

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Characterization of Minor Histocompatibility Antigens and Their Role in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Single Center Experience in Türkiye
Minör Doku Uygunluk Antijenlerinin Karakterizasyonu ve Allojenik Hematopoetik Kök Hücre Naklindeki Rolü: Türkiye'de Tek Merkez Deneyimi

Evaluation of The Awareness of Stem Cell Donation
Kök Hücre Bağışçılığı Farkındalığının Değerlendirilmesi

Genetic And Clinical Profiling of Mendelian Susceptibility to Mycobacterial Disease Patients; Single-Center Experience
Mikobakteriyel Hastalıklara Mendel Duyarlılığı Hastalarının Genetik ve Klinik Profili; Tek Merkez Deneyimi

Youtube as a Source of Information on Porcelain Laminate Veneers
Porselen Laminat Kaplama Hakkında Bilgi Kaynağı Olarak Youtube

Assessing Critical Care Nurses' Knowledge on Oxygen Therapy in Covid-19 Patient Care in Türkiye; A Multicenter Study
Türkiye'de Covid-19 Tanılı Hastalara Bakım Veren Yoğun Bakım Hemşirelerinin Oksijen Tedavisine İlişkin Bilgi Düzeyleri: Çok Merkezli Bir Çalışma

Lizensefali Spektrumu Olguların Genotip-Fenotip İlişkisi
Genotype-Phenotype Correlation in Cases with Lissencephaly Spectrum

Geniş Kapasiteli Bir Nükleer Merkezinde Katı Radyoaktif Atık Yönetimi
Solid Radioactive Waste Management in a Large-Capacity Nuclear Medicine Center

İnfertil Hastaların Granüloza Hücrelerinde Liquiritigenin'in Lösemi İnhibitör Faktör Reseptörü Üzerine Etkileri
The Effects of Liquiritigenin on the Lukemia Inhibitory Factor Receptor in Granulosa Cells of Infertile Patients

Covid-19 Hastalarının Risk Sınıflamasında Enflamatuvar İndekslerin Prognostik Rolü
Prognostic Role of Inflammatory Indices in Risk Classification of Patients with Covid-19

Türkiye Popülasyonunda Hla-dq Polimorfizmlerinin Hepatit B Virüs Enfeksiyonu İle İlişkisi
Association of Hla-dq Polymorphisms with Hepatitis B Virus Infection in Turkish Population

Dizinler / Indexing and Abstracting

ULAKBİM TR Dizin

CAB Abstracts

CABI Global Health

CABI Nutrition and Food Sciences

EBSCO CINAHL Ultimate

EBSCO Central & Eastern European Academic Source

ASOS Index

DOAJ



SABIAD

SAĞLIK BİLİMLERİNDE İLERİ ARAŞTIRMALAR DERGİSİ
JOURNAL OF ADVANCED RESEARCH IN HEALTH SCIENCES

Ekim/October 2022, Cilt/Volume 5, Sayı/Issue 3

e-ISSN:2651-4060

Sahibi / Owner

Prof. Dr. Zeynep KARAKAŞ

İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye
Istanbul University, Institute of Graduate Studies in Health Sciences, Istanbul, Turkey

Sorumlu Yazı İşleri Müdürü / Responsible Manager

Prof. Dr. Zeynep KARAKAŞ

İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye
Istanbul University, Institute of Graduate Studies in Health Sciences, Istanbul, Turkey

Yazışma Adresi / Correspondence Address

İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Bozdoğan Kemerli Cad. No: 4 Vezneciler Hamamı Sk.
Vezneciler, Fatih 34126 İstanbul, Türkiye
Telefon / Phone: +90 (212) 440 00 00 (14131)
Faks / Fax: +90 (212) 414 30 16
E-mail: sabiad@istanbul.edu.tr
<https://dergipark.org.tr/sabiad>
<http://iupress.istanbul.edu.tr/journal/jarhs/home>

Yayıncı / Publisher

İstanbul Üniversitesi Yayınevi / Istanbul University Press
İstanbul Üniversitesi Merkez Kampüsü, 34452 Beyazıt,
Fatih / İstanbul, Türkiye
Telefon / Phone: +90 (212) 440 00 00

Kapak fotoğrafı / Cover photo

Emel USTA

Dergide yer alan yazılardan ve aktarılan görüşlerden yazarlar sorumludur.
Authors bear responsibility for the content of their published articles.

Yayın dili Türkçe ve İngilizce'dir.
The publication languages of the journal are Turkish and English.

Şubat, Haziran ve Ekim aylarında, yılda üç sayı olarak yayımlanan uluslararası, hakemli, açık erişimli ve bilimsel bir dergidir.
This is a scholarly, international, peer-reviewed and open-access journal published triannually in February, June and October.

Yayın türü / Publication Type: Yaygın süreli / Periodical

DERGİ YAZI KURULU / EDITORIAL MANAGEMENT BOARD

Baş Editör / Editor-in-Chief

Prof. Dr. Zeynep KARAKAŞ, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye - zkarakas@istanbul.edu.tr; zeynepkar@hotmail.com

Baş Editör Yardımcıları / Co-Editors-in-Chief

Prof. Fatma SAVRAN OĞUZ, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye - oguzsf@istanbul.edu.tr

Doç. Dr. Nurcan ORHAN, İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, İstanbul, Türkiye - norhan@istanbul.edu.tr

Editör Yardımcıları / Associate Editors

Prof. Dr. Merva SOLUK TEKKEŞİN, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye - msoluk@istanbul.edu.tr

Prof. Ayşe Evrim BAYRAK, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye - ebayrak@istanbul.edu.tr

Doç. Dr. Meryem Sedef ERDAL, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, İstanbul, Türkiye - serdal@istanbul.edu.tr

Alan Editörleri / Section Editors

Prof. Fatma SAVRAN OĞUZ, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye - oguzsf@istanbul.edu.tr

Prof. Dr. Müge SAYITOĞLU, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye - mugeay@istanbul.edu.tr

Prof. Dr. Volkan ARISAN, İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, İstanbul, Türkiye - varisan@istanbul.edu.tr

Prof. Dr. Merva SOLUK TEKKEŞİN, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye - msoluk@istanbul.edu.tr

Prof. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye - ebayrak@istanbul.edu.tr

Doç. Dr. Meryem Sedef ERDAL, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, İstanbul, Türkiye - serdal@istanbul.edu.tr

Doç. Dr. Kıvanç BEKTAŞ KAYHAN, İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, İstanbul, Türkiye - bektaskk@istanbul.edu.tr

Doç. Dr. Nurcan ORHAN, İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, İstanbul, Türkiye - norhan@istanbul.edu.tr

İstatistik Editörü / Statistics Editor

Doç. Dr. Eray YURTSEVEN, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye - eyurt@istanbul.edu.tr

Bilimsel Sekreteryaya / Scientific Secretariat

Uzm. Dr. Yasin YILMAZ, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye - dryasinyilmaz@gmail.com

Tanıtım Yöneticisi / Publicity Manager

Doç. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye - ebayrak@istanbul.edu.tr

Uzm. Dr. Yasin YILMAZ, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye - dryasinyilmaz@gmail.com

Sevda MUTLU, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye - smutlu@istanbul.edu.tr

Birgül TAŞTEMİR, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Dekanlığı Yayıncılık Birimi Şefi, İstanbul, Türkiye - birgul@istanbul.edu.tr

Pınar SIĞAK, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye - pınar.kacan@istanbul.edu.tr

Editöryal Asistanlar / Editorial Assistants

Birgül TAŞTEMİR, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Dekanlığı Yayıncılık Birimi Şefi, İstanbul, Türkiye - birgul@istanbul.edu.tr

Araş. Gör. Dr. Safiye ÖZKAN SARILI, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye - sozkan76@istanbul.edu.tr

Dil Editörleri / Language Editors

Elizabeth Mary EARL, İstanbul Üniversitesi, Yabancı Diller Yüksek Okulu, İstanbul, Türkiye - elizabeth.earl@istanbul.edu.tr

Alan James NEWSON, İstanbul Üniversitesi, Yabancı Diller Yüksek Okulu, İstanbul, Türkiye - alan.newson@istanbul.edu.tr

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

- Prof. Dr. Alper BARAN, İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, İstanbul, Türkiye
Prof. Dr. Mustafa DEMİR, İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye
Prof. Dr. Tamer DEMİRALP, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye
Prof. Dr. Günnur DENİZ, İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul, Türkiye
Prof. Mehmet Tevfik DORAK, Kingston Üniversitesi, London, United-Kingdom
Prof. Dr. Melek Nihal ESİN, İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Florence Nightingale Hemşirelik Fakültesi, İstanbul, Türkiye
Prof. Dr. Ahmet GÜL, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul Türkiye
Prof. Dr. Godoberto GUEVARA-ROJAS, University of Applied Sciences, Viyana, Avusturya
Prof. Dr. Christine HAUSKELLER, Exeter Üniversitesi, Sosyoloji ve Felsefe Bölümü, Exeter, İngiltere
Prof. Dr. Amid ISMAİL, Temple University, School of Dentistry, Philadelphia, ABD
Prof. Dr. Alev Akdoğan KAYMAZ, İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, İstanbul, Türkiye
Prof. Dr. Ahmet KIZIR, İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, İstanbul, Türkiye
Prof. Dr. Eitan MİJİRİTSKY, Tel Aviv Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Tel Aviv, İsrail
Prof. Dr. Fuat ODUNCU, Münih Ludwig Maximillian Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Münih, Almanya
Prof. Dr. Vedat ONAR, İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, İstanbul, Türkiye
Prof. Dr. Özen Doğan ONUR, İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, İstanbul, Türkiye
Prof. Dr. Sacide PEHLİVAN, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul Türkiye
Prof. Dr. Hans-Martin SASS, Georgetown University, GU The Kennedy Institute of Ethics, Washington, ABD – Bochum Almanya
Prof. Dr. Emine Akalın URUŞAK, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, İstanbul, Türkiye
Prof. Dr. T. Mesud YELBUZ, King Abdulaziz Cardiac Center, Riyad, S. Arabistan
Prof. Dr. Eray YURTSEVEN, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye
Doç. Dr. Eda Yılmaz ALARÇİN, İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İstanbul, Türkiye
Doç. Dr. Fatemah BAHADORİ, Bezmialem Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, İstanbul, Türkiye

Onursal Editör / Honorary Editor

Prof. Dr. İlhan İLKILIÇ, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye - ilhan.ilkilic@istanbul.edu.tr

Editörden

İstanbul Üniversitesi süreli yayınlarından biri olan ve Şubat, Haziran, Ekim olmak üzere yılda üç kez, uluslararası standartlarda yayınlanan Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi 2018 yılında yayın hayatına başlamış olup 2021 yılı itibarı ile ulusal ve uluslararası indekslerde yer almaktadır. Sağlık alanında geniş bir yelpazede hizmet veren dergimiz SCI'ye girmeyi hedeflemektedir. Bu kapsamda Haziran 2023'den itibaren sadece İngilizce yayınlar kabul edilecektir.

Bu sayımızda kök hücre, doku grupları, hemşirelik deneyimleri, nükleer atık yönetimi, genetik konularında özgün 10 yeni araştırma makalesiyle karşınızdayız.

Araştırmalarınızı bekliyoruz, sizlerle güçleneceğiz, katkıda bulunan bilim insanlarına sonsuz teşekkürler, saygılarımızla.

Prof. Dr. Zeynep Karakaş


Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi Editörü

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

| | |
|--|-----|
| Characterization of Minor Histocompatibility Antigens and Their Role in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Single Center Experience in Türkiye | 130 |
| <i>Minör Doku Uygunluk Antijenlerinin Karakterizasyonu ve Allojenik Hematopoetik Kök Hücre Naklindeki Rolü: Türkiye’de Tek Merkez Deneyimi</i> Fatma Savran Oğuz, Çiğdem Kekik Çınar, Süleyman Rüştü Oğuz, Demet Kıvanç, Deniz Sargin, Sevgi Kalayoğlu Beşışık | |
| Evaluation of The Awareness of Stem Cell Donation | 135 |
| <i>Kök Hücre Bağışçılığı Farkındalığının Değerlendirilmesi</i> Çiğdem Kekik Çınar, Ayşe Emel Önal, Yasemin Oyacı, Hülya Gül, Nilgün Bozbuğa, Fatma Savran Oğuz | |
| Genetic And Clinical Profiling of Mendelian Susceptibility to Mycobacterial Disease Patients; Single-Center Experience | 140 |
| <i>Mikobakteriyel Hastalıklara Mendel Duyarlılığı Hastalarının Genetik ve Klinik Profili; Tek Merkez Deneyimi</i> Serdar Nepesov, Sinem Fırtına, Fatma Deniz Aygün, Begüm Işıkgil, Yıldız Çamcıoğlu, Ayça Kıyıkım, Esra Yücel, Yasemin Kendir Demirkol, Akif Ayaz | |
| Youtube as a Source of Information on Porcelain Laminate Veneers | 147 |
| <i>Porselen Laminat Kaplama Hakkında Bilgi Kaynağı Olarak Youtube</i> Pınar Naiboğlu, Sevede Göksel, Gül Aykanat | |
| Assessing Critical Care Nurses’ Knowledge on Oxygen Therapy in Covid-19 Patient Care in Türkiye; A Multicenter Study | 153 |
| <i>Türkiye’de Covid-19 Tanılı Hastalara Bakım Veren Yoğun Bakım Hemşirelerinin Oksijen Tedavisine İlişkin Bilgi Düzeyleri: Çok Merkezli Bir Çalışma</i> Yasemin Uslu, Meltem Altay | |
| Lizensefali Spektrumu Olguların Genotip-Fenotip İlişkisi | 160 |
| <i>Genotype-Phenotype Correlation in Cases with Lissencephaly Spectrum</i> Ayça Dilruba Aslanger, Z. Oya Uyguner, Birsen Karaman, Seher Başaran, Hülya Kayserili | |
| Geniş Kapasiteli Bir Nükleer Merkezinde Katı Radyoaktif Atık Yönetimi | 167 |
| <i>Solid Radioactive Waste Management in a Large-Capacity Nuclear Medicine Center</i> Mustafa Demir, Nazenin İpek Işıkcı, Nami Yeyin | |
| İnfertil Hastaların Granüloza Hücrelerinde Liquiritigenin’in Lösemi İnhibitör Faktör Reseptörü Üzerine Etkileri | 172 |
| <i>The Effects of Liquiritigen on the Lukemia Inhibitory Factor Receptor in Granulosa Cells of Infertile Patients</i> Emel Usta, Sibel Köktürk, Sibel Doğan, Ayşe Altun, Sibel Bulgurcuoğlu-Kuran, Feride Karahan | |
| Covid-19 Hastalarının Risk Sınıflamasında Enflamatuvar İndekslerin Prognostik Rolü | 179 |
| <i>Prognostic Role of Inflammatory Indices in Risk Classification of Patients with Covid-19</i> Maide Hacer Alagöz, Ayşe Enise Göker, Evin Ademoğlu | |
| Türkiye Popülasyonunda Hla-Dq Polimorfizmlerinin Hepatit B Virüs Enfeksiyonu İle İlişkisi | 186 |
| <i>Association of Hla-Dq Polymorphisms With Hepatitis B Virus Infection in Turkish Population</i> Bülent Çakal, Muzaffer Arıkan, Alp Atasoy, Bilger Çavuş, Mehveş Poda, Mesut Bulakçı, Mine Güllüoğlu, Mehmet Demirci, Filiz Akyüz | |

CHARACTERIZATION OF MINOR HISTOCOMPATIBILITY ANTIGENS AND THEIR ROLE IN ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION: SINGLE CENTER EXPERIENCE IN TURKIYE

MİNÖR DOKU UYGUNLUK ANTİJENLERİNİN KARAKTERİZASYONU VE ALLOJENİK HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKLİNDEKİ ROLÜ: TÜRKİYE'DE TEK MERKEZ DENEYİMİ

Fatma Savran OĞUZ¹ , Çiğdem Kekik ÇINAR¹ , Süleyman Rüştü OĞUZ² , Demet KIVANÇ⁴ , Deniz SARGIN³ , Sevgi KALAYOĞLU BEŞİŞİK³ 

¹Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Türkiye

²Demiroglu Bilim University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Istanbul, Türkiye

³Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Hematology Division, Istanbul, Türkiye

⁴Istanbul University, Institute of Graduate Studies in Health Sciences, Medical Biology Program, Istanbul, Türkiye

ORCID ID: F.S.O. 0000-0002-6018-8936; Ç.K.Ç. 0000-0003-2098-381X; S.R.O. 0000-0002-5854-1163; D.K. 0000-0002-2451-5709; D.S. 0000-0002-1077-8540; S.K.B. 0000-0002-9310-1278

Citation/Atf: Oguz FS, Cinar CK, Oguz SR, Kivanc D, Sargin D, Kalayoglu Besisik S. Characterization of minor histocompatibility antigens and their role in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Single center experience in Türkiye. Journal of Advanced Research in Health Sciences 2022;5(3):130-134. <https://doi.org/10.26650/JARHS2022-1130823>

ABSTRACT

Objective: The minor histocompatibility antigens (mHAGs) are the epitopes composed of polymorphic essential peptides, and they create T cell response limited to a variety of class I and II HLA alleles. In recent years, there has been extensive research on the distribution of polymorphic regions in different populations. The incompatibility between recipient and donor, may initiate a strong cellular immune response despite HLA full-matched transplantation. We determined the frequency of minor antigens among hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) recipients who underwent transplantation for various hematological diseases.

Material and Methods: The study population included 200 healthy individuals, 150 HLA-typed patients who were candidates for allogeneic HSCT, and 20 recipients/donors with allogeneic transplants. Minor HAGs identified by using polymerase chain reaction (PCR) and sequence specific primer (SSP) methods.

Results: When the allele frequencies and genotypes of the patients were compared with those of the healthy group, the difference was not significant regarding to immunogenic or non-immunogenic allele frequencies. The individuals with immunogenic homozygous H allele (HH genotype) were a few more in the healthy group, and this difference proved to be statistically significant. In fact, our study population insufficient though the number was, based on the data received from 20 transplant patients and donors, GvHD was observed in 5 of 10 patients who had minor incompatibility.

Conclusion: We assume that determining the mHAG frequencies in the healthy Turkish population and in patients with malignant hematological diseases will likely contribute to the understanding of the immune response.

Keywords: Minor Histocompatibility Antigens, Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation, Graft-versus-host disease.

ÖZ

Amaç: Minör doku uygunluk antijenleri (mHAG), polimorfik esansiyel peptitlerden oluşan epitoplardan oluşup sınıf I ve II insan lökosit antijeni (HLA) alel çeşitleri ile sınırlı olan bir T hücre yanıta ortaya çıkarılırlar. Son yıllarda, farklı popülasyonlarda polimorfik bölgelerin dağılımı hakkında kapsamlı araştırmalar yapılmıştır. Alıcı ve verici arasındaki mHAG uyumsuzluğu, HLA tam uyumlu transplantasyona rağmen güçlü bir hücresel immün yanıtı başlatabilir. Çalışmamızda çeşitli hematolojik hastalıklar nedeniyle allojenik hematopoietik kök hücre nakli (AHKN) yapılan hastalarda mHAG sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma popülasyonu 200 sağlıklı bireyi, AHKN adayları olarak HLA'sı tiplendirilmiş olan 150 hastayı ve 20 AHKN alıcısı/donörünü içermektedir. mHAG'lar, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve diyaize özgü primer (SSP) yöntemleri kullanılarak belirlendi.

Bulgular: Hastaların alel frekansları ve genotipleri sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında, immünojenik veya immünojenik olmayan alel frekansları açısından fark anlamlı değildi. Sağlıklı grupta immünojenik homozigot H aleli (HH genotipi) olan bireyler daha azdı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Çalışma popülasyonumuz küçük olmasına rağmen, 20 transplant hastasından ve donörden alınan verilere göre, 10 hastanın %50'sinin minör uyumsuzluk kaynaklı Graft versus host hastalığı (GVHH) olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Sağlıklı Türk popülasyonunda ve malign hematolojik hastalığı olan hastalarda mHAG frekanslarının belirlenmesinin immün yanıtın anlaşılmasına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Minör Doku Uygunluk Antijenleri, Allojenik Hematopoietik Kök Hücre Nakli, Graft-versus-host hastalığı

Corresponding Author/Sorumlu Yazar: Fatma Savran OĞUZ E-mail: oguzsf@gmail.com

Submitted/Başvuru: 16.06.2022 • **Accepted/Kabul:** 22.06.2022 • **Published Online/Online Yayın:** 29.07.2022



This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

INTRODUCTION

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (AH SCT) is a potentially curative therapy for many malignant and nonmalignant hematologic diseases. Recipient donor Human Leukocyte Antigen (HLA) mismatch for major histocompatibility antigens encoded on the short arm of chromosome 6 is the most important risk factor for graft-versus-host disease (GVHD) (1, 2). Recipient donor HLA mismatch for minor histocompatibility antigens (mHAg) encoded by sex-linked or autosomal loci also contributes to the risk of GVHD (3-6). The impact of mismatches of mHAg on the development of GVHD is the best studied in pairs of siblings who are HLA identical. A mHAg is of clinical interest only if it is immunogenic and when it has a moderately increased frequency distribution in the population. The HA-1 antigen fulfills two of the conditions required for the induction of GVHD: it is immunogenic and has a moderate (69%) phenotypic frequency. The tissue distribution of mHAg might explain its correlation with GVHD. The H-Y and HA-3 antigens occur on hematopoietic and nonhematopoietic cells. HA-1 and HA-2 are expressed only on cells derived from hematopoietic precursors, including dendritic cells and epidermal Langerhans' cells (7,8). Since the chief function of the latter cells is to present antigens to T cells, they are plausible candidates for eliciting a graft-versus-host reaction from donor T cells. HA-1 and HA-2 are encoded by biallelic loci, along with immunogenic variants, HA-1H and HA-2V, which are expressed along with HLA-A2 antigens and induce strong HLA-A2-restricted alloreactive T-cell responses, and non-immunogenic counterparts, HA-1R and HA-2M, which represent functional null alleles that are poorly presented by HLA class I molecules. HA-1 and HA-2 are potential targets of selective graft-versus-leukemia and graft-versus-tumor reactivity after HSCT. It was recently reported that mismatches for two HLA*02:01-restricted mHAg: HA-1 and HA-8 increased the incidence of severe acute GVHD (aGVHD) when the donor had A/A genotype in rs231775 of CTLA4 gene (9). The information of mHA genotyping is useful for selection of therapeutic targets in the post-transplant immunotherapy.

In this study, we aimed to determine the frequency of mHAs in the healthy population and to find out the relationship between mHAs and hematopoietic malignant diseases. In addition we investigated whether or not mismatching of mHAs contributes to acute GVHD (grade II or higher) in recipients of HLA-identical bone marrow.

MATERIAL AND METHODS

We have 200 healthy people, 150 patients with various malignant hematologic disorders, 20 recipients of HSCT and their sibling donors, who were HLA identical, at Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Adult Bone Marrow Transplantation Unit. The donor–recipient pairs were selected on the basis of the presence of HLA-A2, which is the HLA restriction molecule for mHAg HA-1. The recipients underwent HSCT for acute lymphocytic leukemia, acute myeloid leukemia, chronic myeloid leukemia, non-Hodgkin's lymphoma, or aplastic anemia. None of the recipients received T cell depleted bone mar-

row. As prophylaxis against GVHD, they received cyclosporine and short course methotrexate. In the assessment of GVHD, a grade of 0 or I was considered to indicate the absence of such disease, and a grade of II or higher its presence.

The project was approved by the Ethical Committee of the Istanbul Faculty of Medicine (2019/983).

Blood samples were obtained from the patients and their sibling donors before HSCT. The search for and selection of an HLA-identical sibling donor were based on HLA typing for the HLA-A, B, and DR antigens of the patients' families. HA-1 allele polymerase chain reaction (PCR) and sequence specific primer (SSP) methods were employed (PCR-SSP kit, One Lambda Inc). The domains described by two alleles of HA-1 can be seen in Table 1. The amplified PCR products were analyzed through 2% gel electrophoresis and were visualized in UV transilluminator following ethidium bromide staining.

Table 1: Primer Recognition Sites

| Alleles | 5' Recognition Sites | 3' Recognition Sites | Size |
|----------------------|----------------------|----------------------|-------|
| HA-1H (Histidine) | 345ACACT349 | 500CTGCA504 | 190bp |
| HA-1R (Arginin) | 345ACACT349 | 500TTGCG504 | 190bp |

Evaluation and Interpretation of the Data

The mHA alleles were tested for Hardy–Weinberg equilibrium. was tested. The Fisher's Exact test and the Chi Square test were conducted through SPSS program. The results were evaluated in terms of allele frequencies, Odds ratio, 95 % Confidence Interval, and p value.

RESULTS

We typed 20 pairs of HSCT donors and recipients who were HLA identical for HLA-A2. The results were then evaluated to determine whether they were correlated with the development of GVHD after HSCT. Allelic variant distribution was similar between recipients and donors whereas frequencies for RR, HH and HR genotypes were found as 35%, 10% and 55% respectively (Table 2). Ten patients were mHAg mismatched and one of them developed acute GVHD. Among 200 healthy individuals 45.7% had H allele and 54.2% the R allele matching Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) (Table 3). Upon allelic variant distribution, genotype frequencies were as follows; RR with 26.5%, HH with 8% and HR with 55.5%. The allelic frequency for H allele and R allele was 43.3%, and 56.6% respectively in the study group encompassing the cases with malignant hematological diseases (Table 3). The genotype frequencies of the healthy group and the patients can be seen in Figure 1. HH genotype were found to be higher frequency in the healthy group,

Table 2: The HA1 genotypes and GVHD conditions of the recipients and donors

| Control No: | Sex Recipient/ Donor | aGVHD | cGVHD | Minor HA1 Recipient | Minor HA1 Donor |
|-------------|----------------------|----------|------------------|---------------------|-----------------|
| 1 | E/K | - | - | HR | HR |
| 2 | E/E | + | - | HR | HR |
| 3 | E/E | - | - | RR | RR |
| 4 | E/E | - | - | HH | HR |
| 5 | E/E | Early ex | | HR | HR |
| 6 | E/K | - | Ex-not assessed | RR | HR |
| 7 | K/E | - | Ex- not assessed | RR | RR |
| 8 | E/E | + | + | HR | RR |
| 9 | E/E | - | - | HR | RR |
| 10 | K/K | - | - | RR | RR |
| 11 | E/K | + | Ex- not assessed | RR | HH |
| 12 | E/E | + | + | RR | HR |
| 13 | E/E | + | + | HR | HR |
| 14 | K/K | - | Recurrence | RR | HR |
| 15 | K/K | + | + | HH | RR |
| 16 | E/E | - | - | HR | RR |
| 17 | K/E | - | + | HR | HR |
| 18 | K/E | - | - | HR | HR |
| 19 | K/K | - | + | HR | HH |
| 20 | E/K | + | Ex- not assessed | HR | HR |

Table 3: The HA1 allele frequencies of the healthy and patient groups

| mHAg allele | Healthy Group (n:400) (n / %) | Patients Group (n:300) (n / %) |
|-------------|-------------------------------|--------------------------------|
| HA1-H | 183 / 45.7 | 130 / 43.3 |
| HA1-R | 217 / 54.2 | 170 / 56.6 |

compared with the patients (11.7%-18% $p \leq 0.05$, 95%CI=0.289-1.023). The HR genotype was a little more in the patient group, no statistical significance was observed (65.3%-55.5% $p=0.06$).

DISCUSSION

Previously mHAgS were identified through in vitro proliferation of specific cytotoxic T lymphocytes (CTL) in patients who developed GVHD and then cloning these cells. Since 1998, when DNA based methods were first used, PCR-Restriction fragment length polymorphism (RFLP) and allele specific primers as well as PCR amplification methods have come into use (10-12). mHAgS are polymorphic in structure, and they are immuno-

genic for T cells, thus capable of initiating reactions related to the graft. Early studies on this issue included the presence of H-Y-related CTL and immune reactions through mHAgS in patients who received hematopoietic stem cell transplant (HSCT) from HLA compatible siblings. Goulmy and colleagues studied 5 mHAgS that were not related to the gender chromosome and showed that the HA-1 difference between HLA compatible recipient and donor had an effect on the development of II-IV grade aGVHD (12). Although it is quite difficult to distinguish GVHD from GVL/T (graft and leukemia/tumor), regulation of GVL effect is one of the main problems in allogeneic.

While stem cell transplantation suppresses GVHD, it is necessary to simultaneously stimulate GVL/T.

Accordingly, it may be of use to stimulate the CTLs against mHAgS like HA-1 (13). Donor T cells, held responsible for the anti-leukemic effect of donor leukocyte infusion performed on patients with recurrent leukemia after stem cell transplant, identify the HA-1 and HA-2 minor antigens in malign cells and become reactive. Donor based T cells are capable of eliminating hematological malignancies by specifically focusing on the minor antigens on the hematopoietic cells (14-16)

One important goal of our study was to determine the allele and genotype frequencies of the healthy population. In control group, the HA-1H allele frequency was 45.7%, and the HA-1R allele frequency was 54.2%, being in the healthy group. In the study conducted by Kotzampasaki and colleagues in Greece, 49 healthy bone marrow donors had the same alleles in frequencies of 29% and 70% respectively (14). A research conducted by Goulmy and colleagues studied 2262 subjects from 6 different ethnic groups in 16 countries in 5 different continents by making 10 different minor antigen genotype classifications. They found that the HA-1H and HA-1R were 47.6 % and 52.4 % respectively in East Asian populations; they were found to be 47.8 % and 52.2 % in African Americans, and 35.9 % and 64.1 % in Caucasian (14). As this study suggests, HA-1 antigen genotypes frequencies vary in different races. Some of the differences in this study have a geographical basis, whereas others are distributed randomly. In the future, the importance of these population studies will be understood with respect to potential clinical practices of minor H antigens as an immunotherapeutic tool after HSCT. In HLA-matched unrelated transplants, the application of adaptive cellular or vaccination treatments specific to the Minor H antigen based on ethnicity will enhance the T cell-related GvT response.

The allele frequencies and genotypes of 150 patients with a variety of hematological malignancies were compared with those of the healthy group, and it was found that there was no significant difference between the two groups either in immunogenic or in non-immunogenic allele frequencies. The individuals having immunogenic homozygous H allele (HH genotype) in their genotype frequencies were a few more in the healthy group, and this difference proved to be statistically significant. Although those having the immunogenic heterozygote H allele (HR genotype) were a few more in the patient group, no sta-

tistical significance was observed. The HA-1H allele frequency was found to be 37.5% in HSCT recipients and donors. Terlizzi and colleagues conducted a study on 200 healthy individuals in northern Italy and found that the HA-1H and HA-1R allele frequencies were 29.3% and 70.7%. The same study revealed that 100 hundred patients with hematological malignancies and solid tumors had similar allele frequencies, and that there was no relationship between the frequencies and occurrence of cancer (7). mHAGs play a central role in both GVL and GVHD. Their discovery and characterization are crucial in developing strategies to improve HSCT outcomes (17).

It is known that recipient-donor minor antigen mismatch in bone marrow transplantations reduces the chance of survival after transplantation and increases acute or chronic GVHD (cGVHD). In this study, there was minor antigen incompatibility in 10 patients (10%) and acute/chronic GVHD in 5 patients. It is known that in HLA compatible HSCT series, aGVHD of 19% to 66% is observed (8, 18-19). As far as the 20 transplant recipients and donors are concerned, though the number is low, the finding of GVHD in 50% of 10 patients with minor incompatibility is consistent with other studies in the literature (20-22).

HA-2 (rs61739531) is expressed in cells of hematopoietic origin 71 where there is evidence for GVL in AML with low risk of GVHD. Similarly, other ubiquitously expressed mHAGs are associated with GVL in chronic myelogenous leukemia without evidence of GVHD, suggesting complex alloreactivities from antigen processing, presentation, and costimulation (23).

Minor HAGs arise from the fraction of self-peptides presented conventionally on MHC molecules that happen to be allelically variant (6). Their antigenicity is revealed in transplantation settings because such variant peptides are perceived as foreign to a host's T cells. With the advances in genome wide sequencing and T cell-epitope identification technologies, the number of molecularly identified mHAGs has increased exponentially (24-26). Immunodominant mHAGs have attracted attention as immunotherapeutic targets for hematologic malignancies (10-12).

In conclusion, the uses of mHAG identification include the understanding of immune response against mHAGs, detection of the GVHD risk, recognition of the GVL effect likelihood, selection of the most suitable donor, and determination of the likelihood of adaptive immunotherapy in malignant hematological diseases.

Ethics Committee Approval: This study was approved by Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine Clinical Research Ethics Committee (Date: 09.08.2019, No: 2019/983).

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- F.S.O., S.R.O.; Data Acquisition- D.K., Ç.K.Ç.; Data Analysis/Interpretation- F.S.O., S.R.O., S.K.B., D.S.; Drafting Manuscript- F.S.O., S.R.O., D.K.; Critical Revision of Manuscript- S.K.B., D.S., Ç.K.Ç., S.K.B.; Final Approval and Accountability- F.S.O., S.R.O., Ç.K.Ç., S.K.B., D.S., D.K.; Material and Technical Support- F.S.O., S.R.O., D.K.; Supervision- S.K.B., D.S., Ç.K.Ç.

Fatma OĞUZ SAVRAN and Suleyman Rustu OĞUZ, contributed equally to this work.

Conflict of Interest: The authors have no conflict of interest to declare.

Financial Disclosure: This study was supported by the Istanbul University Scientific Research Projects Unit (Project no: 292/05012005).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- F.S.O., S.R.O.; Veri Toplama- D.K., Ç.K.Ç.; Veri Analizi/Yorumlama- F.S.O., S.R.O., S.K.B., D.S.; Yazı Taslağı- F.S.O., S.R.O., D.K.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- S.K.B., D.S., Ç.K.Ç., S.K.B.; Son Onay ve Sorumluluk- F.S.O., S.R.O., Ç.K.Ç., S.K.B., D.S., D.K.; Malzeme ve Teknik Destek- F.S.O., S.R.O., D.K.; Süpervizyon- S.K.B., D.S., Ç.K.Ç.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir

Finansal Destek: Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje no: 292/05012005).

REFERENCES

- den Haan JM, Meadows LM, Wang W, Pool J, Blokland E, Bishop TL, et al. The minor histocompatibility antigen HA-1: a diallelic gene with a single amino acid polymorphism. *Science* 1998;279(5353):1054-7.
- Schreuder GM, Pool J, Blokland E, van Els C, Bakker A, van Rood JJ, et al: A genetic analysis of human minor histocompatibility antigens demonstrates Mendelian segregation independent of HLA. *Immunogenetics* 1993;38(2):98-105.
- Chao NJ. Minors come of age: minor histocompatibility antigens and graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2004;10(4):215-23.
- Falkenburg JHF, van de Corput L, Marijt EWA, Willemze R. Minor histocompatibility antigens in human stem cell transplantation. *Exp Hematol* 2003;31(9):743-51.
- Spierings E, Wieles B, Goulmy E. Minor histocompatibility antigens—big in tumour therapy. *Trends Immunol* 2004;25(2):56-60.
- Bleakley M, Riddell SR. Molecules and mechanisms of the graft-versus-leukaemia effect. *Nat Rev Cancer* 2004;4(5):371-80.
- Spierings E, Hendriks M, Absi L, Canossi A, Chhaya S, Crowley J, et al. Phenotype Frequencies of Autosomal Minor Histocompatibility Antigens Display Significant Differences among Populations. *PLoS Genet* 2007;3(6):103.
- Terlizzi SD, Zino E, Mazzi B, Magnani C, Tresoldi C, Perna SK, et al. Therapeutic and Diagnostic Applications of Minor Histocompatibility Antigen HA-1 and HA-2 Disparities in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Survey of Different Populations. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12(1):95-101.
- Romaniuk DS, Postovskaya AM, Khmelevskaya AA, Malko DB and Efimov GA. Rapid Multiplex Genotyping of 20 HLA-A*02:01 Restricted Minor Histocompatibility Antigens. *Front Immunol*

- 2019;10:1226. doi: 10.3389/fimmu.2019.01226.
10. Tseng LH, Lin MT, Martin PJ, Pei J, Smith AG, Hansen JA. Definition of the gene encoding the minor histocompatibility antigen HA-1 and typing for HA-1 from genomic DNA. *Tissue Antigen* 1998;52(4):305-11.
 11. den Haan JM, Sherman NE, Blokland E, Huczko E, Koning F, Drijfhout JW, et al. Identification of a graft versus host disease-associated human minor histocompatibility antigen. *Science* 1995;9;268(5216):1476-80.
 12. Goulmy E, Schipper R, Pool J, Blokland E, Falkenburg JH, Vossen J, et al. Mismatches of minor histocompatibility antigens between HLA identical donors and recipients and the development of graft-versus host disease after bone marrow transplantation. *New Engl J Med* 1996;334(5):281-5.
 13. Tanaka J. Target antigens for graft-versus-host disease (GVHD) and graft-versus-leukemia/tumor (GVL/T). *Nihon Rinsho* 2003;61(9):1512-9.
 14. Kotzampasaki EM, Spyropoulou-Vlachou MS, Kalofoutis C, Vrani V, Kalofoutis A, Stavropoulos-Giokas C, et al: Minor histocompatibility antigen HA-1 and HPA-5 polymorphisms in HLA identical related bone marrow transplantation. *Transplant Proc* 2004;36(6):1735-8.
 15. Falkenburg JH, Smit WM, Willemze R. Cytotoxic T-lymphocyte (CTL) responses against acute or chronic myeloid leukemia. *Immunol Rev* 1997;157:223-30.
 16. Goulmy E. Human minor histocompatibility antigens: new concepts for marrow transplantation and adoptive immunotherapy. *Immunol Rev* 1997;157:125-40.
 17. Lansford JL, Dharmasiri U, Chai S, Hunsucker SA, Bortone DS, Keating JE, et al. Computational modeling and confirmation of leukemia-associated minor histocompatibility antigens. *Blood Adv* 2018;28;2(16):2052-62.
 18. Falkenburg JH, Marijt WAF, Heemskerk MHM, Willemze R. Minor histocompatibility antigens as targets of graft-versus-leukemia reactions. *Curr Opin Hematol* 2002;9(6):497-502.
 19. Ferrera JL. Paradigm shift for graft versus host disease. *Bone Marrow Transplant* 1994;14(2):183-4.
 20. Ferrera JL, Antin JH. The pathophysiology of graft versus host disease. In: Thomas ED, Blume KG, Forman SJ, editors. *Hematopoietic cell transplantation. USA: Blackwell Science; 1999.p.305-15.*
 21. Hagglund H, Boström L, Remberger M, Ljungman P, Nilsson B, Ringden O. Risk factors for acute graft versus host disease in 219 consecutive HLA identical bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 1995;16(6):747-53.
 22. Tseng LH, Lin MT, Hansen JA, Gooley T, Pei J, Smith AG et al. Correlation between Disparity for the Minor Histocompatibility Antigen HA-1 and the development of acute graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation. *Blood* 1999; 94(8):2911-4.
 23. Wang W, Huang H, Halagan M, Vierra-Green C, Heuer M, Brelsford JE, et al. Chromosome Y-encoded antigens associate with acute graft-versus-host disease in sex-mismatched stem cell transplant. *Blood Adv* 2018;9;2(19):2419-29.
 24. Goulmy E. Minor histocompatibility antigens: allo target molecules for tumor-specific immunotherapy. *Cancer J* 2004;10(1):1-7.
 25. Hambach L, Goulmy E. Immunotherapy of cancer through targeting of minor histocompatibility antigens. *Curr Opin Immunol* 2005;17(2):202-10.
 26. Gustincich S, Manfioletti G, Del Sal G, Schneider C, Carninci P. A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Bio Techniques* 1991;11(3):298-302.

EVALUATION OF THE AWARENESS OF STEM CELL DONATION

KÖK HÜCRE BAĞIŞÇILIĞI FARKINDALIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Çiğdem KEKİK ÇINAR^{1,2} , Ayşe Emel ÖNAL³ , Yasemin OYACI⁴ , Hülya GÜL³ , Nilgün BOZBUĞA⁵ ,
Fatma SAVRAN OĞUZ^{1,2} 

¹Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Türkiye

²Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Bone Marrow Registry Bank (TRIS), Istanbul, Türkiye

³Istanbul University, Center for Research and Practice in Community Medicine, Istanbul, Türkiye

⁴Istanbul University, Institute of Graduate Studies in Health Sciences, Medical Biology Program, Istanbul, Türkiye

⁵Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Cardiovascular Surgery, Istanbul, Istanbul, Türkiye

ORCID ID: Ç.K.Ç. 0000-0003-2098-381X; A.E.Ö. 0000-0001-8321-6517; Y.O. 0000-0002-1338-0087; H.G. 0000-0002-2276-6184; N.B. 0000-0002-4401-5250; F.S.O. 0000-0002-6018-8936

Citation/Atf: Evaluation of the awareness of stem cell donation. Journal of Advanced Research in Health Sciences 2022;5(3):135-139.
<https://doi.org/10.26650/JARHS2022-1117585>

ABSTRACT

Objective: Many diseases, including bone marrow cancers (ALL, AML, etc.), lymphomas, hereditary anemia, and immune deficiencies, can be treated with hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). Donors with Human Leukocyte Antigen (HLA) match are first sought from the patient's siblings, parents, and close relatives. If a suitable donor cannot be found within the family, the search for unrelated volunteer donors begins. HSC donor registry centers were created in order to pool volunteer donors. More than 40 million stem cell donors and 136 banks affiliated and collaborate with the World Marrow Donor Association (WMDA). These registry centers seek to find the most suitable stem cell donor for the patient by collecting tissue groups from the pool of donors and comparing them to tissue groups from patients who applied completely voluntarily. The purpose of this study is to determine the knowledge and attitudes toward stem cell donation of 5th year students at the Istanbul Faculty of Medicine and randomly selected adult members of society.

Material and Methods: The study included 285 students and 168 adults. Both groups completed a questionnaire with 21 questions using the interview under observation method.

Results: In a statistical comparison of student and public participants in terms of stem cell donation, the student group was found to be far more aware than the public participant group. When compared to the public participant group, the student group's desire to be stem cell donors was found to be very significant. The school in the student group and the written/visual media in the public participant group were extremely important in raising awareness.

Conclusion: The survey study we conducted revealed that the knowledge level of the public was insufficient, and the knowledge level of medical students was deficient. Information about stem cell donation should be disseminated in the written/visual media, in health institutions, and during the education period, in order to raise societal awareness and increase the number of donors in comparison to the country's population.

Keywords: stem cell, voluntary donation, stem cell transplant

ÖZ

Amaç: Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN), kemik iliği kanserleri (ALL,AML vb), lenfomalar, kalıtsal anemiler ve immün yetersizlikler gibi birçok hastalığın tedavi seçeneğidir. Hastalara uygun insan lökosit antijen (HLA) doku tipine sahip vericiler öncelikle kişinin kardeşleri, anne-babası ve yakın akraba içi bireylerden taranır. Uygun verici aile içerisinde bulunamaz ise tarama, akraba olmayan gönüllü bağışçılar arasında yapılmaya başlanır. Gönüllü bağışçıları bir araya getirmek için hematopoetik kök hücre kayıt merkezleri oluşturulmuştur. 40 milyondan fazla kök hücre bağışçısı ile 136 kayıt merkezi Dünya Kemik İliği Donör Birliği'ne (WMDA) bağlı olarak işbirliği yapmaktadır. Bu çalışmanın amacı, İstanbul Tıp Fakültesi 5. sınıf tıp öğrencilerinin ve toplumdan rastgele seçilen yetişkin bireylerin kök hücre bağışına yönelik bilgi ve tutumlarını belirlemektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 285 öğrenci ve 168 yetişkin dahil edildi. Her iki grup da gözlem altında görüşme yöntemiyle 21 soruluk bir anket doldürmüştür.

Bulgular: Öğrencilerin ve halktan katılımcıların kök hücre bağışı açısından istatistiksel karşılaştırmasında, öğrenci grubunun halktan katılımcı gruba göre çok daha bilinçli olduğu bulundu. Öğrenci grubunun kök hücre bağışçısı olma istekliliği, halktan katılımcıların istekliliği ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Öğrenci grubunda okul, halktan katılımcı grubunda yazılı/görsel medya, farkındalıklarının artmasında son derece önemliydi.

Sonuç: Anket çalışmamız halkın bilgi düzeyinin yetersiz, tıp öğrencilerinin bilgi düzeyinin ise yeterli olduğunu ortaya koymuştur. Kök hücre bağışı ile ilgili bilgilendirmeler yazılı/görsel basında, sağlık kurumlarında ve eğitim döneminde yaygınlaştırılarak toplumsal farkındalığın artırılması ve bağışçı sayısının ülke nüfusuna oranla artması sağlanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Kök hücre, gönüllü bağış, kök hücre nakli

Corresponding Author/Sorumlu Yazar: Çiğdem KEKİK ÇINAR E-mail: cigdem.kekik@istanbul.edu.tr

Submitted/Başvuru: 22.05.2022 • Revision Requested/Revizyon Talebi: 01.06.2022 • Last Revision Received/Son Revizyon: 02.06.2022

• Accepted/Kabul: 27.07.2022 • Published Online/Online Yayın: 19.08.2022



This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

INTRODUCTION

In many cases, hematopoietic stem cell transplantation is used as part of the treatment or as the only treatment option for diseases classified as hematological malignancies, immune deficiencies, and inherited metabolic disorders.

Full Human Leukocyte Antigen (HLA) matched siblings are the best donors for stem cell transplant candidates. Only 25-30% of these patients, however, have full HLA matched siblings. An HLA-matched unrelated donor is required for patients who are unable to find a sibling donor. The first reports on the feasibility of stem cell transplantation from an HLA-matched unrelated donor were published in the early 1970s (1). Following these reports, the Anthony Nolan Stem Cell Registry was founded in the United Kingdom in 1974, and similar initiatives followed in a few years across Europe, America, and Asia (2). In 2022, there are 136 donor registry and approximately 40 million stem cell donors in 55 countries (3).

Nearly 700,000 donors are registered with Turkish donor registry (3). Türkiye has about 40 million people between the ages of 18 and 55, which is the age range for stem cell volunteer donors (4). In Türkiye, the ratio of volunteers to this age group remains at a very low level of 0.017. A large number of people must be screened in order to find suitable unrelated donors for thousands of people who are waiting for stem cell transplants. As a result, more stem cell volunteer donors are required. Only 1.2 percent of the eligible donors found between 2011 and 2020 were volunteer donors registered with Turkish donor registry, according to statistics from stem cell transplant candidates who applied to the The Turkish blood and bone Marrow donor registry of Istanbul Faculty of Medicine (Shortcode:TRIS-Turkish Registry of Istanbul). Ethnic differences are a key factor in HLA tissue typing, and the greater the number of stem cell volunteer donors in Türkiye, the more likely it is that patients will find a match. Despite the fact that the number of stem cell volunteer donors has increased in recent years, particularly as a result of social media calls, it is still not at the desired level. This can be attributed to a lack of information, concerns about the procedure used, and some beliefs and attitudes.

The aim of this study was to determine the knowledge, attitudes, and opinions of 5th year students from the Istanbul Faculty of Medicine and randomly selected members of the general public about stem cell donation.

MATERIALS and METHODS

The study included 285 students (Student group) who are 5th year students at the Istanbul Faculty of Medicine and 168 randomly selected individuals (Public group) who live in Istanbul's Silivri district. We calculated the sample size using the Open epi program. The prevalence of stem cell donation awareness among medical students was estimated to be 25%. The sample diameter was calculated to be at least 289 with a 5% margin of error at the 95% confidence level. 300 questionnaires were filled out by the students. 285 of these were completely filled out and evaluated. The prevalence of awareness was predicted to be lower in adults selected from the community, and

the prevalence was assumed to be 12% in Open epi, with a sample size of 163 people. 170 questionnaires were filled, of which 168 complete questionnaires were included in the study. Individuals who were invited and attended the training meetings, which were planned separately for students and adults, and who volunteered to fill out the questionnaires prior to the training were included in both groups. Without sampling, questionnaires were given to all groups on a voluntary basis.

Individuals who voluntarily participated in the survey were asked to answer 12 questions to determine the demographic characteristics of the participants, 3 questions to learn about their knowledge of stem cell voluntary donation, and 6 questions to determine their opinions about being a volunteer donor, all of which were answered using the observational interview method. The obtained data were analyzed with a 95 percent confidence interval using the "SPSS for Windows 21.0" program. The chi-square test was used to analyze the data, which was expressed as a percentage, mean, and standard deviation.

This study was supported by the Clinical Research Ethics Committee of Istanbul University (28.03.2018, no:491). This study was approved by the ethical review boards of Istanbul University, Istanbul, Türkiye, and conducted in accordance with the standards of the Declaration of Helsinki.

RESULTS

The mean age of the student group participating in the study was determined as 24.19±1.03, while the average age of the public group was determined as 45.4±12.5. Demographic data of both groups are shown in Table-1.

Table 1: Demographic data of participants

| | Public Group N (%) | Student Group N (%) |
|---------------------------|-----------------------|---------------------------|
| Age | | |
| 18-35 | 49 (29.17) | 282 (98.95) |
| 36-50 | 57 (33.93) | 3 (1.05) |
| 51-80 | 62 (36.90) | 0 |
| Gender | | |
| Male | 55 (32.7) | 149 (52.3) |
| Female | 113 (67.3) | 136 (47.7) |
| Education | | |
| No education | 1 (0.6) | 0 |
| Primary Education | 35 (20.8) | 0 |
| High School | 56 (33.3) | 0 |
| University /Undergraduate | 76 (45.2) | 285 (100) |
| Marital Status | | |
| Married | 113 (67.3) | 3 (1.05) |
| Single | 55 (32.7) | 282 (98.95) |
| Monthly Income | | |
| 0 | 42 (25) | 176 (61.75) |
| <1700 TL | 34 (20.24) | 84 (29.47) |
| 1700-4000 TL | 60 (37.71) | 20 (7.02) |
| 4000 TL + | 32 (19.05) | 5 (1.75) |

When the public group's demographic data and willingness to be a stem cell donor were compared, there was no statistically significant difference. When the demographic data of the

student group and their desire to be a stem cell donor were compared, it was discovered that female students were statistically significantly more likely than male students to want to be a donor ($p < 0.0001$).

One hundred seventeen people (69.6%) from the public group stated that they had children. There was no statistically significant difference between the participants with and without children in terms of the criterion of wanting to be a stem cell donor.

Seventy-four percent of the general public and seventy-six percent of students have never donated blood before. When asked whether they would like to be a stem cell volunteer donor, 61% of the public group and 77% of the student group stated that they wanted to volunteer, and a statistically significant difference was found between the two groups ($p = 0.014$). The students were found to have given statistically significant correct answers to the questions we asked to assess their understanding of stem cell donation. 57 percent of the general public said they learned about stem cell donation from written and visual media, while 88 percent of students said they learned about it from schools and seminars (Table 2).

Table 2: Responses of the study groups about stem cell donation

| | | Public Group N (%) | Student Group N (%) | p |
|--|--|-----------------------|------------------------|-------------------|
| Attitude To Stem Cell Donation | Never donated blood | 124 (73.8) | 216 (75.78) | 0.74 |
| | Willing to be a stem cell donor | 102 (60.71) | 219 (76.84) | 0.014 |
| | Cares about who the donation is given | 37 (22.02) | 74 (25.96) | 0.5 |
| Knowledge levels on stem cell donation | The correct answer to the question of what is stem cell donation | 107 (63.69) | 257 (90.17) | <0.0001 |
| | The correct answer to the question of where to donate stem cells | 111 (66.07) | 262 (91.92) | <0.0001 |
| Ways to learn about stem cell donation | Written/ Visual Media | 96 (57.14) | 11 (3.85) | <0.0001 |
| | School/ Seminar | 15 (8.92) | 251 (88.07) | <0.0001 |

DISCUSSION

Unrelated volunteer donors can be a source of stem cells for patients with hematological malignancies, immune deficiencies, and inherited metabolic disorders when a relative HLA compatible donor is unavailable (5,6). Donors registered in the databases of bone marrow and cord blood registry help patients find an HLA-matched unrelated donor in about half of the cases (7,8). The World Marrow Donors Association (WMDA), an international volunteer donor pool, was founded in 1994, and provides the opportunity to screen donors who may be suitable for a patient, not only from national but also from international donors. This study aimed to investigate the knowledge and attitudes of randomly selected individuals and medical faculty 5th year students about stem cell donation and to increase their awareness.

According to the WMDA's data from 2020, 59 percent of the 40 million donors were between the ages of 26 and 45, with 57 percent of these donors being women, and 13 percent were between the ages of 18 and 25, with 60 percent of these donors being women. According to surveys, women are more likely to donate than men (9,10). There was no statistically significant difference between the public group's age and gender data, and their willingness to be a stem cell donor. Female students were statistically significantly more likely than male students to want to be a donor in the student group.

When obtaining written consent from donors, it is critical that they are fully informed. Protecting the donor's identity, having a physical examination and psychological evaluation by impartial physicians, explaining exactly how the stem cell or bone marrow will be taken and other procedures will be done, and verbally explaining that the patient's life will be in danger if the decision is changed at the last stage are all necessary. The donor should be given enough time to make a decision (11). When we look at the WMDA 2020 data, we can see that countries with a high level of education have a large donor pool. Individuals with a high level of education are more willing to volunteer and donate blood on a regular basis, according to studies. (6,7). There is a direct correlation between donating blood and being a stem cell donor, according to a Mayo Clinic survey of medical school students (12). When the number of stem cell volunteer donors is compared to the population of the countries, the United Arab Emirates has 0.54 percent, Iran has 0.00007 percent, Türkiye has 0.08 percent, Germany has 8.3 percent, and the United States has 2.5 percent (11). Aside from religious and ethnic differences, the countries' high national income is a major factor in determining these rates. In our survey, 78.5 percent of the public group had a high school or higher education level compared to the 5th year students. When compared to the public group, the student group wanted to be a donor at a statistically significant level. This situation can be explained by the medical students' knowledge of stem cell donation and stem cell collection procedures. While our study found no statistical significance in terms of blood donation, it

was discovered that 74 percent of the public and 76 percent of the student groups had never donated blood before.

Individuals with and without children showed no significant differences in their willingness to volunteer. In a study conducted in the United States, medical students were randomly given questionnaires containing emotional or rational information about stem cell donation, and those who completed the questionnaire with emotional information stated that they would be a significant donor (13). Some volunteers stated that having a child motivated them to become a stem cell donor, while others stated that they gave up volunteering after having a child in interviews conducted with volunteer donors registered with the The Turkish blood and bone Marrow donor registry of Istanbul Faculty of Medicine. They claim that they are refusing because they may need a transplant for their own children in the future and will be unable to donate stem cells again.

The increase in the number of donor candidates registered in the system in recent years can be attributed to more widely available technological opportunities, as well as promotion/information activities carried out in various branches such as the press and social media networks (11). Unfortunately, there are no regular programs or public service announcements in Türkiye's written or visual media to raise awareness or inform the public about stem cell donation. It is requested to be a donor through a patient, campaigns are organized for this, and the information is not fully provided, especially in the social media news. For example, announcements are made that it will be sufficient to donate 3 tubes of blood only once to become a donor. Most of the donors won in these ways, when called for other patients, unfortunately either do not remember being a donor or give up volunteering by stating that they are a donor only for the patient for whom the campaign is made. We asked our participants, "Does it matter to whom their donation will be given?" To the question, 26% of the student group and 22% of the public group answered "yes, it is important". These rates imply a loss of about a quarter of the data pool.

Fifty seven percent of the general public said they learned about stem cell donation from written and visual media, while 88 percent of students said they learned about it from schools and seminars. We can both expand our donor pool and have more conscious and permanent donors by informing the public through written and visual media, as well as raising student awareness through seminars on being a volunteer donor during their educational period.

World Donor Day is celebrated on the third Saturday of September each year. Raising awareness of stem cell donation through various activities such as media, social communication networks, NGOs, schools and organizations will contribute both to the treatment of patients and to the country's economy.

Ethics Committee Approval: This study was approved by Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine Clinical Research Ethics Committee (Date: 23.03.2018, No: 2018/354).

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- Ç.K.Ç., A.E.Ö., F.S.O.; Data Acquisition- Ç.K.Ç., Y.O., H.G.; Data Analysis/Interpretation- Ç.K.Ç., A.E.Ö., N.B., F.S.O.; Drafting Manuscript- Ç.K.Ç., Y.O., F.S.O.; Critical Revision of Manuscript- Ç.K.Ç., A.E.Ö., H.G., N.B., F.S.O.; Final Approval and Accountability- Ç.K.Ç., A.E.Ö., Y.O., H.G., N.B., F.S.O.; Material and Technical Support- Ç.K.Ç.; Supervision- Ç.K.Ç., A.E.Ö., F.S.O.

Conflict of Interest: The authors have no conflict of interest to declare.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Tarih: 23.03.2018, No: 2018/354).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- Ç.K.Ç., A.E.Ö., F.S.O.; Veri Toplama- Ç.K.Ç., Y.O., H.G.; Veri Analizi/Yorumlama- Ç.K.Ç., A.E.Ö., N.B., F.S.O.; Yazı Taslağı- Ç.K.Ç., Y.O., F.S.O.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- Ç.K.Ç., A.E.Ö., H.G., N.B., F.S.O.; Son Onay ve Sorumluluk- Ç.K.Ç., A.E.Ö., Y.O., H.G., N.B., F.S.O.; Malzeme ve Teknik Destek- Ç.K.Ç.; Süpervizyon Ç.K.Ç., A.E.Ö., F.S.O.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.







REFERENCES

1. Hansen JA, Clift RA, Thomas ED, Storb R, Giblett ER. Transplantation of marrow from an unrelated donor to a patient with acute leukemia. *N Engl J Med* 1980;303(10):565-7.
2. Confer DL, Miller JP, Chell JW. Bone marrow and peripheral blood cell donors and donor registries. In: Forman SJ, Negrin RS, Antin JH, Appelbaum FR, editors. *Thomas' hematopoietic cell transplantation*. 5th ed. Chichester: Wiley;2016. p.423-30.
3. The World Marrow Donor Association (WMDA). Total Number of Donors and Cord blood units.(cited 2022):Available from: URL: <https://statistics.wmda.info/>.
4. Türkiye İstatistik Kurumu. Nüfus Projeksiyonları. Available from: URL: <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=nufus-ve-demografi-109&dil=1>.
5. Koopmans EM, Schattenberg A, Joosten I, Preijers F, De Kort WL. Analysis of 127 stem cell donations of the regional Bone Marrow Donor Bank Europdonor Nijmegen, The Netherlands. *Leuk Lymphoma* 2003;44(6):983-7.
6. Saito H, Ito M, Kato S, Kodera Y, Okamoto S, Taniguchi S, et al. The Japan Marrow Donor Program, 25 years of experience in achieving 20,000 bone marrow transplantations: organization structure, activity, and financial basis. *Bone Marrow Transplant* 2018;53(5):609-6.

7. Oguz FS. The importance of bone marrow and cord blood banking in the search of unrelated stem cell donors. J Ist Faculty Med 2021;84(2):249-55.
8. Oguz FS, Erol A, Kekik CC, Kivanc D, Suleymanoglu M, Ogret Y, Ciftci HS, Besisik SK. Blood and bone marrow donor registry of Istanbul medical faculty activity and experience in past 3 years. Cell Tissue Bank 2022;23(3):483-88.
9. Galanis PA, Sparos LD, Katostaras T, Velonakis E, Kalokerinou A. Factors that influence Greeks' decision to register as potential bone marrow donors. Transplant Proc 2008;40(5):1271-4.
10. Sikora A, Wiorkowski K, Szara P, Drabko K. Knowledge and attitude of Lublin universities students' toward the opportunity of becoming unrelated bone marrow donor. Folia Med Cracov 2014;54(2):27-33.
11. Bulut A. Kemik iliği ve kök hücre donörlerinin bağış sürecinin son safhasında bağıştan vazgeçmesi: Donör hakkı mı cinayet mi? Türkiye Biyoetik Dergisi 2016;3(1):36-40.
12. Narayanan P, Wolanskyj A, Ehlers SL, et al. Medical Students' Knowledge, Familiarity, and Attitudes towards Hematopoietic Stem Cell Donation: Stem Cell Donation Behaviors. Biol Blood Marrow Transplant 2016;22(9):1710-6.
13. Studts JL, Ruberg JL, McGuffin SA, Roetzer LM. Decisions to register for the National Marrow Donor Program: rational vs emotional appeals. Bone Marrow Transplant 2010;45(3):422-8.

GENETIC AND CLINICAL PROFILING OF MENDELIAN SUSCEPTIBILITY TO MYCOBACTERIAL DISEASE PATIENTS; SINGLE-CENTER EXPERIENCE

MİKOBAKTERİYEL HASTALIKLARA MENDEL DUYARLILIĞI HASTALARININ GENETİK VE KLİNİK PROFİLİ; TEK MERKEZ DENEYİMİ

Serdar NEPESOV¹ , Sinem FIRTINA² , Fatma Deniz AYGÜN³ , Begüm IŞIKGİL⁴ , Yıldız ÇAMCIOĞLU³ , Ayça KIYKIM³ , Esra YÜCEL⁵ , Yasemin KENDİR DEMİRKOL⁶ , Akif AYAZ⁷

¹Istanbul Medipol University, Faculty of Medicine Departments of Pediatric Allergy and Immunology, Istanbul, Türkiye

²Istinye University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Department of Molecular Biology and Genetics, Istanbul, Türkiye

³Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Division of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Istanbul, Türkiye

⁴Istinye University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Biology and Genetics, Istanbul, Türkiye

⁵Istanbul University, Department of Pediatric Allergy and Immunology, Istanbul, Türkiye

⁶University of Health Sciences, Umraniye Teaching and Research Hospital, Department of Pediatric Genetics, Istanbul, Türkiye

⁷Istanbul Medipol University, Department of Medical Genetics, Istanbul, Türkiye

ORCID ID: S.N. 0000-0002-4551-5433; S.F. 0000-0002-3370-8545; F.D.A. 0000-0002-7830-7155; B. İ. 0000-0002-7541-4596; Y.Ç. 000-0002-4796-6828; A.K. 0000-0001-5821-3963; E.Y. 0000-0003-3712-2522; Y.K.D. 0000-0001-8016-5224; A.A. 0000-0001-6930-7148

Citation/Atf: Nepesov S, Firtina S, Aygun FD, Isikgil B, Camcioglu Y, Kiykim A, et al. Genetic and clinical profiling of mendelian susceptibility to mycobacterial disease patients; single-center experience. Journal of Journal of Advanced Research in Health Sciences 2022;5(3):140-146. <https://doi.org/10.26650/JARHS2022-1119899>

ABSTRACT

Objective: Mendelian susceptibility to mycobacterial disease (MSMD) is a subgroup of primary immunodeficiencies which develops with the Bacille Calmette–Guérin (BCG) vaccine or non-tuberculous mycobacterial infections. The clinical symptoms have a broad spectrum, from localized to disseminated infections.

Materials and Methods: Herein, we performed whole-exome sequencing (WES) on 13 patients with MSMD phenotype. All variants were confirmed by Sanger sequencing. The mean age was 8.41 years (min 3 – max 14 years), and the mean age of symptom onset was 4.6 years in our cohort.

Results: We found previously identified *IFNGR1* (*n*=1), *IFNGR2* (*n*=1), *TYK2* (*n*=1), *IL12RB1* (*n*=1), and *CYBB* (*n*=1) gene variants in nine patients. Our patients mostly suffered from lymphadenitis (61.5%), osteomyelitis (38%), and miliary tuberculosis (31%). All patients except one had had the BCG vaccination. Two patients developed BCGitis after vaccination. Three patients suffered from disseminated BCG infection (BCGosis).

Conclusion: Our findings show the importance of molecular diagnosis in patients with severe infections as an approach for understanding the genetic basis of infectious diseases and deciding on treatment options. The deficiency of IFN-mediated immunity genes plays a crucial role in the pathogenesis of MSMD and must be considered in pediatric patients with BCGitis.

Keywords: MSMD, BCGitis, whole exome sequencing

ÖZ

Amaç: Mikobakteriyel hastalığa (MSMD) Mendel duyarlılığı, Bacille Calmette–Guérin (BCG) aşısı veya tüberküloz dışı mikobakteriyel enfeksiyonlarla gelişen primer immün yetmezliklerin bir alt grubudur. Klinik semptomlar, lokalize enfeksiyondan yayılmış enfeksiyona kadar geniş bir spektruma sahiptir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada; MSMD fenotipli 13 hastada tüm ekzom dizileme (WES) yaptık. Tüm varyantlar Sanger dizileme ile doğrulandı. Bizim kohortumuzda ortalama yaş 8.41 yıl (en az 3 – en fazla 14 yıl) ve ortalama semptom başlangıç yaşı 4.6 idi.

Bulgular: Dokuz hastada; *IFNGR1* (*n*=2), *IFNGR2* (*n*=1), *TYK2* (*n*=1), *IL12RB1* (*n*=1) ve *CYBB* (*n*=1) gen varyantları bulduk. Hastalarımızda en çok lenfadenit (%61,5), osteomyelit (%38) ve miliyer tüberküloz (%31) mevcuttu. Biri hariç tüm hastalara BCG aşısı yapıldı. İki hastada aşılama sonrası BCGitis gelişti. Üç hasta, yayılmış BCG enfeksiyonundan (BCGosis) muzdaripti.

Sonuç: Bulgularımız, enfeksiyon hastalıklarının genetik temelini anlamasında ve tedavi seçeneklerine karar verilmesinde bir yaklaşım olarak ağır enfeksiyonlu hastalarda moleküler tanının önemini göstermektedir. IFN aracılı bağışıklık genlerinin eksikliği, MSMD'nin patogeneğinde çok önemli bir rol oynar ve BCGitis'li pediatrik hastalarda düşünülmelidir.

Anahtar Kelimeler: MSMD, BCGitis, tüm ekzom dizileme

Corresponding Author/Sorumlu Yazar: Serdar NEPESOV E-mail: dr_nepesov@hotmail.com

Submitted/Başvuru: 03.06.2022 • **Revision Requested/Revizyon Talebi:** 01.08.2022 • **Last Revision Received/Son Revizyon:** 05.08.2022

• **Accepted/Kabul:** 10.08.2022 • **Published Online/Online Yayın:** 25.08.2022



This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

INTRODUCTION

Mendelian susceptibility to mycobacterial disease (MSMD) is a type of primary immunodeficiency characterized by susceptibility to mycobacterial infections or other intracellular pathogens. Infectious agents in patients with MSMD tend to be weakly virulent environmental organisms including mycobacteria (the nontuberculous mycobacteria (NTM), BCG, occasionally *Mycobacterium tuberculosis*); bacteria (salmonellae, some *Burkholderia*, *Listeria*); fungi, especially the dimorphic molds (*Histoplasma*, *Blastomyces*, *Coccidioides*, cryptococci); and the intracellular parasite *Leishmania*. In addition, herpes virus family infections are common and can be severe, including herpes simplex virus (HSV) type 1 and 2, cytomegalovirus (CMV), and Epstein–Barr virus (EBV). Bacillus Calmette–Guerin (BCG) infection and disseminated BCG infection are seen quite frequently in MSMD disorders because of reduced IL-12 and IFN- γ cytokines (1). *IFNGR1*, *IFNGR2*, *STAT1*, *IL12B*, *IL12RB1*, *IRF8*, *CYBB*, and *NEMO* genes are the best-known disease-causing genes underlying MSMD disorders, all of which are related to IFN- γ mediated immunity (2,3). To date, more than 200 pathogenic variants have been identified in MSMD-related genes (4).

IL-12RB1 deficiency (autosomal recessive inheritance) is the most common gene defect to cause MSMD (5). *IL-12RB1* is responsible for the formation of IL-12 and IL-23 receptors. It has been reported that IFN- γ production is low and there is no IL-12 response (T and NK cells) in patients with *IL-12RB1* deficiency (6,7).

IFNGR1 and *IFNGR2* deficiencies are a rare type of MSMD that includes recessive or dominant inheritance leading to complete and partial IFN receptor defects (8). *IFNGR1* and *IFNGR2* encode the alpha and beta chain of the IFN receptor and play a key role in mediating the IFN- γ cytokine production and response (9,10).

The *TYK2* (Tyrosine Kinase 2) gene is an autosomal recessive inherited deficiency that encodes Tyk2 protein. Tyk2 protein regulates signal transduction of IL-6, IL-10, IL-12, and IL-23 receptors and IFN α / β cytokines. Patients with *TYK2* deficiency have a better clinical course than those with other MSMD-related genes. However, *TYK2* deficiency poses problems in the regulation of IL-12 and IL-23 receptors and is associated with susceptibility to MSMD and tuberculosis (11,12).

Most of the genes involved in the formation of MSMD are inherited autosomal. However, the *CYBB* gene shows X-linked recessive inheritance. The *CYBB* gene is expressed in large amounts on phagocytic cells and in small amounts on B cells. Most of the germline mutations occurring in *CYBB* have been associated with chronic granulomatous disease (CGD) and disruption of the respiratory burst of phagocytic cells. Some mutations in the *CYBB* gene have been reported to cause MSMD (13,14).

Clinical genetic testing has an important role in resolving the uncertainty of clinical diagnosis in heterogeneous disorders,

managing treatment, and genetic counseling for the family. In addition, delayed genetic testing can contribute to morbidity and mortality (15). Whole exome sequencing approaches have enabled accurate and rapid genetic diagnoses and improved diagnostic success rates (16). Understanding the genetic background in MSMD disorders plays a key role in targeting treatment and determining management options (17).

Herein, we report five variants in the *IFNGR1&2*, *TYK2*, *IL12RB1*, and *CYBB* genes in 13 MSMD patients. In this study, we were able to identify pathogenic variants in MSMD patients with high accuracy, confirm the familial segregations, and evaluate the genotype–phenotype correlations. The importance of identifying gene defects in the clinical diagnosis of MSMD is discussed.

MATERIAL and METHODS

Approval for this study was obtained from the “Non-Invasive Clinical Research Ethics Committee” of Istanbul Medipol University (January 2022, Decision no: 56). Written informed consent was obtained from the patients and the parents included in the study.

Clinical characteristics of the patients

Thirteen patients (8 male with mean age 5.5 and 5 female with mean age 5.4) with the diagnosis of BCG or non-tuberculous mycobacterial infections were enrolled in this study. Gastric juice after prolonged fasting, sputum, cerebrospinal fluid, thoracentesis fluids, and lymph node biopsy materials in cases with lymphadenopathy were used for mycobacterial culture. Löwenstein–Jensen and Bactec media were used in culture examinations. Patient samples were evaluated for acid-resistant bacilli (ARB) positivity in Ehrlich Ziehl Neelsen (EZN) staining. X-ray and computed tomography (CT) were used for radiographic examinations. Data on demographic characteristics, parental consanguinity status, family history, clinical manifestations (age at onset of the disease, age at diagnosis, and infection history), treatment modality, and follow-up were retrieved from patient files and electronic records. Immunologic investigations included complete blood count analyses (white blood cell, lymphocyte, and neutrophil counts), CD3+, CD4+, and CD8+ T cell, CD19+ B cell, and CD16/56+ natural killer (NK) cell, serum IgG, -A, -M, -E levels, nitro blue tetrazolium (NBT) tests, and genetic analyses.

Whole Exome Sequencing and Sanger Sequencing

The genomic DNA of the patients and their family members were isolated with a genomic DNA isolation kit. A WES was applied by using SureSelect Human All Exon kit v.5 (Agilent Technologies, Santa Clara, California) by NextSeq 550 system (Illumina Inc., San Diego, California, U.S). Sanger sequencing was applied with region-specific primers. Fifty nanograms of genomic DNA were used for PCR reaction. The following conditions were used for PCR amplification: The initial denaturation step at 94°C for 5 min, 30 cycles of 94°C for 30 s, 60°C for 40 s, 72°C for 1 min, and a final step at 72°C for 5 min. Two percent agarose gel was used for the PCR amplifications check. DNA sequence variations were determined by bidirectional sequencing.

DATA ANALYSIS

FASTQ files were mapped to a reference genome (hg19) with the Burrows–Wheeler Aligner (BWA), and sequence alignment/map (SAM) tools were used to generate a BAM file and then a vcf file. Variants with min 20X depth and 20% frequency were filtered for further analysis. To investigate the disease-causing variant, variants were filtered according to their MAF (<0.01). For the clinical interpretation, open-source programs such as Sorting Intolerant from Tolerant (SIFT) (<http://sift.jcvi.org/>), Polymorphism Phenotyping v2 (Polyphen2) (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), variant effect predictor (VEP) (<https://www.ensembl.org/Tools/VEP>), Varsome (<https://varsome.com/>), and Mutation Taster (<https://www.mutationtaster.org/>) were used. The available public databases were used for the allele frequency of the variants.

RESULTS

We evaluated 13 MSMD patients. The mean age was 8.41 years (min 3 – max 14 years), and the mean age of symptom onset was 4.6 years. The nationality of patients was as follows: Turkish (n=10, 77%), Syrian (n=2, 15%, patients: P13 and P14), and Albanian (n=1, 8%, patient: P11). Two patients died during follow-up. Clinical characteristics (Table 1) and laboratory and immunological findings of the patients (Table 2) are shown.

The most frequent clinical findings were lymphadenitis (61.5%), osteomyelitis (38%), and miliary tuberculosis (31%). All patients except one had had the BCG vaccination. Two patients developed BCGitis after vaccination. Three patients suffered from disseminated BCG infection (BCGosis). We performed whole exome sequencing on 13 patients with the MSMD phenotype and found *IFNGR1* (n=1), *IFNGR2* (n=1), *TYK2* (n=1), *IL12RB1* (n=1), and *CYBB* (n=1) gene variants in nine patients (Table 3). All variants were confirmed by Sanger sequencing.

IFNGR1 Deficiency: a five-year-old boy (P01) carried a monoallelic *IFNGR1* missense variant (NM_000416.3:c.589G>A; p.E197K, rs55666220), and a three-year-old boy (P02) carried a biallelic *IFNGR1* frameshift variant (NM_000416.3:c.523delT, p.R175Efs*33, rs749956849) individually. P01 had a history of sepsis and fever at one month old without any additional features. His laboratory findings, cell count, lymphocyte subsets, serum IgG, IgA, IgM, and IgE levels, and the NBT were normal. P02 had left axillary lymphadenitis at six months old and osteomyelitis of the ulna bilaterally. This patient underwent hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) but died due to organ failure six months after the HSCT.

IFNGR2 Deficiency: Two siblings (P3 and P4) were born to a consanguineous family at full term and without any complications. We identified a homozygous missense variant in the *IFNGR2* gene in both siblings. This variant (NM_005534.3:c.421G>A, p.G141R, rs1196094724) was located in exon 4 of the gene. The index patient (P3) is a two-year-old boy who was admitted to the hospital with axillary erythematous axillary inflation and abscess at the vaccination site of a BCG vaccine when he was

six months old. A clinical sample of the gastric aspirate did not yield bacilli. The excised lymph node biopsy confirmed the presence of AFB, and the histopathological examination showed cellular infiltration and granulomatous infiltration. The culture yielded the *Mycobacterium Tuberculosis* complex with the *Mycobacterium Bovis* species. The patient was compatible with tuberculosis lymphadenitis. Complete blood count, laboratory findings, and detailed T, B, and NK immunophenotyping and NBT test results were all normal. According to current findings, the patient was diagnosed with BCGitis. He was treated successfully with isoniazid, rifampin, and ethambutol. His sister (P4) is an 11-month-old girl with a history of axillary lymphadenitis and hepatosplenomegaly. She was given antituberculosis treatment when she was eight months of age. We do not have any information about her culture and histopathologic results. Neither sibling had pulmonary involvement, and they showed a dramatic clinical response to anti-tuberculosis treatment.

TYK2 deficiency: We detected a homozygous frameshift variant in the *TYK2* gene (NM_003331.5:c.647delG, p.P216Rfs*14, rs1555719963) in two siblings. They were treated with antibiotics and IFN- γ . Both siblings (P8 and P9) were born to a consanguineous family. No complications developed after the BCG vaccination. They were treated in the intensive care unit at the age of one month and four months due to pneumonia, and no infectious agents were detected. A diffuse varicella zoster infection developed after varicella vaccination at the age of one year.

IL12RB1 deficiency: We identified a homozygous splice site mutation (NM_001290024.1:c.184+2T>G, rs765825621) in the *IL12RB1* gene in two siblings (P6 and P7) born to consanguineous-marriage parents. They were diagnosed with recurrent fever and enteritis symptoms. *Salmonella spp.* was positive in their blood and stool culture. P6 died due to salmonella sepsis. P7 was treated with antibiotics and IFN- γ .

CYBB deficiency: We showed a hemizygous frameshift (NM_000397.4:c.1308delC, p.K438Rfs*64) variant in the *CYBB* gene in one patient (P10). This patient was hospitalized four times because of fever and cervical lymphadenitis. His NBT test was positive, and he was treated with antibiotics and IFN- γ .

DISCUSSION

Mendelian susceptibility to MSMD is a rare disorder that mostly starts during childhood and has a broad spectrum, from localized to disseminated BCG infections. Patients are characterized by a defective IFN- γ immune response leading to a predisposition to selective infections (5). Today, X-linked (*NEMO* and *CYBB*) and autosomal dominant and/or recessive-inherited *IFNGR1*, *IFNGR2*, *IL12B*, *IL12RB1*, *IL12RB2*, *TYK2*, and *IL23R* genes are the most known genes related with MSMD etiology. More than 80% of MSMD patients suffer from *IL12RB1/2* and *IFNGR1/2* gene deficiencies (11).

Herein, we analyzed 13 MSMD patients and found *IFNGR1*, *IFNGR2*, *TYK2*, *IL12RB1*, and *CYBB* gene defects in nine of them. These variants are known as damaging in the literature.

Table 1: Clinical Features of the MSMD patients

| Patients | P01 | P02 | P03 | P04 | P05 | P06 | P07 | P08 | P09 | P10 | P11 | P12 | P13 |
|----------------------|----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------|--|--|------------------------|------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------|
| Gene | IFNGR1 | IFNGR1 | IFNGR2 | IFNGR2 | NEG | IL12RB1 | IL12RB1 | TYK2 | TYK2 | CYBB | NEG | NEG | NEG |
| Gender | M | M | M | F | M | F | F | F | M | M | M | F | M |
| Current Age | 5 | 3 | 2 | 11 mo | 4 | 8 | 13 | 4 | 6 | 8 | 10 | 14 | 14 |
| Diagnosis Age | 1 | 1 | 1 | 8 mo | 10 mo | 6 | 11 | 1 | 5 | 6 | NA | NA | NA |
| Symptoms | Recurrent Fever | Axillary lymphadenitis | Axillary lymphadenitis | Axillary lymphadenitis | Osteomyelitis | Enteritis, Fever, Lymphadenitis | Enteritis, Fever, Lymphadenitis | Pneumonia | Pneumonia | Fever, Lymphadenitis | Pain in left ankle | Pain in right knee and hip | Fever, Back pain |
| Lymphadenitis | No | Yes | Yes | Yes | No | Yes | Yes | No | No | Yes | No | Yes | Yes |
| Osteomyelitis | Right Wrist | Bilateral Ulna | No | No | Sternum | No | No | No | No | No | Left Tibia | Right knee and hip | Vertebra, left scapula |
| Miliary Tuberculosis | No | No | Yes | Yes | No | No | No | No | No | No | No | Yes | Yes |
| Enteritis | No | No | No | No | No | Yes | Yes | No | No | No | No | No | No |
| Hepatosplenomegaly | No | No | No | Yes | No | No | No | No | No | Yes | No | No | No |
| Infections | <i>M.Bovis</i> /joint aspiration | <i>M. Tuberculosis</i> (lymph tissue) | <i>M. Tuberculosis</i> (lymph tissue) | <i>M. Tuberculosis</i> (lymph tissue) | <i>M. Bovis</i> | <i>Salmonella</i> spp/in blood and stool | <i>Salmonella</i> spp/in blood and stool | Varicella-zoster virus | Varicella-zoster virus | <i>S.Aureus</i> (from the lymph node) | <i>M.Bovis</i> /joint aspiration | <i>M.Bovis</i> /joint aspiration | NA |
| BCG Vaccination | No | Yes | Yes | Yes | Yes | Yes | Yes | Yes | Yes | Yes | Yes | Yes | Yes |
| BCGIt | No | No | Yes | No | No | No | Yes | No | No | No | No | No | No |
| BCGosis | No | Yes | Yes | Yes | No | No | No | No | No | No | No | No | No |
| Last Status | Alive | ex | Alive | Alive | Alive | ex | Alive | Alive | Alive | Alive | Alive | Alive | Alive |

M: Male, F: Female, Mo: Months, Neg: Negative, NA: Not available, *M.Bovis*: *Mycobacterium bovis*, BCG: Bacillus Calmette–Guerin, Ex: Exitus

Table 2: Laboratory and Immunological Features of the MSMD patients

| Patients | P01 | P02 | P03 | P04 | P05 | P06 | P07 | P08 | P09 | P10 | P11 | P12 | P13 |
|--------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------|--------|--------|
| WBC x10 ⁹ /L | 9700 | 8500 | 20000 | 17000 | 9970 | 11400 | 6600 | 11700 | 6640 | 9225 | 4110 | 7490 | 6300 |
| ANS | 3000 | 2800 | 5030 | 6600 | 4820 | 8830 | 4400 | 3270 | 2160 | 4540 | 1550 | 4920 | 4870 |
| ALS | 4300 | 4800 | 13100 | 9000 | 3960 | 2600 | 2200 | 6240 | 3830 | 2960 | 2160 | 1880 | 860 |
| Eosinophil x10 ⁹ /L | 1100 | 300 | 1580 | 600 | 50 | 30 | 330 | 1000 | 240 | 120 | 60 | 190 | 6 |
| Monocyte x10 ⁹ /L | 500 | 1100 | 990 | 1100 | 1090 | 730 | 990 | 690 | 380 | 1600 | 330 | 480 | 800 |
| IgG mg/dl | 1070 | 800 | 620 | 976 | 1151 | 1001 | 1100 | 721 | 880 | 890 | 1097 | 1327 | 1680 |
| IgM mg/dl | 78 | 94 | 121 | 130 | 88 | 137 | 144 | 105 | 110 | 88 | 70 | 105 | 210 |
| IgA mg/dl | 178 | 68 | 59 | 77 | 35 | 117 | 110 | 33 | 88 | 77 | 172 | 176 | 110 |
| IgE IU/L | 140 | 77 | 34 | 66 | 19 | 33 | 90 | 54 | 44 | 17 | 196 | 48 | 20 |
| CD3% | 69 | 42 ↓ | 66 | 68 | 71 | 57 | 71 | 82 | 77 | 66 | 74 | 80 | 73 |
| CD4% | 41 | 30 ↓ | 36 | 36 | 50 | 24 ↓ | 39 | 34 | 32 | 36 | 35 | 50 | 39 |
| CD8% | 36 | 13 ↓ | 28 | 24 | 19 | 21 | 27 | 31 | 26 | 22 | 26 | 40 | 24 |
| CD19% | 14 | 22 | 11 ↓ | 17 | 23 | 28 | 15 | 13 ↓ | 12 ↓ | 14 | 9 | 15 | 15 |
| CD16% | 8 | 8 | 6 | 14 | 5 | 12 | 8 | 11 | 8 | 5 | 12 | 4 | 6 |
| NBT test | Normal | Normal | Normal | Normal | Normal | Normal | Normal | Normal | Normal | Normal | Positive | Normal | Normal |
| IFN-γ | No | No | No | No | No | No | Yes | No | No | Yes | No | No | No |

WBC: White Blood Cells; ANS: absolute neutrophil count; ALS: Absolute Lymphocyte Count; NBT: Nitroblue tetrazolium Test, IFN-γ: interferon gamma

Table 3: Genetic variants in our patients

| Patients | Gene | cDNA position | Protein | dbSNP | Allelic Inheritance | MAF | ACMG/AMP | ClinVar |
|-------------|----------------|---------------------------|--------------|--------------|---------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| P01 | <i>IFNGR1</i> | NM_000416.3:c.589G>A | p.E197K | rs55666220 | Het | 0.000272 (ExAC) | Likely benign | VUS |
| P02 | <i>IFNGR1</i> | NM_000416.3:c.523delT | p.R175Efs*33 | rs749956849 | Hom | 0.000014/2 (GnomAD) | Pathogenic | Pathogenic |
| P03 and P04 | <i>IFNGR2</i> | NM_005534.3:c.421G>A | p.G141R | rs1196094724 | Hom | 0.000007 (GnomAD) | VUS | NA |
| P06 and P07 | <i>IL12RB1</i> | NM_001290024.1:c.184+2T>G | NA | rs765825621 | Hom | 0.00001 (ExAC) | Likely pathogenic | NA |
| P08 and P09 | <i>TYK2</i> | NM_003331.5:c.647delG | p.P216Rfs*14 | rs1555719963 | Hom | NA | Pathogenic | Likely pathogenic |
| P10 | <i>CYBB</i> | NM_000397.4:c.1308delC | p.K438Rfs*64 | NA | Hemi | NA | Likely pathogenic | NA |

NA: Not Available, MAF: Minor Allele Frequency, Het: Heterozygous, Hom: Homozygous, Hemi: Hemizygoty, ACMG/AMP: American College of Medical Genetics / Association for Molecular Pathology, VUS: Variant of Unknown Significance

IFNGR1/2 was one of the most common variants seen in our study. We identified a monoallelic missense E197K (P1) and a biallelic frameshift R175Efs*33 (P2) variant in two different individuals. E197K variant was in the IFN-binding domain of the protein, which is essential for the protein function (18). The other frameshift variant, R175Efs*33, might lead to loss of protein (19).

A functional IFN-γ receptor signaling must consist of two functional *IFNGR1* and two additional *IFNGR2* chains (20). Monoallelic or biallelic mutations of this gene cause the complete or partial loss of IFN-γ signaling (21). Disease-causing variants in the *IFNGR1* gene can be monoallelic or biallelic. Although both monoallelic and biallelic variants cause impaired IFN-γ signaling, biallelic variants lead to a complete lack of signaling whe-

reas monoallelic variants have been associated with blocking the IFN- γ /IFN- γ R1 complex or JAK1 binding site of the receptor.

In addition, we identified a missense variant (G141R) in the *IFNGR2* gene in two siblings. This variant leads to misfolded proteins with abnormal *N*-glycosylation resulting in partial *IFNGR2* deficiency. Both siblings were admitted with skin complications and axillary lymphadenitis that developed after they received a BCG vaccine at approximately eight months of age. They were treated with anti-tuberculosis treatment.

We detected a splice site variant (c.184+2T>G) in the *IL21RB1* gene in two siblings. *IL21RB1/2* genes encode the p40 subunit of IL-12 and IL-23; deficiency of this gene is responsible for the lack of IL12 and IL23 production. Although this splice site variant has not been shown in an MSMD patient before, pathogenic variants in this gene have been associated with MSMD (22).

Apart from the common mechanisms of MSMD disorders, *TYK2* deficiency is a rare causative genetic disorder for this disease. The tyrosine kinase 2 (*TYK2*) gene is a Janus kinase (*JAK*) family member and plays a pivotal role in the signaling of some important cytokines, such as IL-6, IL-10, IL-12, IL-23, and IFN α / β (23). Besides *TYK2* deficiency, which is a rare condition, patients have clinical features such as intracellular bacterial infections, high IgE levels, and B/T cell lymphoma (12,24).

Here, a biallelic frameshift deletion (c.647delG) in the *TYK2* gene was found in two siblings. Biallelic variants in this gene have been associated with an impaired immune response to microbial and viral infections (23).

A hemizygous c.1308delC in the *CYBB* gene was detected in one MSMD patient. The *CYBB* variant in this case has not been previously published in the literature. MSMD patients with *CYBB* are diagnosed with X-linked CGD and this gene mutation cause a respiratory burst of phagocytes. Some CGD patients develop disseminated tuberculosis mycobacterial disease, which is named X-linked recessive (XR) MSMD due to *CYBB* deficiency (13).

Next-Generation Sequencing panels give a powerful advantage to understanding the genetic background of the patients and improving the success rate by detecting both mutations and CNVs. Screening MSMD patients with NGS panels leads to discovering new genetic etiologies of the MSMD pathogenesis and enlightens the genotype-phenotype correlation.

Our report points to the importance of genetic diagnosis in patients with severe infections as an approach for understanding the genetic basis of infectious diseases and deciding treatment options. In MSMD patients, the diagnosis is made late because the results of first-line immunological tests are mostly found to be normal. Patients with severe BCG and disseminated BCG infections should receive molecular diagnosis due to the increased risk of the diagnosis of inborn errors of human disorders.

Ethics Committee Approval: This study was approved by Istanbul Medipol University Non-Interventional Clinical Research Ethics Committee (Date: 06.01.2022, No: 56).

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- S.N., A.A., S.F.; Data Acquisition- S.N., A.A., S.F.; Data Analysis/Interpretation- B.I., S.N., Y.Ç., S.F., Y.K.D., A.A.; Drafting Manuscript- S.F., F.D.A., S.N.; Critical Revision of Manuscript- S.N., S.F.; Final Approval and Accountability- S.N., S.F.

Conflict of Interest: The authors have no conflict of interest to declare.

Financial Disclosure: This project was supported by Istanbul Medipol University.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul Medipol Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Tarih: 06.01.2022, No: 56).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- S.N., A.A., S.F.; Veri Toplama- S.N., A.A., S.F.; Veri Analizi/Yorumlama- B.I., S.N., Y.Ç., S.F., Y.K.D., A.A.; Yazı Taslağı- S.F., F.D.A., S.N.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- S.N., S.F.; Son Onay ve Sorumluluk- S.N., S.F.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu proje İstanbul Medipol Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

REFERENCES

1. Soyak Aytekin E, Keskin A, Tan C, Yalçın E, Doğru D, Özcelik U, et al. Differential diagnosis of primary immunodeficiency in patients with BCGitis and BCGosis: A single-centre study. *Scand J Immunol* 2021;94(4):e13084. doi: 10.1111/sji.13084.
2. Bustamante J. Mendelian susceptibility to mycobacterial disease: recent discoveries. *Hum Genet* 2020;139(6-7):993-1000.
3. Rosain J, Kong XF, Martinez-Barricarte R, Oleaga-Quintas C, Ramirez-Alejo N, Markle J, et al. Mendelian susceptibility to mycobacterial disease: 2014-2018 update. *Immunol Cell Biol* 2019;97(4):360-7.
4. Das J, Banday AZ, Shandilya J, Sharma M, Vignesh P, Rawat A. An updated review on Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases- a silver jubilee celebration of its first genetic diagnosis. *Expert Rev Clin Immunol* 2021;17(10):1103-20.
5. Filipe-Santos O, Bustamante J, Chappier A, Vogt G, Beaucoudrey L de, Feinberg J, et al. Inborn errors of IL-12/23- and IFN-gamma-mediated immunity: molecular, cellular, and clinical features. *Semin Immunol* 2006;18(6):347-61.
6. Zhou X, Jia W, Ni Z, Wang A, Liu Z, Hou M, et al. Three novel compound heterozygous *IL12RB1* mutations in Chinese patients with Mendelian susceptibility to mycobacterial disease. *PLoS One* 2019;14(4):e0215648. doi: 10.1371/journal.pone.0215648.
7. Tan C, Cagdas-Ayvaz D, Metin A, Keskin O, Tezcan I, Sanal O. Clinical and genetic features of *IL12Rb1* deficiency: Single center

- experience of 18 patients. *Turk J Pediatr* 2016;58(4):356-61.
8. Kerner G, Rosain J, Guerin A, Al-Khabaz A, Oleaga-Quintas C, Rapaport F, et al. Inherited human IFN-gamma deficiency underlies mycobacterial disease. *J Clin Invest* 2020;130(6):3158-71.
 9. van de Vosse E, van Dissel JT. IFN-gammaR1 defects: Mutation update and description of the IFNGR1 variation database. *Hum Mutat* 2017;38(10):1286-96.
 10. Indumathi CK, Bustamante J. Clinical and immunological profile of children with Mendelian Susceptibility to Mycobacterial Diseases (MSMD) from an Indian tertiary care hospital. *Indian J Tuberc* 2021;68(2):292-7.
 11. Boisson-Dupuis S, Ramirez-Alejo N, Li Z, Rao G, Kerner G, Lim CK et al. Tuberculosis and impaired IL-23-dependent IFN-gamma immunity in humans homozygous for a common TYK2 missense variant. *Sci Immunol* 2018;3(30):eaau8714. doi: 10.1126/sciimmunol.aau8714.
 12. Wu P, Chen S, Wu B, Chen J, Lv G. A TYK2 Gene Mutation c. 2395G>A Leads to TYK2 Deficiency: A Case Report and Literature Review. *Front Pediatr* 2020;8:253.
 13. Bustamante J, Arias AA, Vogt G, Galicia LB, Prando C, Grant AV, et al. Germline CYBB mutations that selectively affect macrophages in kindreds with X-linked predisposition to tuberculous mycobacterial disease. *Nat Immunol* 2011;12(3):213-21.
 14. Bustamante J, Picard C, Boisson-Dupuis S, Abel L, Casanova JL. Genetic lessons learned from X-linked Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1246:92-101.
 15. Chinn IK, Chan AY, Chen K, Chou J, Dorsey MJ, Hajjaret J, et al. Diagnostic interpretation of genetic studies in patients with primary immunodeficiency diseases: A working group report of the Primary Immunodeficiency Diseases Committee of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2020;145(1):46-69.
 16. Yang Y, Muzny DM, Xia F, Niu Z, Person R, Ding Y, et al. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing. *JAMA* 2014;312(18):1870-9.
 17. van Coller A, Glanzmann B, Cornelissen H, Möller M, Kinnear C, Esseret M, et al. Phenotypic and immune functional profiling of patients with suspected Mendelian Susceptibility to Mycobacterial Disease in South Africa. *BMC Immunol* 2021;22(1):1-17.
 18. Ahmed CM, Johnson HM. IFN-gamma and its receptor subunit IFNGR1 are recruited to the IFN-gamma-activated sequence element at the promoter site of IFN-gamma-activated genes: evidence of transactivational activity in IFNGR1. *J Immunol* 2006;177(1):315-21.
 19. Marazzi MG, Chappier A, Defilippi AC, Pistoia V, Mangini S, Savioli C, et al. Disseminated Mycobacterium scrofulaceum infection in a child with interferon-gamma receptor 1 deficiency. *Int J Infect Dis* 2010;14(2):e167-70. doi: 10.1016/j.ijid.2009.03.025.
 20. Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J Leukoc Biol* 2004;75(2):163-89.
 21. Fieschi C, Bosticardo M, de Beaucoudrey L, Boisson-Dupuis S, Feinberg J, Santos OF, et al. A novel form of complete IL-12/IL-23 receptor beta1 deficiency with cell surface-expressed nonfunctional receptors. *Blood* 2004;104(7):2095-101.
 22. Robinson RT. IL12Rbeta1: the cytokine receptor that we used to know. *Cytokine* 2015;71(2):348-59.
 23. Kreins AY, Ciancanelli MJ, Okada S, Kong X-F, Ramirez-Alejo Noé, Kilic SS, et al. Human TYK2 deficiency: Mycobacterial and viral infections without hyper-IgE syndrome. *J Exp Med* 2015;212(10):1641-62.
 24. Guo W, Feng X, Yang M, Shangguan Y, Shi P, Wang S, et al. Mycobacterium Intracellulare Infection Associated with TYK2 Deficiency: A Case Report and Review of the Literature. *Infect Drug Resist* 2020;13:4347-53.

YOUTUBE AS A SOURCE OF INFORMATION ON PORCELAIN LAMINATE VENEERS

PORSELEN LAMİNAT KAPLAMA HAKKINDA BİLGİ KAYNAĞI OLARAK YOUTUBE

Pınar NAİBOĞLU¹ , Sevde GÖKSEL² , Gül AYKANAT³ 

¹Giresun University, Faculty of Dentistry, Department of Restorative Dentistry, Giresun, Türkiye

²Private Practice, Ankara, Türkiye

³Biruni University, Faculty of Dentistry, Department of Prosthetic Dentistry, Istanbul, Türkiye

ORCID ID: P.N. 0000-0001-7440-0320; S.G. 0000-0003-0092-7079; G.A. 0000-0002-9801-9871

Citation/Atf: Naiboglu P, Goksel S, Aykanat G. YouTube as a source of information on porcelain laminate veneers. Journal of Advanced Research in Health Sciences 2022;5(3):147-152. <https://doi.org/10.26650/JARHS2022-1163393>

ABSTRACT

Objective of work: This study aimed to evaluate the content and usefulness of YouTube videos on porcelain laminate veneers.

Materials and Methods: The keyword porcelain laminate veneer was searched on YouTube. The first 200 videos were scanned. After exclusions, 79 videos were assessed for the content presented in 8 topic titles for porcelain laminate veneers. Videos were classified as poor (0), moderate (1), and excellent (2) based on the usefulness score. A general video assessment included length of the video, number of views, comments, likes, dislikes, and days since upload was completed. Videos were categorized according to their type: educational, patient's experience, and scientifically erroneous. The source of the uploaded videos was classified into three groups: professionals (dentist, specialist), health companies, and individual users. Data were analyzed with the Kruskal-Wallis, Post hoc-Dunn, and chi-square tests ($p < .05$).

Results: The average usefulness score was 0.544. It was found that the length of the video and the number of comments were significantly higher in the excellent videos than in poor videos ($p=.030$ and $p=.019$, respectively). There was no significant difference between the usefulness score and the source of upload ($p=.426$) or the type of video ($p=.819$). The most discussed topic title was *procedures of porcelain laminate veneer* (32.86%), while the least discussed topic title was *contraindications* (3.81%).

Conclusion: YouTube appears to be an incomplete source of information about porcelain laminate veneers for patients.

Keywords: Dental laminate; dental porcelain; dental veneers; information resources

ÖZ

Amaç: Porselen laminate veneer üzerine YouTube videolarının içeriğini ve yararlılığını değerlendirmek.

Gereç ve Yöntemler: YouTube'da "porselen laminate veneer" anahtar kelimesi arandı. İlk 200 video tarandı. Hariç tutulanlardan sonra, 79 video, içeriğinin yararlılığı açısından iki araştırmacı tarafından analiz edildi. Videolarda, porselen laminate veneer 8 konu başlığında değerlendirildi. Videolar, yararlılık puanına göre zayıf (0), orta (1) ve mükemmel (2) olarak sınıflandırıldı. Genel video değerlendirmesi, videonun uzunluğunu, görüntüleme yorum, beğenme, beğenmeme ve yüklemeye bu yana geçen gün sayılarını içeriyordu. Videolar türlerine göre eğitici, hasta deneyimi ve bilimsel olarak hatalı olarak kategorilere ayrıldı. Videolar yüklenme kaynaklarına göre profesyoneller (diş hekimi, uzman), sağlık şirketleri ve bireysel kullanıcılar olarak üç gruba ayrıldı. Veriler Kruskal-Wallis testi, Posthoc-Dunn testi ve ki-kare testi ile analiz edildi ($p<0,05$).

Bulgular: Ortalama yararlılık puanı 0,544'tü. Mükemmel yararlılık puanına sahip videolarda video uzunluğunun ve yorum sayısının zayıf yararlılık puanına sahip videolara göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu (sırasıyla $p=0,030$ ve $p=0,019$). Yararlılık puanı ile yükleme kaynağı ($p=0,426$), video türü ($p=0,819$) arasında anlamlı bir fark yoktu. En çok tartışılan konu başlığı porselen laminate veneer prosedürleriydi (%32,86). En az tartışılan konu başlığı ise kontrendikasyonlar oldu (%3,81).

Sonuç: YouTube, porselen laminate veneer hakkında hastalar için yetersiz bir bilgi kaynağı olarak görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: Dental laminate; diş porseleni; diş kaplamaları; bilgi kaynakları

Corresponding Author/Sorumlu Yazar: Sevde GÖKSEL E-mail: dt.sevde@gmail.com

Submitted/Başvuru: 17.08.2022 • Revision Requested/Revizyon Talebi: 18.08.2022 • Last Revision Received/Son Revizyon: 01.09.2022

• Accepted/Kabul: 02.09.2022 • Published Online/Online Yayın: 05.10.2022



This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

INTRODUCTION

Porcelain laminate veneers are used to restore anterior teeth that are colored, worn, fractured, malformed, and misaligned using dental adhesive and resin cement (1, 2). Due to their biocompatibility, durability, and aesthetic appeal, they are used to treat anterior teeth as a standard procedure (3). The proper planning, selection of the appropriate preparation technique, ceramic, cement, and appropriate finishing and continuing maintenance of restorations are essential for the success of porcelain laminate veneers (4). Porcelain laminate veneers differ from other dental restorations in dentistry. They are generally preferred for esthetic purposes. Since patients can be demanding in their esthetic requirements, patients need to be aware of what treatment they will receive (5).

Recently there has been an enormous increase in internet usage by the public due to the ease of access to the internet, the desire of patients to learn more about their medical conditions, and the fact that it is cheap, as opposed to professional healthcare consultation (6). YouTube was established in 2005. It is the most popular online video sharing platform, consisting of a broad network that allows viewers to watch videos, download them for free, comment, like and upload them (7-9).

In recent years, YouTube has been used widely by patients who want to learn medical information about their conditions (10). However, it was concluded in a systematic review that YouTube contains misleading information that contradicts reference guidelines (7). Therefore, it is essential to evaluate the integrity and quality of the obtained information from YouTube videos. As medical and dental professionals realize that patients are progressively using YouTube to search for information about treatment, many studies have been investigated for the accuracy and the content of YouTube videos (6, 8, 11-20). The objective of this study was to assess the content and usefulness of YouTube videos on porcelain laminate veneers. The research hypothesis was that YouTube videos on porcelain laminate veneers contain incomplete information.

MATERIALS AND METHODS

This was a cross-sectional evaluation of YouTube videos on porcelain laminate veneers. YouTube was searched (www.youtube.com) using the "porcelain laminate veneer" search term on November 18, 2020. "Sort by relevance" was used as a search filter. Cookies and previous search results were deleted from the browser (Google Chrome) to avoid changing the order of the videos. The first 200 videos were watched by two researchers (PN, SG) in the study, as it was reported that most of the studies using YouTube as a search engine had used 60-200 videos (6, 10).

All videos were recorded on the watch list to avoid any duplication. The study did not include composite laminate or crown restoration videos, irrelevant videos, videos with no sound or heading, lectures or conferences, non-English language videos, advertisements, and duplicate videos. There was no restric-

tion on the length of the video. This study included English-language videos related to porcelain laminate veneers having acceptable quality.

The following criteria were determined for all videos: the number of views, the number of "likes" and "dislikes", the length of the video, the number of comments, country of origin, the source of upload, and days since upload. Viewers' interaction with videos was calculated using the formula of interaction index [(number of likes-number of dislikes / total number of views) x 100%] and the viewing rate (number of views/number of days since upload x 100%) (6). The videos were categorized according to their type: educational, patient's experience, and scientifically erroneous. The upload source was classified into three groups: professionals (dentist, specialist), health companies, and individual users.

This study evaluated videos for the content presented in the following eight topic titles for porcelain laminate veneers: definition, indications, contraindications, advantages, procedures involved, complications, prognosis and survival, cost (12). Researchers were blinded to each other's answers. If a topic title was mentioned in the video, 1 point was given; if it was not mentioned, 0 points were given. A total of 0-2 points indicated the content of a poor video with a lack of information where most topics were not discussed, and topics were not beneficial for patients. A total of 3-5 points indicated a moderate video content with moderate quality; some issues were discussed well and were somewhat helpful for patients. A total of 6-8 points stated excellent video content with excellent quality; almost all topics were discussed and were highly beneficial for patients.

In addition, usefulness scores for all videos were determined as poor, moderate, and excellent, according to the presence of flow and quality of the content.

- a poor score (0): poor quality, insufficient information
- a moderate score (1): moderate quality, satisfactory information
- an excellent score (2): excellent quality, accurate, and highly useful information.

Any disagreements were solved with consensus. Ethical approval was not required for this study as publicly available data was used.

SigmaPlot 12.5 software (Systat Software Inc, San José, CA, USA) was used for statistical analysis. Data were tested for normality using the Shapiro-Wilk test. The Kruskal-Wallis test was used to evaluate nonparametric data. The Post hoc-Dunn test was used to evaluate the differences. The chi-square test evaluated differences in categorical variables. Correlations were determined using the Spearman correlation test. $p < .05$ was considered significant. The agreement of the researchers on usefulness was evaluated using the kappa score.

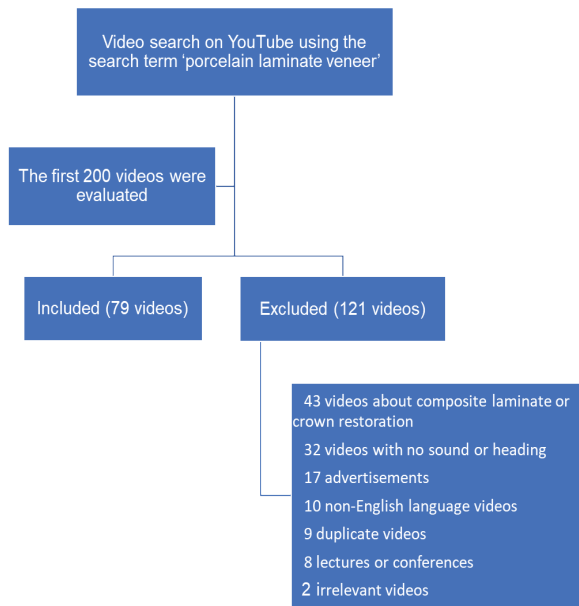


Figure 1: Flowchart

RESULTS

Of the first 200 videos screened, 121 were excluded (Figure 1). The remaining 79 videos were classified by source of upload: professionals (dentist, specialist) (78.48%, n=62), health companies (11.39%, n=9), individual users (10.13%, n=8). Videos were categorized according to type of video: educational (n=71), patient experience (n=7), scientifically erroneous (n=1). The USA uploaded most of the videos (58.23%, n=46), while India, Britain, Türkiye, Canada, Australia, Israel, Egypt, Hungary, Germany, Cambodia, and Mexico uploaded the other videos. The descriptive statistics of the video demographic data are shown in Table 1.

The mean viewing rate was 1.22 and the mean interaction index was 1.28. The usefulness score average was 0.544. Of the selected videos, 53.16% were classified as poor (42/79), 39.24% were classified as moderate (31/79), 7.60% were classified as excellent (6/79). The procedures of porcelain laminate veneers (32.86%, n=69), advantages (18.57%, n=39), indications (16.67%, n=35), definition (9.05%, n=19), prognosis and survival (7.62%, n=16), complications (5.71%, n=12), cost (5.71%, n=12) and contraindications (3.81%, n=8) were discussed in the videos.

The comparison of the video demographic data based on the usefulness score is given in Table 2. It was found that the length of the video and the number of comments were statistically significantly higher in the excellent videos than poor videos ($p=.030$ and $p=.019$, respectively). However, it was found that the length of the video and the number of comments were not significantly different between excellent and moderate videos ($p=.474$ and $p=.331$, respectively) and moderate and poor videos ($p=.107$ and $p=.064$, respectively). No significant differences were found between the usefulness score and other demographic data.

There was a significant difference between the upload source and the video type ($p < .001$). There was no significant difference between the usefulness score and the type of video ($p=.819$). Of the educational videos, 57.75% were categorized as poor, 30.98% as moderate, and 11.27% as excellent. Of the patient's experience videos, 57.14% were moderate, and 42.86% were poor. Only one video was scientifically erroneous. The Spearman correlation test showed a significant correlation between the length of the video the number of views, likes, and comments ($p < .001$).

Table 1: Descriptive statistics of the video demographic data

| | Mean | SD | Minimum | Maximum |
|--------------------------|------------|------------|---------|-----------|
| Views | 135,277.62 | 394,726.64 | 19 | 3,057,390 |
| Likes | 722.75 | 1870.62 | 0 | 13,000 |
| Dislikes | 85.11 | 408.42 | 0 | 3600 |
| Comments | 69.48 | 192.78 | 0 | 1372 |
| Length of video (minute) | 8.38 | 8.6 | 0.42 | 36.31 |
| Days since upload | 1589.27 | 1113.44 | 21 | 4723 |
| Viewing rate | 1.22 | 4.19 | 0 | 34.16 |
| Interaction index | 1.28 | 2.35 | -0.25 | 15.79 |
| SD=standard deviation. | | | | |

A comparison of the video demographic data based on the source of uploads is shown in Table 3. There were no significant differences between video demographic data based on the upload source. The weighted kappa score for the interobserver agreement was 0.909.

DISCUSSION

This study proposed to evaluate the content and usefulness of YouTube videos on porcelain laminate veneers. The research hypothesis was accepted because the content and usefulness of YouTube videos were generally incomplete.

YouTube has numerous health-related videos accessible to anyone with access to the internet (14). Since many written sources are at a much higher reading level than that considered appropriate for patient education, patients may access health-related information using the right resources on YouTube (15). However, as with some websites, content on YouTube is not peer-reviewed and it is often difficult to validate the source or the reliability of the information provided (7, 11).

The content and quality of health-related YouTube videos have been investigated in many studies. There is no consensus among the studies. In some studies, YouTube has been reported as a reliable source, while in others, the information content of videos has been found to be poor (6, 11-14, 16-20). In this study, it was reported that more than half of the videos on porcelain laminate

Table 2: Comparison of the video demographic data based on usefulness score

| Parameters | Poor (n=42) | | Moderate (n=31) | | Excellent (n=6) | | p-value |
|--------------------------|-------------------|--------------|-----------------------|--------------|-------------------------|---------------|---|
| | Mean±SD | Min-Max | Mean±SD | Min-Max | Mean±SD | Min-Max | |
| Views | 99,949±215,487.84 | 19-1,083,382 | 106,139.94±228,906.93 | 53-1,108,309 | 533,122.67±1,236,842.83 | 380-3,057,390 | .479 |
| Likes | 417.38±865.42 | 1-4600 | 959±2422.38 | 0-13,000 | 1639.67±3331.76 | 21-8400 | .257 |
| Dislikes | 39.29±75.41 | 0-338 | 46.36±92.72 | 0-395 | 606.17±1466.7 | 0-3600 | .909 |
| Comments | 36.17±98.69 | 0-502 | 106.0±269.09 | 0-1372 | 113.67±213.29 | 2-545 | .030 .019 ^a .331 ^b .064 ^c |
| Length of video (minute) | 5.99±6.43 | 0.42-24.49 | 10.47±10.12 | 0.45-36.31 | 14.28±9.24 | 5.5-28.43 | .011 .030 ^a .474 ^b .107 ^c |
| Days since upload | 1672.93±1281.98 | 21-4723 | 1599.94±793.88 | 155-3397 | 948.5±1236.95 | 128-3396 | .131 |
| Viewing rate | 0.76±1.82 | 0-10.77 | 0.91±2.09 | 0-9.93 | 6.06±13.78 | 0.02-34.16 | .335 |
| Interaction index | 1.40±3.02 | -0.25-15.79 | 1.02±1.03 | 0-5.66 | 1.74±2.03 | 0.16-5.53 | .256 |

^aExcellent and poor; ^bexcellent and moderate; ^cmoderate and poor. SD = standard deviation; Min = minimum; Max = maximum.

Table 3: Comparison of the video demographic data based on source of upload

| Parameters | Professionals (dentist/specialist) (n =62) | | Health companies (n = 9) | | Individual users (n = 8) | | p-value |
|--------------------------|--|--------------|--------------------------|-------------|--------------------------|------------|---------|
| | Mean±SD | Min-Max | Mean±SD | Min-Max | Mean±SD | Min-Max | |
| Views | 147,022.67±437,282.16 | 19-3,057.390 | 149,717.78±218,488.96 | 382-665,318 | 28,008.38±25,557.79 | 40-74,322 | .462 |
| Likes | 816.09±2091.83 | 0-13,000 | 548.11±578.83 | 8-1500 | 195.75±207.33 | 1-476 | .387 |
| Dislikes | 95.92±460.12 | 0-3600 | 59.22±78.80 | 0-229 | 30.5±37.63 | 0-87 | .369 |
| Comments | 79.53±215.95 | 0-1372 | 32.78±35.18 | 0-89 | 32.88±46.76 | 0-132 | .858 |
| Length of video (minute) | 8.25±8.49 | 0.42-35.06 | 13.04±10.89 | 2.32-36.31 | 4.07±3.39 | 1.03-10.26 | .066 |
| Days since upload | 1515.68±1091.89 | 21-4302 | 1895.67±1010.59 | 182-3400 | 1814.88±1425.16 | 665-4723 | .456 |
| Viewing rate | 1.41±4.70 | 0-34.16 | 0.74±0.93 | 0.02-2.47 | 0.28±0.38 | 0-1.11 | .619 |
| Interaction index | 1.39±2.57 | -0.25-15.79 | 0.69±0.57 | 0.16-2.09 | 1.10±1.67 | 0-5 | .652 |

SD, standard deviation; Min, minimum; Max, maximum.

veneers on YouTube are of poor quality content. The results presented here suggest that the majority of the users searching for information on porcelain laminate veneers on YouTube accessed more poor videos than excellent videos. YouTube contains health-related videos uploaded by different people, ranging from health professionals to laypeople. Also, the lack of system-set standards for the inclusion of health-related topics may explain the high number of low-content videos on medical issues (18).

In this study, it was found that the length of the video and the number of comments were statistically higher in excellent videos than poor videos. Similar to this study, Lena and Dindaroğlu and Menziletoğlu et al. reported that better content videos have

higher length and more comments (13, 17). These results can be considered as the viewers' reactions to the variables provided for high-quality videos (13).

Strychowsky et al., Delli et al., and Kumar et al. reported that the videos related to patients' experiences might contain more misleading information (15, 19-20). However, in the study of Menziletoğlu et al., there was no significant difference between the upload source and the usefulness score (17). In addition, Gaş et al stated that there was no significant difference between the usefulness score and the type of video, source of upload (12). In our study, video usefulness was not influenced by the type of video or the upload source.

A previous study by Gaş et al., which evaluated botulinum toxin for bruxism, stated that the least discussed topic domains in YouTube videos were contraindications, costs, and complications, respectively (12). The least discussed topic titles regarding porcelain laminate veneers in our study were similar to Gaş et al.' study (12). These results verify the revealed concerns about the use of YouTube videos by patients who want to learn health-related information; YouTube contains misleading information that contradicts reference guidelines, and a user is relatively likely to find such content (7).

This study had some limitations. First, non-English language videos were excluded. Second, different results were listed when different keywords were used. Thirdly, since YouTube has dynamic content, the search results may change at other times and dates. Lastly, some large videos were uploaded to YouTube in sections. Since only specific topics were discussed in these video sections, a lower score was given compared to the videos where each topic was discussed in one. Although there are YouTube studies about porcelain laminate veneers in the literature, there is no study using other social media resources as far as we know. In the literature, there are studies that evaluate other social media channels (Facebook, Twitter, and Instagram) as a source of information on different health-related issues (21). For future studies, it is recommended to evaluate information sources about laminate veneers using other social media platforms.

CONCLUSIONS

Some essential parameters about porcelain laminate veneers were not mentioned in most of the YouTube videos. The content and usefulness of YouTube videos were generally incomplete. Dental care professionals should not forget that YouTube can impact patients and be responsible for developing the content of videos relevant to their field.

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- P.N., S.G.; Data Acquisition- P.N., S.G.; Data Analysis/Interpretation- P.N., S.G.; Drafting Manuscript- P.N., S.G., G.A.; Critical Revision of Manuscript- P.N., S.G., G.A.; Final Approval and Accountability- P.N., S.G.; Material and Technical Support- P.N.; Supervision- P.N.

Conflict of Interest: The authors have no conflict of interest to declare

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- P.N., S.G.; Veri Toplama- P.N., S.G.; Veri Analizi/Yorumlama- P.N., S.G., G.A.; Yazı Taslağı- P.N., S.G., G.A.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- P.N., S.G., G.A.; Son Onay ve Sorumluluk- P.N., S.G.; Malzeme ve Teknik Destek- P.N.; Süpervizyon P.N.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

REFERENCES

1. Peumans M, Van Meerbeek B, Lambrechts P, Vanherle G. Porcelain veneers: a review of the literature. *J Dent* 2000;28(3):163-77.
2. Akoğlu B, Gemalmaz D. Fracture resistance of ceramic veneers with different preparation designs. *J Prosthodont* 2011;20(5):380-4.
3. Fradeani M, Redemagni M, Corrado M. Porcelain laminate veneers: 6- to 12-year clinical evaluation--a retrospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2005;25(1):9-17.
4. Calamia JR, Calamia CS. Porcelain laminate veneers: reasons for 25 years of success. *Dent Clin North Am* 2007;51(2):399-417.
5. Burke FJT. Survival rates for porcelain laminate veneers with special reference to the effect of preparation in dentin: a literature review. *J Esthet Restor Dent* 2012;24(4):257-65.
6. Hassona Y, Taimeh D, Marahleh A, Scully C. YouTube as a source of information on mouth (oral) cancer. *Oral Dis* 2016;22(3):202-8.
7. Madathil KC, Rivera-Rodriguez AJ, Greenstein JS, Gramopadhye AK. Healthcare information on YouTube: a systematic review. *Health Informatics J* 2015;21(3):173-94.
8. Keelan J, Pavri-Garcia V, Tomlinson G, Wilson K. YouTube as a source of information on immunization: a content analysis. *JAMA* 2007;298(21):2482-4.
9. Dias da Silva MA, Pereira AC, Walmsley AD. Who is providing dental education content via YouTube? *Br Dent J* 2019;226(6):437-40.
10. Desai T, Shariff A, Dhingra V, Minhas D, Eure M, Kats M. Is content really king? An objective analysis of the public's response to medical videos on YouTube. *PLoS One* 2013;8(12):e82469. doi: 10.1371/journal.pone.0082469.
11. Steinberg PL, Wason S, Stern JM, Deters L, Kowal B, Seigne J. YouTube as source of prostate cancer information. *Urology* 2010;75(3):619-22.
12. Gaş S, Zincir ÖÖ, Bozkurt AP. Are YouTube videos useful for patients interested in botulinum toxin for bruxism? *J Oral Maxillofac Surg* 2019;77(9):1776-83.
13. Lena Y, Dindaroğlu F. Lingual orthodontic treatment: a YouTube video analysis. *Angle Orthod* 2018;88(2):208-14.
14. Biggs TC, Bird JH, Harries PG, Salib RJ. YouTube as a source of information on rhinosinusitis: the good, the bad and the ugly. *J Laryngol Otol* 2013;127(8):749-54.
15. Strychowsky JE, Nayan S, Farrokhyar F, MacLean J. YouTube: a good source of information on pediatric tonsillectomy? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2013;77(6):972-5.
16. Hegarty E, Campbell C, Grammatopoulos E, DiBiase AT, Sherriff M, Cobourne MT. YouTube™ as an information resource for orthognathic surgery. *J Orthod* 2017;44(2):90-6.
17. Menziletoglu D, Guler AY, Isik BK. Are YouTube videos related to dental implant useful for patient education? *J Stomatol Oral Maxillofac Surg* 2020;121(6):661-4.
18. Ajumobi AB, Malakouti M, Bullen A, Ahaneku H, Lunsford TN. YouTube™ as a source of instructional videos on bowel preparation: a content analysis. *J Cancer Educ* 2016;31(4):755-9.
19. Delli K, Livas C, Vissink A, Spijkervet FKL. Is YouTube useful as a source of information for Sjögren's syndrome? *Oral Dis* 2016;22(3):196-201.

20. Kumar N, Pandey A, Venkatraman A, Garg N. Are video sharing web sites a useful source of information on hypertension? J Am Soc Hypertens 2014;8(7):481-90.
21. Gabarron E, Larbi D, Dorrnzoro E, Hasvold PE, Wynn R, Årsand E. Factors engaging users of diabetes social media channels on Facebook, Twitter, and Instagram: observational study. J Med Internet Res, 2020;22(9):e21204. doi: 10.2196/21204.

ASSESSING CRITICAL CARE NURSES' KNOWLEDGE ON OXYGEN THERAPY IN COVID-19 PATIENT CARE IN TURKIYE; A MULTICENTER STUDY

TÜRKİYE'DE COVID-19 TANILI HASTALARA BAKIM VEREN YOĞUN BAKIM HEMŞİRELERİNİN OKSİJEN TEDAVİSİNE İLİŞKİN BİLGİ DÜZEYLERİ: ÇOK MERKEZLİ BİR ÇALIŞMA

Yasemin USLU¹ , Meltem ALTAY² 

¹Istanbul University, Nursing Faculty, Surgical Nursing Department, Istanbul, Türkiye

²Acibadem Mehmet Ali Aydınlar University, Institute of Health Sciences, Department of Nursing, Istanbul, Türkiye

ORCID ID: Y.U. 0000-0001-5727-3753; M.A. 0000-0003-4866-1775

Citation/Atf: Uslu Y, Altay M. Assessing critical care nurses' knowledge on oxygen therapy in COVID-19 patient care in Türkiye; a multicenter study. Journal of Advanced Research in Health Sciences 2022;5(3):153-159. <https://doi.org/10.26650/JARHS2022-1122168>

ABSTRACT

Objective: Oxygen therapy for individuals with COVID-19 includes best practices for supportive management of acute respiratory syndrome. The aim of this study was to determine critical care nurses' levels of knowledge on oxygen therapy during the COVID-19.

Method: This was a descriptive study. The study was conducted with COVID-19 critical care nurses (N=446) in a total of 16 hospitals affiliated with a healthcare group in Türkiye. A total of 322 nurses were included in the study. The data were collected via the Oxygen Therapy Information Form prepared based on the literature through Google survey.

Results: According to the oxygen therapy subscales, the mean score of the nurses varied from 40.77 to 86.21, and their total mean score was 72.99 (fairly). The nurses' knowledge on oxygen therapy was strongly correlated with their educational level and manner of work ($p<0.05$).

Conclusions: It can be asserted that in oxygen therapy, their knowledge on nursing interventions was adequate; however, their knowledge on oxygen therapy definitions and concepts was inadequate. In order to develop patient safety concerning oxygen therapy in COVID-19 patients, it is recommended that training programs be planned and competencies of nurses be assessed. In order to qualify legal competence about the safe oxygen therapy, clear protocols and professional guidelines are recommended.

Keywords: Critical Care Nurses, COVID-19, Intensive Care Unit, Patient Safety, Oxygen Therapy

ÖZ

Amaç: COVID-19 tanılı hastaların tedavi yönetiminde oksijen tedavisinin önemli bir yeri vardır. Bu araştırma COVID-19 tanılı hastalara bakım veren yoğun bakım hemşirelerinin oksijen tedavisine ilişkin bilgi düzeylerinin belirlenmesi amacıyla planlandı.

Yöntem: Tanımlayıcı çalışma, Türkiye'de özel bir sağlık grubuna bağlı toplam 16 hastanede COVID-19 yoğun bakım hemşiresi (N=446) ile gerçekleştirildi. Araştırmaya toplamda 322 hemşire dahil edildi. Veriler, Google anket aracılığıyla literatür kapsamında hazırlanan Oksijen Tedavisi Bilgi Formu ile toplandı.

Bulgular: Hemşirelerin oksijen tedavisi alt boyutlarından aldıkları puanlar ortalama 40,77 ile 86,21 arasında değişmekte olup toplam puan ortalamaları 72,99'dır. Hemşirelerin eğitim düzeyleri ve çalışma şekillerinin oksijen tedavisi bilgi düzeylerini etkilediği belirlendi ($p<0,05$).

Sonuç: Hemşirelerin, oksijen tedavisinde hemşirelik girişimlerine yönelik bilgilerinin yeterli; ancak oksijen tedavisi tanım ve kavramlarına ilişkin bilgilerinin yetersiz olduğu söylenebilir. COVID-19 hastalarında oksijen tedavisi ile ilgili hasta güvenliğinin geliştirilmesi için eğitim programlarının planlanması ve hemşirelerin yetkinliklerinin değerlendirilmesi önerilmektedir. Güvenli oksijen tedavisi konusunda yasal yetkinliği sağlamak için rehber ve kılavuzların geliştirilmesi önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Yoğun Bakım Hemşireliği, COVID-19, Yoğun Bakım Ünitesi, Hasta Güvenliği, Oksijen Tedavisi

Corresponding Author/Sorumlu Yazar: Yasemin USLU E-mail: yasemin.uslu@istanbul.edu.tr

Submitted/Başvuru: 27.05.2022 • **Revision Requested/Revizyon Talebi:** 20.06.2022 • **Last Revision Received/Son Revizyon:** 21.06.2022

• **Accepted/Kabul:** 22.06.2022 • **Published Online/Online Yayın:** 25.07.2022



This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

INTRODUCTION

Oxygen therapy (OT) is commonly used by patients staying in hospital (1) and is listed on the World Health Organization Model of Essential Medicines, which is a list featuring the most effective and safe drugs used by clinics (2).

In critical care patients, OT is a part of daily treatment applications (3). OT for cases with COVID-19 includes best implementations for supportive treatment of acute respiratory syndrome (4, 5). The 41% of patients applying to a hospital due to COVID-19 and 70% of those having rigid symptoms need additional OT (6). A systematic review and meta-analysis reviewed including 46.959 cases with COVID-19, indicated that the incidence rate of cases requiring intensive care unit (ICU) was 29.3% (7). About 5–6% of COVID-19 patients suffered from severe hypoxemia. Patients need many invasive or non-invasive ventilation applications in ICU (8).

OT can cause harmful effects when used incorrectly and can even be fatal (9-11). The inappropriate assessment and monitoring also leads to prolonged length of hospital stay, need for non-invasive ventilation and an increased risk of death (1). Severe hypoxemia in such patients is associated with high physiological dead space, as compared with non-COVID-19 acute respiratory syndrome patients (12).

Given the frequency of oxygen application in the hospital environment and its harms for patient and employee safety, it is recommended that knowledge and practices of healthcare professionals concerning OT be developed (13). In the studies evaluating the knowledge levels and practices of nurses for OT, it is suggested that nurses have poor knowledge levels and be evaluated by different studies (14-16). It is important that critical care nurses should have an adequate level of knowledge about basic principles, indications, delivery methods, complications, assessment, and monitoring of patients and provide safe OT patients need (10, 14). The aim of this study is to define critical care nurses' level of knowledge on oxygen therapy during the COVID-19.

MATERIAL and METHOD

Design and participants

This descriptive study was conducted between April and June 2021.

The population of the study comprised COVID-19 critical care nurses (N=446) in a total of 16 hospitals affiliated with a healthcare group in Türkiye. Without using sample selection, 322 ICU nurses (72%) who agreed to participate in the study were included in the sample. The nurses in the orientation process (a six-month basic orientation process) and nurses working in the ICU for one-day support were not included in the study.

Data collection and instruments

Oxygen Therapy Information Form

The form was prepared by the researchers in line with the literature (1, 15, 17-20). The first version of the form had 38 items. For expert opinion, opinions were received from two critical care nurses, a critical care physician, two nurse academicians and an assessment and evaluation in education expert, and the form was put into final form. It was not content validated after expert opinions.

Following the expert opinions, the form was revised, and six subscales and 30 items were specified. The subscales were OT-related definitions, indications and complications of OT, Safety of OT, OT methods, OT patient follow-up, and responsibilities of OT nurses. The 20 items were given as correct information (2,5,6,7,8,10,11,13,14,15,16,18,20,21,22, 25,26,27,28,30) and 10 items were given as wrong information (1,3,4,9,12,17,19,23,24,29). The nurses were asked to mark "True", "False" and "No idea" for each item. Those giving correct answers and wrong answers/no idea received "1 point" and "0 point", respectively. The maximum score for the questionnaire was 30. The scores were calculated and interpreted on the basis of 100 points. The interpretation system used by Goharani et al., in a similar study was used. The score interpretation was 90-100% excellent, 80-89% good, 70-79% fair, 60-69% weak and < 59% poor (21).

Statistical analyses

For statistical analyses, the R vers. 2.15.3 programme (R Core Team, 2013) was used. Compatibility of the quantitative data to normal distribution was evaluated via the Shapiro-Wilk test. The independent samples t-test was used in the two-group comparison of the normally distributed variables and the one-way analysis of variance was used to compare more than two groups. The Mann-Whitney U test was used in the two-group comparison of the non-normally distributed variables and the Kruskal-Wallis test and Dunn-Bonferroni test were used in the comparison of more than two groups. The Pearson's correlation analysis was used in determining the level of the correlation between the quantitative variables. The statistical significance was accepted to be $p < 0.05$.

Ethical approval (2021-07/02) was obtained for the study. The data were collected via Google. At the beginning of the survey, the purpose of the study was explained, and the survey was completed by voluntary nurses.

RESULTS

The nurses were aged 21 to 50 years and their mean age was 25.87 ± 5.08 years. Of the nurses, 73.6% (n=237) were female, 43.8% (n=141) were health high school graduates and 28.3% (n=84) were working in ICU for 3 to 5 years. 76.1% (n=245) of the nurses were staff nurses (Table 1).

The nurses were working in a COVID-19 ICU for 7.93±5.81 months on average. 73.9% (n=238) of them stated that they obtained information about oxygen therapies in in-hospital trainings. 84.5% (n=272) of them stated that they worked in night and day shifts (Table 1).

according to their age, gender, working duration, status of training on oxygen therapy and working status (p>0.05). Those who were vocational school of health graduates had lower mean scores than those who had associate and bachelor's degrees (p=0.011, p=0.032, respectively). Of the nurses, those

Table 1: Distribution of the critical care nurses' oxygen therapy knowledge scores according to their demographic characteristics (n=322)

| | Min-Max (Median) | Mean±sd | Total Score | | |
|--|---------------------|------------|----------------------|-------------------------|----------|
| | | | r | p | |
| Age (year) | 21-50 (24) | 25.87±5.08 | 0.038 | 0.501 | |
| Duration of working in the Cov-19 ICU (month) | 0-18 (7) | 7.93±5.81 | 0.068 | 0.222 | |
| | n | % | Mean±sd | Test value | p |
| Gender | | | | at=0.266 | 0.791 |
| Female | 237 | 73.6 | 73.07±9.69 | | |
| Male | 85 | 26.4 | 72.75±9.8 | | |
| Educational status | | | | bχ ² =12.914 | 0.005* |
| Health high school | 141 | 43.8 | 70.83 (66.67, 76.92) | | |
| Associate degree | 71 | 22.0 | 75.86 (70, 82.14) | | |
| Bachelor's degree | 91 | 28.3 | 75 (68.97, 80.77) | | |
| Graduate degree | 19 | 5.9 | 70.37 (67.86, 81.48) | | |
| Duration of working in the ICU | | | | cF=1.579 | 0.180 |
| 0-1 years | 85 | 26.4 | 71.73±9.17 | | |
| 1-3 years | 69 | 21.4 | 71.39±12.6 | | |
| 3-5 years | 84 | 26.1 | 74.25±9.28 | | |
| 5-10 years | 53 | 16.5 | 74.35±7.53 | | |
| 10 years and above | 31 | 9.6 | 74.25±7.51 | | |
| Working status during the pandemic | | | | bχ ² =9.202 | 0.056 |
| Nurse in charge | 24 | 7.5 | 76.89 (69.62, 82.14) | | |
| Clinical training nurse | 6 | 1.9 | 71.21 (67.86, 80.77) | | |
| Team leader | 37 | 11.5 | 77.78 (71.43, 80) | | |
| Staff nurse | 245 | 76.1 | 72.41 (66.67, 78.57) | | |
| Other | 10 | 3.1 | 72.04 (68.97, 79.17) | | |
| In-service training related to oxygen therapy | | | | at=-0.051 | 0.959 |
| Yes | 238 | 73.9 | 72.97±9.68 | | |
| No | 84 | 26.1 | 73.04±9.85 | | |
| Manner of work | | | | bχ ² =10.022 | 0.007* |
| Day | 47 | 14.6 | 76.67 (69.23, 82.14) | | |
| Night | 3 | 0.9 | 60 (60, 67.86) | | |
| Day-night shift | 272 | 84.5 | 73.21 (67.86, 79.24) | | |

r=Pearson's correlation coefficient; aIndependent samples t-test; bKruskal-Wallis test, the results are presented as median (first quartile, third quartile); cOne-way analysis of variance; dMann-Whitney U test, the results are presented as median (first quartile, third quartile). *p<0.05

It was determined that there was no statistically significant difference between the total knowledge scores of the nurses

only working in the night shift had lower mean scores than those only working in the day shift (p=0.019) (Table 1).

Table 2: Distribution of the answers to the knowledge on oxygen therapy

| The Subscales | | True | False | No idea |
|--|---|-------------------|-------------------|------------|
| | | n (%) | n (%) | n (%) |
| Oxygen Therapy-Related Definitions | | | | |
| 1 | Hypoxemia is a condition in which partial oxygen pressure in arterial blood drops below 90 mmHg. | 228 (70.8) | 77 (23.9) | 17 (5.3) |
| 2 | Hypoxia is a state in which oxygen is not available in sufficient amounts for cellular functioning. | 300 (93.2) | 11 (3.4) | 11 (3.4) |
| 3 | Pulse oximeter measures O2 saturation in venous capillary blood. | 287 (89.1) | 26 (8.1) | 9 (2.8) |
| 4 | SaO2: Oxygen saturation. It is the amount of oxygen dispersed in a plasma. It indicates 2% to 3% of the total oxygen in the body. | 164 (50.9) | 64 (19.9) | 94 (29.2) |
| Indications and Complications of Oxygen Therapy | | | | |
| 5 | Oxygen therapy is applied in cardio pulmonary arrest. | 249 (77.3) | 41 (12.7) | 32 (9.9) |
| 6 | Atelectasis is one of oxygen therapy complications. | 178 (55.3) | 109 (33.9) | 35 (10.9) |
| 7 | If PaO2 in blood increases too much, respiration is depressed and the patient's ventilation decreases. | 195 (60.6) | 95 (29.5) | 32 (9.9) |
| 8 | Giving oxygen at a high concentration may show a cytotoxic impact in the metabolism. | 264 (82) | 29 (9) | 29 (9) |
| Safety of Oxygen Therapy | | | | |
| 9 | Oxygen tubes should be fixed in horizontal position with appropriate stabilizers. | 96 (29.8) | 217 (67.4) | 9 (2.8) |
| 10 | A warning sign indicating oxygen therapy should be hung in the room and door of the patient receiving oxygen therapy. | 166 (51.6) | 91 (28.3) | 65 (20.2) |
| 11 | Insertion site of the oxygen tube or oxygen source should not be touched with creamy and oily hands. | 301 (93.5) | 13 (4) | 8 (2.5) |
| 12 | In oxygen therapy, the reason for giving oxygen by moisturizing is to increase tissue oxygenation. | 185 (57.5) | 120 (37.3) | 17 (5.3) |
| 13 | The use of helmet mask is safer for droplet dispersion in COVID-19 patients compared to face masks. | 241 (74.8) | 13 (4) | 68 (21.1) |
| 14 | High-flow oxygen therapy is among applications causing aerosol in COVID-19 patients. | 211 (65.5) | 33 (10.2) | 78 (24.2) |
| Oxygen Therapy Methods | | | | |
| 15 | It starts with 5 L/min oxygen with a simple face mask and may be increased to 8-10 L/min at most. | 188 (58.4) | 122 (37.9) | 12 (3.7) |
| 16 | Oxygen flow rate should be at least 6-10 L/min with reservoir face masks. | 228 (70.8) | 72 (22.4) | 22 (6.8) |
| 17 | Nasal cannula provides maximum-intensity oxygen to the patient. | 57 (17.7) | 248 (77) | 17 (5.3) |
| 18 | Oxygen can be given by moisturizing with a flow rising up to 20-60 L/min with a high-flow nasal cannula. | 228 (70.8) | 55 (17.1) | 39 (12.1) |
| 19 | Flowmeter measures O2 saturation in arterial blood. | 83 (25.8) | 197 (61.2) | 42 (13) |
| 20 | Oxygen flow should be adjusted to 10-15 lt/min with a non-rebreather mask. When the reservoir part inflates, it is possible to give FiO2 equalling to 80%-100%. | 207 (64.3) | 29 (9) | 86 (26.7) |
| 21 | Partial rebreather masks enable the patient to rebreathe 1/3 of the air breathed. | 227 (70.5) | 19 (5.9) | 76 (23.6) |
| 22 | Venturi masks can properly adjust oxygen concentration. | 127 (39.4) | 24 (7.5) | 171 (53.1) |
| Oxygen Therapy Patient Follow-up | | | | |
| 23 | Mouth dryness should be evaluated in the patient receiving oxygen therapy every 24 hours. | 120 (37.3) | 197 (61.2) | 5 (1.6) |
| 24 | Tap water can be used as an oxygen moisturizer. | 28 (8.7) | 285 (88.5) | 9 (2.8) |
| 25 | Nasal oxygen cannulas and masks should be replaced in case of observing any functional disorder or visible contamination. | 296 (91.9) | 19 (5.9) | 7 (2.2) |
| 26 | Moisturizer should be used if oxygen flow is applied above 4 lt/min. | 269 (83.5) | 41 (12.7) | 12 (3.7) |
| 27 | Prior to starting the oxygen therapy, the patient's position, respiratory rate/mode and SpO2 should be evaluated by a nurse. | 306 (95) | 6 (1.9) | 10 (3.1) |
| Responsibilities of Nurses in Oxygen Therapy | | | | |
| 28 | Oxygen therapy can be applied without physician's request. | 145 (45) | 156 (48.4) | 21 (6.5) |
| 29 | Oxygen therapy should be given at certain intervals. | 90 (28) | 208 (64.6) | 24 (7.5) |
| 30 | Prior to oxygen therapy the nurse is responsible for checking whether the equipment (humidifier, flowmeter, regulator) function or not. | 305 (94.7) | 8 (2.5) | 9 (2.8) |

Table 3: Oxygen therapy knowledge scores

| | n | Item number | Min-Max (Median) | Mean±sd |
|--|-----|-------------|-------------------|-------------|
| Oxygen therapy-related definitions | 316 | 4 | 0-100 (33.33) | 40.77±19.26 |
| Indications and complications of oxygen therapy | 316 | 4 | 0-100 (75) | 76.32±24.54 |
| Safety of OT | 322 | 6 | 16.67-100 (75) | 74.21±18.08 |
| Oxygen therapy methods | 318 | 8 | 0-100 (80) | 78.19±17.61 |
| Oxygen therapy patient follow-up | 317 | 5 | 0-100 (80) | 86.21±15.43 |
| Responsibilities of nurses in oxygen therapy | 322 | 3 | 0-100 (66.67) | 71.69±25.78 |
| Total | 322 | 30 | 23.53-100 (73.33) | 72.99±9.71 |

Table 2 shows the answers of the critical care nurses to questions related to oxygen therapy.

It was determined that the mean score of the nurses was 40.77±19.26 in the OT-related definitions subscale, 76.32±24.54 in the indications and complications of OT subscale, 74.21±18.08 in the Safety of OT subscale, 78.19±17.61 in the OT methods subscale, 86.21±15.43 in the OT patient follow-up subscale, and 71.69±25.78 in the responsibilities of OT nurses subscale. It was determined that the total mean score of the nurses was 72.99±9.71 in the questionnaire (Table 3).

DISCUSSION

The need for OT in COVID-19 patients experiencing respiratory distress in the pandemic has drawn the attention to this therapy. Nurses could face some barriers while administering OT to patients. These barriers could be related to nurses' lack of knowledge and awareness, lack of continuous education in hospital or absence of protocol of OT (22). In this study, 322 critical care nurses' knowledge on OT was assessed. According to the OT subscales, the mean score of the nurses varied from 40.77% to 86.21%, and their mean total score was 72.99%. When this finding is compared with data in other countries, knowledge level rate of nurses in hospitals is 55.1% in Beirut, 22 56.7% in East Africa, 48% in Ethiopia (15), and the nurses had poor knowledge of OT. In the studies, it is seen that they are usually conducted in underdeveloped or developing countries. It is important to also conduct similar studies in developed countries for determining the OT needs. It can be asserted that in this study carried out in Türkiye, the nurses' knowledge on OT was at a fair level.

In the present study, it was found that the educational level and working status of nurses had an effect on OT information. It was observed that as the educational level increases, the knowledge on OT increases. In their study, Zeleke and Kefale (2021) indicated that nurses with higher level of knowledge on OT had a better application (15). Considine et al., specified that the knowledge score of the nurses regarding OT increased by 19.2% after they received training on the issue (23).

Educational approaches is enhancing nursing knowledge and practice in regard to the care of respiratory distress (24). Competent nurses with bachelor's degree can be chosen especially

in working areas like ICU requiring critical care practices. Also, nurses' participation in certified trainings can be planned.

In the study, it was assigned that the nurses only working in the daytime shift had higher levels of knowledge than those only working in the night shift. Nurses included in the management and trainer team usually work in the day shift. The reason that knowledge scores were higher in the nurses only working in the day shift in the study may be because nurses working in the day shift are more competent. It is thought that having competent nurses in managerial positions work in the night shift may provide safer care.

It can be asserted that 40.77% of the nurses gave correct answers to the knowledge on definitions in OT, and they had poor knowledge. This result points out that the content of the training provided for the critical care nurses participating in the present study during both academic studies and in-service training was not sufficient. It was determined that 70.8% of the nurses misdefined hypoxemia, 89.1% pulse oximeter and 50.9% oxygen saturation. In the Elmak Nimir University Hospital in Sudan, half of nurses (50%) know hypoxemia as indication of OT. This might be caused by their poor knowledge about the description of OT (25). This study found out the knowledge of nurses on how to correctly define the term oxygen was fair to weak (in some aspects), and this could have a detrimental impression on their performance. Misinformation/lack of information about concepts related to OT may lead to problems in communication within the team, create incomprehensibility and affect patient safety negatively. In trainings related to OT, it is necessary to also include conceptual knowledge in order to provide a language unity.

It was determined that 76.32% of the nurses gave correct answers to the knowledge on indications and complications of OT. In a study conducted in Pakistan, half (50%) and nearly half (46%) of the nurses correctly answered the questions regarding indications and complications of OT (25). Eastwood et al., (2011) stated that episodes of some complications occurred while patients were receiving oxygen and nurses did not always respond appropriately (16).

In the study, 77.3% of the nurses stated that OT could be applied in case of a cardiac arrest. Ganeshan et al., determined that 25% of the physicians and half of the nurses do not prescribe

the correct dose and procedure of OT in cardiorespiratory arrest cases (26). OT is an essential component of resuscitation, and any errors in OT can worsen a patient's situation and may even be life threatening (21). "Oxygen therapy is like a two edged sword", at first, oxygen is vital for human beings to survive, and second edge OT may become harmful if it is delivered by inappropriate dose or method (27).

It was determined that 74.21% of the nurses gave correct answers to the knowledge on safe oxygen applications. It was found that 24.2% of the nurses had no knowledge on high-flow OT in COVID-19 patients, and 21.1% had no knowledge on droplet dispersion in COVID-19 patients. It was determined that the nurses had fair level of knowledge on safe OT applications; however, most of them marked the choice "no idea" in questions related to OT in COVID-19 patients. It is seen that there is a need for increasing information about OT specific to COVID-19, especially in the pandemic period.

It was determined that 78.19% of the nurses gave correct answers to the knowledge on OT methods. In the pandemic process, some OT methods were used frequently, especially. Since nurses do not use all OT methods, it is thought to affect their level of knowledge. Demirel and et al., determined that the knowledge mean scores of the nurses were lower than expected, and nurses' knowledge was particularly insufficient with regard to OT methods (14).

It was determined that 86.21% of the nurses gave correct answers to the knowledge on patient follow-up in OT, and they had good levels of knowledge. Any error in OT could lead to deterioration of the patient's situation and can even be life-threatening (26).

It was determined that 71.69% of the nurses gave correct answers to the knowledge on responsibilities of nurses in OT. Nearly half of the nurses (45%) stated that OT could be applied without physician's request. In nursing regulations in Türkiye, nurses are able to apply OT with a mask and nasal cannula without physician's request, which suggests that nurses do not have adequate knowledge on their legal responsibilities related to OT. In a study conducted with critical care nurses, 51% of nurses would not routinely increase OT in the absence of physician orders (28). Head nurses working in seven hospitals of Greece, commonly started, modified, and discontinued OT in the absence of a medical order (29).

Autonomy is an significant piece of nursing professionalism, but ensuring high quality care, deliberate with inter-professional teams may even be of greater importance (3). Georgiou and et al., emphasise the nurse-physician collaboration as an essential factor in developing patient outcomes of the critical ill patient (30).

CONCLUSION

It was stated that critical care nurses' knowledge on OT-related definitions was poor. Indications and complications of OT, safety of OT, OT methods, responsibilities of OT nurses

knowledge of nurses were fair, and OT patient follow-up was good. The results of this study have important implications for patient safety during the COVID-19 pandemic. In order to raise awareness and knowledge of nurses, it is recommended to organize online training courses, and educational programs to provide safe practice of OT and standard nursing care for patients receiving OT. In order to eliminate the ambiguity and qualify legal competence about the safety of OT, clear protocols and professional guidelines are recommended to be prepared at the institutional and national levels. Establishing studies on surveyed practice of nurses is essential to justify observational and interventional research with the purpose of developing OT for critically ill patients.

Limitations

The study has some limitations. The oxygen therapy information form was prepared by the researcher and not with valid reliable tools. Only the knowledge levels of nurses about OT were evaluated, and their practice skills were not evaluated.

Ethics Committee Approval: This study was approved by Acıbadem University and Acıbadem Healthcare Institutions Medical Research Ethics Committee (Date: 07.04.2021, No: 2021/07-02).

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- Y.U., M.A.; Data Acquisition- Y.U., M.A.; Data Analysis/Interpretation- Y.U., M.A.; Drafting Manuscript- Y.U., M.A.; Critical Revision of Manuscript- Y.U., M.A.; Final Approval and Accountability- Y.U., M.A.; Material and Technical Support- Y.U., M.A.; Supervision- Y.U., M.A.

Conflict of Interest: The authors have no conflict of interest to declare.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı Acıbadem Üniversitesi ve Acıbadem Sağlık Kuruluşları Tıbbi Araştırma Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Tarih: 07.04.2021, No: 2021/07-02).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- Y.U., M.A.; Veri Toplama- Y.U., M.A.; Veri Analizi/Yorumlama- Y.U., M.A.; Yazı Taslağı- Y.U., M.A.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- Y.U., M.A.; Son Onay ve Sorumluluk- Y.U., M.A.; Malzeme ve Teknik Destek- Y.U., M.A.; Süpervizyon- Y.U., M.A.;

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

REFERENCES

1. Desalu OO, Aladesanmi AO, Ojuawo OB, Opeyemi CM, Oloyede T, Sanya EO, et al. Development and validation of a questionnaire to assess the doctors and nurses knowledge of acute oxygen

- therapy. *PLoS One* 2019;14(2):e0211198. doi:10.1371/journal.pone.0211198.
- Aloushan AF, Almoaiqel FA, Alghamdi RN, Alnahari FI, Aldosari AF, Masud N, et al. Assessment of knowledge, attitude and practice regarding oxygen therapy at emergency departments in Riyadh in 2017: A cross-sectional study. *World J Emerg Med* 2019;10(2):88-93.
 - Bunkenborg G, Bundgaard K. A mixed methods exploration of intensive care unit nurses' perception of handling oxygen therapy to critically ill patients. *Intensive Crit Care Nurs* 2019;52:42-50.
 - Duan J, Chen B, Liu X, Shu W, Zhao W, Li J, et al. Use of high-flow nasal cannula and noninvasive ventilation in patients with COVID-19: A multicenter observational study. *Am J Emerg Med* 2021;46:276-81.
 - Pfortmueller CA, Spinetti T, Urman RD, Luedi MM, Schefold JC. COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome (CARDS): current knowledge on pathophysiology and ICU treatment—a narrative review. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2021;35(3):351-68.
 - Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020;382:1708-20
 - Cao Y, Liu X, Xiong L, Cai K. Imaging and clinical features of patients with 2019 novel coronavirus SARS-CoV-2: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol* 2020;92(9):1449-59.
 - Yang X, Yu Y, Xu J, Shu H, Xia J, Liu H, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med* 2020;8(5):475-81.
 - Al N, Aydin AI, Atak M, Akca D, Ozyazicioglu N, Alkan T. Determination of the Knowledge Levels of Nursing Students on Oxygen Administration in Newborn Intensive Care Units. *International Journal of Caring Sciences* 2019;12(1):280-5.
 - Adipa FE, Aziato L, Zakariah AN. Qualitative exploration of nurses' perspectives on clinical oxygen administration in Ghana. *Int J Afr Nurs Sci* 2015;2:42-6.
 - Gunathilake R, Lowe D, Wills J, Knight A, Braude P. Implementation of a multicomponent intervention to optimise patient safety through improved oxygen prescription in a rural hospital. *Aust J Rural Health* 2014;22(6):328-33.
 - Liu X, Liu X, Xu Y, Xu Z, Huang Y, Chen S, et al. Ventilatory ratio in hypercapnic mechanically ventilated patients with COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2020;201(10):1297-9.
 - Cousins JL, Wark PAB, McDonald VM. Acute oxygen therapy: a review of prescribing and delivery practices. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2016;2016(1):1067-75.
 - Demirel H, Ereğ Kazan E. Knowledge Levels of Nurses About Oxygen Therapy in Turkey *Int J of Health Serv Res and Policy* 2020;5(1):1-14.
 - Zelege S, Kefale D. Nurses' Supplemental Oxygen Therapy Knowledge and Practice in Debre Tabor General Hospital: A Cross-Sectional Study. *Open Access Emerg Med* 2021;12(13):51-6.
 - Eastwood GM, O'Connell B, Considine J. Low-flow oxygen therapy in intensive care: An observational study. *Aust Crit Care* 2011;24(4):269-78.
 - O'Driscoll BR, Howard LS, Earis J, Mak V. British Thoracic Society Guideline for oxygen use in adults in healthcare and emergency settings. *BMJ Open Respir Res* 2017;15;4(1):e000170. doi:10.1136/bmjresp-2016-000170.
 - McDonald CF, Jenkins S, Serginson J, Frith P, Whyte K. Clinical Practice Guideline on Adult Domiciliary Oxygen Therapy: Executive summary from the Thoracic Society of Australia and New Zealand. *Respirology* 2016;21(1):76-8.
 - World Health Organization (WHO). Living guidance for clinical management of COVID-19. Living guidance 23 November 2021. WHO reference number: WHO/2019-nCoV/clinical/2021.2
 - Rolfe S, Paul F. Oxygen therapy in adult patients. Part 2: Promoting safe and effective practice in patients' care and management. *Br J Nurs* 2018;27(17):988-95.
 - Goharani R, Miri MM, Koucheh M, Sistanizad M. Familiarity of physicians and nurses with different aspects of oxygen therapy; a brief report. *Emerg (Tehran)* 2017;5(1):e39.
 - McLeod M, Franklin BD, Barber N. Facilitators and barriers to safe medication administration to hospital inpatients: A mixed methods study of nurses' medication administration processes and systems (the MAPS study). *PLoS One* 2015;10(6):e0128958. doi:10.1371/journal.pone.0128958..
 - Considine J, Botti M, Thomas S. The effects of specific educational preparation on emergency nurses' clinical decisions regarding supplemental oxygen administration. *Nurs Health Sci* 2006;8(2):73-80.
 - Ali RA, Obeisat SM, Tarawneh LH. Improving nursing knowledge and care for neonates with respiratory distress in Jordan. *Int Nurs Rev* 2019;66(3):338-45.
 - Mahmoud AHO, Fadl Alseid HAH, Abdallah Awad HMA, Ahmed HA, Elhussein GEMO. Assessment of knowledge and practice of nurses regarding oxygen therapy in Elmak Nimir University Hospital. *ejpmr* 2016;3(4):30-5.
 - Ganeshan A, Quen Hon L, Soonawalla ZF. Oxygen: Can we prescribe it correctly? *Eur J InternMed* 2006;17(5):355-9.
 - Mayhob M. Nurses' knowledge, practices and barriers affecting a safe administration of oxygen therapy. *J Nurs Health Sci* 2017;7(3):42-51.
 - Eastwood GM, Reade MC, Peck L, Baldwin I, Considine J, Bellomo R. Critical care nurses' opinion and self-reported practice of oxygen therapy: A survey. *Aust Crit Care* 2012;25(1):23-30.
 - Brokalaki H, Matziou V, Zyga S, Kapella M, Tsaras K, Brokalaki E, et al. Omissions and errors during oxygen therapy of hospitalized patients in a large city of Greece. *Intensive Crit Care Nurs* 2004;20(6):352-7.
 - Georgiou E, Papathanassoglou EDE, Pavlakis A. Nurse-physician collaboration and associations with perceived autonomy in Cypriot critical care nurses. *Nurs Crit Care* 2017;22(1):29-39.

LİZENSEFALİ SPEKTRUMU OLGULARINDA GENOTİP-FENOTİP İLİŞKİSİ

GENOTYPE-PHENOTYPE CORRELATION IN CASES WITH LISSENCEPHALY SPECTRUM

Ayça Dilruba ASLANGER¹ , Z. Oya UYGUNER¹ , Birsen KARAMAN^{1,2} , Seher BAŞARAN¹ , Hülya KAYSERİLİ^{1,3} 

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Pediatrik Temel Bilimler Anabilim Dalı İstanbul, Türkiye

³Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ORCID ID: A.D.A. 0000-0003-1770-1762; Z.O.U. 0000-0002-2035-4338; B.K. 0000-0001-8640-0176; S.B. 0000-0001-8668-4746; H.K. 0000-0003-0376-499X

Citation/Atf: Aslanger AD, Uyguner ZO, Karaman B, Basaran S, Kayserili H. Genotype-phenotype correlation in cases with lissencephaly spectrum. Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi 2022;5(3):160-166. <https://doi.org/10.26650/JARHS2022-1107813>

ÖZ

Amaç: Çalışmamızda lizensefali tanısı alan altı olgunun genotip-fenotip ilişkisi açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğinde lizensefali tanısı ile izlenen altı olgu dâhil edilmiştir. Ağır lizensefali olan dismorfizmin eşlik ettiği iki olgu, izole lizensefali tanılı iki olgu, subkortikal band heterotopisi olan bir olgu ve serebellar hipoplazinin eşlik ettiği lizensefali tanılı bir olguda genotip-fenotip ilişkisi göz önüne alınarak sitogenetik (karyotip ve 17p13 FISH analizi) ile moleküler testler (*LIS1*, *DCX* ve *RELN* genlerinin Sanger yöntemi ile dizilenmesi) uygulanmıştır.

Bulgular: Olgu 1 ve Olgu 2'de 17p13 delesyonu saptanarak Miller-Dieker sendromu tanısı konuldu. İzole lizensefali olan Olgu 3 ve 4'te beyin posteriyörünün daha belirgin etkilenmesi nedeniyle yapılan *LIS1* geninde sırasıyla bilinen heterozigot c.337C>T (p.Arg113Ter) ve heterozigot c.946G>C (p.Asp317His) mutasyonları saptandı. Subkortikal band heterotopisi olan olguda (Olgu 5) *DCX* geninde heterozigot c.605_607delAGA (p.Lys202del) *novel* varyantı bulundu. Lizensefaliye serebellar hipoplazinin eşlik ettiği Olgu 6'da *RELN* geninde homozigot c.204C>G (p.Tyr68Ter) *novel* varyantı saptandı.

Sonuç: Genotip-fenotip ilişkisi göz önüne alındığında, klinik ve radyolojik özellikler lizensefali olgularında genetik mutasyonların belirlenmesine yardımcı olmuştur. Ayrıca, *DCX* ve *RELN* genlerinde patojenik olduğu tahmin edilen daha önce bildirilmemiş iki varyantın tespiti, lizensefali ile ilişkili genotip bilgisine katkı sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Lizensefali, nöronal migrasyon anomalisi, Miller-Dieker sendromu

ABSTRACT

Objective: In this study, we aimed to evaluate six cases diagnosed with lissencephaly in terms of the genotype-phenotype correlation.

Materials and Methods: Six cases with lissencephaly, which were followed up in our outpatient clinic, were included in the study. Two cases had lissencephaly and dysmorphic facial features, two cases had isolated lissencephaly, one case had subcortical band heterotopia, and one case had lissencephaly and cerebellar hypoplasia. Cytogenetic analysis (karyotyping and fluorescence in situ hybridization technique) and molecular tests (Sanger sequencing of the *LIS1*, *DCX*, and *RELN* genes) were selected according to genotype-phenotype correlation.

Results: 17p13 deletions were detected in two cases (Case 1 and Case 2), and Miller-Dieker syndrome was diagnosed. In Cases 3 and 4 with posterior dominant isolated lissencephaly, sequencing of the *LIS1* gene revealed heterozygous c.337C>T (p.Arg113Ter) and heterozygous c.946G>C (p.Asp317His) mutations, respectively. A heterozygous novel c.605_607delAGA (p.Lys202del) mutation in the *DCX* gene was found in a female case (Case 5) with subcortical band heterotopia. In Case 6 with lissencephaly accompanied by cerebellar hypoplasia, a homozygous c.204C>G (p.Tyr68Ter) novel variant was detected in the *RELN* gene.

Conclusion: When the genotype-phenotype correlation approach was chosen for lissencephaly, clinical and radiological features helped in pinpointing the genetic mutations in cases of lissencephaly. In addition, the detection of two previously unreported variants that were predicted to be pathogenic in the *DCX* and *RELN* genes contributes to the genotype information associated with lissencephaly.

Keywords: lissencephaly, neuronal migration anomalies, Miller-Dieker syndrome

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ayça Dilruba ASLANGER E-mail: aslangere@yahoo.com

Başvuru/Submitted: 05.07.2022 • **Revizyon Talebi/Revision Requested:** 08.08.2022 • **Son Revizyon/Last Revision Received:** 10.08.2022 • **Kabul/ Accepted:** 26.07.2022 • **Online Yayın/Published Online:** 19.09.2022



This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

GİRİŞ

Kortikal gelişim malformasyonları; mikrosefali, psiko-sosyal-motor gelişme geriliği (PSMG), spastisite, epilepsi ve diğer birçok nörolojik bulgunun etiopatogenezinde yer almaktadır. Bu malformasyonlar; nöronal proliferasyon anomalileri, nöronal migrasyon anomalileri ve nöronal organizasyon anomalileri olmak üzere üç grupta incelenmektedir. Licensefali (LIS) spektrumu, nöronal migrasyon anomalisi nedeniyle oluşan girus ve sulkus gelişimi ile ilişkili bir kortikal gelişim malformasyonudur. LIS spektrumu; 3 cm'den daha büyük girus aralığının olduğu agiri (girus yokluğu), 1,5 ila 3 cm aralıklı girusların olduğu pakigiri (girusların sayısında azalma/girusların kabalaşması) ve Subkortikal Band Heterotopisini (SBH) içermektedir. Agiri ve pakigiride, yaklaşık 2,5 ila 4 mm olan normal korteks kalınlığı çok kalın (10-20 mm) veya hafif kalın (5-10 mm) olurken, SBH'de korteksin hemen altında ak maddenin içinde gri madde bilateral ve simetrik bir band oluşturur (1). Bu spektrum ile ilişkili bilinen *LIS1*, *DCX*, *ARX*, *TUBA1A*, *RELN* ve *VLDLR* genleri dahil olmak üzere 20'nin üzerinde gen tanımlanmıştır (2). Di Donato ve arkadaşları tarafından yeni tanımlanan genlerin ilişkili olduğu yollar ile biyolojik ağlar dikkate alınarak giral malformasyonun derecesi, gradyanı, kortikal kalınlığı ve eşlik eden beyin malformasyonlarının varlığına göre görüntüleme tabanlı bir sınıflandırma sistemi geliştirilerek genotip-fenotip ilişkisi kurulmuştur (3). Giral malformasyonların etkilenme derecesi (*Grade*) ağırdan hafife 1'den 6'ya kadar yapılan derecelendirme sistemine göre; diffüz agiri (*Grade 1*), anterior veya posteriyorda az sayıda kıvrım dışında diffüz agiri (*Grade 2*); anterior pakigiri ve posteriyor agiri (*Grade 3*), diffüz pakigiri (*Grade 4*), pakigiri ve SBH (*Grade 5*) ve SBH (*Grade 6*) olarak sınıflandırılmıştır (3). *LIS1* geni ile ilişkili Licensefali, Miller-Dieker sendromu (MDS), İzole Licensefali Sekansı (ILS) ve nadiren SBH içerir. Ağır licensefaliye (*Grade 1-2*) ek olarak, belirgin alın, bitemporal darlık, orta yüz hipoplazisi, antevort burun deliklerinin olduğu kısa burun ve ince üst dudak gibi dismorfik yüz özellikleri olan MDS'ye, *LIS1* genini içeren 17p13.3 mikrodelsiyonları neden olur. *LIS1* geninin monoalelik nokta mutasyonları ise licensefali derecesinin daha az olduğu (*Grade 3-4*) ve dismorfizmin eşlik etmediği ILS'ye neden olabilir. SBH, frontal loblara sınırlı çift korteks görünümünde ise tipik olarak X kromozomunda lokalize *Doublecortin* (*DCX*) genindeki mutasyonlar ile ilişkilidir. Nadiren posteriyor loblara sınırlı SBH'de *LIS1* genindeki mutasyonlar gösterilmiştir. Etkilenmiş olgularda büyüme-gelişme geriliği, ağır mikrosefali, PSMG, epilepsi ve zihinsel gerilik görülebilir. *DCX* geni ile ilişkili licensefalide ise, erkek olgularda anterior etkilenmenin daha belirgin olduğu licensefali, dişi olgularda SBH sendromu görülür. LIS spektrumundaki olguların yaklaşık %40'ında *LIS1* geninde delesyon veya nokta mutasyonları ile %23'ünde *DCX* geni mutasyonları etiolojiden sorumludur. LIS spektrumuna serebellar hipoplazinin eşlik ettiği ek beyin malformasyon grubunda ise otozomal resesif kalıtılan *RELN* geni mutasyonları olguların yaklaşık %60'ında görülür (3). Licensefalide epilepsi ve nöromotor retardasyon nedeniyle yaşam beklentisi büyük ölçüde azalır ve ölüm en sık erken çocukluk döneminde meydana gelir. Bu çalışma sitogenetik ve moleküler incelemeler ile etiopatogenezini aydınlatılmış licensefali tanılı altı olgunun verilerini genotip-fenotip ilişkisi değerlendirilerek sunmayı amaçlamıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmış (Dosya no: 2008/2075) olup İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na 1996-2009 yılları arasında başvuran ve etiopatogenezini aydınlatılmış LIS spektrumu tanısı alan olgular üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışma grubu 17p13.3 delesyonu ile *LIS1*, *DCX* ve *RELN* genlerinde mutasyon saptanan altı licensefali tanılı olgudan oluşmuştur. Çalışmaya dâhil edilen tüm olguların ebeveynlerinden bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

Sitogenetik ve Moleküler Sitogenetik yöntemler

Olgulardan alınan periferik kan hücrelerinden kromozom eldesi ile elde edilen kromozomlar metafaz ve/veya prometafaz evresinde >550 band düzeyinde HRBT (*High Resolution Banding Technique*) ile incelendi. MDS klinik tanılı olgular kromozomların belli bölgelerine özgün DNA dizilerinin problarla işaretlenerek DNA ile hibrid oluşturması ve mikroskopta görüntülenmesi esasına dayanan FISH (Floresan in Situ Hibridizasyon) tekniği ile incelendi. Bu olgularda FISH analizi ile tanı koymak için *LIS1* geninin 80kb'lık kısmını içeren 17p13.3 bölgesine bağlanıp 110kb uzunluğundaki DNA dizisini kırmızı renkli floresan ile işaretleyen SMS/MDS/ILS prob kombinasyonu kullanıldı (Cytocell/Aquarius Smith Magenis/Miller-Dieker/ILS probe combination).

Moleküler yöntemler

Olguların klinik ve radyolojik bulguları göz önüne alınarak periferik kandan DNA izolasyonları 5ml K3 EDTA'lı tüplere alınan periferik kandan kit kullanılarak firma protokolüne uygun olarak elde edildi (DNA Isolation Kit for Mammalian Blood, Roche Diagnostics/Elips-İstanbul). Genomik DNA ve/veya komplementer DNA için primer tasarlanırken seçilen oligonükleotidlerin herhangi bir SNP (*single nucleotide polymorphism*) üzerine gelmemesine, tekrarlayan diziler üzerinde bulunmamasına, ileri geri nükleotidlerin bağlanma ısılarının (Tm; melting temperature) birbiri ile aynı ya da en fazla +/-2 °C farklı olmasına, içerdiği AT ve CG nükleotidlerinin olduğunca eşit dağılımlı olmasına, 18-22 nükleotid içermesine ve gen bölgesi için özgün olmasına özen gösterildi. Özgünlük, *University of California, San Diego* (UCSD) '*Genome Browser in silico PCR*' interaktif sistemi ile test edildi.

DCX ve *LIS1* genlerinin tüm ekzonlarını dizileyebilecek ve genomik DNA'nın intron-ekzon bağlantı bölgelerinden en az 100 baz çifti introna girecek şekilde ve *RELN* geninin komplementer DNA'sında ise tüm kodlanan ekzonları dizileyebilecek şekilde birbiri ile örtüşen primerler tasarlandı. Elde edilen genomik DNA'da Olgu 3 ve 4'te *LIS1* geni (NM_000430.4) kodlayan 1-11.ekzon/ekzon-intron bölgeleri ile Olgu 5'te *DCX* geni (NM_178151.3) 1-7.ekzon ve ekzon-intron sınırları için Sanger dizileme metodu ile çalışılmıştır. Olgu 6'da periferik kandan elde edilen cDNA ve gDNA örneklerinde *RELN* geni (NM_005045.4) Sanger yöntemi ile dizilendi. Olgu 3 ila 6'nın ebeveynlerinden alınan periferik kan örneklerinde segregasyon analizi Sanger yöntemi ile ya-

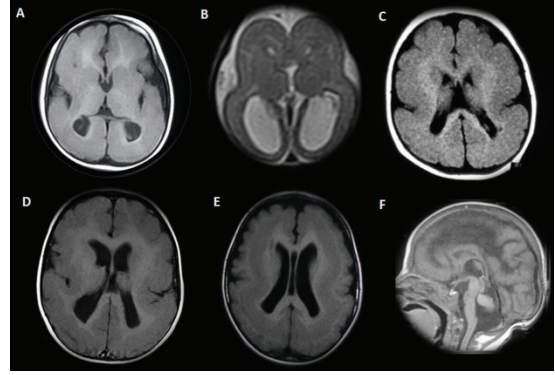
pılmıştır. PCR yöntemi ile çoğaltılan ekzon bölgeleri ABI 3730 XL otomatik kapiller DNA dizileyesinde (*Applied Biosystems, Macrogen Inc.*, Seul, Kore) gerçekleştirildi. Dizileme sonuçları Chromas 2.32 (www.technelysium.com.au/chromas.html) ve NCBI BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*; www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) programları kullanılarak bilgisayar ortamında analiz edildi. Varyasyonların genomik lokasyonları GRCh37/hg19 göre belirlenmiş ve bulunan varyantlar ACMG (*American College of Medical Genetics and Genomics*) kriterleri üzerinden değerlendirilmiştir. Ayrıca ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) ve *Human Genome Mutation Database* (HGMD) veri tabanları (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/>) taranmıştır. Alelik frekansları gnomAD (<https://gnomad.broadinstitute.org>) ve Türk toplumu ile ilişkili (*Turkish Variome*, TRV) veri tabanlarında kontrol edilmiştir (4). Patojenite skorlaması için mutasyon tipine göre *Mutation Taster* (<https://www.mutationtaster.org/>), yanlış anlamlı değişimler için *Protein Variation Effect Analyzer* (PROVEAN) <http://provean.jcvi.org/index.php>) ile *Combined Annotation Dependent Depletion* (CADD), <https://cadd.gs.washington.edu/snv>) *in silico* veri analiz programları kullanılmıştır.

BULGULAR

Olgulara ait radyolojik (Şekil 1) bulgular ile genetik sonuçlar (Şekil 2) Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1: Lizenfali spektrumu olan olguların Kraniyal MR bulguları ve genetik sonuçları

| Olgu | Kraniyal MR bulgusu | Grade | Genetik sonuçlar |
|--------|---|---------|--|
| Olgu 1 | anteriyorda birkaç kıvrım dışında posteriyorun daha ağır etkilendiği diffuz agiri | Grade 2 | heterozigot 17p13 delesyonu Miller-Dieker sendromu |
| Olgu 2 | diffuz agiri | Grade 1 | heterozigot 17p13 delesyonu Miller-Dieker sendromu |
| Olgu 3 | posteriyor agiri ve anteriyor pakigiri | Grade 3 | LIS1 geninde heterozigot c.337C>T (p.Arg113Ter) bilinen varyantı [VCV000280047.11] |
| Olgu 4 | posterior pakigiri | Grade 4 | LIS1 geninde heterozigot c.949G>C (p.Asp317His) bilinen varyantı [VCV000008077.1] |
| Olgu 5 | Subkortikal band heterotopisi | Grade 6 | DCX geninde heterozigot c.605_607 delAGA novel varyantı [SVC002524170] |
| Olgu 6 | belirgin anterior ve hafif posterior pakigiri, serebellum ve beyin sapı hipoplazisi | - | RELN geninde homozigot c.204C>G (p.Tyr68Ter) novel varyantı [SCV002524171] |



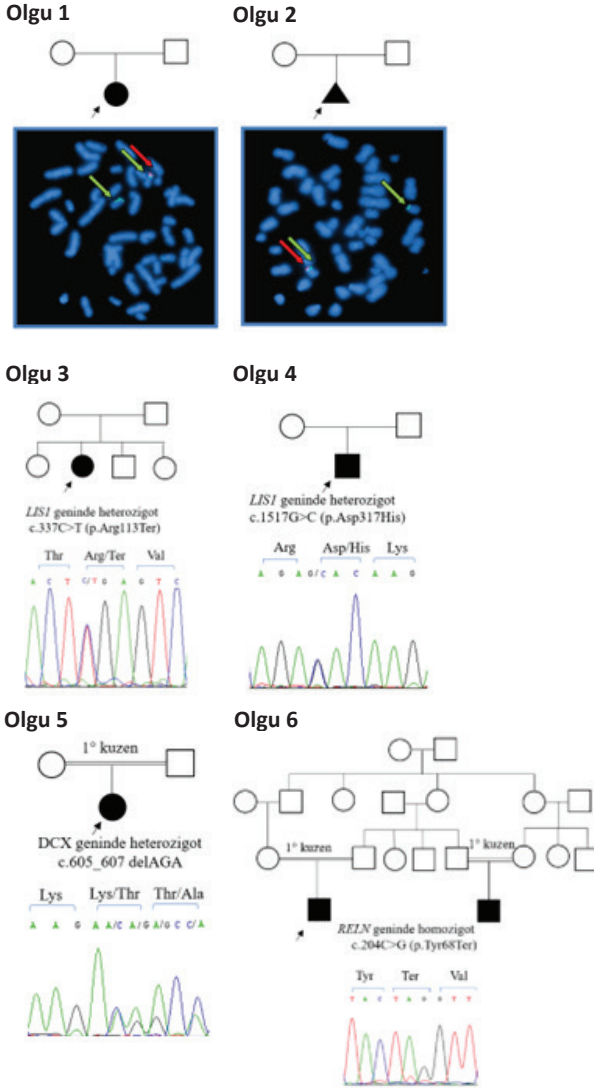
Şekil 1: Olguların Kraniyal MR görüntüleri A: Miller-Dieker sendromu tanılı Olgu 1'de T1 ağırlıklı aksiyal kesitlerde beynin anteriyorunda birkaç kıvrım dışında diffuz agiri (Grade 2) B: Miller-Dieker sendromu tanılı Olgu 2'de T2 ağırlıklı aksiyal kesitlerde diffuz agiri (Grade 1) C: LIS1 geninde heterozigot mutasyonu olan Olgu 3'te T1 ağırlıklı aksiyal kesitlerde beynin anteriyorunda pakigiri ve posteriyorunda agiri (Grade 3) D: LIS1 geninde heterozigot mutasyonu olan Olgu 4'te T1 ağırlıklı aksiyal kesitlerde beynin posteriyorunda daha belirgin diffuz pakigiri (Grade 4) E: DCX geninde heterozigot novel varyantı olan Olgu 5'te T1 ağırlıklı aksiyal kesitlerde kalın SBH (Grade 6) F: RELN geninde homozigot novel varyantı olan Olgu 6'da serebellar ve beyin sapı hipoplazisi ile birlikte pakigiri

Klinik bulgular

Olgu 1; Anne-babası arasında akraba evliliği olmayan 4 yaşında kız olgu (G1P1); PSMG, ağır mikrosefali (-3,51 SD), epilepsi ve kortikal anomali nedeniyle değerlendirilmiştir. Mikrosefali, bitemporal darlık, dolgun yanakların olduğu armut şeklinde dismorfik yüz görünümü mevcuttu. Kraniyal MR bulguları; beynin anteriyorunda birkaç kıvrım dışında posteriyorun daha ağır etkilendiği diffuz agiri (Grade 2) ile uyumlu bulundu.

Olgu 2; Anne-babası arasında akraba evliliği olmayan kortikal anomali saptanması üzerine 32.GH'da termine edilen erkek fetüs postmortem değerlendirilmiştir (G1TıbbiTahliye1). 32.GH'da II. düzey ultrasonografide ventrikülomegali, 3.Ventrikül'de dilatasyon ve korpus kollozum agenezisi (CCA) saptanmış, singular girus, pariyetooksipital ve kalkanin fissürler izlenmemiş ve insular operkulinizasyon yokluğu gözlenmişti. Fetal Kraniyal MR'da diffuz agiri ve CCA tanısı doğrulanmıştı. 32.GH'daki fetüsün postmortem fizik muayenesinde baş çevresi 26 cm (-2,70 SD) idi. Mikrosefali, bitemporal darlık, hipertelorizm, basık burun ucu, düz filtrum ve dar damağın olduğu dismorfik yüz görünümü mevcuttu. Mikrosefali, diffuz agiri (Grade 1), CCA, dismorfik yüz görünümü bulguları mevcuttu.

Olgu (3) Anne-babası arasında akrabalık olmayan, 2 yaşındaki kız olgu (G4P4); , mikrosefali [43 cm (-4,12 SD)], hipotoniste, PSMG, epilepsi ve kortikal anomali nedeniyle polikliniğimizde değerlendirilmiştir. Nöromotor gelişiminde başını 1 yaşında tuttuğu, desteksiz oturmaya 5 yaşında başladığı öğrenildi. Kraniyal MR değerlendirmesinde posteriyor bölgenin belirgin etkilendiği posteriyor agiri ve anteriyor pakigiri (Grade 3) ile uyumlu bulundu ve ILS grubuna dahil edildi.



Şekil 2: Olguların ait aile ağaçları ve genetik sonuçları Olgular 1 ve Olgular 2de MDS'ye özgü FISH çalışmasında 17p13.3 MDS bölgesinde tek sinyal varlığı, Olgular 3'te LIS1 geninde heterozigot c.337C>T (p.Arg113Ter) mutasyonu, Olgular 4'te LIS1 geninde heterozigot c.946G>C (p.Asp317His) mutasyonu, Olgular 5'te DCX geninde daha önce hastalıkla ilişkisi bilinmeyen novel heterozigot c.605_607delAGA (p.Lys202del) varyantı, Olgular 6 ve benzer etkilenmiş kuzeninde RELN geninde daha önce hastalıkla ilişkisi bilinmeyen novel homozigot c.204C>G (p.Tyr68Ter) varyantı

Olgular (4) Anne-babası arasında akrabalık olmayan, 1 yaşındaki erkek olgular (G1P1); sınırlı PSMG, ve kortikal anomali nedeniyle değerlendirildi. Olguların baş çevresi 46,2 cm (0,62 SD) normal idi. Yüzde belirgin dismorfizmi yoktu. Nöromotor gelişimde 3 aylıkken başını tuttuğu ve 9 aylıkken desteksiz oturduğu öğrenildi. Kraniyal MR değerlendirmesinde beynin posteriyör bölgesinin daha belirgin olarak etkilendiği diffuz pakigiri (Grade 4) izlendi.

Olgular (5) Anne-baba arasında 1. derece kuzen evliliği olan 6 yaşındaki kız olgular (G1P1); PSMG, epilepsi ve kortikal anomali

nedeniyle polikliniğimizde değerlendirildi. 6 yaş fizik muayenesinde baş çevresi 49,5 cm (-1,12 SD) idi. Yüzde belirgin bir dismorfizmi yoktu. Sorulara yanıt vermiyor, ancak basit emirleri yerine getiriyordu. Nöromotor gelişimde 3 yaşında yürüdüğü, 2 yaşında hecelemeye başladığı ve 4 yaşında ilk kelimesini söylediği öğrenildi. Halen 3 kelimeli cümle kuramıyordu. Kraniyal MR değerlendirmesinde supratentoriyal alanda serebral korteksler ile lateral ventriküller arasında konveksiteye dek tüm uzunluğu boyunca gri madde ile aynı intensitede homojen kalın band olan SBH (Grade 6) ile uyumlu bulundu.

Olgular (6) Anne-baba arasında 1° kuzen evliliği olan 2 yaş 4 aylık erkek çocuk (G1P1) ağır PSMG, hipotonisite, spastisite, epilepsi ve serebellar hipoplazi nedeniyle değerlendirilmişti. Ailede anne-babası arasında akraba evliliği olan benzer klinik bulguları olan kuzen öyküsü mevcuttu. 2 yaş 4 aylık fizik muayenesinde baş çevresi 46 cm (-2,38 SD) idi, halen destekli oturma becerisini kazanamamıştı. Ağır santral hipotonisite ve ekstremitelerde hipertonisitesi mevcuttu. Olgular ve benzer etkilenmiş kuzenin Kraniyal MR incelemelerinde belirgin anterior ve hafif posteriyör pakigiri, incelmış korpus kallozum, hafif derecede beyin sapı hipoplazisi ve ağır derecede serebellar hipoplazi saptandı.

Genetik Sonuçlar

Tüm olguların HRBT ile yapılan karyotip analizleri normal (Olgular 1, 3 ve 5'te 46, XX ile Olgular 2, 4 ve 6'da 46,XY) sonuçlandı. Olgular 1 ve Olgular 2'de MDS'ye özgü FISH çalışmasında 17. kromozomlardan birisinde 17p13.3 MDS bölgesinde sinyal alınmadı ve MDS tanısı kondu. ILS tanıları iki olgularda LIS1 (NM_000430.4) geninde literatürde daha önce hastalıkla ilişkisi bildirilmiş sırasıyla, Olgular 3'te heterozigot c.337C>T (p.Arg113Ter) mutasyonu ile Olgular 4'te heterozigot c.946G>C (p.Asp317His) mutasyonu saptandı. Olgular 3 ve 4'ün ebeveynlerinde yapılan segregasyon analizinde anne ve babanın bu mutasyonu taşımadığı olgularımızın *de novo* mutasyon ile etkilendiği anlaşıldı. SBH'li Olgular 5'te DCX geninde (NM_178153.1) daha önce hastalıkla ilişkisi bilinmeyen novel heterozigot c.605_607delAGA (p.Lys202del) varyantı saptandı. Bu varyant GnomAD ve TRV veri tabanında bulunmayan ACMG kriterlerine göre patojenik (PM1, PM2, PM4, PP3) ve *in silico* veri tabanlarına göre (Mutation Taster skoru: 0,99 hastalık yapıcı, Provean skoru: -12.094 zararlı) hastalık yapıcı olarak yorumlanmıştır. Anne ve babada bu varyant saptanmamış ve olguların *de novo* oluşan novel hastalık yapıcı olduğu öngörülen aminoasit dizisinde lizin aminoasit kaybına neden olan çerçeve-içi (*in-frame*) delesyon olduğu anlaşıldı. Serebellar hipoplazi ile birlikte LIS spektrumu olan Olgular 6'da RELN (NM_005045.4) geninde homozigot c.204C>G (p.Tyr68Ter) novel varyantı saptandı. Aynı varyant benzer etkilenmiş kuzeninde homozigot ve etkilenmiş olguların ebeveynlerinde heterozigot saptandı (Şekil 2). Bu novel varyant GnomAD ve TRV veri tabanında bulunmayan nadir bir varyant idi. ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) ve erken dur kodonu oluşturması nedeniyle *in silico* veri tabanlarında (Mutation Taster skoru: 1 hastalık yapıcı, CADD skoru: 38 zararlı) hastalık yapıcı olarak hesaplanmıştır. Bilinen varyantların ClinVar erişim numaraları [variation in ClinVar (VCV)] ile novel varyantların ClinVar veri tabanına eklenmesi için tarafımızca gönderilen bilgilere ait ka-

yıt numaraları [submitted records in ClinVar (SCV)] Tablo -1'de verilmiştir.

TARTIŞMA

LIS spektrumu sınıflandırılması ile ilgili ilk çalışmalarda, giral malformasyonlar ağırdan hafife 1'den 6'ya kadar derecelendirilmişti (5-7). Bu derecelendirme sistemine ek olarak giral malformasyonun gradientinin beyin farklı bölgelerinde değişkenlik gösterdiği anterior (A) veya posterior (P) etkilenmenin ağırlığına göre genotip-fenotip ilişkisi kurulmaya çalışılmıştır. Bu sınıflandırma LIS1 ve DCX genleri ile ilişkili LIS spektrumunu ayırt etmek için faydalı olmakla birlikte yeni genlerin tanımlandığı farklı malformasyon sendromları için kullanılamamıştır. Yeni genlerin ilişkili olduğu protein yolları göz önüne alınarak genotip-fenotip korelasyonu için önerilen güncel sınıflandırmaya göre giral malformasyonun derecesine, gradyanına, kortikal kalınlığına ve ilişkili beyin malformasyonlarının varlığına göre görüntüleme tabanlı bir sınıflandırma sistemi geliştirilmiştir (2,3). Bu yeni sınıflandırmada LIS spektrumu ile ilişkili proteinleri kodlayan 20'nin üzerinde gen, mikrotübül ve mikrotübül ilişkili proteinler [Microtubule-Associated Proteins (MAPs) başta olmak üzere hücre içi lokalizasyon ve fonksiyonuna göre 8 alt gruba ayrılmıştır. Bunlar; mikrotübülün yapısal bir proteini olan tubulinler (TUBA1A, TUBB2B, TUBA8, TUBB, TUBB3), sentrozomda eksprese edilen MAP (LIS1-YWHAE, LIS1, TUBG1, NDE1), mikrotübül motor (DYNC1H1, KIF5C, KIF2A), aktin ve aktin ilişkili MAP (DCX, ACTB, ACTG1), kompleks MAP (CDK5), Reelin sinyal yolağı (RELN, VLDLR), ön beyin transkripsiyon regülatörü (ARX) ve kaspas-aracılı apoptoz (CRADD) ile ilişkili genlerdir (2).

LIS1 geni, Platelet aktive edici faktör asetilhidrolaz izoform 1B alfa subüni (PAFAH1B1) olarak da bilinen, evrimsel olarak korunmuş primer olarak göç eden nöronların sentrozomunda lokalize mikrotübül ile ilişkili LIS1 proteinini kodlamaktadır (8,9). LIS spektrumundaki olguların yaklaşık %40'ından LIS1 geninde delesyon veya nokta mutasyonları sorumludur. LIS1 geni ile ilişkili lizenfali beyin posteriorunun (pariyetooksipital bölge) anteriora (frontotemporal bölge) göre daha fazla etkilendiği belirlenmiştir. Grade 1-2 lizenfali tanılı 17p13.3'te heterozigot büyük delesyonu olan MDS'den etkilenen olgular, Grade 2-4 lizenfali tanılı LIS1 geninde heterozigot küçük gen içi delesyon ve duplikasyonu olan ILS'li olgulara göre daha ağırdır. LIS1 geninin heterozigot delesyonları veya mutasyonları LIS spektrumundaki olguların %40'ında bulunmuştur. SBH'ye neden olan LIS1 mutasyonları diffüz değil, posteriora baskın bulunur. Mozaik LIS1 mutasyonları olan olgularda posterior baskın SBH'de mutasyonlar gösterilmiştir (10). Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 53 yanlış anlamlı/anlamsız, 13 kırılma hatası, 19 küçük delesyon, 12 küçük delesyon, insersiyon/duplikasyon, 78 büyük delesyon, 8 kompleks yeniden düzenlemeler olmak üzere 208 varyant bildirilmiştir.

Olgu 1, posterior ağıri ve anterior pakigirinin (Grade 2) görüldüğü kalın korteksin izlendiği lizenfali ve fasiyal dismorfizm ile Olgu 2, fetal dönemde diffuz ağıri ile prezente olan dismorfik bulgular nedeniyle değerlendirilmiş ve 17p13'e özgün FISH analizi ile LIS1 genini de içeren 17p13'te monoalelik delesyon saptanarak MDS tanısı almışlardı. Ağır lizenfali bulguları olan olgularda dismorfik bulgular eşlik etmesi halinde olgu serimiz-

deki olgu 1 ve 2'de olduğu gibi ilk basamakta 17p13 FISH veya array-CGH analizi ile MDS'ye tanı konulabilmektedir.

Ağır mikrosefaliye eşlik eden anterior pakigiri ve posterior ağıri (Grade 3) ile uyumlu ILS bulgusu olan Olgu 3'te LIS1 geninde heterozigot c.337C>T (p.Arg113Ter) mutasyonu saptanmıştır. Bu mutasyon Saillour ve arkadaşları tarafından olgumuza benzer Grade 3 lizenfali olan bir olguda daha önceden bildirilmişti (11). Hafif nöromotor gelişim geriliği olan ancak mikrosefali ve epilepsinin eşlik etmediği posterior daha belirgin diffuz pakigirisi (Grade 4) olan Olgu 4'te LIS1 geninde heterozigot c.949G>C (p.Asp317His) mutasyonu ise Carlosa ve arkadaşları tarafından yine olgumuza benzer Grade 4 lizenfali olan bir olguda bildirilmiştir (12). LIS1 proteininin erken sınıflandırılmasına neden olan patojenik varyantlar, yanlış anlamlı varyantlardan daha şiddetli derecede bir lizenfali fenotipi ile sonuçlanma eğiliminde olduğu öngörülmüştür. Literatürdeki bu bilgi bizim olgu serimizde anlamsız (nonsense) mutasyonu olan Olgu 3'ün yanlış anlamlı (missense) mutasyona sahip Olgu 4'ten daha ağır etkilenmesi ile uyumlu bulunmuştur.

DCX geni aktin ve aktin ilişkili MAP protein ağında kategorize edilmiştir. Mikrotübül ağı ve aktin hücre iskeleti arasındaki entegrasyon, hücre bölünmesi, nöronal göç ve aksonal büyüme gibi kritik hücre fonksiyonları için gereklidir (13,14,15). Bu gen, çoğu SBH'li olmak üzere LIS'li hastaların %23'ünü oluşturan en sık mutasyona uğramış ikinci gendir. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 109 yanlış anlamlı/anlamsız, 8 kırılma hatası, 12 küçük delesyon, 7 insersiyon/duplikasyon, 1 küçük indel, 12 büyük delesyon ve 1 kompleks yeniden düzenleme olmak üzere 152 varyant bildirilmiştir.

SBH'ye sahip Olgu 5'te DCX geninde literatürde daha önce bildirilmemiş novel heterozigot c.605_607 delAGA (p.Lys202del) varyantı saptanmıştı. DCX geni ile ilişkili mutasyonların kız olgularda çift korteks sendromu ile ilişkili olması olgumuzda de novo saptanan bu varyantın tahmini veri tabanında hastalık yapıcı olarak yorumlanması ile uyumlu bulunmuştur.

Serebellar hipoplazi ile giden hastalıkların ayırıcı tanı listesinde multipl konjenital anomalinin görülebildiği kromozom anomalileri, konjenital glikolizasyon bozuklukları ve Smith-Lemli-Opitz sendromu gibi metabolik hastalıklar, pons hipoplazisinin eklenmesi halinde pontoserebellar hipoplazi, molar diş bulgusu varlığında Joubert Sendromu akla gelmektedir. Ancak kortikal kalınlığın arttığı lizenfali etkilenmenin özellikle beyin anterior bölgesinde daha belirgin olduğu serebellar hipoplazi olgularında RELN genindeki mutasyonlar sorumludur (16). Reelin, gelişmekte olan beyindeki Cajal Retzius hücreleri ve serebellumun eksternal granül tabakasındaki granül hücreleri tarafından salgılanan fetal dönemde yüksek oranda serebellumda ve postnatal dönemde insan beyin ve nöronları kontrol eden hücre dışı bir proteindir. Bu proteinin reseptörü olan düşük molekül ağırlıklı lipoprotein [very low density lipoprotein receptor (VLDLR)] proteinini kodlayan VLDLR geni ise lizenfalinin belirgin olmadığı, korteks kalınlığının artmadığı basitleşmiş giral paternli düzleşmiş beyin kıvrımlarına eşlik eden serebellar hipoplazi olgularında daha çok bildirilmiştir. RELN geninin bialle-

lik mutasyonları ise, beynin ön bölümünün daha çok tutulduğu LIS ile birlikte ağır serebellar hipoplazi ile ilişkilendirilmiştir (17). Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 131 yanlış anlamlı/anlamsız, 7 kırılma hatası, 10 küçük delesyon, 1 küçük insersiyon, 6 gros delesyon ve 1 kompleks yeniden düzenlemeler olmak üzere 157 varyant bildirilmiştir.

Frontal pakigirinin daha belirgin olduğu ağır derecede serebellar hipoplazisi olan Olgu 6 ve benzer etkilenmiş kuzeninde homozigot anlamsız (*nonsense*) c.204C>G (p.Tyr68Ter) *novel* varyant saptanmıştır. Aile içinde etkilenmiş olgularda bu varyant homozigot ve ebeveynlerde heterozigot saptanarak otozomal resesif kalıtım ile uyumlu segregasyon gösterilmiştir. *RELN* geni ile ilişkili LIS spektrumuna serebellar hipoplazi eşlik etmesi ve tahmini veri tabanlarında hastalık yapıcı olarak yorumlanması nedeniyle bu varyantın olguların klinik bulgularını açıkladığı düşünülmüştür.

LIS spektrumu; mikrosefali, PSMG, zihinsel yetersizlik ve epilepsi gibi ağır nörolojik bulgulara neden olan nadir bir kortikal gelişimi malformasyonudur. Bu spektruma yol açan 20'nin üzerinde gen olmasına karşın *LIS1* ve *DCX* genleri LIS spektrumundan en çok sorumlu olan genlerdir. Genotip-fenotip ilişkisi dikkate alındığında tüm ekzom dizi analizine gerek kalmadan hedef gen analizi ile olgulara tanı konulabilmektedir. Hedef gen seçimi için beynin posteriyorunun daha fazla etkilendiği durumlarda *LIS1* geni delesyonları ve nokta mutasyonları öncelikle dışlanmalıdır. Anteriyorunun daha belirgin etkilendiği erkek olgular ile SBH'ye sahip kız olgularda *DCX* geni dizilenmelidir. Ailede birden fazla etkilenen bireyin olduğu ve/veya akraba evliliklerinden doğan olgularda lizensefaliye serebellar hipoplazi eşlik etmesi halinde *RELN* geni mutasyonları akla gelmelidir.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Dosya no: 2008/2075).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- A.D.A., Z.O.U., B.K., S.B., H.K.; Veri Toplama- A.D.A., H.K.; Veri Analizi/Yorumlama- A.D.A., Z.O.U., B.K., S.B., H.K.; Yazı Taslağı- A.D.A., Z.O.U., H.K.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- A.D.A., Z.O.U., B.K., S.B., H.K.; Son Onay ve Sorumluluk- A.D.A., Z.O.U., B.K., S.B., H.K.; Malzeme ve Teknik Destek- Z.O.U., B.K., S.B.; Süpervizyon A.D.A., Z.O.U., B.K., S.B., H.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir

Finansal Destek: Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 3574).

Ethics Committee Approval: This study was approved by Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine Clinical Research Ethics Committee (No: 2008/2075).

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- A.D.A., Z.O.U., B.K., S.B., H.K.; Data Acquisition- A.D.A., H.K.; Data Analysis/Interpretation-

A.D.A., Z.O.U., B.K., S.B., H.K.; Drafting Manuscript- A.D.A., Z.O.U., H.K.; Critical Revision of Manuscript- A.D.A., Z.O.U., B.K., S.B., H.K.; Final Approval and Accountability- A.D.A., Z.O.U., B.K., S.B., H.K.; Material and Technical Support- Z.O.U., B.K., S.B.; Supervision- A.D.A., Z.O.U., B.K., S.B., H.K.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: This study was supported by Scientific Research Projects Coordination Unit of Istanbul University (Project number: 3574).

KAYNAKLAR

1. Dobyns WB, Guerrini R, Leventer RL. Malformations of cortical development. In: Swaiman KF, Ashwal S, Ferriero DM, Schor NF, editors. Swaiman's Pediatric Neurology: Principles and Practice. ed 5. Edinburgh: Elsevier Saunders; 2012. p. 202–31.
2. Di Donato N, Timms AE, Aldinger KA, Mirzaa GM, Bennett JT, Collins S, et al. Analysis of 17 genes detects mutations in 81% of 811 patients with lissencephaly. *Genet Med* 2018;20(11):1354-64.
3. Di Donato N, Chiari S, Mirzaa GM, Aldinger K, Parrini E, Olds C, et al. Lissencephaly: Expanded imaging and clinical classification. *Am J Med Genet A* 2017;173(6):1473-88.
4. Kars ME, Basak AN, Onat OE, Bilguvar K, Choi J, Itan Y, et al. The genetic structure of the Turkish population reveals high levels of variation and admixture. *PNAS* 2021;118 (36):e2026076118. doi.org/10.1073/pnas.2026076118
5. Dobyns WB, Elias ER, Newlin AC, Pagon RA, Ledbetter DH. Causal heterogeneity in isolated lissencephaly. *Neurology* 1992;42(7):1375-88.
6. Dobyns WB, Truwit CL, Ross ME, Matsumoto N, Pilz DT, Ledbetter DH, et al. Differences in the gyral pattern distinguish chromosome 17-linked and X-linked lissencephaly. *Neurology* 1999;53(2):270-7.
7. Kato M, Dobyns WB. Lissencephaly and the molecular basis of neuronal migration. *Hum Mol Genet* 2003;12 Spec No 1:R89-96.
8. Feng Y, Olson EC, Stukenberg PT, Flanagan LA, Kirschner MW, Walsh CA. *LIS1* regulates CNS lamination by interacting with mNude, a central component of the centrosome. *Neuron* 2000;28(3):665-79.
9. Reiner O, Carrozzo R, Shen Y, Wehnert M, Faustinella F, Dobyns WB, et al. Isolation of a Miller-Dieker lissencephaly gene containing G protein beta-subunit-like repeats. *Nature* 1993;364(6439):717-21.
10. Sicca F, Kelemen A, Genton P, et al. Mosaic mutations of the *LIS1* gene cause subcortical band heterotopia. *Neurology* 2003;61(8):1042-6.
11. Saillour Y, Carion N, Quelin C, Leger PL, Boddaert N, Elie C, et al. *LIS1*-related isolated lissencephaly: spectrum of mutations and relationships with malformation severity. *Arch Neurol* 2009;66(8):1007-15.
12. Cardoso C, Leventer RJ, Matsumoto N, Kuc JA, Ramocki MB, Mewborn SK, et al. The location and type of mutation predict malformation severity in isolated lissencephaly caused by abnormalities within the *LIS1* gene. *Hum Mol Genet* 2000;9(20):3019-28.
13. Mohan R, John A. Microtubule-associated proteins as direct crosslinkers of actin filaments and microtubules. *IUBMB Life* 2015;67(6):395-403.
14. des Portes V, Francis F, Pinard JM, Desguerre I, Moutard ML, Snoeck I, et al. Doublecortin is the major gene causing X-linked subcortical laminar heterotopia (SCLH). *Hum Mol Genet* 1998;7(7):1063-70.
15. Gleeson JG, Allen KM, Fox JW, Lamperti ED, Berkovic S, Scheffer I, et

- al. Doublecortin, a brain-specific gene mutated in human X-linked lissencephaly and double cortex syndrome, encodes a putative signaling protein. *Cell* 1998;92(1):63-72.
16. Poretti A, Boltshauser E, Doherty D. Cerebellar hypoplasia: differential diagnosis and diagnostic approach. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2014;166C(2):211-6.
17. Boycott KM, Bonnemann C, Herz J, Neuert S, Beaulieu C, Scott JN, et al. Mutations in VLDLR as a cause for autosomal recessive cerebellar ataxia with mental retardation (dysequilibrium syndrome). *J Child Neurol* 2009;24(10):1310-5.

GENİŞ KAPASİTELİ BİR NÜKLEER TIP MERKEZİNDE KATI RADYOAKTİF ATIK YÖNETİMİ

SOLID RADIOACTIVE WASTE MANAGEMENT IN A LARGE-CAPACITY NUCLEAR MEDICINE CENTER

Mustafa DEMİR¹ , Nazenin İpek IŞIKCI² , Nami YEYİN¹ 

¹İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Nükleer Tıp Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Nişantaşı Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

ORCID ID: M.D. 0000-0002-9813-1628; N.İ.İ. 0000-0003-2337-2598; N.Y. 0000-0003-0262-4020

Citation/Atf: Demir M, Isikci NI, Yeyin N. Geniş kapasiteli bir nükleer tıp merkezinde katı radyoaktif atık yönetimi. Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi 2022;5(3):167-171. <https://doi.org/10.26650/JARHS2022-1116282>

ÖZ

Amaç: Nükleer tıp departmanlarında açık radyoaktif izotoplar ile çalışıldığından hastane bünyesinde oluşan radyoaktif atıkların büyük çoğunluğu bu bölümden çıkmaktadır. Bu çalışmanın amacı nükleer tıpta tanınan işlemlerde ve radyonüklit tedavi uygulamaları sonrası oluşan katı radyoaktif atıklardan çevreye salınan radyasyonun şiddetini (doz hızını) ölçmek, çalışan personellerin yıllık radyasyon dozları ile katı radyoaktif atık miktarlarını belirlemek, ayrıca atıkların bertaraf yöntemlerini değerlendirmektir. **Gereç ve Yöntem:** Doz hızı ölçümleri Geiger-Müller (GM) detektörü ile yapıldı. PET ve SPECT üniterinde oluşan katı radyoaktif atıklar kaynağında ayrıştırıldıktan sonra üç gün bekletildi. Tedavi servisinden çıkan radyoaktif atıklar I-131, Lu-177 ve Y-90 radyonüklitlerine ait olup bunlar kurşun izolasyonlu depolarda yaklaşık üç ay bekletilmek suretiyle doz hızları <1 µSv/saat olanlar tahliye edildi.

Bulgular: Tedavi ünitesindeki atıkların ortalama doz hızları; I-131, Lu-177 ve Y-90 için sırasıyla 155 µSv/saat, 120 µSv/saat ve 48 µSv/saat bulundu. En fazla atık miktarı I-131 (%46) radyonüklidine ait bulundu. Radyasyon görevlilerinin yıllık efektif ortalama doz değerleri tanıda çalışanlarda 2.12 mSv, tedavide çalışanlarda 3.58 mSv bulundu.

Anahtar kelimeler: Radyoaktif atık, radyonüklit tedavi, radyasyon görevlisi doz hızı, katı radyoaktif atık, hastanelerde katı radyoaktif atık yönetimi

ABSTRACT

Objective: Nuclear medicine departments work with open radioactive isotopes. For this reason, most radioactive waste generated in hospitals comes from these departments. The aim of this study is to measure the intensity (dose rate) of radiation released to the environment from the solid radioactive wastes formed in diagnosis and treatment applications in nuclear medicine, and to determine the annual radiation doses of the working personnel and the amount of solid radioactive waste. The study also evaluates waste disposal methods.

Materials and Methods: Dose rate measurements were measured with a Geiger-Müller (GM) detector. Solid radioactive wastes formed in PET and SPECT units were kept for three days after they were separated at their source. The radioactive wastes from the treatment service belonged to I-131, Lu-177 and Y-90 radionuclides, and they were evacuated with dose rates <1 µSv/hour by keeping them in lead-insulated warehouses for about three months.

Results: Average dose rates of wastes in the treatment unit of 155 µSv/hr, 120 µSv/hr and 48 µSv/hr were found for I-131, Lu-177 and Y-90, respectively. The highest amount of waste was found to be radionuclide I-131 (46%). The mean annual effective dose values of radiation workers were found to be 2.12 mSv in those working in diagnosis and 3.58 mSv in those working in treatment.

Keywords: Radioactive waste, radionuclide therapy, radiation officer dose rate, solid radioactive waste, solid radioactive waste management in hospitals

GİRİŞ

Radyoaktif maddeler ile yapılan çalışmalar sonucunda yeniden kullanılmayan eşya ve maddeler müsaade edilen sınırların üzerinde radyasyon içeriyorsa bunların tümü radyoaktif atık olarak değerlendirilir. Radyoaktif maddelerin tıp ve biyolojik bilimlerde yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmasıyla birlikte bu kesim-

deki radyoaktif atıkların ıslahı gündeme gelmiştir. Radyoaktif atıkların bilinçsiz bir şekilde çevreye verilmesi havanın, suyun ve toprağın kontaminasyonuna neden olur. Kontamine besin maddelerinin yenmesi, kontamine havanın solunması sonucu vücutta toplanan radyoaktif maddeler bir iç ışınlamaya sebep olabilir (1).

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mustafa DEMİR E-mail: demirm@istanbul.edu.tr

Başvuru/Submitted: 13.05.2022 • **Revizyon Talebi/Revision Requested:** 01.06.2022 • **Son Revizyon/Last Revision Received:** 03.06.2022 • **Kabul/Accepted:** 30.05.2022 • **Online Yayın/Published Online:** 25.07.2022



This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

Nükleer tıp departmanlarında açık radyoaktif izotoplar ile çalışıldığından radyoaktif atıkların büyük çoğunluğu bu bölümden çıkmaktadır. Bununla birlikte yataklı tedavi servisi olmayan ve sadece tanısıl amaçlı tetkikler yapan nükleer tıp merkezlerinde önemli miktarlarda radyoaktif atık oluşmaz. Esas olarak bu radyoaktif atıkların kısa yarılanma süresi olduğundan 2-3 günlük kurşun izolasyonlu kaplarda bekletilmek suretiyle radyoaktif olmaktan çıkarılır ve normal yoldan tahliye edilirler. Tedavi amaçlı kullanılan radyoizotopların fiziksel yarılanma ömürleri daha uzundur. Nükleer tıpta tiroit kanseri ve hipertiroidi tedavisinde kullanılan I-131 radyonüklidinin fiziksel yarılanması 8 gün, prostat kanseri ve nöroendokrin tümör tedavisinde kullanılan Lu-177 radyonüklidinin fiziksel yarılanması 6.7 gün, karaciğer kanserleri tedavisinde kullanılan Y-90 radyonüklidinin fiziksel yarılanması 2.66 gündür. Bu radyonüklidlerin fiziksel yarılanma süreleri günler mertebesinde olup nispeten uzundur. Bu radyonüklid atıklarının muhafazası ve bekletilmek suretiyle radyoaktiflikten arındırılmaları için yasal mevzuat gereğiyle özel donanımlı katı ve sıvı atık depoları gerekmektedir (2).

Tiroit kanseri hastalardan <3700 MBq uygulananlar genellikle 24 saat sonra, >3700 MBq uygulananlar ise genellikle iki-üç gün sonra taburcu edilmektedirler. Hastaların taburcu edilme kriteri, batın hizasından bir metre uzakta ölçülen doz hızının <30 µSv/saat olmasıdır. Bu değerden daha yüksek ölçülen hastalar <30 µSv/saat doz hızına düşene kadar tedavi odasında tutulmakta ve bol su içmeye devam etmektedir. Radyonüklid tedavi servisinde yatarak tedavi gören bir hasta grubu Lu-177 PSMA ve Lu-DOTATATE radyofarmasötikleri uygulanan prostat kanseri ve nöroendokrin tümör hastalarıdır. Bu gruptaki hastalarda radyofarmasötik aktivitesi ortalama 3700-7400 MBq olup infüzyon şeklinde uygulanmaktadır. Bu uygulamada önemli bir radyoaktif atık, kullanılan infüzyon setidir. Bu radyofarmasötüğün vücuttaki atılımının hızlı olması nedeniyle hastalar en fazla 24 saat sonra taburcu edilmektedir (3). Karaciğer tümörü tedavisi için hastalara 1285-2960 MBq aktivite miktarlarında Y-90 radyonüklidi girişimsel radyolojide intra arteriyel olarak kateter yardımı ile uygulandıktan sonra hasta nükleer tıp tedavi ünitesindeki odasına transfer edilmekte ve ortalama 24 saat tutulmaktadır (4).

Nükleer tıp merkezlerinde tanı ve tedavi amacıyla kullanılan radyoaktif maddelerin kullanımından ortaya çıkan atıklar 100 günden daha az fiziksel yarılanma süresine sahip olduklarından kısa yarılanma süreli atıklar sınıfına girerler. Bu atıkların bekleme ile radyoaktiflik niteliklerinin kaybolacağı ve normal tahliye işlemine tabii tutulabileceği kabul edilmektedir (1).

Katı radyoaktif atıklar kullanılmış enjektörler, iğneler, şişe tıpalaları, eldivenler, kurulama kâğıtları, radyofarmasötik şişeleri, kullanılmış gazlı bezler, pamuklar vb dir. Katı atıklar fiziksel yarılanma sürelerine göre kaynağında (sıcak oda içindeki geçici toplama kapları) geçici iki ayrı toplama kabında toplanır. Yarılanma süresi saatler mertebesinde olanlar (Tc-99m, Ga-86, F-18 vb) bir arada, yarılanma süresi günler mertebesinde olanlar (I-131, Lu-177, Y-90 vb) bir arada toplanır. Özellikle hafta başında rutin çalışmalar başlamadan geçici toplama kaplarındaki katı atıklar poşetlenerek ölçümlenir ve katı atık bekletme deposuna taşı-

nır. Katı atıklar kırılmaya, delinmeye ve taşınmaya karşı dayanıklı 150 mikron kalınlığında kırmızı plastik torbalara konulur. Bu torbaların üzerinde görülebilecek büyüklükte "Uluslararası Klinik Atıklar" işareti etiketi yapıştırılır. Poşet yüzeyinden doz hızı ölçülür. Ölçüm sonucu poşet yüzeyine etiketlenir. Ayrıca kayıt defterine yazılır. Herhangi bir radyoaktif atık için geçici bekletme süresi 10 yarılanma süresidir. Bu süre sonunda atık radyoaktif olmaktan çıkmaz ancak zemin radyasyon düzeyine yaklaştığı varsayılarak tehlike düzeyinin asgariye düştüğü kabul edilmiştir. Geçici bekletmede süre kriteri radyonüklitin türünden bağımsız olarak 10 yarılanma süresidir. Kullanılan radyonüklidlerin içinde en uzun yarılanma süresine sahip olan I-131'in (8 gün) yarılanma süresinin en az 10 katı süre bekletildikten sonra Geiger-Müller (GM) detektörü ile poşet yüzeyinden ölçülen doz hızı <1 µSv/saat (doğal düzey) düşenler normal yollardan tahliye edilmektedir (2).

Uluslararası Radyasyondan Korunma Komisyonu (ICRP) radyasyon görevlileri ve halk için radyasyon dozlarını 2007 yılında güncellemiştir. Buna göre; radyasyon görevlileri radyasyon ile çalışılan ardışık beş yıl içinde toplam 100 mSv, beş yıl içindeki herhangi bir yılda en fazla 50 mSv doz alabilirler. Ancak beş yılın ortalaması en fazla 20 mSv olmalıdır. Halk için yılda en fazla 1 mSv doz alımına izin verilmiştir (5).

Bu çalışmanın amacı, nükleer tıpta tanısıl işlemlerde ve radyonüklid tedavi uygulamaları sonrası oluşan katı radyoaktif atıklardan çevreye salınan radyasyonun şiddetlerini (doz hızını) ölçmek, çalışan personellerin yıllık efektif radyasyon dozlarını belirlemek, katı radyoaktif atık miktarlarını belirlemek ve atıkların bertaraf yöntemlerini değerlendirmektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurul izni alındıktan sonra retrospektif olarak Nükleer Tıp Anabilim Dalında yapıldı. Etik Kurul Karar No: 32, Tarih: 22.02.2022. Doz hızı ölçümleri Geiger Müller (GM) detektörü (Ludlum 9DP) ile ölçüldü. Ölçüm cihazının ölçüm aralığı 0.1-500 mSv/saat, ölçüm doğruluğu ±4'tür.

Çalışmanın yapıldığı nükleer tıp merkezinde radyoaktif atık oluşan çalışma alanları üç alt birime ayrılmaktadır. Bu birimlerden birincisi PET ünitesidir. Burada genellikle F-18 FDG ve Ga-68 radyoizotopları kullanılmakta olup bunların yarı ömürleri 110 dakika ve 69 dakikadır. Bu radyoizotopların kullanımı ile oluşan atıklar kaynağında ayrıştırıldıktan sonra 8 mm kalınlıktaki kurşun kaplarda 48 saat bekletildikten sonra poşetlendi. Poşet yüzeyinden ölçülen doz hızı <1 µSv/saat ölçüm sonucu olanlar normal yoldan tahliye edildi.

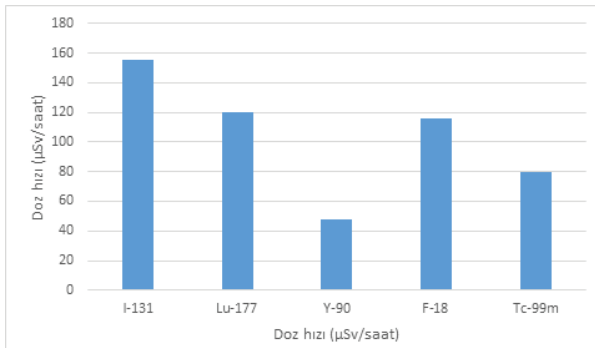
İkinci birim SPECT ve SPECT/BT üniteleridir. Nükleer tıbbın bu birimlerinde tanısıl amaçlı en çok kullanılan radyonüklid Tc-99m olup fiziksel yarılanma süresi 6 saattir. Bu radyonüklidin kullanımı ile oluşan radyoaktif atıklar 2 mm kalınlıktaki kurşun izolasyonlu kaplarda toplanarak ayrıştırıldı. Burada ortalama üç gün bekletildikten sonra doz hızları ölçülerek <1 µSv/saat at olanlar tahliye edildi.

Üçüncü birim radyonüklit tedavi ünitesidir. Bu ünite de ağırlıklı olarak tiroit kanserli hastalara yüksek miktarlarda (110 MBq-11.100 MBq) I-131 radyonüklidi aç karnına oral yolla uygulandı. Tedavi servisinde yatırılarak tedavi edilen diğer hastalardan prostat kanseri ve nöroendokrin tümör tedavisi için 3700-7400 MBq aktivite miktarlarında Lu-177 PSMA ve DOTATATE uygulandı. Karaciğer tümör tedavisi için 1285-2960 MBq (35-80 mCi) aktivite miktarlarında Y-90 mikroküre uygulandı. Bu hastalar kurşun izolasyonlu odalarda ortalama 16-24 saat tutulduktan sonra doz hızları <30 µSv/saat at olanlar taburcu edildi.

Tedavi ünitesindeki uygulamalardan sonra yarılanma süresi günler mertebesinde olan radyoaktif atıklar kaynağında ayrıştırıldıktan sonra poşetlendi. Poşet yüzeyinden doz hızları ölçülerek kayıt edildi. Radyoaktif atıklar kurşunlu özel taşıma arabaları ile uzun süre bekletileceği kurşun izolasyonlu olan ve Nükleer Düzenleme Kurumundan (NDK) lisanslı katı atık toplama ünitesine taşındı. Atık deposundaki en uzun yarı ömürlü radyonüklit olan I-131'in yarılanma süresinin en az 10 katı süre olan 80 gün beklendikten sonra GM detektörü ile poşet yüzeyinden ölçüldü. Doz hızı <1 µSv/saat olanlar tahliye edildi.

BULGULAR

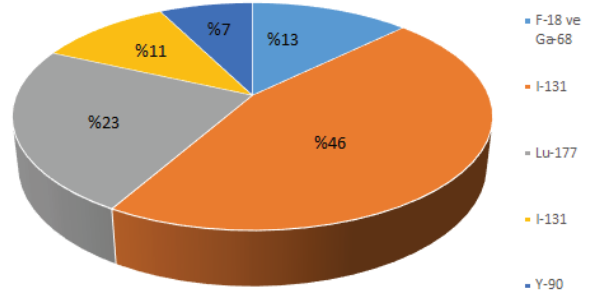
Tedavi ünitesinde yatan hastaların atıkları ile oluşan uzun yarı ömürlü radyoaktif atık poşetlerinden ölçülen doz hızları: I-131'de ortalama 155 µSv/saat (min. 100 µSv/saat, max. 210 µSv/saat), Lu-177'de ortalama 120 µSv/saat (min. 90 µSv/saat, max. 120 µSv/saat), Y-90 mikroküre tedavisi uygulanan hastaların atıkları ve girişimsel radyolojideki uygulama sonunda çıkan Y-90 seti ve diğer atıkların doz hızı radyonüklidin Bremsstrahlung (X-ışını) radyasyonları GM detektörü ölçüldü. Ortalama 48 µSv/saat (min. 12-max. 63 µSv/saat) bulundu. Bu radyonüklidin atıkları kontaminasyon tehlikesine karşı tedbir amaçlı olarak uzun yarı ömürlü atıklar ile birlikte depolandı. Tanısal uygulamalardan oluşan katı radyoaktif atık poşetlerinden ölçülen doz hızları; F-18 ve Ga-68 196 µSv/saat (min. 100 µSv/saat, max. 282 µSv/saat) ve Tc-99m 87 µSv/saat (min. 51 µSv/saat, max. 110 µSv/saat) bulundu (Şekil 1). Tüm atıkların tahliyesinde <1 µSv/saat doz hızı esas alındı.



Şekil 1: Radyoaktif katı atıkların depo girişi doz hızı (µSv/saat) ölçüm değerleri.

Bu çalışmanın yapıldığı geniş kapasiteli bir nükleer tıp merkezinde de farklı radyonüklitlerin tanı ve tedavi amacıyla kullanımından

bir yılda ortaya çıkan katı radyoaktif atık miktarının oransal dağılımı Şekil 2'de görülmektedir. Bu şekilde görüldüğü gibi en fazla atık miktarı %46 ile I-131 uygulamalarından ortaya çıkmaktadır.



Şekil 2: Yıllık katı radyoaktif atık miktarlarının oransal dağılımı

10 yataklı radyonüklit tedavi servisinde bir yılda gerçekleştirilen tedavi sayılarının yıllık dağılımı Tablo 1'de verildi. Bu tedavilerde çalışan radyasyon görevlilerinin yıllık toplam efektif radyasyon dozları Tablo 2'de verildi. Benzer şekilde tanısal işlemlerde ve ağırlıklı olarak sintigrafi çekimlerinde çalışanların yıllık dağılımı Tablo 3'de görülmektedir. Bu işlemlerde çalışan radyasyon görevlilerinin yıllık toplam efektif radyasyon dozları Tablo 4'de verildi.

Tablo 1: Tedavi sayılarının yıllık dağılımı

| Radyoiyod (I-131) (Tiroid c.a) | Radyoiyot (I-131) Hipertiroidi | Lu-177 PSMA ve DOTATATE | Y-90 Mikroküre |
|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------|----------------|
| 390 | 76 | 122 | 78 |

Radyoaktif atıkları toplayan, poşetleyen ve taşıyan radyasyon görevlilerinin çalışmaları sırasında maruz kaldıkları efektif dozlar dozimetre kayıtlarından alındı. Bir yıllık ortalama efektif doz değeri tanısal amaçlı ünite de çalışan radyasyon görevlisinde 2.12 mSv, tedavi servisinde çalışan radyasyon görevlisinde 3.58 mSv bulundu.

Tablo 2: Radyonüklit tedavilerde çalışan radyasyon görevlilerinin yıllık efektif radyasyon dozları ve bu dozların yıllık izin verilen efektif doza % oranları (Efektif doz/20 mSv)

| Hemşire n=5 (mSv/oran) | Sağlık Fizikçisi n=3 (mSv/oran) | Radyofarmasist n=3 (mSv/oran) | Doktor n=9 (mSv/oran) | Temizlik Gör. n=2 (mSv/oran) |
|------------------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------|------------------------------|
| 1,24 (%6,2) | 1,43 (%7,15) | 2,93 (%14,65) | 1,24 (%6,2) | 2,87 (%14,35) |

TARTIŞMA

Bu çalışmanın yapıldığı İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Nükleer Tıp merkezinde sintigrafi çekimlerinin yapıldığı iki adet PET/BT, bir adet PET/MR, iki adet SPECT/BT, bir adet SPECT gama kamera, bir adet planar gama kamera ve bir adet tiroit uptake aleti bulunmaktadır. Radyonüklit tedavi servisi 10

yataklı olup ülkemizdeki en geniş kapasiteli nükleer tıp merkezlerinden biridir. Yıllık hasta sayılarının fazla olması nedeniyle rutin çalışmalar sırasında oluşan radyoaktif atık miktarları da oldukça fazla miktarlarda ortaya çıkmaktadır.

Hastanelerin nükleer tıp merkezlerinde ortaya çıkan atıkların bertarafı ile ilgili uluslararası ve ulusal yönetmelikler vardır. Bu yayınlarda fiziksel yarılanma süresi <100 gün olan radyonüklidlerin klinik kullanımı ile ortaya çıkan radyoaktif atıkların kısa yarı ömürlü kaynak sınıfında değerlendirildiğini, bunların kurşun izolasyonlu denetimli alanlarda en az 10 yarılanma süresi kadar bekletilmek suretiyle radyoaktifliklerinin doğal düzeye düşeceğini bildirmiştir. Radyoaktif atıkların bertarafı ile ilgili hastanelerin nükleer tıp merkezlerinden ortaya çıkan radyoaktif atıklar çok kısa yarı ömürlü ve çok düşük seviyeli radyoaktif atık sınıfına girmektedir (6, 7).

Tablo 3: Tanı sayılarının yıllık dağılımı

| PET/BT (F-18 ve Ga-68) | SPECT (Tc-99m) | SPECT/BT (Tc-99m) | Tiroit Uptake (I-131) |
|---------------------------|-------------------|----------------------|-----------------------------|
| 6006 | 3666 | 6613 | 880 |

Tablo 4. Tanıda çalışan radyasyon görevlilerinin yıllık efektif radyasyon dozları ve bu dozların yıllık izin verilen efektif doza % oranları (Efektif doz/20 mSv)

| PET/BT n= 6 (mSv/oran) | SPECT n= 3 (mSv/ oran) | SPECT/BT n= 4 (mSv/oran) | Doktor n= 6 (mSv/ oran) | Temizlik Gör. n=1 (mSv/oran) |
|------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|
| 2.8 (%14) | 1.67 (%8.3) | 1.92 (%9.6) | 2.18 (%10.9) | 1.40 (%7) |

Hastanelerin nükleer tıp merkezlerinde tedavi gören tiroit kanser hastalarından önemli miktarda radyoaktif atık çıktığı, oluşan atıkların miktarının hastaya uygulanan I-131 aktivite miktarı ile orantılı olmadığı bildirilmiştir (8). Kısa yarılanma süresine sahip radyoaktif atıkların hastanelerde radyoizotopun en yüksek gama enerjisine göre hesaplanmış kurşun levha ya da beton perde duvar ile kapatılmış odalarda en az 10 yarılanma süresince bekletildikten sonra tahliye edilebilecekleri bildirilmiştir (9).

Radyoaktif atıkların bertarafı ile ilgili hastanelerin nükleer tıp merkezlerinden ortaya çıkan radyoaktif atıklar çok kısa yarı ömürlü ve çok düşük seviyeli radyoaktif atık sınıfına girmektedir (10-11). Radyoaktif atıkların tanımlanması, bertaraf yöntemleri 2013 yılında Resmi Gazetede yayınlanan Radyoaktif Atık Yönetmeliği'nde ana hatları ile belirtilmiştir. Bu yönetmeliği irdeleyip detaylandıran yayınlar da bulunmaktadır (12).

Katı radyoaktif atıkların bekletilmek suretiyle hastanelerin enfekte atık ünitesindeki non radyoaktif atıklarla birlikte bertaraf işlemine tabi tutulması için poşet yüzeyinde ölçülen doz hızının <1 uSv/saat olması gerekmektedir (2, 13).

Sonuç olarak, nükleer tıp merkezlerinde önemli miktarda radyoaktif atık oluşmaktadır. Radyoaktif atıkların radyasyon korun-

ması kurallarına uyularak bertaraf edilmesi durumunda çevreye ve çalışanlara zararlı olmayacakları bu çalışma ile ortaya konmuştur.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Rektörlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Tarih: 22.02.2022, No: 32).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- M.D., N.İ.İ., N.Y.; Veri Toplama- M.D., N.İ.İ., N.Y.; Veri Analizi/Yorumlama- M.D.; Yazı Taslağı- M.D., N.İ.İ., N.Y.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- M.D.; Son Onay ve Sorumluluk- M.D., N.İ.İ., N.Y.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Ethics Committee Approval: This study was approved by Istanbul University-Cerrahpaşa Rectorate Clinical Research Ethics Committee (Date: 22.02.2022, No: 32).

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- M.D., N.İ.İ., N.Y.; Data Acquisition- M.D., N.İ., N.Y.; Data Analysis/Interpretation- M.D.; Drafting Manuscript- M.D., N.İ., N.Y.; Critical Revision of Manuscript- M.D.; Approval and Accountability- M.D., N.İ., N.Y.

Conflict of Interest: The authors have no conflict of interest to declare.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.






KAYNAKLAR

1. Parlak, Y, Uysal B, Kırac F S, Kovan B, Demir M, Ayan A, et al. Radyasyon Güvenliği Kılavuzu: Genel Tanımlar ve Nükleer Tıp Uygulamalarında Radyasyondan Korunma Kuralları. Nucl Med Semin 2020;6(2):71-89. doi:10.4274/nts.galenos.2020.0009.
2. Taş A, Özer AY. Waste Disposal and Manegament in Radiopharmaceuticals. FABAD J Pharm Sci 2020;45(1):91-103.
3. Demir M, Abuqbeith M, Uslu-Beşli L, Yıldırım Ö, Yeyin N, Çavdar İ, Vatankulu B, Gündüz H and Kabasakal L. Evaluation of radiation safety in 177Lu-PSMA therapy and development of outpatient treatment protocol. J Radiol Prot 2016;1:1-10.
4. Türkmen C, Demirci E, Alan Selçuk N, Elboğa U, Uçmak G, Ak Sivriköz İ, Kabasakal L. Karaciğer Tümörlerinde Y-90 Radyomikroküre Tedavisi Uygulama Kılavuzu. Nucl Med Semin 2020;6:416-22.
5. ICRP, 2007. The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP Publication 103. Ann ICRP 2007;37(2-4):1-332.
6. IAEA-TECDOC-1183 Management of radioactive waste from the use of radionuclides in medicine Waste Technology Section, IAEA 2000.
7. Radiation Protection in Nuclear Medicine. Australian Radiation Protection and Nuclear Safety Agency. Radiation Protection Series No:14.2 (2008).

8. Driver I, Packer S. Radioactive waste discharge quantities for patients undergoing radioactive iodine therapy for thyroid carcinoma. Nucl Med Commun 2001;22(10):1129-32.
9. Saling JH, Fentiman AW. Radioactive Waste Management. 2nd ed. Taylor&Francis, New York,2017.
10. Freiesleben H. Final disposal of radioactive waste. Article in The European Physical Journal Conferences; Dresden, Germany 2013, p.1-17. doi:10.1051/epjconf/20135401006
11. TAEK Radyoaktif Atık Yönetimi Yönetmeliği, Resmî Gazete Tarihi: 09.03.2013 Resmî Gazete Sayı: 28582.
12. Osmanoğlu AE. Radyoaktif Atık Yönetimi. İstanbul: Nobel Akademik Yayıncılık. 2014.
13. Cooper JR, Keith R, Sokhi RS. Radioactive Releases in the Environment: Impact and Assessment. West Sussex, John Wiley&Sons. 2003.

İNFERTİL HASTALARIN GRANÜLOZA HÜCRELERİNDE LIQUIRİTİGENİN'İN LÖSEMİ İNHİBİTÖR FAKTÖR RESEPTÖRÜ ÜZERİNE ETKİLERİ

THE EFFECTS OF LIQUIRITIGEN ON THE LUKEMIA INHIBITORY FACTOR RECEPTOR IN GRANULOSA CELLS OF INFERTILE PATIENTS

Emel USTA¹ , Sibel KÖKTÜRK² , Sibel DOĞAN² , Ayşe ALTUN³ , Sibel BULGURCUOĞLU-KURAN³ ,
Feride KARAHAN² 

¹ İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

² İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³ İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Reprodüktif Endokrinoloji ve İnfertilite Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ORCID ID: E.U.0000-0002-8549-0314; S.K. 0000-0001-5636-3300; S.D. 0000-0003-4627-478X; A. A. 0000-0002-2765-5766; S.B.K. 0000-0003-4267-2158; F.K. 0000-0003-1327-9146

Atf/Citation: Usta E, Korkturk S, Dogan S, Altun A, Bulgurcuoglu-Kuran S, Karahan F. The effects of liquiritigen on the leukemia inhibitory factor receptor in granulosa cells of infertile patients. Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi 2022;5(3):172-178. <https://doi.org/10.26650/JARHS2022-1129686>

ÖZ

Amaç: Granüloza hücreleri oosit beslenmesi ve olgunlaşması, kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu gibi oosit-sperm etkileşimi olayları üzerine önemli bir role sahiptir. Bu nedenle, granüloza hücreleri ile ilgili çalışmalar, oositin sağlıklı gelişmesi ve fertilizasyon için de önemlidir. Çalışmada ovulatuvar faktör (OF, infertil) ve erkek faktörü nedeniyle (EF, sağlıklı bireyler) in vitro fertilizasyon (IVF) ünitesine başvuran hastaların oosit-kümüllüs kompleksinden elde edilen granüloza hücrelerinde, in vitro ortamda liquiritigenin'in (LQ) etkilerinin immünositokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada OF ve EF nedeni ile İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi tüp bebek IVF ünitesine başvuran hastalar alındı. 5 EF ve 5 OF hastasından alınan granüloza hücreleri kültür ortamında EF, EF- Dimetil sülfoksit (DMSO), EF-LQ, OF, OF-DMSO ve OF-LQ gruplarına ayrıldı. Hücreler uygulama sonrası lösemi inhibitör faktör reseptör (LIFR) immünositokimyasal boyaması yapılarak Aperio ImageScope analiz programıyla boyanma şiddeti ve hücre morfolojisi bakımından incelendi.

Bulgular: OF ve OF-DMSO gruplarının granüloza hücrelerinde LIFR immünositokimya boyanma şiddeti, EF ve EF-DMSO gruplarına göre anlamlı olarak azalmıştır. EF-LQ ve OF-LQ gruplarının, granüloza hücrelerinde LIFR immünositokimya boyanma şiddeti bakımından diğer gruplarla karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir artış olduğu saptanmıştır. OF ve OF-DMSO gruplarının granüloza hücrelerinde, apoptotik hücre morfolojisini yansıtan bulgular gözlenirken, EF-LQ ve OF-LQ gruplarında ise hiç veya daha az olarak gözlenmiştir.

Sonuç: LQ-gruplarının granüloza hücrelerinde LIFR immünositokimya boyanma şiddeti algoritmaları, özellikle OF ve OF-DMSO gruplarına göre yüksek saptanmış ve apoptotik hücre morfolojisi üzerine olumlu etkileri gözlenmiştir. Bu sonuçlar, LQ'nun IVF ünitelerinde alternatif bir medyum ajanı olarak kullanılabilirliğini düşündürmektedir. Bu nedenle LQ'nun klinikte kullanılabilmesiyle ilgili daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: İnfertilite, Kümüllüs-granüloza hücreleri, Lösemi inhibitör faktör reseptör, Liquiritigenin

ABSTRACT

Objectives: Granulosa cells have an important role in oocyte nutrition and maturation, oocyte-sperm interaction events such as capacitation, and acrosome reaction. Therefore, studies with granulosa cells are also important for the healthy development of the oocyte and fertilization. The aim of this study was to investigate the effects of liquiritigenin (LQ) in vitro on granulosa cells that were obtained from the oocyte-cumulus complex of patients who were treated in the in vitro fertilization (IVF) unit due to ovulatory factor (OF, infertile) and male factor (MF, healthy).

Materials and Methods: This study included patients who were treated in the IVF unit of the Istanbul University Faculty of Medicine due to OF and MF. Granulosa cells obtained from 5 MF and 5 OF patients were divided into MF, MF-Dimethyl sulfoxide (DMSO), MF-LQ, OF, OF-DMSO and OF-LQ groups in culture medium. After the application, the cells were stained with the leukemia inhibitory factor receptor (LIFR) immunocytochemical staining and the staining intensity was examined with the Aperio ImageScope analysis software and cell morphology.

Results: The LIFR immunocytochemistry staining intensity in the granulosa cells of the OF and OF-DMSO groups was significantly decreased when compared to the MF and MF-DMSO groups. The LIFR staining intensity in the granulosa cells of the MF-LQ and OF-LQ groups were determined to be significantly higher than the other groups. In the granulosa cells of OF and OF-DMSO groups, the findings reflected apoptotic cell morphology, but showed no or less apoptotic cell morphology in the MF-LQ and OF-LQ groups.

Conclusions: In granulosa cells of LQ-groups, LIFR immunocytochemistry staining intensity algorithms were obtained as significantly higher than in the especially the OF and OF-DMSO groups, and showed the positive effects on apoptotic cell morphology. These results suggest that LQ may be used as an alternative medium agent in IVF units. Therefore, more comprehensive studies are needed for the clinical use of LQ.

Keywords: Infertility, Cumulus-granulosa cells, Leukemia inhibitory factor receptor, Liquiritigenin

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Emel USTA E-mail: arslanemel@gmail.com

Başvuru/Submitted: 21.06.2022 • **Revizyon Talebi/Revision Requested:** 29.07.2022 • **Son Revizyon/Last Revision Received:** 302.06.2022 • **Kabul/ Accepted:** 18.07.2022 • **Online Yayın/Published Online:** 21.09.2022



This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

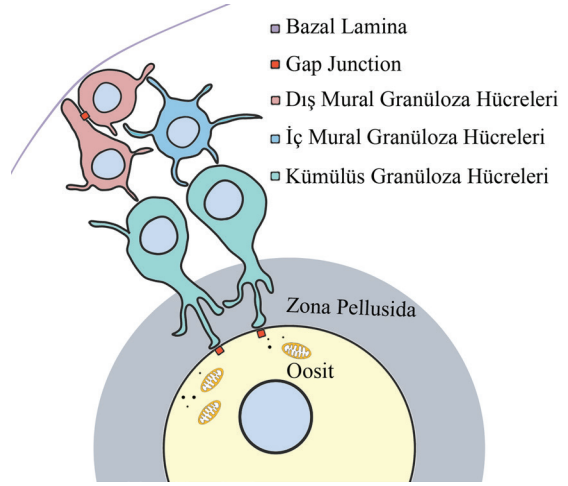
GİRİŞ

İnfertilite modern toplumlarda üreme yaş grubundaki çiftlerde yaygın olarak görülen bir problemdir (1). Dünya Sağlık Örgütü, infertiliteyi 12 ay veya daha fazla düzenli korunmasız cinsel ilişkiye rağmen klinik gebelik elde edilememesi durumunda ortaya çıkan üreme sistemi hastalığı olarak tanımlamaktadır (2). İnfertilite vakalarının yaklaşık % 40-50 'si kadın faktörlerine bağlı olarak meydana gelmektedir (3). Gebeliğin sağlanması veya canlı doğum için kaliteli gamet, embriyo ve implantasyon için uygun maternal çevreye ihtiyaç vardır (4). Bütün bu şartların sağlanması için, farmakolojik ve cerrahi tedaviler (çoğunlukla endoskopi) ile yardımcı üreme tekniklerinde büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Ancak, başarı oranlarının artmasına rağmen gebelik oranları istenilen düzeylere ulaşamamıştır (5). Bu durum oositin içinde bulunduğu intrafoliküler çevrenin, fiziksel ve kimyasal koşullarını ön plana çıkarmaktadır. Oositin etrafını çevreleyen kümülüs hücreleri, oosit maturasyonuna yardım ederken, zararlı çevresel etkilerden de oositi korurlar. Son yıllarda yapılan araştırmalar oosit ve çevresindeki foliküler somatik hücreler arasındaki ilişkiye dikkat çekerek, kümülüs ve granüloza hücrelerinin, oositin reproduktif potansiyeline ve canlılığına katkıda bulunduğunu göstermektedir (6). Antral foliküldeki granüloza hücreleri buldukları bölgeye göre farklı fenotipler gösterir. Dıştan içe doğru mural, antral ve kümülüs granüloza hücreleri oositi çevrelerler ve her biri oosite ve çevredeki teka hücrelerine yakınlıklarına göre farklı özellikler gösterirler. Kümülüs granüloza hücreleri diğer granüloza hücrelerine göre daha düşük oranda LH reseptörü ve aromataz enzimi içerirken, oosit için gerekli olan metabolik desteği sağlarlar (7).

Strese bağlı artan reaktif oksijen radikalleri (ROS) 'nin, infertilite patogenezinde anahtar bir rol oynadığı tanımlanmıştır (8). Hücredeki oksijen tüketimi önemli ölçüde oksidatif fosforilasyonla gerçekleştiği için, ROS üretiminin büyük çoğunluğu normal fizyolojik koşullar altında bu yolla üretilir. Ancak, bu ürünlerin aşırı üretilmesi oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengeyi bozar. Membran lipid peroksidasyonu, proteinlerin oksidasyonu ve DNA hasarına neden olarak oosit, embriyo ve implantasyonu negatif etkiler (9). Bunun yanı sıra hücre fonksiyonlarını da bozarak hücrelerin apoptoza gitmesine neden olur ve oosit maturasyonu, ovulasyon ve fertilizasyon gibi süreçlerin bozulması sonucunda infertiliteye neden olur (10). Hücre içinde üretilen ROS 'lar oldukça karmaşık ve birbirleriyle ilişkili antioksidan sistemleri tarafından kontrol edilir (11). Ayrıca diyetle alınan antioksidanlar da hücreleri oksidatif stresin neden olabileceği hasarlardan korumaktadır (12).

Hücre kültüründe kullanılan kültür medyumları oosit için çok önemlidir. Bu medyumlar bir yandan hücreler için gerekli olan substratları sağlarken bir yandan da uygun pH ve osmolarite gibi çevresel koşulların oluşmasına katkıda bulunurlar (13). Ancak hücre içi üretilen ROS 'ların yanı sıra kullanılan medyum ve tamponların da spontan olarak ROS içerdiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (14-15). Bu durum bazı IVF ünitelerinde gebelik ve implantasyon oranlarının düşük olmasını açıklayabilir. Kültür medyumlarında reaktif oksijen radikallerinin üretimini kontrol eden antioksidan takviyelerin kullanımı oosit hasarını önleyerek IVF ünitelerinde daha iyi sonuçların elde edilmesini sağlayabilir.

Oositin lipid rezervleri ve çok sayıda mitokondrileri ile çok iyi bir organizasyona sahip olması, maturasyonu için gerekli olan yüksek enerji ihtiyacını karşılamasına yardımcı olur (16). Ancak bu organizasyon tek başına yeterli değildir. Oosit maturasyonu sırasında metabolik enerji ihtiyacını karşılamak için çevresindeki kümülüs hücreleri ile iyi düzenlenmiş bir işbirliği içindedir (17). Oosit ve kümülüs hücreleri arasındaki metabolik işbirliği çeşitli uzantılar, gap junctionlar ve parakrin faktörler aracılığıyla sağlanır (Şekil 1). Böylece enerji için gerekli maddelerin, yapısal komponentlerin ve iyonların olgunlaşmakta olan oosite geçişi sağlanır (18).



Şekil 1: Antral folikülde oositi çevreleyen granüloza hücrelerinin şematik bir çizimi. Kümülüs hücrelerinin zona pellusidaya doğru çeşitli uzantılar gönderdiği görülmektedir.

LIF, interlökin 6 ailesinin bir üyesidir (19). Vücutta birçok doku ve hücre tipi üzerinde çeşitli etkiler gösterebilen pleiotropik salgılanan bir sitokindir. Etkisini hücre yüzey reseptörü olan LIFR 'ye bağlanarak gösterir ve folikül gelişimi, embriyo gelişimi, blastokist implantasyon, ortodontik diş hareketi ve kanser gelişimi olmak üzere birçok fizyolojik ve patolojik süreçte rol oynamaktadır (20). Ayrıca LIF 'in granüloza hücrelerinin farklılaşması üzerine de etkileri olduğu gösterilmiştir. (21). Kümülüs granüloza hücrelerinin oosit ile yakın ilişkisi oositin kalitesi açısından da bilgi verebilir. Bu nedenle, granüloza hücrelerinde LIFR 'nin boyanma paterni ve yoğunluğu, folikül matürasyonu ve disfonksiyonunu daha iyi anlamamıza yardımcı olabilir.

Glycyrrhiza radix 'ten izole edilen LQ geleneksel Çin tıbbında oldukça yaygın olarak kullanılan bir flavonoiddir. Anti-inflamatuar, antioksidan, anti-alerjik, anti-tümör ve östrojenik olmak üzere birçok aktiviteye sahiptir (22-25). Son yıllarda LQ 'in ROS kaynaklı hücre hasarına karşı, antioksidan etkisi olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (26-28). Fakat granüloza hücreleri üzerindeki etkisi ile ilgili bir araştırma henüz yapılmamıştır. LQ 'nun IVF merkezlerinde, başta granüloza hücreleri ve oositin sağlıklı gelişimi ve başarılı bir implantasyon için, alternatif bir medyum ajanı olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmak amacıyla, insandan elde edilen granüloza hücreleri üzerinde, LQ 'nun etkilerinin hücre morfolojisiyle ve LIFR immünositokimyasal boyamasıyla değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 10/05/2019 tarih ve 09 sayılı toplantısında kabul edilmiştir. Çalışmada 18-35 yaş arası OF ve erkek faktörü EF nedeni ile İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi tüp bebek ünitesi infertilite kliniğine başvuran hastalar yazılı onamları alınarak dahil edildi. 5 EF ve 5 OF olmak üzere toplam 10 hastadan alınan oositlerden elde edilen kümülüs-granüloza hücreleri incelenmek üzere deneyde kullanıldı.

Ovaryan stimülasyon ve oosit toplanması

Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) agonist ve antagonistleri ile yapılan ovaryan stimülasyonu sonrası 18 mm'ye ulaşan en az iki adet folikül oluştuğunda oosit maturasyonu için recombinant insan koryonik gonadotropini (hCG) uygulandı. Takip eden 36. saatte sedasyon anestezisi altında yumurta toplama (OPU) işlemi yapıldı. Elde edilen kümülüs-oosit komplekslerine birbirinden ayrılmaları için denüdasyon işlemi uygulandı. Elde edilen kümülüs hücreleri % 10 fetal bovine serum (Gibco, Invitrogen Life Technologies, Paisley, UK), % 1 penisilin ve streptomisin (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) eklenmiş DMEM/F12 medyumuna (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) alındı.

Hücre kültürü

Alınan kümülüs-granüloza hücreleri, falcon tüpte 2000 RPM devirde 10 dakika santrifüj edildi. Ardından tüpün üstünde kalan süpernatant uzaklaştırılarak pellete 1 ml medyum eklendi. Pellet pipetaj ile homojenize edildikten sonra 6'lık kültür kuyucuklarına ekilerek primer hücre kültürü meydana getirildi ve 37 °C nemli atmosfere sahip %5 CO2 varlığındaki inkübatör içinde büyütüldü. EF ve OF grubu hastalardan alınan ve kültüre edilen hücreler toplamda 6 gruba ayrıldı. 24 saat sonra EF grubundaki hücrelere medyum eklenirken EF-DMSO grubundaki hücrelere 16 µL DMSO (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) ve EF-LQ grubundaki hücrelere 40 µM LQ (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) eklendi. 24 saat sonra OF grubundaki hücrelere medyum eklenirken OF-DMSO grubundaki hücrelere 16 µL DMSO ve OF-LQ grubundaki hücrelere 40 µM LQ (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) eklendi. Hücreler 48. saatte 0.25 %'lik tripsin enzimi (Sigma-Aldrich) ile kaldırıldı. Hücreler 2000 RPM devirde 10 dakika santrifüj edilmesinin ardından tüpün üstünde kalan süpernatant uzaklaştırıldı. PBS ile yıkandıktan sonra tekrar 2000 RPM devirde 10 dakika santrifüj edildi. Ardından % 0,1'lik tripan mavisi ile eşit miktarda hücre solüsyonu karıştırılarak sayma kamerasında sayıldı ve canlı-ölü hücre oranları belirlendi.

İmmünohistokimyasal boyama

24 kuyucuklu kültür kapları içerisine yerleştirilen yuvarlak lamellerde üretilen hücreler LIFR antikoruna (C:19, sc-659, tavşan poliklonal, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) ve immünohistokimya kiti (ScyTek, UltraTek AGL125) kullanılarak boyandı. Lameller sırasıyla PBS ve % 0,5 triton X-100 solüsyonlarında oda ısısında muamele edildi. PBS ile yıkamadan bloklayıcı solüsyonunda 5 dakika bekletildi. Daha sonra lameller primer antikoruna (1/100 dilüsyon) yerleştirilerek bir gece + 4 °C'de bekletildi. Ertesi gün PBS ile yıkama yapılarak, biotinli antipolivalent sekonder antikor solüsyonunda 25 dakika oda ısısında bekletildi. Daha sonra, PBS ile yıkama yapılarak streptavidin peroksidaz solüsyonunda 25 dakika oda ısısında bekletildi. Lameller PBS

yıkandıktan sonra, AEC kromojeni ile muamele edildikten sonra Mayer'in hematoksileni zıt boyama yapıldı. Daha sonra, lameller su bazlı kapatıcı ile kapatılarak, ışık mikroskopunda (Olympus BX61 mikroskop bağlantılı DP72 Olympus kamera sisteminde) fotoğraflandı ve incelendi.

Aperio ImageScope görüntü analiz programıyla kesitlere renk dekonvolüsyon işlemi uygulandı. Renk dekonvolüsyon işlemi sonrasında elde edilen algoritmalar istatistiksel olarak değerlendirildi. Her grupta yer alan boyamalardan (n=5) x 20 büyütmede elde edilen 3 ayrı görüntüye renk dekonvolüsyon işlemi uygulandı (29). Renk dekonvolüsyon işlemi sonrasında elde edilen algoritmalar istatistiksel olarak değerlendirildi.

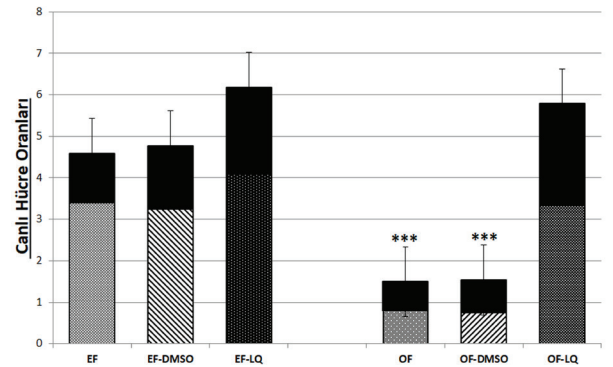
İstatistik

İstatistik analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve post-hoc Tukey testleri kullanılarak değerlendirildi. İstatistik analizler sırasında güven aralığı p < 0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

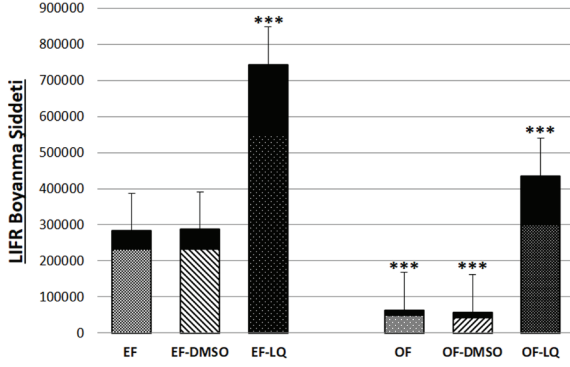
EF, EF-DMSO, EF-LQ, OF, OF-DMSO ve OF-LQ gruplarının, *tripan mavisi boyamasıyla* canlı hücre sayımları istatistiksel olarak analiz edildi. EF ile EF-DMSO ve EF-LQ grupları arasında canlı hücre sayımları arasında anlamlı bir fark bulunmadı (p= 0,9997, p= 0,7282, Tablo 1). OF ve OF-DMSO grupları ile EF, EF-DMSO ve EF-LQ grupları arasında canlı hücre sayımları arasındaki fark anlamlıydı (p<0.001, Tablo 1). OF-LQ grubu ile OF ve OF-DMSO grupları arasındaki fark anlamlı (p<0.001, Tablo 1), EF, EF-DMSO ve EF-LQ grupları arasındaki fark ise anlamlı bulunmadı (p=1, p=1 ve p= 0,6664, Tablo 1).

Tablo 1: EF, EF-DMSO, EF-LQ, OF, OF-DMSO ve OF-LQ gruplarının canlı hücre sayımlarını gösteren tablo. EF grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık gösteren gruplar *** işareti ile belirtilmiştir (p < 0,001).



Aperio ImageScope görüntü analiz programı ile LIFR antikoruna boyanma şiddetine bakıldığında EF ile EF-DMSO grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı (p= 1 ve Tablo 2). EF ve EF-DMSO grupları arasında AEC kromojeniyle kırmızı renkte işaretlenen LIFR immünohistokimya boyanmasında bir fark gözlenmedi (Şekil 2A ve 2B). EF ile EF-LQ grubu arasındaki LIFR antikoruna boyanma şiddetine bakıldığında aralarındaki fark anlamlı bulundu (p<0.001, Tablo 2).

Tablo 2: EF, EF-DMSO, EF-LQ, OF, OF-DMSO ve OF-LQ gruplarının, Aperio ImageScope görüntü analiz programı kullanılarak, LIFR immünotokimyasal boyanma şiddetini gösteren tablo. EF grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık gösteren gruplar *** işareti ile belirtilmiştir ($p < 0,001$).



EF-LQ grubunun LIFR immünotokimya boyanma şiddetinin EF grubuna göre daha koyu ve yoğun bir boyanma göstererek arttığı gözlemlendi (Şekil 2C). İmmünotokimyasal olarak OF grubu ile OF-DMSO grubu arasında LIFR antikor boyanma şiddetine bakıldığında anlamlı bir fark bulunmadı ($p = 1$, Tablo 2). OF ve OF-DMSO gruplarının boyanma şiddeti EF grubuna göre daha soluktu (Şekil 2D ve 2E). OF grubu ile OF-LQ grubu arasındaki fark ise anlamlı bulundu ($p < 0,001$, Tablo 2). EF grubu ile OF grubunun LIFR antikor boyanma şiddetine bakıldığında, aralarındaki fark anlamlıdır ($p < 0,001$, Tablo 2), OF-LQ grubu ile aralarındaki fark anlamlı değildir ($p = 0,4047$, Tablo 2). OF-LQ grubunun LIFR immünotokimya boyanması, OF ve OF-DMSO gruplarına göre daha koyu ve yoğun bir boyanma gösterdi (Şekil 2F).

LIFR immünotokimya ve hematoksilen zıt boyamasıyla ışık mikroskopunda, kümülüs granüloza hücrelerinin morfolojik değişiklikleri incelendi. OF ve OF-DMSO gruplarında dejenerasyon morfolojisi gösteren granüloza hücreleri, piknotik nükleusa ve LIFR immünotokimya boyamasıyla daha soluk boyanmış bir sitoplazmaya ve nükleusa sahipti. Sitoplazmasında apoptozisin belirtilerinden biri olan apoptotik cisimler ve çeşitli büyüklük ve miktarda vakuoller içeren granüloza hücreleri saptandı (Şekil 2A ve B).

EF ve EF-DMSO grubuna ait granüloza hücreleri, genelde oval veya yuvarlak biçimli LIFR immünotokimya boyamasıyla pozitif boyanmış bir sitoplazmaya ve nükleusa sahipti. EF ve EF-DMSO gruplarına ait fuziform, triangular veya iğ şekilli granüloza hücrelerinin, sıkı kümeler oluşturduğu gözlemlendi. OF ve OF-DMSO gruplarına göre daha az miktarda apoptotik cisim ve vakuol içerdikleri gözlemlendi (Şekil 2D ve E).

EF-LQ grubu ve OF-LQ granüloza hücrelerinin, diğer gruplarına göre apoptotik cisimcik ve vakuol içeren hücre sayısının daha az, vakuol boyutlarının da daha küçük ve az sayıda olduğu görüldü (Şekil 2C ve F).

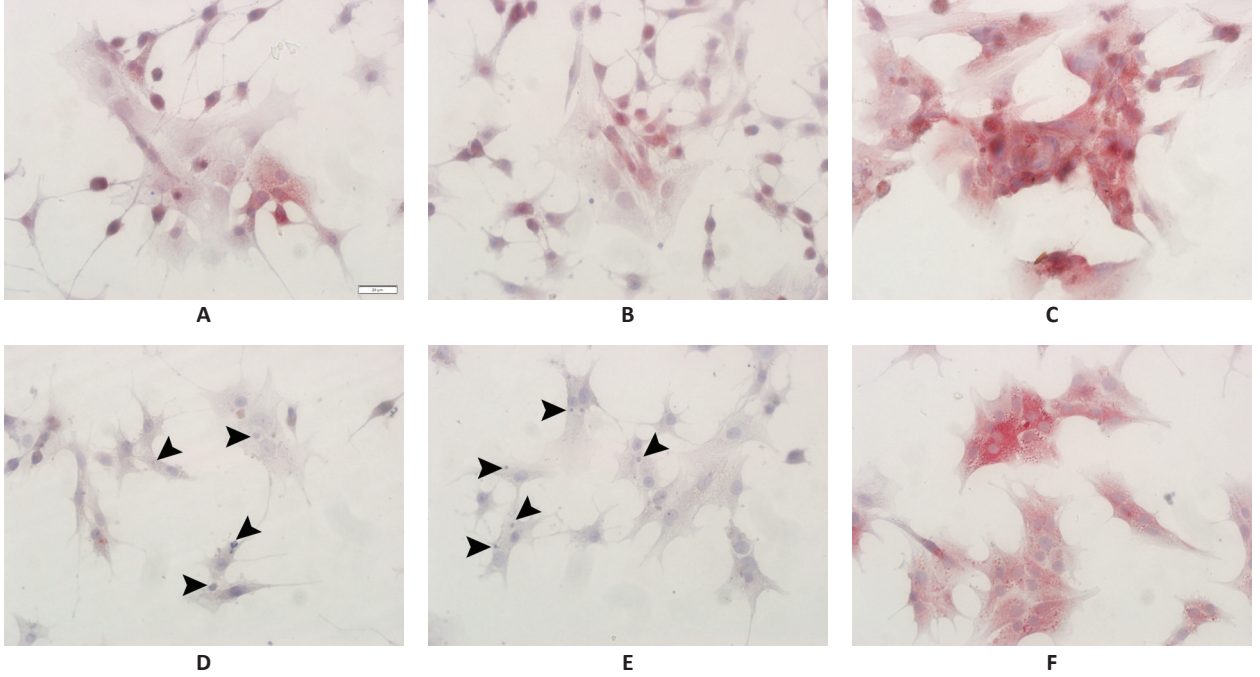
TARTIŞMA

Şimdiye kadar yapılan çalışmalar, artan ROS'un üreme potansiyelini olumsuz yönde etkilediğini ve granüloza hücre ölümünü indüklediğini göstermektedir (30-31). Granüloza hücre ölümü foliküler oositleri besleyici maddelerden, büyüme ve sağ kalım faktörlerinden ayırır ve östradiol biyosentezini azaltır (32-33). Bütün bunlara bağlı olarak ovaryen bozukluklar ve infertilite ortaya çıkar. Antioksidanların, diğer moleküllerin oksidasyonunu yavaşlatabildiği veya önleyebildiği ve hücre hasara neden olabilecek serbest radikallerin üretimini azaltma potansiyeli taşıdığı düşünülmektedir (30-34).

Oosit ve kümülüs hücrelerinin metabolik işbirliği oosit gelişiminde ve kalitesinde kritik bir rol oynar. Son on yılda, kümülüs ve oosit kompleksinin metabolizmasının anlaşılmasında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Boldura ve ark. domuz oositlerinin kültür olgunlaşma ortamında antioksidan takviyesinin apoptotik ve döllenme sırasında germ hücrelerinin stabilitesini sağlayan genlerin ekspresyonu üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Rosmarinik asit ve askorbik asit ile desteklenmiş ortamda yetiştirilen domuz oosit ve kümülüs hücre kompleksi üzerinde antioksidan takviyesinin faydalı etkiler gösterdiğini bulmuşlardır (35). Saini ve ark. da keçi embriyolarında eksternal folik asit takviyesinin oosit ve kümülüs hücre olgunlaşmasını, blastosist gelişimini ve folat taşıyıcılarının ekspresyonu arttırdığını ve ROS üretimini azalttığını göstermişlerdir (34). Çeşitli çalışmalarda da melatonin'in embriyo üretimini desteklemek için olgunlaşma ortamına verilen oosit üzerindeki etkisini çalışmışlardır. Çalışmalarda melatonin'in in vitro maturasyon ortamını desteklediğini ve kümülüs hücre gen ekspresyonunu etkilediğini ve partenogenetik blastokistlerin gelişimini azalttığını göstermişlerdir (36-37). Qian ve arkadaşları, kümülüs hücre-oosit komplekslerinde, aşırı ROS üretiminin neden olduğu zararlı etkilerden kaçınmak için antioksidan enzim ailesine ait olan peroksiredoksin 4 (Prdx4)'ü eksprese eden bir adenovirüs ile enfeksiyonu sonrası H_2O_2 'nin neden olduğu değişikliklerin önemli ölçüde ortadan kalktığını göstermişlerdir (38).

Çalışmada antioksidan aktivitesi ile ROS kaynaklı apoptozis ve hücre hasarına karşı embriyo, hepatosit, nöron ve osteoblastik hücreler üzerinde sitoprotektif etkileri olduğu gösterilen LQ flavonoidini kullandık (26, 39-41). LQ, anti-hiperlipidemik, anti-enflamatuar, anti-alerjik ve östrojenik etkiler dahil olmak üzere çeşitli biyokimyasal ve farmakolojik özelliklere sahiptir. LQ'in, antioksidan aktivitesi ile ROS kaynaklı hücre hasarına karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (42). Bu yüzden çalışmada infertil hastalardan elde edilen granüloza hücrelerinin kültür ortamında LQ flavonoidini kullandık. OF-LQ ve EF-LQ gruplarındaki hastaların granüloza hücrelerinde LQ flavonoidinin kullanılması, hem OF ve OF-DMSO hem de EF ve EF-DMSO gruplarındaki apoptotik morfoloji gösteren hücrelerde azalma gösterdi.

LIF, başarılı bir implantasyon için gerekli olan önemli bir sitokindir ve etki gösterebilmek için LIF-R ile bağlanmaktadır. Abir ve ark. 'ların yaptığı çalışmada, insan foliküllerinde granüloza hücrelerinde LIF ve LIFR ekspresyonlarının folikül gelişiminde önemli rol oynadığını belirtmişlerdir (19). Nilsson ve ark. LIF



Şekil 2: LIFR immünohistokimya boyanma şiddeti bakımından gruplara ait granüloza hücrelerinde ışık mikroskobu fotoğrafları görülmektedir. **A:** EF grubu ve **B:** EF-DMSO grupları arasında LIFR immünohistokimya boyanma şiddeti bakımından bir fark gözlenmedi. **C:** EF-LQ grubunun LIFR immünohistokimya boyanma şiddetinin **A:** EF grubuna göre arttığı gözlenirken, **D:** OF ve **E:** OF-DMSO gruplarının boyanma şiddeti daha soluktu. **F:** OF-LQ grubunun LIFR immünohistokimya boyanması ise **D:** OF ve **E:** OF-DMSO gruplarına göre daha koyu bir boyanma gösterdi. **D:** OF ve **E:** OF-DMSO gruplarında artış gösteren apoptotik cisimcikler okbaşları ile gösterilmiştir. Bar 20 µm. Oklar ile gösterilmiştir.

ve LIFR 'nin sıçan ovaryumunda folikül gelişimi üzerine etki gösterdiğini saptamışlar (43). Çeşitli çalışmalarda in vitroda embriyo üretiminde kümülüs hücrelerinin, parakrin ve/veya otokrin tarzda hareket eden zengin bir LIF-LIFR sistemi kaynağı olduğunu ve sağlıklı blastokist gelişiminde görev aldıkları gösterilmiştir (44-45). Çalışmada EF-LQ ve OF-LQ gruplarının, granüloza hücrelerinde LIFR immünohistokimya boyanma şiddeti diğer gruplarla karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir artış olduğu saptanmıştır.

Kaliteli oositin kullanılması IVF sonuçlarını olumlu yönde etkilemektedir. Ancak sağlıklı oositlerin seçimi ve başarılı bir implantasyon hala önemli bir sorun oluşturmaktadır. Kümülüs-granüloza hücreleri oosit için gerekli olan besinlerin ve sinyal moleküllerinin üretilmesini sağlarlar (46). Bu sebeple kümülüs-granüloza hücrelerinin oositin ve mikro çevrenin iyileştirilmesi amacıyla kullanılması indirekt olarak IVF sonuçlarına katkı sağlayabilir. Bu çalışmada LQ 'nun ovulatuvar faktörlü infertil hastaların kümülüs-granüloza hücreleri üzerinde hem LIFR sentezini artırması hem de apoptotik hücre morfolojisi üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Ön çalışma niteliğinde olan bu çalışmanın sonuçlarına göre, LQ 'nun IVF merkezlerinde başarılı implantasyon sonuçları için alternatif bir medyum ajanı olarak kullanılabileceğinden dolayı, daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul

Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Tarih: 10.05.2019, No: 2019/655).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- E.U., S.K.; Veri Toplama- E.U., S.K., A.A., S.B.K.; Veri Analizi/Yorumlama- E.U., S.K.; Yazı Taslağı- E.U., S.K.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- E.U., S.K.; Son Onay ve Sorumluluk- E.U., S.K.; Malzeme ve Teknik Destek- E.U., S.K., S.D., A.A., S.B.K., F.K.; Süpervizyon S.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma için ÖYP bütçesinden destek alınmıştır (Proje numarası: 393.2019-DR-35/27-01).

Ethics Committee Approval: This study was approved by Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine Clinical Research Ethics Committee (Date: 10.05.2019, No: 2019/655).

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- E.U., S.K.; Data Acquisition- E.U., S.K., A.A., S.B.K.; Data Analysis/Interpretation- E.U., S.K.; Drafting Manuscript- E.U., S.K.; Critical Revision of Manuscript- E.U., S.K.; Final Approval and Accountability- E.U., S.K.; Material and Technical Support- E.U., S.K., S.D., A.A., S.B.K., F.K.; Supervision- S.K.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: This study was supported by the OYP (Project number: 393.2019-DR-35/27-0).

KAYNAKLAR

1. Nikolakopoulou K, Turco MY. Investigation of infertility using endometrial organoids. *Reproduction* 2021;161(5):R113-27.
2. Lee JW, Hyun MK, Kim HJ, Kim DI. Acupuncture and herbal medicine for female infertility: An overview of systematic reviews. *Integr Med Res* 2021;10(3):100694.
3. Showell MG, Mackenzie-Proctor R, Jordan V, Hart RJ. Antioxidants for female subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2017;7(7):CD007807.
4. Sreerangaraja Urs DB, Wu WH, Komrskova K, Postlerova P, Lin YF, Tzeng CR, et al. Mitochondrial function in modulating human granulosa cell steroidogenesis and female fertility. *Int J Mol Sci* 2020;21(10):3592.
5. Szamatowicz M. Assisted reproductive technology in reproductive medicine - possibilities and limitations. *Ginekol Pol* 2016;87(12):820-3.
6. Wyndham N, Marin Figueira PG, Patrizio P. A persistent misperception: Assisted reproductive technology can reverse the "aged biological clock". *Fertil Steril* 2012;97(5):1044-7.
7. Strauss III JF, Modi B, McAllister JM. Defects in ovarian steroid hormone biosynthesis. *Cellular Endocrinology in Health and Disease* 2014;285-309.
8. Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S. The effects of oxidative stress on female reproduction: A review. *Reprod Biol Endocrinol* 2012;10(1):49.
9. Ruder EH, Hartman TJ, Blumberg J, Goldman MB. Oxidative stress and antioxidants: Exposure and impact on female fertility. *Hum Reprod Update* 2008;14(4):345-57.
10. Wang S, He G, Chen M, Zuo T, Xu W, Liu X. The role of antioxidant enzymes in the ovaries. *Oxid Med Cell Longev* 2017;2017:4371714.
11. Al-Gubory KH, Fowler PA, Garrel C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int J Biochem Cell Biol* 2010;42(10):1634-50.
12. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: Protective role of antioxidant nutrients. *Faseb J* 1987;1(6):441-5.
13. Bouraki G, Metallinou C, Simopoulou M, Charalabopoulos K, Asimakopoulos B. Comparison of nine media in the culture of human ovarian granulosa lutein cells. *In Vivo* 2012;26(5):823-5.
14. Grzelak A, Rychlik B, Bartosz G. Light-dependent generation of reactive oxygen species in cell culture media. *Free Radic Biol Med* 2001;30(12):1418-25.
15. Martín-Romero FJ, Miguel-Lasobras EM, Domínguez-Arroyo JA, González-Carrera E, Alvarez IS. Contribution of culture media to oxidative stress and its effect on human oocytes. *Reprod Biomed Online* 2008;17(5):652-61.
16. De Andrade Melo-Sterza F, Poehland R. Lipid metabolism in bovine oocytes and early embryos under in vivo, in vitro, and stress conditions. *Int J Mol Sci* 2021;22(7):3421.
17. Lewis N, Hinrichs K, Leese HJ, Mc GAC, Brison DR, Sturme R. Energy metabolism of the equine cumulus oocyte complex during in vitro maturation. *Sci Rep* 2020;10(1):3493.
18. Fontana J, Martínková S, Petr J, Žalmanová T, Trnka J. Metabolic cooperation in the ovarian follicle. *Physiol Res* 2020;69(1):33-48.
19. Abir R, Fisch B, Jin S, Barnnet M, Freimann S, Van den Hurk R, et al. Immunocytochemical detection and RT-PCR expression of leukaemia inhibitory factor and its receptor in human fetal and adult ovaries. *Mol Hum Reprod* 2004;10(5):313-9.
20. Li Y, Sun L, Zhao D, Ouyang J, Xiang M. Aberrant expression of leukemia inhibitory factor receptor (lifr) and leukemia inhibitory factor (lif) is associated with tubal pregnancy occurrence. *Turk J Med Sci* 2015;45(1):214-20.
21. Cadoret V, Jarrier-Gaillard P, Papillier P, Monniaux D, Guérif F, Dalbies-Tran R. Leukaemia inhibitory factor modulates the differentiation of granulosa cells during sheep in vitro preantral to antral follicle development and improves oocyte meiotic competence. *Mol Hum Reprod* 2021;27(9):gaab051.
22. Kim YW, Zhao RJ, Park SJ, Lee JR, Cho IJ, Yang CH, Kim SG, Kim SC, et al. Anti-inflammatory effects of liquiritigenin as a consequence of the inhibition of nf-kappab-dependent inos and proinflammatory cytokines production. *Br J Pharmacol* 2008;154(1):165-73.
23. Shin YW, Bae EA, Lee B, Lee SH, Kim JA, Kim YS, Kim DH, et al. In vitro and in vivo anti-allergic effects of glycyrrhiza glabra and its components. *Planta Med* 2007;73(3):257-61.
24. Park SM, Ki SH, Han NR, Cho IJ, Ku SW, Kim SW, et al. Tacrine, an oral acetylcholinesterase inhibitor, induced hepatic oxidative damage, which was blocked by liquiritigenin through gsk3-beta inhibition. *Biol Pharm Bull* 2015;38(2):184-92.
25. Zhang SP, Zhou YJ, Liu Y, Cai YQ. Effect of liquiritigenin, a flavanone existed from radix glycyrrhizae on pro-apoptotic in smmc-7721 cells. *Food Chem Toxicol* 2009;47(4):693-701.
26. Huang CH, Wang FT, Chan WH. Prevention of ochratoxin a-induced oxidative stress-mediated apoptotic processes and impairment of embryonic development in mouse blastocysts by liquiritigenin. *Environ Toxicol* 2019;34(5):573-84.
27. Jung EH, Lee JH, Kim SC, Kim YW. Ampk activation by liquiritigenin inhibited oxidative hepatic injury and mitochondrial dysfunction induced by nutrition deprivation as mediated with induction of farnesoid x receptor. *Eur J Nutr* 2017;56(2):635-47.
28. Huang CH, Chan WH. Protective effects of liquiritigenin against citrinin-triggered, oxidative-stress-mediated apoptosis and disruption of embryonic development in mouse blastocysts. *Int J Mol Sci* 2017;18(12):2538.
29. Köktürk S, Ceylan S, Etus V, Yasa N, Ceylan S. Morinda citrifolia l. (noni) and memantine attenuate periventricular tissue injury of the fourth ventricle in hydrocephalic rabbits. *Neural Regen Res* 2013;8(9):773-82.
30. Almubarak AM, Kim E, Yu IJ, Jeon Y. Supplementation with niacin during in vitro maturation improves the quality of porcine embryos. *Theriogenology* 2021;169:36-46.
31. Choi H, Lee J, Yoon JD, Hwang SU, Cai L, Kim M, et al. The effect of copper supplementation on in vitro maturation of porcine cumulus-oocyte complexes and subsequent developmental competence after parthenogenetic activation. *Theriogenology* 2021;164:84-92.
32. Tripathi A, Shrivastav TG, Chaube SK. An increase of granulosa cell apoptosis mediates aqueous neem (azadirachta indica) leaf extract-induced oocyte apoptosis in rat. *Int J Appl Basic Med Res* 2013;3(1):27-36.
33. Gallegos E, Ascona M, Monroy J, Castro-Manrreza ME, Aragón-

- Martínez A, Ayala ME. P-chloroamphetamine decreases serotonin and induces apoptosis in granulosa cells and follicular atresia in prepubertal female rats. *Reprod Toxicol* 2022;110:150-60.
34. Saini S, Sharma V, Ansari S, Kumar A, Thakur A, Malik H, Kumar S, et al. Folate supplementation during oocyte maturation positively impacts the folate-methionine metabolism in pre-implantation embryos. *Theriogenology* 2022;182(4):63-70.
35. Boldura OM, Marc S, Otava G, Hutu I, Balta C, Tulcan C, et al. Utilization of rosmarinic and ascorbic acids for maturation culture media in order to increase sow oocyte quality prior to ivf. *Molecules* 2021;26(23):7215.
36. Cordova A, Miranda MS, King WA, Mastromonaco GF. Effects of EGF and melatonin on gene expression of cumulus cells and further in vitro embryo development in bovines. *Zygote* 2022;1-11. doi: 10.1017/S0967199421000940.
37. Sánchez-Ajofrín I, Martín-Maestro A, Medina-Chávez DA, Laborda-Gomariz JA, Peris-Frau P, Garde JJ, et al. Melatonin rescues the development and quality of oocytes and cumulus cells after prolonged ovary preservation: An ovine in vitro model. *Theriogenology* 2022;186:1-11.
38. Qian Y, Zou X, Liang X, Lu N, Cui Y, Liu J, et al. Peroxiredoxin 4, a new favorable regulator, can protect oocytes against oxidative stress damage during in vitro maturation. *Biochem Biophys Res Commun* 2022;601:52-8.
39. Zhang M, Xue Y, Zheng B, Li L, Chu X, Zhao Y, et al. Liquiritigenin protects against arsenic trioxide-induced liver injury by inhibiting oxidative stress and enhancing mtor-mediated autophagy. *Biomed Pharmacother* 2021;143:112167.
40. Yuan X, Wang Z, Zhang L, Sui R, Khan S. Exploring the inhibitory effects of liquiritigenin against tau fibrillation and related neurotoxicity as a model of preventive care in alzheimer's disease. *Int J Biol Macromol* 2021;183:1184-90.
41. Choi EM. Liquiritigenin isolated from glycyrrhiza uralensis stimulates osteoblast function in osteoblastic mc3t3-e1 cells. *Int Immunopharmacol* 2012;12(1):139-43.
42. Shi C, Wu H, Xu K, Cai T, Qin K, Wu L, et al. Liquiritigenin-loaded submicron emulsion protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity via antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic activity. *Int J Nanomedicine* 2020;15:1101-15.
43. Nilsson EE, Kezele P, Skinner MK. Leukemia inhibitory factor (lif) promotes the primordial to primary follicle transition in rat ovaries. *Mol Cell Endocrinol* 2002;188(1-2):65-73.
44. Eckert J, Niemann H. mRNA expression of leukaemia inhibitory factor (lif) and its receptor subunits glycoprotein 130 and lif-receptor-beta in bovine embryos derived in vitro or in vivo. *Mol Hum Reprod* 1998;4(10):957-65.
45. Eswari S, Sai Kumar G, Sharma GT. Expression of mRNA encoding leukaemia inhibitory factor (lif) and its receptor (lif β) in buffalo preimplantation embryos produced in vitro: Markers of successful embryo implantation. *Zygote* 2013;21(2):203-13.
46. Taghizabet N, Khalili MA, Anbari F, Rahimi AA, Nottola SA, Macchiarelli G, et al. Human cumulus cell sensitivity to vitrification, an ultrastructural study. *Zygote* 2018;26(3):224-31.

COVID-19 HASTALARININ RİSK SINIFLAMASINDA ENFLAMATUVAR İNDEKSLERİN PROGNOSTİK ROLÜ

PROGNOSTIC ROLE OF INFLAMMATORY INDICES IN RISK CLASSIFICATION OF PATIENTS WITH COVID-19

Maide Hacer ALAGÖZ¹ , Ayşe Enise GÖKER² , Evin ADEMOĞLU¹ 

¹İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Doktora Programı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Prof. Dr. Cemil Taşcıoğlu Şehir Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Kliniği, İstanbul, Türkiye

³İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ORCID ID: M.H.A. 0000-0003-2766-4125; A.E.G. 0000-0002-4625-2663; E.A. 0000-0003-2933-3119

Atf/Citation: Alagoz MG, Goker AE, Ademoğlu E. Prognostic role of inflammatory indices in risk classification of patients with covid-19. Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi 2022;5(3):179-185. <https://doi.org/10.26650/JARHS2022-1135192>

ÖZ

Amaç: Pandemi süreci Covid-19'la etkin mücadele etmek, sınırlı hastane ve yoğun bakım kaynaklarının rasyonel kullanımı için yüksek riskli vakaların erkenden belirlenmesinde kanıta dayalı etkin bir triyaj sisteminin gerekliliğini ortaya koymuştur. Bu amaçla çalışmamızda Covid-19 tanısı konmuş hastalarda kolay ulaşılabilen, hızlı ve ucuz test parametreleri kullanılarak kolayca hesaplanabilen çeşitli enflamatuvar indeksler değerlendirilerek risk sınıflaması ve prognoz öngörüsündeki katkıları araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışma, hastaların prognozlarına göre ayakta ve yatarak takip edilenler, yatarak takip edilenlerin de sağ kalanlar ve vefat edenler şeklinde gruplandırıldığı toplam 8036 Covid-19 tanısı konulmuş hasta verisinde yürütülmüştür. Hastaların ilk başvuru sırasındaki tam kan sayımı ve C-reaktif protein sonuçları kullanılarak nötrofil-lenfosit oranı (NLR), platelet-lenfosit oranı (PLR), monosit-lenfosit oranı (MLR), MVP-platelet oranı (MPR), platelet kütle indeksi (PMI), sistemik immün-enflamatuvar indeksi (SII), sistemik enflamatuvar yanıt indeksi (SIRI), multi-enflamatuvar indeksler (MII) hesaplanmıştır.

Bulgular: Enflamatuvar indekslerin hemen hepsinin hastalık şiddeti ve mortalite riski yüksek hastalarda anlamlı olarak farklı olduğunu ancak, hepsinin prediktif değere sahip olmadığını göstermiştir. Covid-19 başlangıcında hastalık şiddetinin belirlenmesinde en etkili faktörün SIRI ve yaş olduğu SII, MII-1 ve MII-3'ün de bu öngörüye katkı sağlayabileceği, NLR'nin ise hem hastalık başlanıcında hem de hastane içi mortalitenin öngörülmesinde en etkili bağımsız faktör olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Enflamatuvar indeksler özellikle SIRI, NLR, SII, MII-1 ve MII-3 Covid-19'da hastalığın başlangıcından itibaren yüksek riskli bireylerin erken saptanmasında ve mortalite öngörüsünde klinik kararlara önemli katkılar sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Covid-19, Enflamatuvar indeksler, platelet kütle indeksi (PMI), sistemik immün-enflamatuvar indeksi (SII), sistemik enflamatuvar yanıt indeksi (SIRI), multi-enflamatuvar indeks (MII)

ABSTRACT

Objective: The Covid-19 pandemic has revealed the importance of an evidence-based efficient triage system in the early identification of high-risk patients and the rational use of limited medical resources for reducing mortality. The aim of this study was to evaluate the role of various inflammatory indices that can be easily calculated using readily accessible, inexpensive routine test parameters in risk stratification and prediction of prognosis in patients with Covid-19.

Material and Methods: The study was carried out retrospectively with the data of 8036 patients with Covid-19, who were grouped according to their prognosis in outpatient and inpatient follow-ups, and inpatients as survivors and death. Using the complete blood count and C-reactive protein baseline results of the patients at admission, neutrophil-lymphocyte ratio (NLR), platelet-lymphocyte ratio (PLR), monocyte-lymphocyte ratio (MLR), MVP-platelet ratio (MPR), platelet mass index (PMI), systemic immune-inflammatory index (SII), systemic inflammatory response index (SIRI), and multi-inflammatory indices (MII) were calculated.

Results: Our results demonstrate that almost all of the inflammatory indices were significantly different in severe patients and in patients with high mortality risk, but not all of them had a predictive value. It has been seen that the most effective factors in determining the disease severity at the onset of Covid-19 are SIRI and age, and SII, MII-1 and MII-3 may also contribute to this prediction. Our results have also revealed that NLR is the most effective independent factor to predict mortality both at disease onset and for inpatients.

Conclusion: Inflammatory indices, especially SIRI, NLR, SII, MII-1 and MII-3 can substantially contribute to clinical decisions in the early identification of high-risk patients and predicting mortality beginning from the onset of Covid-19.

Keywords: Covid-19, Inflammatory indices, platelet mass index (PMI), systemic immune-inflammatory index (SII), systemic inflammatory response index (SIRI), multi-inflammatory index (MII)

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Maide Hacer ALAGÖZ E-mail: maidehacer@hotmail.com

Başvuru/Submitted: 24.06.2022 • **Revizyon Talebi/Revision Requested:** 28.07.2022 • **Son Revizyon/Last Revision Received:** 28.07.2022 • **Kabul/ Accepted:** 21.07.2022 • **Online Yayın/Published Online:** 21.09.2022



This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

GİRİŞ

Aralık 2019'da Çin Halk Cumhuriyeti'nde ortaya çıkan ve hızla hemen her ülkeye yayılan nedeni bilinmeyen pnömoni ve şiddetli akut solunum sendromu vakaları görülmüştür. Ocak 2020'de bu duruma yol açan etkenin genom yapısı, doku tropizmi ve viral patogenezi açısından SARS-CoV-2'ye yakın benzerlik gösteren, betacoronavirüs tipinde yeni bir virüs olduğu saptanmıştır (1). İnsandan insana çok kolay bulaşan ve bilinen corona virüs enfeksiyonlarından daha farklı immün reaksiyonlara yol açan bu yeni virüs, "Şiddetli Akut Solunum Sendromu Corona virus 2" (SARS-CoV-2) ve neden olduğu SARS-CoV-2 enfeksiyon tablosu Corona Virüs Hastalığı 2019'un kısaltması olarak Covid-19 olarak isimlendirilmiştir(2). Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 11 Mart 2021'de resmen pandemi olarak sınıflandırdığı Covid-19, Mayıs 2022 itibarıyla dünya çapında 520 milyondan fazla bildirilen vaka sayısına ve 6,2 milyonu aşan ölüme neden olmuştur (3).

Covid-19 vakalarının büyük kısmı nispeten hafif bir klinik seyir göstererek iyileşirken bazı Covid-19 hastalarında hastalığın başlangıcından sonraki bir hafta içinde düzensiz immün yanıtla bağlı olarak hastaneye yatmayı hatta yoğun bakım ünitesine alınmayı gerektiren koagülopati, masif alveoler hasar ve ilerleyici solunum yetersizliği gelişmekte ve maalesef bu hastaların bir kısmı ölmektedir (4-6). Bu durum hastalıkla daha etkin mücadele etmeyi, sınırlı hastane ve yoğun bakım kaynaklarının rasyonel kullanımı için yüksek riskli vakaların erkenden belirlenmesinde kanıta dayalı etkin bir triyaj sisteminin gerekliliğini ortaya koymuştur. Pandeminin ilk aşamalarında, Covid-19 hastalarında risk sınıflaması ve prognoz öngöründe klinik değerlendirmeler ve radyolojik bulguları temel alan çalışmalar hız kazanmış, ilerleyen dönemde bunlara C-reaktif protein (CRP), d-dimer, interlökin-6, kan sayımı parametreleri klinik laboratuvar sonuçları da eklenmiştir (6-10).

Covid-19'un klinik seyri sırasında lökositler ve plateletlerden salınan interlökin (IL)-6, IL-1β, IL-2, IL-8, IL-17 ve tümör nekroz faktörü-α (TNF-α) gibi bazı proinflamatuvar ve prokoagülatör sitokinler ve CRP düzeyi hastalığın ciddiyeti ilişkili olarak artmaktadır (10).

Buna karşılık çoğu antiviral yanıtta gözlemlenen aksine, bu hastaların immün yanıtlarında lenfosit sayısında azalma ve nötrofil-lenfosit oranında artış gibi bazı farklılıklar ortaya çıkmaktadır (11-13).

Diğer taraftan nötrofil, lenfosit trombosit sayısı ve CRP düzeyleri kullanılarak türetilen ve kolayca rutin kullanıma uygulanabilecek enflamatuvar indekslerin kanser, sepsis, pulmoner emboli gibi enfamasyonla ilişkili çeşitli hastalıklarda prognoz öngörüsü ve hastalık şiddetinin belirlenmesinde yardımcı olabileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (14-16). Bu indekslerden nötrofil-lenfosit oranı (NLR), platelet-lenfosit oranı (PLR), sistemik immün-enflamatuvar indeksi (SII) gibi bazılarının Covid-19'un ciddiyeti ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (17-19).

Bu kapsamdan hareketle, çalışmamızda Covid-19 tanısı konmuş hastaların ilk başvuru sırasındaki kan sayımı parametreleri ve CRP düzeyleri kullanılarak türetilen çeşitli enflamatuvar indeks-

ler birlikte değerlendirilerek risk sınıflaması ve prognoz öngörüsündeki katkılarının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ- YÖNTEM

Tanımlayıcı tipteki bu çalışma Mart - Aralık 2020 tarihleri arasında Covid-19 şüphesi ile Bursa Çekirge Devlet Hastanesi'ne başvuran ve hastalık tanısı gerçek-zamanlı reverse transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (rRT-PCR) testi ile doğrulanmış hasta verisi kullanılarak yürütüldü. Çalışma için Bursa Şehir Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alındı. Hasta mahremiyetinin korunması amacıyla verilerin toplanması aşamasından itibaren Kişisel Verilerin Korunması Kanunu (KVKK) ve Avrupa Birliği'ne uyum çalışmaları kapsamındaki General Data Protection Regulation (GDPR) gerekliliklerine uyuldu.

Çalışmaya Hastane Bilgi İşletim Sistemi'nde (HBİS) ilk başvuruda tam kan sayımı ve C-reaktif protein (CRP) ölçümü için kayıtlı test sonucu ve hastalığın prognoz bilgisi bulunan 18 yaş ve üzerindeki 8036 hasta dâhil edildi. Çalışma grubunu oluşturan 8036 hastanın 6035 tanesi ayaktan izlenmiş, 2001 tanesi hastanede yatarak tedavi görmüş ve bunlardan 316 tanesi Covid-19 nedeniyle vefat etmiştir.

Hasta örneklerinde tam kan sayımı akım sitometrisi yöntemle LH 780 otomatik hematoloji analizöründe, CRP düzeyi nefelometrik yöntemle Immage 800spesifik protein analizöründe (Beckman Coulter, Kaliforniya, ABD) tayin edildi.

Hastaların nötrofil, lenfosit, monosit ve platelet sayıları ile ortalama platelet hacmi (MPV, fL) ve CRP(mg/L) değerleri kullanılarak aşağıdaki enflamasyon indeksleri hesaplandı:

Nötrofil-lenfosit oranı (NLR) = nötrofil sayısı/lenfosit sayısı

Platelet-lenfosit oranı (PLR) = platelet sayısı/lenfosit sayısı

Monosit-lenfosit oranı (MLR) = monosit sayısı/lenfosit sayısı

MVP-platelet oranı (MPR) =MPV/platelet sayısı

Platelet kütle indeksi (PMI) = MPV×platelet sayısı

Sistemik immün-enflamatuvar indeksi (SII)= (nötrofil sayısı×platelet sayısı)/lenfosit sayısı

Sistemik enflamatuvar yanıt indeksi (SIRI) =(nötrofil sayısı×monosit sayısı)/lenfosit sayısı

Multi-enflamatuvar indeks (MII)-1 = NLR×CRP

MII-2 = PLR×CRP

MII-3 = SII×CRP

Hastalar prognozlarına göre ayaktan ve yatarak takip edilenler, yatarak takip edilenler de sağ kalanlar ve vefat edenler şeklinde gruplandırıldı ve istatistiksel analizler IBM® SPSS® Statistics 17 programı (IBM, IL, USA) ile yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi ve so-

nuçlar medyan olarak verildi. Hastaların yaşları normal dağılım gösterdiğinden gruplar arası karşılaştırılma Oneway Anova testi ile yapılarak grupların varyansları Tamhane's T2 testi ile değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen parametreler için gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis testi ile yapıldı ve gruplar arası farkın belirlenmesinde Mann Whitney U testi kullanıldı. Bağımsız prognostik faktörler, gruplar arası karşılaştırılmada anlamlı bulunan enflamatuvar indekslerin dâhil edildiği multivaryant lojistik regresyon analizi ile saptandı ve bağımsız değişkenler için odds oranı (OR) ve %95 güven aralığı (CI) hesaplandı. P<0,05 değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen hastaların %52'si kadın, %48'i erkek idi ve yaş ortalamaları 51,4±17,1'di (18-99 yaş). Bu hastaların %75,1'ini ayakta %24,9'unu yatarak takip edilen hastalar oluşturmaktadırlar. Yatarak takip edilmiş olup toplam hastaların %3,93'ü, yatarak takip edilen hastaların %15,79'u olan 316 hasta vefat etmiştir. Çalışma grubunu oluşturan hastaların dağılımı ve çalışmada kullanılan parametrelerin medyan değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

En yüksek yaş ortalamasının vefat eden grupta olduğu, yatarak takip edilen hastaların yaş ortalaması ayakta takip edilenlerden ve vefat eden hastaların yaş ortalaması sağ kalanlardan anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü (hepsi için p<0,001).

Yatarak takip edilen hastaların lenfosit, monosit ve platelet sayılarının ayakta takip edilen hastalara göre anlamlı olarak düşük olduğu (hepsi için p<0,001), yatarak takip edilen hastalardaki bu düşük lenfosit ve platelet değerlerinin vefat eden hastalarda sağ kalanlardan daha belirgin olduğu saptanmıştır (sırasıyla p<0,001 ve p<0,01). Buna karşılık, yatarak takip edilen hastaların nötrofil sayıları ve CRP düzeylerinin ayakta takip edilen hastalardan anlamlı olarak yüksek olduğu (p<0,001), en fazla artışın vefat eden hasta grubunda olduğu görülmüştür (Tablo 1).

Tam kan sayımı parametreleri ve CRP değerleri kullanılarak hesaplanan enflamasyon indeksleri değerlendirildiğinde, MLR ve PMI hariç tüm indekslerin yatarak takip edilen hastalarda ayakta takip edilenlere göre anlamlı olarak yüksek olduğu (hepsi için p<0,001) en fazla artışın da vefat eden hasta grubunda olduğu saptanmıştır. Yatarak takip edilip vefat eden hastaların PLO, MPO, SII, SIRI, MII indekslerinin sağ kalan hastalardan anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür (p<0,001). Diğer indekslerin aksine MLR'de ayakta ve yatan hastalar arasında anlamlı bir fark saptanmazken vefat eden hastaların MLR değerlerinin sağ kalanlardan anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür (p<0,001). PMI'nin ise yatarak takip edilen hastalarda ayakta takip edilenlere göre anlamlı olarak daha düşük olduğu (p<0,001) ancak, sağ kalanlar ve vefat edenler arasında anlamlı fark göstermediği saptanmıştır (Tablo 2).

Tablo 1: Covid-19 tanısı ile takip edilen hastaların cinsiyet, medyan yaş, tam kan sayımı ve CRP sonuçlarının gruplara göre dağılımı

| | Ayaktan (n=6035) | Yatan (n=2001) | Sağ kalan (n=1685) | Vefat eden (n=316) |
|--------------------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Yaş (yıl) | 48 (36-61) | 61 (49-72) ^a | 57 (47-70) ^a | 74 (66-71) ^{a*} |
| Cinsiyet (K/E) | 3254/2781 | 886/1115 ^a | 760/925 ^a | 126/190 ^a |
| WBC (10 ³ /µL) | 6 (4,9-7,4) | 6,2 (4,8-8) ^a | 6 (4,8-7,6) | 7,8 (5,6-10,7) ^{a*} |
| Nötrofil (10 ³ /µL) | 3,61(2,74-4,80) | 3,7(2,79-5) ^a | 3,80(2,78-5,40) ^a | 6,13(4,0-9,18) ^{a*} |
| Lenfosit (10 ³ µL) | 1,52 (1,1-2,1) | 1,27 (0,87-1,78) ^a | 1,34 (0,9-1,8) ^a | 0,9 (0,6-1,3) ^{a*} |
| Monosit (10 ³ /µL) | 0,55 (0,4-0,72) | 0,46 (0,32-0,62) ^a | 0,46 (0,33-0,61) ^a | 0,44 (0,29-0,64) ^a |
| Platelet (10 ³ /µL) | 220 (183-267) | 207 (163-263) ^a | 209 (166-263) ^a | 195 (150-263) ^{a**} |
| MPV (fL) | 7,9 (7,4-8,6) | 8,1 (7,5-8,8) ^a | 8,1 (7,4-8,8) ^a | 8,20 (7,5-8,9) ^a |
| CRP (mg/L) | 7,78 (4-16,8) | 39,6 (10,8-92,1) ^a | 29,20 (9,2-78,3) ^a | 99,7 (61,5-169,3) ^{a*} |

WBC:Toplam lökosit sayısı; MPV:Ortalama platelet hacmi; CRP:C-reaktif protein

^ap< 0,001: Ayaktan takip edilen hastalar yatan, sağ kalan ve vefat eden hastalarla karşılaştırıldığında

^{a*}p<0,001 ve ^{a**}p< 0,01: Sağ kalan hastalar vefat edenlerle karşılaştırıldığında

Tablo 2: Covid-19 tanısı ile takip edilen hastaların prognozlarına göre medyan enflamasyon indekslerinin dağılımı

| | Ayaktan (n=6035) | Yatan (n=2001) | Sağ kalan (n=1685) | Vefat eden (n=316) |
|-------|------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|
| NLR | 2,32 (1,55-3,63) | 3,2 (1,82-5,71) ^a | 2,86 (1,73-4,97) ^a | 6,50 (3,52-12,94) ^{a*} |
| PLR | 143,1 (106,9-196,8) | 161 (112,3-249,2) ^a | 154,3 (109,4-227,2) ^a | 222,3 (138-380,7) ^{a*} |
| MLR | 0,35 (0,24-0,54) | 0,35 (0,24-0,51) | 0,33 (0,23-0,50) ^a | 0,45 (0,29-0,73) ^{a*} |
| MPR | 0,036 (0,029-0,045) | 0,039 (0,03-0,05) ^a | 0,038 (0,029-0,05) ^a | 0,042 (0,031-0,056) ^{a*} |
| PMI | 1753 (1471-2107) | 1683 (1338-2110) ^a | 1688 (1358-2114) ^a | 1653 (1249-2088) ^a |
| SII | 512 (325-835) | 648 (350-1297) ^a | 588 (330-1111) ^a | 1274 (619-3072) ^{a*} |
| SIRI | 1,26 (0,76-2,23) | 1,42 (0,78-2,72) ^a | 1,3 (0,72-2,4) | 2,57 (1,41-5,41) ^{a*} |
| MII-1 | 19 (7-51) | 121 (23-480) ^a | 84 (18-340) ^a | 633 (229-1889) ^{a*} |
| MII-2 | 1194 (535-2760) | 5872 (1421-19846) ^a | 4402 (1206-16194) ^a | 20905 (7885-52350) ^{a*} |
| MII-3 | 4145 (1668-11181) | 23077 (4612-105041) ^a | 16320 (3543-74095) ^a | 115626 (37318-412845) ^{a*} |

NLR:nötrofil/lenfosit oranı; PLR: platelet/lenfosit oranı; MLR:monosit/lenfosit oranı; MPR:ortalama platelet hacmi/trombosit oranı; SII: sistemik immün-enflamatuvar indeks; SIRI:sistemik enflamatuvar yanıt indeksi; MII: multi-enflamatuvar indeks; PMI:Platelet kütle indeksi

^ap< 0,001: Ayaktan takip edilen hastalar yatan, sağ kalan ve vefat eden hastalarla karşılaştırıldığında

^{a*}p <0,001: Sağ kalan hastalar vefat edenlerle karşılaştırıldığında

Covid 19 tanısı konmuş hastaların ilk başvuru sırasındaki başlangıç laboratuvar sonuçları kullanılarak türetilen enflamatuvar indekslere multivaryant regresyon analizi uygulandığında yaş ve erkek olma yanı sıra hastanede yatarak takip edilmeyi öngörmede en etkili faktörünSIRI (OR: 1,041 %95 CI: 1,006-1,078p=0,021) olduğu bunu aynı OR değerine sahip SII, MII-1 ve MII-3'ün izlediği görülmüştür (Tablo 3). Enflamatuvar indekslerin başlangıç değerlerinden mortalitenin öngörülmesinde ise en belirleyici faktörün NLR (OR: 1,106 %95 CI: 1,078-1,135p=0,000) olduğu, buna MII-1'inde katkı sağlayabileceği diğer indekslerin ise belirleyici bir prediktif değere sahip olmadığı görülmüştür (Tablo 4).

Hastanede yatarak takip edilen hastalarda hastane içi mortalitenin öngörülmesinde etkili olan faktörler incelendiğinde, en etkili faktörlerin sırasıyla yaş (OR: 1,062 %95 CI: 1,049-1,075 p=0,000) ve NLR (OR: 1,047 %95 CI: 1,011-1,084 p=0,011) olduğu, MII-1, MII-2ve PMI'nın da bu faktörlere katkı sağlayabileceği görülmüştür (Tablo 5).

Tablo 3: Covid-19 hastalarının yatarak takip edilme öngörüsünde etkili faktörler

| | OR | %95 CI | P |
|----------------|-------|-------------|-------|
| Cinsiyet (K/E) | 0,487 | 0,424-0,559 | 0,000 |
| Yaş (yıl) | 1,022 | 1,019-1,026 | 0,000 |
| SII | 1,000 | 1,000-1,000 | 0,004 |
| SIRI | 1,041 | 1,006-1,078 | 0,021 |
| MII-1 | 1,000 | 1,000-1,000 | 0,007 |
| MII-3 | 1,000 | 1,000-1,000 | 0,000 |

Tablo 4: Covid-19 hastalarının mortalite öngörüsünde etkili faktörler

| | OR | %95 CI | P |
|----------------|-------|-------------|-------|
| Cinsiyet (K/E) | 0,588 | 0,443-0,779 | 0,000 |
| Yaş (yıl) | 1,068 | 1,057-1,080 | 0,000 |
| NLR | 1,106 | 1,078-1,135 | 0,000 |
| MII-1 | 1,000 | 1,000-1,000 | 0,000 |

Tablo 5: Covid-19 hastalarının hastane içi mortalite öngörüsünde etkili faktörler

| | OR | %95 CI | P |
|-----------|-------|-------------|-------|
| Yaş (yıl) | 1,062 | 1,049-1,075 | 0,000 |
| NLR | 1,047 | 1,011-1,084 | 0,011 |
| MII-1 | 1,000 | 0,999-1,000 | 0,000 |
| MII-2 | 1,000 | 1,000-1,000 | 0,033 |
| PMI | 0,999 | 0,999-1,000 | 0,000 |

TARTIŞMA

Yaş ilerledikçe immün sistem kendini bağışıklık yanıtında körelme, enflamatuvar yanıtta yetersizlik ve enfeksiyonlara duyarlılıkla belli eden karakteristik ve çok yönlü bir değişimle ortaya çıkar (20). Kendine has dinamikler sergileyen bu değişikliklere

bir de eşlik eden hastalıkların eklenmesi ile yaşlılarda mortalite riskinin daha yüksek olduğu bilinmektedir ve bu durum Covid-19 sürecinde de gözlenmiştir. Yapılan çalışmalara benzer şekilde biz de çalışmamızda yaş ilerledikçe Covid-19 şiddetinin ve mortalitesinin arttığını saptadık(20,21,22). Ancak, çalışmanın yapıldığı zaman diliminde DSÖ'nün verileri ile karşılaştırıldığında çalışma grubumuzda Covid-19'a bağlı ölüm hızının belirgin olarak yüksek olduğu görülmüştür. Bu dönem de dünya genelinde %1,99 olan ölüm hızı, Avrupa'da %2,19, Türkiye'de %1,33 çalışma grubumuzda ise %3,93'dür. Bu yüksek ölüm hızının çalışma grubunu oluşturan hastaların pandemi hastanesi olarak ilan edilmiş bir hastaneden alınması ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

Diğer taraftan, kolay ulaşılabilen, hızlı ve ucuz bir test olan tam kan sayımı rutinde yaygın olarak kullanılmaktadır (15,19). Dikkatli ve doğru yorumlandığında anemi, enfeksiyon, travma, kanser, pıhtılaşma sorunları ve immün sistem hastalıkları gibi birçok hastalığın tanı, izleme ve yönetim süreçlerine yardımcı olacak çok yararlı bilgiler sağlama potansiyeline sahiptir (23). Total lökosit sayısı yanı sıra tam kan sayımının bileşenleri olan, nötrofil, lenfosit, monosit gibi lökosit alt grupları ve plateletler, enflamatuvar ve prokoagülan süreçlerde önemli görevler üstlenir. Bu hücrelerin tümü aynı genel sürece katkıda bulunsa da her hücre türü, homeodinamiğin farklı yönüne özel bir katkı sağlar, bu nedenle kimi zaman kendi başlarına da enflamatuvar belirteçler ya da enflamatuvar yanıtın göstergeleri olarak kullanılırlar (24). Bilindiği gibi periferik kanın hücresel bileşimi, virüsler, bakteriler, travma, yabancı maddeler, akut ve kronik stres gibi birçok farklı faktörden kaynaklanabilecek hem kısa hem de uzun vadeli değişikliklere uğrar. Örneğin toplam lökosit sayısında ve lökosit alt gruplarının dağılımında vasküler endotele kaynaklı marjinal havuz ve doku havuzundan salınımına bağlı olarak dakikalar içinde, kemik iliği depo havuzundan salınım nedeniyle saatler içinde ciddi değişiklikler meydana gelebilir (24). Benzer şekilde plateletler de proliferatif proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler aracılığı ile miyeloid hücreler gibi immün ve immün olmayan hücrelerle etkileşerek inflamatuvar süreçlerde yer alırlar (25). Dolaşımdaki platelet boyutlarının bir ölçüsü olan MPV'de platelet fonksiyonunun ve aktivasyonunun potansiyel bir belirteci olarak kabul edilmektedir(26). Son yıllarda yapılan birçok çalışma, kan hücrelerinin bireysel olarak değerlendirilmesinin yanı sıra NLR, PLR, MLR, SII, SIRI gibi farklı tam kan sayımı bileşenlerini birlikte değerlendiren enflamatuvar indekslerinde birçok hastalığın prognoz öngörüsü ve/veya takibinde yararlı olduğunu göstermiştir (14-16). Bunlara ilaveten, nonspesifik bir akut faz proteini olan ve akutenflamatuvar/enfeksiyöz sürecin indirekt bir göstergesi olarak kabul edilen CRP'nin de hesaba katıldığı MII-1, MII-2 ve MII-3 gibi yeni tanımlanmış enflamatuvar indekslerin daha da güvenilir olduğu ileri sürülmektedir (14).

Yaşanan pandemi süreci Covid-19'un hızlı tanı ve tedavi gerektiren mortalitesi yüksek bir viral enfeksiyon olduğunu ortaya koymuştur. Morbidite ve mortalitenin azaltılmasında yüksek riskli hastaların hızlı, güvenilir ve kanıta dayanır yöntemlerle belirlenerek mevcut sağlık altyapısının en rasyonel şekilde kullanılmasının önemi bir kez daha görülmüştür. Bu nedenle kolay

ulaşılabilen, hızlı ve ucuz test parametreleri kullanılarak kolayca hesaplanabilen enflamatuvar indeksler de çeşitli Covid-19 çalışmalarına konu olmuştur (11,13,16,27,28). Bu çalışmalardan, mekanik ventilasyon gerektiren hastaların kritik, diğerlerinin ise ciddi ve ciddi olmayan olarak sınıflandığı 496 hastada yürütülmüş bir çalışmada, NLR'nin Covid-19 ciddiyetinin belirlenmesinde öngörücü bir belirteç, LMR ve PLR'nin ise risk sınıflandırmasına yardımcı belirteçler olduğu bildirilmiştir (27). Hastalık ciddiyetinin mekanik ventilasyon gerektiren ve gerektirmeyen olarak sınıflandığı 452 hastada yürütülmüş benzer bir çalışmada da NLR ve lenfosit alt sınıflarının kritik vakaların erken saptanması ve tedavisi takibinde yararlı olduğu ve yakından izlenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır (28). Hastaların iyileşen ve vefat eden olarak gruplandığı bir çalışmada ise NLR ve CRP'nin vefat eden hastalarda anlamlı olarak yüksek olduğu ve mortalitenin öngörülmesinde etkili belirteçler olabileceği bildirilmiştir (16). Li ve ark.'larının hastalık şiddeti ve mortalitenin belirlenmesinde NLR'nin prediktif değerini irdeledikleri 19 çalışmayı kapsayan meta-analizinde, NLR'nin triyaj yönetimi ve ciddi vakaların erken belirlenmesinde klinisyenlere yardımcı olabileceği ve uygun tedavinin zamanında başlatılması ile Covid-19 nedenli mortalitenin azaltılmasında yararlı olacağı sonucuna varılmıştır (29). Diğerlerinden farklı olarak prospektif yürütülmüş ve Covid-19'lu hastaların NLR ve PLR değerlerinin ilk başvurudan itibaren izlendiği bir çalışmada da ilk başvuru sırasında hesaplanan NLR'nin hastalık şiddetinin ve olumsuz klinik sonuçların kestiriminde yüksek prediktif değere sahip olduğu, PLR'nin ise böyle bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (30). Diğer taraftan, enflamatuvar yanıtta instabiliteyi yansıttığı kabul edilen ve nötrofil, lenfosit, monosit ve platelet sayıları ile hesaplanan SII ve SIRI'yu da kapsayan Covid-19 çalışmalarının sayısı oldukça kısıtlı ve incelenen hasta grupları da birbirinden farklıdır (31-34). Bu çalışmalardan hastane içi mortalitenin öngörülmesinde NLR, MLR, SII ve SIRI'nın rolünün araştırıldığı 108 vakalık bir seride sağ kalan ve vefat eden hastaların SII değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığı, SIRI'nın ise vefat edenlerde anlamlı olarak daha yüksek olmasına rağmen mortalitenin öngörüsünde kullanmak için prediktif değerinin yeterli olmadığı bildirilmiştir (31). Hastaların yoğun bakım gerektiren ve gerektirmeyen şeklinde gruplandırıldığı 495 vakalık bir başka çalışmada ise SII ve SIRI dâhil incelenen tüm indekslerin yoğun bakım gerektiren hastalarda anlamlı olarak yüksek olmasına rağmen multivaryant regresyon analizinde iyileşmeyi etkileyen bağımsız faktör olarak sadece SII öne çıkmıştır (32). Çalışmamıza benzer şekilde, hastane içi mortalite riskinin belirlenmesinde enflamatuvar indekslerin başvuru sırasındaki başlangıç değerlerinin kullanıldığı 119 hastalık bir çalışmada ise NLR, MLR, SII ve SIRI'sı yüksek hastalarda sağ kalım anlamlı olarak daha düşük bulunmuş ancak, multivaryant regresyon analizi hastane içi mortalitenin öngörülmesinde sadece SII'nin yararlı olabileceğini göstermiştir. Fois AG ve ark.'ları tarafından yapılan bu çalışmada sadece SII'nin bağımsız öngörücü faktör olduğu ve erken risk sınıflandırmasına yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır (33). Multi-enflamatuvar indeksler ve PMI gibi yeni enflamatuvar indeksleri de içeren birkaç Covid-19 çalışması bulunmaktadır, bunlarda da sadece MMI-1 değerlendirilmiştir. Yoğun bakım hastalarında NLR, MLR, PLR, PMI ve MII-1'in mortaliteyi öngörücü etkisinin

değerlendirildiği bir çalışmada NLR ve MMI-1'in bağımsız öngörücü faktörler olduğu, diğer indekslerin ise öngörücü bir role sahip olmadığı sonucuna varılmıştır (35). Covid-19 hastalarında hastalık şiddeti ile PMI arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada da PMI ile mortalite arasında bir ilişki bulunmamış, ancak PMI'nın akciğer hasarının bir göstergesi olarak klinik kararlara katkı sağlayabileceği bildirilmiştir (49).

Bu konudaki diğer çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda Covid-19 hastalarında SII, SIRI, MII-1, MII-2, MII-3 ve PMI gibi yeni indeksleri de içerecek şekilde, enflamatuvar indekslerin hem hastalık şiddeti ve mortalite riski hem de hastane içi mortalite öngörüsündeki rolü hastalığın başlangıcından itibaren bir arada değerlendirilmiştir. Benzer çalışmalara göre daha büyük bir örneklem grubundan elde ettiğimiz sonuçlar bu çalışmalarla uyumludur. Biz de hastalık şiddeti ve mortalite riski yüksek hastalarda enflamatuvar indekslerin hemen hepsinin düşük riskli hastalardan anlamlı olarak farklı olduğunu ancak, hepsinin prediktif değere sahip olmadığını saptadık. Sonuçlarımız Covid-19 başlangıcında hastalık şiddetinin belirlenmesinde etkili faktörün SIRI ve yaş olduğunu SII, MII-1 ve MII-3'ün de bu öngörüye katkı sağlayabileceğini, NLR'nin ise hem hastalık başlanıcında hem de hastane içi mortalitenin öngörülmesinde etkili bağımsız faktör olduğunu göstermiştir.

Çalışmamız Covid-19 hastalarında enflamatuvar indekslerin prognostik rolünü hastalığın başlangıcından itibaren bir arada değerlendiren ilk çalışmadır. Ancak, bir pandemi hastanesinden elde edilmiş verinin kullanıldığı tek merkezli bir çalışma olması, eşlik eden hastalık bilgileri ve yatan hastalara uygulanan tedavi protokollerini içermemesi gibi bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Enflamatuvar indeksleri eşlik eden hastalıklar ve farklı tedavi protokollerine göre değerlendiren geniş katımlı prospektif çalışmalar, bu indekslerin klinik kararlara sağlayacağı katkıyı arttıracaktır.

Sonuç olarak, enflamatuvar indeksler özellikle de NLR, SIRI SII, MII-1 ve MII-3' hastanın yaşı ile birlikte değerlendirildiğinde sadece hastanede yatan hastaların değil, hastalık tanısının konulduğu ilk aşamadan itibaren Covid-19'da yüksek riskli bireylerin belirlenmesi ve mortalite öngörüsünde klinik kararlara önemli katkılar sağlayabilir. İlave bir ölçüm gerektirmeden kolaylıkla hesaplanabilen bu indekslerin laboratuvar sonuçları ile birlikte raporlanmasının Covid-19 hastalarının risk sınıflaması ve prognoz öngörüsünde klinisyenlere yardımcı olacağı görüşündeyiz.

Teşekkür: Bu çalışma verileri Maide Hacer Alagöz'ün doktora tez çalışmasının bir kısmından oluşturulmuştur. İstatistiksel düzenlemeler katkılarından dolayı Dr.Mehmet Güven Günver'e teşekkür ederiz.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı Bursa Şehir Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır.(Tarih: 19.08.2020, No: 2020-5/9).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- E.A., M.H.A.; Veri Toplama- M.H.A.; Veri Analizi/Yorumlama- M.H.A., A.E.G., E.A.; Yazı Taslağı-

M.H.A, E.A.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- A.E.G., E.A.; Son Onay ve Sorumluluk- E.A., M.H.A.; Süpervizyon- A.E.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Acknowledgements: This study data was formed from a part of Maide Hacer Alagöz's doctoral thesis. We thank Dr.Mehmet Guven Gunver for his contribution to statistical arrangements.

Ethics Committee Approval: This study was approved by Bursa City Hospital Clinical Research Ethics Committee (Date: 19.08.2020, No: 2020-5/9).

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- E.A., M.H.A.; Data Acquisition- M.H.A.; Data Analysis/Interpretation- M.H.A., A.E.G., E.A.; Drafting Manuscript- M.H.A, E.A.; Critical Revision of Manuscript- A.E.G., E.A.; Final Approval and Accountability- E.A., M.H.A.; Supervision- A.E.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support.

KAYNAKLAR

1. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020;579(7798):270-3.
2. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it, Available from: URL: [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it), Erişim Tarihi: 11.02.2020
3. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard, Available from: URL: <https://covid19.who.int>, Erişim Tarihi: 20.06.2022
4. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020;382:1708-20.
5. Wang X, Fang J, Zhu Y, Chen L, Ding F, Zhou R, et al. Clinical characteristics of non-critically ill patients with novel coronavirus infection (COVID-19) in a Fangcang Hospital. *Clin Microbiol Infect* 2020;26(8):1063-8.
6. Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med* 2020;180(7):1-18.
7. Liu Y, Yan LM, Wan L, Xiang TX, Le A, Liu JM, et al. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. *Lancet Infect Dis* 2020;20(6):656-7.
8. Ji D, Zhang D, Xu J, Chen Z, Yang T, Zhao P, et al. Prediction for Progression Risk in Patients with COVID-19 Pneumonia: the CALL Score. *Clin Infect Dis* 2020;71(6):1393-9.
9. Hu H, Du H, Li J, Wang Y, Wu X, Wang C, et al. Early prediction and identification for severe patients during the pandemic of COVID-19: A severe COVID-19 risk model constructed by multivariate logistic regression analysis. *J Glob Health* 2020;10(2):020510.
10. McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, Bridgewood C. The role of cytokines including interleukin-6 in COVID-19 induced pneumonia and macrophage activation syndrome-like disease. *Autoimmun Rev* 2020;19(6):102537.
11. Liu Y, Du X, Chen J, Jin Y, Peng Li, Wang HHX, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as an independent risk factor for mortality in hospitalized patients with COVID-19. *J Infect* 2020;81(1):6-12.
12. Schulte-Schrepping J, Reusch N, Paclik D, Baßler K, Schlickeiser S, Zhang B, et al. Severe COVID-19 is marked by a dysregulated myeloid cell compartment. *Cell* 2020;182(6):1419-40.
13. Walter LO, Cardoso CC, Santos-Pirath ÍM, Costa HZ, Gartner R, Werle I, et al. The relationship between peripheral immune response and disease severity in SARS-CoV-2-infected subjects: A cross-sectional study. *Immunology* 2022;165(4):481-96.
14. Casadei Gardini A, Scarpi E, Valgiusti M, Monti M, Ruscelli S, Matteucci L, et al. Prognostic role of a new index (multi inflammatory index) in patients with metastatic colorectal cancer: results from the randomized ITACa trial. *Ther Adv Med Oncol* 2020;12:doi: 10.1177/1758835920958363.
15. Liu J, Li S, Zhang S, Liu Y, Ma L, Zhu J, et al. Systemic immune-inflammation index, neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio can predict clinical outcomes in patients with metastatic non-small-cell lung cancer treated with nivolumab. *J Clin Lab Anal* 2019;33(8):doi: 10.1002/jcla.22964.
16. Ergenç H, Ergenç Z, Dog An M, Usanmaz M, Gozdas HT. C-reactive protein and neutrophil-lymphocyte ratio as predictors of mortality in coronavirus disease 2019. *Rev Assoc Med Bras* 2021;67(10):1498-502.
17. Lattanzi S, Norata D, Divani AA, Napoli MD, Broggi S, Rocchi C, et al. Systemic Inflammatory Response Index and Futile Recanalization in Patients with Ischemic Stroke Undergoing Endovascular Treatment. *Brain Sci* 2021;11(9):1164.
18. Mobarki AA, Dobie G, Saboor M, Madkhali AM, Akhter MS, Hakamy A, et al. MPR And NLR as prognostic markers in ICU-admitted patients with COVID-19 in Jazan. Saudi Arabia. *Infect Drug Resist* 2021;14:4859-64.
19. Chan AS, Rout A. Use of Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-to-Lymphocyte Ratios in COVID-19. *J Clin Med Res* 2020;12(7):448-53.
20. Butler T, Newland AC. Haematological Problems in Older Adults In: Proven D, editor. *ABC of Clinical Haematology*. New Jersey: John Wiley & Sons Ltd; 2018. p. 81-4.
21. Zhao Z, Chen A, Hou W, Graham JM, Li H, Richman PS, et al. Prediction model and risk scores of ICU admission and mortality in COVID-19. *PLoS One* 2020;15(7):doi: 10.1371/journal.pone.0236618.
22. He F, Deng Y, Li W. Coronavirus disease 2019: What we know? *J Med Virol* 2020;92(7):719-25.
23. Erhabor O, Muhammad HA, Muhammad K, Onwuchekwa C, Egenti NB. Interpretation of Full Blood Count Parameters in Health and Disease. *Haematol Int J* 2021;5(1):00180.
24. Chmielewski PP, Strzelec B. Elevated leukocyte count as a harbinger of systemic inflammation, disease progression, and poor prognosis: a review. *Folia Morphol* 2017;77(2):171-8.
25. Goubran HA, Stakiw J, Radosevic M, Burnouf T. Platelets effects on tumor growth. *Semin Oncol* 2014;41(3):359-69.
26. Bath PM, Butterworth RJ. Platelet size: Measurement, physiology and vascular disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996;7(2):157-61.

27. Aly MM, Meshref TS, Abdelhameid MA, Ahmed SA, Shaltout AS, Abdel-Moniem AE, et al. Can Hematological Ratios Predict Outcome of COVID-19 Patients? A Multicentric Study. *J Blood Med* 2021;12:505-15.
28. Rathod BD, Amle D, Khot RS, Prathipati KK, Joshi PP. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio as a Predictor of Disease Severity and Mortality in Coronavirus Disease 2019: Prospective Study From Central India. *Cureus* 2022;14(3):doi: 10.7759/cureus.23696.
29. Li X, Liu C, Mao Z, Xiao M, Wang L, Qi S, et al. Predictive values of neutrophil-to-lymphocyte ratio on disease severity and mortality in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care* 2020;24(1):647.
30. Singh Y, Singh A, Rudravaram S, Soni KD, Aggarwal R, Patel N, et al. Neutrophil-to-lymphocyte Ratio and Platelet-to-lymphocyte Ratio as Markers for Predicting the Severity in COVID-19 Patients: A Prospective Observational Study. *Indian J Crit Care Med* 2021;25(8):847-52.
31. Citu C, Gorun F, Motoc A, Sas I, Gorun OM, Burlea B et al. The Predictive Role of NLR, d-NLR, MLR, and SIRI in COVID-19 Mortality. *Diagnostics (Basel)* 2022;12(1):122.
32. Hamad DA, Aly MM, Abdelhameid MA, Shaltout AS, Abdel-Moniem AE et al. Combined Blood Indexes of Systemic Inflammation as a Mirror to Admission to Intensive Care Unit in COVID-19 Patients: A Multicentric Study. *J Epidemiol Glob Health* 2022;12(1):64-73.
33. Fois AG, Paliogiannis P, Scano V, Cau S, Babudieri S, Perra R, et al. The systemic inflammation index on admission predicts in-hospital mortality in COVID-19 patients. *Molecules* 2020;25(23):5725.
34. Nalbant A, Demirci T, Kaya T, Aydın A, Altındış M, Güçlü E. Can prognostic nutritional index and systemic immune-inflammatory index predict disease severity in COVID-19? *Int J Clin Pract* 2021;75(10):doi: 10.1111/ijcp.14544.
35. Gozdas HT, Kayis SA, Damarsoy T, Ozsari E, Turkoglu M, Yildiz I, et al. Multi-inflammatory Index as a Novel Mortality Predictor in Critically Ill COVID-19 Patients. *J Intensive Care Med*. 2022;8850666221100411. doi: 10.1177/08850666221100411.
36. Yurekli UF, Liste U, Ertunc B, Tercan M, Tahtabasi M. Could platelet mass index (PMI) be a new prognostic biomarker for COVID-19? *Ann Clin Anal Med* 2022;13(1):72-5.

TÜRKİYE POPÜLASYONUNDA HLA-DQ POLİMORFİZMLERİNİN HEPATİT B VİRÜS ENFEKSİYONU İLE İLİŞKİSİ

ASSOCIATION OF HLA-DQ POLYMORPHISMS WITH HEPATITIS B VIRUS INFECTION IN TURKISH POPULATION

Bülent ÇAKAL¹ , Muzaffer ARIKAN² , Alp ATASOY³ , Bilger ÇAVUŞ³ , Mehveş PODA⁴ ,
Mesut BULAKÇI⁵ , Mine GÜLLÜOĞLU⁶ , Mehmet DEMİRCİ⁷ , Filiz AKYÜZ³ 

¹ Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Türkiye

² Istanbul Medipol University, Research Institute for Health Sciences and Technologies, Regenerative and Restorative Medicine Research Center, Istanbul, Türkiye

³ Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Division of Gastroenterohepatology, Department of Internal Medicine, Istanbul, Türkiye

⁴ Istanbul University, Aziz Sancar Institute for Experimental Medical Research, Department of Genetics, Istanbul, Türkiye

⁵ Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Radiology, Istanbul, Türkiye

⁶ Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Pathology, Istanbul, Türkiye

⁷ Kırklareli University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Kırklareli, Türkiye

ORCID ID: B.Ç. 0000-0002-1254-844X; M.A. 0000-0001-5162-2000; A.A. 0000-0003-1791-897X; B.Ç. 0000-0003-2203-4255; M.P. 0000-0002-1957-6072; M.B. 0000-0003-0993-6465; M.G. 0000-0002-3967-0779; M.D. 0000-0001-9670-2426; F.A. 0000-0001-7498-141X

Citation/Atf: Cakal B, Atasoy A, Cavus B, Poda M, Bulakci M, Gulluoglu M, et al. Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi 2022;5(3):186-192. <https://doi.org/10.26650/JARHS2022-1142531>

ÖZ

Amaç

Konak genetik faktörleri hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonunun doğal seyri ve HBV ilişkili karaciğer hastalıklarının gelişme riski ile progresyonu üzerinde etkili olabilmektedir. Bu çalışmada HLA-DQ gen rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmlerinin HBV doğal klirensi, viral yük ve HBV ile ilişkili karaciğer hasarı gelişimi ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya 150 kronik hepatit B (KHB) hastası ile kontrol grubu olarak 58'i kronik hepatit C (KHC) ve 82'si farklı klinik endikasyonlar nedeniyle karaciğer biyopsi işlemi gerçekleştirilen 140 hasta dâhil edildi. HLA-DQ rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 genotip ve polimorfizmlerinin belirlenmesinde TaqMan SNP genotiplendirme yöntemi kullanıldı.

Bulgular

KHB'li ve kontrol grubundaki hastaların HLA-DQ gen rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 genotip ve allel frekansları arasında farklılık tespit edildi ($P<0,05$). HLA-DQ rs9272105 AA genotip ve A allel varlığı, hepatit B yüzey antijen (Hepatitis B surface antigen; HBsAg) klirensi ve karaciğer hasarı ile ilişkiliydi ($p<0,05$). HLA-DQ gen rs2856718 ve rs9275572 ise HBV klirensi ve hastaların histolojik sonuçlarıyla ve ayrıca rs9272105 de dâhil hastaların viral yükleriyle ilişkili değildi.

Sonuç

HLA-DQ rs9272105 AA genotip ve A allel gerek HBV enfeksiyonunun kronikleşmesi gerekse HBV ilişkili karaciğer hasarının gelişmesi için risk faktördür.

Anahtar Kelimeler: Hepatit B virüs, HLA-DQ, genetik polimorfizm, sero-konversiyon, hastalık progresyonu

ABSTRACT

Objective

Host genetic factors can affect the natural course of hepatitis B virus (HBV) infection and the risk of development and progression of HBV-related liver diseases. The aim of this study is to evaluate the role of the HLA-DQ gene polymorphisms rs9272105, rs2856718 and rs9275572 with HBV natural clearance, viral load and the development of HBV associated liver injury.

Materials and Methods

The study included 150 patients with chronic hepatitis B (CHB) and 140 patients as the control group, 58 of whom had chronic hepatitis C (CHC) and 82 of whom had undergone a liver biopsy due to different clinical indications. The HLA-DQ gene rs9272105, rs2856718 and rs9275572 polymorphisms were genotypes in liver samples using the hybridization probe assay.

Results

A difference was found between the HLA-DQ gene rs9272105, rs2856718 and rs9275572 genotype and allele frequencies of the patients with CHB and the control group ($P<0,05$). The HLA-DQ rs9272105 AA genotype and presence of A allele were associated with hepatitis B surface antigen (HBsAg) clearance and liver injury ($p<0,05$). In contrast, the HLA-DQ genes rs2856718 and rs9275572 were not associated with HBV clearance and patients' histological outcomes, nor with patients' viral load, including rs9272105.

Conclusions

It has been suggested that the HLA-DQ rs9272105 AA genotype and the A allele are risk factors for both the persistence of HBV infection and the development of HBV-related liver damage.

Keywords: Hepatitis B Virus, HLA-DQ, genetic polymorphism, seroconversion, disease progression

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Bülent ÇAKAL E-mail: bulentcakal@yahoo.com

Başvuru/Submitted: 08.07.2022 • Revizyon Talebi/Revision Requested: 07.09.2022 • Son Revizyon/Last Revision Received: 06.10.2022 •

Kabul/Accepted: 10.10.2022



This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

GİRİŞ

Hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonu kronik aktif hepatit, siroz, hepatoselüler karsinoma (HSK), gibi progresif seyirli mortalite ve morbidite oranı yüksek klinik sonuçları ve ayrıca mevcut terapötiklerin tedavi etkinliklerinin de sınırlı olması nedeniyle hala tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olarak güncelliğini korumaktadır (1, 2).

Kronik HBV enfeksiyonunun doğal seyri ile ilişkili oldukları karaciğer hastalıklarının progresyonu üzerinde konak faktörleri ile virüse ait faktörlerin karşılıklı etkileşimi belirleyici olabilmektedir. Kromozom 6p21'de lokalize doku uygunluk kompleksinin (major histocompatibility complex, MHC) kodladığı insan lökosit antijenleri (human leukocyte antigens, HLA) anti viral immün yanıtların oluşması ve sürdürülmesinde önemli bir yer tutar. HBV enfeksiyonunun kontrolü ve klinik sonuçları konak immün yanıtları ile ilişkilidir. Antijen sunucu hücreler (ASH) tarafından eksprese edilen HLA, antijenik peptidlerin tanınması ve T lenfositlerine sunumunu da içeren immün fonksiyonları nedeniyle anti-viral immün yanıtların yönü, şiddeti ve yoğunluğunun oluşması ve belirlenmesinde merkezi role sahiptirler. Nihayetinde; genom boyu ilişkilendirme çalışmalarından (genome-wide association study (GWAS) elde edilen veriler insan HLA genlerini içeren tek nükleotid polimorfizmleri (single nucleotide polymorphisms; SNP) gibi konak genetik faktörlerinin kronik viral hepatitlerin doğal seyri ve klinik sonuçları ile ilişkili olduğu yönündedir (3, 4). Bu açıdan HLA-DQ gen polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonuna duyarlılık ve spontan klirensi ile HBV enfeksiyonunun kronikleşmesi ve ayrıca HBV ilişkili siroz ve HSK gibi ileri karaciğer hasarı gelişme riski ve progresyonuyla ilişkili olabileceği rapor edilmektedir (5-7).

HLA-DQ gen rs2856718, rs9275572-A ve rs9272105 polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonun doğal klirensi, klinik sonuçları ile HBV ilişkili siroz ve HSK gibi ileri düzeydeki karaciğer hasarları gelişme riski ile ilişkili olabildiği rapor edilmektedir. Bu açıdan HLA-DQ allel rs2856718-G ve rs9275572-A HBV enfeksiyonuna karşı yararlı olarak değerlendirilmektedir (8-10). Buna karşın HLA-DQ rs9272105-A allel varlığının ise HBV ilişkili siroz ve HSK gibi karaciğer hasarı gelişme riski ile hastaların klinik seyri ve klinik sonuçları üzerinde olumsuz etkileri nedeniyle tercih edilmeyen genotipler olarak değerlendirilmektedir (8,11). Bununla birlikte bu polimorfizmlerin HBV enfeksiyonunun doğal seyri, klinik ve histolojik sonuçları üzerindeki etkileri konusundan nihai bir uzlaşma yoktur.

Bu çalışmada, HLA-DQ gen rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonuna duyarlılık, HBsAg'nin spontan klirensi ve viral yük ile HBV ilişkili karaciğer hasarı gelişimi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TSA-2018-30611 proje numarası ile desteklenmiştir. Çalışmanın etik onayı İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi etik kurulu tarafından verilmiştir (No: 2018/895). Katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Hastalar ve klinik materyal

Bu çalışma 150'si kronik hepatit B (KHB), 58'u kronik hepatit C (KHC) ile 82'ü viral hepatit etkenleri dışında farklı klinik endikasyonlar nedeniyle karaciğer parankim biyopsisi işlemi gerçekleştirmiş toplam 290 hasta ile bu hastaların karaciğer doku örneklerinden ticari bir kit (QIAamp DNA Mini kit, Qiagen GmbH, Hilden, Germany) kullanılarak elde edilmiş olan total DNA örneklerini içermekteydi. 58'u KHC ve 82'si non-viral karaciğer hastalığı tanımlanan kontrol grubundaki toplam 140 hastanın HBsAg'i seronegatifdi. KHB'li hastaların ve non-viral karaciğer hastalığı tanımlanan tüm hastaların anti-HCV antikorları seronegatifdi. Ve ayrıca tüm hastaların anti-human immunodeficiency virus (HIV) antikorları da seronegatifdi.

HLA Gen Polimorfizmi/Genotip Analizi

HLA-DQA1/DRB1 (rs9272105), HLA-DQB1 (rs2856718) ve HLA-DQ'yi (rs9275572) içeren HLA polimorfizmleri standart TaqMan SNP genotipleme deneyi (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) gerçekleştirilerek belirlendi. Elde edilen amplifikasyon eğrileri ve allel ayrımları için StepOne Software (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) programları kullanıldı.

Anti-HBV antikorlarının ölçümü

HBsAg seronegatif olan kontrol grubu hastaların serum örneklerinde; hepatit B yüzey antikorları (anti-HBs) ve total hepatit B kor antikorları (total anti-HBc) Elecsys Anti-HBs II ve Elecsys Anti-HBc II kit/Cobas e411® (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) kullanılarak üreticinin önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. HBsAg seronegatif ve HBV aşılama geçmişi olmayan, KHC'li hastalar ile non-viral karaciğer hastalığı olan kontrol grubu hastalarda anti-HBc IgG ve anti-HBs varlığı HBsAg seroklirensi olarak tanımlandı.

Karaciğer Histoloji

KHB ve KHC hastalarına ait karaciğer dokularının histopatolojik değerlendirmesi modifiye Ishak skor sistemi kullanılarak gerçekleştirildi (12). Non-viral kronik karaciğer hastalığı olan hastalara ait patoloji raporları fibrosis, portal ve lobüler enflamasyon, lobüler nekroz, steatoz, kolestaz, safra yolu hasarı gibi histolojik parametreleri içeriyordu.

Demografik ve klinik laboratuvar verileri: Hastaların demografik ve diğer klinik laboratuvar verileri hasta dosyaları ve/ya hastanenin elektronik veri kayıt sisteminden elde edildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler IBM SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp) programı kullanılarak gerçekleştirildi. Veriler arasındaki kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi ve/ya Fisher testi kullanıldı. Bağımsız ve normal dağılmayan değişkenlerin karşılaştırması Kruskal-Wallis veya Mann-Whitney u testi kullanılarak yapıldı. Bağımsız değişkenin ikili bağımlı değişken üzerindeki etkileri lojistik regresyon analizi yapılarak değerlendirildi. SNP'ler arasındaki bağlantı dengesizliği (Linkage Disequilibrium, LD) Haploview programı kullanılarak belirlendi. Hardy-Weinberg

Tablo 1. Hastaların demografik, klinik, klinik laboratuvar, virolojik ve histolojik özellikleri

| Veri | Kontrol Grup | | | p |
|--|--------------|--------------|-------------------------------------|-------|
| | KHB, n:150 | KHC, n:58 | Non-viral karaciğer hastalığı, n:82 | |
| Yaş Ort ± SS (yıl) | 43,2±13,35 | 56,00±16,52 | 47,65±13,81 | >0,05 |
| Cinsiyet (E/K) | 74/76 | 19/39 | 37/45 | >0,05 |
| Klinik laboratuvar, Ort±SS | | | | |
| AST (U/L) | 43,56±46,45 | 52,02±41,61 | 86,60±115,74 | <0,05 |
| ALT (U/L) | 76,99±58,68 | 69,29±10,2 | 120,12±14,4 | <0,05 |
| ALP (U/L) | 74,67±27,00 | 81,28±29,21 | 193,86±22,0 | <0,05 |
| GGT (U/L) | 35,63±31,49 | 58,96±58,1 | 198,9±24,2 | <0,05 |
| Total bilirubin (mg/dl) | 0,63±0,49 | 0,57±0,33 | 1,46±1,06 | >0,05 |
| Direct bilirubin(mg/dl) | 0,98±0,35 | 1,01±0,4 | 1,28±0,64 | >0,05 |
| Indirect bilirubin (mg/dl) | 0,36±0,25 | 0,32±0,22 | 0,37±0,27 | >0,05 |
| INR | 1,02±0,12 | 1,01±0,08 | 1,00±0,36 | >0,05 |
| AFP (ng/ml) | 4,39±3,97 | 3,46±1,54 | 3,63±3,61 | >0,05 |
| Albümin (g/dl) | 4,51±0,45 | 4,43±0,71 | 4,30±1,68 | >0,05 |
| PLT (10 ⁶ /ml) | 232,25±57,86 | 211,16±36,73 | 205,2±111,67 | >0,05 |
| Viral Faktörler | | | | |
| Log HBV DNA (IU/mL) | 7,96±7,32 | U | U | |
| Log HCV RNA (IU/mL) | U | 7,38±8,03 | U | |
| Karaciğer biyopsi endikasyonu/Klinik | | | | |
| Kronik hepatit B | 150 | | U | |
| Kronik hepatit C | U | 58 | U | |
| Metabolik karaciğer hastalığı | U | U | 32 | |
| Nedeni bilinmeyen karaciğer enzim yüksekliėi | U | U | 26 | |
| Kolestatik karaciğer hastalığı | U | U | 16 | |
| Siroz | U | U | 4 | |
| Vasküler karaciğer hasarı | U | U | 4 | |
| Histoloji, Ort±SS | | | | |
| Enflamasyon (Grade) | 4,99±2,86 | 5,98±2,12 | NA | <0,05 |
| Fibrosis (Stage) | 2,06±1,32 | 2,62±1,12 | NA | <0,05 |
| NASH | U | U | 22 | |
| NAFLD | U | U | 10 | |
| Non-spesifik deėişiklik* | U | U | 28 | |
| Kolestatik karaciğer hastalığı | U | U | 14 | |
| Cirrhosis | U | U | 4 | |
| Portal hipertansiyon/Venopati | U | U | 4 | |

AST: Aspartat aminotransferaz; **ALT:** Alaninaminotransferaz; **ALP:** Alkalen fosfataz; **GGT:** Gama glutamil transferaz; **AFP:** Alfafetoprotein; **PLT:** Trombosit (Platet); **INR:** Protrombin zamanının uluslararası normalleştirilmiş oranı, **NASH:** Non-alkolik steatohepatit, **NAFLD:** Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, **U:** Uygulanamaz.

*Histopatolojik tanıya yapısal olmayan değişiklikler, fibrosis yokluğu, minimal düzeyde portal ve lobüler enflamatuvar infiltratlar.

dengesi (Hardy–Weinberg Equilibrium, HWE), alel frekansları ve genotip dağılımları ki-kare testi kullanılarak analiz edildi. <0,05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık olarak kabul edildi.

BULGULAR

Hastaların demografik, klinik laboratuvar ve histopatolojik özellikleri

Çalışmaya dahil edilen 150’si KHB, 58’i KHC ve 82’si non-viral karaciğer hastalığı olan 130’u erkek 160’ı kadın toplam 290 hastanın demografik, klinik, klinik laboratuvar, virolojik ve histopatolojik verileri Tablo 1 özetlenmiştir. KHB ve KHC’li hastaların histolojik olarak enflamasyon derecesi (grade) sırasıyla

4,99±2,86 ve 5,98±2,12, fibrosis evreleri (stage) ise sırasıyla 2,06±1,32 ve 2,62±1,12 olarak tanımlandı. Hasta ve kontrol grubunun karaciğer enzimleri ile KHB ve KHC’li hastaların enflamasyon dereceleri (grade) ve fibrosis evrelerini de (stage) içeren histolojik verileri istatistiksel olarak anlamlı farklılık içermekteydi (Tablo 1). Viral hepatit dışında farklı klinik endikasyonlar nedeniyle karaciğer biyopsisi yapılan hastalarda histopatolojik olarak en fazla rapor edilen bulgu 22’si (%26,8) alkol dışı steatohepatit (Non-alcoholic steatohepatitis; NASH) ve 10’u (%12,2) alkol dışı yağlı karaciğer hastalığı (Non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) toplam 32 (%39,0) hasta ile karaciğer yağlanmasıydı.

HLA-DQ gen rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 genotip ve frekansı

Bu çalışmada HLA-DQ rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 için tespit edilen genotipler ve allel frekansları ile istatistiksel farklılıkları tablo 2' de gösterilmiştir. Gerek KHB'li hastaları içeren çalışma grubu gerekse kontrol grubunun HWE değerleri ve LD dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0,05$) (Tablo 3 ve Tablo 4). Bu çalışmada KHB'li ve kontrol grubundaki hastaların HLA-DQ genindeki SNP rs9272105, rs2856718 ve rs9275572'nin genotip ve allel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi.

KHB'li hastalarda rs9272105 GG genotipi (%13,33) ve G allel (%31,33) frekansı, kontrol grubunun GG genotipi (%22,14) ve G allel (%41,42) frekansından daha düşüktü ($p<0,05$). KHB'li ve kontrol grubunda rs9272105 AA frekansı en yüksek tespit edilen genotip olup, gerek rs9272105 GA gerekse AA genotiplerinin frekanslarının dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu. Buna karşın KHB'li hastalarda rs9272105 A allel (%68,67) frekansı kontrol grubunun A allel (%58,58) frekansından daha yüksekti ($p<0,05$).

KHB'li hastalarda rs2856718 GG genotipi (%34,66) ve G allel (%56,0) frekansı kontrol grubunun GG genotipi (%19,28) ve G allel (%43,57) frekansından daha yüksekti ($p<0,05$). KHB ve kontrol grubunda rs2856718 GA frekansı en yüksek tespit edilen genotip olup, gerek rs2856718 GA gerekse AA genotiplerinin frekanslarının dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu. Buna karşın KHB'li hastalarda rs2856718 A allel (%44,0) frekansı kontrol grubunun A allel (%56,43) frekansından daha düşüktü ($p<0,05$).

KHB'li hastalarda ve kontrol grupta HLA-DQ gen rs9275572 için frekansı en yüksek tespit edilen genotip GG olup sırasıyla

%54,0 ve %45,71, frekansı en düşük tespit edilen genotip ise AA olup sırasıyla %13,33 ve %10,0 olarak tespit edildi. Her iki grubunda gerek rs9275572 GG ve AA genotipleri gerekse G ve A allel frekansları arasında bir farklılık yoktu ($p>0,05$). Buna karşın KHB'li hastalarda rs9275572 AG genotipinin (%32,66) frekansı kontrol grubunun AG genotipinin (%44,28) frekansından daha düşüktü ($p<0,05$).

HLA-DQ gen polimorfizmi ve HBsAg seroklirensi

Tablo 5'de HBV temasının gösteren anti-HBc pozitifliği ile birlikte anti-HBs pozitifliği ile karakterize HBsAg seroklirensi tespit edilen 28 hastanın HLA-DQ genotip ve allel frekansları gösterilmektedir. Persistan HBsAg pozitifliği ile karakterize KHB'li hastalarda HLADQ-DR rs9272105 GG genotipi (%13,33) ve G allel (%31,33) frekansı HBsAg seroklirensli grubun GG genotipi (%28,57) ve G allel (%53,57) frekansından daha düşüktü ($p<0,05$). Buna karşın KHB'li hastalarda rs9272105 AA genotipi (%50,67) ve A allel (%68,67) frekansı HBsAg seroklirensli grubun AA genotipi (%21,43) ve A allel (%46,43) frekansından daha yüksekti ($p<0,05$). Bununla birlikte her iki grupta heterozigot rs9272105 GA genotipinin frekansları arasında ise bir farklılık yoktu ($p>0,05$). KHB'li hastalar ile HBsAg seroklirensine sahip hastaların HLA-DQ gen rs2856718 ve rs9275572 genotip ve allel

frekansları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$).

Tablo 2. KHB ve kontrol hastalarında HLA-DQ gen genotip ve allel frekansı

| Genotip/ Allel | KHB, total =150 n(%) | Kontrol total = 140 n(%) | p |
|------------------|----------------------|--------------------------|--------|
| rs9272105 | | | |
| GG | 20 (13,33) | 31 (22,14) | < 0,05 |
| GA | 54 (36,0) | 54 (38,57) | <0,05 |
| AA | 76 (50,67) | 55 (39,28) | <0,05 |
| G | 94 (31,33) | 116 (41,42) | < 0,05 |
| A | 206 (68,67) | 164 (58,58) | < 0,05 |
| rs2856718 | | | |
| GG | 52 (34,66) | 27 (19,28) | < 0,05 |
| GA | 64 (42,66) | 68 (48,57) | >0,05 |
| AA | 34 (22,66) | 45 (32,14) | >0,05 |
| G | 168 (56,0) | 122 (43,57) | < 0,05 |
| A | 132 (44) | 158 (56,43) | < 0,05 |
| rs9275572 | | | |
| AA | 20 (13,33) | 14 (10,0) | >0,05 |
| AG | 49 (32,66) | 62 (44,28) | < 0,05 |
| GG | 81 (54,0) | 64 (45,71) | >0,05 |
| A | 89 (29,66) | 90 (32,14) | >0,05 |
| G | 211 (70,33) | 190 (67,86) | >0,05 |

KHB: Kronik hepatit B

Tablo 3: HWE Test Sonuçları

| SNP ID | Grup | HWE Test p |
|-----------|---------|------------|
| rs9272105 | KHB | >0,05 |
| | Kontrol | >0,05 |
| rs2856718 | KHB | >0,05 |
| | Kontrol | >0,05 |
| rs9275572 | KHB | >0,05 |
| | Kontrol | >0,05 |

HWE: Hardy Weinberg Equilibrium

Tablo 4: LD (r^2) Sonuçları

| | rs9272105 | rs2856718 | rs9275572 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| rs9272105 | 1,000 | 0,042 | >0,05 |
| rs2856718 | | 1,000 | >0,05 |
| rs9275572 | | | >0,05 |

LD: Linkage disequilibrium

Kronik hepatit B'li hastalarda HLA-DQ polimorfizmi

Tablo 6'da KHB hastaların viral yükleri ve histolojik verileri ile HLA-DQ gen polimorfizmleri karşılaştırılmasını içeren veriler özetlenmiştir. Buna göre KHB'li hastaların HBV DNA düzeyleri ile

HLA-DQ gendeki SNP rs9272105, rs2875618 ve rs9275572'nin genotip frekansları arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmedi ($p>0,05$).

Bu çalışmada HLA-DQ gen rs9272105 AA genotipine sahip hastaların histolojik olarak karaciğer enflamasyon derecesi (grade) $5,59\pm 3,19$ olup, rs9272105 GG ve GA genotipli hastaların karaciğer enflamasyon derecesinden sırasıyla $3,70\pm 1,78$ ve $4,61\pm 2,46$ daha yüksekti ($p<0,05$). Buna karşın HLA-DQ gen rs9272105 AA genotipi dışındaki diğer genotipleri ve ayrıca da HLA-DQ gen rs2875618 ve rs9275572 polimorfizmleri ile hastaların nekro-enflamatuvar aktivite dereceleri (grade) ile fibrosiz evrelerini (stage) içeren histolojik verileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki belirlenmedi.

TARTIŞMA

HLA-DQ gen polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonunun sonuçları üzerindeki etkisini değerlendirmeye yönelik yapılan bu çalışmada KHB'li hastalar ile kontrol grubunun HLA-DQ gen SNP rs9272105, rs2856718 ve rs9275572'nin genotipleri ve allel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı.

Bu çalışmada KHB'li hastalarda, kontrol grubu ve HBsAg seroklirensi olan hastalara göre, HLA-DQ rs9272105 GG genotip ve G allel frekansı daha düşük, buna karşın rs9272105 AA genotipi ve A allel frekansı ise HBsAg seroklirensi olan hastalara, A allel frekansı da kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edildi ($p<0,05$) (Tablo 2 ve 5). Çalışmada ayrıca rs9272105 AA genotipinin de KHB'li hastalarda HBV ilişkili karaciğer enflamasyon derecesinde (grade) artış ile ilişkili olduğu tespit edildi ($p<0,05$) (Tablo 4). Bu veriler rs9272105 GG genotip ve G allel varlığının HBV enfeksiyonuna direnç ve HBsAg'nin spontan klirensi ile ilişkili olabileceğine, nihayetinde HBV enfeksiyonuna karşı koruyucu ve yararlı rolüne işaret etmektedir. Buna karşın rs9272105 AA genotipi ve A allel varlığının ise HBV enfeksiyonunun kronikleşmesi ve HBV ilişkili karaciğer hasarı için bir risk faktör olabileceğine işaret etmektedir. Daha önce yapılan farklı çalışmalarda HLA-DQ rs9272105 AA genotipi ve A allel varlığının HBV ilişkili karaciğer sirozu ve HSK gelişme riski ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (8,13-15). Bununla birlikte, yapılan bir çalışmada HLA-DQ rs9272105'in persistan HBV enfeksiyonu ile ilişkili olmadığı rapor edilmesine karşın, bu çalışmada ilk defa HBV HLA-DQ rs9272105 AA genotipi ve A allel varlığının HBV enfeksiyonunun kronikleşmesi için risk faktör olabileceği rapor edilmektedir (16).

Bu çalışmada KHB'li hastalar ile kontrol grubunun HLA-DQ gen rs2856718 GG genotip, G ve A allel ile rs9275572 AG genotipinin frekansları arasında farklılık tespit edildi. ($p<0,05$). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte KHB'li hastalarda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında rs9275572 A allel frekansının daha düşük, AA ve GG genotip ile G allel frekansının ise daha yüksek oranda olduğu tespit edildi ($p>0,05$), (Tablo 2). Buna karşın HLA-DQ gen rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmleri ile HBsAg seroklirensi ve HBV ilişkili karaciğer hasarı arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (Tablo 5 ve 6). Çalışmamızdan elde edilen veriler HLA-DQ gen rs2856718 için

G allelden ziyade A allelin ve rs9275572 için ise A allel polimorfizminin HBV enfeksiyonundan korunma ile ilişkili olabileceğine, buna karşın HBV enfeksiyonunun kronikleşmesi ve histolojik sonuçları üzerinde etkisinin ise sınırlı olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte bazı çalışmalarda bizim bulgularımızın aksine rs2856718 için A allelden ziyade G allelin, rs9275572 için ise bu çalışmanın bulguları tarafından da desteklendiği üzere A allel varlığını içeren HLA gen polimorfizmlerinin HBV'nin doğal klirensi ve kronik HBV enfeksiyon riskinde azalma ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (8,17-19).

Tablo 5. KHB ve HBsAg seroklirensli hastalarda HLA-DQ gen genotip ve allel frekansı

| Genotip/Allel | KHB, total =150 n(%) | HBsAg seroklirensi, total =28 n(%) | p |
|------------------|----------------------|------------------------------------|--------|
| rs9272105 | | | |
| GG | 20 (13,33) | 8 (28,57) | < 0,05 |
| GA | 54 (36,0) | 14 (50,0) | >0,05 |
| AA | 76 (50,67) | 6 (21,43) | < 0,05 |
| G | 94 (31,33) | 30 (53,57) | < 0,05 |
| A | 206 (68,67) | 26 (46,43) | < 0,05 |
| rs2856718 | | | |
| GG | 52 (34,66) | 6 (21,43) | >0,05 |
| GA | 64 (42,66) | 12 (42,85) | >0,05 |
| AA | 34 (22,66) | 10 (35,72) | >0,05 |
| G | 168 (56,0) | 24 (42,85) | >0,05 |
| A | 132 (44) | 32 (57,15) | >0,05 |
| rs9275572 | | | |
| AA | 20 (13,33) | 3 (10,71) | 0,703 |
| AG | 49 (32,66) | 11 (39,28) | 0,496 |
| GG | 81 (54,0) | 14 (50,0) | 0,696 |
| A | 89 (29,66) | 17 (30,35) | 0,920 |
| G | 211 (70,33) | 39 (69,65) | 0,920 |

KHB: Kronik hepatit B

HLA-DQ rs2856718 ve rs9275572' de içeren HLA-DQ gen polimorfizmlerinin HBV ilişkili siroz ve HSK gelişme riski üzerindeki etkileri hususunda henüz net bir uzlaşma yoktur. Bazı çalışmalarda HLA-DQ rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmlerinin HBV ilişkili siroz ve HSK gelişimi ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (9,20,21). Buna karşın farklı çalışmalarda ise HLA-DQ polimorfizmlerinin HBV ilişkili karaciğer hasarları üzerinde olumsuz etkilerinin varlığı gösterilmemiştir (10,15,21). HBV enfeksiyonunun kontrolünde hücrel immün yanıtların düzeyi, yönü ve şiddeti belirleyicidir. T hücrelerine antijen sunan molekülleri kodlayan HLA genlerinde meydana gelen polimorfizmler antijenin bağlanma gücünü ve özgüllüğünü etkileyerek HBV'ye karşı T hücre aracılı immün yanıtların yönünü ve şiddetini etkileyebilir. Bu çalışmadan elde edilen veriler de bazı HLA-DQ polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonunun klinik sonuçları ile ilişkili olabileceğine işa-

Tablo 6. KHB'li hastaların virolojik ve histolojik sonuçları ile HLA-DQ polimorfizmlerinin karşılaştırılması

| Veri | rs9272105 | | | p | rs2856718 | | | p | rs9275572 | | | p |
|--------------------------------------|---------------|--------------|---------------|-------|---------------|---------------|---------------|-------|---------------|---------------|---------------|-------|
| | GG n (%) | GA n (%) | AA n (%) | | CC n (%) | CT n (%) | TT n (%) | | AA n (%) | AG n (%) | GG n (%) | |
| | 20 (13,33) | 54 (36,0) | 76 (50,67) | | 52 (34,66) | 64 (42,66) | 34 (22,66) | | 20 (13,33) | 49 (32,66) | 81 (54,00) | |
| Viral Faktörler (Ort, SS) | | | | | | | | | | | | |
| HBV DNA log ₁₀ IU/ml | 6,06±6,6 | 7,23±7,68 | 7,46±8,08 | >0,05 | 7,2±7,66 | 7,47±8,11 | 7,1±7,56 | 0,936 | 7,3±7,66 | 7,12±7,61 | 7,41±8,07 | >0,05 |
| Histoloji (Ort, SS) | | | | | | | | | | | | |
| Enflamasyon (Grade) | 3,70±1,78 | 4,61±2,46 | 5,59±3,19 | <0,05 | 4,53±2,07 | 5,4±3,44 | 4,88±2,61 | 0,807 | 5,25±2,59 | 5,46±3,62 | 4,62±2,33 | >0,05 |
| Fibrozis (Stage) | 1,5±1,00 | 2,00±1,31 | 2,25±1,36 | >0,05 | 1,84±1,12 | 2,2±1,4 | 2,11±1,43 | 0,426 | 2,2±1,7 | 2,34±1,37 | 1,85±1,15 | >0,05 |

ret etmektedir. Buna karşın tanımlanan genetik varyasyonların moleküler düzeyde HBV enfeksiyonuna karşı spesifik immün yanıtları nasıl etkilediği henüz tam olarak aydınlatılmamıştır.

HLA-DQ gen rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmlerini de içeren çalışmaların sonuçlarına yönelik farklılıklar çalışmaya dahil edilen hastaların klinik özellikleri, HBV epidemiyolojisi ve genotipleri gibi viral faktörler ile çalışma popülasyonun genetik kompozisyonu ve büyüklüğünden kaynaklanabilir. Nihayetinde bu faktörlerin, aynı zamanda bu çalışmadan elde edilen sonuçların farklılığını hem de bu çalışmayı sınırlandıran faktörler olabileceği ifade edilebilir.

Çalışmamızda HLA-DQ gen rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmleri ile HBV DNA düzeyleri arasında önemli bir ilişki saptanmadı. Bu veriler HLA-DQ polimorfizmlerinin HBV'nin viral replikasyon dinamiği üzerine sınırlı etkilerinin olabileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte farklı çalışmalarda rs9272105'i de içeren bazı HLA-DQ gen polimorfizmlerinin KHB'li hastalarda viral yük ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (16).

HBV enfeksiyonunun doğal seyri ve ilişkili olduğu karaciğer hastalıklarının gelişmesi ve progresyonu üzerinde virüs ve konak ilişkili faktörler ile çevresel faktörler belirleyici olabilmektedir. Bu çalışmadan elde edilen veriler HLA-DQ gen rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonunun doğal seyri ve sonuçları üzerinde sınırlı bir etkinliğe sahip olduğuna, buna karşın HLA-DQ gen rs9272105 polimorfizminin ise HBV enfeksiyonunun doğal seyri ve klinik sonuçları üzerinde etkili olabileceğine işaret etmektedir.

Sonuç olarak HLA-DQ rs9272105 AA genotipi ve A allel varlığı HBV enfeksiyonunun kronikleşmesi ve KHB'li hastalarda HBV ilişkili karaciğer hasarının gelişmesi için bir risk faktördür. Dolayısıyla HLA-DQ rs9272105 AA genotipli KHB'li hastaların HSK gelişimi riski açısından izlenmesi hastaların klinik yönetimi için yararlı olabilir.

Teşekkür: İstanbul Tıp Fakültesi Gastroenterohepatoloji Bilim Dalında görevli Sayın Hemşire Nilay ARABACI ve Derya KAYA ile Radyoloji Biriminde görevli Sayın Hemşire Arzu ÖRENTE'e bu projenin gerçekleştirilmesi aşamasındaki bilimsel duyarlılıkları, katkıları ve emeklerinden dolayı şükranlarımı sunarım.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Tarih: 08.06.2018, No: 2018/895).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- B.Ç., F.A.; Veri Toplama- B.Ç., A.A., B.Ç., M.B., M.G.; Veri Analizi/Yorumlama- B.Ç., M.A., M.D., M.P.; Yazı Taslağı- B.Ç.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- B.Ç., M.A., A.A., B.Ç., M.B., M.G., M.D., M.P., F.A.; Son Onay ve Sorumluluk- B.Ç.; Malzeme ve Teknik Destek- B.Ç., M.A., A.A., B.Ç., M.B., M.G., M.D., M.P.; Süpervizyon B.Ç., F.A.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Acknowledgements: We wish to thank the nurses Nilay ARABACI, Derya KAYA and Arzu ORENTEL from Istanbul Faculty of Medicine to this project for their contributions and efforts.

Ethics Committee Approval: This study was approved by Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine Clinical Research Ethics Committee (Date: 08.06.2018, No: 2018/895).

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- B.Ç., F.A.; Data Acquisition- B.Ç., A.A., B.Ç., M.B., M.G.; Data Analysis/Interpretation- B.Ç., M.A., M.D., M.P.; Drafting Manuscript- B.Ç.; Critical Revision of Manuscript- B.Ç., M.A., A.A., B.Ç., M.B., M.G., M.D., M.P., F.A.; Final Approval and Accountability- B.Ç.; Material and Technical Support- B.Ç., M.A., A.A., B.Ç., M.B., M.G., M.D., M.P.; Supervision- B.Ç., F.A.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: The authors have no conflict of interest to declare.

KAYNAKLAR

1. Beasley RP. Hepatitis B virus: The major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988;61:1942-56.
2. Dunn R, Wetten A, McPherson S, Donnelly MC. Viral hepatitis in 2021: The challenges remaining and how we should tackle them. *World J Gastroenterol* 2022; 7;28(1):76-951.
3. Xu J, Zhan Q, Fan Y, Yu Y, Zeng Z. Human genetic susceptibility to hepatitis B virus infection. *Infection. Genetics and Evolution* 2021;87:104663. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104663.
4. Zhang Z, Wang C, Liu Z, Zou G, Li J, Lu M. Host Genetic Determinants of Hepatitis B Virus Infection. *Front Genet* 2019;10:696.
5. Zeng Z, Liu H, Xu H, Lu H, Yu Y, Xu X et al, HBV study consortium. Genome-wide association study identifies new loci associated with risk of HBV infection and disease progression. *BMC Med Genomics* 2021;14:84.
6. Graves AM, Viridis F, Morrison E, Álvaro-Benito M, Khan AA, Freund C et al. Human hepatitis B viral infection outcomes are linked to naturally occurring variants of HLA-DOA that have altered function. *J Immunol* 2020 15;205(4):923-35.
7. Song Y, Xia T, Xia X, Zhang A-M. Genetic polymorphisms of the HLA-DP and HLA-DQ genes could influence Hepatitis B virus infection in Yunnan population. *Immunol Invest* 2021;50(1):47-57.
8. Xu T, Zhu A, Sun M, Lv J, Qian Z, Wang X, Wang T, Wang H, et al. Quantitative assessment of HLA-DQ gene polymorphisms with the development of hepatitis B virus infection, clearance, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2018; 9(1):96-109.
9. Lv J, Xu T, Qian Z, Wang H et al. Association between HLA-DQ Gene Polymorphisms and HBV-Related Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterol Res Pract* 2017;2017:7150386. doi:10.1155/2017/7150386.
10. Al-Qahtani A A, Al-Anazi MR, Abdo A A, Sanai FM, Al-Hamoudi W, Alswat KA, et al. Association between HLA variations and chronic hepatitis B virus infection in Saudi Arabian patients. *PLoS ONE* 2014;9(1):e80445. doi: 10.1371/journal.pone.0080445.
11. Xu T, Sun M, Wang H. Relationship between HLA-DQ Gene Polymorphism and Hepatitis B Virus Infection. *Biomed Res Int* 2017;2017:9679843. doi: 10.1155/2017/9679843.
12. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Calleo F, De Groote J, Gaudet F. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995;22(6):696-9.
13. Kozuka R, Enomoto M, Sato-Matsubara M, Yoshida K, Motoyama H, Hagihara A, et al. Association between HLA-DQA1/DRB1 polymorphism and development of hepatocellular carcinoma during entecavir treatment. *J Gastroenterol Hepatol* 2019;34(5):937-46.
14. Wen J, Song C, Jiang D, Jin T, Dai J, Zhu L, et al. Hepatitis B virus genotype, mutations, human leukocyte antigen polymorphisms and their interactions in hepatocellular carcinoma: a multi-centre casecontrol study. *Sci Rep* 2015;16(5):16489. doi: 10.1038/srep16489.
15. Li S, Qian J, Yang Y, Zhao W, Dai J, Bei J-X et al. GWAS identifies novel susceptibility loci on 6p21.32 and 21q21.3 for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B virus carriers. *PLoS Genet* 2012;8:e1002791. doi: 10.1371/journal.pgen.1002791.
16. Hsieh AR, Fann CSJ, Lin HC, Tai J, Hsieh SY, Tai DI. Hepatitis B virus persistent infection-related single nucleotide polymorphisms in HLA regions are associated with viral load in hepatoma families. *World J Gastroenterol* 2021;27(37):6262-76.
17. Trinks J, Nishida N, Hulaniuk ML, Caputo M, Tsuchiura T, Marciano S, et al. Role of HLA-DP and HLA-DQ on the clearance of hepatitis B virus and the risk of chronic infection in a multiethnic population. *Liver Int* 2017;37(10):1476-87.
18. Zhang X, Jia J, Dong J, Yu F, Ma N, Li M, et al. HLA-DQ polymorphisms with HBV infection: different outcomes upon infection and prognosis to lamivudine therapy. *J Viral Hepat* 2014;21(7):491-8.
19. Mohammadi H, Alavian SM, Sharafi H. Association of single nucleotide polymorphisms in immune-related genes with spontaneous HBsAg seroconversion: A systematic review and meta-analysis. *Int Immunopharmacology* 2022;110:108982. doi: 10.1016/j.intimp.2022.108982.
20. Ochi Y, Hashimoto S, Kawabe N, Muraio M, Nakano T, et al. HLA-DQ gene polymorphisms are associated with hepatocellular carcinoma and hepatitis B surface antigen in chronic hepatitis B virus infection. *Hepatol Res* 2017;47(8):755-66.
21. Ji X, Zhang Q, Li B, Dua Y, Yin J, Liu W. Impacts of human leukocyte antigen DQ genetic polymorphisms and their interactions with hepatitis B virus mutations on the risks of viral persistence, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. *Infect Genet Evol* 2014;28:201-9.

Amaç ve Kapsam

Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi (SABIAD); bağımsız, önyargısız ve çift-kör hakemlik ilkeleri çerçevesinde yayın yapan İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün uluslararası ve açık erişimli bilimsel yayın organıdır. Dergi Şubat, Haziran ve Ekim aylarında olmak üzere dört ayda bir yayınlanır ve üç sayıda bir cilt tamamlanır. Yayın dili Türkçe ve İngilizcedir.

Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi (SABIAD), tıbbın tüm alanlarında klinik ve deneysel, özgün araştırmalar, ender görülebilecek olgu sunumları, özel ve güncel konularda literatür derlemeleri ve editöre mektup yayınlamaktadır. Orijinal metot geliştirme, yeni bir girişim tekniği ve orijinal çalışmaların ön sonuçlarını içeren kısa raporlara da dergide yer verilmektedir.

Editöryal Politikalar ve Hakem Süreci

Derginin editörlük ve yayın süreçleri International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), Committee on Publication Ethics (COPE), European Association of Science Editors (EASE) ve National Information Standards Organization (NISO) organizasyonlarının kılavuzlarına uygun olarak biçimlendirilmiştir ve Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice) ilkelerine uygun olarak yürütülmektedir.

Özgünlük, yüksek bilimsel kalite ve atıf potansiyelli bir makalenin yayına kabulü için en önemli kriterlerdir. Gönderilen yazıların daha önce başka bir elektronik ya da basılı dergide, kitapta veya farklı bir mecrada sunulmamış ya da yayınlanmamış olması gerekir. Toplantılarda sunulan çalışmalar için, sunum yapılan organizasyonun tam adı, tarihi, şehri ve ülkesi belirtilmelidir.

Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi'ne (SABIAD) gönderilen tüm makaleler çift-kör hakem değerlendirme sürecinden geçmektedir. Tarafsız değerlendirme sürecini sağlamak için her makale alanlarında uzman en az iki dış-bağımsız hakem tarafından değerlendirilir. Dergi Yayın Kurulu üyeleri tarafından gönderilecek makalelerin değerlendirme süreçleri, davet edilecek dış bağımsız editörler tarafından yönetilecektir. Bütün makalelerin karar verme süreçlerinde nihai karar yetkisi Editöründür.

Klinik ve deneysel çalışmalar, ilaç araştırmaları ve bazı olgu sunumları için World Medical Association

Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects", (amended in October 2013, www.wma.net) çerçevesinde hazırlanmış Etik Komisyon raporu gerekmektedir. Gerekli görülmesi halinde yazarlardan Etik Komisyon raporu veya eşdeğeri olan resmi bir yazı talep edilebilir. İnsanlar üzerinde yapılmış deneysel çalışmaların sonuçlarını bildiren yazılarda, çalışmanın yapıldığı kişilere uygulanacak prosedürler tümüyle açıklandıktan sonra, onaylarının alındığına dair bir açıklamaya metin içinde yer verilmelidir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda ise ağrı, acı ve rahatsızlık verilmemesi için yapılmış olanlar açık ve net olarak makalede belirtilmelidir. Hasta onamları, Etik Kurul raporunun alındığı kurumun adı, onay belgesinin numarası ve tarihi ana metin dosyasında yer alan Gereç ve Yöntem başlığı altında yazılmalıdır. Hastaların kimliklerinin gizliliğini korumak yazarların sorumluluğundadır. Hastaların kimliğini açığa çıkarabilecek fotoğraflar için hastadan ya da yasal temsilcilerinden alınan imzalı izinlerin de gönderilmesi gereklidir.

Bütün makalelerin eşleşme oranı değerlendirmesi, iThenticate yazılımı aracılığıyla yapılmaktadır.

Yayın Kurulu, dergimize gönderilen çalışmalar hakkındaki intihal, atıf manipülasyonu ve veri sahteciliği iddia ve şüpheleri karşısında COPE kurallarına uygun olarak hareket edecektir.

Yazar olarak listelenen herkesin ICMJE (www.icmje.org) tarafından önerilen yazarlık koşullarını karşılaması gerekmektedir.

ICMJE, yazarların aşağıdaki 4 koşulu karşılamasını önermektedir:

1. Çalışmanın konseptine/tasarımına; ya da çalışma için verilerin toplanmasına, analiz edilmesine ve yorumlanmasına önemli katkı sağlamış olmak;
2. Yazı taslağını hazırlamış ya da önemli fikrinsel içeriğin eleştirel incelemelerini yapmış olmak;
3. Yazının yayından önceki son halini gözden geçirmiş ve onaylamış olmak;
4. Çalışmanın herhangi bir bölümünün geçerliliği ve doğruluğuna ilişkin soruların uygun şekilde sorgulandığının ve çözümlendiğinin garantisini vermek amacıyla çalışmadan her yönüyle sorumlu olmayı kabul etmek.

Bir yazar, çalışmada katkı sağladığı kısımların sorumluluğunu almasına ilaveten, diğer yazarların da

çalışmanın hangi kısımlarından sorumlu olduğunu tanımlayabilmelidir. Ayrıca, her yazar diğer yazarların katkı bütünlüğüne güven duymalıdır.

Yazar olarak belirtilen herkes yazarlığın dört koşulunu karşılamalıdır ve bu dört koşulu karşılayan her bir kişi yazar olarak tanımlanmalıdır. Dört kriterin hepsini karşılamayan kişilere makalenin başlık sayfasında teşekkür edilmelidir.

Derginin Yayın Kurulu, itiraz ve şikâyet durumlarında, COPE rehberleri kapsamında işlem uygular. Yazarlar, itiraz ve şikâyetleri için doğrudan Yayıncılık Birimi ile temasa geçebilirler. İhtiyaç duyulduğunda Yayın Kurulu'nun kendi içinde çözemediği konular için tarafsız bir temsilci atanmaktadır. İtiraz ve şikâyetler için karar verme süreçlerinde nihai kararı Baş Editör verecektir.

Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi her makalenin <https://dergipark.org.tr/tr/pub/sabiad> adresinden erişebileceğiniz Telif Hakkı Anlaşması Formu ile beraber gönderilmesini talep eder. Yazarlar, basılı ya da elektronik formatta yer alan resimler, tablolar ya da diğer her türlü içerik dâhil daha önce yayınlanmış bir alıntıyı kullanırken telif hakkı sahibinden izin almalıdırlar. Bu konudaki yasal, mali ve cezai sorumluluk yazar(lar)a aittir.

Dergide yayınlanan makalelerde ifade edilen görüşler ve fikirler Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi, Editör, Editör Yardımcıları, Yayın Kurulu ve Yayıncı'nın değil, yazar(lar)ın bakış açılarını yansıtır. Editör, Editör Yardımcıları, Yayın Kurulu ve Yayıncı, bu gibi durumlar için hiçbir sorumluluk ya da yükümlülük kabul etmemektedir. Yayınlanan içerik ile ilgili tüm sorumluluk yazarlara aittir.

Yayın Politikası

Dergi yayın etiğinde en yüksek standartlara bağlıdır ve Committee on Publication Ethics (COPE), Directory of Open Access Journals (DOAJ), Open Access Scholarly Publishers Association (OASPA) ve World Association of Medical Editors (WAME) tarafından yayınlanan etik yayıncılık ilkelerini benimser; Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing başlığı altında ifade edilen ilkeler için: <https://publicationethics.org/resources/guidelines-new/principles-transparency-and-best-practice-scholarly-publishing>

Gönderilen makaleler derginin amaç ve kapsamına uygun olmalıdır. Orijinal, yayınlanmamış ve başka bir

dergide değerlendirme sürecinde olmayan, her bir yazar tarafından içeriği ve gönderimi onaylanmış yazılar değerlendirmeye kabul edilir.

Makale yayınlanmak üzere Dergiye gönderildikten sonra yazarlardan hiçbirinin ismi, tüm yazarların yazılı izni olmadan yazar listesinden silinemez ve yeni bir isim yazar olarak eklenemez ve yazar sırası değiştirilemez.

İntihal, duplikasyon, sahte yazarlık/inkar edilen yazarlık, araştırma/veri fabrikasyonu, makale dilimleme, dilimleyerek yayın, telif hakları ihlali ve çıkar çatışmasının gizlenmesi, etik dışı davranışlar olarak kabul edilir. Kabul edilen etik standartlara uygun olmayan tüm makaleler yayından çıkarılır. Buna yayından sonra tespit edilen olası kuraldışı, uygunsuzluklar içeren makaleler de dahildir.

İntihal

Ön kontrolden geçirilen makaleler, iThenticate yazılımı kullanılarak intihal için taranır. İntihal/kendi kendine intihal tespit edilirse yazarlar bilgilendirilir. Editörler, gerekli olması halinde makaleyi değerlendirme ya da üretim sürecinin çeşitli aşamalarında intihal kontrolüne tabi tutabilirler. Yüksek benzerlik oranları, bir makalenin kabul edilmeden önce ve hatta kabul edildikten sonra reddedilmesine neden olabilir. Makalenin türüne bağlı olarak, bunun oranının %15 veya %20'den az olması beklenir.

Çift Kör Hakemlik

İntihal kontrolünden sonra, uygun olan makaleler baş editör tarafından orijinallik, metodoloji, işlenen konunun önemi ve dergi kapsamı ile uyumluluğu açısından değerlendirilir. Editör, makalelerin adil bir şekilde çift taraflı kör hakemlikten geçmesini sağlar ve makale biçimsel esaslara uygun ise, gelen yazıyı yurtiçinden ve /veya yurtdışından en az iki hakemin değerlendirmesine sunar, hakemler gerek gördüğü takdirde yazıda istenen değişiklikler yazarlar tarafından yapıldıktan sonra yayınlanmasına onay verir.

Açık Erişim İlkesi

Dergi açık erişimlidir ve derginin tüm içeriği okura ya da okurun dahil olduğu kuruma ücretsiz olarak sunulur. Okurlar, ticari amaç haricinde, yayıncı ya da yazardan izin almadan dergi makalelerinin tam metnini okuyabilir, indirebilir, kopyalayabilir, arayabilir ve link sağlayabilir. Bu BOAI açık erişim tanımıyla uyumludur.

Derginin açık erişimli makaleleri Creative Commons Atıf-GayrıTicari 4.0 Uluslararası (CC BY-NC 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.tr>) olarak lisanslıdır.

Telif Hakkında

Yazarlar dergide yayınlanan çalışmalarının telif hakkına sahiptirler ve çalışmaları Creative Commons Atıf-GayrıTicari 4.0 Uluslararası (CC BY-NC 4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.tr> olarak lisanslıdır. CC BY-NC 4.0 lisansı, eserin ticari kullanım dışında her boyut ve formatta paylaşılmasına, kopyalanmasına, çoğaltılmasına ve orijinal esere uygun şekilde atıfta bulunmak kaydıyla yeniden düzenleme, dönüştürme ve eserin üzerine inşa etme dâhil adapte edilmesine izin verir.

Makale Hazırlama

Makaleler, ICMJE-Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals (updated in December 2015 - <http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>) ile uyumlu olarak hazırlanmalıdır. Randomize çalışmalar CONSORT, gözlemsel çalışmalar STROBE, tanısal değerli çalışmalar STARD, sistematik derleme ve meta-analizler PRISMA, hayvan deneyli çalışmalar ARRIVE ve randomize olmayan davranış ve halk sağlığıyla ilgili çalışmalar TREND kılavuzlarına uyumlu olmalıdır.

Makaleler sadece <https://dergipark.org.tr/tr/pub/sabiad> adresinde yer alan derginin online makale yükleme ve değerlendirme sistemi üzerinden gönderilebilir. Farklı mecralardan gönderilen makaleler değerlendirilmeye alınmayacaktır.

Gönderilen makalelerin dergi yazım kurallarına uygunluğu ilk olarak Yayıncılık Birimi tarafından kontrol edilecek, derginin yazım kurallarına uygun hazırlanmamış makaleleri teknik düzeltme talepleri ile birlikte yazarlarına geri gönderilecektir.

Yazar(lar)ın aşağıdakileri sunmaları gerekir:

Telif Hakları Formu

Kapak sayfası: Gönderilen tüm makalelerle birlikte ayrı bir kapak sayfası da gönderilmelidir. Bu sayfada;

- Makalenin Türkçe ve İngilizce başlığı ve 50 karakteri geçmeyen Türkçe ve İngilizce kısa başlığı,
- Yazarların isimleri, kurumları, eğitim dereceleri ve ORCID numaraları

- Finansal destek bilgisi ve diğer destek kaynakları hakkında detaylı bilgi,
- Sorumlu yazarın ismi, adresi, telefonu (cep telefonu dâhil), faks numarası ve e-posta adresi,
- Makale hazırlama sürecine katkıda bulunan ama yazarlık kriterlerini karşılamayan bireylerle ilgili bilgileri içermelidir.

Özet: Editöre Mektup türündeki yazılar dışında kalan tüm makalelerin Türkçe ve İngilizce özetleri olmalıdır. Özgün Araştırma makalelerinin özetleri “Amaç”, “Gereç ve Yöntem”, “Bulgular” ve “Sonuç” alt başlıklarını içerecek biçimde hazırlanmalıdır. Olgu sunumu ve derleme türündeki yazıların Özet bölümlerinde alt başlıklar yazılmamalıdır.

Anahtar Sözcükler: Tüm makaleler en az 3 en fazla 6 anahtar kelimeyle birlikte gönderilmeli, anahtar sözcükler özetin hemen altına yazılmalıdır. Kısaltmalar anahtar sözcük olarak kullanılmamalıdır. Anahtar sözcükler National Library of Medicine (NLM) tarafından hazırlanan Medical Subject Headings (MeSH) veritabanından seçilmelidir.

Makale Türleri

Özgün Araştırma: Ana metin; “Giriş”, “Gereç ve Yöntem”, “Bulgular” ve “Tartışma” alt başlıklarından oluşmalıdır.

Özgün Araştırmalarla ilgili sınırlandırmalar için lütfen Tablo 1’i inceleyiniz.

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

Birimler, uluslararası birim sistemi olan International System of Units (SI)’a uygun olarak hazırlanmalıdır.

Editöryel Yorum: Dergide yayınlanan bir araştırmanın, o konunun uzmanı olan veya üst düzeyde değerlendirme yapan bir hakem tarafından kısaca yorumlanması amacını taşımaktadır. Yazar(lar), dergi tarafından seçilip davet edilir. Özet, anahtar sözcük, tablo, şekil, resim ve diğer görseller kullanılmaz.

Davetli Derleme: Konunun alanında birikimi olan ve bu birikimleri uluslararası literatüre yayın ve atıf sayısı olarak yansıtmış uzmanlar tarafından hazırlanmış yazılar değerlendirmeye alınır. Yazar(lar) dergi tarafından da davet edilebilir. Bir bilgi ya da konunun klinikte kullanılması için vardığı son düzeyi anlatan, tartışan, değerlendiren ve gelecekte yapılacak çalışmalara yön veren bir düzeyde hazırlanmalıdır. Ana metin; “Giriş”, “Klinik ve Araştırma Etkileri” ve “Sonuç” bölümlerini içermelidir. Derleme türündeki yazılarla ilgili kısıtlamalar için lütfen Tablo 1’i inceleyiniz.

Olgu Sunumu: Olgu sunumları için sınırlı sayıda yer ayrılmakta ve sadece ender görülen, tanı ve tedavisi güç olan hastalıklarla ilgili, yeni bir yöntemi tarif eden, kitaplarda yer verilmeyen bilgiler yansıtan, ilgi çekici ve öğretici özelliği olan olgular yayına kabul edilmektedir. Ana metin; “Giriş”, “Olgu Sunumu”, “Tartışma” ve “Sonuç” alt başlıklarını içermelidir. Olgu Sunumlarıyla ilgili kısıtlamalar için lütfen Tablo 1’i inceleyiniz.

Editöre Mektup: Yazar(lar), dergide daha önce yayınlanan bir yazının önemini, gözden kaçan bir ayrıntısını ya da eksik kısımlarını tartışabilir. Ayrıca derginin kapsamına giren alanlarda okurların ilgisini çekebilecek konular ve özellikle eğitici olgular hakkında da Editöre Mektup formatında yazılar yayınlanabilir. Okuyucular da yayınlanan yazılar hakkında yorum formatında Editöre Mektup yazılarını sunabilirler. Bu metinde, özet, anahtar sözcük, tablo, şekil, resim ve diğer görseller kullanılmaz. Ana metin alt başlıksız olmalıdır. Hakkında mektup yazılan yayına ilişkin cilt, yıl, sayı, sayfa numaraları, yazı başlığı ve yazar(lar)ın adları açık bir şekilde belirtilmeli, kaynak listesinde yazılmalı ve metin içinde atıfta bulunulmalıdır.

Tablolar

Tablolar ana dosyaya eklenmeli, kaynak listesi

sonrasında sunulmalı, ana metin içerisindeki geçiş sıralarına uygun olarak numaralandırılmalıdır. Tabloların üzerinde tanımlayıcı bir başlık yer almalı ve tablo içerisinde geçen kısaltmaların açılımları tablo altına yazılmalıdır. Tablolar Microsoft Office Word dosyası içinde “Tablo Ekle” komutu kullanılarak hazırlanmalı ve kolay okunabilir şekilde düzenlenmelidir. Tablolarda sunulan veriler ana metinde sunulan verilerin tekrarı olmamalı; verileri destekleyici nitelikte olmalıdır.

| Tablo 1: Makale türleri için kısıtlamalar | | | | | |
|---|---------------|--------------------|---------------|--------------|----------------------------|
| Makale türü | Sözcük limiti | Özet sözcük limiti | Kaynak limiti | Tablo limiti | Resim limiti |
| Özgün Araştırma | 3500 | 250 (Alt başlıklı) | 50 | 6 | 7 ya da toplamda 15 resim |
| Davetli Derleme | 5000 | 250 | 50 | 6 | 10 ya da toplamda 20 resim |
| Olgu Sunumu | 1000 | 200 | 15 | Tablo yok | 10 ya da toplamda 20 resim |
| Editöre Mektup | 500 | Uygulanamaz | 5 | Tablo yok | Resim yok |

Resim ve Resim Altyazıları

Resimler, grafikler ve fotoğraflar (TIFF ya da JPEG formatında) ayrı dosyalar halinde sisteme yüklenmelidir. Görseller bir Word dosyası dokümanı ya da ana metin içerisinde sunulmamalıdır. Alt birimlere ayrılan görseller olduğunda, alt birimler tek bir görsel içerisinde verilmemelidir. Her bir alt birim sisteme, ayrı bir dosya olarak yüklenmelidir. Resimler alt birimleri belli etmek amacıyla etiketlenmemelidir (a, b, c vb.). Resimlerde altyazıları desteklemek için kalın ve ince oklar, ok başı, yıldızlar, asteriksler ve benzer işaretler kullanılabilir. Makalenin geri kalanında olduğu gibi resimlerde kör olmalıdır. Bu sebeple, resimlerde yer alan kişi ve kurum bilgilerine kesinlikle yer verilmemelidir.. Görsellerin minimum çözünürlüğü 300 DPI olmalıdır. Değerlendirme sürecindeki aksaklıkları önlemek için gönderilen tüm görsellerin çözünürlüğü net ve büyük boyutlu (minimum boyutlar 100x100 mm) olmalıdır. Resim altyazıları ana metnin sonunda yer almalıdır.

Makale içerisinde geçen tüm kısaltmalar, ana metin ve özetinde ayrı ayrı olmak üzere ilk kez kullanıldıkları yerde açıklanarak kısaltma açıklamanın ardından parantez içerisinde verilmelidir.

Ana metin içerisinde cihaz, yazılım, ilaç vb. ürünlerden bahsedildiğinde ürünün ismi, üreticisi, üretildiği şehir ve ülke bilgisini içeren tüm bilgiler parantez içinde verilmelidir; “Discovery St PET/CT scanner (General Electric, Milwaukee, WI, USA)”.

Tüm kaynaklar, tablolar ve resimlere ana metin içerisinde uygun olan yerlere sırayla numara verilerek atıf yapılmalıdır.

Özgün araştırmaların kısıtlılıkları, engelleri ve yetersizlikleri Sonuç paragrafı öncesi “Tartışma” bölümünde yer almalıdır.

Revizyonlar

Yazar(lar) makalelerin revizyon dosyalarını gönderirken, ana metin üzerinde yaptıkları değişiklikleri işaretlemeli, ek olarak, hakemler tarafından öne sürülen önerilerle ilgili notlarını “Hakemlere Cevap” dosyasında göndermelidir. Hakemlere Cevap dosyasında her bir hakemin yorumunun ardından yazarın cevabı gelmeli ve değişikliklerin yapıldığı satır numaraları da ayrıca belirtilmelidir. Revize edilen makaleler karar mektubunu takip eden 30 gün içerisinde dergiye gönderilmelidir. Makalenin revize versiyonu belirtilen süre içerisinde yüklenemezse, revizyon seçeneği iptal olabilir. Yazar(lar) ın revizyon için ek süreye ihtiyaç duyması durumunda uzatma taleplerini ilk 30 gün sona ermeden dergiye iletmeleri gerekmektedir.

Yayına kabul edilen makaleler dil bilgisi, noktalama ve biçim açısından kontrol edilir. Yayın süreci tamamlanan makaleler, yayın planına dâhil edildikleri sayıyla birlikte yayınlanmadan önce erken çevrimiçi formatında dergi web sitesinde yayına alınır. Kabul edilen makalelerin baskıya hazır PDF dosyaları sorumlu yazarlara iletilir ve yayın onaylarının 2 gün içerisinde dergiye iletilmesi istenir.

Kaynaklar

Atıf yapılırken en son ve en güncel yayınlar tercih edilmelidir. Atıf yapılan erken çevrimiçi makalelerin DOI numaraları mutlaka sağlanmalıdır. Kaynakların doğruluğundan yazar(lar) sorumludur. Dergi isimleri Index Medicus/Medline/PubMed’de yer alan dergi kısaltmaları ile uyumlu olarak kısaltılmalıdır. Altı ya da daha az yazar olduğunda tüm yazar isimleri listelenmelidir. Eğer 7 ya da daha fazla yazar varsa ilk 6 yazar yazıldıktan sonra “et al.” yazılmalıdır. Ana metinde kaynaklara atıf yapılırken parantez içinde Arap rakamları kullanılmalıdır. Farklı yayın türleri için kaynak stilleri aşağıdaki örneklerde sunulmuştur:

Dergi makalesi: Blasco V, Colavolpe JC, Antonini F, Zieleskiewicz L, Nafati C, Albanèse J, et al. Long-term outcome in kidney recipients from donors treated with hydroxyethylstarch 130/0.4 and hydroxyethylstarch 200/0.6. *Br J Anaesth* 2015;115(5):797-8.

Kitap bölümü: Sherry S. Detection of thrombi. In: Strauss HE, Pitt B, James AE, editors. *Cardiovascular Medicine*. St Louis: Mosby; 1974.p.273-85.

Tek yazarlı kitap: Cohn PF. Silent myocardial ischemia and infarction. 3rd ed. New York: Marcel Dekker; 1993.

Yazar olarak editör(ler): Norman IJ, Redfern SJ, editors. *Mental health care for elderly people*. New York: Churchill Livingstone; 1996.

Toplantıda sunulan yazı: Bengissson S, Sothemin BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. *MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics*; 1992 Sept 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992.p.1561-5.

Bilimsel veya teknik rapor: Smith P, Golladay K. Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report. Dallas (TX)

Dept. of Health and Human Services (US). Office of Evaluation and Inspections: 1994 Oct. Report No: HHSIGOE 169200860.

Tez: Kaplan SI. Post-hospital home health care: the elderly access and utilization (dissertation). St. Louis (MO): Washington Univ. 1995.

Yayına kabul edilmiş ancak henüz basılmamış yazılar: Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Engl J Med In press 1997.

Erken Çevrimiçi Yayın: Aksu HU, Ertürk M, Gül M, Uslu N. Successful treatment of a patient with pulmonary embolism and biatrial thrombus. Anadolu Kardiyol Derg 2012 Dec 26. doi: 10.5152/akd.2013.062. [Epub ahead of print]

Elektronik formatta yayınlanan yazı: Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis (serial online) 1995 Jan-Mar (cited 1996 June 5): 1(1): (24 screens). Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/cid.htm>.

Son Kontrol Listesi

- **Editöre mektup**
 - Makalenin türü
 - Başka bir dergiye gönderilmemiş olduğu bilgisi
 - Sponsor veya ticari bir firma ile ilişkisi (varsa belirtiniz)
 - İstatistik kontrolünün yapıldığı (araştırma makaleleri için)
 - Kaynakların NLM referans sistemine göre belirtildiği
- Yazar Formu
- Telif Hakkı Anlaşması Formu
- Makale kapak sayfası
 - Makalenin kategorisi
 - Makalenin Türkçe ve İngilizce başlığı
 - Makalenin Türkçe ve İngilizce kısa başlığı
 - Yazarların ismi soyadı, unvanları ve bağlı oldukları kurumlar (üniversite ve fakülte bilgisinden sonra şehir ve ülke bilgisi de yer almalıdır), e-posta adresleri
 - Sorumlu yazarın e-posta adresi, açık yazışma adresi, iş telefonu, GSM, faks no'su
 - Tüm yazarların ORCID'leri
- Makale ana metin dosyasında olması gerekenler
 - Makalenin Türkçe ve İngilizce başlığı
 - Özetler 250 kelime Türkçe ve 250 kelime İngilizce, (olgu sunumlarında özet 200 kelime Türkçe ve 200 kelime İngilizce)
 - Anahtar Kelimeler: 3 -6 Türkçe ve 3 -6 İngilizce
 - Makale ana metin bölümleri
 - Kaynaklar
 - Teşekkür (varsa belirtiniz)
 - Tablolar-Resimler, Şekiller (başlık, tanım ve alt yazılarıyla)

Aims and Scope

Journal of Advanced Research in Health Sciences (JARHS) is an international, scientific, open access periodical published in accordance with independent, unbiased, and double-blinded peer-review principles. The journal is the official publication of Institute of Health Sciences of İstanbul University and it is published every 4 months on February, June, and October. The publication languages of the journal are Turkish and English.

Journal of Advanced Research in Health Sciences (JARHS) aims to contribute to the literature by publishing manuscripts at the highest scientific level on all fields of medicine. The journal publishes original experimental and clinical research articles, reports of rare cases, reviews that contain sufficient amount of source data conveying the experiences of experts in a particular field, and letters to the editors as well as brief reports on a recently established method or technique or preliminary results of original studies related to all disciplines of medicine from all countries.

Editorial Policies and Peer Review Process

The editorial and publication processes of the journal are shaped in accordance with the guidelines of the International Council of Medical Journal Editors (ICMJE), the World Association of Medical Editors (WAME), the Council of Science Editors (CSE), the Committee on Publication Ethics (COPE), the European Association of Science Editors (EASE), and National Information Standards Organization (NISO). The journal conforms to the Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice).

Originality, high scientific quality, and citation potential are the most important criteria for a manuscript to be accepted for publication. Manuscripts submitted for evaluation should not have been previously presented or already published in an electronic or printed medium. The journal should be informed of manuscripts that have been submitted to another journal for evaluation and rejected for publication. The submission of previous reviewer reports will expedite the evaluation process. Manuscripts that have been presented in a meeting should be submitted with detailed information on the organization, including the name, date, and location of the organization.

Manuscripts submitted to Journal of Advanced

Research in Health Sciences will go through a double-blind peer-review process. Each submission will be reviewed by at least two external, independent peer reviewers who are experts in their fields in order to ensure an unbiased evaluation process. The editorial board will invite an external and independent editor to manage the evaluation processes of manuscripts submitted by editors or by the editorial board members of the journal. The Editor in Chief is the final authority in the decision-making process for all submissions.

An approval of research protocols by the Ethics Committee in accordance with international agreements (World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects," amended in October 2013, www.wma.net) is required for experimental, clinical, and drug studies and for some case reports. If required, ethics committee reports or an equivalent official document will be requested from the author(s). For manuscripts concerning experimental research on humans, a statement should be included that shows that written informed consent of patients and volunteers was obtained following a detailed explanation of the procedures that they may undergo. For studies carried out on animals, the measures taken to prevent pain and suffering of the animals should be stated clearly. Information on patient consent, the name of the ethics committee, and the ethics committee approval number should also be stated in the Materials and Methods section of the manuscript. It is the author(s)' responsibility to carefully protect the patients' anonymity. For photographs that may reveal the identity of the patients, signed releases of the patient or of their legal representative should be enclosed.

All submissions are screened by a similarity detection software (iThenticate by CrossCheck).

In the event of alleged or suspected research misconduct, e.g., plagiarism, citation manipulation, and data falsification/fabrication, the Editorial Board will follow and act in accordance with COPE guidelines.

Each individual listed as an author should fulfill the authorship criteria recommended by the International Committee of Medical Journal Editors

(ICMJE - www.icmje.org). The ICMJE recommends that authorship be based on the following 4 criteria:

1. Substantial contributions to the conception or

- design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND
2. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND
 3. Final approval of the version to be published; AND
 4. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

In addition to being accountable for the parts of the work he/she has done, an author should be able to identify which co-authors are responsible for specific other parts of the work. In addition, authors should have confidence in the integrity of the contributions of their co-authors.

All those designated as authors should meet all four criteria for authorship, and all who meet the four criteria should be identified as authors. Those who do not meet all four criteria should be acknowledged in the title page of the manuscript.

The Editorial Board of the journal handles all appeal and complaint cases within the scope of COPE guidelines. In such cases, authors should get in direct contact with the editorial office regarding their appeals and complaints. When needed, an ombudsperson may be assigned to resolve cases that cannot be resolved internally. The Editor in Chief is the final authority in the decision-making process for all appeals and complaints.

Journal of Advanced Research in Health Sciences requires each submission to be accompanied by a Copyright Agreement Form (available for download at <https://dergipark.org.tr/en/pub/sabiad>). When using previously published content, including figures, tables, or any other material in both print and electronic formats, authors must obtain permission from the copyright holder. Legal, financial and criminal liabilities in this regard belong to the author(s).

Statements or opinions expressed in the manuscripts published in Journal of Advanced Research in Health Sciences reflect the views of the author(s) and not the opinions of the editors, the editorial board, or the publisher; the editors, the editorial board, and the publisher disclaim any responsibility or liability for such materials. The final responsibility in regard to the published content rests with the authors.

Publication Policy

The journal is committed to upholding the highest standards of publication ethics and pays regard to Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing published by the Committee on Publication Ethics (COPE), the Directory of Open Access Journals (DOAJ), the Open Access Scholarly Publishers Association (OASPA), and the World Association of Medical Editors (WAME) on <https://publicationethics.org/resources/guidelines-new/principles-transparency-and-best-practice-scholarly-publishing>

The subjects covered in the manuscripts submitted to the Journal for publication must be in accordance with the aim and scope of the Journal. Only those manuscripts approved by every individual author and that were not published before in or sent to another journal, are accepted for evaluation.

Changing the name of an author (omission, addition or order) in papers submitted to the Journal requires written permission of all declared authors.

Plagiarism, duplication, fraud authorship/denied authorship, research/data fabrication, salami slicing/salami publication, breaching of copyrights, prevailing conflict of interest are unethical behaviors. All manuscripts not in accordance with the accepted ethical standards will be removed from the publication. This also contains any possible malpractice discovered after the publication.

Plagiarism

Submitted manuscripts that pass preliminary control are scanned for plagiarism using iThenticate software. If plagiarism/self-plagiarism will be found authors will be informed. Editors may resubmit manuscript for similarity check at any peer-review or production stage if required. High similarity scores may lead to rejection of a manuscript before and even after acceptance. Depending on the type of article and the percentage of similarity score taken from each article, the overall similarity score is generally expected to be less than 15 or 20%.

Double Blind Peer-Review

After plagiarism check, the eligible ones are evaluated by the editors-in-chief for their originality, methodology, the importance of the subject covered and compliance with the journal scope. The editor provides a fair double-blind peer review of the submitted articles and hands over the papers matching

the formal rules to at least two national/international referees for evaluation and gives green light for publication upon modification by the authors in accordance with the referees' claims.

Open Access Statement

The journal is an open access journal and all content is freely available without charge to the user or his/her institution. Except for commercial purposes, users are allowed to read, download, copy, print, search, or link to the full texts of the articles in this journal without asking prior permission from the publisher or the author. This is in accordance with the BOAI definition of open access.

The open access articles in the journal are licensed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0) license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.en>)

Copyright Notice

Authors publishing with the journal retain the copyright to their work licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Manuscript Preparation

The manuscripts should be prepared in accordance with ICMJE-Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals (updated in December 2015 - <http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>). Author(s) are required to prepare manuscripts in accordance with the CONSORT guidelines for randomized research studies, STROBE guidelines for observational original research studies, STARD guidelines for studies on diagnostic accuracy, PRISMA guidelines for systematic reviews and meta-analysis, ARRIVE guidelines for experimental animal studies, and TREND guidelines for non-randomized public behavior.

Manuscripts can only be submitted through the journal's online manuscript submission and evaluation system, available at <https://dergipark.org.tr/tr/pub/sabiad> Manuscripts submitted via any other medium will not be evaluated.

Manuscripts submitted to the journal will first go through a technical evaluation process where the

editorial office staff will ensure that the manuscript has been prepared and submitted in accordance with the journal's guidelines. Submissions that do not conform to the journal's guidelines will be returned to the submitting author with technical correction requests.

Author(s) are required to submit the following:

• Copyright Agreement Form,

Title page: A separate title page should be submitted with all submissions and this page should include:

- The full title of the manuscript as well as a short title (running head) of no more than 50 characters,
- Name(s), affiliations, highest academic degree(s) and ORCID ID(s) of the author(s),
- Grant information and detailed information on the other sources of support,
- Name, address, telephone (including the mobile phone number) and fax numbers, and email address of the corresponding author,
- Acknowledgment of the individuals who contributed to the preparation of the manuscript but who do not fulfil the authorship criteria.

Abstract: A Turkish and an English abstract should be submitted with all submissions except for Letters to the Editor. Submitting a Turkish abstract is not compulsory for international authors. The abstract of Original Articles should be structured with subheadings (Objective, Materials and Methods, Results, and Conclusion). Abstracts of Case Reports and Reviews should be unstructured. Please check Table 1 below for word count specifications.

Keywords: Each submission must be accompanied by a minimum of three to a maximum of six keywords for subject indexing at the end of the abstract. The keywords should be listed in full without abbreviations. The keywords should be selected from the National Library of Medicine, Medical Subject Headings database (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>).

Manuscript Types

Original Articles: This is the most important type of article since it provides new information based on original research. The main text of original articles should be structured with Introduction, Material and Method, Results, Discussion, and Conclusion

| Type of manuscript | Word limit | Abstract word limit | Reference limit | Table limit | Figure limit |
|------------------------|------------|---------------------|-----------------|-------------|--------------------------|
| Original Article | 3500 | 250 (Structured) | 50 | 6 | 7 or total of 15 images |
| Invited Review Article | 5000 | 250 | 50 | 6 | 10 or total of 20 images |
| Case Report | 1000 | 200 | 15 | No tables | 10 or total of 20 images |
| Technical Note | 1500 | No abstract | 15 | No tables | 10 or total of 20 images |
| Letter to the Editor | 500 | No abstract | 5 | No tables | No media |

subheadings. Please check Table 1 for the limitations for Original Articles.

Statistical analysis to support conclusions is usually necessary. Statistical analyses must be conducted in accordance with international statistical reporting standards (Altman DG, Gore SM, Gardner MJ, Pocock SJ. Statistical guidelines for contributors to medical journals. *Br Med J* 1983; 7; 1489-93). Information on statistical analyses should be provided with a separate subheading under the Materials and Methods section and the statistical software that was used during the process must be specified.

Units should be prepared in accordance with the International System of Units (SI).

Editorial Comments: Editorial comments aim to provide a brief critical commentary by reviewers with expertise or with high reputation in the topic of the research article published in the journal. Authors are selected and invited by the journal to provide such comments. Abstract, Keywords, and Tables, Figures, Images, and other media are not included.

Invited Review Articles: Reviews prepared by authors who have extensive knowledge on a particular field and whose scientific background has been translated into a high volume of publications with a high citation potential are welcomed. These authors may even be invited by the journal. Reviews should describe, discuss, and evaluate the current level of knowledge of a topic in clinical practice and should guide future studies. The main text should contain Introduction, Clinical and Research Consequences, and Conclusion sections. Please check Table 1 for the limitations for Review Articles.

Case Reports: There is limited space for case reports in the journal and reports on rare cases or conditions that constitute challenges in diagnosis and treatment,

those offering new therapies or revealing knowledge not included in the literature, and interesting and educative case reports are accepted for publication. The text should include Introduction, Case Presentation, Discussion, and Conclusion subheadings. Please check Table 1 for the limitations for Case Reports.

Letters to the Editor: This type of manuscript discusses important parts, overlooked aspects, or lacking parts of a previously published article. Articles on subjects within the scope of the journal that might attract the readers' attention, particularly educative cases, may also be submitted in the form of a "Letter to the Editor." Readers can also present their comments on the published manuscripts in the form of a "Letter to the Editor." Abstract, Keywords, and Tables, Figures, Images, and other media should not be included. The text should be unstructured. The manuscript that is being commented on must be properly cited within this manuscript.

Tables should be included in the main document, presented after the reference list, and they should be numbered consecutively in the order they are referred to within the main text. A descriptive title must be placed above the tables. Abbreviations used in the tables should be defined below the tables by footnotes (even if they are defined within the main text). Tables should be created using the "insert table" command of the word processing software and they should be arranged clearly to provide easy reading. Data presented in the tables should not be a repetition of the data presented within the main text but should be supporting the main text.

Figures and Figure Legends

Figures, graphics, and photographs should be submitted as separate files (in TIFF or JPEG format) through the submission system. The files should not

be embedded in a Word document or the main document. When there are figure subunits, the subunits should not be merged to form a single image. Each subunit should be submitted separately through the submission system. Images should not be labeled (a, b, c, etc.) to indicate figure subunits. Thick and thin arrows, arrowheads, stars, asterisks, and similar marks can be used on the images to support figure legends. Like the rest of the submission, the figures too should be blind. Any information within the images that may indicate an individual or institution should be blinded. The minimum resolution of each submitted figure should be 300 DPI. To prevent delays in the evaluation process, all submitted figures should be clear in resolution and large in size (minimum dimensions: 100 × 100 mm). Figure legends should be listed at the end of the main document.

All acronyms and abbreviations used in the manuscript should be defined at first use, both in the abstract and in the main text. The abbreviation should be provided in parentheses following the definition.

When a drug, product, hardware, or software program is mentioned within the main text, product information, including the name of the product, the producer of the product, and city and the country of the company (including the state if in USA), should be provided in parentheses in the following format: "Discovery St PET/CT scanner (General Electric, Milwaukee, WI, USA)"

All references, tables, and figures should be referred to within the main text, and they should be numbered consecutively in the order they are referred to within the main text.

Limitations, drawbacks, and the shortcomings of original articles should be mentioned in the Discussion section before the conclusion paragraph.

Revisions

When submitting a revised version of a paper, the author(s) must submit a detailed "Response to the reviewers" that states point by point how each issue raised by the reviewers has been covered and where it can be found (each reviewer's comment, followed by the author's reply and line numbers where the changes have been made) as well as an annotated copy of the main document. Revised manuscripts must be submitted within 30 days from the date of the decision letter. If the revised version of the manuscript is not submitted within the allocated time, the revision option may be canceled. If the submitting author(s)

believe that additional time is required, they should request this extension before the initial 30-day period is over.

Accepted manuscripts are copy-edited for grammar, punctuation, and format. Once the publication process of a manuscript is completed, it is published online on the journal's webpage as an ahead-of-print publication before it is included in its scheduled issue. A PDF proof of the accepted manuscript is sent to the corresponding author(s) and their publication approval is requested within 2 days of their receipt of the proof.

References

While citing publications, preference should be given to the latest, most up-to-date publications. If an ahead-of-print publication is cited, the DOI number should be provided. Authors are responsible for the accuracy of references. Journal titles should be abbreviated in accordance with the journal abbreviations in Index Medicus/ MEDLINE/PubMed. When there are six or fewer authors, all authors should be listed. If there are seven or more authors, the first six authors should be listed followed by "et al." In the main text of the manuscript, references should be cited using Arabic numbers in parentheses. The reference styles for different types of publications are presented in the following examples.

Journal Article: Blasco V, Colavolpe JC, Antonini F, Zieleskiewicz L, Nafati C, Albanèse J, et al. Long-term outcome in kidney recipients from donor not treated with hydroxyethylstarch 130/0.4 and hydroxyethylstarch 200/0.6. *Br J Anaesth* 2015;115(5):797-8.

Book Section: Suh KN, Keystone JS. Malaria and babesiosis. Gorbach SL, Barlett JG, Blacklow NR, editors. *Infectious Diseases*. Philadelphia: Lippincott Williams; 2004.p.2290-308.

Books with a Single Author: Sweetman SC. *Martindale the Complete Drug Reference*. 34th ed. London: Pharmaceutical Press; 2005.

Editor(s) as Author: Huizing EH, de Groot JAM, editors. *Functional reconstructive nasal surgery*. Stuttgart-New York: Thieme; 2003.

Conference Proceedings: Bengissson S, Sothemin BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. *MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical*

Informatics; 1992 Sept 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. pp.1561-5.

Scientific or Technical Report: Cusick M, Chew EY, Hoogwerf B, Agrón E, Wu L, Lindley A, et al. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Risk factors for renal replacement therapy in the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS), Early Treatment Diabetic Retinopathy Study KidneyInt: 2004. Report No: 26.

Thesis: Yılmaz B. Ankara Üniversitesindeki Öğrencilerin Beslenme Durumları, Fiziksel Aktivitelere ve Beden Kitle İndeksleri Kan Lipidleri Arasındaki İlişkiler. H.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 2007.

Manuscripts Accepted for Publication, Not Published Yet: Slots J. The microflora of black stain on human primary teeth. Scand J Dent Res. 1974.

Epub Ahead of Print Articles: Cai L, Yeh BM, Westphalen AC, Roberts JP, Wang ZJ. Adult living donor liver imaging. Diagn Interv Radiol. 2016 Feb 24. doi: 10.5152/dir.2016.15323. [Epub ahead of print].

Manuscripts Published in Electronic Format: Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis (serial online) 1995 Jan-Mar (cited 1996 June 5): 1(1): (24 screens). Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/dlEID/cid.htm>.

Submission Checklist

- **Cover letter to the editor**
 - The category of the manuscript
 - Confirming that “the paper is not under consideration for publication in another journal”.
 - Including disclosure of any commercial or financial involvement.
 - Confirming that the statistical design of the research article is reviewed.
 - Confirming that the references cited in the text and listed in the references section are in line with NLM.
- **Copyright Agreement Form**
- **Author Form**
- **Permission of previous published material if used in the present manuscript**
 - Acknowledgement of the study “in accordance with the ethical standards of the responsible

committee on human experimentation (institutional and national) and with the Helsinki Declaration.

- Statement that informed consent was obtained after the procedure(s) had been fully explained. Indicating whether the institutional and national guide for the care and use of laboratory animals was followed as in “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”.

• Title page

- The category of the manuscript
- The title of the manuscript both in Turkish and in English
- Short title (running head) both in Turkish and in English
- All authors’ names and affiliations (institution, faculty/department, city, country), e-mail addresses
- Corresponding author’s email address, full postal address, telephone and fax number
- ORCIDs of all authors.

• Main Manuscript Document

- The title of the manuscript both in Turkish and in English
- Abstracts both in Turkish and in English (250 words). (Case report’s abstract limit is 200 words)
- Key words: 3 - 6 words both in Turkish and in English
- Main article sections
- References
- Acknowledgement (if exists)
- All tables, illustrations (figures) (including title, description, footnotes)



Istanbul University
İstanbul Üniversitesi

Dergi Adı: Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi
Journal Name: Journal of Advanced Research in Health Sciences

Telif Hakkı Anlaşması Formu
Copyright Agreement Form

| | |
|---|--|
| Sorumlu Yazar <i>Responsible/Corresponding Author</i> | |
| Makalenin Başlığı <i>Title of Manuscript</i> | |
| Kabul Tarihi <i>Acceptance Date</i> | |
| Yazarların Listesi <i>List of Authors</i> | |

| Sıra No | Adı-Soyadı Name - Surname | E-Posta E-Mail | İmza Signature | Tarih Date |
|---------|------------------------------|-------------------|-------------------|---------------|
| 1 | | | | |
| 2 | | | | |
| 3 | | | | |
| 4 | | | | |
| 5 | | | | |

| | |
|--|--|
| Makalenin türü (Araştırma makalesi, Derleme, v.b.) <i>Manuscript Type (Research Article, Review, etc.)</i> | |
|--|--|

| | |
|---|--|
| Sorumlu Yazar: <i>Responsible/Corresponding Author:</i> | |
|---|--|

| | | |
|---------------------------|---------------------------------------|--|
| Çalıştığı kurum | <i>University/company/institution</i> | |
| Posta adresi | <i>Address</i> | |
| E-posta | <i>E-mail</i> | |
| Telefon no; GSM no | <i>Phone; mobile phone</i> | |

Yazar(lar) aşağıdaki hususları kabul eder::
Sunulan makalenin yazar(lar)ın orijinal çalışması olduğunu ve intihal yapmadıklarını.
Tüm yazarların bu çalışmaya aslı olarak katılmış olduklarını ve bu çalışma için her türlü sorumluluğu aldıklarını,
Tüm yazarların sunulan makalenin son halini gördüklerini ve onayladıklarını,
Makalenin başka bir yerde basılmadığını veya basılmak için sunulmadığını,
Makalede bulunan metin, şekillerin ve dokümanların diğer şahıslara ait olan Telif Haklarını ihlal etmediğini kabul ve taahhüt ederler.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ'nin bu fikri eseri, Creative Commons Atıf-GayriTicari 4.0 Uluslararası (CC BY-NC 4.0) lisansı ile yayınlamasına izin verirler. Creative Commons Atıf-GayriTicari 4.0 Uluslararası (CC BY-NC 4.0) lisansı, eserin ticari kullanım dışında her boyut ve formatta paylaşılmasına, kopyalanmasına, çoğaltılmasına ve orijinal esere uygun şekilde atıfta bulunmak kaydıyla yeniden düzenleme, dönüştürme ve eserin üzerine inşa etme dâhil adapte edilmesine izin verir.
Yazar(lar)ın veya varsa yazar(lar)ın işvereninin telif dâhil patent hakları, fikri mülkiyet hakları saklıdır.
Ben/Biz, telif hakkı ihlali nedeniyle üçüncü şahıslara vuku bulacak hak talebi veya açılacak davalarda İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ ve Dergi Editörlerinin hiçbir sorumluluğuna imdadını, tüm sorumluluğuna yazarlara ait olduğunu taahhüt ederim/ederiz.
Ayrıca Ben/Biz makalede hiçbir suç unsuru veya kanuna aykırı ifade bulunmadığını, araştırma yapılırken kanuna aykırı herhangi bir malzeme ve yöntem kullanılmadığını taahhüt ederim/ederiz.
Bu Telif Hakkı Anlaşması Formu tüm yazarlar tarafından imzalanmalıdır/onaylanmalıdır. Form farklı kurumlarda bulunan yazarlar tarafından ayrı kopyalar halinde doldurularak sunulabilir. Ancak, tüm imzaların orijinal veya kanıtlanabilir şekilde onaylı olması gerekir.

The author(s) agrees that:
The manuscript submitted is his/her/their own original work and has not been plagiarized from any prior work,
all authors participated in the work in a substantive way and are prepared to take public responsibility for the work,
all authors have seen and approved the manuscript as submitted,
the manuscript has not been published and is not being submitted or considered for publication elsewhere,
the text, illustrations, and any other materials included in the manuscript do not infringe upon any existing copyright or other rights of anyone.
ISTANBUL UNIVERSITY will publish the content under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0) license that gives permission to copy and redistribute the material in any medium or format other than commercial purposes as well as remix, transform and build upon the material by providing appropriate credit to the original work.
The Contributor(s) or, if applicable the Contributor's Employer, retain(s) all proprietary rights in addition to copyright, patent rights.
I/We indemnify ISTANBUL UNIVERSITY and the Editors of the Journals, and hold them harmless from any loss, expense or damage occasioned by a claim or suit by a third party for copyright infringement, or any suit arising out of any breach of the foregoing warranties as a result of publication of my/our article. I/We also warrant that the article contains no libelous or unlawful statements and does not contain material or instructions that might cause harm or injury.
This Copyright Agreement Form must be signed/ratified by all authors. Separate copies of the form (completed in full) may be submitted by authors located at different institutions; however, all signatures must be original and authenticated.

| | | |
|---|-------------------------|---------------------|
| Sorumlu Yazar: <i>Responsible/Corresponding Author:</i> | İmza / Signature | Tarih / Date |
| | |/...../..... |

