in patients with lung cancer, as in patients with pulmonary metastasis. In the literature, Swenson et al. reported the type of cancer that was found more was lung cancer (Swenson et al., 1995). However, in some studies, it was emphasized that the symptom of shortness of breath was the most commonly developed clinical symptom in malignancy patients (Brookoff, 1996; Kocak et al., 2012). From the symptoms of our patients who were included in the present study, dyspnea ranked the second after pain, which supported previous studies. We believe that the pain symptom may have come to the forefront more because patients with respiratory difficulties continue to face it during the course of the disease, and in time, body toleration develops, and they try to overcome these symptoms with supportive devices that are often present at home.

According to the results of our study, patients have high admissions with nausea-vomiting symptoms, and especially the vast majority of the patients admitting with these complaints, chemotherapy is the reason, and some gastrointestinal cancer patients

have symptoms of nausea-vomiting more in addition to oral intake disorder. Approximately 70-80% of patients receiving chemotherapy experience nausea and/or vomiting. However, nausea and vomiting significantly affect the quality of life of the patients, and might cause poor compliance with advanced treatment (Aksu et al., 2013). In our study, nausea-vomiting symptoms were found to be associated with high levels of chemotherapy.

In oncological emergency admissions, the most frequent symptom in laboratory examinations is low hemoglobin (Brookoff, 1996). Anemia was the most common hematological disorder in the patients in our study. In previous studies conducted in the literature, the frequency of anemia is emphasized especially in oncology patients (Brookoff, 1996; Yaylacı et al., 2009). We believe that oral intake disorder, especially bleeding symptoms like in GIS, hematuria, bone metastasis, may trigger anemia in this group of patients. However, we also believe that neutropenia, which was less frequently encountered, and which was found to be proportionally low in our study, is also a side effect of chemotherapy.

In a multi-centered study in the literature, similar to our study, the importance of pain, shortness of breath and nausea symptoms was emphasized for cancer patients (Caterino et al., 2019). As the subject of our study was cancer disease, which is a chronic disease, affecting all body mechanisms, patients' vital activities decrease due to pain, shortness of breath, nausea-vomiting, and common symptoms in all cancer types. There might be a need to regulate the pre-treatment protocols of these patients to increase the life activities and facilitate cancer-related emergency department use and emergency care.

Limitation

There are some limitations in the present study. Firstly, the low number of patients because of the lack of a university research hospital and no oncology department as the study area. Also, the preferences of this group of patients were to contact the emergency departments of the hospitals where they

were primarily followed-up unless very urgent situations develop. Another limitation was inherent in the dataset. Firstly, if a patient with a history of cancer admits to the emergency department, and malignant neoplasm diagnosis is not documented according to ICD-10, this patient is not included in the study group.

Conclusion

In today's conditions, the quality of life of patients with increased malignancies is reduced because of the cancer disease and treatment protocols. For this reason, repetitive emergency department admissions are increasing. We believe that specific units can be opened in emergency medicine clinics in cooperation with oncology specialists for this patient group in the future because of the discomfort in which the disease is reflected in the body, and due to the side effects that occur during treatment, which will contribute to the determination of special approach policies in emergency department planning.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

REFERENCES

- Aksu G, Dolaşık I, Ensaroğlu F, Sener SY, Aydın FH, Temiz S, et al. (2013). Evaluation of the efficacy of aprepitant on the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting and quality of life with functional living index emesis. *Balkan Medical Journal*, 30(1), 64-67.
- Barbera L, Taylor C, Dudgeon D (2010). Why do patients with cancer visit the emergency department near the end of life? *Canadian Medical Association Journal*, 182(6), 563-568.
- Bluethmann SM, Mariotto AB, Rowland JH (2016). Anticipating the "silver tsunami:" prevalence trajectories and comorbidity burden among older cancer survivors in the United States. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention*, 25(7), 1029-1036.

- Bonica JJ (1985). Treatment of cancer pain: current status and future need, Vol. 9. New York: Raven Press.
- Bozdemir N, Eray O, Eken C, Şenol Y, Artaç M, Samur M (2009). Demographics, clinical presentations and outcomes of cancer patients admitted to the emergency department. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 39(2), 235-240.
- Brookoff D (1996). The Cancer Patient in The Emergency Department. The Clinical Practice of Emergency Medicine. 2nd ed. Philadelphia, Lippincott-Raven, 922-928.
- Cancer. Geneva: World Health Organization(2018). Available: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/ (accessed 2019 Mar. 29).
- Caterino JM, Adler D, Durham DD, Yeung SJ, Hudson MF, Bastani A et al (2019). Analysis of diagnoses, symptoms, medications, and admissions among patients with cancer presenting to emergency departments. *JAMA Network Open*, 2(3), e190979.
- Dunne-Daly CF (1994). Radiation therapy for oncological emergencies. *Cancer Nursing*, 17,516-527.
- Fallon M, Giusti R, Aielli F, Hoskin P, Rolke R, Sharma M, et al. (2018). On behalf of the ESMO Guidelines Committee Management of cancer pain in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Annals of Oncology*, 29(4), iv166-iv119.
- Greco MT, Roberto A, Corli O, Deandrea S, Bandieri E, Cavuto S, et al. (2014). Quality of cancer pain management: an update of a systematic review of under treatment of patients with cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 32(36), 4149-4154.
- Grewal K, Sutradhar R, Krzyzanowska MK, Redelmeier DA, Atzema CL (2019). The association of continuity of care and cancer centre affiliation with outcomes among patients with cancer who require emergency department care. *CMAJ*, 191(16), E436-E445.
- Guddati AK, Kumar N, Segon A, Joy PS, MarakCP, Kumar G (2013). Identifying oncological emergencies. *Medical Oncology*, 30(3), 669.
- Klemencic S, Perkins J (2019). Diagnosis and management of oncologic emergencies. *West Journal of Emergency Medicine*, 20 (2), 316-322.
- Kocak S, Ertekin B, Polat M, Girisgin S, Kara H (2012). Reasons for oncology patients in the emergency department application. *Sakaryamj*, 2(1), 16-20.
- Mayer DK, Travers D, Wyss A, Leak A, Waller A (2011). Why do patients with cancer visit emergency departments? Results of a 2008 population study in North Carolina. *Journal of Clinical Oncology*, 29(19), 2683-2688.
- McCarthy EP, Philips RS, Zhong Z, Drews RE, Lynn J (2000). Dying with cancer: patients' function, symptoms, and care preferences as death approaches. *Journal of the American Geriatrics Society*, 48(S1), 110-121.
- Neilan BA (1994). Oncologic emergencies. *Postgraduate Medicine*, 95, 125-132.
- Neufeld NJ, Elnahal SM, Alvarez RH (2017). Cancer pain: a review of epidemiology, clinical quality and value impact. *Future Oncology*, 13(9), 833-841.
- Posternak V, Dunn LB, Dhruva A, Paul SM, Luce J, Mastick J et al. (2016). Differences in demographic, clinical, and symptom characteristics and quality of life outcomes among oncology patients with different types of pain. *Pain*, 157(4), 892-900.
- Rivera DR, Gallicchio L, Brown J, Liu B, Kyriacou DN, Shelburne N (2017). Trends in adult cancer-related emergency department utilization: an analysis of data from the Nationwide Emergency Department sample. *JAMA Oncology*, 3(10), e172450.
- Swenson K, Rose MA, Ritz L, Murray C, Adlis S (1995). Recognition and evaluation of oncology-related symptoms in the emergency department. *Annals Emergency Medicine*, 26, 12-17.

- TUIK. Ölüm Nedeni İstatistikleri. (2018). <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index=Olum-Nedeni-istatistikleri> 2018-30626.
- Yaylacı S, Topuzoglu A, Karcioğlu O (2009). Acil servise başvuran kanser hastalarının klinik karakteristikleri ve bir yıllık sağ kalımları. *Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, 19, 4.

Orjinal Araştırma Makalesi/ Original Paper

Erzincan Bölgesinde Çocuk Hastalarda Süpernumerer Dişlerin Yaygınlığının ve Özelliklerinin Araştırılması

Investigation of Prevalence and Characteristics of Supernumerary Teeth in Pediatric Patients in Erzincan Region

Serhat KARACA¹, Belen ŞİRİNOĞLU ÇAPAN^{2*}

¹ Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti A.D., Erzincan, TÜRKİYE.

² Biruni Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti A.D., İstanbul, TÜRKİYE.

* Sorumlu yazar: Belen ŞİRİNOĞLU ÇAPAN; E-mail: bcapan@biruni.edu.tr

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı Türkiye'nin doğusunda Erzincan bölgesinde pedodonti kliniğine başvuran çocuk hastalarda süpernumerer dişlerin prevalansını ve özelliklerini belirlemek, neden oldukları komplikasyonları araştırmak ve güncel literatürler ile kıyaslama yapmaktır.

Materyal ve Metot: Bu retrospektif çalışmada Ocak 2019-Ocak 2020 tarihleri arasında Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne başvuran 4-14 yaş arası 3825 çocuk hastanın klinik ve radyografik verileri incelendi. Süpernumerer dişleri olan her hasta için demografik veriler (yaş, cinsiyet), süpernumerer diş sayısı, sürme durumu, morfoloji, pozisyon, buldukları dişlenme dönemleri ve süpernumerer dişlerle ilişkili komplikasyonlar kaydedildi. Verilerin istatistiksel analizinde, ortalama±standart sapma, yüzde dağılımları ve Ki-kare testi kullanıldı. Anlamlılık p<0.05 düzeyinde değerlendirildi.

Bulgular: Çalışma sonucunda 51 hastada (%1,34) toplam 64 adet süpernumerer diş tespit edildi. Süpernumerer dişler 1.8:1 erkek kadın oranı ile erkeklerde daha fazla görüldü (p <.001). Süpernumerer diş sayısı 39 vakada 1, 11 vakada 2 ve sadece 1 vakada 3 idi. Tespit edilen 64 süpernumerer dişin 40 tanesi karışık dişlenme döneminde, 21 tanesi daimi dişlenme döneminde ve 3 tanesi ise süt dişlenme döneminde bulunduğu gözlemlendi. Çoğu süpernumerer dişin maksillada bulunduğu tespit edilirken morfolojik olarak konik şekilli süpernumerer dişlerin en sık rastlanan grup olduğu görüldü. Süpernumerer dişlerin %78,1'i dikey pozisyonda iken %11'inin yatay pozisyonda olduğu gözlemlendi. İncelenen vakalarda süpernumerer dişlerin %46,9'u asemptomatik iken en sık neden oldukları komplikasyon ise %35,9 oranla daimi dişlerin sürmelerini engellemeleriydi.

Sonuç: Süpernumerer dişler erkeklerde ve maksillada daha sık görülmekte; gelişmekte olan dental oklüziona zarar verebilecek birçok komplikasyona neden olabilmektedirler. Süpernumerer dişler hakkında elde edilen bu bilgiler, çocuk diş hekimlerine erken tanı ve müdahale konusunda yardımcı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Süpernumerer diş, Meziyodens, Distomolar, Retrospektif çalışma, Panoramik radyografi.

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to determine the prevalence, characteristics and complications of supernumerary teeth in pediatric patients in Erzincan, Turkey.

Material and Method: In this retrospective study, clinical and radiographic data of 3825 pediatric patients aged 4-14 years who applied to Erzincan Binali Yıldırım University Faculty of Dentistry between January 2019 and January 2020 were examined. For each patient with supernumerary teeth, demographic data (age, gender), the number of supernumerary teeth, the state of eruption, morphology, position, the period of their dentition, and complications associated with supernumerary teeth were recorded. Data were analyzed using mean±standard deviation, percentage distributions and Chi-square test. Significance was evaluated at the p<0.05 level.

Results: As a result of this study, a total of 64 supernumerary teeth were detected in 51 patients (1.34%). Supernumerary teeth were more common in males than females with a ratio of 1.8:1 (p<.001). The number of supernumerary teeth was one in 39 cases and it was observed that 40 of the 64 supernumerary teeth detected in the mixed dentition. While most supernumerary teeth were found in the maxilla, morphologically conical shaped supernumerary teeth were found to be the most common group. 78.1% of supernumerary teeth were in vertical position. While 46.9% of the supernumerary teeth were asymptomatic, the most common complication they caused was that preventing the eruption of permanent teeth (35.9%).

Conclusion: Supernumerary teeth are more common in males and in maxilla; they can cause many complications that can damage the developing dental occlusion. This information about supernumerary teeth can help pediatric dentists with early diagnosis and intervention.

Keywords: Supernumerary teeth, Mesiodens, Distomolar, Retrospective study, Panoramic radiography.

Atf Yapmak İçin: Karaca S, Şirinoğlu Çapan B. Erzincan bölgesinde çocuk hastalarda süpernumerer dişlerin yaygınlığının ve özelliklerinin araştırılması. *Van Sag Bil Derg* 2022, 15, (1) 29-36. <https://doi.org/10.52976/vansaglik.958401>.

Geliş Zamanı: 27/06/2021

Kabul Zamanı: 01/11/2021

Basılama Zamanı: 30/04/2022

GİRİŞ

Diş hekimleri, rutin oral ve radyografik muayenelerde genellikle dişlerin gelişim anomalileri ile karşı karşıya kalabilmektedirler (Afify ve Zawawi, 2012). Süpernümerer dişlerin varlığı, süt ve erken karışık dişlenme dönemlerini etkileyen, hastalarda yaygın olarak bildirilen önemli anomalilerden biridir. Bu tip dişler, bazen oral kavitede veya rastlantısal olarak bir röntgen filminde görülebildiği gibi sürememiş bir kalıcı dişin nedeni de olabilirler (Alaejos ve ark., 2000).

Süpernümerer dişler, normal diş formülüne (20 adet süt dişlerinde ve 32 adet kalıcı dişlerde) göre fazla sayıda dişin varlığı olarak tanımlanır (Leco Berrocal ve ark., 2007). Bu anomalinin rapor edilen prevalansı kalıcı dişlerde % 0,1 ile % 3,8 arasında değişmekte olup, süt dişlerinde % 0,3 ile % 0,6 arasında değişmektedir (Díaz ve ark., 2009). Süpernümerer dişlere erkeklerde kadınlardan daha sık rastlanılmaktadır (Salcido-García ve ark., 2004).

Süpernümerer dişlerin kesin etiyolojisi bilinmemekle birlikte, varlıklarını açıklamak için çeşitli teoriler varsayılmaktadır. Bunlar arasından dişleri daha fazla olan antropoidlerde bir gerileme, otonom resesif kalıtım veya x kromozomu ile bağlantılı olan filogenetik teori, lokal bir travma sonucu anormal bir doku reaksiyonu, çevresel faktörler, diş germinin fazla bölünmesi ve diş laminasının hiperaktivitesi teorisi en çok kabul edilen teorileridir (Rao ve Chidzonga, 2001).

En sık yerleşim yerleri, tüm süpernümerer dişlerin % 80'inin bulunduğu maksilla ön bölge (meziyodensler)'dir. Daha nadiren, üst çene distomolar bölgede, alt ve üst çene premolar bölgesinde, alt çenede distomolar bölgede ve alt çenede kesici dişler bölgesinde de görülebilmektedir (Leco Berrocal ve ark., 2007). Klinik olarak, süpernümerer dişler, daimi dişlerin gömük kalması veya sürmelerinin gecikmesi, ektoptik diş sürmeleri, dişlerin yer değiştirmeleri, foliküler kistler ve cerrahi veya ortodontik müdahale

gerektiren diğer değişiklikler gibi farklı lokal bozukluklara neden olabilir (Zilberman ve ark., 1992; De Oliveira ve ark., 2008).

Diş anomalileri ile ilgili yapılan çalışmalar, çeşitli popülasyonlarda süpernümerer dişlerin prevalans sonuçları arasında önemli farklılıklar olduğunu ortaya koymaktadır. Bu çalışmanın amacı Türkiye'nin doğusunda Erzincan bölgesinde pedodonti kliniğine başvuran çocuk hastalarda süpernümerer dişlerin prevalansını ve özelliklerini belirlemek, neden oldukları komplikasyonları araştırmak ve güncel literatürler ile kıyaslama yapmaktır.

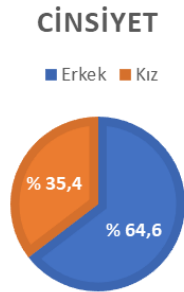
MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada 2019 Ocak -2020 Ocak tarihleri arasında Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesine (Erzincan, Türkiye) başvuran 4 ila 14 yaşları arasında 3825 hastanın (2162 erkek ve 1663 kadın) panoramik radyografileri kullanılarak retrospektif bir çalışma yapıldı. Bu çalışmada Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 22/07/2020 tarih ve 33216249-50.01.02-E.25458 sayısı ile etik kurul onayı alındı ve Helsinki bildirgesinden gelen yönergeler takip edildi. Çalışma için gerekli örneklem büyüklüğü Erzincan bölgesindeki 4-14 yaş grubu birey sayısı üzerinden (33972) hesaplandı ve minimum örneklem büyüklüğü 380 olarak belirlendi. Çalışmada incelenen hastaların ebeveynlerinden bilgilendirilmiş onam formları alındı. Diş büyümesini etkilemiş olabilecek hastalıklar, travma veya diş kırığı olan hastalar; veya yarı dudak / damak gibi konjenital anomalileri ve kalıtsal hastalıkları ya da sendromları olan hastalar (ör: Down sendromu veya kleidokraniyal disostoz) çalışmaya dahil edilmedi. Süpernümerer dişleri olan her hasta için, süpernümerer dişin demografik değişkenleri (yaş ve cinsiyet), sayısı, bulunduğu yeri, sürme durumu, anatomik pozisyonu, neden oldukları komplikasyonlar ve morfolojisi kaydedildi. Toplanan veriler IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0 (IBM Corp. Released 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.) yazılım programı kullanılarak istatistiksel olarak

analiz edildi. Yaş, ortalamalar ve standart sapma olarak özetlendi ve diğer tüm değişkenler frekans ve yüzde olarak hesaplandı. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi. Cinsiyet ile süpernumerer diş görülme sıklığı arasındaki ilişki Ki-kare testi ile karşılaştırıldı ($p < 0.05$).

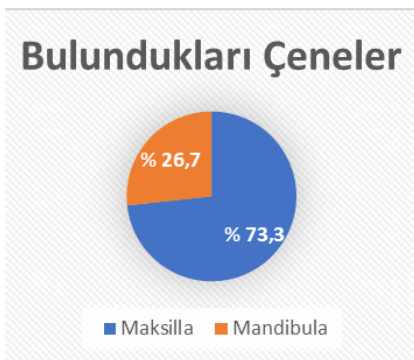
BULGULAR

Belirtilen süre zarfında 3825 Türk vaka (2162 erkek, 1663 kadın) incelendi. Bunlardan 33'ü erkek ve 18'i kadın (1.8: 1 erkek kadın oranına sahip) toplam 51 vakada (% 1.34) süpernumerer diş varlığı saptandı ($p < .001$) (Şekil 1).



Şekil 1. Süpernumerer dişlerin cinsiyete göre dağılımı.

Tablo 1'de süpernumerer dişlerin özellikleri gösterilmiştir. Olguların %76,4'ünde ($n = 39$) bir süpernumerer diş, % 21,6'sında ($n = 11$) iki süpernumerer diş, % 2'sinde ($n=1$) üç adet süpernumerer diş gözlemlendi. Bu çalışmada toplam 64 adet süpernumerer diş gözlemlendi; bunların %73,3'ü ($n = 47$) üst çenede bulunurken, % 26,7'si ($n = 17$) alt çenede tespit edildi (Şekil 2).

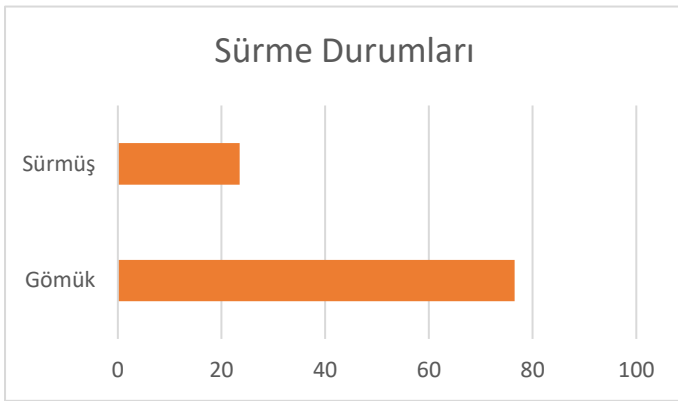


Şekil 2. Süpernumerer dişlerin buldukları çenelere göre dağılımı

Tablo 1. Süpernumerer dişlerin özellikleri

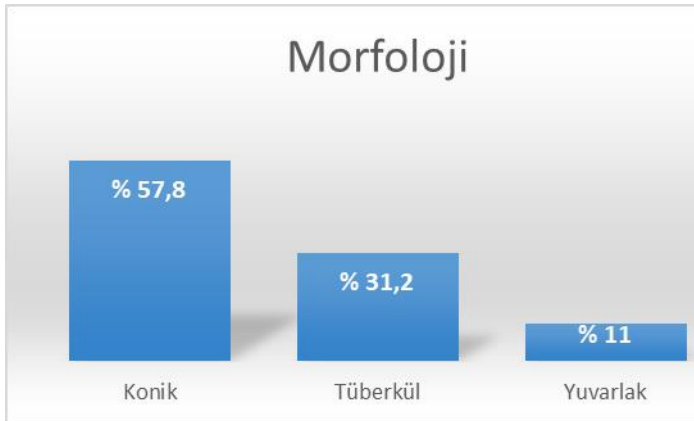
Süpernumerer Diş Özellikleri	Sayı	%
Toplam Sayı	64	100
Cinsiyet		
Erkek	33	64,6
Kız	18	35,4
Tip		
Meziyodens	20	31,2
Distomolar	13	20,4
Premolar	12	18,7
Lateral	11	17,2
Kanin	8	12,5
Sayı		
Bir Diş	39	76,4
İki Diş	11	21,6
Üç Diş	1	2
Lokasyon		
Maksilla	47	73,3
Mandibula	17	26,7
Sürme Durumu		
Gömük	49	76,5
Sürmüş	15	23,5
Vertikal	50	78,1
Pozisyon		
Horizontal	7	11
Meziyoangular	6	9,3
Ters	1	1,6
Konik	37	57,8
Morfoloji		
Tüberkül	20	31,2
Yuvarlak	7	11
Karışık Dentisyon	40	62,5
Dentisyon		
Daimi Dentisyon	21	32,8
Süt Dentisyon	3	4,7
Aseptomatik	30	46,9
Komplikasyon		
Sürmeyi Engelleyen	23	35,9
Çarpıklık	8	12,5
Odontojenik Kist	3	4,7

En sık bulunan süpernumerer dişler meziyodensler (% 31,2) iken, ardından bunu distomolar (% 20,4), premolar (% 18,7), lateral (% 17,2) ve köpek dişleri (% 12,5) izledi. Tespit edilen süpernumerer dişler sürme durumlarına göre incelendiğinde % 76,5'i ($n=49$) kemik içi gömülü durumdayken, % 23,5'i ($n=15$) ise sürmüş olarak gözlemlendi (Şekil 3).



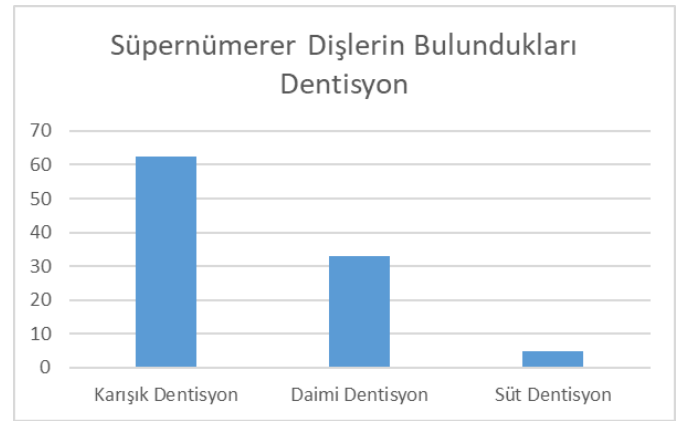
Şekil 3. Süpernumerer dişlerin sürme durumlarına göre dağılımı.

İncelenen süpernumerer dişlerin % 78,1'i (n=50) vertikal pozisyonda iken, % 11'i (n=7) horizontal, %9,3'ü (n=6) meziyoangular, % 1,6'sı (n=1) ise ters pozisyonda gözlemlendi. En sık gözlemlenen süpernumerer dişler % 57,8 (n=37) görülme sıklığı ile konik şeklinde olanlar iken, tüberkül şekilde olanlar % 31,2 (n=20), yuvarlak şekilde olanlar ise % 11 (n=7) oranında tespit edilmiştir (Şekil 4).



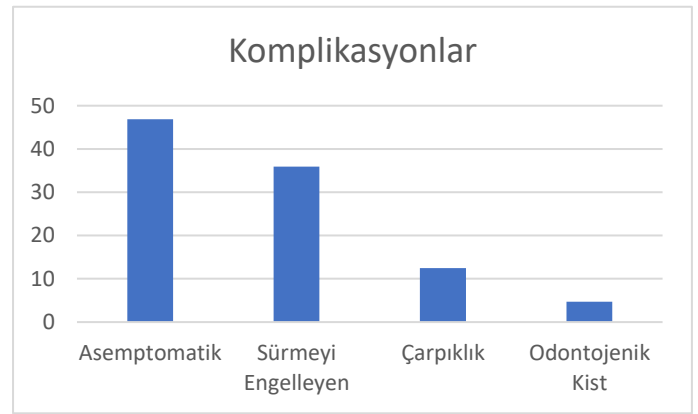
Şekil 4. Süpernumerer dişlerin morfolojilerine göre dağılımı.

Tespit edilen 64 adet süpernumerer dişin % 62,5'i (n=40) karışık dişlenme döneminde, % 32,8'i (n=21) daimi dişlenme döneminde, % 4,7'si (n=3) ise süt dişlenme döneminde gözlemlenmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Süpernumerer dişlerin buldukları dentisyona göre dağılımı.

Bu çalışmada süpernumerer dişlerin neden oldukları komplikasyonlara bakıldığında % 46,9'u (n=30) asemptomatik iken, % 35,9'u (n=23) ise daimi dişin sürmesini engellemiştir. Toplamda 64 süpernumerer dişin % 12,5'i (n=8) dişlerde çarpıklığa neden olurken, % 4,7'si (n=3) ise odontojenik kistlere neden olmaktadır (Şekil 6).



Şekil 6. Süpernumerer dişlerin neden oldukları komplikasyonlara göre dağılımı

TARTIŞMA

Süpernumerer dişler çocuk hastalarda karşılaşılan nadir gelişimsel anomalilerdir. Bu çalışmaya süt, karışık ve daimi dişlenme döneminde olan 4-14 yaş arası 3825 çocuk hasta dahil edilmiştir. Yapılan çalışmalarda, süpernumerer dişlerin hem erkeklerde hem de kadınlarda bulunduğu, ayrıca çeşitli popülasyonlarda süpernumerer diş prevalanslarının % 0,04 ila 2,4 olduğu bildirilmiştir (Afify ve Zawawi,

2012; Arıkan ve ark., 2013; Shokri ve ark., 2014; Burhan ve ark., 2015; Vani ve ark., 2016; Laganà ve ark., 2017). Çalışmamızda, süpernumerer dişlerin prevalansı daha önce yapılan araştırmalarla uyumlu olarak % 1,34 oranında tespit edilmiştir. Çalışmamızda erkeklerde kadınlardan daha sık süpernumerer diş gözlenmiştir. Bu bulgu erkeklerin kadınlardan yaklaşık iki kat daha fazla etkilendiğini bildirilen verilerle uyumludur (Scheiner ve Sampson, 1997; Bäckman ve Wahlin, 2001; Ata-Ali ve ark., 2014; Laganà ve ark., 2017; Zakirulla ve ark., 2019; El-halafawey ve ark., 2021).

Literatürdeki çalışmalarla (Salcido-García ve ark., 2004; Celikoglu ve ark., 2010; Arıkan ve ark., 2013; Burhan ve ark., 2015) uyumlu olarak, bu çalışma maksillada (%73,3), mandibuladan daha fazla sayıda süpernumerer diş bulmuştur. Bu bulgu, Lagana ve ark. (2017)'in süpernumerer dişlerin % 78,2'sinin maksiller arkta olduğunu gözlemledikleri çalışmanın sonucuna oldukça yakındır. Ayrıca, süpernumerer dişlerin yaklaşık %90 oranda maksillada bulunduğunu bildiren diğer yazarlarla (Rajab ve Hamdan, 2002; Gupta ve Kumar, 2017; Kasimoglu ve ark., 2020) da aynı fikirdedir.

Çalışmamızda süpernumerer dişleri olan 51 kişiden % 76,4'ünde tek bir süpernumerer diş saptanırken, daha az sayıda olguda iki ve üç süpernumerer diş gözlemlenmiştir. Bulgularımız, süpernumerasyonlu hastaların % 78,3'ünde bir, % 21,6'sında iki ve % 2,9'unda üç veya daha fazla süpernumerer diş bulunduğunu bildiren diğer yazarlarla uyumludur (Yassin, 2016). Bu sonuçlar Rajab ve Hamdan (2002)'in ve Zakirulla ve ark.'ın (2019) bulgularına da benzerlik göstermektedir. Buna karşın bazı araştırmacılar ise inceledikleri popülasyonlarda ikiden fazla süpernumerer diş görülen vaka olmadığını bildirmişlerdir (Gupta ve Kumar, 2017; Arandi ve ark., 2020).

Bu çalışmada sürme durumu değerlendirilirken, süpernumerer dişlerin büyük çoğunluğunun sürmemiş olduğunu tespit edilmiştir. Sonuçlarımız, litera-

türdeki diğer çalışmaların bildirdikleri gömük pozisyondaki süpernumerer dişlerin prevalansları ile uyumludur (Asaumi ve ark., 2004; De Oliveira Gomes ve ark., 2008; Celikoglu ve ark., 2010; Burhan ve ark., 2015). Daha önce gerçekleştirilen çalışmalarda araştırmacılar buldukları süpernumerer dişlerin % 73,7'sinin süremediğini bildirmişlerdir (Singh ve ark., 2014). Yapılan çalışmalarda süpernumerer dişlerin en fazla vertikal pozisyonda ve konik şekilde buldukları gösterilmiştir (Fernandez Montenegro ve ark., 2006; Liu ve ark., 2007; Celikoglu ve ark., 2010; Arandi ve ark., 2020). Gerçekleştirilen bu çalışmada ise, literatürdeki çalışmalara benzer şekilde süpernumerer dişlerin en fazla vertikal konumda oldukları tespit edilmiştir.

En sık bulunan süpernumerer dişlerin meziyodensler olduğu bildirilmiştir (Fernandez Montenegro ve ark., 2006; Ferrés-Padró ve ark., 2009; El-halafawey ve ark., 2021). Bazı yazarlar (Menardía-Pejuan ve ark., 2000; Fernandez Montenegro ve ark., 2006; Arandi ve ark., 2020) meziyodensleri distomolar dişlerin takip edebileceğini düşünmektedir, ancak diğer araştırmacılar (Leco Berrocal ve ark., 2007; Vani ve ark., 2016) meziyodensleri lateral dişlerin takip ettiğini bildirmiştir. Bu çalışmanın Türk popülasyonundaki sonuçları, en sık bulunan süpernumerer dişlerin meziyodensler, ardından sırasıyla distomolarlar, premolar dişler, lateral dişler ve köpek dişleri olduğunu göstermiştir.

Birçok çalışmada (Fernandez Montenegro ve ark., 2006; Esenlik ve ark., 2009; Singh ve ark., 2014; Kasimoglu ve ark., 2020), süpernumerer dişlerin şeklinin kalıcı dişlerde konik olarak tespit edildiği görülmektedir. Bu çalışmada da, en sık gözlemlenen diş şekli konik iken; bunu sırasıyla tüberkül ve yuvarlak şekilli süpernumerer dişler takip etmiştir. Sonuçlarımızla uyumlu olarak Gupta ve Kumar (2017) da, çalışmalarında en sık görülen diş şeklinin konik olduğunu, bunu tüberkül şeklinin izlediğini bildirmiştir. Çalışmamızda daha önce yapılmış bir araştırma ile uyumlu olarak, tespit edilen süpernumerer dişlerin büyük çoğunluğu karışık dişlenme döneminde, çok azı ise süt dişlenme döneminde gözlemlenmiştir

(Burhan ve ark., 2015). Literatürdeki bazı çalışmalar bu bulgumuzu desteklerken (Zakirulla ve ark., 2019; Kasimoglu ve ark., 2020); bir başka çalışma ise sonuçlarımızdan farklı olarak süt dentisyonda, daimi dentisyona eş sayıda süpernumerer diş saptamıştır (Syriac ve ark., 2017). Ancak bu çalışmaların hepsi süpernumerer dişlerin en sık karışık dişlenme döneminde görüldüğünü bildirmiştir.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, süpernumerer dişlerin en sık neden olduğu komplikasyon daimi dişlerin sürmesini engellemeleridir. İncelenen olgularda süpernumerer dişlerin daimi dişlerde çarpıklık ve odontojenik kist oluşumu gibi komplikasyonlara da neden olduğu tespit edilmesine rağmen, bu olgularda genellikle asemptomatik oldukları gözlemlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde, süpernumerer dişlerin en sık neden oldukları komplikasyonun bu çalışma ile uyumlu olarak daimi dişlerin sürmelerini engellemeleri olduğu tespit edilmiştir (Garvey ve ark., 1999; Rajab ve Hamdan, 2002; Brook ve ark., 2009; Kasimoglu ve ark., 2020). Süpernumerer dişlerin tedavisi sebep oldukları komplikasyonlara bağlıdır. Bu nedenle tedavilerinin yönetimi kapsamlı bir planlama içerisinde olmalı ve tek başına düşünülmemelidir. Genellikle, herhangi bir komplikasyon tespit edilirse süpernumerer dişlerin çekimi gerçekleştirilir. Ancak, süpernumerer dişlerin herhangi bir estetik veya oklüzal rahatsızlığa neden olmadığı ve bir komplikasyonla ilişkilendirilmediği durumlarda, gözlem altında tutmak ve takip etmenin en iyi prensip olduğu düşünülmektedir (Bäckman ve Wahlin, 2001).

Farklı popülasyonlardaki süpernumerer dişler için bildirilen prevalans değerleri ve özelliklerindeki değişiklikler, belki de etnik farklılıklar, yerel çevresel ve diyet faktörleri nedeniyle olabilir. Ayrıca, örneklem kriterleri, teşhis araçları ve yaş grupları bildirilen varyasyonlara katkıda bulunabilir.

Her ne kadar bu çalışma Türk halkını bir bütün olarak temsil etmese de, sonuçlar birinci basamak sağlık çalışanları için yararlı olup, incelenen hastalar Türki-

ye'nin bu bölgesinde diş hekimliği fakültesi hastanesine başvuran çocuk hastalarının çeşitliliğini temsil etmektedir. Bu çalışma ile süpernumerer dişler hakkında elde edilen bilgiler, çocuk diş hekimliği açısından süpernumerer dişlerin erken tanı, müdahale ve neden olabilecekleri birçok olası komplikasyonu önlemede faydalı olabilecektir.

Sonuç olarak, Türkiyenin bu coğrafi bölgesinde incelenen çocuk hastalarda süpernumerer dişlerin prevalansı ve sahip oldukları özellikler bir takım farklılıklar göstermekle beraber genel hatlarıyla literatürle uyumludur. Bu tip dişlerin büyük bir kısmı gömülü pozisyonda olduğundan rutin oral muayeneler sırasında teşhis edilemeyebilir, ancak herhangi bir komplikasyona neden olduklarında veya radyografik incelemeler sırasında tespit edilebilmektedirler. Süpernumerer dişlerin teşhisinin gecikmesi, çocuk hastalar için daha kapsamlı tedaviler gerektireceğinden erken tanı ve tedavi ile neden olabilecekleri komplikasyonların önlenmesi açısından önemlidir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Finansal Destek

Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını belirtmişlerdir.

KAYNAKLAR

- Afify AR, Zawawi KH. (2012). The prevalence of dental anomalies in the western region of Saudi Arabia. *ISRN Dentistry*, 2012, 837270.
- Alaejos C, Contreras MA, Buenechea R, Berini L, Gay C. (2000). Mesiodens: a retrospective study of 44 patients. *Medicina Oral*, 5, 81-88.
- Arandi NZ, Abu-Ali A, Mustafa S. (2020). Supernumerary teeth: a retrospective cross-sectional study from Palestine. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada* 2, 20, e5057.
- Arikan V, Ozgul BM, Oz FT. (2013). Prevalence and characteristics of supernumerary teeth in a child population from Central Anatolia -Turkey. *Oral Health and Dental Management*, 12(4), 269-272.

- Asaumi JI, Shibata Y, Yanagi Y, Hisatomi M, Matsuzaki H, Konouchi H, et al. (2004). Radiographic examination of mesiodens and their associated complications. *Dentomaxillofacial Radiology*, 33, 125-127.
- Ata-Ali F, Ata-Ali J, Peñarrocha-Oltra D, Peñarrocha-Diago M. (2014). Prevalence, etiology, diagnosis, treatment and complications of supernumerary teeth. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 6(4), e414-418.
- Bäckman B, Wahlin YB. (2001). Variations in number and morphology of permanent teeth in 7-year-old Swedish children. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 11(1), 11-17.
- Brook AH, Griffin RC, Smith RN, Townsend GC, Kaur G, Davis GR, et al. (2009). Tooth size patterns in patients with hypodontia and supernumerary teeth. *Archive Oral Biology*, 54(Suppl 1), 63-70.
- Burhan AS, Nawaya FR, Arabi Katbi ME, Al-Jawabra AS. (2015). Prevalence of supernumerary teeth in a nonsyndromic Syrian sample. *Journal of the Egyptian Public Health Association*, 90(4), 146-149.
- Celikoglu M, Kamak H, Oktay H. (2010). Prevalence and characteristics of supernumerary teeth in a non-syndrome Turkish population: associated pathologies and proposed treatment. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal*, 15(4), e575-8.
- De OliveiraGomes C, Drummond SN, Jham BC, Abdo EN, Mesquita RA. (2008). A survey of 460 supernumerary teeth in Brazilian children and adolescents. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 18,98-106.
- Díaz A, Orozco J, Fonseca M. (2009). Multiplehy perodontia: report of a case with 17 supernumerary teeth with nonsyndromic association. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal*, 14(5), E229-231.
- El-Halafawey RA, AbdEl-Gawad RY, Hanafy RMH. (2021). Prevalence of erupted supernumerary teeth and associated oral complications among a group of Egyptian children: a crosssectional study. *Egyptian Dentistry Journal*, 67(3),1753-1759.
- Esenlik E, Sayin MO, Atila AO, Ozen T, Altun C, Başak F. (2009). Supernumerary teeth in a Turkish population. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedic*, 136, 848-852.
- Fernandez-Montenegro P, Valmaseda-Castellon E, Berini Aytes L, Gay-Escoda C. (2006). Retrospective study of 145 supernumerary teeth. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal*,11, E339-E344.
- Ferrés-Padró E, Prats-Armengol J, Ferrés-Amat E. (2009). A descriptive study of 113 unerupted supernumerary teeth in 79 pediatric patients in Barcelona. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal*, 14(3), E146-E152.
- Garvey MT, Barry HJ, Blake M. (1999). Supernumerary teeth--an overview of classification, diagnosis and management. *Journal of the Canadian Dental Association*, 65, 612-616.
- Gupta S, Praveen Kumar PS. (2017). A study on prevalence, complications, and possible etiologic factors of supernumerary teeth in 6-12-year-old school children of Rohtak, India. *Indian Journal of Dental Sciences*, 9,141-147.
- Kasimoglu Y, Koruyucu M, Seymen F. (2020). Characteristics of non-syndromic supernumerary teeth in (a group of Turkish) children. *International Journal of Medical Investigation*, 9(1), 50-59.
- Laganà G, Venza N, Borzabadi-Farahani A, Fabi F, Danesi C, Cozza P. (2017). Dental anomalies: prevalence and associations between them in a largesample of non-orthodontic subjects, a cross-sectional study. *BMC Oral Health*, 17(1),62.
- Leco Berrocal MI, Martín Morales JF, Martínez González JM. (2007). An observational study of the frequency of supernumerary teeth in a population of 2000 patients. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal*, 12, E134-E138.
- Liu DG, Zhang WL, Zhang ZY, Wu YT, Ma XC. (2007). Three-dimensional evaluations of supernumerary teeth using cone-beam computed to

- mography for 487 cases. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 103(3), 403-411.
- Menardía-Pejuan V, Berini-Aytés L, Gay-Escoda C. (2000). Supernumerary molars. A review of 53 cases. *Bulletin du Groupement International pour la Recherche Scientifique en Stomatologie Odontologie*, 42, 101-105.
- Rajab LD, Hamdan MA. (2002). Supernumerary teeth: review of the literature and a survey of 152 cases. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 12(4), 244-254.
- Rao PV, Chidzonga MM. (2001). Supernumerary teeth: literature review. *Central African Journal of Medicine*, 47, 22-26.
- Salcido-García JF, Ledesma-Montes C, Hernández-Flores F, Pérez D, Garcés-Ortiz M. (2004). Frequency of supernumerary teeth in Mexican population. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal*, 9(5), 403-409.
- Scheiner MA, Sampson WJ. (1997). Supernumerary teeth: a review of the literature and four case reports. *Australian Dental Journal*, 42(3), 160-165.
- Shokri A, Poorolajal J, Khajeh S, Faramarzi F, Kahnemoui HM. (2014). Prevalence of dental anomalies among 7- to 35-year old people in Hamadan, Iran in 2012-2013 as observed using panoramic radiographs. *Imaging Science in Dentistry*, 44(1), 7-13.
- Singh VP, Sharma A, Sharma S. (2014). Supernumerary teeth in Nepalese children. *Scientific World Journal*, 2014, 215396.
- Syriac G, Joseph E, Rupesh S, Philip J, Cherian SA, Methew J. (2017). Prevalence characteristics, and complications of supernumerary teeth in non syndromic pediatric population of South India: A clinical and radiographic study. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 9(Suppl 1), 231-236.
- Vani NV, Saleh SM, Tubaigy FM, Idris AM. (2016). Prevalence of developmental dental anomalies among adult population of Jazan, Saudi Arabia. *Saudi Journal for Dental Research*, 7(1), 29-33.
- Yassin SM. (2016). Prevalence and distribution of selected dental anomalies among Saudi children in Abha, Saudi Arabia. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 8(5), e485-e490.
- Zakirulla M, Almoammar S, Alshehri ES, Alshehri MM, Alqahtani AM, Najmi SM, et al. (2019). Supernumerary teeth amongst Saudi children: A retrospective radiographic survey. *Medical Sciences*, 23(98), 571-576.
- Zilberman Y, Malron M, Shteyer A. (1992). Assessment of 100 children in Jerusalem with supernumerary teeth in the premaxillary region. *ASDC Journal Dentistry for Children*, 59, 44-47.

Bromelain has Antioxidant Effect On Methotrexate Hepatotoxicity and Nephrotoxicity

Bromelain Metotreksat Hepatotoksisitesi ve Nefrotoksisitesi Üzerine Antioksidan Etkilidir

Ali GÜREL^{1*}, Kürşat KAYA²

¹ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nefroloji A.D, Elazığ, TÜRKİYE.

² Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya A.D., Denizli, TÜRKİYE.

* Sorumlu yazar: Ali GÜREL; E-mail: draligurel@gmail.com

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada bromelainin (BRM) metotreksat (MTX) kaynaklı böbrek ve karaciğer hasarına karşı potansiyel koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot: Dört gruba ayrılan sıçanlarda (n=7); kontrol grubuna 14 gün gavaj yoluyla distile su ve üçüncü gün intraperitoneal (i.p.) fizyolojik salin (%0.9 NaCl) verildi; BRM grubuna 14 gün boyunca gavaj yoluyla 200 mg/kg BRM ve üçüncü gün i.p fizyolojik salin (%0.9 NaCl); MTX grubuna 14 gün boyunca gavaj yoluyla distile su ve üçüncü günde i.p. tek doz 20 mg/kg MTX; BRM+MTX grubuna 14 gün boyunca gavaj yoluyla 200 mg/kg BRM ve üçüncü günde i.p. tek doz 20 mg/kg MTX uygulandı. Deney sonunda sıçanlar dekapite edildi, böbrek ve karaciğer dokuları -80 °C'de muhafaza edilerek, doku homojentlerinden elde edilen supernatantlarda biyokimyasal analizler gerçekleştirildi.

Bulgular: MTX uygulaması ile oksidasyon belirteci tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) seviyeleri kontrol grubuna kıyasla arttı; antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) aktiviteleri kontrol grubuna göre azaldı. BRM'nin MTX ile birlikte uygulanması, TBARS seviyesinde azalmaya ve GSH, CAT, SOD ve GPx aktivitelerinde artışa neden oldu.

Sonuç: Bu çalışmada MTX'in böbrek ve karaciğer dokularında oksidatif hasara neden olduğu ve BRM'nin bu hasarı önlediği belirlenmiştir.

Cited: Gürel A, Kaya K. Bromelain has antioxidant effect on methotrexate hepatotoxicity and nephrotoxicity. *Van Sag Bil Derg* 2022, 15, (1) 37-43. <https://doi.org/10.52976/van-saglik.982411>.

Received date: 13/08/2021

Accepted date: 12/09/2021

Published date: 30/04/2022

Anahtar Kelimeler: Metotreksat, Oksidatif hasar, Böbrek, Karaciğer, Bromelain.

ABSTRACT

Objective: The goal of this study was to look into whether bromelain (BRM) could protect against methotrexate (MTX)-induced kidney and liver damage.

Material and Method: The rats were divided into four groups (n=7); the control group was given distilled water by gavage for 14 days and intraperitoneal (i.p.) physiological saline (%0.9 NaCl) on the third day; the BRM group was given 200 mg/kg BRM by gavage for 14 days and i.p. physiological saline (%0.9 NaCl) on third day; the MTX group was given distilled water by gavage for 14 days and i.p. single dose of 20 mg/kg MTX on the third day; the MTX+BRM group was given 200 mg/kg BRM by gavage for 14 days and i.p. single dose of 20 mg/kg MTX on the third day. Rats were decapitated at the end of the experiment, kidney and liver tissues were kept at -80°C, and biochemical analyzes were performed on the supernatants obtained from tissue homogenates.

Results: With the administration of MTX, oxidation indicator thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels increased in comparison with the control group; antioxidants- glutathione peroxidase (GPx), glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT) activities were decreased compared to the control group. Co-administration of BRM with MTX resulted in reduction in TBARS level and increase in GSH, CAT, SOD, and GPx activities.

Conclusion: In this study, it was determined that MTX caused oxidative damage in kidney and liver tissues and BRM prevented this damage.

Keywords: Methotrexate, Oxidative damage, Kidney, Liver, Bromelain.

INTRODUCTION

Methotrexate (MTX) is a folic acid antagonist that works by inhibiting the dihydrofolate reductase enzyme. It's used to treat cancer and autoimmune inflammatory disorders like rheumatoid arthritis, as

well as gynecological pathologies like ectopic pregnancy and gestational trophoblastic diseases (Hafez et al., 2015). Serious side effects observed in various organs and tissues, including the gastrointestinal tract, liver, kidneys, and nervous system limit the

use of MTX. Oxidative stress and inflammatory processes have been linked to these adverse effects (Bernsen et al., 2020). Interference of MTX with folate metabolism, deterioration of intracellular metabolic pathways and mitochondrial enzymes by polyglutamated forms of MTX mediate these adverse effects (LaCasce, 2021).

The pineapple from the Bromeliaceae family grows in the equatorial region; it is a plant with anti-cancer, anti-inflammatory, antioxidant, and anti-platelet effects (El Demerdash et al., 2020). Bromelain (BRM) is obtained from pineapple; it is a mixture of carbohydrates and various thiol endopeptidases, glucosidases, phosphatases, cellulases, peroxidases, glycoproteins and protease inhibitors, however the mode of its action is not properly understood (Pavan et al., 2012). BRM, which is absorbed from the intestines without losing its biological effectiveness, has been reported to have positive effects in various diseases such as surgical traumas, platelet aggregation inhibition, thrombophlebitis, sinusitis, pyelonephritis, bronchitis, and angina pectoris. (White et al., 1988; Castell et al., 1997; Pavan et al., 2012).

The goal of this study was to see if BRM could protect kidney and liver cells from oxidative damage caused by MTX. We assessed the antioxidant markers glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and reduced glutathione (GSH) activity, as well as the oxidative stress marker thiobarbituric acid reactive substance (TBARS).

MATERIAL and METHOD

Chemicals: Methotrexate (Koçak Farma, 500 mg/20 ml) and BRM (Solgar, 500 mg, Leonia, New Jersey) were purchased from the pharmacy and all other chemicals were of analytical grade or the highest purity available and were obtained from Sigma-Aldrich.

Experimental animals and study design: Ethics committee approval of the study was received from Adiyaman University Animal Experiments Ethics Committee (31.10.2019- 2019/050). 28 Sprague Dawley male rats were used. During the study, feed and

water were given ad libitum to the rats, which were housed in polypropylene cages with a 12-hour light-dark cycle and a constant temperature of 21°C.

Twenty eight rats were divided equally into four groups as 7 rats in each group. The rats in the control group were given distilled water by gavage once a day for 14 days and injected a single dose of physiological saline i.p. on the third day. The rats in the BRM group were given 200 mg/kg BRM by gavage once a day for 14 days, and a single dose of physiological saline was injected i.p. on the third day. The rats in the MTX group were administered distilled water by gavage once a day for 14 days with distilled water and on the third day a single dose of 20 mg/kg MTX was administered i.p. The rats in the MTX+BRM group were administered 200 mg/kg BRM once a day for 14 days by gavage and on the third day a single dose of 20 mg/kg MTX by i.p. injection. At the end of the study, rats that were administered general anesthesia with a xylazine-ketamine mixture were decapitated. Kidney and liver tissues were rapidly removed and stored at -80 °C for biochemical measurements.

Biochemical measurements: Tissues were homogenized in 0.2 M Tris-HCl buffer (pH: 7.4) under cold chain conditions to achieve a 1:10 (w/v) dilution of the entire homogenate. The direct homogenate was used for TBARS measurements. SOD, CAT, and GPx activities and GSH levels were determined from the supernatants obtained by centrifuging the homogenates at 3220 rpm for 30 min (4 °C). TBARS levels, a lipid peroxidation index, were measured using Yagi's method (Yagi, 1998). The samples were evaluated spectrophotometrically by measuring at 532 nm and the results were shown as nmol/g tissue. SOD, CAT, and GPx are members of the cellular enzymatic antioxidant defense system. SOD serves as the first line of defense against free oxygen radicals by converting superoxide anion to hydrogen peroxide, and decreasing CAT and GPx hydrogen peroxide to water in mitochondria. (Ighodaro and Akinloye, 2018). The spectrophotometric method was used to determine SOD, CAT, and GPx activities and results were

expressed as units/mg tissue protein. For determining SOD activity, method of Sun et al. (Sun et al., 1998) was used. In this method, which is based on the inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction caused by the superoxide radical produced by the xanthine/xanthineoxidase system, the enzyme activity that inhibits NBT reduction by 50% is accepted as 1 SOD activity. CAT activity was determined by the method of Aebi (Aebi, 1974) based on the principle of monitoring the degradation of hydrogen peroxide in the environment by the effect of CAT as a decrease in absorbance at 240nm wavelength. The absorbance difference per unit time was used as a measure of CAT activity. GPx activity was determined according to the method of Paglia and Valentine (Paglia and Valentine, 1967). In this method, GPx, which reduces hydrogen peroxide to water, converts the reduced glutathione into its oxidized form. In the presence of glutathione reductase and NADPH, oxidized glutathione is reduced back to reduced glutathione. The decrease in NADPH in the medium is followed as a decrease in absorbance at 340 nm. The decrease in absorbance is proportional to the activity of GPx. GSH is one of the members of the second line antioxidant defense system. It scavenges free radicals by donating them electrons. GSH levels were determined spectrophotometrically by measuring at 412 nm wavelength according to the method of Sedlak and Lindsay (Sedlak and Lindsay, 1968). Tissue GSH levels were expressed as nmol/mg tissue protein.

The Lowry method was used to determine the amount of tissue protein (Lowry et al., 1951).

Statistical Analysis: Statistical analyzes were performed using the IBM SPSS 21 program. Whether the data showed normal distribution or not was analyzed with the Shapiro-Wilk test. One-way analysis of variance (ANOVA) test was used to compare variables between groups. According to Levene test analysis, Tukey HSD was used for variables with homogeneous variance and Games-Howell test was used for variables with non-homogeneous variance as post hoc tests. The mean and standard error of the results were calculated (SEM). Statistical significance was defined as $p < 0.05$ value (95 percent confidence interval).

RESULTS

Kidney and liver tissue TBARS and GSH levels and SOD, GPx and CAT activities are given in tables 1 and 2. In our study, administration of MTX increased TBARS levels in kidney tissue compared to the control group; and caused decrease in SOD GPx, GSH and CAT activities without statistical significance. Co-administration of BRM with MTX caused a significant reduction in TBARS level compared to MTX group; and caused increase in SOD, GPx, GSH and CAT activities although without statistical significance.

Table 1. Changes in TBARS, SOD, GPx, GSH and CAT levels in kidney tissues of rats treated with MTX and BRM

Kidney	TBARS (nmol/g)	GSH (nmol/mg)	SOD (U/mg)	GPx (U/mg)	CAT (U/mg)
Control	88,68±0,37 ^a	18,00±1,37	3,95±0,28	0,91±0,06	444,44±20,15
BRM	73,95±1,20 ^b	20,03±1,61	4,16±0,54	1,03±0,08	450,58±11,28
MTX	92,28±0,65 ^a	17,09±1,16	3,96±0,13	0,90±0,04	414,22±6,77
MTX+BRM	82,98±0,95 ^c	17,60±1,09	4,33±0,42	0,96±0,05	439,69±19,94

Means bearing different superscripts within same column were significantly different ($P < 0,05$). Mean±SEM.

In comparison with the control and BRM groups, MTX administration resulted in a large increase in TBARS levels in liver tissue, as well as a significant decrease in GSH, SOD, GPx, and CAT activities. In comparison to the MTX group, administration of

BRM with MTX resulted in a large decrease in TBARS levels, as well as a considerable increase in GSH, SOD, GPx, and CAT activities as shown in the Table 2.

Table 2. Changes in TBARS, SOD, GPx, GSH and CAT levels in liver tissues of rats treated with MTX and BRM.

Liver	TBARS (nmol/g)	GSH (nmol/mg)	SOD (U/mg)	GPx (U/mg)	CAT (U/mg)
Control	22.21±1.75 ^a	8.51±0.58 ^a	2.66±0.14	0.84±0.04 ^a	1490.99±61.27 ^a
BRM	23.18±2.40 ^a	8.24±0.75 ^a	2.75±0.22	0.87±0.05 ^a	1456.67±81.52 ^a
MTX	43.15±4.29 ^b	4.30±0.31 ^b	2.32±0.06	0.57±0.03 ^b	1076.87±53.74 ^b
MTX+BRM	31.53±0.73 ^a	7.54±0.21 ^a	2.45±0.09	0.75±0.01 ^a	1252.18±30.62 ^{ab}

Means bearing different superscripts within same column were significantly different ($P < 0.05$). Mean±SE.

DISCUSSION

MTX, a folate antimetabolite cytotoxic antineoplastic agent, is used in the treatment of many malignancies. It is also used in the treatment of rheumatoid arthritis and some other rheumatic and inflammatory diseases due to its immunosuppressive/modulatory effects (Wang et al., 2018). MTX-polyglutamates formed after entering the cell potentially inhibit the dihydrofolate reductase enzyme. Inhibition of the dihydrofolate reductase enzyme stops protein synthesis by blocking the synthesis of thymidines and purines, which need tetrahydrofolate for their synthesis (Wang et al., 2018). Methotrexate causes serious side effects in many tissues and organs, especially in tissues with high proliferation, that limit its use. Hepatotoxicity, nephrotoxicity, pulmototoxicity, hematotoxicity, neurotoxicity, cardiotoxicity, gastrointestinal, gonadal toxicity, and neocarcinogenic effects are the main side effects (Campbell et al., 2016). Side effects depend on dose, administration route, and frequency of administration and concomitant use of folic acid.

Kidneys and liver are organs responsible for homeostasis, toxin/metabolite/drug elimination and com-

plex metabolic functions in the organism. Methotrexate-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity are attributed to the pathological processes of oxidative damage, inflammation, and apoptosis (Yalçın and Gürel, 2020).

In this study, administration of 20 mg/kg single dose of MTX caused an increase in TBARS levels and a decrease in SOD, GPx, GSH, CAT activities in rat kidney and liver tissues. These results were consistent with the literature detecting oxidative damage caused by MTX (Yalçın and Gürel, 2020).

BRM is a mixture of sulfur-containing enzymes isolated from pineapple. BRM, which is absorbed without losing its biological activity and deteriorating after oral administration and has no side effects even with long-term use (Agarwal et al., 2016). Furthermore, BRM's antioxidant properties have been established in earlier research. Oral administration of 250 mg/kg BRM against aluminum-induced oxidative damage significantly decreased TBARS and H₂O₂ levels and increased GSH, SOD, CAT and GPx activities in rat kidney tissue (El Demerdash et al., 2020) and in rat testis tissue (Jebur et al., 2020).

Agarwal et al. (Agarwal et al., 2016) showed that administration of 70 mg/kg BRM to mice exposed to

dichlorvos toxicity significantly reduced serum TBARS and protein carbonyl content- another indicator of oxidative stress, and increased GSH level and SOD, CAT, and GPx activities.

In our study, 200 mg/kg oral BRM administration increased GSH, GPx, CAT, and SOD activities compared to the MTX administered group. As a result, the application of BRM provided partial improvement against MTX-induced oxidative kidney and liver damage. Therefore, BRM may be useful in preventing nephrotoxicity and hepatotoxicity that may occur in people receiving MTX therapy.

Conflict of Interest: No conflict of interest declared by the authors.

REFERENCE

- Aebi H. (1974). Catalase. *Methods Enzymatic Analysis*, 673-684.
- Agarwal S, Chaudhary B, Bist R (2016). Bacoside and bromelain relieve dichlorvos induced changes in oxidative responses in mice serum. *Chemico Biological Interactions*, 254, 173-178.
- Bernsen EC, Hagleitner MM, Kouwenberg TW, Hanff LM. (2020). Pharmacogenomics as a tool to limit acute and long-term adverse effects of chemotherapeutics: an update in pediatric oncology. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 1-19.
- Campbell JM, Bateman E, Peters MDJ, Bowen JM, Keefe DM, Stephenson MD. (2016). Fluoropyrimidine and platinum toxicity pharmacogenetics: An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Pharmacogenomics*, 17(4), 435-451.
- Castell JV, Friedrich G, Kuhn CS, Poppe GE. (1997). Intestinal absorption of undegraded proteins in men: presence of bromelain in plasma after oral intake. *American Journal of Physiology*, 273, 139-146.
- El Demerdash FM, Baghdadi HH, Ghanem NF, Mhanna ABA. (2020). Nephroprotective role of bromelain against oxidative injury induced by aluminium in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 80, 103509.
- Hafez HM, Ibrahim MA, Ibrahim SA, Amin EF, Goma W, Abdelrahman AM. (2015). Potential protective effect of etanercept and aminoguanidine in methotrexate-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *European Journal of Pharmacology*, 768, 1-12.
- Ighodaro OM, Akinloye OA. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293.
- Jebur AB, El Demerdash FM, Kang W. (2020). Bromelain from *Ananas comosus* stem attenuates oxidative toxicity and testicular dysfunction caused by aluminum in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 62, 126631.
- La Casce A.S. (2021). Therapeutic use and toxicity of high-dose methotrexate. <https://www.up-to-date.com/contents/therapeutic-use-and-toxicity-of-high-dose-methotrexate>. UpToDate 2021.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275.
- Paglia DE, Valentine WN. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70(1), 158-169.
- Pavan R, Jain S, Shraddha KA. (2012). Properties and therapeutic application of bromelain: a review. *Biotechnology Research International*, 2012, 976203.
- Sedlak J, Lindsay RH. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 25(C), 192-205.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497-500.
- Wang W, Zhou H, Liu L. (2018). Side effects of methotrexate therapy for rheumatoid arthritis: A systematic review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 158, 502-516.

- White RR, Crawley FE, Vellini M, Rovati LA. (1988). Bioavailability of ¹²⁵I bromelain after oral administration to rats. *Biopharmaceutics Drug Disposition*, 9, 397-403.
- Yagi K. (1998). Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. *Methods in Molecular Biology*, 108, 101-106.
- Yalçın A, Gürel A. (2020). Therapeutic potency of benfotiamine against methotrexate-induced kidney injury and irisin immunoreactivity. *Journal of Ankara Health Sciences*, 9(2), 244-253.

Orjinal Araştırma Makalesi/ Original Paper

Comparison of Splenectomy Indications According to Clinicopathological Variables

Splenektomi Endikasyonlarının Klinikopatolojik Değişkenlere Göre Karşılaştırılması

Tolga KALAYCI^{1*}, Mustafa YENİ¹

¹ Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği, Erzurum, TÜRKİYE.

* **Sorumlu yazar:** Tolga KALAYCI; E-mail: dr.tolgakalayci@gmail.com

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, benign ve malign hastalıklar nedeniyle splenektomi uygulanan olguların ameliyat öncesindeki, ameliyat sırasındaki ve ameliyat sonrasındaki farklılıklarını değerlendirmektir.

Materyal ve Metot: Ocak 2015-Ocak 2021 tarihleri arasında üçüncü basamak bir sağlık kuruluşunda splenektomi yapılan yetişkin hastalar (18 yaş ve üzeri) retrospektif olarak tarandı. Hastalar, benign hastalıklar nedeniyle splenektomi uygulanan hastalar (n=35) ve malignite cerrahisi sırasında splenektomi uygulanan hastalar (n=45) olmak üzere iki ana gruba ayrıldı. Ayrıca benign grup; travma nedeniyle, hematolojik hastalıklar nedeniyle ve kist nedeniyle cerrahi uygulanan olgular olmak üzere 3 alt gruba ayrıldı. Hastaların tıbbi kayıtlarından elde edilen klinikopatolojik değişkenler hem ana gruplarda hem de alt gruplar arasında karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışma kriterlerine uyan 80 hastanın yaş ortalaması 53.47±18.28 (18-86) olup; 44 hasta (%55) kadındı. Hastaların ortalama yaşı, laparoskopik cerrahi oranı, elektif cerrahi oranı, postoperatif komplikasyon oranı, eritrosit süspansiyonu ve taze donmuş plazma ihtiyacı, hastanede kalış süresi ve yoğun bakımda kalış süresi malignite grubunda daha yüksekti. Ayrıca son yıllarda malignite nedeniyle splenektomi olguları oransal olarak daha fazla idi. Çalışmanın bir diğer önemli sonucu da travmatik splenektomilerin daha uzun hastane yatışı gerektirmesi ve bu hastaların klinik yönetiminin diğer iyi huylu splenektomi nedenlerine göre daha zor olması idi.

Sonuç: Tüm splenektomi olguları arasında malign splenektomi olguları ve benign splenektomi olguları arasında travmatik splenektomi uygulanan olgular hastanede kalış süresinin daha uzun olması, kan ürünlerine daha fazla ihtiyaç duyulması ve morbidite oranlarının yüksek olması nedeniyle yönetimi zordur.

Anahtar Kelimeler: Malignite, Morbidite, Mortalite, Splenektomi, Travma.

Cited: Kalaycı T, Yeni M. Comparison of splenectomy indications according to clinicopathological variables. *Van Sag Bil Derg* 2022, 15,(1) 43-50.

<https://doi.org/10.52976/van-saglik.1003006>.

Geliş Zamanı:30/09/2021

Kabul Zamanı:28/12/2021

Basılma Zamanı: 30/04/2022

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to evaluate the preoperative, intraoperative and postoperative differences in cases who underwent splenectomy for benign and malignant diseases.

Material and Method: Adult patients (18 years and older) who underwent splenectomy in a tertiary health center between January 2015 and January 2021 were searched retrospectively. The patients were divided into two main indication groups: patients who underwent splenectomy for benign diseases (n=35) and patients who underwent splenectomy during malignancy surgery (n=45). In addition, the benign group was divided into 3 subgroups as patients who underwent surgery due to trauma, hematological diseases and cysts. Clinicopathological variables obtained from the patients' medical records were compared between both main groups and subgroups.

Results: The mean age of 80 patients who met the study criteria was 53.47±18.28 (18-86), and 44 patients (55%) were female. The mean age of the patients, laparoscopic surgery rate, elective surgery rate, postoperative complication rate, need for erythrocyte suspension and fresh frozen plasma, length of hospital stay and length of stay in the intensive care unit were higher in the malignancy group. In addition, splenectomy cases due to malignancy were proportionally higher in recent years. Another important result of the study was that traumatic splenectomies require longer hospitalization, and the management of these patients' clinics is more difficult than other benign splenectomy causes.

Conclusion: Among all splenectomy cases, malignant splenectomy cases and benign splenectomy cases who underwent traumatic splenectomy are difficult to manage because of longer hospital stay, more need for blood products, and high morbidity rates.

Keywords: Malignancy, Morbidity, Mortality, Splenectomy, Trauma.

INTRODUCTION

Splenectomy is the surgical procedure to remove the spleen for various indications. Indications for splenectomy can be evaluated in two main categories: benign splenectomy and malignant splenectomy. Benign splenectomy is applied for penetrating trauma, blunt trauma, indirect trauma, spleen cyst, and hematological diseases. On the other hand, malignant splenectomy is performed to treat or stage primary splenic malignancy, metastatic splenic malignancy and intra-abdominal organ malignancies (Ahmad et al., 2017).

As the immunological functions of the spleen became clear, splenectomy was not performed as often as before. Because of its important role, the spleen-sparing approach was developed, and more conservative treatments was started to prefer (Buffet et al., 2006). However, inevitable surgical indications remain up to date. One of the inevitable indications for splenectomy is malignancy especially in proximal gastric cancers and distal pancreatic tumors. Besides, hematological diseases unresponsive to medical treatments still required splenectomy such as immune thrombocytopenic purpura, hereditary spherocytosis and thrombotic thrombocytopenic purpura. One of the other inevitable splenectomy indications is spleen trauma. Although spleen-preserving approaches are dominant in the early stages of spleen trauma, splenectomy is needed in advanced traumas because it will cause vital losses (Mufti et al., 2007).

The prevalence of overall morbidity associated with splenectomy ranges between 21.8% and 52% (Balague et al., 2004; Arshed et al., 2011). On the other hand, according to a large cohort study using a nationwide trauma database, the overall mortality was 6.1% (Hamlet et al., 2012).

Since the subject of splenectomy has started to take an important place in cancer surgery more than benign indications, it is aimed to compare the cases of splenectomy performed during malignancy and splenectomy performed during benign diseases and

to emphasize what will be encountered in which cases. Therefore, in this study, it is aimed to compare splenectomy cases performed for benign and malignant diseases according to clinicopathological features.

MATERIAL and METHOD

Patients who were operated for splenectomy between January 2015 and January 2020 in Erzurum City Hospital were searched retrospectively. The study excluded the patients in the pediatric age group (0-18 years) and those who were diagnosed and treated at external centers and then referred to our clinic. A total of 80 patients were enrolled in the study after fulfilling the desired inclusion criteria via purposive sampling technique. 80 patients were divided into two main groups according to splenectomy indications: patients operated due to benign diseases and patients operated due to malignant diseases. In addition, patients operated due to benign diseases divided into three subgroups as trauma, hematological diseases and splenic cyst.

Data Collection

Age, gender, primary indication for splenectomy, surgical emergency, type of surgery, year of splenectomy, amount of erythrocyte suspension replacement and fresh frozen plasma replacement during hospitalization, and postoperative morbidity and mortality were searched. Additionally, length of hospital stay (at intensive care unit and total) were evaluated. Main groups and subgroups were compared with suitable statistical tests.

Statistical Analysis

Statistical evaluation was made with SPSS v22.0 (IBM, Armonk, NY, USA). The normality distribution of quantitative variables was checked with Shapiro-Wilk test, histograms, Q-Q plot, and box plot charts. Mann-Whitney U test and Independent Sample T test were used according to the results of the normality tests. In addition, Chi-Square test and Likelihood Ratio Test were used to compare qualitative variables. In addition, Kruskal Wallis Test was

used for multi-group statistical comparison because data did not meet the parametric test assumptions. A p-value below 0.05 was considered statistically significant.

This retrospective study was conducted after the local ethical committee's approval (Decision: 2021/11-179).

RESULTS

Between January 2015 and January 2021, 80 patients underwent splenectomy. The mean age of all patients was 53.47±18.28 (18-86), and 44 (55%) patients were female. Splenectomy was performed in 45

(56.3%) patients due to malignancy and in 35 (43.8%) patients due to benign diseases. There was no case of splenectomy due to primary spleen malignancy or metastatic spleen malignancy, and all malignant splenectomy cases were performed during intra-abdominal cancer surgery. On the other hand, benign diseases were divided into 3 subgroups: trauma in 16 patients (20%), hematological diseases in 13 patients (16.3%), and splenic cyst in 6 patients (7.5%). No additional organ resection was performed in splenectomy performed for benign diseases. The clinical variables of the patients and comparison of these variables according to benign splenectomy and malignant splenectomy are shown in Table 1.

Table 1. Clinicopathologic, Treatment, and Outcome Variables of 80 Patients with Splenectomy and Comparison of Main Indication Groups.

Clinical Parameters	All Cases n=80 (mean±sd)(Min-max) or n (%)	Main Indication Groups		p value
		Benign n=35 Mean rank or n (%)	Malignant n=45 Mean rank or n (%)	
Age	53.47±18.28 (18-86)	25.60	52.09	<0.001*
Gender				0.571**
Male	36 (45%)	17 (47.2%)	19 (52.8%)	
Female	44 (55%)	18 (40.9%)	26 (59.1%)	
Surgical Emergency				<0.001**
Elective	62 (77.5%)	19 (30.6%)	43 (69.4%)	
Urgent	18 (22.5%)	16 (88.9%)	2 (11.1%)	
Type of Surgery				<0.001**
Open	66 (82.5%)	21 (31.8%)	45 (68.2%)	
Laparoscopy	14 (17.5%)	14 (100%)	0 (0%)	
Years				<0.001***
2015-2016	8 (10%)	6 (75%)	2 (25%)	
2016-2017	8 (10%)	5 (62.5%)	3 (37.5%)	
2017-2018	7 (8.8%)	7 (100%)	0 (0%)	
2018-2019	14 (17.5%)	11 (78.6%)	3 (21.4%)	
2019-2020	26 (32.5%)	5 (19.2%)	21 (80.8%)	
2020-2021	17 (21.3%)	1 (5.9%)	16 (94.1%)	
ES replacement (units)	5.26±5.23 (0-29)	26.27	51.57	<0.001*
FFP replacement (units)	20.98±21.83 (0-122)	20.84	55.79	<0.001*
Overall Morbidity				0.028**
Yes	29 (36.3%)	8 (27.6%)	21 (72.4%)	

No	51 (63.7%)	27 (52.9%)	24 (47.1%)	
Overall Mortality				0.455**
Yes	8 (10%)	2 (25%)	6 (75%)	
No	72 (90%)	33 (45.8%)	39 (54.2%)	
LOS (days)	14.66±9.99 (1-48)	26.00	51.78	<0.001*
ICU stay (days)	6.67±7.68 (0-48)	24.70	52.79	<0.001*

ES: Erythrocyte Suspension, FFP: Fresh Frozen Plasma, LOS: Length of Stay, ICU: Intensive Care Unit. *Mann Whit-ney U test, **Chi-square test, ***Likelihood Ratio test

43 patients (53.8%) were operated under elective conditions, while only 14 splenectomy cases (17.5%) were done via laparoscopy. While the number of splenectomies did not exceed 10 before 2018, the number of splenectomies increased after 2018. Malignancy operations have been identified as the main factor in this increase.

Postoperative complications after splenectomy were seen in 29 patients (36.5%). Pulmonary complications,

the most commonly seen complications, were seen in 13 patients (16.25%) in this study. Postoperative complications are seen in Table 2. Postoperative mortality was seen in 8 patients (10%). 2 patients died from gastrointestinal bleeding, 2 from enterocutaneous fistula, one from sepsis, one from early postoperative period cardiac arrest, one from hepatorenal syndrome, one from multi-trauma, and one from cerebrovascular disease.

Table 2. Postoperative Complications.

Postoperative Complications	n (%)
Atelectasis	6 (7.5%)
Pleural effusion	5 (6.3%)
Surgical site infection	4 (5%)
Pneumonia	2 (2.5%)
Enterocutaneous fistula	2 (2.5%)
Cerebrovascular disease	2 (2.5%)
Intra-abdominal hematoma	2 (2.5%)
Ileus	2 (2.5%)
Atrial fibrillation	1 (1.3%)
Deep vein thrombosis	1 (1.3%)
Gastrointestinal hemorrhage	1 (1.3%)
Pneumothorax	1 (1.3%)
Total	29 (36.3%)

Comparison of splenectomy main groups and sub-groups

The mean age of the patients (p<0.001), laparoscopic surgery rate (p<0.001), elective surgery rate (p<0.001), postoperative complication rate (p=0.028), need for erythrocyte suspension (p<0.001) and fresh frozen plasma (p<0.001), hospital stay (p<0.001), and length of intensive care unit stay (p<0.001) were

higher in the malignancy group. In addition, splenectomy due to malignancy have been performed more frequently in recent years (p<0.001). While the rate of malignant splenectomy has increased in the last 2 years of the study, the rate of splenectomies due to the other indications has decreased. Comparison of main groups is shown in Table 1.

In the subgroup analysis of the patients who underwent splenectomy due to benign diseases, open surgery rate ($p < 0.001$), emergency surgery rate ($p < 0.001$), postoperative complication rate ($p = 0.012$), need for erythrocyte suspension ($p < 0.001$) and fresh frozen plasma ($p < 0.001$), hospital stay ($p = 0.032$), and

length of intensive care unit stay ($p = 0.002$) were higher in the traumatic splenectomy group. However, no difference was observed in terms of age, gender and mortality. Comparison of subgroups is shown in Table 3.

Table 3. Comparison of Benign Indication Subgroups.

Clinical Parameters	Benign Indication Subgroups			p value
	Trauma (n=16)	Hematological (n=13)	Splenic Cyst (n=6)	
Age (mean rank)	20.41	13.38	21.58	0.119*
Gender				0.307**
Male	10 (58.8%)	5 (29.4%)	2 (11.8%)	
Female	6 (33.3%)	8 (44.4%)	4 (22.2%)	
Surgical Emergency				<0.001**
Elective	0 (0%)	13 (68.4%)	6 (31.6%)	
Urgent	16 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	
Type of Surgery				<0.001**
Open	16 (76.2%)	1 (4.8%)	4 (19%)	
Laparoscopy	0 (0%)	12 (85.7%)	2 (14.3%)	
Year				0.002**
2015-2016	6 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	
2016-2017	1 (20%)	1 (20%)	3 (60%)	
2017-2018	3 (42.9%)	2 (28.6%)	2 (28.6%)	
2018-2019	2 (18.2%)	9 (81.8%)	0 (0%)	
2019-2020	3 (60%)	1 (20%)	1 (20%)	
2020-2021	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	
ES replacement (mean rank)	25.72	10.62	13.42	<0.001*
FFP replacement (mean rank)	24.81	11.31	14.33	<0.001*
LOS (mean rank)	22.31	12.35	18.75	0.032*
ICU stay (mean rank)	24.41	12.12	13.67	0.002*
Overall Morbidity				0.012**
Yes	6 (75%)	0 (0%)	2 (25%)	
No	10 (37%)	13 (48.1%)	4 (14.8%)	
Overall Mortality				0.194**
Yes	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	
No	14 (42.4%)	13 (39.4%)	6 (18.2%)	

ES: Erythrocyte Suspension, FFP: Fresh Frozen Plasma, LOS: Length of Stay, ICU: Intensive Care Unit. * Kruskal Wallis test, **Chi-square test.

DISCUSSION

Splenectomy is a commonly performed operation for various conditions, including trauma, hematological diseases, and malignant diseases (Kristinsson et al., 2014; Ahmad et al., 2017). Penetrating trauma such as gunshot wounds, blunt trauma such as a direct blow to the left upper quadrant, and indirect trauma such as a tear in the splenic capsule during colonoscopy or traction on the spleno-colic ligament are mechanisms of injury. Many hematological diseases such as hemolytic anemia and idiopathic thrombocytopenic purpura are treated with splenectomy due to medical treatment resistance (Hill et al., 2004).

Malignancies involving the spleen can be grouped into lymphoproliferative diseases, myeloproliferative diseases, metastatic diseases, and primary (non-lymphoma) malignancies. Hematological malignant diseases are the leading indication for splenectomy among the malignancy cases. Primary cancers that metastasize to the spleen include colonic, gastric, ovarian, endometrial, lung, breast, prostatic, melanoma, and esophageal (Ahmad et al., 2017). Hydatid splenic cyst is also a rare cause for splenectomy.

Past studies indicate that traumatic splenic injury is the most common indication for splenectomy (Cadeddu et al., 2006; Beuran et al., 2012). In the present study, different from the literature, we found that the number of cases who underwent splenectomy due to malignancy increased over the years. However, among the benign diseases, trauma was found to be the main indication for splenectomy.

Splenectomy is frequently performed via laparoscopy; however, some patients still undergo open splenectomy depending on patient-specific factors and surgeon experience (Ardestani and Tavakkoli, 2013). While splenectomy was performed with open surgery in the past, surgical techniques gained a new dimension with the introduction of laparoscopic splenectomy in 1991. Nowadays, minimal invasive surgery has played an important role in splenectomy with the increase in laparoscopic facilities and the increase in surgical experience. Although spleen size is

considered a barrier to laparoscopic surgery, Park et al. recommended open splenectomy for spleen sizes over 25 cm in their studies (Park et al., 1999). In some other studies, it has been reported that massive splenomegaly is not a contraindication for laparoscopic splenectomy (Erözgen et al., 2013).

There are several prospective studies comparing open surgery and laparoscopic surgery. Laparoscopic surgery results in less morbidity and mortality (Bulus et al., 2013; Bonnet et al., 2017). In addition, retrospective studies have shown that laparoscopic surgery is advantageous in postoperative complications (Park et al., 1999). In our study, morbidity was higher in the open surgery group, but no difference was found between open and laparoscopic surgery in terms of mortality. While laparoscopic surgery was applied in 85.7% of hematological diseases, the use of laparoscopic surgery in spleen cysts was 14.3%. Laparoscopic splenectomy was not performed in either trauma patients or patients with malignancies. However, open surgery was used in all splenectomy indications, but mostly performed in malignancy cases ($p < 0.001$).

Splenectomy has been shown to cause pulmonary, hemorrhagic, infection, pancreatic, and thromboembolic complications (Santos et al., 2014; Wang et al., 2013). Of these, left lower lobe pneumonia and atelectasis are the most commonly reported complications (Misiakos et al., 2017). In another study, the perioperative morbidity was increased only by blood loss and intra-operative adverse effects (Wysocki et al., 2018). In the study of Moorjani et al., blood loss is the most important prognostic factor for postoperative complications after non-traumatic splenectomies. Pneumonia is the main prognosis factor for perioperative mortality (Moorjani et al., 2014). Similar to the literature, postoperative pulmonary complications were the most common complications. In addition, morbidity after splenectomy was more common in advanced age, patients operated for malignancy, and patients operated with open surgery. Patients with morbidity required more erythrocyte

suspension and fresh frozen plasma, and the development of morbidity extended both the length of hospital stay and the duration of intensive care follow-up.

In the study of Ugur et al., mortality after splenectomy was only affected from emergency surgery (Ugur et al.). A previous study comparing laparoscopic with open splenectomy among 1781 patients demonstrated that laparoscopic splenectomy was associated with fewer complications, less blood transfusion, and lower operative mortality (Musallam et al., 2013). Also, in studies, the indication of splenectomy is the most predictive risk factor for the development of post-splenectomy mortality (Weledji, 2014; Leone and Pizzigallo, 2015). However, in our study, emergency splenectomy, splenectomy indication, and type of surgery did not affect mortality. Also, patients with mortality needed more erythrocytes and fresh frozen plasma.

Due to the immune functions of the spleen, its immunological importance has increased in recent years. However, surgical treatment is the curative treatment in severe traumas, hematological diseases resistant to medical treatment, and large cysts. In addition, since the positive effect of adding splenectomy to malignancy surgeries on survival has been proven in recent years, adding splenectomy to malignancy cases has become a surgical option. Therefore, splenectomy has started to be applied in malignant cases and the main splenectomy indication has been malignancy. In the present study, it was found that morbidity rate, need for erythrocyte suspension, need for fresh frozen plasma, and hospital stay were increased in malignant splenectomy cases. Hence, both the case management is difficult and the length of stay in the hospital is prolonged. In addition, splenectomy due to traumas are more difficult to manage among the benign splenectomy cases. We attribute all these results to extensive organ resections during malignancy surgery and to massive intra-abdominal bleeding in traumatic splenectomies.

Patient's Consent

Informed consent was obtained from the patient regarding publication of data.

Ethical Approval

Ethical approval was obtained from the local Ethical Committee's approval (Decision: 2021/11-179).

Conflict of Interest

The authors declared no conflict of interest.

REFERENCES

- Ahmad I, Saleem S, Anjum S, Rehan A. (2017). Splenectomy. *Professional Medical Journal*, 24(09), 1322-1326.
- Ardestani A, Tavakkoli A. (2013). Laparoscopic versus open splenectomy: the impact of spleen size on outcomes. *Journal of Laparoendoscopic and Advanced Surgical Techniques - Part A*, 23(9), 760-764.
- Arshed MS, Qureshi S, Channa A, Maher M. (2011). Audit of splenectomy at Jinnah Postgraduate Medical Centre, Karachi. *Journal of Ayub Medical College*, 23(3), 79-81.
- Balague C, Targarona E, Cerdan G, Novell J, Montero O, Bendahan G, et al. (2004). Long-term outcome after laparoscopic splenectomy related to hematologic diagnosis. *Surgical Endoscopy*, 18(8), 1283-1287.
- Beuran M, Gheju I, Venter M, Marian R, Smarandache R. (2012). Non-operative management of splenic trauma. *Journal of Medicine and Life*, 5(1), 47-58.
- Bonnet S, Guedon A, Ribeil J-A, Suarez F, Tamburini J, Gaujoux S. (2017). Indications and outcome of splenectomy in hematologic disease. *Journal of Visceral Surgery*, 154(6), 421-429.
- Buffet PA, Milon G, Brousse V, Correas J-M, Dousset B, Couvelard A, et al. (2006). Ex vivo perfusion of human spleens maintains clearing and processing functions. *Blood*, 107(9), 3745-3752.

- Bulus H, Mahmoud H, Altun H, Tas A, Karayalcin K. (2013). Outcomes of laparoscopic versus open splenectomy. *Journal of the Korean Surgical Society*, 84(1), 38-42.
- Cadeddu M, Garnett A, Al-Anezi K, Farrokhyar F. (2006). Management of spleen injuries in the adult trauma population: a ten-year experience. *Canadian Journal of Surgery*, 49(6), 386-390.
- Erözgen F, Benek S, Kızılkaya MC, Koyuncu A, Ayer M, Ersoy YE. et al. (2013). Benign ve malign dalak hastalıklarında cerrahi splenektomi endikasyonları ve minimal invaziv cerrahinin yeri. *Istanbul Medical Journal*, 14(2):83-85.
- Hamlat CA, Arbabi S, Koepsell TD, Maier RV, Jurkovich GJ, Rivara FP. (2012). National variation in outcomes and costs for splenic injury and the impact of trauma systems: a population-based cohort study. *Annals of Surgery*, 255(1), 165-170.
- Hill J, Walsh RM, McHam S, Brody F, Kalaycio M. (2004). Laparoscopic splenectomy for autoimmune hemolytic anemia in patients with chronic lymphocytic leukemia: a case series and review of the literature. *American Journal of Hematology*, 75(3), 134-138.
- Kristinsson SY, Gridley G, Hoover RN, Check D, Landgren O. (2014). Long-term risks after splenectomy among 8,149 cancer-free American veterans: a cohort study with up to 27 years follow-up. *Haematologica*, 99(2), 392-398.
- Leone G, Pizzigallo E. (2015). Bacterial infections following splenectomy for malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, 7(1), e2015057.
- Misiakos EP, Bagias G, Liakakos T, Machairas A. (2017). Laparoscopic splenectomy: Current concepts. *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy*, 9(9), 428-427.
- Moorjani RG, Marchena-Gomez J, Casimiro-Perez J, Roque-Castellano C, Ramirez-Felipe J. (2014). Morbidity-and mortality-related prognostic factors of nontraumatic splenectomies. *Asian Journal of Surgery*, 37(2), 73-79.
- Mufti TS, Akbar I, Ahmed S. (2007). Experience with splenic trauma in Ayub teaching hospital, Abbottabad. *Journal of Ayub Medical College Abbottabad*, 19(3), 3-5.
- Musallam KM, Khalife M, Sfeir PM, Faraj W, Safadi B, Abi Saad GS, et al. (2013). Postoperative outcomes after laparoscopic splenectomy compared with open splenectomy. *Annals of Surgery*, 257(6), 1116-1123.
- Park A, Marcaccio M, Sternbach M, Witzke D, Fitzgerald P. (1999). Laparoscopic vs open splenectomy. *Archives of Surgery*, 134(11), 1263-1269.
- Santos FP, Tam CS, Kantarjian H, Cortes J, Thomas D, Pollock R, Verstovsek S. (2014). Splenectomy in patients with myeloproliferative neoplasms: efficacy, complications and impact on survival and transformation. *Leukemia Lymphoma*, 55(1), 121-127.
- Ugur M, Kilic E, Emre A, Sanlı AN, Ozturk OU, Yetim I, et al. (2018). Indications of splenectomy and postoperative mortality. *Scholars Journal of Applied Medical Sciences*, 6(3), 1324-1330.
- Wang X, Li Y, Crook N, Peng B, Niu T. (2013). Laparoscopic splenectomy: a surgeon's experience of 302 patients with analysis of postoperative complications. *Surgical Endoscopy*, 27(10), 3564-3571.
- Weledji EP. (2014). Benefits and risks of splenectomy. *International Journal of Surgery*, 12(2), 113-119.
- Wysocki M, Radkowiak D, Zychowicz A, Rubinkiewicz M, Kulawik J, Major P, et al. (2018). Prediction of technical difficulties in laparoscopic splenectomy and analysis of risk factors for postoperative complications in 468 cases. *Journal of Clinical Medicine*, 7(12), 547.

Orjinal Araştırma Makalesi/ Original Paper

The Effect of Di (2-Ethylhexyl) Phthalate on Lipid Peroxidation and Antioxidant Levels in Rats

Di (2-Etilhekzil) Fitalatın Ratlarda Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Düzeylerine Etkisi

Merve ESKİCİ KAYMAK¹, Emine ALTIN^{2*}, Ali ERTEKİN²

1 T.C. Sağlık Bakanlığı Giresun Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Giresun, TÜRKİYE.

2 Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Bölümü, Samsun, TÜRKİYE.

*Sorumlu yazar: Emine ALTIN; E-mail: emine.altin@omu.edu.tr

ÖZET

Amaç: Kağıt, karton, kozmetik, gıda ambalajı, çocuk oyun malzemeleri, deterjan, şampuan, sabun ve boya üretimi gibi çok çeşitli sektörlerde hammadde veya yardımcı kimyasal olarak sıklıkla kullanılan fitalatlar kanserojen ve endokrin bozucu kimyasallar arasında yer almaktadır. Bu çalışmada Di (2-Etilhekzil) Fitalat (DEHP) maruziyetinin, ratlardan alınan kan örneklerinde lipid peroksidasyonu ve antioksidan seviyeleri üzerine etkileri incelendi.

Materyal ve Metot: Çalışma için 250-300 gr ağırlığında 40 adet dişi Wistar-Albino rat kullanıldı. Ratlar 5 gruba ayrıldı; grup 1: kontrol grubu, grup 2: pozitif kontrol (mısır yağı bazlı diyet), grup 3: 20 mg DEHP/kg canlı ağırlık (c.a.) (test edilen en düşük doz), grup 4: 100 mg DEHP kg/c.a. (orta doz), grup 5: 500 mg DEHP kg/c.a. (test edilen en yüksek doz). Çalışma süresi 14 gün olarak belirlendi. Fitalatratlara mısır yağı içerisinde gastrik gavaj yöntemiyle verildi. Çalışma sonunda alınan kan örneklerinde malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), seruloplazmin, C vitamini ve toplam protein düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: DEHP verilen tüm gruplarda GSH seviyeleri kontrol grubuna göre azaldı (p <0.05). En düşük GSH düzeyi 100 mg DEHP grubunda gözlemlendi. MDA, seruloplazmin, C vitamini ve total proteinde gözlenen değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Sonuç: Fitalat uygulanan gruplarda GSH, MDA, seruloplazmin, C vitamini ve total protein seviyelerinde gözlenen değişiklikler, hücrelerde oksidatif stresle ilgili hasarın oluşmuş olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan maddeler, C vitamini, Glutatyon, Malondialdehit, Seruloplazmin, Total protein.

ABSTRACT

Objective: Phthalates, which are frequently used as raw materials or auxiliary chemicals in a wide variety of industries such as paper, cardboard, cosmetics, food packaging, children's play materials, detergents, shampoo, soap and paint production, are among the carcinogenic and endocrine disrupting chemicals. This study was conducted to investigate the effects of Di(2-ethylhexyl) phthalate on lipid peroxidation and antioxidant levels in rats.

Material and Method: Forty female Wistar-Albino rats weighing 250-300 g were used for the study. The rats were divided into 5 groups; group 1: control group, group 2: positive control (cornoil-based diet), group 3: 20 mg DEHP per kg body weight (bw) (lowest dose tested), group 4: 100 mg DEHP kg/bw (medium dose tested), group 5: 500 mg DEHP kg/bw (highest dose tested). The working period was determined as 14 days. Phthalate was given to rats by gastric gavage method in cornoil. Malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), ceruloplasmin, vitamin C and total protein levels were measured in blood samples taken at the end of this study.

Results: GSH levels decreased in all groups given DEHP compared to the control group (p <0.05). The lowest level of GSH was observed in the 100 mg DEHP group. The changes observed in MDA, ceruloplasmin, vitamin C and total protein were not statistically significant.

Conclusion: The changes observed in GSH, MDA, ceruloplasmin, vitamin C and total protein levels in the phthalate-administered groups indicate that oxidative stress-related damage may have occurred in the cells.

Keywords: Antioxidant substances, ceruloplasmin, glutathione, malondialdehyde, total protein, vitamin C.

Cited: Eskici Kaymak M, Altın E, Ertekin A. The effect of di (2-Ethylhexyl) phthalate on lipid peroxidation and antioxidant levels in rats. *Van Sag Bil Derg* 2022, 15,(1) 51-59. <https://doi.org/10.52976/vansaglik.1008005>.

Arrived date: 11/10/2021

Accepted date: 16/03/2022

Published date: 30/04/2022

INTRODUCTION

Di(2-ethylhexyl) phthalate is the most widely used phthalate ester as a plasticizer in flexible vinyl products. Plastics can contain up to 40% of their

weight in DEHP (Durusoy Onmuş and Karababa, 2011). Phthalates are preferably used in food packaging, children's play materials, cosmetics, medicines, solvents, adhesives, pipe materials, dyes, pesticides, detergents and other fields (Schet-

fler, 2006). Due to its widespread use in today's industry, regulations have been enacted to control the negative effects on nature and human health (İmren, 2011). Depending on the dose, phthalates have short-term and long-term adverse effects on the liver, kidneys, thyroid, and testes. The acute toxicity dose is reported as 1-30 g / kg body weight (LD50) (Heudorf et al., 2007). It has been reported to cause liver damage, liver failure, peroxisome proliferation, fetal death, malformations, anti-androgenic hormone effects, testicular damage, poor sperm quality, and reproductive toxicity in laboratory animals (Foresta et al., 2010). Since DEHP is not covalently bound to PVC, it is released from plastics, causing chronic exposure in humans (Koch et al., 2006). Exposure can occur by oral route, inhalation and skin contact (Johns et al., 2015). Once taken, DEHP is metabolized into different compounds; one of its main metabolites is mono (2-ethylhexyl) phthalate (MEHP) (Kessler et al., 2012). In a study, DEHP was shown to cause liver cancer in male and female mice and rats (David et al., 2000). In another study with rats, the incidence of DEHP-induced Leydig cell tumors was increased and this increase was associated with early onset doses (Voss et al., 2005). There is an increasing concern about the impact of DEHP on human health due to its negative effects on the reproductive system. DEHP has been reported in a study to cause a decrease in pregnancy, an increase in spontaneous abortions and congenital malformations (Lovekamp-Swan and Davis, 2003).

Free radicals are formed within the body as a result of natural metabolic processes involving intermolecular electron exchange (Ögüt and Atay, 2012). Herbicide and pesticide residues, solvents, and petrochemicals used in various fields can increase the formation of free radicals, leading to diseases such as rapid aging, heart disease, and cancer (Temur, 2006). Free radicals formed due to oxidative stress are considered to be a factor in almost all diseases, can lead to protein modification, lipid peroxidation, DNA fragmentation, irrevers-

ible damage and cell death (Cakatay and Kayalı, 2014). Accumulated oxidizing agents can oxidize DNA, protein and lipids, thereby changing their structure, activity and physical properties. Such widespread oxidative damage can disrupt the body's redox balance, severely affecting biological homeostasis and causing various diseases (Ricciotti and FitzGerald, 2011; Turini and DuBois, 2002). MDA, the final product of lipid peroxidation, is used to measure the rate of chain reactions in tissues and to determine the level of ROS. The level of MDA in plasma is also an indicator of non-enzymatic oxidative degradation of lipid peroxides (Yarıktaş et al., 2003). MDA, which is involved in the pathogenesis of many diseases, is considered to be mutagenic, carcinogenic and cytotoxic (Mendes et al., 2009; Yonny et al., 2016).

This study aimed to examine the effects of di (2-Ethylhexyl) phthalate on lipid peroxidation and antioxidant levels in rats.

MATERIAL and METHOD

This study was carried out at the Laboratory Animal Research Center of the Ondokuz Mayıs University (OMU-DEHAM) and was approved by the Local Ethics Committee for Animal Experiments of the Ondokuz Mayıs University, No. 68489742-604-E.2002, dated January 14, 2019.

Experimental Animals: Forty female Wistar-Albino rats, 3 to 4 months old, weighing 250 to 300 grams, were used in the study. Rats were provided and maintained by OMU DEHAM. Divided into 5 groups with 8 animals in each group. The animals were kept at $21\pm 3^{\circ}\text{C}$ ambient temperature, $50\pm 5\%$ relative humidity, 12-hour day and 12-hour night cycles. During the study, rats were given ad libitum standard rat food and water. The content of corn oil used to dissolve phthalates is as follows: energy 900 kcal/100g, fat 100g/100g, carbohydrate 0, protein 0 (refined corn oil CIGDEM, Kucukbay Oil and Detergent Industry Inc., Izmir, Turkey).

Experimental Design: The duration of the experiment was determined to be 14 days. Phthalate

(Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany) was dissolved in 2.5 µl/g/body weight (body weight) corn oil. Dissolved phthalate was administered by gastric tube at doses of 20 mg/kg bw (lowest), 100 mg/kg bw/day (moderate), and 500 mg/kg bw/day (highest), respectively (Göktekin, 2016).

Grouping and intervention:

Group 1 (Control group): No treatment was applied to the animals.

Group 2 (Positive control-Corn oil-based group): Corn oil (2.5 µl / g / bw) was administered to the rats by gastric gavage.

Group 3 (20 mg DEHP group): 20 mg/kg bw/day DEHP dissolved in corn oil (2.5 µl / g / bw) administered to the rats by gastric gavage.

Group 4 (100 mg phthalate group): 100 mg/kg bw /day DEHP dissolved in corn oil (2.5 µl / g / bw) administered to the group by the gastric gavage.

Group 5 (500 mg phthalate group): 500 mg/kg bw/day DEHP dissolved in corn oil (2.5 µl / g / bw) administered to the group by gastric gavage.

Collection and preparation of blood samples for analysis: The rats were anesthetized with i.p. (intraperitoneal) anesthetics [2% basilazine (Bavet, Istanbul, Turkey) (2-5 mg/kg/bw) and 10% ketasol (Richter Pharma-Interhas, Ankara, Turkey) (0.8-1.3 ml/kg/bw) at the end of the 14th day. Blood samples were taken from the hearts of the rats. The plasma was obtained by centrifuging the collected blood samples in EDTA tubes at 3000 rpm for 15 minutes at 40C (Nüve NF 800R Centrifuge, Ankara, Turkey). All analyses were carried out without freezing the plasma once it was collected.

Methods: MDA was measured using the method of (Jain et al., 1989). GSH measurement was carried out according to method (Beutler et al., 1963). The

vitamin C analysis was performed according to the method of (Omaye et al., 1979). The modified Ravin method (Ravin, 1956) was used to determine ceruloplasmin, and the Biuret method (Tiftik, 1996) were performed for the determination of total protein.

Statistical analysis: The mean values of MDA, GSH, ceruloplasmin, vitamin C, and total protein in the experimental groups were analyzed using one-way analysis of variance, and Duncan multiple comparison tests were used to analyze differences between groups (John, 1971). The SPSS 21.00 software package program for Windows (IBM, Armonk, NY, USA) was used to perform statistical analyzes. Results are expressed as means and standard deviations (means ± SD).

RESULTS

The plasma concentrations of MDA, GSH, ceruloplasmin, vitamin C, and total protein in each groups are shown in Figure 1.

In the 20 mg DEHP, 100 mg DEHP, and 500 mg DEHP groups, changes in MDA, ceruloplasmin, vitamin C, and total protein levels were not statistically significant to the control group. However, GSH levels decreased in all groups to the control group, mainly in the 100 mg DEHP group ($p < 0.05$).

Table 1. Plasma concentrations of MDA, GSH, ceruloplasmin, vitamin C and total protein in the control, positive control (cornoil-treated), 20 mg DEHP, 100 mg DEHP, and 500 mg DEHP groups.

Parameters	Groups									
	n	Control	n	Positive control (corn oil- treated)	n	20 mg DEHP	n	100 mg DEHP	n	500 mg DEHP
MDA (nmol/ml)	8	14.594±7.732	8	13.574±3.751	6	44.243±19.261	8	31.936±17.713	7	17.643±5.985
GSH (mg/dl)	8	135.101±19.231 ^b	8	139.393±4.325 ^b	8	121.211±13.437 ^{ab}	8	92.347±3.777 ^a	7	104.501±11.845 ^{ab}
Ceruloplasmin (% mg)	8	17.126±4.477	8	21.744±2.361	7	21.074±2.579	8	23.937±5.220	7	21.770±3.198
Vitamin C (mg/dl)	8	27.977±11.939	8	9.730±0.456	6	15.416±2.043	8	10.790±1.449	7	16.112±3.023
Total protein (% g)	8	2.426±0.680	8	1.810±0.059	7	1.921±0.063	8	1.903±0.058	7	1.865±0.084

a,b; The difference between values displayed with different letters for the same property in the same line is significant (P<0.05)

DISCUSSION

Phthalates are industrial chemicals found primarily in food packaging, children's toys, medical products, cosmetics, gelling agents, dispensers, adhesives, lubricants, emulsifiers, and many consumer products. They are environmental pollutants that humans can be exposed to through ingestion, inhalation, or skin routes (Zarean et al., 2016). Phthalates are endocrine disruptors that interfere with the endocrine system. They are toxic to the reproductive system and have negative effects on reproduction, development, steroidogenesis, neurology, and the immune system (Martinez-Arguelles et al., 2013; Monneret, 2017). A study have shown that some phthalates can impair steroidogenesis (Zoeller et al., 2012). Besides, exposure to DEHP may be associated with precocious puberty, increased body mass and obesity (Kim et al., 2016). In the literature, it has been shown in a group of women that there is an association between observed MEHP concentrations and breast cancer. However, the effects of DEHP and MEHP on mammary gland development and carcinogenicity are not yet fully understood (Parada et al., 2018). Animal studies have shown that phthalate exposure can negatively affect reproductive physiology and the development of estrogen-sensitive target tissues. Phthalates have been reported in the literature to affect fetal growth and

development in pregnant women directly or indirectly by passing through the placental barrier (Kay et al., 2013).

Additionally, some literature studies have shown that exposure to DEHP-containing products may be associated with pancreatic cancer, testicular cancer, respiratory cancer, breast cancer, pediatric hepatoblastoma, and multiple myeloma (López-Carrillo et al., 2010; Reynolds et al., 2004). However, it has been reported that phthalate exposure causes increased respiratory and allergic complaints in children (Buckley et al., 2018), decreased lung function and depression in older ages (Kim et al., 2018) and decreased liver function and cardiovascular metabolism disorders in men (Milošević et al., 2017).

MDA is a reactive aldehyde that covalently binds to biomolecules in the cell, used to measure oxidative stress, which contributes to the pathogenesis of many diseases, is considered mutagenic, carcinogenic, and cytotoxic (Mendes et al., 2009). In our study, MDA levels increased in the phthalate groups. These increases were mainly observed in the 20 mg phthalate group. Increased MDA levels can be due to higher levels of oxidative metabolic activity and concentration of membrane PUFAs subject to oxidation. Biological membranes rich in unsaturated fatty acids are cellular structures that are particularly sensitive to free radical attack. One

study reported that phthalates exposure could induce ROS and oxidative stress biomarkers via the activation of peroxisome proliferator-activated receptors (Zhang et al., 2017). Positive associations between phthalate exposure and increased levels of MDA and 8-OHdG have been reported in some other studies (Ferguson et al., 2011; Høyer et al., 2018).

Gill et al. (2015) reported a negative correlation between oxidative stress and GSH levels. In our study observed that GSH levels were decreased in all groups to the control group, at most in the 100 mg phthalate group. This decrease can be due to either inhibited GSH synthesis or increased the use of GSH for detoxification of toxin-induced free radicals (Singh et al., 2001). Some studies have reported that phthalates exposure decreases antioxidant levels, especially GSH and SOD levels (Sobarzo et al., 2015; Udensi and Tchounwou, 2016). Active phthalate metabolites induce oxidative stress in tissues by increasing the formation of MEHP and ROS and decreasing the levels of ascorbic acid, GSH, and free thiol. Mitochondrial damage occurs as a result of oxidative stress caused by MEHP, and cytochrome c exits through the inner mitochondrial membrane. The mitochondrial damage caused by MEHP causes the efflux of cytochrome c through the inner membrane (Kasahara et al., 2002).

Ceruloplasmin, with its ferroxidase, cuproxidase, and NO-oxidase activities, plays a vital role in preventing the formation and persistence of free radicals (Shiva et al., 2006). Ceruloplasmin exhibits antioxidant activity by removing superoxide and other reactive oxygen species and inhibiting Fenton's reaction (Samokyszyn et al., 1989). Ceruloplasmin, an extracellular antioxidant, neutralizes superoxide radicals, binds free oxygen radicals (Akkuş, 1996), prevents protein and DNA damage, protect against cellular damage and degradation by free radicals (Krsek-Staples and Webster, 1993). In our study, no statistical significance was observed in the changes observed in ceruloplasmin levels. In our literature

review, no studies were found to support the ceruloplasmin findings on the subject.

Ascorbic acid is known as a good antioxidant, radioprotectant, free radical scavenger, and ascorbic acid increases the antioxidant enzyme activity of cells at the cellular level (Öztürk-Ürek et al., 2001). In clinical studies, vitamin C has been reported to reduce the risk of many chronic diseases such as heart disease, cancer, eye disease, and neurodegenerative disorders (Jacob and Sotoudeh, 2002). In our study, the changes observed in vitamin C amount in all groups were not statistically significant. The observed changes in vitamin C, an antioxidant vitamin, can be due to possible free radical attacks. Changes were also observed in the corn oil group in Vitamin C, these changes may be due to possible stress during the application. No statistical significance was observed in the changes here either.

The liver is the major detoxification organ for DEHP and its metabolites. In a study, DEHP was shown to impair antioxidant balance in rats, increase oxidative stress in the liver, and cause hepatotoxicity (Erkekoglu et al., 2014). Another study showed that exposure to DEHP caused hyperplasia in the liver of rats (Liu et al., 2015). It has also been reported that DEHP can cause hepatic edema by inducing liver enzymes (Ye et al., 2017). In this study, total protein levels decreased. This decrease was mainly observed in the 500 mg phthalate group, and the decrease can be due to possible damage to hepatocytes by phthalate.

In conclusion, the observed changes in MDA, GSH, ceruloplasmin, vitamin C, and total protein levels indicate that damage to cells occurs due to oxidative stress. In order to protect against the harmful effects of many chemicals that we are exposed to in our daily lives, studies on this issue should be brought to the forefront, and the results of epidemiological studies should be investigated in detail.

Acknowledgments

This research was supported by Ondokuz Mayıs University Scientific Research Projects Committee (OMU-BAP), project number PYO.VET.1904.19.014.

*This article is summarized from Master Thesis. Original Article.

Ethical Statement

This study was approved by the Ondokuz Mayıs University Animal Experiments Local Ethics Committee (68489742-604-E.2002, January 14, 2019).

Conflict of Interest

The authors declared that there is no conflict of interest.

REFERENCES

- Akkuş İ. (1996). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1st ed. Konya, Mimoza Yayınları.
- Beutler E, Duron O, Kelly BM. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 61, 882-888.
- Buckley JP, Quirós-Alcalá L, Teitelbaum SL, Calafat AM, Wolff MS, Engel SM. (2018). Associations of prenatal environmental phenol and phthalate biomarkers with respiratory and allergic diseases among children aged 6 and 7 years. *Environment International*, 115, 79-88.
- Çakatay U, Kayalı R. (2014). The evolution of free radical biochemistry in historical perspective. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 37(4), 162-167.
- David RM, Moore MR, Finney DC, Guest D. (2000). Chronic toxicity of Di(2-Ethylhexyl) phthalate in mice. *Toxicological Sciences*, 58(2), 377-385.
- Durusoy Onmuş İR, Karababa AO. (2011). Plastik gıda ambalajları ve sağlık. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 10(1), 87-96.
- Erkekoglu P, Zeybek ND, Giray BK, Rachidi W, Kızılgün M, Hininger-Favier I, et al. (2014). The effects of Di(2-Ethylhexyl) phthalate on rat liver in relation to selenium status. *International Journal of Experimental Pathology*, 95(1), 64-77.
- Ferguson KK, Loch-Carus R, Meeker JD. (2011). Urinary phthalate metabolites in relation to biomarkers of inflammation and oxidative stress: NHANES 1999-2006. *Environmental Research*, 111(5), 718-726.
- Foresta C, Garolla A, Zuccarello D, Pizzol D, Moretti A, Barzon L, et al. (2010). Human papillomavirus found in sperm head of young adult males affects the progressive motility. *Fertility and Sterility*, 93(3), 802-806.
- Gill KK, Sandhu HS, Kaur R. (2015). Evaluation of lipid peroxidation and antioxidant status on fenvalerate, nitrate and their co-exposure in *Bubalus bubalis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 123, 19-23.
- Göktekin E. (2016). Prenatal Dönemde Diheksilftalat ve Disikloheksilftalata Maruziyetin Erkek ve Dişi Sıçanların Bazı Endokrin Dokuları Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi (in Turkish). PhD. Thesis, Hacettepe University, Graduate School of Science and Engineering, Department of Biology, Ankara.
- Heudorf U, Mersch-Sundermann V, Angerer J. (2007). Phthalates: toxicology and exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210(5), 623-634.
- Høyer BB, Lenters V, Giwercman A, Jönsson BAG, Toft G, Hougaard KS, et al. (2018). Impact of Di-2-Ethylhexyl phthalate metabolites on male reproductive function: a systematic review of human evidence. *Current Environmental Health Reports*, 5(1), 20-33.
- İmren C. (2011). Endokrin Bozucu Dimetilftalatın Sülfat Radikali Bazlı Fotokimyasal İleri Oksidasyon Prosesleri ile Gideriminin Araştırılması (in Turkish). Master Thesis, İstanbul Technical University, Institute of Science and Technology, İstanbul.
- Jacob RA, Sotoudeh G. (2002). Vitamin C function and status in chronic disease. *Nutrition in Clinical Care*, 5(2), 66-74.
- Jain SK, McVie R, Duett J, Herbst JJ. (1989). Erythrocyte membrane lipid peroxidation and gly-

- cosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes*, 38(12), 1539–1543.
- John PWM. (1971). *Statistical Design and Analysis of Experiments*. New York: Macmillan Co.
- Johns LE, Cooper GS, Galizia A, Meeker JD. (2015). Exposure assessment tissues in epidemiology studies of phthalates. *Environment International*, 85,27–39.
- Kasahara E, Sato EF, Miyoshi M, Konaka R, Hiramoto K, Sasaki J, et al. (2002). Role of oxidative stress in germ cell apoptosis induced by Di(2-Ethylhexyl) phthalate. *Biochemical Journal*, 365(3),849–856.
- Kay VR, Chambers C, Foster WG. (2013). Reproductive and developmental effects of phthalate diesters in females. *Critical Reviews in Toxicology*, 43(3),200–219.
- Kessler W, Numtip W, Völkel W, Seckin E, Csanády GA, Pütz C, et al. (2012). Kinetics of di(2-Ethylhexyl) phthalate (DEHP) and mono(2-Ethylhexyl) phthalate in blood and of DEHP metabolites in urine of male volunteers after single ingestion of ring-deuterated DEHP. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 264(2), 284–91.
- Kim JH, Park H, Lee J, Cho G, Choi S, Choi G, et al. (2016). Association of diethylhexylphthalate with obesity-related markers and body mass change from birth to 3 months of age. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 70(5), 466–472.
- Kim KN, Lee MR, Choi YH, Lee BE, Hong YC. (2018). Association between phthalate exposure and lower lung function in an urban elderly population: a repeated-measures longitudinal study. *Environment International*, 113, 177–183.
- Koch HM, Preuss R, Angerer J. (2006). Di(2-Ethylhexyl) phthalate (DEHP): human metabolism and internal exposure-- an update and latest results. *International Journal of Andrology*, 29(1), 155.
- Krsek-Staples JA, Webster RO. (1993). Ceruloplasmin inhibits carbonyl formation in indogenous cell proteins. *Free Radical Biology and Medicine*, 14(2),115–125.
- Liu C, Zhao L, Wei L, Li L. (2015). DEHP reduced thyroid hormones via interacting with hormonesynthesis-related proteins, deiodinases, transthyretin, receptors, and hepatic enzymes in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(16),12711–12719.
- López-Carrillo L, Hernández-Ramírez RU, Calafat AM, Torres-Sánchez L, Galván-Portillo M, Needham LL, et al. (2010). Exposure to phthalates and breast cancer risk in Northern Mexico. *Environmental Health Perspectives*, 118(4),539–544.
- Lovekamp-Swan T, Davis BJ. (2003). Mechanisms of phthalate ester toxicity in the female reproductive system. *Environmental Health Perspectives*, 111(2),139–145.
- Martinez-Arguelles DB, Campioli E, Culty M, Zirkin BR, Papadopoulos V. (2013). Fetal origin of endocrine dysfunction in the adult: the phthalate model. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 137, 5–17.
- Mendes R, Cardoso C, Pestana C. (2009). Measurement of malondialdehyde in fish: a comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test. *Food Chemistry*, 112(4),1038–1045.
- Milošević N, Milić N, ŽivanovićBosić D, Bajkin I, Perčić I, Abenavoli L et al. (2017). Potential influence of the phthalates on normal liver function and cardiometabolic risk in males. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(1),17.
- Monneret C. (2017). What is an endocrine disruptor? *Comptes Rendus Biologies*, 340(9–10):403–405.
- Öğüt S, Atay E. (2012). Yaşlılık ve Oksidatif Stres (in Turkish). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 19(2), 68-74.
- Omaye ST, Turnbull JD, Sauberlich HE. (1979). Selected methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues, and fluids. *Methods in Enzymology*, 62(C),3–11.
- Öztürk-Ürek R, Bozkaya, LA, Tarhan L. (2001). The effects of some antioxidant vitamin- and trace

- element-supplemented diets on activities of SOD, CAT, GSH-Px and LPO levels in chicken tissues. *Cell Biochemistry and Function*, 19(2), 125-132.
- Parada H Jr, Gammon MD, Chen J, Calafat AM, Neugut AI, Santella RM, et al. (2018). Urinary phthalate metabolite concentrations and breast cancer incidence and survival following breast cancer: The Long Island breast cancer study project. *Environmental Health Perspectives*, 126(4), 47013.
- Ravin HA. (1956). Rapid test for hepatolenticular degeneration. *Lancet*, 267(6925):726-727.
- Reynolds P, Urayama KY, Von Behren J, Feusner J. (2004). Birth characteristics and hepatoblastoma risk in young children. *Cancer*, 100(5), 1070-1076.
- Ricciotti E, Fitz Gerald GA. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(5), 986-1000.
- Samokyszyn VM, Miller DM, Reif DW, Aust SD. (1989). Inhibition of superoxide and ferritin-dependent lipid peroxidation by ceruloplasmin. *Journal of Biological Chemistry*, 264(1), 21-26.
- Schettler T. (2006). Human exposure to phthalates via consumer products. *International Journal of Andrology*, 29(1), 134-139; discussion 181-185.
- Shiva S, Wang X, Ringwood LA, Xu X, Yuditskaya S, Annavajjhala V, et al. (2006). Ceruloplasmin is a NO oxidase and nitrite synthase that determines endocrine NO homeostasis. *Nature Chemical Biology*, 2(9), 486-493.
- Singh SP, Coronella JA, Beneš H, Cochrane BJ, Zimniak P. (2001). Catalytic function of drosophilamelanogaster glutathione s-transferase DmGSTS1-1 (GST-2) in conjugation of lipid peroxidation endproducts. *European Journal of Biochemistry*, 268(10), 2912-2923.
- Sobarzo CM, Rosana Nde M, Livia L, Berta D, Schteingart HF. (2015). Mono-(2-Ethylhexyl) phthalate (MEHP) affects intercellular junctions of sertoli cell: a potential role of oxidative stress. *Reproductive Toxicology*, 58, 203-212.
- Temür N. (2006). Çam, Kavak, Söğüt ve Armut Ağaçları Üzerinde Yetişen Ökse Otu (*Viscum album* L.) Bitkilerinin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. (in Turkish), Master Thesis, Gaziosmanpaşa University, Institute of Science, Department of Chemistry, Tokat.
- Tiftik AM. (1996). Büüret Metoduyla Total Protein Tayini. Klinik Biyokimya. Konya, Mimoza Yayınları, 291-292.
- Turini ME, Du Bois RN. (2002). Cyclooxygenase-2: a therapeutic target. *Annual Review of Medicine*, 53, 35-57.
- Udensi UK, Tchounwou PB. (2016). Oxidative stress in prostate hyperplasia and carcinogenesis. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 35(1), 139.
- Voss C, Zerban H, Bannasch P, Berger MR. (2005). Lifelong exposure to di-(2-Ethylhexyl)-phthalate induces tumors in liver and testes of Sprague-Dawley rats. *Toxicology*, 206(3), 359-371.
- Yarıktaş M, Döner F, Doğru H, Aynalı G, Yönden Z, Delibaş N. (2003). Baş-boyun malign tümörlerinde malondialdehit düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 10(4), 65-67.
- Ye H, Ha M, Yang M, Yue P, Xie Z, Liu C. (2017). Di-2-Ethylhexyl phthalate disrupts thyroid hormone homeostasis through activating the Ras/Akt/TRHr pathway and inducing hepatic enzymes. *Scientific Reports*, 7.
- Yonny ME, García EM, López A, Arroquy JI, Nazareno MA. (2016). Measurement of malondialdehyde as oxidative stress biomarker in goat plasma by HPLC-DAD. *Microchemical Journal*, 129, 281-285.
- Zarean M, Keikha M, Poursafa P, Khalighinejad P, Amin M, Kelishadi R. (2016). A systematic review on the adverse health effects of di-2-Ethylhexyl phthalate. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(24), 24642-24693.

- Zhang W, Shen XY, Zhang WW, Chen H, Xu WP, Wei W. (2017). Di-(2-Ethylhexyl) phthalate could disrupt the insulin signaling pathway in liver of SD rats and L02 cells via PPAR γ . *Toxicology and Applied Pharmacology*, 316,17-26.
- Zoeller RT, Brown TR, Doan LL, Gore AC, Skakkebaek NE, Soto AM, et al. (2012). Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: a statement of principles from the Endocrine Society. *Endocrinology*, 153(9),4097-4110.

Orjinal Araştırma Makalesi/ Original Paper

Sıçanlarda CCl₄ ile Oluşturulan Karaciğer Hasarında *Rheum Ribes L.* (Işkın), Kuersetin ve Resveratrol Tedavilerinin Sitoprotektif Etkisi

Cytoprotective Effect of *Rheum Ribes L.*, Quercetin And Resveratrol Treatments On CCl₄ Induced Liver Damage in Rats

Sevgi ÖZTAŞ^{1*}, Sema KAPTANOĞLU², Gökhan OTO³

¹ Hakkâri Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Hakkâri, TÜRKİYE.

² Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokul, Van, TÜRKİYE.

³ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi Farmakoloji A.D. Van, TÜRKİYE

* Sorumlu yazar: Sevgi ÖZTAŞ; E-mail: sevgiyukse@hakkari.edu.tr

ÖZET

Amaç: Karaciğer, fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonlarından dolayı toksik maddelere en fazla maruz kalan organlardan birisidir. Karaciğer hasarında serbest radikallerin rolü büyüktür ve antioksidan maddelerin koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir. Günümüzde akut ve kronik karaciğer hasarını önlemek amacıyla birçok farmakolojik ajan denenmektedir. Bu amaçla bu çalışmada CCl₄'ün sıçan karaciğerinde yaptığı akut karaciğer hasarında sitoprotektif etkileri bilinen resveratrol, kuersetin ve sitoprotektif etkilerinin araştırılması için *Rheum ribes L.* (ışkın) uygulandı.

Materyal ve Metot: Gruplarda CCl₄ (karbon tetraklorür) 1ml/kg/i.p. olarak zeytinyağında 1:1 oranında karıştırılıp 7. gün tek doz uygulanırken; resveratrol, kuersetin ve *Rheum ribes L.* kökü 100 mg/kg oral gavaj yolla 7 gün boyunca uygulandı. 1. grup: kontrol grubu olarak ayrıldı, 2. grup: çözücü %10'luk DMSO (dimetilsülfoksit) grubu, 3. grup: çözücü zeytinyağı grubu, 4. grup: CCl₄ grubu, 5. grup: *Rheum ribes L.* kökü su ekstraktı, 6. grup: resveratrol, 7. grup: kuersetin, 8. grup: CCl₄ + *Rheum ribes L.* kökü, 9. grup CCl₄ + resveratrol ve 10. grup: CCl₄ + kuersetin şeklinde oluşturuldu. 8. gün sıçanlar sakrifiye edilerek kan ve doku numuneleri alındı.

Bulgular: Histopatolojik bulgular incelendiğinde CCl₄ tarafından oluşturulan karaciğer hasarında resveratrol ve kuersetin sitoprotektif etkiler gösterirken; *Rheum ribes L.*'nin sitoprotektif etkisinin daha zayıf olduğu belirlendi. Biyokimyasal analiz sonuçlarına göre ise ALT ve AST enzim düzeyleri CCl₄ ve CCl₄ ile birlikte tedavi gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı (p<0.001) artış gösterirken; sadece CCl₄ uygulanan gruba göre ise tedavi gruplarında anlamlı azalmalar (p<0.001) gösterdi.

Sonuç: Tedavi grupları (CCl₄ + *Rheum ribes L.*, CCl₄ + resveratrol, CCl₄ + kuersetin) arasında histopatolojik değerlendirmeler neticesinde resveratrolün daha etkili olduğu gözlemlenirken; biyokimyasal analizlerde ise *Rheum ribes L.*'nin daha koruyucu etkiler gösterdiği belirlendi.

Ahtar Kelimeler: CCl₄, Kuersetin, Resveratrol, *Rheum ribes L.*, Siroz.

ABSTRACT

Objective: The liver is one of the most exposed organs of toxic substances due to its physiological and biochemical functions. The role of free radicals in liver damage is great and is known to be a protective effect of antioxidant substances. Today, many pharmacological agents have been tried to prevent acute and chronic liver damage. For this purpose, in this study, to investigate the cytoprotective effects of resveratrol, quercetin and *Rheum ribes L.*, which are known to have cytoprotective effects in acute liver damage caused by CCl₄ in rat liver.

Material and Method: A single dose of CCl₄ was applied in groups 1 ml / kg / i.p. in olive oil and 1: 1 in 7 days; Resveratrol, quercetin and *Rheum ribes L.* roots were administered at 100 mg / kg for 7 days. 1st group control, 2nd group DMSO, 3rd group olive oil, 4th group CCl₄, 5th group *Rheum ribes L.* water extract, 6th group resveratrol, 7th group quercetin, 8th group CCl₄+ *Rheum ribes L.* 9th group CCl₄+ resveratrol, 10th group CCl₄+ quercetin. On 8th day the rats were sacrificed and blood and tissue samples were taken.

Results: When the histopathological findings are examined, resveratrol and quercetin show cytoprotective effects in liver damage caused by CCl₄; It was determined that the cytoprotective effect of *Rheum ribes L.*, was weaker. According to the results of biochemical analysis, ALT and AST enzyme levels increased significantly (p<0.001) in the treatment groups with CCl₄ and CCl₄ compared to the control group; showed significant reductions in the treatment groups (p<0.001) compared to the group in which only CCl₄ was administered.

Conclusion: While it was observed that resveratrol was more effective as a result of histopathological evaluations among the treatment groups (CCl₄ + *Rheum ribes L.*, CCl₄ +resveratrol, CCl₄ +quercetin); In biochemical analyzes, it was determined that *Rheum ribes L.*, showed more protective effects.

Keywords: CCl₄, Quercetin, Resveratrol, *Rheum ribes L.*, Cirrhosis.

Atf Yapmak İçin: Öztas S, Kaptanoğlu S, Oto G. Sıçanlarda CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarında *Rheum ribes L.* (Işkın), kuersetin ve resveratrol tedavilerinin sitoprotektif etkisi. *Van Sag Bil Derg* 2022, 15(1) 60-68.

<https://doi.org/10.52976/van-saglik.1034045>.

Geliş Zamanı: 08/12/2021

Kabul Zamanı: 01/02/2022

Basilama Zamanı: 30/04/2022

GİRİŞ

Karaciğer, fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonlarından dolayı toksik maddelere en fazla maruz kalan organlardan birisidir. Bu sebeple karaciğer bozuklukları çeşitli ve ciddi olabilecek sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Kumar ve ark., 2005).

Deneyisel karaciğer hasarı oluşturmada birçok toksik ajan kullanılmaktadır. Uygulanan yöntemlere göre karaciğerde akut veya kronik hasarlar oluşabilir. Deneyisel karaciğer hasarı oluşturmada CCl₄ kullanılan kimyasallardan biridir (Şahin ve ark., 2003). Karbon tetraklorürün (CCl₄) toksik etkisini, triklorometil (CCl₃) ve triklorometilperoksil (CCl₃O₂) serbest radikallerine dönüşümü sonrası başlayan lipid peroksidasyonu ile gelişen oksidatif stres olarak gösterdiği bildirilmektedir (Emek, 2014). Serbest radikal metabolitleri, poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatır ya da kovalent olarak protein ve yağ asitlerine bağlanarak hücre membranının bozulmasına, bunun sonucunda da karaciğer hasarına neden olurlar (Muriel ve ark., 2001).

Karaciğer için koruyucu maddelerin kullanılması, doku hasarını engelleme ve morbidite/mortalite oranlarının azalmasında etkili olabilmekte ve tedavide yeni alternatifler oluşturabilmektedir (Vurmaz, 2005; Bahşi ve ark., 2009).

Resveratrol (3, 4, 5-trihidroksistilben) kiraz, yer fıstığı, çilek, üzüm, gibi meyvelerde fazla miktarda bulunan, polifenol yapısında doğal bir antioksidan maddedir (De la Lastra ve ark., 2007). Güçlü bir antioksidan olup, reaktif serbest radikalleri tutarak ve metal şelasyonu yaparak oksidatif hasarı önlemektedir (Dernek ve ark., 2004). Resveratrolün sağlık üzerine olan etkileri araştırıldığında; anti-kanser aktivite (Ito ve ark., 2003), kardiyoprotektif etki (Hung ve ark., 2000), triaçilgliserol düzeyini düşürdüğü ve karaciğeri lipid peroksidasyonundan koruduğu (Kuhnle ve ark., 2000), bildirilmektedir.

Kuersetin bitkilerin en fazla içerdiği flavonoid olup, serbest radikallerin temizlenmesi açısından yüksek antioksidan özelliğe sahiptir (Pietta ve ark., 2000).

Kuersetin, diğer flavonoid unsurların yapı taşlarındandır. Kuersetinin kardiyoprotektif etki yanında, kanser risk oranını azaltıcı, anti inflamatuar ve anti allerjik etkileri bulunmaktadır (Erkoç ve ark., 2003).

Rheum ribes L. (ışkın), Anadolu ve Asya'nın çeşitli ülkelerinde gövdesi, yaprakları ve sapları taze ya da pişirilmiş olarak tüketilmektedir. Işıknın taze toplandığı zaman dış kabuğu soyularak yenilen gövde kısmı, bölgemizde iştah açıcı ve sindirimi kolaylaştırıcı olarak (Baytop 1999), kök kısımları ise antidiyabetik (Fallah-Huseini ve ark., 2008) ve anti-helmintik (Baytop 1999) olarak kullanılmaktadır. Ayrıca ışkınin mide ağrısı, kusma, iştah artırma gibi mide rahatsızlıklarında da olumlu etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Sindhu ve ark., 2010).

Bu çalışma ile CCl₄'ün sıçan karaciğerinde yaptığı akut karaciğer hasarında resveratrol, kuersetin ve *Rheum ribes* L. (ışkın)'nin sitoprotektif etkilerinin karşılaştırılması amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada hayvan materyali olarak 200-220 gr canlı ağırlığa 3 aylık sahip 70 adet Wistar albino ırkı dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneyisel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde; 12 saat aydınlık- 12 saat karanlık ritminde ışıklandırılan, 22 ± 2 °C'ye ayarlı oda ısısında, standart pelet yem ile beslendi. Sıçanlar, yem ve su alımı serbest olacak şekilde standart plastik kafeslerde barındırıldı. Çalışmaya başlamadan önce Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan öncelikle çalışma onayı (30.06.2016 tarih ve 2016/06 sayılı karar); çalışma tamamlandıktan sonra ise kesin sonuç onayı (24.08.2017 tarih ve 2017/08 sayılı karar) alındı.

Kullanılan kimyasallar

CCl₄ (Sigma-Aldrich, 289116), Ketamin hidroklorür (Ketasol, %10, 100 mg/1ml, enjektabl solüsyon), Resveratrol (Sigma, R5010), Kuersetin (Sigma, Q4951), DMSO (Sigma, D2650).

Kullanılan bitki materyali

Bu çalışmada kullanılan bitki materyalini oluşturan *Rheum ribes* L. (Işkın kökü) bitkisi, 2017 yılı Mayıs-Haziran aylarında Van bölgesinden toplandı. *Rheum ribes* L. kökü, Van YYÜ Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumunda 164112 nolu kayıt numarası ile gerekli identifikasyon işlemleri yapılarak, örnek materyal kayıt altına alındı.

Materyallerin Hazırlanması

Rheum ribes L. (Işkın) hazırlanması

Bu çalışmada *Rheum ribes* L. kökleri Eddouks ve arkadaşlarının (2005) çalışmalarında kullandıkları dekoksasyon yöntemi ile hazırlanarak *Rheum ribes* L. ve CCl₄ + *Rheum ribes* L. gruplarına 100mg/kg (Zhao ve ark., 2004) olacak şekilde 7 gün boyunca oral gavaj yolu ile uygulandı.

Resveratrolün ve Kuersetininin hazırlanması

Resveratrol (Sigma, R5010), günlük olarak hazırlanarak 100 mg/kg (Mora ve ark., 2010), olacak şekilde Resveratrol ve CCl₄ + Resveratrol gruplarına çalışma süresince oral gavaj yolu ile uygulandı.

Kuersetin (Sigma, Q4951) günlük olarak hazırlanarak 100 mg/kg (Uylaş, 2015), olacak şekilde Kuersetin ve CCl₄ + Kuersetin gruplarına çalışma süresince oral gavaj yolu ile uygulandı.

Dimetil sülfoksit (DMSO)'ün ve CCl₄ hazırlanması

DMSO (Sigma, D2650) günlük olarak hazırlanarak, 0,3 ml/kg olacak şekilde DMSO grubuna oral gavaj yolu ile çalışma süresince uygulandı.

CCl₄ (Sigma-Aldrich, 289116), zeytinyağı ile 1:1 oranında karıştırılarak 1 ml/kg (Koçak ve ark., 2019) olacak şekilde 7. gün, CCl₄, CCl₄ + *Rheum ribes* L., CCl₄ + Resveratrol ve CCl₄ + Kuersetin gruplarına tek doz olacak şekilde intraperitoneal olarak uygulandı.

Deney gruplarının oluşturulması ve deney planı

Hayvanlar her grupta 7 adet olacak şekilde 10 farklı gruba ayrıldı. 1. Grup: Kontrol grubu olarak ayrıldı, 2. Grup: DMSO (çözücü) grubu olup 0,3 ml oral

gavaj yolla 7 gün boyunca uygulandı, 3. Grup: Zeytinyağı (CCl₄ çözücüsü) grubu 1ml/kg ip olarak 7. gün tek doz uygulandı, 4. Grup: CCl₄, 1ml/kg ip olarak zeytinyağında 1:1 oranında 7. gün tek doz uygulandı, 5. Grup: *Rheum ribes* L. kökü su ekstraktı, 100 mg/kg oral gavaj yolla 7 gün boyunca uygulandı, 6. Grup: Resveratrol, 100mg/kg, oral gavaj yolla 7 gün boyunca uygulandı, 7. Grup: Kuersetin, 100 mg/kg, oral gavaj yolla 7 gün boyunca uygulandı, 8. Grup: CCl₄ + *Rheum ribes* L. kökü su ekstraktı, 9. Grup: CCl₄ + Resveratrol ve 10. Grup: CCl₄ + Kuersetin diğer gruplardaki dozlarda uygulandı.

CCl₄ uygulamasından 24 saat sonra (8. Gün) ratlar anestezisi altında intrakardiyak kan alma yöntemiyle sakrifiye edildi. Alınan kanlar, biyokimya analizleri için kullanıldı. Daha sonra ratlardan alınan karaciğer dokularının bir kısmı %10'luk formalin içinde muhafaza edilerek biyopsileri incelendi.

Histopatolojik analizler

Alınan biyopsi örnekleri normal histopatolojik değerlendirme için Hemotoksilen-Eozin (H&E), karaciğer fibrozisini değerlendirmek için Massontrikrom ve karaciğer çatısını göstermesi için de Retikülin boyaları ile boyandı. Histopatolojik değerlendirmede rastgele on büyük büyütme alanı (x400) seçilecek ve bir büyük büyütme alanındaki ortalama balon dejenerasyonu, apoptotik hepatosit ve mitoz sayıldı. Ayrıca karaciğerde fibrozis, köprüleşme nekrozu ve yağlanma olup olmadığına bakıldı. Işık mikroskopunda incelenen kesitler lezyonun özelliğine göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi.

Biyokimyasal analizler

Deney sonunda 15 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg ketamin (Ergul Erkeç ve ark., 2018) anestezisi altında sıçanlardan intrakardiyak şekilde kan alındı. Kan numuneleri jelli biyokimya tüplerine alındı, 30 dakika bekletilip 3500 rpm'de santrifüj edilerek serum ayrıldı. İncelenecekleri zamana kadar -80°C de saklandı. Bu çalışmada sıçanlardan alınan serum örneklerinde bazı biyokimyasal parametreler (ALT, AST, ALP, Total Protein, Albumin, Kreatinin, Glikoz)

otoanalizör cihazında ölçülerek sonuçlar değerlendirildi.

İstatistiksel analiz

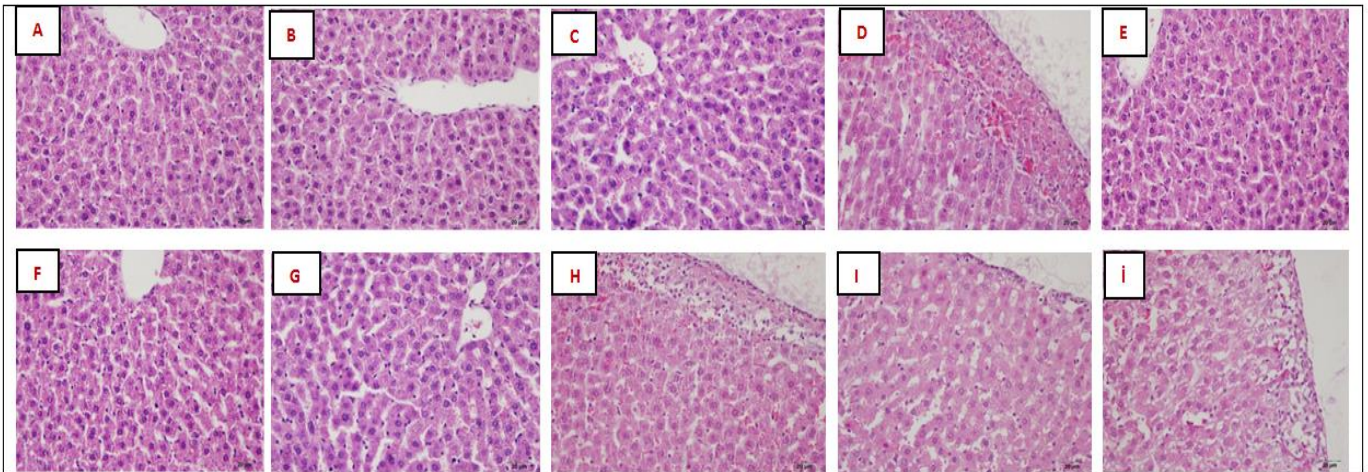
Bu çalışmada gerekli analizler SPSS istatistik yazılım programı kullanılarak yapıldı. Ölçülen parametreler bakımından gruplar ve denetimler arası farklılığın karşılaştırılmasında varyans analizi (ANOVA) uygulandı. Gruplar ve grup içi farklılığın önemli bulunduğu durumlarda da Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırmalar yapıldı. Bunlar dışında çalışmada kullanılan parametrelere ilişkin tanıtıcı istatistikler hesaplandı.

BULGULAR

Histopatolojik bulgular

Kontrol, DMSO ve Zeytinyağı gruplarındaki ratların karaciğerleri incelendiğinde normal histolojik yapıda (-) olduğu tespit edildi (Şekil A, B ve C). CCl₄ grubunda ratların karaciğerlerinde ise portal bölgede hidropik dejenerasyon, hepatositlerde yağlı

dejenerasyon, koagülasyon nekrozu, intrahepatik kolestazis, kupffer hücrelerinde hiperplazi, mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlandı. Özellikle karaciğerin serozasına yakın olan hepatositlerde şiddetli (+++) nekrotik hepatitise ve hemorajilere rastlandı (Şekil D). *Rheum ribes* L. su ekstraktı grubu, Resveratrol grubu ve kuersetin grubundaki ratların karaciğerleri incelendiğinde normal histolojik görünümde (-) olduğu belirlendi (Şekil E, F ve G). CCl₄ + *Rheum ribes* L. grubunda; karaciğerin santral bölgede hepatositlerde hidropik dejenerasyon, sinuzoidlerde dilatasyon ve ayrıca karaciğerlerin serozaya yakın bölgede şiddetli (+++) dejeneratif ve nekrotik hepatositlere rastlandı (Şekil H). CCl₄ + Resveratrol grubunda ise karaciğerlerin serozaya yakın bölgede çok az sayıda (+) dejeneratif ve nekrotik hepatositlere rastlandı (Şekil I). CCl₄ + kuersetin grubunda karaciğerlerin serozaya yakın bölgede belirgin miktarda (++) dejeneratif ve nekrotik hepatositlere rastlandı (Şekil İ).



Şekil 1: Karaciğerin H&E boyamaları, A: Kontrol grubu, kontrol sıçanlarının karaciğerleri normal histolojik yapıdaydı, H & E, Bar: 20 mµ B: DMSO grubu, DMSO sıçanlarının karaciğeri normal histolojik yapıda, H & E, Bar: 20 mµ, C: Zeytinyağı grubu, Zeytinyağı sıçanlarının karaciğerinde normal histolojik yapı, H & E, Bar: 20 mµ, D: CCl₄ grubu, CCl₄ grubunda portal bölgede hidropik dejenerasyon, hepatositlerde yağ dejenerasyonu, pıhtılaşma nekrozu, intrahepatikkolestaz, kupffer hücrelerde hiperplazi, mononükleer hücre infiltrasyonu sıçanlarda gözlemlendi. Hepatositlerde şiddetli (+++) nekrotik hepatit ve hemorajik olaylar özellikle H & E, Bar: 20 mµ, E: *Rheum ribes* L. grubu, *Rheum ribes* L. su ekstraktı grubu sıçanlarında normal histolojik yapıya sahipti, H & E, Bar: 20 mµ, F: Resveratrol grubu, Resveratrol grubu sıçanların normal histolojik yapısı karaciğer, H & E, Bar: 20 mµ G: Kuersetin grubu, kuersetin grubunun karaciğerleri normal histolojik yapıdaydı, H & E, Bar: 20 mµ, H: CCl₄ + *Rheum ribes* L. grubu, karaciğerin orta bölgesinde hepatositin hidrofobik

dejenerasyonu, sinüsoidlerin genişlemesi ve serözür yüzeyi çevresinde şiddetli (+++) dejeneratif ve nekrotik hepatositlerin Karaciğer, H & E, Bar: 20 mµ, I: CCl₄ + Resveratrol grubu, grupta çok az sayıda (+) dejeneratif ve nekrotik hepatositler, H & E, Bar: 20 mµ, İ: CCl₄ + kuersetin grubunda karaciğerlerin serözaya yakın bölgede belirgin miktarda (++) dejeneratif ve nekrotik hepatositler, H & E, Bar: 20 mµ.

Sıçanlardan alınan kanlardan elde edilen serum numunelerinde otoanalizör cihazı ile yapılan kan

biyokimyasal parametre analizlerinin sonuçları Tablo 1.de sunulmaktadır.

Tablo 1. Serum biyokimyasal sonuç tablosu

	AST	ALT	ALP	Albumin	T. Protein	Kreatinin	Glikoz
Kontrol grubu	83,33±2,51 a, a1,a2,a3	26,17±0,40 a, a1,a2,a3	181,5±4,17	3,23±0,06	6,2±0,11	0,61±0,07	236,2±11,1 a, b,c
DMSO grubu	88,17±1,96 a4,a5,a6,a7	25,17±0,79 a4,a5,a6,a7,b	188,3±4,58	3,31±0,05 c	6,48±0,11	0,50±0,01	202,7±5,60
Zeytinyağı grubu	84,5±2,28 a8,a9,a10,a11	27,50±0,76 a8,a9,a10,a11	185,5±4,05	3,28±0,05	6,42±0,13	0,52±0,02	232,2±6,35 a1,b1
CCl₄ grubu	237,3±12,71 a, a4,a5,a6,a8,a12, a13,a14,a15,a16,c	43,17±1,52 a, a4,a8,a12,a13, a14,a15,c	195,2±4,39 c	3,127±0,11	6,07±0,18 c	0,50±0,003	175,0±6,00 b, b1,b2
Rheum ribes L. grubu	99,33±3,31 a4,a12,a17,a18,a19	29,00±1,10 a12,a16,a17,c1	185,7±5,40	3,278±0,15	6,68±0,21 c1,c2	0,51±0,01	188,8±8,48 c
Resveratrol grubu	91,83±1,82 a5,a13,a20,a21,a22	30,83±1,05 a13,a18,a19,b	182,3±4,44 a, b	182,3±4,44 a, b	6,80±0,18 b, b1,c	0,51±0,03	208,3±22,37 c1
Kuersetin grubu	93,67±1,71 a6,a14,a23,a24,a25	29,33±1,02 a14,a20,a21,c2	183,2±5,08 c1	3,323±0,08	6,52±0,18	0,50±0,01	192,5±4,23
CCl₄+ R. ribes L. grubu	208,5±7,42 a1,a5,a9,a17,a20,a23,c	34,33±0,92 a1,a5,a9,a15,b1,c1,c2	173,2±3,16 b, c	2,957±0,05	5,87±0,14 b, c1	0,59±0,02	231,7±3,22 a2,b2
CCl₄+Resv. Grubu	183,8±5,34 a2,a6,a10,a15,a18,a21,a24	37,83±0,54 a2,a6,a10,a16,a18,a20,c	192,2±4,21 a, c1	2,87±0,07 c	5,85±0,17 b1,c2	0,54±0,01	218,5±5,74 b3
CCl₄+Kuer. Grubu	190,5±4,02 a3,a7,a11,a16, a19,a22,a25	40,00±1,44 a3,a7,a11,a17, a19,a21,b1	186,2±4,6	3,205±0,09	6,52±0,12	0,52±0,02	161,3±5,58 a, a1,a2,b3,c1

a: p<0.001, b: p<0.01, c: p<0.05

Benzer harfleri gösterenler o harf değerinde anlamlılık göstermektedir.

Serum AST Düzeyleri: CCl₄ grubunda kontrol grubuna göre AST değeri yaklaşık üç kat artarken, CCl₄ ile birlikte *Rheum ribes L.*, resveratrol ve kuersetin uygulamalarının AST düzeyini düşürdüğü belirlendi. (a: p<0.001, b: p<0.01, c: p<0.05)

Serum ALT Düzeyleri: CCl₄ grubunda kontrol grubuna göre ALT düzeylerinin ise yaklaşık iki kat

artarken; CCl₄ ile birlikte *Rheum ribes L.* ve resveratrol uygulamalarının ALT düzeyini azalttığı görüldü. (a: p<0.001, b: p<0.01, c: p<0.05)

Serum ALP Düzeyleri: CCl₄ grubunda kontrol grubuna göre CCl₄ uygulamaları serum ALP düzeylerinde artışa neden olurken ve CCl₄ ile birlikte

Rheum ribes L. uygulamasının ALP düzeyini azalttığı belirlendi. (a: $p<0.001$, b: $p<0.01$, c: $p<0.05$)

Serum Albumin Düzeyleri: CCl_4 ile oluşturulan karaciğer hasarında serum albümin düzeylerinde azalma olduğu belirlendi ve CCl_4 'ün yalnız veya tedavi grupları ile uygulanmasında gruplar arası anlamlı bir değişiklik bulunamadı (a: $p<0.001$, b: $p<0.01$, c: $p<0.05$).

Serum Total Protein Düzeyleri: Kontrol grubuna göre CCl_4 uygulanan gruplarda total protein düzeyinin etkilenmediği; ancak sadece *Rheum ribes* L., resveratrol veya kuersetinin uygulandığı gruplarda daha yüksek bir serum total protein düzeyi belirlendi (a: $p<0.001$, b: $p<0.01$, c: $p<0.05$).

Serum Kreatinin Düzeyleri: Sıçanlardan alınan serum numunelerinde yapılan kreatinin analizleri sonuçlarına göre gruplar arasında istatistiksel anlamlılık bulunamadı ($p>0.05$).

Serum Glikoz Düzeyleri: CCl_4 , CCl_4 'ün kan glikoz düzeyini azaltarak enerji metabolizmasını etkileyebileceğini; *Rheum ribes* L.'nin ise yalnız başına kan glikoz düzeyini düşürmesine karşılık CCl_4 ile birlikte uygulandığında enerji metabolizması için düzenleyici olabileceğini düşündürmektedir (a: $p<0.001$, b: $p<0.01$, c: $p<0.05$).

TARTIŞMA

Bu çalışmada yaygın bir hastalık olduğu halde halen etkili bir tedavisi bulunamayan karaciğer sirozunun deneysel sıçan modelinde, antioksidan etkileri olduğu bilinen resveratrol ve kuersetin tedavilerinin yanında, farklı hastalıkların tedavisinde olumlu etkileri olduğu bildirilen *Rheum ribes* L.'nin sitoprotektif etkilerinin karşılaştırılması hedeflendi.

Rheum ribes L., halk arasında yaygın bir şekilde kullanılmakta ve birçok açıdan faydalı olduğu bilinmektedir. Yapılan literatür taramasında *Rheum ribes* L.'nin içeriği ve farklı hastalıklarda terapötik etkileri incelenmesine rağmen; karaciğer

nekrozunda etkilerine yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanmamaktadır.

CCl_4 , bilinen bir toksik ajandır ve toksik etkisi serbest radikal üretimi ile gerçekleşmektedir. Organizma, serbest radikallere karşı enzimatik ve non-enzimatik antioksidan sistem ve moleküllerle kendini müdafa ettiği bildirilmektedir (Emek, 2014). CCl_4 'ün karaciğerde CCl_4 'ün toksik metabolik süreci sırasında sitokrom P450 tarafından iki aktif mikrozomal radikal veya peroksit (CCl_3 veya CCl_3OO) ürettiği bildirilmektedir (Cemek ve ark., 2010). Bu maddeler, karaciğer hücre zarları ve hücre altı yapıları ile lipid peroksidasyonuna neden olmakta ve hücre zarı yapısının bütünlüğünü bozmakta, bu da sonunda karaciğer hücresi ölümüne yol açabilmektedir (Lian ve ark., 2010).

Singh ve ark. (2003) ile Göktepe ve Günay (2014) tarafından yapılan deneysel çalışmalarda, kuersetinin antioksidan etkili olduğu; bu etkilerini MDA düzeyini azaltarak ve antioksidan enzim aktivitelerini ise artırarak gösterdiği bildirilmektedir. Kuersetin, süperoksit ve hidroksil radikallerini temizlemektedir, lipid peroksidasyonunu engellemektedir ve lipid peroksil radikallerini süpürmektedir. Kuersetinin antioksidan enzim aktivitesini artırması ile CCl_4 'ün sebep olduğu karaciğer fibrozu üzerine faydalı etkiler gösterdiği farklı çalışmalarda gösterilmektedir (Kanter ve ark., 2003; Khaki, 2010; Abdallah 2011; Abarikwu ve ark., 2012; Türk ve ark., 2013).

Rheum ribes L.'nin fenolik bileşen profili ve içerdiği flavanoid yapıları bu bitkiyi potansiyel olarak antioksidan kaynağı yapmaktadır. (Naqishbandi, 2009). Yıldırım (2015), tarafından yapılan çalışmada streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlara uygulanan *Rheum ribes* L., ekstraktının karaciğer ve böbrek dokularındaki lipid peroksidasyonunu azalttığı bildirilmektedir.

Bu çalışmada CCl_4 grubunda ratların karaciğerlerinde portal bölgede hidrofik dejenerasyon, hepatositlerde yağlı dejenerasyon, koagülasyon nekrozu, intrahepatik kolestazis, kupffer hücrelerinde hiperplazi, mononükleer hücre infiltrasyonuna

rastlandı. Resveratrol, kuersetin ve *Rheum ribes* L., ekstraktının yalnız uygulandığı gruplarda normal hücre histolojik yapısı belirlendi. Bu sonuç üç maddenin de karaciğer için toksik olmadığını göstermektedir. CCl₄ ile birlikte *Rheum ribes* L., uygulandığı da karaciğerin santral bölgesinde hepatositlerde hidropik dejenerasyon, sinuzoidlerde dilatasyon ve ayrıca karaciğerlerin serozaya yakın bölgesinde şiddetli dejeneratif ve nekrotik hepatositlere rastlandı. CCl₄ ile birlikte kuersetin uygulandığında karaciğerlerin serozaya yakın bölgede belirgin miktarda dejeneratif ve nekrotik hepatositlere rastlandı. CCl₄ ile birlikte resveratrol uygulandığında ise karaciğerlerin serozaya yakın bölgesinde dejeneratif ve nekrotik hepatositlere daha az rastlanıldığı belirlendi. Histopatolojik sonuçlar CCl₄ tarafından oluşturulan karaciğer hasarında resveratrolün kuersetin ve *Rheum ribes* L.'den daha fazla sitoprotektif etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır. Akhtar ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan bir çalışmada farklı bir *Rheum* türü olan *Rheum emodi* köklerinin, parasetamol ile indüklenen karaciğer hasarında yükselen serum ALT, AST ve ALP enzim düzeylerini azalttığı bildirilmektedir. Sonuçlarımızın literatürlerle uyumluluk gösterdiği görülmektedir. Bu çalışmada CCl₄ ile oluşturulan akut karaciğer hasarında karaciğer enzim seviyelerinin önemli oranda arttığı; serum ALT, AST ve ALP enzim düzeylerini *Rheum ribes* L.'nin, resveratrol ve kuersetinden daha fazla düşürdüğü belirlendi. Bu sonuç, akut karaciğer hasarında *Rheum ribes* L.'nin karaciğeri resveratrol ve kuersetinden daha iyi koruyabileceği şeklinde yorumlanmaktadır. Bu çalışmada CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarında gerek toksik madde uygulanan grupta gerekse tedavi gruplarında serum kreatinin düzeylerinde anlamlı bir değişiklik bulunamadı. Bu sonuçların uyumluluk gösterdiği (Abdel-Salam ve ark., 2007; Althnaian ve ark., 2013) çeliştiği çalışmalar bulunmaktadır. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuç, CCl₄ veya tedavi ajanlarının böbrek fonksiyonlarını olumsuz etkilemediği şeklinde yorumlanmaktadır.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre; CCl₄ karaciğer hasarına neden olurken, *Rheum ribes* L., resveratrol ve kuersetin bu hasarı azaltmıştır. Tedavi grupları arasında histopatolojik değerlendirmeler sonucunda resveratrolün koruyucu etkinliği *Rheum ribes* L. ve kuersetinden daha fazla olduğu belirlenirken; biyokimyasal analizlerde ise *Rheum ribes* L.'nin daha fazla etkili olduğu görülmektedir. İleriki dönemlerde, karaciğer hasarında *Rheum ribes* L., resveratrol ve kuersetinin moleküler etki mekanizmalarının aydınlatılması yanında *Rheum ribes* L.'den etken madde izolasyonuna giderek daha spesifik tedavi dozu ve yöntemleri belirlenmeye çalışılması hedeflenmektedir.

Rheum Ribes L. (ışkın), sadece ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesinde kullanılmakta diğer bölgelerde çok iyi tanınmamakta ve kullanılmamaktadır. Bu nedenle iyi bir terapötik bitki olduğu birçok çalışmayla bildirilen ışkının, ülke çapında tanıtımının yapılmasına ve daha birçok etkilerinin keşfedilmesi için daha ileri düzeyde bilimsel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Finansal Kaynak: Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FYL-2016-5476 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

Çıkar çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkıları: Bu makale 1.yazarın yüksek lisans tezinden özetlenerek hazırlanmıştır

KAYNAKLAR

- Abarikwu SO, Pant AB, Farombi EO. (2012). The protective effects of quercetin on the cytotoxicity of atrazine on rat Sertoli-germcellco-culture. *International Journal of Andrology*, 35(4), 590-600.
- Abdallah F, Fetoui H, ZribiN, Fakhfakh F, Keskes L. (2011). Quercetinattenuateslambdacyhalothrin-inducedreproductivetoxicity in male rats. *Environ Toxicol*, 28(12), 673-680.
- Abdel-salam OM, Sleem AA, Morsy FA.(2007). Effect of biphenyl dimethyl-di carboxylate administration combined with silymarin in the CCl₄ model

- of liver fibrosis in rats. *Scientific World Journal*, 7,1242-1255.
- Akhtar MS, M Amin, Maqsood A, Alamgeer.(2009). Hepatoprotective Effect of *Rheum emodi* Roots (Revandchini) and Akseer-e-Jigar Against Paracetamol induced Hepatotoxicity in Rats, *Ethnobotanical Leaflets*, 13, 310-315.
- Althnaian T, Albokhadaim I, El-Bahr SM. (2013). Biochemical and histopathological study in rats in toxicated with carbon tetrachloride and treated with camel milk. *Springer Plus*, 2 (1), 57.
- Baytop T. (1999). Therapy with Medicinal Plants in Turkey. Istanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 319-320.
- Bahşi M, Yılmaz Ö, Tuzcu M. (2009). 7,12-Dmba uygulananyasıratlarınkaraciğerveböbrekdokularındakiyağasidibileşimine resveratrol veç-lipoik asidin etkilerinin incelenmesi. *Journal of New World Sciences Academy*, 4,2.
- Cemek M, Aymelek F, Buyukokuroglu ME, Karaca T, Buyukben A, Yılmaz F. (2010). Protective potential of Royal Jelly against carbon tetrachloride induced-toxicity and changes in the serum sialic acid levels. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2827-2832.
- De la Lastra, CA, Villegas I. (2007). Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1156-1160.
- Dernek S, Ikizler M, Erkasap N, Ergun B, Koken, T, Yılmaz K ve ark.(2004). Cardioprotection with resveratrol pretreatment: improved beneficial effects over standard treatment in rat hearts after global ischemia. *Scandinavian Cardiovascular Journal*, 38(4), 245-254.
- Eddouks M, Maghrani M, Zeggwagh NA, Michel JB. (2005). Study of the hypoglycemic activity of *Lepidium sativum* L. aqueous extract in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(2), 391-395.
- Emek H. (2014). Erişkin erkek sıçanlarda karbon tetraklorür ile oluşturulan testis hasarı üzerine kuersetinin etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Ergul Erkeç O, Arihan O, Colcimen N, Kara M, Karatas E, Demir H, CetinRagbetli M. (2018). Effects of *Cichoriumintybus* on serum oxidativestress, liver and kidney volume, andcyclin B1 and Bcl-2 levels in the brains of rats with ethanol induced damage. *Cellular and Molecular Biology*, 64(7), 30-35.
- Erkoç Ş, Erkoç F, Keskin N. (2003). Theoretical investigation of quercetin and its radical isomers. *Journal of Molecular Structure*, 631 (1-3), 141-146.
- Fallah Huseini H, Heshmat FM, AH., Jamshidi SHA, Alavi MA B.(2008).The efficacy of *Rheum ribes* L. stalk extract on lipid profile in hypercholesterolemic type II diabetic patients: A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Journal of Medical Plants*, 7(27), 92-97.
- Göktepe M, Günay M. (2014). Quercetin uygulamasının egzersiz, serbest radikal ve antioksidan enzim düzeyleri üzerine etkisi. *International Journal of Science Culture and Sport*, 2(1), 775-788.
- Hung LM, Chen JK, Huang SS, Lee RS, Su MJ. (2000). Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. *Cardiovascular Research*, 47(3), 549-555.
- Ito T, Akao Y, Yi H, Ohguchi K, Matsumoto K, Tanaka T, et al. (2003). Antitumor effect of resveratrol oligomers against human cancer cell lines and the molecular mechanism of apoptosis induced by vaticanol. *Carcinogenesis*, 24 (9), 1489-1497.
- Kanter M, Merall, Dede S, Gunduz H, Cemek M, Ozbek H, Uygan I. (2003). Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioksidan enzyme systems and some liver enzymes in CCl₄-treated rats. *Journal of Veterinary*, 50(5), 264-268.
- Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, MalekiNA, Khamnei HJ, AhmadiP. (2010). Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Phytotherapy Research*, 24(9), 1285-1291.

- Koçak Y, Oto G, Yücel UM, Yaşar S, Arıhan O. (2019). Karbon tetraklorür ile oluşturulan doku hasarında *Allium schoenoprasum* L. uygulamasının karaciğer ve böbrek dokusunda total antioksidan ve total oksidan düzeylerine etkisi. *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*, 12(3), 1-10.
- Kuhnle G, Spencer PE, Chowrimootoo G, Schroeter H, Debnam ES, Srai SKS. (2000). Rice-Evans C, Hahn U. resveratrol is absorbed in the small intestine as resveratrol glucuronide. *Biochemical and Biophysical Communications*, 272, 212-217.
- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. (2005). Robbins and cotran pathological basis of disease. *Philadelphia US: Elsevier Saunders*, 20, 877-927.
- Lian LH, Wu YL, Song SZ, Wan Y, Xie WX, Li X. et al. (2010). Gentiana man-shurica Kitagawa reverses acute alcohol-induced liver steatosis through blocking sterol regulatory element-binding protein-1 maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24), 13013-13019.
- Mora J, Roy S, Muthyala P. (2010). Protective effect of resveratrol against carbon tetrachloride induced oxidative stress in rat liver. *Deccan Journal of Pharmacology*, 1(2), 1-11.
- Muriel P, Alba N, Perez-Alvarez et al. (2001). Kupffer cells inhibition prevents hepatic lipid peroxidation and damage induced by carbon tetrachloride. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 30(2), 219-226.
- Naqishbandi AM, Josefsen K, Pedersen ME, Jager AK. (2009). Hypoglycemic activity of Iraqi *Rheum ribes* L. root extract. *Pharmaceutical Biology*, 47(5), 380-383.
- Pietta PG. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035-1042.
- Sindhu RK, Kumar P, Kumar J, Kumar A, Arora S. (2010). Investigations into the anti-ulcer activity of *Rheum ribes* Linn. leaf extract. *Istanbul Journal of Pharmacy*, 49(1), 7-13.
- Singh D, Chander V, Chopra K. (2008). The effect of quercetin, a bioflavonoid on ischemia/reperfusion induced renal injury in rats. *Archives of Medical Research*, 35(6), 484-494.
- Şahin A, Yener Z, Dağoğlu G, Dede S, Oto G, Alkan M. (2003). Karbontetraklorid (CCl₄) ile deneysel olarak karaciğer nekrozu oluşturulan ratlarda Vitamin E + Selenyum ve *Nigella sativa* (çörekotu)'un karaciğer yıkımını engelleyici etkileri. *Turk Journal of Veterinary*, 27(1), 141-152.
- Türk G, Çeribaşı S, Sönmez M, Çiftçi M, Yüce A, Güvenç M et al. (2013). Ameliorating effect of pomegranate juice consumption on carbontetrachloride-induced sperm damages, lipidperoxidation, and testicular apoptosis. *Toxicology and Industrial Health*, 32(1), 126-137.
- Uylaş M. (2015). Karaciğer İskemi ve reperfüzyonda Quercetin'in Koruyucu Etkisi. Uzmanlık Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Vurmaz A. (2005). Etanol verilen ratlarda quercetinineritrosit glukoz -6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzim aktivitesi üzerine etkisi. Yüksek lisans tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Yıldırım M. (2015). Diyabetik sıçanlarda ışın otunun (*Rheum ribes*) oksidatif stres üzerine etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin.
- Zhao YQ, Liu XH, Ito T, Qian JM. (2004). Protective effects of rhubarb on experimental severe acute pancreatitis. *World Journal of Gastroenterology*, 10(7), 1005-1009.

Orjinal Araştırma Makalesi/ Original Paper

Sigara ve Renklendirici İçeceklerin Mine-Dentin Kompleksinin Rengi ve Refraktif İndeksi Üzerindeki Etkileri

The Effects of Cigarettes and Beverages on The Color of The Enamel-Dentin Complex and The Refractive Index

Alperen DEĞİRMENCİ^{1*}, Emine KARA²

¹ Van Yüzcüncü Yıl Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi A. D., Van, TÜRKİYE.

² Bursa İl Sağlık Müdürlüğü, Bursa Ağız ve Diş Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Bursa, TÜRKİYE.

* Sorumlu yazar: Alperen DEĞİRMENCİ; E-mail: alperendegirmenci@hotmail.com

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı sigara, çay, kahve, kola ve yapay tükürüğe maruz bırakılan mine-dentin kompleksinde meydana gelen refraktif indeks ve renk değişiminin incelenmesidir.

Materyal ve Metot: Çalışmaya periodontal nedenler ile çekimi gerçekleştirilen 50 adet maksiller santral diş dahil edildi. Dişler labial yüzlerine dokunulmadan ve kron formu korunarak 2 mm'lik mine-dentin kompleksi haline getirildi. Dişler, rastgele bir şekilde 5 gruba ayrıldı: Kontrol; Çay; Kahve; Kola ve Sigara (n=10). Renk ölçümleri için spektrofotometre (Spectroshade™ Micro, MHT Corporation, Verona, İtalya), kırılma indisi ölçümleri için abberefraktometre kullanıldı. Numuneler 48 saat boyunca 37°C'de içeceklere maruz bırakıldı. Sigara grubunda ise 10 dk. boyunca sigara dumanına maruz bırakıldı. Sigara dumanı için özel bir makine tasarlandı. Normal dağılan verilerin karşılaştırılmasında Welch testi kullanıldı ve çoklu karşılaştırmalar Tamhane's T2 testleriyle gerçekleştirildi. Normal dağılmayan verilerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı ve çoklu karşılaştırmalar Dunn testiyle incelendi. Normal dağılmayan veriler arasındaki ilişkinin incelenmesinde Spearman's rho korelasyon katsayısı kullanıldı. Önem düzeyi P <0,05 olarak alındı.

Bulgular: Welch testi sonuçlarına göre maruz bırakılan sigara ya da içeceğe bağlı olarak mine-dentin kompleksinin ΔE değerinde istatistiksel seviyede anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir (P <0,001). En yüksek medyan değeri 14,540 ile kola grubunda tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla sigara, çay ve kahve grupları izlemiştir. Maruziyet öncesi örneklerin başlangıç refraktif indeksini ifade eden RI1 değerinin ortalaması gruplara göre istatistiksel bir fark sergilememiştir (P =0,051). Bununla birlikte maruziyet sonrası ölçülen RI2 değerleri arasında önemli bir fark tespit edilmiştir (P <0,001).

Sonuç: Değerlendirilen içecekler içinde mine-dentin kompleksinde en fazla renk değişimi ve refraktif indeks düşüşüne sebep olan en düşük pH'ya sahip koladır.

Anahtar Kelimeler: Diş minesini, Dentin, Dişte renk değişikliği, Refraktometri, Sigara.

Atf Yapmak İçin: Değirmenci A, Kara E. Sigara ve renklendirici içeceklerin mine-dentin kompleksinin rengi ve refraktif indeksi üzerindeki etkileri. *Van Sag Bil Derg* 2022, 15(1) 69-79. <https://doi.org/10.52976/vansaglik.1038746>.

Geliş Zamanı: 20/12/2021

Kabul Zamanı: 01/03/2022

Basılama Zamanı: 30/04/2022

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to examine the refractive index and color change in the enamel-dentin complex exposed to cigarette, tea, coffee, coke, and artificial saliva.

Material and Method: 50 maxillary central teeth, which were extracted for periodontal reasons, were included in the study. They were formed into a 2 mm enamel-dentin complex without touching the labial surfaces of the teeth and preserving the crown form. The teeth were randomly divided into 5 groups: Control; Tea; Coffee; Coke and Cigarette (n=10). Spectrophotometer (Spectroshade™ Micro, MHT Corporation, Verona, Italy) was used for color measurements and abberefractometer was used for refractive index measurements. Samples were exposed to beverages at 37°C for 48 hours. In the cigarette group, samples were exposed to cigarette smoke for 10 minutes. A special machine was designed for cigarette smoke group. Welch test was used to compare normally distributed data, and multiple comparisons were performed with Tamhane's T2 tests. Kruskal-Wallis test was used to compare non-normally distributed data, and multiple comparisons were analyzed with Dunn's test. Spearman's rho correlation coefficient was used to examine the relationship between data that were not normally distributed. Significance level was taken as P <0.050.

Results: According to the Welch test results, a statistically significant difference was observed in the ΔE value of the enamel-dentin complex depending on the exposure to cigarette or drink (P <0.001). The highest median value was found in the cola group with 14.540. This was followed by cigarette, tea and coffee groups, respectively. The mean value of RI1, which represents the initial refractive index of the pre-exposure samples, did not show a statistical difference between the groups (P=0.051). However, a significant difference was detected between the RI2 values measured after exposure (P <0.001).

Conclusion: Among the evaluated groups, coke that has the lowest pH that causes the most color change and there fractive index decrease in the enamel-dentin complex.

Keywords: Dental enamel, Dentin, Tooth discoloration, Refractometry, Smoke.

GİRİŞ

Günümüzde kozmetik prosedür talebi ile diş hekimine başvuran hasta sayısı gittikçe artmaktadır (Santezi ve ark., 2012) ve bu talep hastalar tarafından kaybedilen estetiğin geri kazanılması isteği ya da global olarak artış gösteren estetik algısının bir sonucudur. Profesyonellerin bu beklentileri karşılayabilmesi için uygulayacakları tedavi prosedürü ile dişi normal fonksiyon durumuna getirmesinin yanı sıra estetik mükemmeliyeti de teşvik etmesi şarttır (Nahsan ve ark., 2012). Ancak böyle bir restoratif tekniğin geliştirilmesi için dental dokuların doğal karakteristiklerinin iyi anlaşılması ve analiz edilmesi gerekir (Franco ve ark., 2007). Diş ise internal ve eksternal morfolojisi farklılık gösteren, içeride yumuşak bir doku olan pulpa ile onu çevreleyen mine ile dentin sert dokularından meydana gelen kompleks bir yapıdır (Dozic ve ark., 2004). Bilindiği üzere histolojik yapıları ile mineral içeriklerinin farklılığı bu dokuların tek tek ve bir kompleks yapı olarak optik özelliklerinin önemli farklılıklar göstermesine neden olmaktadır (Dietschi, 2001). Hariri ve ark. gerçekleştirdikleri öncü çalışmalarında minenin aksine özellikle dentin yapısında ve dentin tübüllerin oryantasyonunda meydana gelen küçük varyasyonların dişin optik özelliklerinde önemli bir etki yarattığına dikkat çekmiştir (I. Hariri ve ark., 2012). Oguro ve ark. da benzer şekilde dişin optik algısının kompleks bir fenomen olduğunu ve intrinsik dokuların ışığın absorpsiyonu, saçılımı ya da speküler transmisyonu gibi olaylarda yadsınamayacak ölçüde büyük bir role sahip olduğunu belirtmiştir (Oguro ve ark., 2016). Bununla birlikte Eimar ve ark. mine hidroksiapatit kristallerinin karbonizasyon boyutu ve derecesinin dişin renk boyutları üzerindeki etkilerini demonstrate etmiştir (Eimar ve ark., 2011) ve tüm bu bulgular mine-dentin kompleksinin optik özelliklerini konu edinen araştırmaların odak noktasını değiştirmiş ve dişin internal ve eksternal özelliklerini etkileyen faktörlere yönlendirmiştir (Mayoral ve ark., 2013).

İntrinsik, ekstrinsik faktörler ya da bunların kombinasyonu diş dokularında renk değişimini indük-

leyerek klinik görünümü etkileyebilir ve uygulanacak tedavi yöntemlerinin tekrar gözden geçirilmesine neden olabilir (Lertsukprasert ve Locharoenrat, 2020). Ayrıntılı klinik muayene, hastanın ağız hijyeni uygulamalarının, beslenme alışkanlıklarının ve kimyasallara, travmaya ve enfeksiyona maruz kalma öyküsünün gözden geçirilmesi etkenin tespit edilmesinde esastır (Dalrymple ve ark., 2018). Günümüzde bu etkenler değerlendirilmiş ve çay, kahve, sigara gibi ajanların mine yüzeyinde dışsal renklenmeye neden olduğu; travma, çürük, periapikal enfeksiyon ya da yetersiz endodontik tedavinin de dişte lokalize ya da generalize intrinsik renklenmeyi tetiklediği konusunda fikir birliğine varılmıştır (Dalrymple ve ark., 2018). Ancak sınırlı sayıda araştırmacı bu etkenlerin dişte sadece renklere neden olmadığına; aynı zamanda refraktif indeks gibi optik özelliklerini de etkilediğine dikkat çekmiştir (İlnaz Hariri ve ark., 2013). Refraktif indeks, diş dahil biyolojik dokular boyunca ışığın yayılmasını ifade eden önemli bir parametredir ve Knüttel ve ark. dokuların refraktif indeksinin saçılma özelliklerinin bir göstergesi olarak kullanılabileceğini zira saçılmanın kendisinin lokal refraktif indeks varyasyonunun nihai bir sonucu olduğunu belirtmiştir (Knüttel ve ark., 2004). Bu teoriden yola çıkan araştırmacılar dişin refraktif indeksinin ölçümü için çeşitli tekniklerin kullanımını (Meng ve ark., 2009), mine kalınlığının ve refraktif indeksin algılanan diş rengi üzerindeki etkilerini (Oguro ve ark., 2016) ve mine ile dentin dokusunda meydana gelen varyasyonların dişin lokal refraktif indeksinde nasıl bir etkiye sahip olduğunu değerlendirmiştir (I. Hariri ve ark., 2012). Ancak mevcut yazarların bilgisine göre mine-dentin kompleksinde renklenmeye neden olan sigara ve çeşitli içeceklerin dişin refraktif indeksi üzerindeki etkileri değerlendiren herhangi bir çalışma yoktur. Bu etkilerin bilinmesi yapılacak estetik tedavilerin sonuçlarının öngörülmesi ve etkene yönelik tedavi prosedürlerinin efektif şekilde belirlenebilmesi açısından çok önemlidir. Bu literatür eksiğinden köken alan çalışmamızda sigara, kola,

çay ve kahvenin mine-dentin kompleksinde meydana getirdiği renk değişiminin ve bu ajanların dişin genel refraktif indeksi üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Araştırmanın temel sıfır hipotezi ise sigara, kola, çay, kahve ile yapay tükürüğe maruz bırakmanın mine-dentin kompleksinde renk değişimi meydana getirmeyeceğidir. Alternatif sıfır hipotezi ise değerlendirilen içeceklere ve sigaraya bağlı olarak mine-dentin kompleksinin refraktif indeksinin değişmeyeceğidir.

MATERYAL ve METOT

Randomize, kontrollü, *in vitro* olarak tasarlanan ve çekilmiş insan maksiller santral dişleri üzerinde gerçekleştirilecek olan mevcut araştırmaya başlanılmadan önce Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığından onay alındı (26.06.2014-B.30.2.YYU.0.01.00.00/193). Çalışmada ΔE ana özellik olarak kabul edildi ve önceki çalışmalardan (Kwon ve ark., 2015), ΔE için standart sapmanın 1,04 ile 2,22 arasında değiştiği tespit edildi. Bu nedenle standart sapma 1,63 olarak alındı. %95 güven katsayısı ve yaklaşık %80 güç değeri için Tip I hata 0,05 (%5 tip I hata için Z değeri 1,96) etki büyüklüğü araştırmacı tarafından 0,3 olarak alındı. Bu bilgilere dayanarak gerekli örneklem büyüklüğü şu denklem kullanılarak hesaplandı:

$$n = Z^2 \times \sigma^2 / d^2$$

Bu eşitliğe göre her gruptaki minimum örneklem büyüklüğü 10 [$n = (1,96^2 \times 1,630 / 0,32^2) \approx 10$] olarak bulundu. Çalışmaya sadece periodontal nedenler ile çekimi gerçekleştirilen 50 adet maksiller santral diş dahil edildi. Çekim sonrası dişlerin üzerindeki doku artıkları periodontal kürele uzaklaştırıldı ve hızı 10000 devir/dk. olarak sabitlenen bir angldruva ile pomza uygulanarak polisajlandı. Temizlenen diş yüzeyleri ışık mikroskobu (TM-505, Mitutoyo, Tokyo, Japonya) ile 10 kat büyütme altında incelendi ve internal/eksternal renklenme ya da çatlak tespit edilen dişler çalışma dışında bırakıldı. Çalışmaya dahil edilen dişlerin dezenfeksiyonu

için %0,1'lik timol çözeltisi kullanıldı ve başlangıç aşamasına kadar tüm dişler distile su içerisinde muhafaza edildi.

Mine-dentin kompleksinin oluşturulabilmesi için dişler özel bir aparey yardımı ile pozisyonel olarak sabitlendi. Düşük devirli hassas kesme bıçağı (Iso-met, Buehler, Lake Bluff, IL, ABD) ile su soğutması altında mine-sement sınırından kesilerek dişlerin kuron-kök yapıları birbirinden ayrıldı. Kronların labial yüzlerine temas edilmemesine özen gösterilerek, elmas rondfrez (Ref:801-014 G STD, İstanbul, Türkiye) ile kompleks kalınlığı 2 mm olacak şekilde dişler prepare edildi. Preparasyon sonrası mine-dentin kompleksinin kalınlıkları dijital bir kumpas ile kontrol edildi.

Hazırlanan örnekler, mine-dentin kompleksinde meydana gelmesi muhtemel su emilimi etkilerini ortadan kaldırmak amacıyla 24 saat 37°C'de etüvde (Mommert UN 110, Schwabach, Almanya) yapay tükürük içerisinde bekletildi (Mathias ve ark., 2010). Ardından başlangıç renk ölçümleri görüntü çıkışı 400-720 nm aralığında, 2 adet 45 derecelik polarize, telesentrik ve monokromatik aydınlatmaya sahip, 0o okuma değeri olan, her nokta için yaklaşık 0,03x0,03 mm'lik bir optik çözünürlüğe sahip bir spektrofotometre (Spectroshade™ Micro, MHT Corporation, Verona, İtalya) ile yapıldı. Her 10 ölçümde bir cihaz, yeşil ve beyaz kalibrasyon parçası kullanılarak kalibre edildi. Ölçümlerin nötral gri fonda ve min-dentin kompleksinin labial yüzünden yapılmasına özen gösterildi. CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) L*, a*, b* değerleri belirlendi. Başlangıç refraktif indeks ölçümleri (RI1) ise 589 nm dalga boyunda monokromatik ışık yayan sodyum lambası olan, 1,3000-1,7000 değer aralığında skalası bulunan bir AbbeRefraktometre (Abbe-Refractometer, NAR-1T Solid, Atago Co. Tokyo, Japonya) ile oda sıcaklığında monobromonaftalen çözeltisi (Contact Liquid, Atago Co. Tokyo, Japonya) damlatılan mine-dentin kompleksinin labial yüzeyinden gerçekleştirildi. Her ölçüm öncesi refraktometre kalibrasyon bloğu (Test Piece A, nD=1,516) ile kalibre edildi. Rastgele sayı üretici

(<https://www.random.org/integers/>) kullanılarak elli rastgele tam sayı üretildi ve her tam sayı sıralı olarak dişlere atandı. Dişler daha sonra beşli bloklara bölündü ve her blok içindeki numuneler daha sonra atanan tam sayıya göre artan sırada (birden beşe) sıralandı ve maruz bırakılacak içecek ya da sigara prosedürüne göre aşağıdaki gruplara ayrıldı (n=10):

1. Yapay Tükürük Grubu: Kontrol grubu olarak belirlenen yapay tükürük 0,7 mmol/L CaCl₂.2H₂O, 0,2 mmol/L MgCl₂, 4,0 mmol/L KH₂PO₄, 30,0 mmol/L KCL, 20,0 mmol/L HEPES Tampon formülasyonuna göre hazırlandı ve pH'sı 7 olarak ayarlandı (Eisenburger ve ark., 2001) .

2. Çay Grubu: Çay grubunda kullanılacak solüsyon 600 ml kaynatılmış distile su içerisine atılan 4 adet poşet çayın (LiptonYellowLabelTea®, Lipton, Unilever, İstanbul, Türkiye) 10 dk. boyunca demlendirilmesi ile elde edildi.

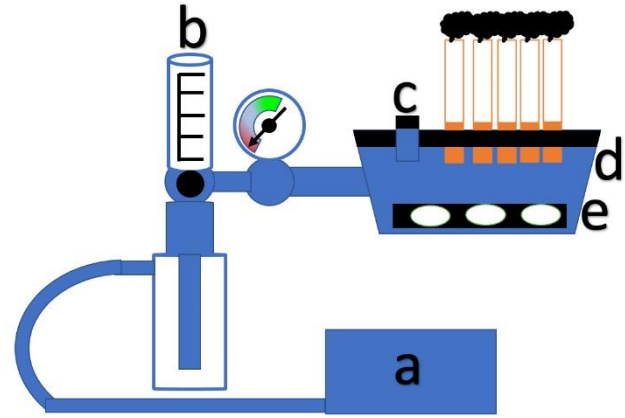
3. Kahve Grubu: Kahve grubunda kullanılacak solüsyon 600 ml kaynatılmış distile su içerisine atılmış 7,2 gr kahvenin (Nescafé Classic®, Nestlé, Vevey, İsviçre) 10 dk. demlenmesi ve filtre kâğıdı (Brawi, Kahve Filtre Kâğıdı, Horeka, Almanya) ile süzülmesi ile elde edildi.

4. Kola Grubu: Bu grup için etüvde 37°C'ye gelene kadar ısıtılan kola (Coca Cola, Coca Cola İçecek A.Ş., İstanbul, Türkiye) solüsyonu kullanıldı.

Hazırlanan içecekler her biri 10 ml'lik ışık geçirmez amber cam şişelere pay edildi. Şişelere yerleştirilen örnekler 48 saat boyunca 37°C'de etüvde bekletildi. Solüsyonların günlük olarak değiştirilmesine özen gösterildi.

5. Sigara Grubu: Bu gruptaki örneklerin sigara dumanına maruz bırakılabilmesi için özel bir makine tasarlandı. Bunun için 600 ml'lik bir plastik bir saklama kabının kapak kısmına bir tanesi tam ortasında olmak üzere, birbiri ile eşit mesafede 5 adet delik açıldı. Her deliğe filtre kısımları çıkarılmış sigara ağızlığı yerleştirildi. Kapağa altıncı bir delik açıldı. Bu deliğe sigara dumanını tahliye edici bir meka-

nizma yerleştirildi. Saklama kabının yan tarafına bir adet vakum borusu yerleştirildi ve bu boruya vakum makinesini kontrol eden bir akış ölçer bağlandı (Şekil 1).



Şekil 1.El yapımı sigara dumanı makinesinin çizimi, a. Vakum b. Akış ölçer c. Tahliye mekanizması d. Saklama kutusu e. Metal tabla.

Örnekler saklama kabı içerisine yerleştirildi (Şekil 2) ve ağızlıklara yerleştirilen sigaralar (Marlboro, RedLong, Philsa A.Ş., İzmir, Türkiye) yakıldı. Vakum hızı 1 litre/dk. olarak ayarlanan vakum makinesi çalıştırıldı ve her 60 sn. 'de bir vakum makinesi durdurularak tahliye mekanizması 2 sn. boyunca açık tutuldu. Sigaraların filtre kısmına gelene kadar işleme devam edildi. Toplamda bir siklus 10 dk. sürdü. Bu siklus 4 kez tekrar edildi (Şekil 3).

İçecek ve sigaraya maruz bırakılan örnekler duru su ile yıkanıp kurutuldu ve renk ile refraktif indeks ölçümleri tekrarlandı. Maruziyet sonrası refraktif indeks ölçümleri RI₂ olarak kaydedildi. Renk değişiminin hesaplanmasında aşağıdaki formülasyon (ΔE) kullanıldı: (Joiner ve ark., 2008)

$$\Delta L^* = L^*_{\text{son}} - L^*_{\text{ilk}}$$

$$\Delta a^* = a^*_{\text{son}} - a^*_{\text{ilk}}$$

$$\Delta b^* = b^*_{\text{son}} - b^*_{\text{ilk}}$$

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$



Şekil 2. Sigara dumanına maruz kalmadan önce numunelerin metal tabla üzerindeki görünümü.



Şekil 3. Sigara dumanına maruz kaldıktan sonra numunelerin metal tabla üzerindeki görünümü.

İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Üç ve üzeri gruplara göre normal dağılım verilerin karşılaştırılmasında Welch testi kullanıldı ve çoklu karşılaştırmalar Tahmane's T2 testleriyle gerçekleştirildi. Üç ve üzeri gruplara göre normal dağılmayan verilerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı ve çoklu karşılaştırmalar Dunn testiyle incelendi. Normal dağılmayan veriler arasındaki ilişkinin incelenmesinde Spearman's rho korelasyon katsayısı kullanıldı. Analiz sonuçları nicel veriler için ortalama \pm standart sapma ve medyan (minimum - maksimum) şeklinde sunuldu. Önem düzeyi $P < 0,050$ olarak alındı.

BULGULAR

Sigara ve içeceklere maruz bırakılan mine-dentin kompleksinin ΔE , RI1 ve RI2 değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Welch testi sonuçlarına göre maruz bırakılan sigara ya da içeceğe bağlı olarak mine-dentin kompleksinin ΔE değerinde istatistiksel seviyede anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir ($P < 0,001$). En yüksek medyan değeri 14,540 ile kola grubunda tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla sigara, çay ve kahve grupları izlemiştir ve en düşük medyan değeri 0,610 ile yapay tükürükte bekletilen kontrol grubuna aittir. Bununla birlikte sigara, kahve ve çaya maruz bırakılan komplekslerin ΔE medyan değerlerinin istatistiksel olarak benzerlik göstermesi oldukça dikkat çekici bir veridir.

Tablo 1. ΔE , RI1 ve RI2 değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve gruplara göre nicel değişkenlerin değerlendirilmesi.

	ΔE		RI ₁		RI ₂	
	Ortalama \pm SS	Medyan(Min-Maks)	Ortalama \pm SS	Medyan (Min-Maks)	Ortalama \pm SS	Medyan (Min-Maks)
Kontrol	0,609	0,610	1,643	1,643	1,642	1,642
	\pm 0,247	(0,220 - 1,000) ^c	\pm 0,002	(1,639 - 1,647)	\pm 0,001 ^{ac}	(1,639 - 1,643)
Çay	5,350	5,295	1,643	1,646	1,640	1,642
	\pm 1,268	(3,620 - 7,380) ^b	\pm 0,004	(1,636 - 1,647)	\pm 0,002 ^{ab}	(1,637 - 1,643)
Kahve	2,947	2,330	1,644	1,644	1,639	1,640
	\pm 2,196	(1,720 - 9,040) ^{bc}	\pm 0,002	(1,640 - 1,648)	\pm 0,002 ^{bc}	(1,636 - 1,642)
Kola	17,294	14,540	1,646	1,647	1,637	1,638
	\pm 6,899	(11,960 - 30,340) ^a	\pm 0,002	(1,643 - 1,649)	\pm 0,003 ^b	(1,632 - 1,642)
Sigara	6,825	7,210	1,646	1,647	1,643	1,643
	\pm 1,493	(3,240 - 8,400) ^{ab}	\pm 0,002	(1,643 - 1,648)	\pm 0,002 ^a	(1,640 - 1,647)
Test İstistiği	$\chi^2 = 42,874$		$\chi^2 = 12,336$		F=7,982	
P	<0,001		0,051		<0,001	

SS: Standart sapma, F: Test istatistiğinin varyans analizi (Welch), χ^2 : Kruskal Wallis test istatistiği, ^{a-c}: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

Maruziyet öncesi örneklerin başlangıç refraktif indeksini ifade eden RI1 değerinin ortalaması gruplara göre istatistiksel bir fark sergilememiştir (P =0,051). Bununla birlikte maruziyet sonrası ölçülen RI2 değerleri arasında önemli bir fark tespit edilmiştir (P <0,001). Bu farklılık kontrol grubunun RI2 ortalamasının kola grubunun ortalamasından ve sigara grubunun RI2 ortalamasının kola ve kahve gruplarının ortalamalarından yüksek olarak elde edilmesinden kaynaklanmaktadır. RI1 ve RI2 değerleri incelendiğinde yapay tükürük hariç diğer tüm gruplara maruziyetin mine-dentin kompleksinin refraktif indeksinde anlamlı bir düşüşe sebep olduğunu ve ölçülen RI2 değerlerinin RI1 değerlerine göre daha düşük olduğunu söylemek mümkündür. Ayrıca Spearman's rho korelasyon katsayısı kullanılarak ΔE ile RI1 ve RI2 arasındaki ilişki değerlendirilmiş ve sonuçlar RI1 ile ΔE arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönlü zayıf bir ilişki varken (r= 0,371; P =0,008); RI2 ile ΔE arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif yönlü zayıf bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (r =-0,300; P =0,034) (Tablo 2).

Tablo 2. ΔE ile RI1 ve RI2 arasındaki ilişkinin incelenmesi

	ΔE	
	r	p
RI ₁	0,371	0,008
RI ₂	-0,300	0,034

r: Spearman'srho korelasyon katsayısı

TARTIŞMA

Son yıllarda gerçekleştirilen araştırmalar içecek ve sigara gibi eksternal faktörlerin etkileri sonucunda dental apatit kristal yapısında demineralizasyon-remineralizasyon, mine çubuk kılıfının alanı ve genişliğinde azalma ile mine proteinlerinde azalma gözlemlendiğini ortaya koymuştur (Miake ve ark., 2016) ve bilindiği üzere bu yapısal değişimler mine-dentin kompleksinin renk ve refraktif indeks değişimini tetikleyebilir. Mevcut çalışmada sonuçlarında da sigara ve çeşitli içeceklere maruz bırakılan mine-dentin kompleksinde istatistiksel seviyede anlamlı renk değişimi saptanmıştır. Bu nedenle araştırmanın ilk sıfır hipotezi reddedilmiştir. Benzer şekilde maruziyet sonrası ölçülen refraktif indeksi

ifade eden RI2 parametresinde de önemli bir değişim tespit edilmiştir. Bu nedenle mevcut çalışmanın ikinci sıfır hipotezi de reddedilmiştir.

Günümüzde içeceklerin diş renkli restoratif materyaller üzerindeki etkileri kapsamlı şekilde araştırılıyor olsa da; mine, dentin ya da mine-dentin kompleksi üzerindeki etkilerini konu edinen çalışma sayısı şaşırtıcı derecede azdır (Casas-Apayco ve ark., 2014) ve bu literatürlerin temel odak noktasını pH'sı 2,6 olan kola ve bunun diş dokularındaki potansiyel eroziv etkileri oluşturmaktadır (Kato ve ark., 2007). Mevcut bulgularda ise mine-dentin kompleksinde en fazla renk değişimi 14,540'lık medyan değeri ile kolay maruziyet sonrasında gözlemlenmiştir ve bilindiği üzere bu değer CIE L*a*b* renk uzayında fark edilebilir eşik değeri olan 3,3 ün çok üzerindedir (Hafez ve ark., 2010); bu da klinik olarak kabul edilemeyecek bir renklenme anlamına gelmektedir. Ayrıca en düşük RI2 değeri kolay maruz bırakılan mine-dentin kompleksinde ölçülmüştür. Kolanın doğal diş dokusundaki bu etkileri içeriğindeki fosforik asit ile ilişkilendirilebilir. Zira Casas-Apayco ve ark. yapmış oldukları çalışmalarında koladaki fosforik asidin dişin mine dokusunda yüzeyin zayıflamasına neden olan bir çözünme oluşturduğunu vurgulamıştır (Casas-Apayco ve ark., 2014). Magalhães ve ark. da bu eroziv siklusun devamlılık göstermediği durumlarda kırılabilir mine dokusunun uzaklaşmadığına dikkat çekmiştir (Magalhães ve ark., 2009). Araştırmacılar bu yumuşamış alanın mineralizasyon yapısının farklı olması sebebiyle mekanik kuvvetlere ve renklenmeye karşı direncinin düşük olduğu konusunda hemfikirdir (Magalhães ve ark., 2009; Casas-Apayco ve ark., 2014). Kitchens ve ark. da flor verniği uygulaması yapılan mine yüzeyinin 14 günlük içecek maruziyeti sonrası yüzey pürüzlülüğünü değerlendirdikleri çalışmalarında her içeceğin yüzey pürüzlülüğünde artışa sebebiyet verdiğini; ancak en fazla artış saptanan içecek grubunun kola olduğunu belirtmiştir (Kitchens ve Owens, 2008) ve insan minesini üzerinde gerçekleştirilen güncel bir çalışmanın bulgularının da ortaya koy-

duğu üzere mine yüzey pürüzlülüğündeki artış renklenme miktarının artışı ile sonuçlanmaktadır (Shamel ve ark., 2019). Bu da bulgularımızda en fazla renklenme saptanan grubunun neden kola olduğunu açıklar niteliktedir. Doğal diş dokusunun refraktif indeksini ve bu indeksi etkileyen faktörleri inceleyen araştırma sayısı oldukça kısıtlıdır. Bununla birlikte Hariri ve ark. mine-dentin mineral içeriği ile yapısal oryantasyonun (Inaz Hariri ve ark., 2013), Oguro ve ark. ise mine kalınlığının (Oguro ve ark., 2016) lokal refraktif indeksi etkilediğini belirtmiştir. Kolanın mine-dentin kompleksinin refraktif indeksinde anlamlı düşüşe sebebiyet vermesi ise kolanın eroziv etkisi sonucu mineral yapısında oluşan değişim ve mine yüzeyindeki pürüzlülük artışının bir sonucu olabilir.

Sigara dumanı gibi ekstrinsik faktörlere kronik ve tekrarlayan şekilde maruz kalan dental dokuların lekelenmeye yatkınlık gösterdiği bilinen bir gerçektir (Amorim ve ark., 2021). Alandia-Roman ve ark. da sigara dumanına maruziyetin renklenmeye sebep olduğunu; ancak meydana gelen lekelenmenin dağılımının ve yoğunluğunun sigara içeriğindeki pigment tipine, miktarına ve maruziyet zamanına bağlı olarak değişebileceğine dikkat çekmiştir (Alandia-Roman ve ark., 2013). Bununla birlikte sigarada meydana gelen lekelenme ve renk değişiminin mekanizmasının içeceklere maruz bırakma sonrası gözlemlenen renk değişiminden farklı olduğunu söylemek yanlış değildir. Zira Wasilewski ve ark. sigara dumanı ile diş yüzeyinde artık birikimi gerçekleştiğini ve bu durumun sigaraların bileşiminde bulunan şeker ve kakao ile ilişkili olduğunu belirtmiştir (Wasilewski Mde ve ark., 2010). Dalrymple ve ark. ise sigara içeriğindeki katranın, mine yüzeyine difüze olma özelliği gösteren bir madde olduğuna; bu nedenle sadece eksternal değil aynı zamanda internal bir renklenmeyi tetiklediğine dikkat çekmiştir. Aynı zamanda sigara dumanı ve ısı prosedürünün minenin renk değişimi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında 5 günlük maruziyetin bile anlamlı renk değişimine sebebiyet verdiğini rapor etmiş; 14 günlük maruziyet sonrası

hesaplanan ΔE değerinin daha yüksek olduğuna vurgu yapmıştır (Dalrymple ve ark., 2018). Tüm bu bulgular mevcut çalışmada koladan sonra en fazla renk değişimine neden olan ajanın sigara olmasını açıklar niteliktedir ve mevcut bulgularda da bu çalışmalar ile paralel olacak şekilde sigaranın istatistiksel seviyede anlamlı renk değişimine sebep olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte sigara, çay, kahve ve distile suyun diş minesinin mikrosertliği ve renklenmesi üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada araştırmacılar çay ve kahvenin sigaradan daha fazla renklenmeye neden olduğunu rapor etmiştir (Amorim ve ark., 2021). Bulgularımızdaki bu farklılık ilgili araştırma prosedüründe her maruziyet siklusu sonrası diş fırçalama uygulaması yapılmasından ve fırçalamanın mekanik etkisiyle diş yüzeyinde oluşan artıkların uzaklaştırılmış olmasından kaynaklanmış olabilir. Sigara dumanının dişin mine ve dentin dokuları üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada minenin sıkı paketlenmiş durumdaki hidroksiapatit kristallerinden oluştuğu, bu nedenle sıvıların bile difüzyonunun zor olduğu ve fırçalama sonrası artıklar uzaklaştırıldığında dental dokulardaki etkilerinin minimal olduğu belirtilmiştir (Zanetti ve ark., 2019). Bu bulguya paralel olarak mevcut çalışmada da sigaranın mine-dentin kompleksinin refraktif indeksi üzerindeki etkileri çay ve kontrol grubu olan yapay tükürük ile istatistiksel olarak benzer bulunmuştur.

Kahve ve çay pH'sı 4,99 ile 5,4 arasında yer alan içeceklerdir ve diş yüzeyinde ekstrinsik pigmentasyona sebep olan temel faktörler arasında sayılmaktadır (Amorim ve ark., 2021). Cortes ve ark. kahvenin asiditesini kavurma sürecinde glukit ve lipitlerin degradasyonu, esterlerin termal degradasyonu ve aldehit ile ketonların otooksidasyonu neticesindeki asetik asit formasyonu ile ilişkilendirmiştir (Cortes ve ark., 2013). Ayrıca çay ve kahve içeriğinde yer alan taninler ve yüksek reaktif polifenoller diş yüzeyinde kromojenlerin direkt birikmesine sebep olarak mekanik bir lekelenmeyi de tetikleyebilir (Costa ve ark., 2014). Çeşitli içeceklerle

maruz bırakılan minenin erozyon karakteristiğinin araştırıldığı bir in vitro çalışmada kahvenin kolayla kıyasla daha az renk değişimine neden olduğu rapor edilmiştir (Kitchens ve Owens, 2008). Benzer şekilde Zhao ve ark. da farklı boyayıcı ajanlara maruz bırakılan mine gruplarında en fazla renklenmenin sigara grubunda olduğunu, kahvenin boyayıcı potansiyelinin sigara grubuna kıyasla daha minimal olduğunu rapor etmişlerdir (Zhao ve ark., 2019). Çayın mine yapısında meydana getirdiği intrinsik renklenmenin değerlendirildiği farklı bir çalışmada kontrol grubu ile siyah çay grubu arasında hiçbir zaman diliminde istatistiksel bir fark tespit edilmediği bildirilmiştir (Attin ve ark., 2003). Benzer şekilde mevcut çalışmada da çay ve kahvenin neden olduğu renk değişiminin istatistiksel olarak aynı olduğu ve hesaplanan ΔE değerinin sigara ve kola grubuna kıyasla daha düşük seviyelerde olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte Karadaş ve ark. mine yüzeyinde kola, çay ve kırmızı şarabın kahveden daha fazla renk değişimini tetiklediğini bildirmiştir (Karadas ve Seven, 2014). Sonuçlarımızdaki bu farklılık ilgili araştırmada içeceklere maruz bırakılan mine yüzeylerinin öncesinde beyazlatma prosedürüne tabi tutulmuş olmasından ve buna bağlı olarak mine yüzeyi pürüzlülüğünün değişmesinden kaynaklanmış olabilir. Hubbezoğlu ve ark. beyazlatma ajanlarının mine kristallerinde intrinsik bir değişim meydana getirdiğini; bu nedenle mine-dentin kompleksinde lokal olarak ölçülen refraktif indeksin değişimi gösterdiğini rapor etmiştir (Hubbezoglu ve ark., 2008). Bu bulgu refraktif indeksin intrinsik değişimler sonucu farklılık gösterdiği şeklinde yorumlanabilir. Mevcut çalışmada da kahve, çay ve yapay tükürüğe maruz bırakılan mine-dentin komplekslerinin RI1 ve RI2 değerleri incelendiğinde genel olarak bir düşüş trendi gözlemlenmiştir; ancak yapay tükürük ile çay grubu arasında anlamlı bir fark mevcut değil iken, kahveye maruz bırakılan grubun RI2 değerinin kolayla benzer olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç yapay tükürük ve çayın asiditesinin diğer içeceklere göre daha düşük olmasından ve etkilerinin ekstrinsik seviyede

kalmasından kaynaklanmış olabilir. Kahvenin ise kolayca benzer RI2 değerine sahip olması ise içeriğindeki asetik asit sebebiyle etkilerinin daha intrinsik seviyede gerçekleşmesinin bir sonucu olabilir.

Düşük pH'lı içecek ve boyayıcı maddelerin tükürük tarafından nötralize edildiği bilinen bir gerçektir, bu sayede tükürük, durulama ve asidi nötralize etme yeteneği ile dişleri asitlerin olumsuz etkilerine karşı korumada önemli bir rol oynar (Wiegand ve ark., 2005). Ancak bu çalışmada insan tükürüğü ve protez biyofilminin etkinliği simüle edilmemiştir ve bu eksiklik araştırmanın temel limitasyonunu oluşturmaktadır. Ayrıca mekanik bir fırçalamanın uygulanmamış olması intraoral şartlara kıyasla daha belirgin sonuçların elde edilmesine neden olmuş olabilir. Güncel araştırmaların ortaya koyduğu üzere yaş ile birlikte mine ve dentin kompleksinde yapısal varyasyonlar meydana gelmektedir (Miake ve ark., 2016) ve bu durum renk ile optik özelliklerin değişiminde etkili olabilir. Mevcut araştırmada ise yaş ile ilintili değişiklikler göz ardı edilmiş ve değerlendirilmemiştir.

Tüm bu limitasyonlar dahilinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılabilir:

1. Değerlendirilen ajanların içerisinde mine-dentin kompleksinde en fazla renk değişimine en düşük pH'ya sahip olan kola neden olmaktadır.
2. Her maruziyet mine-dentin kompleksinin refraktif indeks düşüşünü tetiklese de en fazla düşüş saptanan grup koladır.
3. Sigara ve içeceklere maruz bırakılan mine-dentin kompleksinde hesaplanan ΔE değeri ile RI2 değeri arasında negatif yönlü bir korelasyon mevcuttur.

Teşekkürler

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2014-SBE-D174 proje numarası ile desteklenmiştir. Yazarlar, istatistiksel analiz aşamasındaki desteklerinden dolayı Dr. Barış Kaki'ye ve Dr. Naci Murat'a teşekkür eder.

Çıkar çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Alandia-Roman CC, Cruvinel DR, Sousa AB, Pires-de-Souza FC, Panzeri H. (2013). Effect of cigarette smoke on color stability and surface roughness of dental composites. *Journal of Dentistry*, 41 Suppl 3, e73-79.
- Amorim AA, de Arruda CNF, Vivanco RG, Bikker F, de Pires-de-Souza FCP. (2021). Effect of phytosphingosine on staining resistance and microhardness of tooth enamel. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 33(2), 294-302.
- Attin T, Manolakis A, Buchalla W, Hannig C. (2003). Influence of tea on intrinsic colour of previously bleached enamel. *Journal of Oral Rehabilitation*, 30(5), 488-494.
- Casas-Apayco LC, Dreibi VM, Hipólito AC, Graeff MSZ, Rios D, Magalhães AC ve ark. (2014). Erosive cola-based drinks affect the bonding to enamel surface: an in vitro study. *Journal of Applied Oral Science*, 22(5), 434-441.
- Côrtes G, Pini NP, Lima DA, Liporoni PC, Munin E, Ambrosano GM ve ark. (2013). Influence of coffee and red wine on tooth color during and after bleaching. *Acta Odontologica Scandinavica*, 71(6), 1475-1480.
- Costa ASG, Ana FV, Luís MC, Oliveira MBPP, Maria AN, Rita CA ve ark. (2014). Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Industrial Crops and Products*, 53, 350-357.
- Dalrymple A, Badrock TC, Terry A, Barber M, Hall PJ, Thorne D ve ark. (2018). Assessment of enamel discoloration in vitro following exposure to cigarette smoke and emissions from novel vapor and tobacco heating products. *American Journal of Dentistry*, 31(5), 227-233.
- Dietschi D. (2001). Layering concepts in anterior-composite restorations. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 3(1), 71-80.

- Dozic A, Kleverlaan CJ, Aartman IH, Feilzer AJ. (2004). Relation in color of three regions of vital human incisors. *Dental Materials*, 20(9), 832-838.
- Eimar H, Marelli B, Nazhat SN, Abi Nader S, Amin WM, Torres J ve ark. (2011). The role of enamel crystallography on tooth shade. *Journal of Dentistry*, 39 Suppl 3, e3-10.
- Eisenburger M, Hughes J, West N, Shellis R, Addy M. (2001). The use of ultrasonication to study remineralisation of eroded enamel. *Caries Research*, 35(1), 61-66.
- Franco EB, Francischone CE, Medina-Valdivia JR, Baseggio W. (2007). Reproducing the natural aspects of dental tissues with resin composites in proximo-incisal restorations. *Quintessence International*, 38(6), 505-510.
- Hafez R, Ahmed D, Yousry M, El-Badrawy W, El-Mowafy O. (2010). Effect of in-office bleaching on color and surface roughness of composite restoratives. *European Journal of Dentistry*, 4(2), 118-127.
- Hariri I, Sadr A, Nakashima S, Shimada Y, Tagami J, Sumi Y. (2013). Estimation of the enamel and dentin mineral content from the refractive index. *Caries Research*, 47(1), 18-26.
- Hariri I, Sadr A, Shimada Y, Tagami J, Sumi Y. (2012). Effects of structural orientation of enamel and dentine on light attenuation and local-refractive index: an optical coherence tomography study. *Journal of Dentistry*, 40(5), 387-396.
- Hubbezoglu I, Akaoglu B, Dogan A, Keskin S, Bolayir G, Ozcelik S. ve ark. (2008). Effect of bleaching on color change and refractive index of dental composite resins. *Dental Materials Journal*, 27(1), 105-116.
- Joiner A, Hopkinson I, Deng Y, Westland S. (2008). A review of tooth colour and whiteness. *Journal of Dentistry*, 36 Suppl 1, S2-7.
- Karadas M, Seven N. (2014). The effect of different drinks on tooth color after home bleaching. *European Journal of Dentistry*, 8(2), 249-253.
- Kato MT, Maria AG, Sales-Peres SH, Buzalaf MA. (2007). Effect of iron on the dissolution of bovine enamel powder in vitro by carbonated beverages. *Archives of Oral Biology*, 52(7), 614-617.
- Kitchens M, Owens B. (2008). Effect of carbonated beverages, coffee, sports and high energy drinks, and bottled water on the in vitro erosion characteristics of dental enamel. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 31(3), 153-159.
- Knüttel A, Bonev S, Knaak W. (2004). New method for evaluation of in vivo scattering and refractive index properties obtained with optical coherence tomography. *The Journal of Biomedical Optics*, 9(2), 265-273.
- Kwon SR, Kurti SR, Jr. Oyoyo U, Li Y. (2015). Effect of light-activated tooth whitening on color change relative to color of artificially stained teeth *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 27 Suppl 1, S10-17.
- Lertsukprasert N, Locharoenrat K. (2020). Efficiency of tooth bleaching agent on staining and discoloration characteristics of nicotine stained dental enamel model. *BMC Oral Health*, 20(1), 221-221.
- Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Honório HM, Buzalaf MA. (2009). Insights into preventive-measures for dental erosion. *Journal of Applied Oral Science*, 17(2), 75-86.
- Mathias P, Costa L, Saraiva LO, Rossi TA, Calvanti AN, da Rocha Nogueira-Filho G. (2010). Morphologic texture characterization allied to cigarette smoke increase pigmentation in composite resin restorations. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 22(4), 252-259.
- Mayoral JR, Arocha MA, Domínguez S, Roig M, Ardu S. (2013). In vivo spectrophotometric evaluation of pure enamel and enamel-dentine complex in relationship with different age groups. *Journal of Dentistry*, 41(12), 1245-1250.
- Meng Z, Yao XS, Yao H, Liang Y, Liu T, Li Y. ve ark. (2009). Measurement of the refractive index of human teeth by optical coherence tomography. *The Journal of Biomedical Optics*, 14(3), 034010.
- Miake Y, Tsutsui S, Eshita Y. (2016). Variation in the color of Japanese teeth and structural changes

- in enamel rod sheath associated with age. *Journal of Hard Tissue Biology*, 25(2), 131-136.
- Nahsan FP, Mondelli RF, Franco EB, Naufel FS, Ueda JK, Schmitt VL ve ark. (2012). Clinical strategies for esthetic excellence in anterior tooth restorations: understanding color and composite resin selection. *Journal of Applied Oral Science*, 20(2), 151-156.
- Oguro R, Nakajima M, Seki N, Sadr A, Tagami J, Sumi Y. (2016). The role of enamel thickness and refractive index on human tooth colour. *Journal of Dentistry*, 51, 36-44.
- Santezi C, Tonetto MR, Presoto CD, Jassé FF, de Oliveira Júnior OB, de Andrade MF ve ark. (2012). Anterior restorations in bleached teeth: difficulty establishing the color after bleaching. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 13(5), 735-739.
- Shamel M, Al-Ankily MM, Bakr MM. (2019). Influence of different types of whitening toothpastes on the tooth color, enamel surface roughness and enamel morphology of human teeth. *F1000Research*, 8, 1764.
- Wasilewski MDE, Takahashi MK, Kirsten G.A, de Souza EM. (2010). Effect of cigarette smoke and whiskey on the color stability of dental composites. *American Journal of Dentistry*, 23(1), 4-8.
- Wiegand A, Vollmer D, Foitzik M, Attin R, Attin T. (2005). Efficacy of different whitening modalities on bovine enamel and dentin. *Clinical Oral Investigations*, 9(2), 91-97.
- Zanetti F, Zhao X, Pan J, Peitsch MC, Hoeng J, Ren Y. (2019). Effects of cigarette smoke and tobacco heating aerosol on color stability of dental enamel, dentin, and composite resin restorations. *Quintessence International*, 50(2), 156-166.
- Zhao X, Zanetti F, Wang L, Pan J, Majeed S, Malmstrom H. ve ark. (2019). Effects of different discoloration challenges and whitening treatments on dental hard tissues and composite resin restorations. *Journal of Dentistry*, 89, 103182.

Olgu Sunumu/Case Report

A Case of Emphysematous Pyelonephritis Improved with Medical Treatment

Medical Tedavi ile Düzelen Amfizematöz Piyelonefrit Olgusu

Mehmet ÇELİK^{1*}, Ali AYRANCI², Serdar GÖK³

¹ Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D., Şanlıurfa, TÜRKİYE.

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Antalya, TÜRKİYE.

³ Cizre Dr. Selahattin Cizrelioğlu Devlet Hastanesi, Cizre, TÜRKİYE

* Sorumlu yazar: Mehmet ÇELİK; E-mail: dr.mcelik12@gmail.com

ÖZET

Cited: Çelik M, Ayrancı A, Gök S. A case of Emphysematous pyelonephritis improved with medical treatment. *Van Sag Bil Derg* 2022, 15,(1) 80-83.

<https://doi.org/10.52976/vansaglik.962625>.

Arrived date: 05/07/2021

Accepted date: 22/11/2021

Published date: 30/12/2021

Amfizematöz piyelonefrit renal parankim ve onu çevreleyen dokuların nekrotizan enfeksiyonu olup, renal parankim, kollektor sistem veya perinefritik dokuda gaz formasyonu ile karakterizedir. Olguların %90'ında predispozan faktör diyabetes mellitustur. Bu çalışmada, üriner sistem enfeksiyonu ön tanısıyla takip edilen, yapılan tetkikler sonucunda amfizematöz piyelonefrit tanısı konan ve cerrahi gereksinim olmadan anti-biyoterapi ile düzelen bir olgu sunulması amaçlandı.

Anahtar Kelimeler: Amfizematöz piyelonefrit, Piyelonefrit, Diabetes mellitus.

ABSTRACT

Emphysematous pyelonephritis is a necrotizing infection of the renal parenchyma and surrounding tissues and is characterized by gas formation in renal parenchyma, collector system, or perinephric tissue. Diabetes mellitus is a predisposing factor in 90% of cases. In this study, it was aimed to present a case who was followed up with a preliminary diagnosis of urinary system infection, was diagnosed with emphysematous pyelonephritis as a result of the tests performed and recovered with antibiotherapy without the need for surgery.

Keywords: Emphysematous pyelonephritis, Pyelonephritis, Diabetes mellitus.

INTRODUCTION

Emphysematous pyelonephritis (EPN) is a suppurative and necrotizing kidney infection with high mortality, characterized by gas formation in perirenal or intrarenal region, usually patients have a diagnosis of diabetes mellitus (DM). EPN was first described by Kelly and MacCallum in 1898 (Kelly and MacCallum, 1898; Klein et al., 1986). DM is a predisposing factor in 90% of cases. Other underlying factors in EPN are urinary tract obstruction, urinary tract infection, renal infarction, and tumor embolism (Karslı, 2016). *E. coli* is the most common gas-forming organisms, while *Klebsiella*, *Clostridium*, *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, and *Amoeba* are among the other causative agents (Mohsin et al., 2009). Although it is a life-threatening disease, there is no clear consensus on its treatment. Basic ap

proaches in treatment; emergency nephrectomy, percutaneous drainage or medical treatment (Aboumarzouk et al., 2014). In this study, it was aimed to present a case who was followed up with a preliminary diagnosis of urinary system infection, was diagnosed with EPN as a result of the tests performed, and recovered with antibiotherapy without the need for surgery.

Case report

A 68-year-old female patient presented to the emergency department with complaints of abdominal pain, nausea, vomiting, loss of appetite, weakness, chills, and shivering that had started the day before. She had no fever. She had previously known DM, chronic heart disease (CHD), and chronic renal failure. It was learned that coronary angiography was performed 6 months ago to the

patient who was using exenatide, clopidogrel, and furosemide for DM and CHD. In her physical examination, there was tenderness in the abdomen and there was no additional finding. In addition, her blood pressure was: 114/62 mm/hg, beats per minute (BPM): 102/minute, body temperature (BT) 37.4 °C, SpO₂:91. In her laboratory tests, white blood cell was: 12.000 mm³, hemoglobin: 10.3 g/dl, platelet count: 228,000/UL, C-reactive protein (CRP): 12 mg/dl (ref. range: 0-0.5), procalcitonin: 1.1 ng/ml (ref. range: 0-0.12), blood urea nitrogen: 42.5 mg/dl, creatinine level: 2.5 mg/dl, sodium: 129 mmol/L, potassium: 6 mmol/L, alanine aminotransferase (ALT): 8 U/L, aspartate aminotransferase (AST): 12 U/L, blood sugar: 372 mg/dl, troponin I: 0.013 µg/dl, CK-MB: 9.1. Her arterial blood gases were PH: 7.31, PCO₂: 40.1, HCO₃: 20.5, and lactate: 3.5. In her complete urinalysis, there were 415 leukocytes, 13 leukocyte clusters, and 34 erythrocytes. Piperacillin/tazobactam was started at a dose of 4x2.25 gr/day to the patient who was evaluated as complicated urinary tract infection and hospitalized. On abdominal ultrasonography (USG), grade 1 hydronephrosis was observed in the right kidney, and the echo of the right renal parenchyma was reported as grade 2 increased. Due to the increase in laboratory tests on the 5th day of her hospitalization (CRP: 22 mg/dl, creatinine level: 3.2 mg/dl, procalcitonin: 1.7 ng/ml), her treatment was revised to meropenem 2x1 gr/day. When hemoglobin decreased to 7.5 g/dl, erythrocyte suspension was given. Abdominal computed tomography (CT) scan without contrast was taken. Air in the proximal ureter, renal pelvis, and calyces on the right, grade 2 hydronephrosis on the right, and dirty right perirenal fat planes were observed. The findings were evaluated in favor of emphysematous pyelonephritis (Figure 1). At the end of the 72nd hour of the meropenem treatment, laboratory tests began to decrease. There was no growth in blood and urine cultures taken. Abdominal CT was repeated on the 14th day of her hospitalization and findings were regressed (Figure 2). In laboratory tests, white blood

cell was: 4000 mm³, hemoglobin: 10.8 g/dl, platelet count: 277.000/UL, CRP: 0.49 mg/dl, creatinine: 1.9 mg/dl. The patient never had a fever in her follow-up. The patient, whose general condition and laboratory tests improved, and pathological findings on CT regressed, was discharged on the 14th day of her hospitalization.

Note: Informed consent form signed by the patient

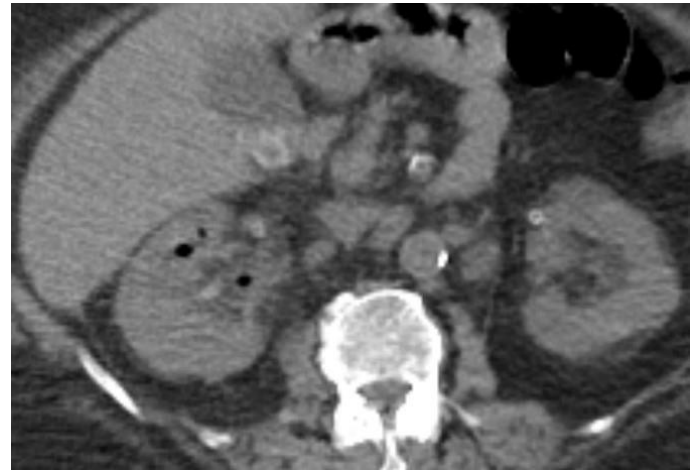


Figure 1: First abdominal CT scan of the patient



Figure 2: Abdominal CT scan of the patient 14 day of hospitalization

DISCUSSION

EPN is a necrotizing infection of the renal parenchyma and surrounding tissues and is characterized by gas formation in the renal parenchyma, collector system, or perinephric tissue. More than 90% of patients are diabetic and it is 6 times more common in women than men (Reşorlu et al., 2006). Many

factors can cause pyelonephritis to turn into an emphysematous form. Some of these factors are; the presence of gas-forming microorganisms, impaired host response, secondary vascular changes in ischemia or infarction. Fermentation of glucose by enterobacteria is the most important mechanism of gas formation (Huang and Tseng, 2000). Our patient was an old female with a diagnosis of DM who was hospitalized with the diagnosis of unregulated blood sugar and complicated urinary system infection.

EPN clinically presents with nonspecific features of upper urinary tract infection including fever, flank pain, nausea, vomiting, shock, acute renal failure, and disseminated intravascular coagulation. Costovertebral angle tenderness is the most common physical examination finding (Ergün et al., 2020). Huang et al. (Huang and Tseng, 2000) found that thrombocytopenia (46%), acute kidney dysfunction (35%), shock (29%), and impaired consciousness (19%) may be the first symptoms of the disease. Our patient presented with complaints of abdominal pain, nausea, vomiting, loss of appetite, weakness, chills, and shivering, but she had no fever. In her physical examination, there was tenderness in the abdomen. Acute renal failure developed on the background of previously known chronic renal failure. In laboratory examinations; she had leukocytosis, anemia, elevated CRP, and procalcitonin levels, pyuria, and blood gas examination was consistent with metabolic acidosis. Although she was hypotensive, no shock was observed. It was first evaluated as a complicated urinary system infection and the approach was directed towards this.

The diagnosis of EPN is made by radiological methods and CT is used as the most definitive diagnostic imaging. Ultrasonography and abdominal X-ray are the other diagnostic methods. Contrast-enhanced CT scan is better as it gives an idea about the functional state of kidney units as well as it facilitates the description of the intraparenchymal gas. However, non-contrast CT imaging may be sufficient in patients with impaired

renal parameters. The staging of EPN is made radiologically according to the extent of gas in the kidney parenchyma and surrounding tissues (Sharma et al., 2013). The gas collection was classified as Type I or Type II according to CT imaging by Wan et al., 1996.

Type I: Renal necrosis with the presence of gas without fluid.

Type II: Parenchymal gas associated with fluid in the renal parenchyma collecting system, or perinephric space (Wan et al., 1996). In the radiological imaging, the patient who was first performed abdominal USG had no pathological findings except grade 1 hydronephrosis in the right kidney and echo of the right kidney parenchyma increased. Abdominal CT was performed without contrast administration due to an impaired renal function test. In CT imaging; air in the right ureter proximal, renal pelvis and calyces, grade 2 hydronephrosis in the right kidney, and dirty right perirenal fat planes were observed, and the findings were evaluated in favor of emphysematous pyelonephritis. According to CT imaging, EPN was classified as Type I.

Approaches in the treatment of emphysematous pyelonephritis; prevention and treatment of shock, maintaining fluid and electrolyte balance, DM control, underlying renal obstruction includes removing it if any. Broad-spectrum antibiotic therapy should be initiated after blood and urine cultures are taken. If there is no bacteriological and clinical response after 48 hours, the antibiotic should be changed. Antimicrobial therapy should be continued for at least 14 days (Reşorlu et al., 2006). Treatment includes intensive medical treatment alone or intensive medical treatment with percutaneous catheter drainage (PCD) or intensive medical treatment with emergency nephrectomy (Huang and Tseng, 2000; Reşorlu et al., 2006). 40-50% of the mortality rate is reported with this type of management. Percutaneous catheters, first shown by Hudson et al. with advanced technology, have been the desirable treatment option. Currently, neph-

ron-sparing approach with PCD with or without elective nephrectomy at a later stage is the main treatment of choice for EPN and the mortality rate is significantly low in this type of management (Balagobi et al., 2020). Piperacillin/tazobactam treatment is first given to our patient for complicated urinary tract infections. Since there was no improvement in clinical response and laboratory tests, her treatment was revised as meropenem. The patient, whose clinical response was achieved with antibiotic therapy and laboratory tests improved, was discharged on the 14th day of hospitalization. Clinical improvement was achieved without percutaneous drainage and nephrectomy. Clinical improvement in the patient was achieved with only antibiotic therapy without percutaneous drainage and nephrectomy.

Conclusion

Emphysematous pyelonephritis is an infection with high mortality and morbidity especially seen in patients with DM. Clinical differential diagnosis is difficult as it progresses with classical complicated urinary system infection findings. Diagnosis can be made, especially with CT imaging, in patients whose blood sugar regulation cannot be achieved, renal function tests deteriorate, and patients with sepsis clinic but who do not show early improvement with empirical antibiotic therapy. As seen in our case, rapid recovery can be achieved without the need for surgical intervention when early diagnosis and appropriate antibiotic therapy are given.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

Aboumarzouk OM, Hughes O, Narahari K, Coulthard R, Kynaston H, Chlosta P, et al. (2014). Emphysematous pyelonephritis: Time for a management plan with an evidence-based approach. *Arab Journal of Urology*, 12, 106–115.

- Balagobi B, Nitharsanan M, Thanusan V. (2020). Emphysematous pyelonephritis. *Jaffna Medical Journal*, 32(2), 6–10.
- Ergün U, Ürk A, Erdem F, Bülbül E, Yekdeş AC. (2020). Emphysematous pyelonephritis treated with only parenteral antimicrobial therapy. *KSU Medical Journal*, 15(1), 47-51.
- Huang JJ, Tseng CC. (2000). Emphysematous pyelonephritis clinic-radiological classification, management, prognosis and pathogenesis. *Archive of Internal Medicine*, 27, 797-805.
- Karşlı O. (2016). Emphysematous pyelitis. *Cukurova Medical Journal*, 41(Suppl 1), 59-6.
- Kelly HA, MacCallum WG. (1898). Pneumatouria. *JAMA*, 31, 375.
- Klein FA, Smith MJ, Vick CW, et al. (1986). Emphysematous pyelonephritis. *South Medical Journal*, 79, 41-46.
- Mohsin N, Budruddin M, Lala S, Al-Taie S. (2009). Emphysematous pyelonephritis: a case report series of four patients with review of literature. *Renal Failure*, 31(7), 597-601.
- Reşorlu M, Reşorlu B, Yeşil M. (2006). Amfizematöz pyelonefrit. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 59, 158-160.
- Sharma PK, Sharma R, Vijay MK, Tiwari P, Goel A, Kundu AK. (2013). Emphysematous pyelonephritis: Our experience with conservative management in 14 cases. *Urology Annals*, 5(3), 157-162.
- Wan YL, Lee TU, Bullard MJ, Tsai CC. (1996). Acute gas producing bacterial renal infection: correlation between imaging findings and clinical outcome. *Radiology*, 198, 433-8.

Vaka Raporu/Case Report

An Extremely Large Lung Abscess; Surgical or Medical Treatment?

Büyük Bir Akciğer Apsesi; Drenaj mı Medikal Tedavi mi?

Ömür GÜNGÖR^{1*}

¹ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İş ve Meslek Hastalıkları A.D, Ankara, TÜRKİYE.

* Sorumlu yazar: Ömür GÜNGÖR; E-mail: omurgungor70@hotmail.com.

ÖZET

Akciğer absesi; aspirasyon ya da mikrobiyal klirens mekanizmalarındaki yetersizlik olması sonucu akciğer parankiminde nekrozun eşlik ettiği süperatif akciğer enfeksiyonudur. Eski yıllarda akciğer absesi önemli bir mortalite ve morbidite nedeni iken anaerobik antibiyotik tedavilerinin artması sonucu insidans ve mortalite oranları azalmıştır. Buna rağmen hala %15-20 oranında mortaliteye sahiptir. Anaerobik antibiyotikler son derece etkili olmasına rağmen, bazı durumlarda cerrahi müdahale gerekebilir. Altı cm ve daha büyük boyutlar çoğu kaynak tarafından cerrahi girişim veya drenaj endikasyonu olarak belirtilmiştir. Bizim vakamız 12 cm ile cerrahi sınırın tam iki katı büyüklüğe sahipti. Solunum sıkıntısı ve rüptür riski mevcuttu. Standart rejimlerle tedavi edilerek tama yakın düzelme sağlandı. Böylece hem cerrahi bir girişimin komplikasyonlarından korunmuş oldu hem de absenin büyüklüğü ne olursa olsun klasik tedavi rejimlerinin etkinliği gösterilmiş oldu.

Cited: Güngör Ö. An extremely large lung abscess; surgical or medical treatment? *Van Sag Bil Derg* 2022, 15(1) 84-87. <https://doi.org/10.52976/vansag-lik.934676>.

Arrived date: 08/05/2021

Accepted date: 13/10/2021

Published date: 30/04/2022

Anahtar Kelimeler: Akciğer absesi, Apse tedavisi, Anaerobik enfeksiyonlar.

ABSTRACT

Lung abscess; It is a suppurative lung infection accompanied by necrosis of the lung parenchyma as a result of insufficient aspiration or microbial clearance mechanisms. While lung abscess was an important cause of mortality and morbidity in the past, incidence and mortality rates decreased as a result of the increase in anaerobic antibiotic treatments. Despite this, it still has a mortality rate of 15-20 percent. Although anaerobic antibiotics are extremely effective, surgery may be required in some cases. Sizes 6 cm and larger are indicated by most sources as an indication for surgery or drainage. Our case was 12 cm in size, exactly twice the surgical margin. There was respiratory distress and risk of rupture. Almost complete recovery was achieved by treatment with standard regimens. Thus, both the complications of a surgical procedures were protected and the effectiveness of classical treatment regimens was demonstrated regardless of the size of the abscess.

Keywords: Lung abscess, Abscess treatment, Anaerobic infections.

INTRODUCTION

A lung abscess is a localized suppurative lesion of pyogenic microorganisms resulting in tissue necrosis and cavity formation in the lung parenchyma. It is often a complication of aspiration pneumonia. Currently, mortality in primary lung abscess is approximately 15-20%. In particular, anaerobic bacteria are the common cause of pulmonary abscesses. Symptoms are often cough, sputum, fever, and night sweats. In radiography, segmental placement is noteworthy. It usually seems on the right lung because the anatomic structure of the right bronchus and the aspirated material is more likely to escape. An antibiotherapy including anaerobes should be used in the treatment. The main surgical indications

are abscess larger than 6 cm, massive bleeding, empyema, malignancy, and symptoms lasting more than 12 weeks (Bartlett, 2020; Ozlu et. al., 2012; Kuhajda et. al., 2015; Sabbula et. al., 2020).

Case

A 22-year-old woman presented to our department with complaints of cough, phlegm, shortness of breath, fever, night sweats, runny nose, and weakness. Her complaints were ongoing for 2 weeks. A physical examination revealed the following findings: height, 158 cm; body weight, 55 kg; body temperature, 39°C; heart rate, 130 bpm; blood pressure, 110/70 mmHg; and oxygen saturation, 85% in room air. The laboratory findings on admission demonstrated an elevated peripheral blood white blood cell count (WBC) 19.700U/L (4.6-10,200) and CRP level

420mg/dl (0-5). Her symptoms were severity and she had difficulty breathing. The standard chest radiograph (Figure 1) showed a pulmonary abscess which a diameter of 12 cm. The patient was hospitalized and ampicillin-sulbactam 1 gr 4x1 and metronidazole 500 4x1 were started intravenously. Postural drainage was performed. On the 4th day of treatment, the CRP value was decreased to 263mg/dl and WBC was 14.400 U/L. But the symptomatic improvement was not achieved. The patient's saturation was still low and tachypnea continued. Computerized tomography for thorax was performed and pulmonary abscess with a diameter of 12x6 cm was also reported (Figure 1).

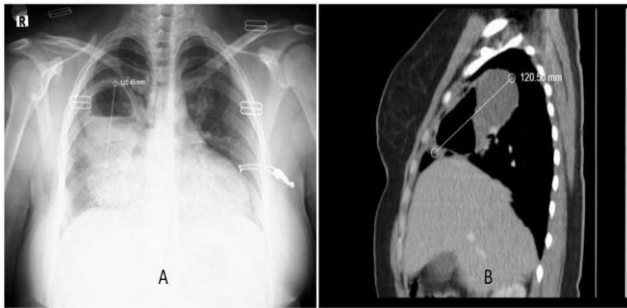


Figure 1. Pulmonary abscess with a diameter of 12x6 cm; A: posterior-anterior chest radiograph, B: computerized tomography

It was twice the surgical margin. It was thought that the abscess might rupture. Because of its large diameter, percutaneous tube drainage was planned as a surgical intervention. A consultation was requested from the department of thoracic surgery. The operation is decided. The patient did not accept the operation. All risks that may occur if surgery is not performed were explained and the necessary consent forms were signed. Therefore it was decided to continue the current medical drug therapies. On the 7th day of treatment, CRP was found to be 50 mg/dl, WBC was 10,000 U/L and the level of pus was regressed (Figure 2).

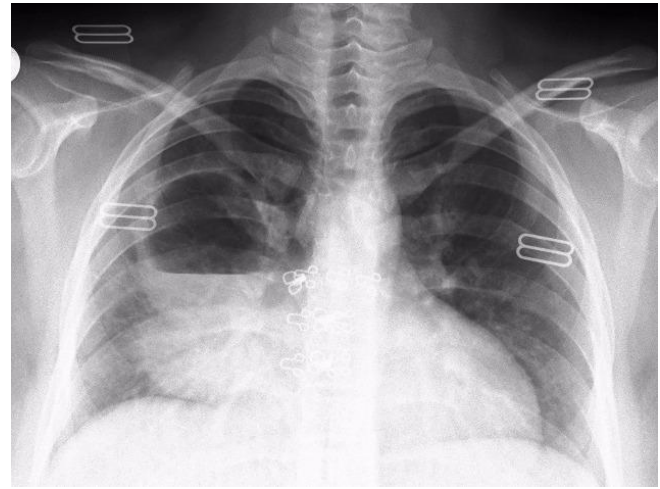


Figure 2. The chest radiograph on the 7th day of treatment

Cough and fatigue were completely corrected the saturation was 94 without oxygen. She was discharged at the end of 10 days of treatment. No interventional procedure was performed and continued treatment with oral amoxicillin (3x1000mg) and metronidazole (4x500mg). Total treatment was completed in 6 weeks and the lesion completely recovered (Figure 3).

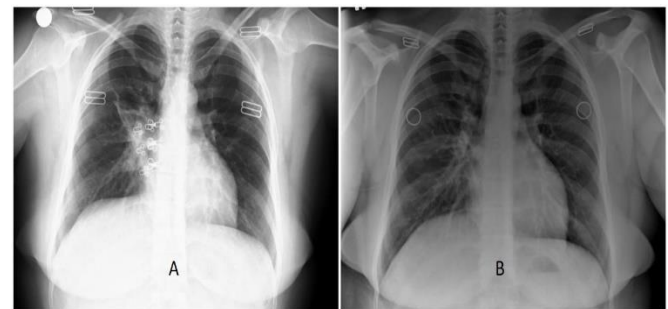


Figure 3. The chest radiograph; A: at the end of the treatment (after 6 weeks), B: after one year

DISCUSSION

Medical treatment with long-term antimicrobials is the main point of treatment of pulmonary abscesses. Penicillin and clindamycin positive results have been reported in studies conducted with antibiotics in the early period and penicillin is generally preferred. Then, penicillin and clindamycin resistance was observed in anaerobes. Almost all anaerobes and most facultative organisms are known to be susceptible to

combinations of beta-lactam, beta-lactamase inhibitors. Today, the general approach is to use beta-lactam, beta-lactamase inhibitors, or second cephalosporins together with clindamycin or metronidazole. The optimal duration of antibiotics is not known, but most cases have been shown to improve after 6 weeks of treatment (Schiza and Siafaks, 2006).

The usual indication of surgery is abscess greater than 6 cm in diameter, massive bleeding, empyema, malignancy, abscesses associated with an obstructed bronchus, failure to respond to medical management if symptoms last more than 12 weeks with appropriate therapy, or abscesses involving relatively resistant organisms (Bartlett, 2020; Ozlu et. al., 2012; Kuhajda et. al., 2015; Sabbula et. al., 2020). The usual surgery procedure is drainage or resection of lung abscess. Drainage can be performed percutaneous or endoscopically with a local approach, or it can be performed open under general anesthesia. Options for local drainage are percutaneous transthoracic tube drainage or endoscopic drainage with bronchoscopy. The usual resection procedure is a lobectomy. If necessary, pneumonectomy is performed (Bartlett; Sabbula et. al.). Percutaneous drainage requires special care to prevent contamination of the pleural space and is an easy-to-do surgical procedure. It can be followed by ultrasound or computerized tomography (Kelogrigoris et. al., 2011; Kuhajda et. al., 2015; Bartlett, 2000). It is indicated in 11-21% of patients in whom antibiotic therapy has failed (Mueller and Berlin, 2002; Kuhajda et. al. 2015). The complication rate of drainage is about 16% and mortality about 4% (Wali, 2012; Kuhajda et. al. 2015). Complications of tube drainage are spillage of the necrotic detritus, infection bronchopleural fistula or bleeding. Endoscopic drainage of lung abscesses with bronchoscopy is an alternative to chest tube drainage. Bronchoscopy can diagnose an underlying disease such as endobronchial stenosis or malignancy. It requires an experienced operator and is performed by inserting a pigtail catheter into the abscess cavity. The catheter is left in place until the cavity is drained.

The most important complication of this is the spillage of abscess contents into the airways (Kuhajda et. al., 2015; Bartlett, 2020).

Open drainage, lobectomy, and pneumonectomy are the other treatment methods for surgical treatment. Air leakage, bronchial fistula, empyema, mediastinitis are the main complications of these. Mortality rate after surgical treatment is about 11-28% (Herth, 2005).

Abscesses larger than 6 cm are unlikely to resolve with antibiotic therapy alone and might require surgical or percutaneous intervention. Today, it is reported in most sources that a lesion of this size requires surgical intervention. Rupture and respiratory failure are important complications. They are secondary to underrecognition, undertreatment, or untreated underlying cause of the lung abscess (Sabbula et. al., 2020).

The patient was young, healthy, with no underlying disease and no immunodeficiency. The abscess had a diameter of 12 cm. The most suitable period for a delay before percutaneous tube drainage initiation remains unknown (Shlomi, 2010). Although there was laboratory improvement, clinical and radiological improvement could not be achieved on the fourth day. Rupture probability was considered. However, a surgical approach was not performed and conventional medical treatment was continued. After 6 weeks, the patient completely recovered.

Conclusion

In most cases, lung abscesses are successfully treated by antibiotic therapy with a cure rate of around 90%. The complication and mortality rates of surgery are significantly higher than medical treatment. Although this case is twice the surgical margin, it responded to medical treatment and was presented to give information to the literature. Thus, it was hoped that more patients would be protected from the complications and mortality of the surgery.

Disclosure Statement

The author has no conflicts of interest.

REFERENCES

- Bartlett J.G. (2020). Lung abscess, <https://www.up-todate.com/contents/lungabscess>. (Accessed on April 02, 2021.)
- Herth F, Ernst A, Becker HD (2005). Endoscopic drainage of lung abscesses: technique and outcome. *Chest*, 127(4),1378-81.
- Kelogrigoris M, Tsagouli P, Stathopoulos K, Tsagari-dou I, Thanos L. (2011). CT-guided percutaneous drainage of lung abscesses: review of 40 cases. *Journal Belge de Radiologie*, 94(4),191-5.
- Kuhajda I, Zarogoulidis K, Tsirgogianni K. (2015). Abscess etiology, diagnostic and treatment options. *Annals of Translational Medicine*, 3(13), 183.
- Mueller PR, Berlin L. (2002). Complications of lung abscess aspiration and drainage. *American Journal of Roentgenology*, 178(5),1083-1086.
- Özlu T, Metintaş M, Karadağ M, Kaya A (2012). *Göğüs Hastalıkları El Kitabı*. Ankara, Rotatıp Kitabevi, 280-282.
- Sabbula BR, Rammohan G, Akella J. (2020). Lung Abscess, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555920/> (Accessed on April 05, 2021.)
- Schiza S, Siafaks NM. (2006). Clinical presentation and management of empyema, lung abscess and pleural effusion. *Current opinion in pulmonary medicine*, 12(3),205-11.
- Shlomi D, Kramer MR, Fuks L, Peled N, Shitrit D. (2010). Endobronchial drainage of lung abscess: the use of laser. *Scandinavian journal of infectious diseases*, 42(1),65-68.
- Wali SO. (2012). An update on the drainage of pyogenic lung abscesses. *Annals of thoracic medicine*, 7(1),3-7.

Derleme/ Review

Virus Benzeri Partiküller ve Aşıların Geliştirilmesinde Önemi

Virus-Like Particles and Its Importance in Vaccine Development

Buket GÜL^{1*}, Ferah ALKAN^{1,2},

¹ Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji A.D., Ankara, TÜRKİYE.

* Sorumlu yazar: Buket GÜL; E-mail: buketguldivm@gmail.com

ÖZET

Aşı, hem insanlarda hem de hayvanlarda patojen mikroorganizmaları kontrol etme ve hastalıkları önlemede etkili yol olarak kullanılan biyolojik maddedir. Hayvanların viral hastalıklarına karşı kullanılan geleneksel aşılarda, inaktive edilmiş veya zayıflatılmış virus aşılardan oluşmaktadır. Ancak son yıllarda mikroorganizmaların alt ünitelerini içeren aşılar yönelik çalışmalar dikkat çekicidir. Bunlardan "Virus Benzeri Parçacık" (Virus Like Particle, VLP) aşıları, aşı kavramına farklı sınırlar açan yaklaşımlardan birini temsil eder. Kapsit yapısından oluşan, virus genomu içermeyen bu yapılar otantik virionun doğal konfigürasyonunu taklit ederek hem humoral hem de hücreye bağlı bağışıklık tepkilerini etkili bir şekilde ortaya çıkarır. VLP'ler taklit ettikleri hedef antijene karşı immün sistemi uyarımlarının yanı sıra farklı antijenler için taşıyıcılık yaparak da aşıların geliştirilmesine katkı sağlarlar. Bu derlemede VLP'lerin genel özellikleri, immün sistemi uyarma mekanizmaları, üretimleri ve VLP içeren aşı geliştirme teknolojisinin potansiyel avantajlarından bahsedilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Aşı, Virus, Virus benzeri partikül (VLP).

ABSTRACT

Vaccine is the biological substance used as the most effective way to control of the pathogenic microorganisms and prevent of the disease in humans and animals. Conventional vaccines used against viral diseases of animals consist of inactivated or attenuated virus vaccines. However, studies on vaccines containing subunits of microorganisms have drawn attention in recent years. Among these, "Virus Like Particle" (VLP) vaccines represent one of the approaches that open different limits to the vaccine concept. These structures, which consist of capsid structure and do not contain the virus genome, mimic the natural configuration of the authentic virion, effectively revealing both humoral and cell-dependent immune responses. In addition to stimulating the immune system against the target antigen they imitate, VLPs also contribute to the development of vaccines by acting as carriers for different antigens. In this review, the general characteristics of VLPs, their immune system stimulation mechanisms, their production and potential advantages of vaccine development technology including VLP are discussed.

Keywords: Virus, Virus-like particle (VLP), Vaccine.

Atıf Yapmak İçin: Gül B, Alkan F. Virus benzeri partiküller ve aşıların geliştirilmesinde önemi. *Van Sag Bil Derg* 2022, 15, (1) 88-94. <https://doi.org/10.52976/van-saglik.908047>.

Geliş Zamanı: 02/04/2021

Kabul Zamanı: 19/01/2022

Basılama Zamanı: 30/04/2022

GİRİŞ

İnsan ve hayvanlarda enfeksiyonlara karşı korunma sağlayan en etkili ve uygun maliyetli yöntem olan aşılar, M.Ö ki yıllarda başlayarak günümüze kadar çeşitli uygulamalardan geçerek, tüm virus kullanımını ya da virus alt ünitelerinin (nükleik asit, protein) kullanımını içeren farklı formülasyonlar şeklinde hazırlanmıştır. Halen bazı aşılar da yer alan "Virus Benzeri Parçacıklar" (Virus like-particle, VLP), yapısal konfigürasyonlarının sahip olduğu immünojenik özelliklerinin yanı sıra oluşturdukları yüksek güvenlik profilleri nedeniyle son yıllarda protein alt ünite aşı çalışmalarının önemli konularındandır (Lee ve ark., 2011). Nitekim Aralık

2019 tarihi itibarıyla Çin'de tanımlanan ve halen tüm dünyayı etkileyen SARS-CoV-2 pandemisi nedeniyle, ülkemiz ve diğer birçok ülkede VLP aşısı geliştirme çalışmaları da hızla devam etmektedir (Xu ve ark., 2020).

1. Virus Benzeri Partiküllerin Yapısal Özellikleri

VLP'ler viral kapsidi oluşturan bir veya birden fazla proteinin mükemmel biçimde dizayn edilmiş bir geometride yerleşimi ile oluşan, doğal virus partikülünü çok iyi taklit eden 25-100 nm'lik boyuta sahip partiküllerdir (Fuenmayor ve ark., 2017). Genellikle ikosahedral veya çubuk benzeri yapıda bulunurlar. Kapsit proteinleri veya zarf içerisinde

yer alan büyük yapıli proteinlerin rekombinant ekspresyon sistemleri kullanılarak ifade edildiğinde kendi kendine bir araya gelebilme özelliği (self- assemble) bulunmaktadır. Bu nedenle virusun yapısında yer alan bir ya da daha fazla sayıda proteinin kopyalarından meydana gelen yapısal birimler (VLP) doğal virus partikülü veya subviral partiküllerden antijenik olarak ayırt edilemezler (Grgacic ve Anderson, 2006; Crisci ve ark., 2012).

2. Virus Benzeri Partiküllerin Üretimi

2.1. Basit yapıli viruslardan virus benzeri partikül üretimi

Viruslarda yer alan virion yapısı, genellikle viral protein alt birimlerinden oluşan kapsid ile çevrelenmiş nükleik asit molekülünden oluşur. Yapısal olarak basit viruslardan VLP'lerin üretilmesi, bu virusların çoğunun zarfsız olup aynı protein alt biriminin çok sayıda kopyasından oluştuğu için büyük zorluklar içermez (Liu ve ark., 2012). Bu yapıya sahip VLP'lerin örnekleri Papillomavirus, Parvovirus, Calicivirus, Circovirus ve Poliomavirusların majör kapsid proteinlerinin ekspresyonu ile oluşturulabilir. Örneğin; insan Papillomavirus (HPV) VLP'leri, VLP koleksiyonunun en çok çalışılanları arasındadır ve etkili aşuların üretiminde kullanım imkanı bulmuştur. Bunlar maya (*Saccharomyces cerevisiae*) ve böcek hücrelerinde bazı papillomavirusların kapsid proteinini L1'in ekspresyonu ile oluşturulurlar (sırasıyla Gardasil®, Merk, NJ, USA ve Cervarix®, GlaxoSmith Kline, London, UK) (Du ve ark., 2021).

2.2. Çok katmanlı kapsit yapıli viruslardan virus benzeri partikül üretimi

Çok katmanlı kapsidlerden oluşan viral partiküllerin üretilmesi için viral kapsid proteinlerinin aynı hücrede birlikte ekspresyonu gerektiğinden, VLP'lerin birleştirilmesi ve salınmasında bir takım teknik zorluklar meydana gelmektedir (Noad ve Roy 2003). Bu virus yapıları, farklı kapsit proteinlerinin eş merkezli katmanlarından oluşan kapsidlere sahiptir. Virusa ve sentezlenen partiküle bağlı olarak sayıları 2 ile 5 arasında olan bu kapsid proteinlerinin böcek hücrelerinde birlikte ekspresyonu ile

VLP'lerin üretimi gerçekleşmektedir (French ve ark., 1990; Stewart ve ark., 2013).

2.3. Lipid zarflı viruslardan virus benzeri partikül üretimi

Konakçıdan türetilen zarflı VLP'ler dış ortamda diğer virus yapılarından türetilen VLP'ler ile kıyaslandığında genellikle dayanıksız olarak kabul edilirler. Sıcaklık, kimyasal işlemlerle muamele, saflaştırma gibi uygulamalarda bu yapının parçacık bütünlüğü ve stabilitesi tahrip edilebilir. Bu durum özellikle de zarflı VLP'lerin immunojenitesinde azalmalara yol açar. Bu durumda farklı ekspresyon sistemlerine göre viral proteinlerin seviyesi önemli ölçüde değişiklikler gösterir (Van Oers, 2011). İnsan embriyonik böbrek 293 (HEK293), Çin hamsteri yumurtalık (CHO) ve yavru hamster böbrek (BHK-21) hücre hatları gibi çeşitli memeli hücre tipleri, zarflı VLP üretimi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Fontana ve ark., 2014; Thompson ve ark., 2015).

3. Virus Benzeri Partiküllerin Üretim Sistemleri

3.1. Bakteri / maya ekspresyon sistemleri

Bakteriler sadece bir veya iki yapısal protein içeren zarfsız VLP'ler oluşturmak için uygun ekspresyon sistemleri olup ilgili proteinin yüksek miktarlarda (kültür sisteminde 0.75 ila 700µg protein /ml arasında) ekspresyonunun sağlanması avantajına da sahiptirler (Tan ve ark., 2004). Bununla birlikte immunojenite için esas gerekli olan translasyon sonrası modifikasyonlara (PTM'lere) olanak sağlamıyor olmaları önemli bir dezavantaj oluştururken maya ekspresyon sistemlerinin bu modifikasyonlara olanak sağlaması VLP yapılarının üretiminde sıklıkla kullanımını mümkün hale getirmiştir. Bakteri ve maya ekspresyon sistemlerinin kullanıldığı çalışmaların (Aires ve ark., 2006; Saraswat ve ark., 2016) yanı sıra ticari olarak kullanıma sunulan aşular da (Gardasil®, Merk, NJ, USA gibi) bulunmaktadır.

3.2. Bakulovirus/ böcek hücresi ekspresyon sistemi (B/IC)

B/IC sistemleri bakteri ve maya sistemleri ile kıyaslanabilir ölçekte protein miktarları (0,0018 ila 10 µg/ml arasında) üretebilirler. Ayrıca kompleks PTM'leri gerçekleştirmekte diğerlerine kıyasla daha yüksek verim sağlarlar (Fuenmayor ve ark., 2017). Bakuloviruslar sınırlı bir konak aralığına (yani böcekler için) sahip olmaları ve dolayısıyla omurgalılar için güvenli olmaları gibi bir avantaja da sahiptirler (Crisci ve ark., 2012). B/IC ekspresyonunda, rekombinant protein üretimi amacıyla Sf9 (*Spodoptera frugiperda*) ve *Trichoplusia ni* (High Five™) böcek hücre hatları sıklıkla kullanılmaktadır. Chikungunya, HIV ve Domuz Parvovirusu temsil eden birçok VLP yapısı B/IC sistemi kullanılarak oluşturulmuştur (Thompson ve ark., 2015).

3.3. Memeli hücreleri ekspresyon sistemi

Memeli hücre sistemleri istenilen proteinlerin diğer sistemlere kıyasla daha az (verim 0,2 ila 18 µg/ml arasında) üretilmediği sistemler olmalarına karşın çok daha kompleks protein yapılarının (karmaşık zarflı VLP'ler) üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu sistemler uygun modifikasyonlar ve özgün montaj için tercih edilebilir olmakla birlikte üretimleri daha maliyetlidir (Grgacic ve Anderson, 2006). Memeli hücre hattı olan HEK293 kullanılarak kuduz, HIV, influenza gibi hastalık etkenleri için üretilen VLP'lerin, immun sistemi yeterli ölçüde indükleyebildiği de bildirilmiştir (Fontana ve ark., 2014; Thompson ve ark., 2015; Fuenmayor ve ark., 2018).

3.4. Bitki ekspresyon sistemleri

Transgenik bitkiler de VLP üretimi için kullanılmaktadır. Gram negatif bir bakteri olan *Agrobacterium tumefaciens* genel olarak hücrelerin enfeksiyonu ve transformasyonu için kullanılmaktadır. Bu bakteriler bitki hücrelerini enfekte edebildikleri gibi istenilen konakçı genomuna istenilen spesifik proteini

kodlayan geni de sokabilmektedirler. Rekombinant proteinlerin üretimi için en sık kullanılan bitkiler *Nicotiana tabacum* ve *Arabidopsis thaliana*'dır. Oral aşı girişimleri için ayrıca tütün ve marul yaprakları, patates de dahil olmak üzere çeşitli bitkilerden Hepatitis B virus ve Norwalkvirusu VLP'leri üretilmiştir (Grgacic ve Anderson, 2006; Chen ve Lai, 2013).

4. Virus Benzeri Partiküllerin Aşılarında Kullanımı

4.1. Aşı immunojenleri olarak kullanımları

Canlılar arasındaki biyolojik farklılıklar göz önüne alınarak, istenilen bağışıklık tepkilerinin elde edebilmesi için VLP'ler, partikül boyutu ve zarf yapısında olduğu gibi, konaktaki hedef dokuda (dendritik hücreler, mukozal yüzeyler gibi) ve uygulama yollarında farklılıklar meydana getirecek şekilde tasarlanabilir (Crisci ve ark., 2012). İnsan ve hayvanlarda görülen hastalıklardan korunmak için VLP'lerin immunojen olarak kullanılmasının amaçlandığı bazı aşı çalışmalarına ilgili bilgiler Tablo 1'de sunulmuştur.

4.2. Yabancı antijenlerin gösteriminde platform olarak kullanımları

VLP'ler türetildikleri homolog virus için aşı olarak kullanılmalarının yanı sıra başka hedef antijenlere karşı bağışıklık tepkilerini de artırabilirler. Bu durumda VLP kapsidleri hem başka virus, bakteri veya parazitin epitoplari için bir sunum iskelesi hem de bağışıklık tepkisini arttırmak için bir adjuvan görevi görürler. Çeşitli yöntemlerle oluşturulan bu Kimerik VLP'ler, heterolog antijen yapılarının, partikül formunda kendiliğinden birleşemeyen antijenlerin veya optimum immunojeniteye sahip olmayan antijenik yapıların (HIV ve HCV gibi) VLP partiküllerine dahil edilmeleriyle, tamamen farklı bir virus veya patojen poliproteinlerinin veya epitoplari'nin (Örn. Sıtma veya İnsan Rinovirus epitoplari veya İnfluenza M2) sunumu için bir VLP platformu oluşturarak kullanılabilirler (Plummer ve Manchester, 2011).

Tablo 1. İnsan ve hayvanlarda yapılan bazı VLP aşı çalışmaları

Virus	Antijen	İfade sistemi	Referans
Human Papillomavirus-11 (HPV 11)	L1 proteini	Bitki	Warzecha ve ark., 2003
İnsan immun yetmezlik virus (HIV-1)	HIV gag proteinleri (GagTN ve GagRT)	Bakulovirus	Pillay ve ark., 2009
Ebola virus	VP40 proteini	Memeli hücresi	Johnson ve ark., 2006
Newcastle disease virus (NDV)	HN, F, NP ve MP proteinleri	Memeli hücresi	McGinnes ve ark., 2010
Şiddetli akut solunum sendromunu (SARS)	S, E, M protein	Bakulovirus	Mortola ve Roy, 2004
Influenza A	M1 protein	Bakulovirus	Krammer ve ark., 2010
Domuz veziküler hastalığı virusu (SVDV)	3CD proteini	Bakulovirus	Ko ve ark., 2005
Zika virus	Zika E protein	Memeli hücresi	Boigard ve ark., 2017
Kırım Kongo kanamalı ateşi virus (CCHFV)	CCHFV nükleoprotein ve glikoprotein	Memeli hücresi	Hinkula ve ark., 2017
Domuz parvovirus	VP2 protein	Bakteri	Ji ve ark., 2017
Nervus nekrosis virus	RGNNV kapsid proteini	Maya hücresi	Wi ve ark., 2015
SARS-CoV-2 (COVID-19)	S proteini	Bitki	Iqbal ve ark., 2020
Peste des petits ruminants virus (PPR)	M, F, H proteinleri	Bakulovirus	Yan ve ark., 2020
Feline calicivirus (FCV)	VP2 proteini	Bakulovirus	DiMartino ve Marsilio, 2010
Rotavirus (RV)	VP2, VP6 protein	Memeli hücresi / Bakulovirus	Changotra ve ark., 2017
Bulaşıcı bursal hastalık virus (IBDV)	VP2, VP3 protein	Bakulovirus	Hu ve Bentley, 2001
Şap virus (FMDV)	P1, 2A, 3C proteinleri	Bakulovirus	Cao ve ark., 2009

4.3. Adjuvantların taşınmasında Platform Olarak Kullanımları

Modern aşı stratejilerinin önemli bir özelliği, APC'lerin (özellikle dendritik hücrelerin) etkili bir şekilde aktivasyonu için güçlü adjuvanların eklenmesidir. Bu nedenle, VLP'lerin iç yüzeylerinden, Toll benzeri reseptör (TLR) ligandları sırasıyla TLR3, TLR7 / 8 ve TLR9'un etkin uyarılması ile sonuçlanan, dsRNA, ssRNA ve metile edilmemiş CpG'ler dahil olmak üzere farklı DC aktive edici adjuvanları paketlenmek için faydalanılmıştır (Mohsen ve ark., 2017).

Bu güçlü yanıtların altında yatan sebep, TLR9 ligandların B hücrelerini doğrudan etkileyen bir adjuvan aktivitesine sahip olmasıdır (Krieg, 2006).

Sonuç

Virus benzeri partiküller aşı geliştirme çalışmalarında güçlü bir alanı temsil ederler. Ancak VLP aşılarının geliştirilmesinde stratejik sınırlamalar, teknik zorluklar, maliyet gibi birtakım zorluklar bulunmaktadır. Son dönemlerde bu alanda yapılan çalışmaların gelişmesiyle birlikte bu sınırlamalara yönelik ilerlemeler kaydedilmiş olup bu yönde

çalışmalar hız kazanmıştır. Bahsedilen tüm bu sınırlamalara karşın, yakın gelecekteki süreçte, optimizasyon araçlarının (yani moleküler biyoloji, genetik mühendisliği ve sistem biyolojisi) entegrasyonunun VLP'ler üzerindeki mevcut sınırlamaların bazılarının üstesinden gelmesi beklenmektedir. Ayrıca VLP aşlarının birincil veya ikincil farmakolojik etkisinden kaynaklanan toksik etkilerin tespit edilme olasılığını en üst düzeye çıkarmak için tasarlanacak toksisite vb. çalışmalarının yapılmasının VLP'lerin üretimi ve VLP bazlı aşı çalışmalarının başarısına önemli katkı sağlanacağı öngörülmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Aires KA, Ciancia Rullo AM, Carneiro SM, Villa LL, Boccardo E, Pérez-Martinez G et al. (2006). Production of human papillomavirus type 16 L1 virus-like particles by recombinant *Lactobacillus casei* cells. *Applied and Environmental*, 72(1), 745-752.
- Boigard H, Alimova A, Martin GR, Katz A, Gottlieb P, Galarza JM. (2017). Zika virus-like particle (VLP) based vaccine. *PLoS neglected Tropical Diseases*, 11(5), e0005608.
- Cao Y, Lu Z, Sun J, Bai X, Sun P, Bao H et al. (2009). Synthesis of empty capsid-like particles of Asia I foot-and-mouth disease virus in insect-cells and their immunogenicity in guineapigs. *Veterinary Microbiology*, 137(1-2), 10-17.
- Changotra H, Vij A. (2017). Rotavirus virus-like particles (RV-VLPs) vaccines: An update. *Reviews in Medical Virology*, 27(6), e1954.
- Chen Q, Lai H. Plant-derived virus-like particles as vaccines. *Human Vaccines Immuno therapeutics*, 9(1), 26-49.
- DiMartino B, Marsilio F. (2010). Feline calici virus VP2 is involved in the self-assembly of the capsid protein into virus-like particles. *Research in veterinary science* 2010;89(2), 279-81.
- Du J, Ährlund Richter A, Näsman A, Dalianis T. Human papilloma virus (HPV) prevalence upon HPV vaccination in Swedish youth: a review based on our findings 2008–2018, and perspectives on cancer prevention. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 303,329–35.
- Fontana D, Kratje R, Echeverria M, Prieto C. Rabies virus-like particles expressed in HEK293 cells. *Vaccine*, 32, 2799-3004
- French TJ, Marshall JJ, Roy P. (1990). Assembly of double-shelled, virus like particles of bluetongue virus by the simultaneous expression of four structural proteins. *Journal of Virology*, 64(12), 5695-5700.
- Fuenmayor J, Cervera L, Gutiérrez-Granados S, Gòdia F. (2018). Transient gene expression-optimization and expression vector comparison to improve HIV-1 VLP production in HEK293 cell lines. *Applied microbiology and Biotechnology*, 102(1), 165-174.
- Fuenmayor J, Gòdia F, Cervera L. (2017). Production of virus-like particles for vaccines. *New Biotechnology*, 39,174-80.
- Grgacic EV, Anderson DA. (2006). Virus-like particles: passport to immune recognition. *Methods* 40(1), 60-65.
- Hinkula J, Devignot S, Åkerstrom S, Karlberg H, Watrang E, Bereczky S et al. (2017). Immunization with DNA plasmid coding for Crimean-Congo hemorrhagic fever virus capsid and envelope proteins and/or virus-like particle induces protection and survival in challenged mice. *Journal of Virology* 91(10), e02076-16..
- Hu YC, Bentley WE. (2001). Effect of MOI ratio on the composition and yield of chimeric infectious disease virus-like particles by baculovirus infection: Deterministic predictions and experimental results. *Biotechnology Bioengineering*, 75,104-119.
- Iqbal Yattoo M, Hamid Z, Parray O, Wani A, UIHaq A, Saxena A. (2020). COVID-19 Recent advancements in identifying novel vaccine candidates and current status of upcoming SARS-CoV-2

- vaccines. *Human Vaccines Immunotherapeutics*, 1-14.
- Ji, P, Liu Y, Chen Y, Wang A, Jiang D, Zhao B, Zhang G. (2017). Porcine parvovirus capsid protein expressed in *Escherichia coli* self-assembled into virus-like particles with high immunogenicity in mice and guinea pigs. *Antiviral Research*, 139, 146-152.
- Johnson RF, Bell P, Harty RN. (2006). Effect of Ebola virus proteins GP, NP and VP35 on VP40 VLP morphology. *Virology Journal*, 3(1), 1-7.
- Ko Y, Kang S, Nah J, Paton D, Oem J, Wilsden G et al. (2005). Noninfectious virus-like particle antigen for detection of swine vesicular disease virus antibodies in pigs by enzyme-linked immunosorbent assay. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 12(8), 922-929.
- Krammer F, Schinko T, Palmberger D, Tauer C, Messner P, Grabher R. (2010). Trichoplusiani cells (High Five TM) are highly efficient for the production of influenza A virus-like particles: a comparison of two insect cell lines as production platforms for influenza vaccines. *Molecular Biotechnology*, 45, 226-234.
- Krieg AM. (2006). Therapeutic potential of Toll-like receptor 9 activation. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(6), 471-484.
- Lee DH, Park JK, Lee YN, Song JM, Kang SM, Lee JB et al. (2011). H9N2 avian influenza virus-like particle vaccine provides protective a strategy for the differentiation of infected from vaccinated animals. *Vaccine*, 29(23), 4003-4007.
- Liu F, Ge S, Li L, Wu X, Liu Z, Wang Z. (2012). Virus-like particles: potential veterinary vaccine immunogens. *Research in Veterinary Science*, 93(2), 553-559.
- McGinnes W, Pantua H, Laliberte JP, Gravel KA, Jain S, Morrison TG. (2010). Assembly and biological and immunological properties of Newcastle disease virus-like particles. *Journal of Virology*, 84(9), 4513-4523.
- Mohsen MO, Zha L, Cabral-Miranda G, Bachmann MF. (2017). Major findings and recent advances in virus-like particle (VLP)-based vaccines. *Seminars in Immunology*, 34, 123-132.
- Mortola E, Roy P. (2004). Efficient assembly and release of SARS coronavirus-like particles by a heterologous expression system. *FEBS Letters*, 576, 174-178.
- Noad R, Roy P (2003). Virus-like particles as immunogens. *Trends in Microbiology*, 11(9), 438-444.
- Pillay S, Meyers A, Williamson A, Rybicki E. (2009). Optimization of chimeric HIV-1 virus-like particle production in a baculovirus- insect cell expression system. *Biotechnology Progress*, 25(4), 1153-1160.
- Plummer EM, Manchester M. (2011). Viral nano particles and virus-like particles: platforms for contemporary vaccine design. *Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 3(2), 174-196.
- Saraswat S, Athmaram TN, Parida M, Agarwal A, Saha A, Dash PK. (2016). Expression and characterization of yeast derived chikungunya virus like particles (CHIK-VLPs) and its evaluation as a potential vaccine candidate. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(7), e0004782.
- Stewart M, Dubois E, Sailleau C, Bréard E, Viarouge C, Desprat A et al. (2013). Bluetongue virus serotype 8 virus-like particles protect sheep against virulent virus infection as a single or multi-serotype cocktail immunogen. *Vaccine*, 31(3), 553-558.
- Tan M, Zhong W, Song D, Thornton S, Jiang X. (2004). *E. coli*-expressed recombinant norovirus capsid proteins maintain authentic antigenicity and receptor binding capability. *Journal of Medical Virology*, 74(4), 641-649.
- Thompson CM, Petiot E, Mullick A, Aucoin MG, Henry O, Kamen AA. (2015). Critical assessment of influenza VLP production in Sf9 and HEK293 expression systems. *BMC Biotechnology*, 15(1), 1-12.
- Van Oers MM. (2011). Opportunities and challenges for the baculovirus expression system. *Journal of Invertebrate Pathology*, 107, 3-15.
- Warzecha H, Mason H, Lane C, Tryggvesson A, Rybicki E, Williamson A, Clements JD, Rose R.

- (2003). Oral immunogenicity of human papilloma virus-like particles expressed in potato. *Journal of Virology*, 77(16), 8702-8711.
- Wi GR, Hwang JY, Kwon MG, Kim HJ, Kang HA, Kim HJ. (2015). Protective immunity against nervous necrosis virus in convict grouper *Epinephelus septemfasciatus* following vaccination with virus-like particles produced in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Veterinary Microbiology*, 177(1-2), 214-218.
- Xu R, Shi M, Li J, Song P, Li N. (2020) Construction of SARS-CoV-2 virus-like particles by mammalian expression system. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, doi:10.3389/fbioe.2020.00862
- Yan F, Li E, Li L, Schiffman Z, Huang P, Zhang S. (2020). Virus-Like Particles Derived from a Virulent Strain of Pest des Petits Ruminants Virus Elicit a More Vigorous Immune Response in Mice and Small Ruminants Than Those From a Vaccine Strain. *Frontiers in Microbiology*, doi:10.3389/fmicb.2020.00609.

Derleme/ Review

miRNA'lar: Biyogenezi, Analiz Yöntemleri ve Biyobelirteç Potansiyeli

miRNAs: Biogenesis, Analysis Methods and Biomarker Potential

İrem Gülfem ALBAYRAK¹*

¹ Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, TÜRKİYE.

* Sorumlu yazar: İrem Gülfem ALBAYRAK; E-mail: iremgulfem.albayrak@uskudar.edu.tr

ÖZET

miRNA'lar transkripsiyon sonrası gen anlatımının düzenlenmesinde görev alan, yaklaşık 22 nükleotit uzunluğundaki kodlama yapmayan küçük RNA molekülleridir. Hedef mRNA'ya bağlanan miRNA'lar, transkripsiyonun baskılanmasına veya mRNA'nın degradasyonuna neden olurlar. Hücre çoğalması, farklılaşması ve sağ kalımında rol oynayan miRNA'ların çeşitli hastalıklar ile ilişkili mekanizmalarda da görev aldıkları bilinmektedir. Hastalıklarla ilgili miRNA'ların belirlenmesinin çeşitli hastalıkların moleküler mekanizmasını anlama ve tedavi etmede daha güvenilir moleküler hedefler olabileceği düşünülmektedir. Bu derlemede, miRNA'ların biyogenezi, izolasyon yöntemleri ve hedef mRNA'ların belirlenmesi için kullanılan tekniklerle, miRNA'ların çeşitli hastalıklardaki rollerine değinilmiştir.

Anahtar Kelimeler: miRNA, Gen Anlatımı, Biyobelirteç.

ABSTRACT

miRNAs are small non-coding RNA molecules, approximately 22 nucleotides in length, that are involved in the regulation of post-translational gene expression. miRNAs bind to target mRNA, causing translation suppression or degradation of mRNA. It is known that miRNAs, which play a role in cell proliferation, differentiation and survival, are also involved in mechanisms associated with various diseases. It is thought that the identification of disease-associated miRNAs may provide more reliable molecular targets for understanding and treating the molecular mechanism of various diseases. In this review study, biogenesis of miRNAs, isolation methods, techniques used to identify target mRNAs and the role of miRNAs in various diseases are mentioned.

Keywords: miRNA, Gene Expression, Biomarker.

GİRİŞ

miRNA'lar; yaklaşık 22 nükleotit uzunluğunda, kodlama yapmayan küçük RNA molekülleri olup, gen ifadesinin transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel düzenlenmesinde görev alırlar (Chen ve ark., 2014). miRNA'lar hedef mesajcı RNA'lara (mRNA) bağlanarak mRNA transkripsiyonunu baskılar veya mRNA'ları degrade eder. Bu mekanizma ile hücre farklılaşması, çoğalması ve sağ kalımında rol oynamaktadırlar (Bartel, 2004).

miRNA'lar ilk kez 1993 yılında *Caenorhabditis elegans*'ta keşfedilmiştir (Lee, 1993). Bundan yaklaşık 7 yıl sonra ilk memeli miRNA'sı (let-7) bulunmuştur (Reinhart, 2000). Bu iki önemli araştırma, birçok miRNA'nın ve diğer kodlanmayan RNA'ların transkripsiyonunu ortaya çıkaran bir dizi genomik araştırmaya öncülük etmiştir (Lee, 1993; Pasquinelli,

2000; Reinhart, 2000; Bartel, 2004; Esteller, 2011). İnsan genomunda ise yaklaşık 2000 miRNA geni yer almaktadır (Chen ve ark., 2014).

miRNA'lar gelişimsel zamanlama, embriyogenez, hücre farklılaşması, organogenez, metabolizma ve apoptozis gibi biyolojik süreçlerle birlikte, kanser dahil birçok hastalıkta önemli rol oynamaktadır (Pfeffer ve ark., 2004). Düzensiz miRNA ekspresyonunun birçok hastalık patogenezinde yer aldığı bildirilmektedir (O'Connell ve ark., 2010). miRNA'ların anlatım bozuklukları veya eksiklikleri çeşitli patofizyolojik bozukluklarla ilişkilidir (Chen ve ark., 2004; Zhao ve ark., 2006). miRNA'ların, hücre proliferasyonu, farklılaşma, apoptoz ve tümör oluşumu gibi çeşitli biyolojik süreçlerle ilişkili olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır

(Ambros, 2004). miRNA'ların işlevlerinin belirlenmesi çeşitli hastalıkların, hücrel ve gelişimsel biyolojinin moleküler süreçlerinin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır (Coussens, 2002; Bartel, 2004; Roush ve Slack, 2008; Esteller, 2011; Iorio, 2012; Tili, 2013; Gurha, 2016; Rupaimoole, 2016). Bu açıdan bakıldığında, miRNA aracılı gen anlatımı düzenlenmesi önemli bir mekanizma olarak kabul edilmektedir (Filipowicz ve ark., 2008).

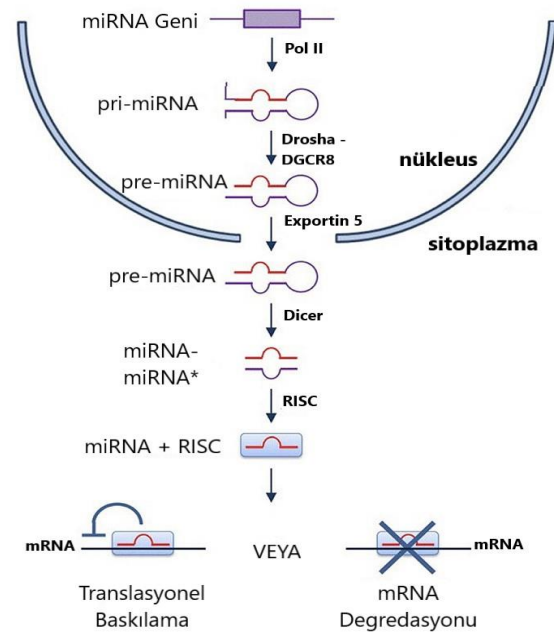
miRNA Biyogenezi

miRNA biyogenezi (Şekil 1.), iki aşamada gerçekleşen karmaşık bir süreç olup, çekirdekte RNA polimeraz II tarafından gerçekleştirilen transkripsiyon ile başlamaktadır. İlk aşamada pri-miRNA adı verilen, saç tokası yapısında ve olgun miRNA dizisini içeren uzun bir RNA oluşmaktadır (Winter ve ark., 2009). Saç tokası yapısı, Drosha (RNAaz III enzimi) ve kofaktörü DiGeorge kritik sendrom bölgesi 8 (DGCR8)'den (Pasha) oluşan mikroprosesör tarafından kesilir. Bu kesimin ardından, öncü miRNA (pre-miRNA) adı verilen 60-70 nükleotid uzunluğunda RNA molekülü oluşturulur. Oluşan bu pre-miRNA nükleustan sitoplazmaya Exportin-5 (XPO5) aracılığı ile taşınır (Yi ve ark., 2003). İkinci aşamada sitoplazmada bulunan pre-miRNA ribonükleaz enzimi olan Dicer tarafından 21-24 nükleotid uzunluğunda dubleks miRNA'ya kesilir. miRNA'nın olgun dizisini oluşturmak üzere kesilecek olan iplik, miRNA indüklenmiş susturma kompleksini oluşturan (RNA- induces silencing complex; RISC) argonat proteinine yüklenir (Filipowicz ve ark., 2008; O'Connell ve ark., 2010).

miRNA-mRNA bağlantısı, miRNA'ların sahip olduğu 6-8 nükleotit uzunluğundaki tohum dizisi aracılığı ile gerçekleşir ve miRNA'nın hedeflediği mRNA'nın 3' kodlanmayan bölgesine (UTR) bağlanması ile transkripsiyon sonrası düzenleme gerçekleştirilir. Bu spesifik baz eşleşmesinin ardından, miRNA RISC'i indükler ve mRNA'nın yıkımına ya da translasyonun baskılanmasına neden olur (Lewis ve ark., 2005; Filipowicz ve ark., 2008).

miRNA İzolasyonu

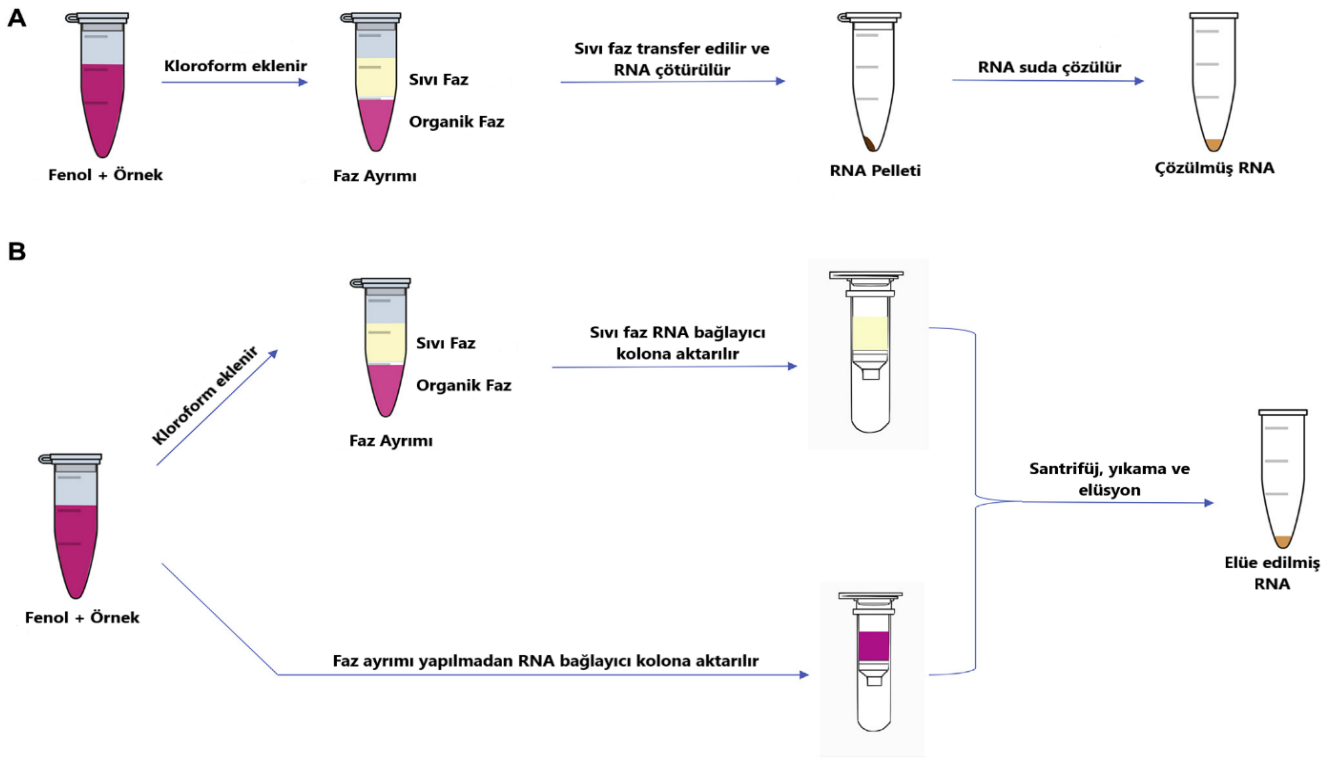
miRNA'lar hücre, doku; serum, plazma ve gözyaşı gibi vücut sıvılarından izole edilebilmektedir (Weber ve ark., 2010). miRNA'lar ile yapılan ilk çalışmalarda sıklıkla TRIzol (Thermo Fisher Scientific) ile fenol-kloroform ekstraksiyonu yöntemi kullanılmıştır. Ancak bu yöntemde kontaminasyon ihtimali yüksektir. Ek olarak, düşük guanin-sitozin içeriğine sahip miRNA'ların, az miktarda hücreden fenol-kloroform ekstraksiyonu sırasında seçici olarak kaybolduğu ve bunun, uzun nükleik asitlerle karşılaştırıldığında küçük nükleik asitlerin çöktürülmesinin verimsizliğinden kaynaklandığı gösterilmiştir. miRNA izolasyonunda kolon temelli yöntemler kullanılması ile bu sorunlar engellenebilmektedir (Kim ve ark., 2012).



Şekil 1. miRNA Biyogenezi (Jafri ve ark., 2019)

İlk kolon temelli yöntem, fenol-kloroform ekstraksiyonundan sulu fazın bir RNA adsorpsiyon kolonuna yüklenmesini, ardından miRNA'nın yıkanmasını ve elüsyonunu içermektedir (Şekil 2.A). mirVana (Thermo Fisher Scientific) ve miRNEasy (Qiagen) kitleri bu yöntem için yaygın olarak kullanılan 2 kittir. Direct-zol kitleri (Zymo Research) gibi kitler, faz ayırma adımını atlamaktadır. miRNA içeren fenol reaktifi doğrudan bir RNA adsorpsiyon kolonuna yüklenebilir; ardından yıkama ve miRNA

elüsyonu yapılabilir (Şekil 2.B) (Lu ve Rothenberg, 2018).



Şekil 2. miRNA ekstraksiyon yöntemleri. A. Fenol-kloroform temelli faz ayırımının ardından RNA pelletinin eldesi ve RNA'nın nükleazsız suda çözülmesi. B. Fenol-kloroform uygulamasının ardından elde edilen sıvı faz RNA bağlayıcı bir kolona aktarılabilir. Yıkama aşamalarından sonra RNA nükleazsız su ile elüe edilir. Alternatif olarak, bazı miRNA ekstraksiyon kitleri faz ayırımı aşamasını atlamaktadır. Fenol ile homojenize edilmiş örnekler direkt olarak RNA bağlayıcı kolona yüklenerek ardından yıkama ve RNA elüsyonu aşamaları gerçekleştirilir. Üretici tarafından fenol bazlı reaktif yerine özel bir lizis tamponu da sağlanabilmektedir (Lu ve Rothenberg, 2018)

Kolon temelli yöntemlerde, RNA verimini ve kalitesini önemli ölçüde azaltacağından, kolonları fazla doldurmamaya dikkat edilmesi gerekmektedir. miRNA izolasyonu için tasarlanmış çoğu ticari kit, öncelikle miRNA'ları da içeren total RNA izolasyonu için bir protokole ve ardından elde edilen bu total RNA'dan küçük boyuttaki RNA'ların ayrılması için alternatif bir protokole sahiptir (Lu ve Rothenberg, 2018).

miRNA'ların vücut sıvılarından elde edilmesinde de bazı sorunlar yaşanmaktadır. Vücut sıvılarından elde edilen miRNA verimi hücre veya doku örneklerine göre çok daha düşüktür. Genellikle piyasada bulunan bazı kitlerin örnek başlangıç

hacmi sınırını aşacak kadar büyük miktarlarda vücut sıvısı örneğine ihtiyaç duyulmaktadır (Moldovan ve ark., 2014).

miRNA Anlatım Analizi ve Hedef Genlerin Belirlenmesi

miRNA anlatımı hem doku örneklerinden hem de serum ya da plazma gibi hücre içermeyen biyolojik sıvılardan tespit edilebilir. miRNA'ların tespiti için kantitatif PCR (qPCR), in situ hibridizasyon, mikroçip ve RNA dizileme metotları kullanılmaktadır (Lu ve Rothenberg, 2018).

miRNA'lar sadece 21-23 baz çifti uzunluğunda olduklarından; yaklaşık 20 baz çifti uzunluğunda

primerler gerektiren geleneksel PCR ile çoğaltılabilmeleri için primer tasarlanması teknik olarak oldukça zordur. Bu sebeple ters transkriptaz sırasında miRNA'ların boyunun uzatılması gerekmektedir. Bu işlem miRNA'ya özgü stem-loop primerler kullanılarak yapılabileceği gibi; miRNA'ya 3' poli-A kuyruğu eklenmesinin ardından ters transkripsiyon sırasında evrensel bir dizi ile etiketlenmiş poly-T primeri kullanılarak da yapılabilir. Daha sonra, her bir miRNA'ya özgü forward primer- prob ve evrensel diziyeye ait bir reverse primer kullanılarak qPCR uygulaması gerçekleştirilir (Eldh ve ark., 2012; Moldovan ve ark., 2014).

miRNA'lar 5' ucundaki 2-7 nükleotitlik tohum dizisi ile mRNA'nın 3' kodlanmayan bölgesini (UTR) hedefleyerek transkripsiyon sonrası gen anlatımının baskılanmasına aracılık etmektedirler (Vishnoi ve Rani, 2017). In silico tabanlı hedef tahmin yöntemleri miRNA'nın tohum dizisine tamamlayıcılık, evrimsel olarak korunma gibi çeşitli faktörleri kullanmaktadır. Targetscan.org (Lewis ve ark., 2005; Friedman ve ark., 2009; Shin ve ark., 2010; Agarwal ve ark., 2015) ve microRNA.org (Enright ve ark., 2003; John ve ark., 2004; Betel ve ark., 2008; Betel ve ark., 2010) gibi web tabanlı algoritmalar kullanılarak çok sayıda hedef tahmini oluşturulabilmektedir ancak bu algoritmalarla oluşturulan hedeflerin yanlış olma ihtimali de bulunmaktadır (Witkos ve ark., 2011). Yakın zamanda güncellenen miRTarBase (Chou ark., 2016) ve starBase (Li ve ark., 2014), miRNA'lar ile kodlama yapmayan uzun RNA'lar arasındaki bağlantılara ait verileri de içeren kapsamlı analizler yapmaya imkan vermektedir (Imig ve ark., 2015; Rupaimoole ve Slack, 2017). Bu veritabanlarını TargetScan gibi tahmin araçlarıyla birleştirmek, araştırmacıların miRNA'ların mRNA hedeflerini daha doğru bir şekilde tahmin etmelerine yardımcı olacak ve hastalıkla ilgili miRNA'ların ve mRNA'ların daha verimli bir şekilde tanımlanmasını sağlayacaktır (Rupaimoole ve Slack, 2017). Tablo 1.'de miRNA analizi için kullanılan biyoinformatik araçlardan bazıları gösterilmiştir.

In silico olarak tahmin edilmiş hedef genlerin doğrulukları, genlere ait 3' UTR bölgelerinin bir raportör vektörün 3' UTR bölgesine klonlanması ve ardından miRNA'nın hedeflenip raportör genin aktivitesinin ölçülmesi ile gösterilebilir. Başka bir yöntem olarak, bir miRNA antagonisti ile hücreye geçici olarak transfekte edilip hem doğrudan hem de dolaylı hedefleri belirlemek için tüm transkriptom analizi gerçekleştirilebilir (Di Martino ve ark., 2016; Hodzic ve ark., 2017).

miRNA'ların Biyobelirteç Olarak Kullanılma Potansiyeli

miRNA'ların keşfi ile birlikte çeşitli hastalıklardaki rolleri de araştırılmaya başlanmıştır. miRNA'ların anlatımındaki düzensizlikler hastalıkların seyrinde önemli rol oynadığından miRNA anlatım profillerinin belirlenmesi hastalıkların teşhisi için önemlidir (Vishnoi ve Rani, 2017).

miRNA'ların retinal gelişimde ve retinanın normal işleyişe sahip olmasında önemli rolleri olduğu gösterilmiştir ve yapılan çalışmalar nöral retinada farklı seviyelerde anlatım yapan miRNA'ların varlığını doğrulamıştır (Andreeva ve Cooper, 2014). miR-183/96/182 kümesinin retina nöronlarında koruyucu görevi vardır. Bu miRNA kümesinin etkisiz hale getirildiği transgenik farelerde fotoseptörlerdeki sinaptik defektlere bağlı olarak ışığa karşı aşırı duyarlılık gözlenmiştir (Lumayag ve ark., 2013).

Merkezi sinir sistemi hastalıklarının nedeni de miRNA'ların değişen anlatım profillerine bağlanabilmektedir. Mezenkimal kök hücrelerin inme sonrası nörolojik iyileşmeye katkıda bulunduğu bilinmektedir. Serebral iskemiden sonra astrositlere ve nöronlara miR-133b'nin taşınmasında görev alan eksozomların keşfinden sonra, miR-133b'nin felçten sonra nörit büyümesini uyararak iyileşmeye katkı sağladığı teorisi ortaya atılmıştır (Xin ve ark., 2012).

miRNA'lar kardiyak dokunun gelişiminde önemli rol oynamaktadır (Romaine ve ark., 2015). Çeşitli miRNA'lar ve özellikle miR-143, miyokardiyal hücre morfolojisini düzenlemektedir ve kalpteki

odacıkların işleyişi ve oluşumu için gereklidir. Vas-küler düz kas hücrelerinin farklılaşması da miR-143 ve miR-145 aracılığı ile düzenlenmektedir (Zhao ve ark., 2015). Son yıllarda miRNA anlatım profillerindeki düzensizliklerin çeşitli kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili olduğu bildirilmiştir. miR 143/145 anlatımındaki azalmanın akut ve kronik vasküler strese neden olduğu rapor edilmiştir (Zhao ve ark., 2015).

miRNAlar meme kanseri için biyobelirteç olma potansiyeline sahiptir. Yapılan bir çalışmada 3 miRNA'nın anlatımının (miR-29a, miR-181a, ve miR-652), mamografi ile kombinasyon halinde doğru alt tipe özgü meme tümörünün teşhisini kolaylaştırma potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir (Zhu ve ark., 2014). miR-10b'nin aşırı anlatımı, meme kanseri modellerinde invazyon ve metastazı başlattığı ve primer meme karsinomlarındaki anlatımı klinik ilerleme ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Gee ve ark., 2008). miR-486'nın akciğer kanserinde potansiyel bir tümör baskılayıcısı olduğu bildirilmiştir (Peng ve ark., 2013).

Sonuç

miRNA'lar transkripsiyon sonrası gen anlatımını düzenleyerek ve hücre farklılaşması, çoğalması ve hayatta kalmasında önemli bir rol oynamaktadırlar (Chen ve ark., 2014). İlk miRNA 1993 yılında *C. elegans*'ta keşfedilmiş ve kısa süre sonra hayvan, bitki ve bazı virüslerde de varlığı gösterilmiştir (Lee, 1993). miRNA'ların keşfi ile birlikte çeşitli hastalıklardaki rolleri de araştırılmaya başlanmıştır. miRNA anlatımı hem doku örneklerinden hem de serum ya da plazma gibi hücre içermeyen biyolojik sıvılardan tespit edilebilir (Lu ve Rothenberg, 2018). miRNA'ların anlatımındaki düzensizlikler hastalıkların seyrinde önemli rol oynadığından miRNA anlatım profillerinin belirlenmesi hastalıkların teşhisi için önemlidir (Vishnoi ve Rani, 2017).

miRNA terapötiklerini içeren önemli sayıda preklinik çalışma yapılmış olmasına karşın şimdiye kadar çok az sayıda miRNA terapötikleri klinik

geliştirmeye taşınmıştır. miRNA tabanlı terapötiklerin geliştirilmesinde en büyük zorluklardan biri her hastalık türü için en iyi miRNA adayını ve miRNA hedeflerini belirlemektir. Diğer bir zorluk da terapötik adaya daha yüksek stabilite kazandıran, dokuya özgü hedeflemeyi sağlayan ve potansiyel toksisiteleri ve hedef dışı etkileri önleyen miRNA dağıtım araçlarının tasarımıdır (Rupaimoole ve ark., 2011; Cheng ve Slack, 2012; Li ve Rana, 2014).

Hem hastalıkla ilgili proteinlerle hem de bunlarla bağlantılı miRNA'lar ile çalışmak, çeşitli hastalıkların moleküler mekanizmasını anlama ve tedavi etmede daha güvenilir moleküler hedefler sağlayabilecektir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Agarwal V, Bell G W, Nam JW, Bartel D P. (2015). Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs. *eLife*, (4), e05005.
- Ambros V. (2004). The functions of animal microRNAs. *Nature*, (431):350-355.
- Andreeva K, Cooper N G F. (2014). MicroRNAs in the neural retina. *International Journal of Genomics* 2014,165897.
- Bartel D P. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, (116), 281-297.
- Betel D, Koppal A, Agius P, Sander C, Leslie C. (2010). Comprehensive modeling of microRNA targets predicts functional non-conserved and non-canonical sites. *Genome Biology* 11(8), 1-14.
- Betel D, Wilson M, Gabow A, Marks DS, Sander C. (2008). The microRNA.org resource: Targets and expression. *Nucleic Acids Research* (12),149-153.
- Busk PK. (2014). A tool for design of primers for microRNA-specific quantitative RT-qPCR. *BMC Bioinformatics* 15(1).

- Chen C Z, Li L, Lodish H F, Bartel DP. (2004). MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science*, 303(5654),83–86.
- Chen Y, Fu L L, Wen X, Liu B, Huang J, Wang J H, et al. (2014). Oncogenic and tumor suppressive roles of microRNAs in apoptosis and autophagy. *Apoptosis*, 19(8), 1177–1189.
- Cheng CJ, Slack FJ. (2012). The duality of oncomiR addiction in the maintenance and treatment of cancer. *Cancer Journal*, (18),232–237.
- Chou CH, Chang NW, Shrestha S, Hsu S D a, Lin YL, et al. (2016). miRTarBase 2016: Update to the Experimental-validated miRNA-target interactions database. *Nucleic Acids Research*, (44), 239–247.
- Coussens LM, Werb Z. (2002). Inflammation and cancer. *Nature*, 420(6917),860–867.
- DiMartino MT, Amodio N, Tassone P, Tagliaferri P. (2016). Function analysis of microRNA in multiple myeloma. *Methods in Molecular Biology*, (1375),181–194.
- Eldh M, Lötvalld J, Malmhäll C, Ekström K. (2012). Importance of RNA isolation methods for analysis of exosomal RNA: Evaluation of different methods. *Molecular Immunology*, 50(4),278–286.
- Enright AJ, John B, Gaul U, Tuschl T, Sander C, Marks DS. (2003). MicroRNA targets in *Drosophila*. *Genome biology* 5(1).
- Esteller M. (2011). Non-coding RNAs in human disease. *Nature Reviews Genetics*, 12, 861–874.
- Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. (2008). Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: Are the answers insight? *Nature Reviews Genetics*, (9), 102–114.
- Friedman RC, Farh KKH, Burge CB, Bartel DP. (2009) Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Research*, 19(1),92–105.
- Gee HE, Camps C, Buffa FM, Colella S, Sheldon H, Gleadle JM et al. (2008). MicroRNA-10b and breast cancer metastasis. *Nature*, (455), 8–9.
- Gurha P. (2016). MicroRNAs in cardiovascular disease. *Current Opinion in Cardiology*, (31), 249–254.
- Hodzic J, Sie D, Vermeulen A, Van Beusechem VW. (2017). Functional screening identifies human miRNAs that modulate adenovirus propagation in prosta-tecancer cells. *Human Gene Therapy*, 28(9), 766–780.
- Huang TH, Fan B, Rothschild MF, Hu ZL, Li K, Zhao SH. (2007). MiR Finder: An improved approach and software implementation for genome-wide fast microRNA precursors cans. *BMC Bioinformatics*, 8(1), 1–10.
- Imig J, Brunschweiler A, Brümmer A, Guennewig B, Mittal N, Kishore S et al. (2015). MiR-CLIP capture of a miRNA targetome uncovers a lincRNA H19-miR-106a interaction. *Nature Chemical Biology*, 11(2):107–114.
- Iorio M V. (2012). MicroRNA dysregulation in cancer: diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review. *EMBO Molecular Medicine*, 4,143–159.
- Jafri I, Alsharif G, Bland GN, Gambhir KK. (2019). Erythrocyte miRNA 144 and miRNA 451 as cell aging biomarkers in African American adults. *The Open Biochemistry Journal*, 13(1), 81–87.
- Jiang Q, Wang Y, Hao Y, Juan L, Teng M, Zhang X, et al. (2009). miR2 Disease: A manually curated database for microRNA deregulation in human disease. *Nucleic Acids Research* 37(Supp. 1).
- John B, Enright A J, Aravin A, Tuschl T, Sander C, Marks DS. (2004). Human microRNA targets. *PLoS Biology*, 2(11),e363.
- Kalvari I, Argasinska J, Quinones-Olvera N, Nawrocki EP, Rivas E, Eddy SR, et al. (2018). Rfam 13.0: Shifting to a genome-centric resource for non-coding RNA families. *Nucleic Acids Research*, 46, 335–342.
- Kim YK, Yeo J, Kim B, Ha M, Kim VN. (2012). Short structured RNAs with low GC content are selectively lost during extraction from a small number of cells. *Molecular Cell*, 46,893–895.
- Kozomara A, Griffiths-Jones S. (2014). MiR Base: Annotating high confidence microRNA using deep sequencing data. *Nucleic Acids Research*, 42.

- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 75(5), 843–854.
- Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. (2005). Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 120, 15–20.
- Li JH, Liu S, Zhou H, Qu LH, Yang JH. (2014). StarBase v2.0: Decoding miRNA-ceRNA, miRNA-ncRNA and protein-RNA interaction networks from large-scale CLIP-Seq data. *Nucleic Acids Research*, 2.
- Li Z, Rana TM. (2014). Therapeutic targeting of microRNAs: current status and future challenges. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 13(8), 622–638.
- Lu TX, Rothenberg ME. (2018). MicroRNA. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 141(4), 1202–1207.
- Lumayag S, Haldin CE, Corbett NJ, Wahlin KJ, Cowan C, Turturro S, et al. (2013). Inactivation of the microRNA-183/96/182 cluster results in syndromic retinal degeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(6), 507–516.
- Moldovan L, Batte KE, Trgovcich J, Wisler J, Marsh CB, ve Piper M. (2014). Methodological challenges in utilizing miRNAs as circulating biomarkers. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 18(3), 371–390.
- O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, Baltimore D. (2010). Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 10, 111–122.
- Pasquinelli A. (2000). Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature*, 408, 86–89.
- Peng Y, Dai Y, Hitchcock C, Yang X, Kassis E S, Liu L, et al. (2013). Insulin growth factor signaling is regulated by microRNA-486, an underexpressed microRNA in lung cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(37), 15043–15048.
- Pfeffer S, Zavolan M, Grässer F A, Chien H, Russo J J, Ju J, et al. (2004). Identification of virus-encoded microRNAs. *Science*, 304(5671), 734–736.
- Rupaimoole R, Calin GA, Lopez-Berestein G, Sood AK. (2016). miRNA deregulation in cancer cells and the tumor micro environment. *Cancer Discovery*, 6(3), 235–246.
- Reinhart B. (2000). The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis Elegans*. *Nature*, 403, 901–906.
- Romaine SPR, Tomaszewski M, Condorelli G, Samani NJ. (2015). MicroRNAs in cardiovascular disease: An introduction for clinicians. *Heart*, 101, 921–928.
- Roush S, Slack FJ. (2008). The *let-7* family of microRNAs. *Trends in Cell Biology*, 18, 505–516.
- Rupaimoole R, Han HD, Lopez-Berestein G, Sood AK. (2011). MicroRNA therapeutics: principles, expectations, and challenges. *Chinese Journal of Cancer*, 30(6), 368–370.
- Rupaimoole R, Slack FJ. (2017). MicroRNA therapeutics: Towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16, 203–221.
- Shin C, Nam JW, Farh KKH, Chiang HR, Shkumatava A, Bartel DP. (2010). Expanding the MicroRNA targeting code: functional sites with centred pairing. *Molecular Cell*, 38(6), 789–802.
- Tili E, Michaille JJ, Croce CM. (2013). MicroRNA splay a central role in molecular dysfunctions linking inflammation with cancer. *Immunological Reviews*, 253(1), 167–184.
- Vishnoi A, Rani S. (2017). MiRNA biogenesis and deregulation of diseases: An overview. *Methods in Molecular Biology*, 1509:1–10.
- Wang D, Gu J, Wang T, Ding Z. (2014). OncoMiRDB: A database for the experimentally verified oncogenic and tumour-suppressive microRNAs. *Bioinformatics*, 30(15), 2237–2238.
- Weber JA, Baxter DH, Zhang S, Huang DY, Huang K H, Lee M J, et al. (2010). The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clinical Chemistry*, 56(11), 1733–1741.

- Winter J, Jung S, Keller S, Gregory RI, Diederichs S. (2009). Many roads to maturity: MicroRNA biogenesis is pathways and their regulation. *Nature Cell Biology*, (11),228–234.
- Witkos TM, Koscianska E, Krzyzosiak W. (2011). Practical aspects of microRNA target prediction. *Current Molecular Medicine*, 11(2), 93–109.
- Xin H, Li Y, Buller B, Katakowski M, Zhang Y, Wang X, et al. (2012). Exosome-mediated transfer of miR-133b from multipotent mesenchymal stromal cells to neural cells contributes to neurite out growth. *Stem Cells*, 30(7),1556–1564.
- Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. (2003). Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hair pin RNAs. *Genes and Development*, 17(24),3011–3016.
- Zhang Y, Zang Q, Xu B, Zheng W, Ban R, Zhang H, et al. (2016). IsomiR Bank: A research resources for tracking Iso miRs. *Bioinformatics*, 32(13), 2069–2071.
- Zhao JJ, Hua YJ, Sun DG, Meng XX, Xiao HS, Ma X. (2006). Genome-wide microRNA profiling in human fetal nervous tissues by oligonucleotide microarray. *Child's Nervous System*, 22(11),1419–1425.
- Zhao W, Zhao SP, Zhao YH. MicroRNA-143/-145 in cardiovascular diseases. *BioMed Research International*, 531740.
- Zhu J, Zheng Z, Wang J, Sun J, Wang P, ChengX, et al. (2014). Different miRNA expression profiles between human breast cancer tumors and serum. *Frontiers in Genetics* 5,149.