



TIP FAKÜLTESİ
Faculty of Medicine

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ / ATATÜRK UNIVERSITY

CERRAHİ TIP BİLİMLERİ DERGİSİ

**ATATÜRK UNIVERSITY
FACULTY OF MEDICINE
JOURNAL OF SURGICAL
MEDICAL SCIENCES**

e-ISSN: 2822-3519

Temmuz / July 2022

Cilt/Volume 01

Sayı/Issue 02

Editörden Okura

Saygıdeğer Okurlar;

Coşku ve istekle başladığımız yayın hayatımıza kararlılıkla devam ediyoruz. Dergimizin ikinci sayısını da başarılı bir şekilde tamamladık. Bu sayımızda da bilimsel literatüre katkı sağlayan toplam 5 araştırma makalesi, 3 olgu sunumu ve bir editöre mektup yayınladık. Dengeli, tutarlı ve başarılı bir şekilde devam ettirdiğimiz yayın sürecinin içindeyiz ve Atatürk Üniversitesi Cerrahi bilimler dergisi olarak bizlerde artık *Dergipark* ailesinde yayın hayatımıza devam edeceğiz.

A.Ü.Cerrahi Tıp Bilimleri dergimizin Temmuz sayısını ilginize sunmaktan mutluyuz.

Ameliyat öncesi ozon gazının flep canlılığı üzerindeki etkisini bulacağınız makalemizin ve yine düşük akım anestezi uygulanan hastalarda orta akım anestezi uygulanan hastalara kıyasla daha düşük inhaler anestetik, daha düşük medikal gaz tüketimi olduğunu açıklayan makalemizin dikkatinizi çekeceğini düşünüyorum. Klinik çalışmalarınıza ışık tutacağını umduğumuz hepatosellüler karsinom, kolanjiosellüler karsinom ve kolon adenokarsinom ayırıcı tanısındaki immünohistokimyasal metodları ortaya koyan makalemizi ve subaraknoid kanama sonrası vazospazmın önlenmesine dair deneysel çalışmayı ilginize sunuyoruz. İntaplevral fibrinolitik tedavinin etkinliğini ortaya koyan çalışma, abdominal tüberküloz olgusunda tanı ve tedavi sürecini irdeleyen olgu sunumu, faktör 7 yetersizliği olan hastada laparoskopik histerektomi esnasında ortaya çıkan nadir komplikasyon olan postoperatif pulmoner emboli ve situs inversus totalis ile birlikte olan kolelitiazis olgusu literatür bilgileri eşliğinde sunulurken cerrahların ters anatomi ve alışkın olmadıkları elle çalışmadan dolayı karşılaştıkları zorlukları bulacağınız olgu sunumları çalışmalarınızda farkındalık oluşturacaktır.

Kan-Beyin Bariyerlerini muhteşem bir metafor ve sanatsal bir görsellikle ortaya koyan editöre mektubu şiir tadında okuyacağınızı düşünüyorum

Büyük emek ve titizlikle hazırlanmış tüm makalelerimizi ilgiyle okuyacağınızı umut ediyorum.

Bu sayımızda da tarafsız bir şekilde ortaya koydukları değerlendirmeleri ile destek veren hakemlerimize ve bu değerli bilimsel çalışmaların ve olguların sahibi araştırmacı hekim arkadaşlarımıza çok teşekkür ediyorum.

Doç Dr. Sevilay Akalp Özmen

Editör

Editör Kurulu

Baş Editor: Doç.Dr. Sevilay Özmen,
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı

Yardımcı Editör: Prof. Dr. Hakkı Ulutaş,
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı

Yardımcı Editör: Prof. Dr. Mehmet Dumlu Aydın,
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin Cerrahisi Anabilim Dalı

Yardımcı Editör: Prof. Dr. Mine Gürsaç Çelik,
Atatürk Üniveristesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı

Yardımcı Editör: Prof. Dr. Yakup Kumtepe,
Atatürk Üniveristesi Tıp Fakültesi,Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

Yardımcı Editör: Doç. Dr. Ali Ahiskalıoğlu,
Atatürk Üniveristesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı

Yardımcı Editör: Doç. Dr. Erkan Cem Çelik,
Atatürk Üniveristesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı

Yardımcı Editör: Doç. Dr. İlknur Çalık,
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

Yardımcı Editör: Doç. Dr. Ümit Arslan,
Atatürk Üniveristesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı

Yardımcı Editör: Doç. Dr. Pembe Oltulu,
Meram Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

Yardımcı Editör: Doç. Dr. Korhan Kılıç,
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim
Dalı

Yardımcı Editör: Doç. Dr. Erdem Karadeniz,
Atatürk Üniveristesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Yardımcı Editör: Doç. Dr. Ümit Arslan Nayki,
Erzincan İl Sağlık Müdürlüğü Binali Yıldırım Üniversitesi Mengücek Gazi
Eğitim ve Araştırma hastanesi

İstatistik Editörü: Dr. Öğr. Üyesi Kamber Kaşali Atatürk Üniveritesi Tıp
Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı

Dil Editörleri:

Arş.Gör. Dr. Numan Bulut, Atatürk Üniveritesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim
Dalı

Arş.Gör. Dr. Merve Zeynep Koday, Atatürk Üniveritesi Tıp Fakültesi Kulak
Burun Boğaz Anabilim Dalı

İÇİNDEKİLER

ARAŞTIRMA MAKALESİ

THE EFFECT OF OZONE MEDIATED PRECONDITIONING ON FLAP VIABILITY IN RATS: AN EXPERIMENTAL STUDY

OZON ARACILI ÖN KOŞULLANDIRMANIN SIÇANLARDA FLEP 22
YAŞAYABİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ: DENEYSEL BİR ÇALIŞMA

Abdulkerim OLGUN, Tahsin GÖRGÜLÜ, Ramazan GÜLER, Ahmet Eksal KARGI

NEW IMMUNOHISTOCHEMICAL METHODS IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA, CHOLANGIOCELLULAR CARCINOMA, AND COLON ADENOCARCINOMA METASTASES

HEPATOSELLÜLER KARSİNOM, KOLANJIOSELLÜLER KARSİNOM VE 29
KOLON ADENOKARSİNOM METASTAZLARININ AYIRICI TANISINDA İMMUNOHISTOKİMYASAL METODLAR

Hilal BALTA, Betül GÜNDOĞDU, Nesrin GÜRSAN

DÜŞÜK AKIM İLE ORTA VE YÜKSEK AKIM ANESTEZİ ALTINDAKİ HASTALARDA İNHALER ANESTEZİK VE MEDİKAL GAZ TÜKETİMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF INHALER ANESTHETIC AND MEDICAL GAS 41
CONSUMPTION IN PATIENTS UNDER LOW FLOW WITH MEDIUM AND HIGH FLOW ANESTHESIA

Berivan BOZAN, Lale İBRAHİMBEYLİ, Ela Nur MEDETOĞLU, Sümeyye AL, **Erkan Cem ÇELİK**

EFFECTIVENESS OF INTRAPLEURAL FIBRINOLYTIC THERAPY

İNTRAPLEVRAL FİBRİNOLİTİK TEDAVİ ETKİNLİĞİ 45

Mehmet AĞAR, İlham GÜLÇEK, Muhammed KALKAN

NİGELLA SATİVA EKSTRESİNİN CAS: 490-91-5 DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMAYA BAĞLI VASKÜLER DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN İŞİK MİKROSKOBİK VE STEREOLOJİK İNCELENMESİ

THE STEREOLOGICAL AND LIGHT MICROSCOPY INVESTIGATION OF THE EFFECT OF NIGELLA SATIVA EXTRACT CAS: 490-91-5 ON VASCULAR CHANGES IN EXPERIMENTAL SUBARACHNOID HEMORRHAGE MODEL 50

Mehmet Kürşat KARADAĞ, Hakan Hadi KADIOĞLU

OLGU SUNUMU

LAPAROSKOPIK HİSTEREKTOMİ UYGULANAN FAKTÖR 7 YETERSİZLİĞİ OLAN HASTADA NADİR BİR KOMPLİKASYON; POSTOPERATİVE PULMONER EMBOLİ

A RARE COMPLICATION IN A PATIENT WITH FACTOR VII DEFICIENCY UNDERWENT LAPAROSCOPIC SURGERY: POSTOPERATIVE PULMONARY EMBOLISM **61**

Mine ÇELİK, Gökce CİNLİ, Necmiye AY, İlteriş YAMAN, Neslihan KURMAZ

TEDAVİDEN TANIYA ABDOMİNAL TÜBERKÜLOZ: OLGU SUNUMU
ABDOMİNAL TUBERCULOSIS FROM TREATMENT TO DIAGNOSIS: A CASE REPORT **64**

Vefa ATIŞ, **Rıfat PEKSÖZ**, Esra DİŞÇİ, Enes AĞIRMAN, Adem ARSLAN

SİTUS İNVERSUS TOTALİSLİ HASTADA LAPAROSKOPIK KOLESİSTEKTOMİ: NADİR BİR OLGU SUNUMU

LAPAROSCOPIC CHOLECYSTECTOMY IN SITUS INVERSUS TOTALIS: A RARE CASE REPORT **67**

Fuat ŞENTÜRK, **Rıfat PEKSÖZ**, Mehmet İlhan YILDIRGAN, Yavuz ALBAYRAK, Esra DİŞÇİ

EDİTÖRE MEKTUP

A DIALECTICAL METAPHOR ON THE MARVELOUS SIMILARITIES BETWEEN THE BLOOD-BRAIN AND THE RIVER- LAND BARRIERS

KAN-BEYİN VE IRMAK-TOPRAK BARIYERLERİ ARASINDAKİ MUHTEŞEM BENZERLİKLER ÜSTÜNE DİYALEKTİK BİR METAFOR. **71**

Mehmet Dumlu AYDIN

THE EFFECT OF OZONE MEDIATED PRECONDITIONING ON FLAP VIABILITY IN RATS: AN EXPERIMENTAL STUDY

ÖZON ARACILI ÖN KOŞULLANDIRMANIN SIÇANLARDA FLEP YAŞAYABİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ: DENEYSEL BİR ÇALIŞMA

Abdulkerim OLGUN¹✉, Tahsin GÖRGÜLÜ², Ramazan GÜLER³, Ahmet Eksal KARGI⁴

1. Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Faculty of Medicine, Atatürk University, Erzurum, Turkey
2. Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Phi Clinic, Istanbul, Turkey
3. Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, The Private Clinic, Istanbul, Turkey
4. Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Faculty of Medicine, Bülent Ecevit University, Zonguldak, Turkey

ORCID: 0000-0002-1493-5152, 0000-0002-4183-3020, 0000-0001-8897-1618, 0000-0003-4539-8107

Received/Geliş Tarihi	Accepted/Kabul Tarihi	Published/Yayın Tarihi
24.04.2022	09.05.2022	31.07.2022

To cite this article / Bu makaleye atıfta bulunmak için:

Olgun A, Gorgulu T, Guler T, Kargi AE. The effect of ozone mediated preconditioning on flap viability in rats: an experimental study, J Surg. Med. Sci. 2022; 1(2):22-28

Abstract

Objectives: There are many type of preconditioning techniques in flap surgery. But ozone mediated preconditioning method was not studied sufficiently. The main purpose of our study is to show the effect of preoperative ozone gas on flap viability and to reveal that ozone therapy can be used as a preconditioning method in skin flaps. **Methods:** 40 rats were randomly divided into 4 groups and a caudal-based 11x3 cm modified Mac Farlane flap was elevated for all subjects. At the end of one week, back flaps were removed and evaluated macroscopically and histopathologically. **Results:** In terms of flap viability, all groups were statistically better than the control group not only macroscopically but also hystopathologically. Chronic inflammation scores, amount of granulation tissue and neovascularization were higher in all groups and especially in the preoperative ozone group compared to the control group (p <0.001). **Conclusion:** In our study, it has been shown that ozone mediated pretreatment method has both macroscopically increased flap survival and beneficial effects at histopathological level.

Keywords: Skin flap, ozone gas, ozone mediated preconditioning, rectal ozone therapy.

Özet

Giriş: Flep cerrahisinde birçok ön koşullandırma tekniği vardır. Ancak ozon aracılı ön koşullandırma yöntemi yeterince çalışılmamıştır. Çalışmamızın temel amacı, ameliyat öncesi ozon gazının flep canlılığı üzerindeki etkisini göstermek ve cilt fleplerinde ozon tedavisinin bir ön koşullandırma yöntemi olarak kullanılabilceğini ortaya koymaktır. **Metot:** 40 adet sıçan rastgele 4 gruba ayrıldı ve tüm deneklere kaudal tabanlı 11x3 cm modifiye Mac Farlane flebi kaldırıldı. Bir hafta sonunda sırt flepleri çıkarılarak makroskopik ve histopatolojik olarak değerlendirildi. **Bulgular:** Flep canlılığı açısından, tüm gruplar sadece makroskopik olarak değil aynı zamanda histopatolojik olarak da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha iyiydi. Kronik inflamasyon skorları, granülasyon dokusu miktarı ve neovaskülarizasyon tüm gruplarda ve özellikle preoperatif ozon grubunda kontrol grubuna göre daha yüksekti (p<0,001). **Sonuç:** Çalışmamızda ozon aracılı ön tedavi yönteminin hem makroskopik olarak flep sağkalımını arttırdığı hem de histopatolojik düzeyde faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Cilt flep, ozon gazı, ozon aracılı ön koşullandırma, rektal ozon tedavisi.

1. INTRODUCTION

Flap losses are one of the most common complications of this type of surgery because their blood supply are disrupted when they are transferred

from the donor site to the recipient site for reconstruction.

Therefore, various methods have been studied in order to increase flap viability especially in postoperative period. One of these methods is the delay method.

The delay method, which is also considered as a preconditioning method, is the only realistic method that has been shown to clinically improve flap viability (1). Alternatively non-surgical preconditioning techniques are also available in the literature. Some of these are hyperthermic preconditioning, hypothermic preconditioning, pharmacological preconditioning (2). The common features of the aforementioned preconditioning techniques are the activation of antioxidant systems in order to prevent the negative effects of oxidative stress and ischemia-reperfusion injury on the harvested flap.

Oxidative stress stimulation is the most commonly used method in the activation of antioxidant mechanisms. One of the methods that produce controlled oxidative stress is the application of ozone (3). Oxidative stress resulting from ozone application, increasing the levels of antioxidant enzymes and by vasodilation via receptors on endothelial, increases blood supply to the skin flap removed and thereby increase the flap (4). Ozone, which activates the antioxidant mechanisms and thus stimulates the blood-raising effect desired in the skin flap, is 1.6 times more dense than oxygen and 10 times more soluble in.

Ozone acting in liquid environments, like all gases, follows Henry's law, its solubility depends on the pressure, concentration and temperature of the gas (5).

The ozonization process almost always produces oxidative stress, whether in the blood, intervertebral disc or within the muscle. This oxidative stress creates beneficial effects by stimulating antioxidant mechanisms (5). For this purpose, we applied our ozone-mediated preconditioning study in the Mac Farlane flap operation in Wistar Rats, which we think is not sufficiently studied between the preconditioning techniques applied in flap surgery.

2. METHODS

Our study was initiated with the approval of BEU Animal Experiments Local Ethics Committee with the meeting dated 07/11/2012 and numbered 2012/09 from Bülent Ecevit University (BEÜ) Animal Experiments Ethics Committee. The study was carried out in BEU Faculty of Medicine Animal Experiments Research Laboratory.

2.1. The subjects

40 female Wistar rats weighing 250-300 g were randomly divided into four groups. Groups; Group 1

(control group), Group 2 (preoperative rectal ozone group), Group 3 (preoperative + postoperative rectal ozone group) and Group 4 (postoperative rectal ozone group) was named.

Rectal ozone therapy: This method can be applied to rectal gas delivery in patients with vascular problems or in children (5). 10-25 µg ozone / ml oxygen-ozone mixture 150-300 ml volume in adults, 10-20 µg / ml ozone / ml oxygen-ozone mixture with a volume of 10-30 ml in children is given slowly by means of a rectal tube (6). Especially in rectal ozone therapy, ozone gas rapidly dissolves in the aqueous environment in the rectum lumen. Soluble ozone gas reacts with the biomolecules in the rectum wall to form lipid oxidation products (LOPs). These products are introduced into the circulation through the lymphatic and venous capillaries, passing through the muscularis mucosa. In this case, systemic efficacy of rectal ozone therapy is equivalent to major autohemotherapy. However, in order to achieve this level of activity, it is necessary to prevent the ozone gas from contacting with the faeces. The most effective way to achieve this is absolute bowel cleansing (7). Based on this theory, the dose of rectal ozone was determined and given at a dose of 0.5 mg / kg.

2.2. Groups

Group 1 (n = 10): Control group

No preoperative and postoperative procedures were performed and flap viability was monitored without exposure to any agent.

Group 2 (n = 10): Preoperative rectal ozone group

The rats were treated with rectal route at a dose of 0.5 mg / kg (O₃ / O₂) in the ozone reactor at a rate of 10 mg / L (O₃ / O₂) for 4 days preoperatively. Before the ozone application, all rats were stimulated with metal cannula rectally and defecation was provided. After defecation, ozone gas was applied in the appropriate dose (0.5 mg / kg O₃ / O₂) rectally via metal cannula and ozone gas was passed to the systemic circulation.

Group 3 (n = 10): Preoperative and postoperative rectal ozone group

The rats were treated with rectal route at a dose of 0.5 mg / kg (O₃ / O₂) in the ozone reactor at a rate of 10 mg / L (O₃ / O₂) for 4 days preoperatively and 7 days postoperatively. Before the ozone application, all rats were stimulated with metal cannula rectally and defecation was provided. After defecation, ozone gas was applied in the appropriate dose (0.5 mg / kg O₃ / O₂) rectally via metal cannula and ozone gas was passed to the systemic circulation.

Group 4 (n = 10): Postoperative rectal ozone group

The rats were treated with rectal route at a dose of 0.5 mg / kg (O₃ / O₂) in the ozone reactor at a rate of 10 mg / L (O₃ / O₂) for 7 days postoperatively. Before the ozone application, all rats were stimulated with metal cannula rectally and defecation was provided. After defecation, ozone gas was applied in the appropriate dose (0.5 mg / kg O₃ / O₂) rectally via metal cannula and ozone gas was passed to the systemic circulation.

All rats were sacrificed at the end of postoperative 7th day. Following surface measurements, the flaps were excised and stored in appropriate containers for pathological examination.

2.3. The Experiment

Preparation before surgery

Animals were injected intraperitoneally 40 mg / kg pentothal sodium (Ie Ulugay, Turkey) and 8 mg / kg im. Ketamine (Pfiser, Turkey). After the depth of anesthesia was observed with jaw and skeletal muscle tone, back areas of all subjects were shaved with the help of electric razor.

Elevation of flaps

Preoperative anesthesia depth was checked again. The modified McFarlane flap was caudal-based, with the size of 3 × 11 cm in the rat's back as a random flap, including panniculus carnosus. After hemostasis, flap were sutured with 3/0 silk to its former bed (Figure 1).

Euthanasia process and taking samples

On postoperative day 7, cervical dislocation was performed under anesthesia after pentothal injection at a dose of 40 mg / kg intraperitoneally to all animals. The necrosis areas were measured after sacrifice and digital photographs were taken. The flaps were then excised and fixed in 10% neutral formalin solution for pathological examination, in separate containers.

Surface Area Measurements

Before the flaps were excised on the seventh day, necrosis flap areas were drawn and measured by the Visitrak digital measuring device (Smith and Nephew) following euthanasia.

Histopathological Evaluation Method

In this study, excisional biopsy was performed removing flaps totally (4 groups, 40 samples). Then, the flaps were divided into strips containing 2 mm wide including distal and proximal ends, and fixed with 10% neutral formalin solution. The paraffin blocks were subsequently buried. Microtome knife sections were taken from the samples in paraffin

blocks. Each sample was routinely stained with hematoxylin & eosin dye. The prepared preparations were examined by the same pathologist under the light microscope with x40, x100, x200 magnifications.

In pathological examination, wound healing parameters such as acute inflammation, chronic inflammation, amount of granulation tissue, fibroblast maturation, collagen deposits, reepithelization, neovascularization and ulcer depth were evaluated. The scoring of the parameters was determined based on the article examining the histological characteristic of the healing of vaginal and abdominal surgery wounds (8). (Table 1).

2.4. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program. Descriptive statistics for numerical variables were expressed as median (minimum-maximum) and categorical data was expressed as number and percentage (%). The categorical variables (acute inflammation, chronic inflammation, granulation amount, fibroblast maturation in granulation tissue, collagen deposition, reepithelization, neovascularization and ulcer depth) were evaluated by chi-square test. The difference between the groups in terms of flap viability ratio was examined by Kruskal-Wallis variance analysis. When Kruskal Wallis variance analysis was found significant, group pairs were compared with Bonferroni Corrected Mann-Whitney U test. For results, p <0.05 was considered statistically significant.

3. RESULTS

3.1. Macroscopic Findings

At the end of the seventh day, the necrosis of the flaps of all rats in the groups was measured using the rat visitrak digital grup device. Then, all the necrosis part of the flaps of each groups were documented. All the other three groups had better survival rate in a comparison with control (Table 2).

3.2. Histopathological Evaluation Findings

Mixt type inflammatory response was observed in all groups with varying degrees of neutrophil leukocytes. There was no statistically significant difference between the groups in terms of acute inflammation (p > 0.05).

The chronic inflammatory response, which is dominated by lymphocytes, plasma cells and histiocytes, was observed in all groups, and chronic inflammation scores were significantly higher in all groups than in the control group. The amount of granulation tissue was higher in all groups compared

to the control group and this difference was statistically significant ($p < 0.001$). It was noted that granulation tissue developed better in the preoperative ozone group than in the other groups.

When the groups were examined for fibroblast maturation, it was observed that fibroblasts were more dense and morphologically mature in the preoperative ozone group in parallel with the development of granulation tissue and this difference was statistically significant ($p = 0.036$) (Figure 2). The amount of collagen was significantly more intense in the preoperative + postoperative ozone group than in the other groups ($p = 0.007$).

Although no statistically significant difference was found between the groups in terms of reepithelization ($p = 0.083$), 20% of the preoperative and preoperative + postoperative ozone-receiving groups had minimal-immature reepithelization and 80% partial-immature reepithelization so it was observed that reepithelization was better in these groups (Figure 2). When examined in terms of neovascularization, it was found that all groups were significantly different from each other. In pairwise comparisons, the number of newly formed vessels was significantly higher in the preoperative ozone group than in the other groups ($p < 0.001$) (Figure 2). Although, there was no significant difference between the groups in terms of the presence and depth of ulcer ($p = 0.313$), in the control group, the presence of deep ulcers with subcutaneous tissue and muscle layer was observed in 40% of the samples and this ratio ranged from 10-20% in the other groups. As a result, granulation tissue, fibroblast maturation, reepithelization, neovascularization, and collagen deposition were found to be significantly higher in groups preconditioned with ozone (preoperative ozone group and preoperative + postoperative ozone

group) comparing non preconditioned groups (control group and postoperative ozone groups) and ulcer depth was found to be more superficial in preconditioned groups.

Figure 1: After hemostasis, flap were sutured with 3/0 silk to it's former bed

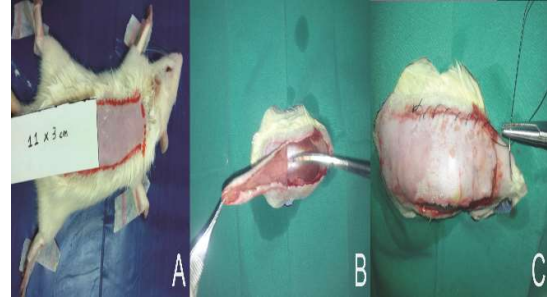
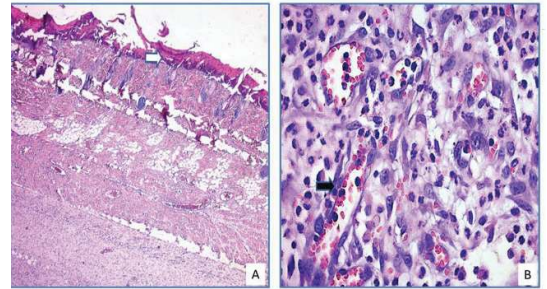


Figure 2: Light microscopic views of the subcutaneous tissue samples taken from the preoperative ozone group (A-B, H & E).



A) Epidermis limited necrosis (white arrow) and subcutaneous tissue granulation tissue is observed (A, x40). B) Immature fibroblasts in granulation tissue and angiogenic activity increase (black arrow) are noted (B, x1000).

Table 1: Wound-healing histologic scoring system. HPF, high-power field.

Variable	Score			
	0	1	2	3
Acute inflammation	None	Scant	Moderate	Abundant
Chronic inflammation	None	Scant	Moderate	Abundant
Granulation tissue amount	None	Scant	Moderate	Abundant
Fibroblast maturation	Immature	Mild maturation	Moderate maturation	Fully matured
Collagen deposition	None	Scant	Moderate	Abundant

Reepithelialization	None	Partial	Complete but immature or thin	Complete and mature
Neovascularization	None	Up to five vessels per HPF	6–10 vessels per HPF	More than 10 vessels per HPF
Ulcer depth	None	Loss of surface epithelium	Dermal tissue limited ulcer	Ulcer of the muscular layer.

Table 2: Statistical documentation of flap viability rates. It is noteworthy that the flap survival rates of the group that received the preoperative ozone group were high

Groups	Group 1 (Control) (n:10)	Group 2 (Postoperative ozone group) (n:10)	Group 3 (Preoperative + Postoperative ozone group) (n:10)	Group 4 (Preoperative ozone group) (n:10)	p
Mean± SD	49,09±25,98	86,04±7,03	90,56±6,90	96,09±3,12	<0,05
Average living area of flaps(%)	49,09	86,04	90,56	96,09	
The lowest measured living area of flaps(%)	2,8	90,0	79,4	78,8	
The highest measured living area of flaps(%)	71,3	99,4	98,8	97,9	

Values are expressed mean ± standart deviation or number.

4. DISCUSSION

Studies have shown that the blood flow in the skin is mainly regulated at the arteriolar level and that the blood flow in the pre-capillary sphincter, arteriole and arteriovenous anastomosis is regulated with sympathetic effect and this sympathetic stimulation leads to the contraction of the precapillary sphincter and direct the blood to the arteriovenous anastomosis (9). This sympathetic vascular smooth muscle contraction is counterbalanced by beta adrenergic vasodilatation (10). Flap elevation leads to a lack of blood supply to the flap and, consequently, to a sympathetic activation triggered by this condition, resulting in a vicious cycle. Immediately after this event, the release of vasoconstriction with epinephrine, norepinephrine, serotonin, PGI₂, PGF₂α and thromboxan A₂ is further increased and the blood flow is decreased. These mediators lose their activity in about 12-24 hours. However, if the ischemia in the flap continues for more than 6 hours and if the flap blood supply is provided again, reperfusion injury begins to be seen (11). While the energy needed in ischemic conditions is tried to be created under anaerobic conditions, a number of reactive oxygen radicals begin to emerge by

anaerobic glycosylation. These oxygen radicals cause structural changes in the cell membrane with lipid peroxidizing effects and thus the activation of the inflammatory process and adhesion of the leukocytes, resulting in endothelial damage that would ultimately lead to microvascular occlusion (12). In the endothelial damage, not only microvascular occlusion occurs, but also edema and micro-bleedings occur in the tissue by increasing the permeability of the vessel (13). Therefore, the pathophysiology of ischemic necrosis induced by flap elevation is associated with reactive oxygen radicals induced by oxidative stress and the role of lipid peroxidation formed by these radicals. Therefore, the preconditioning principle is to cope with this oxidative stress through anti-oxidant mechanisms that will activate the oxidative stress environment created before the flap elevation. In our study based on these principles, we performed rectal ozone administration in group 2 and group 3 subjects with preconditioning models created with ozone-mediated oxidative stress for 4 days before flap elevation and last administration of rectal ozone preoperatively was performed 12 hours before surgery. We predicted that the oxidative effect caused by ozone therapy, which we applied 12 hours

prior to surgery, would disappear within the time period mentioned above, and that the anti-oxidant and other mechanisms that will be activated after the flap elevation will continue to have beneficial effects. In our pre-conditioning model, we aimed to activate the mechanisms that can cope with oxidative stress due to ischemia caused by flap elevation. Several studies have been carried out to reduce the oxidative load of inflammatory mediators and cells created by flap elevation and positive results have been obtained from the studies. Steroids are one of these agents. It has been reported that dexamethasone inhibits the development of necrosis by reducing the production of free radicals, by attenuating calcium-free inducible nitric acid synthase activity in leukocyte, smooth muscle and endothelial cells, and by reducing neutrophil accumulation and edema formation (14) (15) (16). In these studies, dexamethasone has been shown to reduce myeloperoxidase activity, which is a marker of neutrophil accumulation (17).

One of the theses proposed to improve flap survival is to reveal the mediators that stimulate angiogenesis by using some preconditioning methods. Application of VEGF to the donor site 7 days before the flap removal and reported that the VEGF pretreated group had better results in flap survival compared to the VEGF injected group after flap elevation (2, 18).

Therefore, there are studies suggesting that the aforementioned growth factors can be achieved by the ozone mediated activation we use in our study (19). Considering the beneficial effects of growth factors on flap survival and studies demonstrating that ozone therapy increases growth factor synthesis, it is clear that the results of our study are in fact not a coincidence.

Ozone is a molecule that reacts with organic substances in the organism and oxidizes them.

It has also been reported that ozone increases the level of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), GSH-peroxidase (GSH-Px), GSH-reductase (GSH-Rd) and catalase (CAT) in combination with reactive oxygen molecules (20). With ozone therapy, vasodilatation and antioxidant activity have been achieved to increase blood flow to maintain flap viability (21).

In an experimental study, it is reported that the ozone pre-treatment given by colorectal route inhibited CCl4-mediated hepatotoxicity and activated antioxidant systems in rats (22). It has been reported that intrarectal ozone therapy protects tissue from ischemia-reperfusion injury by releasing adenosine, blocking the xanthine / xanthine oxidase pathway and suppressing ROS production after reperfusion (21, 22). It has also been shown that

intrarectal ozone therapy activates endogenous antioxidant systems in renal and liver ischemic reperfusion models and suppresses ROS production (22).

In the data obtained in our study, it was seen that the histopathological data obtained in group 2 and group 3, which were preconditioned with rectal ozone, were better than group 1 and group 4 which were not pre-treated. Some of these histopathological data are chronic inflammation, amount of granulation, fibroblast maturation, and amounts of neovascularization. Although the numerical data of ulcer depth in the control group were not statistically significant with other treatment groups, we found that the depth of ulcers was higher in the control group without ozone therapy. However, when the outcome parameters were evaluated at the level of statistical significance, only the neovascularization ($p = 0.036$), granulation amount and fibroblast maturation values of the group receiving the pre-operative rectal ozone were significantly higher than the other treatment groups ($p < 0.001$).

In addition, flap survival rates of all groups with rectal ozone significantly higher flap survival rates compared to the control group clearly show the beneficial effects of ozone in flap surgery. The highest rate of flap survival of the preoperative rectal ozone group revealed the beneficial effect of ozone pre-conditioning on flap survival.

The high survival rate of flap survival in postoperative and preoperative + postoperative rectal ozone groups indicates that ozone therapy has improved flap survival in all conditions. In our study, the statistically significant increase in neovascularization in the histopathological studies in group 2, which explained the positive effects of ozone mediated preconditioning on angiogenesis.

It is proved that ozone-mediated pre-conditioning, which is non-invasive, inexpensive, easily applicable and effective, compared with other preconditioning methods, was evaluated not only in terms of macroscopic results, but also in terms of histopathological parameters. We believe that the positive results of our study, which considers the concept of ozone mediated preconditioning in skin flap surgery and which will lead to the development of this understanding of application, will be among the principles of plastic surgery in a short time.

Conflict of Interest: The authors declare that no conflict of interest.

Funding: None.

5. REFERENCES

1. Ince B, Daaci M, Altuntas Z, Sodali T, Bilgen F, Evrenos MK. Versatility of delayed reverse-flow islanded sural flap for reconstructing pretibial defects among high-risk patients. *Annals of Saudi medicine*. 2014;34(3):235-40.
2. Harder Y, Amon M, Laschke M, Schramm R, Rücker M, Wettstein R, et al. An old dream revitalised: preconditioning strategies to protect surgical flaps from critical ischaemia and ischaemia-reperfusion injury. *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery*. 2008;61(5):503-11.
3. Bocci VA. Tropospheric ozone toxicity vs. usefulness of ozone therapy. *Archives of medical research*. 2007;38(2):265-7.
4. Valacchi G, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 11. Release of factors from human endothelial cells. *Mediators of inflammation*. 2000;9(6):271-6.
5. Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Archives of medical research*. 2006;37(4):425-35.
6. Martínez-Sánchez G. Rectal Administration and its Application in Ozonotherapy. *International Journal of ozone therapy*. 2012;11(1).
7. Bocci VA, Zanardi I, Travagli V. Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship. *Journal of Translational Medicine*. 2011;9(1):1-11.
8. Abramov Y, Golden B, Sullivan M, Botros SM, Miller JJR, Alshahrour A, et al. Histologic characterization of vaginal vs. abdominal surgical wound healing in a rabbit model. *Wound repair and regeneration*. 2007;15(1):80-6.
9. Görgülü T, Guler R, Olgun A, Torun M, Kargi E. Evaluation of the Effect of Bosentan-Mediated Endothelin Receptor Blockade on Flap Survival in Rats: An Experimental Study. *Facial Plastic Surgery*. 2016;32(04):431-7.
10. Taylor GI, Palmer JH. The vascular territories (angiosomes) of the body: experimental study and clinical applications. *Br J Plast Surg*. 1987;40(2):113-41.
11. Stein HJ, Fayman MS, Oosthuizen MM, Hinder RA. Verapamil improves survival of rat hyperemic island skin flaps. *Surgery*. 1989;106(4):617-22; discussion 22-3.
12. Aslan C, Melikoglu C, Ocal I, Saglam G, Sutcu R, Hosnuter M. Effect of epigallocatechin gallate on ischemia-reperfusion injury: an experimental study in a rat epigastric island flap. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2014;7(1):57.
13. Qi W, Tan D-X, Reiter RJ, Kim SJ, Manchester LC, Cabrera J, et al. Melatonin reduces lipid peroxidation and tissue edema in cerulein-induced acute pancreatitis in rats. *Digestive diseases and sciences*. 1999;44(11):2257-62.
14. Kargi E, Deren O, Babuccu O, Hosnuter M, Erdogan B. Dual synergistic effect: the effect of dexamethasone plus carnitine on skin flap survival. *Annals of plastic surgery*. 2004;53(5):488-91.
15. Gribbe O, Lundeberg T, Samuelson UE, Wiklund NP. Dexamethasone increases survival and attenuates induction of inducible nitric oxide synthase in experimental skin flaps. *Annals of plastic surgery*. 1999;42(2):180-4.
16. Willemart G, Knight KR, Morrison WA. Dexamethasone treatment prior to reperfusion improves the survival of skin flaps subjected to secondary venous ischaemia. *British journal of plastic surgery*. 1998;51(8):624-8.
17. Willemart G, Knight K, Ayad M, Wagh M, Morrison W. The beneficial antiinflammatory effect of dexamethasone administration prior to reperfusion on the viability of cold-stored skin flaps. *International journal of tissue reactions*. 1999;21(3):71-8.
18. Zhang F, Fischer K, Komorowska-Timek E, Guo M, Cui D, Dorsett-Martin W, et al. Improvement of skin paddle survival by application of vascular endothelial growth factor in a rat TRAM flap model. *Annals of plastic surgery*. 2001;46(3):314-9.
19. Kim HS, Noh SU, Han YW, Kim KM, Kang H, Kim HO, et al. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *Journal of Korean medical science*. 2009;24(3):368-74.
20. Dianzani MU. 4-Hydroxynonenal and cell signalling. *Free radical research*. 1998;28(6):553-60.
21. León O, Menéndez S, Merino N, Castillo R, Sam S, Pérez L, et al. Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals. *Mediators of inflammation*. 1998;7(4):289-94.
22. Peralta C, Xaus C, Bartrons R, Leon OS, Gelpí E, Roselló-Catafau J. Effect of ozone treatment on reactive oxygen species and adenosine production during hepatic ischemia-reperfusion. *Free radical research*. 2000;33(5):595-605.

NEW IMMUNOHISTOCHEMICAL METHODS IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA, CHOLANGIOCELLULAR CARCINOMA, AND COLON ADENOCARCINOMA METASTASES

HEPATOSELLÜLER KARSINOM, KOLANJIOSELLÜLER KARSINOM VE KOLON ADENOKARSINOM METASTAZLARININ AYIRICI TANISINDA İMMUNOHISTOKİMYASAL METODLAR

Hilal BALTA¹✉, Betül GÜNDOĞDU², Nesrin GÜRSAN³

1. Fırat University, Faculty of Medicine, Clinic of Medical Pathology, Elazığ, TÜRKİYE
2. Atatürk Üniversitesi, Faculty of Medicine, Clinic of Medical Pathology, Erzurum, TÜRKİYE.

ORCID: 0000-0003-3745-9694¹, 0000-0002-3786-3286², 0000-0003-0030-7347³

* THE ARTICLE WAS PRESENT AS A POSTER PAPERS AT THE 24TH EUROPEAN PATHOLOGY CONGRESS

Received /Geliş Tarihi	Accepted /Kabul Tarihi	Published/Yayın Tarihi
26.05.2022	10.06.2022	31.07.2022

To cite this article/Bu makaleye atıfta bulunmak için:

Balta H, Gunduğdu B, Gursan N. New immunohistochemical methods in the differential diagnosis of hepatocellular carcinoma, cholangiocellular carcinoma, and colon adenocarcinoma metastases. J Surg. Med. Sci. 2022; 1(2): 29-40

Abstract

Objectives: Liver is the main organ carrying out metabolic functions in the human body. The cause of death from cancer is the third among cancers in the world. Metastases are the most common malignant tumors in liver. Hepatocellular carcinoma, primary malignant tumors of the liver, is the second (80-90 %), and cholangiocellular carcinoma is the third (10-15 %) most common malignant tumor of liver. Early diagnosis in these tumors is important for early treatment planning. Although late-stage hepatocellular carcinoma is easily detectable, the treatment could not be available in a large proportion and recurrence is frequently observed. Therefore, in the differential diagnosis using more sensitive and specific antibodies can increase the effectiveness of the other markers used in routine practice, and can achieve an earlier diagnosis. **Methods:** In our study, paraffin blocks of the biopsy and resection material of 60 cases were studied immunohistochemically with GPC-3, Agrin/CD34 combination, CDX2. **Results:** HepPar1, AFP, CEA, CD10, CK-19, CK-7, CK-20, CK-8 and CK-18 which are studied previously, were evaluated in combination with GPC-3 in hepatocellular carcinoma, and GPC-3 was found to be more sensitive and specific than HepPar1 and AFP. In the differential diagnosis of hepatocellular carcinoma from cholangiocellular carcinoma and metastatic adenocarcinoma of the colon, GPC-3 was also found to be very useful. Although in hepatocellular carcinoma tissues Agrin was observed in the new areas of vascularity, it was not observed in the areas of cholangiocellular carcinoma and tissues of metastatic colon adenocarcinoma. That has been followed in our attention. CDX2 staining was observed in tissues with metastatic adenocarcinoma of the colon, but it is very little in hepatocellular carcinoma and cholangiocellular carcinoma. This is an important finding in the differential diagnosis. **Conclusion:** Considered a combination of all of our findings, Glypican-3, Agrin/CD34 combination and CDX2 are very sensitive and specific markers of hepatocellular carcinoma. These markers must be applied in routine practice for early diagnosis and treatment, and for the extend of the survey in patients with hepatocellular carcinoma.

Key Words: Hepatocellular Carcinoma, Cholangiocellular Carcinoma, Metastatic Adenocarcinoma of the Colon, Immunohistochemistry, Glypican-3, Agrin/CD34 combination, CDX2

Özet

Giriş: Karaciğer insan vücudunda metabolizma fonksiyonlarının yürütüldüğü temel organdır. Kanserleri dünyada kanserden ölüm sebepleri arasında 3.sırada yer alır. Metastazları en sık görülen malign tümörleridir. Primer malign tümörlerinden hepatosellüler karsinom (%80-90) ikinci sıklıkta, kolanjiokarsinom da 3. sıklıkta görülen malign tümörleridir (%10-15). Bu tümörlerin erken tanı alması, tedavinin erken planlanması açısından önemlidir. Geç evre hepatosellüler karsinom kolay tespit edilebilmesine rağmen büyük oranda tedavi edilememekte ve nüks izlenmektedir. Bundan dolayı ayrııcı tanıda daha sensitif ve spesifik antikolar kullanarak, rutin uygulamada kullanılmakta olan diğer belirleyicilerin etkinliğini artırmak, daha erken tanıya ulaşmak gerekmektedir. **Metot:** Çalışmamızda 60 adet olguya ait biyopsi ve rezeksiyon materyallerinin parafin bloklarında immunohistokimyasal olarak Glypican-3, Agrin/CD34 kombinasyonu, CDX2 çalışıldı. **Bulgular:** Daha önce çalışılmış HepPar1, AFP, CEA, CD10, CK-19, CK-7, CK-20, CK-8, CK-18 ile kombine değerlendirildiğinde özellikle GPC-3'ün hepatosellüler karsinomda HepPar1 ve AFP'ye göre daha sensitif ve spesifik olduğu gözlemlendi. Ayrıca kolanjiosellüler karsinom ve kolon adenokarsinom metastatik tümörleriyle ayrııcı tanısında oldukça faydalı olduğu tespit edildi. Agrin'in hepatosellüler karsinomlu dokularda yeni damarlanma alanlarında izlenmesine rağmen kolanjiosellüler karsinom ve kolon adenokarsinom metastazlı dokularda izlenmemesi dikkatimizi çekti. CDX2 ile kolon adenokarsinom metastazlı dokularda boyanma gözlenirken, hepatosellüler karsinom ve kolanjiosellüler karsinomda çok az boyanma izlenmesi de ayrııcı tanıda önemli bir bulguydu. **Sonuç:** Bulgularımızın hepsini bir arada değerlendirdiğimizde, GPC-3, Agrin ve CDX2 oldukça sensitif ve spesifik belirleyicilerdir. Olguların erken tanılanmasını ve daha hızlı tedavi almasını sağlayıp, hastaların surveyini uzatması açısından rutinde de uygulanması gerekir.

Anahtar Kelimeler: Hepatosellüler Karsinom, Kolanjiosellüler Karsinom, Kolon Adenokarsinom Metastazi, İmmunohistokimya, Glypican-3, Agrin, CDX2

1. INTRODUCTION

Hepatocellular carcinoma (HCC) constitutes 80-90% of all primary liver tumors (1). While it's the fifth commonest malignancy, it ranks third among all cancer related death. Although diagnostic methods are very advanced nowadays, there are still difficulties in the definitive diagnosis of liver tumors. In addition to imaging methods for diagnosis, the increase serum alpha feto protein (AFP) level is one of the important parameters (3,4). Ultrasonography guided fine needle aspiration biopsies is used as diagnostic method despite the 10% false positivity. AFP, HepPar1, CEA, CD10 are the most important immunohistochemical antibodies used for diagnosis. Especially AFP and HepPar1 positivity are the most important parameters that supports hepatocellular carcinoma (4). Cytokeratins are antibodies used in the diagnosis of hepatocellular carcinoma (CK8, CK18), cholangiocarcinoma (CK19) and in the differentiation of metastatic lesions, especially colon adenocarcinoma (CK20) (5). Glypican-3 (GPC-3) is from the glypican family, which is Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-linked heparansulfate proteoglycan (HSPG). Glypican consists of proteoglycans and core protein that binds two polysaccharide units known as Heparan sulfate glycosaminoglycan (HSGAG). After synthesizing 60-70 kDa core protein, HSGAG is added by glycosylation in the Golgi body. It's located on Xq26.1 in adult tissues. Six glypican family members have been identified in humans.

GPC-3 is highly expressed in embryonal structures and mesoderm-derived tissues. It showed high expression especially in embryonic liver and intestine, while expression level decreased in normal adult tissues. This situation suggests that it acts as an oncofetal protein for these organs. In general, while oncofetal proteins do not play a critical role in tumor progression, they are used as tumor markers or as a

potent target for immunotherapy. GPC-3 is involved in cellular growth, differentiation and migration. It shows different expression patterns in tumor progression. It induces apoptosis in some types of tumor cells. It is therefore not surprising that some tumors of different origin are downregulated of GPC3 expression. GPC3 downregulation has been observed in ovarian cancer, breast cancer, lung adenocarcinoma, and cholangiocellular carcinoma (8-11). While it is not expressed in the colon, high expression is observed in colorectal cancers (12-13). Interestingly, although there is no expression of GPC3 in the liver, Glypican is up-regulated in the vast majority of tumors and its expression decreases during tumor progression. In addition, serum GPC3 levels were found to be significantly higher in patients with HCC compared to healthy people and non-malignant liver patients (12-14).

Glypican-3(GPC-3) is used to differentiate HCC from dysplastic changes in cirrhotic liver (15-17). It is also useful in seperating benign liver nodules from malignant nodules.

Agrin is from the heparan sulfate proteoglycan (HSPG) family, which is found on the surface of cells and in the extracellular matrix. It is activated by myofibroblasts, vascular smooth muscle cells and biliary epithelial cells in human and rat liver. It is not found in the wall of lymphatic vessels.

It is strongly found in vascular structures and peribiliary basement membranes in HCC. When the lesion becomes malignant, expression of agrin increases because of formation of new blood vessels increases. Combination with CD34 was found highly sensitive and specific and express more diffusely than GPC-3. It doesn't stain sinusoidal walls of regenerative nodules in cirrhosis. When benign and malignant lesions of the liver were compared, it was determined that the sensitivity of Agrin in favor of malignant lesions was 93.1% and its specificity was 92.6%, when combined with CD34 (18-21).

Agrin is a recently discovered antibody used to detect microvasculature in hepatocellular carcinomas. Combined evaluation of Agrin with CD34 was found to be highly sensitive and specific in the diagnosis of HCC (22).

CDX2 is responsible for regulation of cellular proliferation, differentiation and aging, regeneration of intestinal epithelium and preservation of tissue structure (22-23). It is widely expressed in the fetal and embryonic period. It becomes localized since the early neonatal period. CDX2 regulates the transcription of intestinal specific genes and functions as a tumor suppressor gene (23-24). In cases where CDX2 expression is low in cancer cells, CDX2 insertion increases the sensitivity of apoptosis in the cells and the growth rate slows down. CDX2 is down-regulated in 85% of colorectal adenocarcinomas. As a result, there is an increase in proliferation in tumorigenesis. In addition, replication errors due to small mutations of CDX2 have been observed in colorectal carcinomas. CDX2 is expressed in the nuclei of intestinal epithelial cells from the duodenum to the rectum, as well as neuroendocrine cells and pancreatic islet cells. The expression of CDX2 is observed at different levels in different parts of the gastrointestinal tract. It is highest in the small intestine and cecum, but less expressed in the distal colon. It is observed in goblet cells, enteroendocrine cells and absorptive enterocytes in the villi on the surface of the intestinal epithelium (23,25-31).

Although late-stage HCC can be detected easily, it is substantially incurable and relapses. Only 25% of cases receive appropriate curative treatment. Inoperable cases can survive for only a few months (9). Therefore, early diagnosis and treatment are important. In order to provide appropriate treatment as well as early diagnosis, neuroendocrine tumors, especially cholangiocarcinoma (CCA), and metastatic liver diseases should be differentiated from hepatocellular carcinoma.

In our study, we aimed to determine the role of immunohistochemistry in the differential diagnosis of HCC from CCC and metastatic cancer. We emphasized the importance of antibodies such as GPC-3, the combination of Agrin and CD34 and CDX2 in differential diagnosis, that they can be used routinely and that when evaluated in combination with other antibodies, they help us to make the diagnosis even earlier and more precisely.

2. METHODS

In our study, we include 20 patients from each of the 3 groups were diagnosed as Hepatocellular Carcinoma, Cholangiocellular Carcinoma, Colon Adenocarcinoma Metastasis with underwent tru-cut (fine needle) biopsy, wedge resection, liver lobectomy and hepatectomy between 2000-2011 in Atatürk University Faculty of Medicine Department of

Pathology. Paraffin blocks, previous hematoxylin-eosin, immunohistochemical stained slides and pathological diagnosis reports of each case were removed from the archive of our department and re-evaluated. Among these, the most suitable paraffin blocks were selected for immunohistochemical staining from hematoxylin-eosin glasses which the pathological diagnosis was most accurate.

2.1. Immunohistochemical methods

Glypican-3 (CM 396A, B; Bio Care Medical), the combination of Agrin and CD34 (Anti antibody agrin; ab85174) and CDX2 (Leica; AMT28) antibody dyes were applied immunohistochemically to the paraffin blocks selected for our research using the streptavidin biotin peroxidase method. 4 microns thicked sections from paraffin blocks were put on positively charged slides and then were placed in BOND-MAX Fully Automated IHC System.

2.2. Immunohistochemical evaluation

Immunohistochemical stained preparation were first evaluated by two different pathologists under the light microscope without using clinical and previous pathological data. Considering the literature for GPC3 in stained tissue sections, the presence of cytoplasmic staining was evaluated in terms of prevalence and severity. All tumoral cells in tissue sections were checked for extensity. While it is negative if there is no staining (Figure 1), if less than 10% of the tumoral cells are stained (1+) (Figure 2), if there is staining in 10-50% of the tumoral cells (2+) If there was staining in more than 50% tumoral cells, it was evaluated as (3+) (Figure 3). For Agrin/CD34, according to the literature, if 10% stained weakly the vascular structures around the tumoral cell (1+), if 10-50% stained the vascular structures around the tumoral cell more strongly (2+)(Figure 4), the vascular structures around the tumoral cell above 50% it was considered as (3+) (Figure 5) if it stained diffusely and darkly. For CDX2, the presence of nuclear staining was evaluated in terms of extensity and severity. Considering the cells with staining, if less than 10% of the tumoral cells are stained (1+), 10-50% staining in the tumoral cells (2+), if there is staining in more than 50% tumoral cells, it was evaluated as (3+) (Figure 6). Cytoplasmic staining for HepPar1 was evaluated for extensity and severity. Considering the cells with staining, the reactivity in tumoral cells was evaluated as scattered sporadic positivity (1+), focal positivity (2+), diffuse positivity (3+) (Figure 7).

Cytoplasmic staining for AFP was evaluated for extensity and severity. Considering the cells with staining, focal staining in tumoral cells was evaluated as (1+), moderate staining (2+), diffuse staining (3+) (Figure 8). Fiber staining around tumor cells with CD10 was evaluated as (-), diffuse staining (1+), focal staining (2+), diffuse staining (3+). The presence of cytoplasmic staining in tumor cells with CEA was evaluated in terms of extensity and severity.

Considering the cells with staining, if there is no staining in tumor cells was evaluated as (-), focal staining (1+), moderate staining (2+), diffuse staining (3+). Brown staining of cytoplasmic and cytoplasmic membranes in tumor cells for cytokeratins (CK7, CK20, CK19, CK8, CK18) was evaluated in terms of extensity and severity. If there was no staining in tumor cells, it was evaluated as (-), focal weak staining (1+), moderate staining (2+), diffuse staining (3+).

2.3. Statistical evaluation

Statistical transactions were performed on computer using the 'SPSS 22' (Scientific Package for Social Sciences) program. For this purpose, 3 groups were created for cancer type and 4 groups for each of Glypican-3, Agrin, CDX2, AFP, Heppar1, CD10, CEA, CK7, CK20, CK19, CK8, CK18 markers. Since we used categorical data and more than two groups in our study, we used the Chi-Square test. Since at the end of the study, at least 80% of the expected frequencies should be 5 or greater than 5, we combined the group 0 as 1 and group 1, 2, and 3 as 2 and performed the test again. If the probability coefficient (p) value was less than 0.05, it was considered statistically significant.

3. RESULTS

In our study, 60 cases diagnosed between 2000 and 2011 who had liver tru-cut (cutting-needle) biopsy, wedge resection and hepatectomy were included. Of these 60 cases, 20 had hepatocellular carcinoma, 20 had cholangiocellular carcinoma, and 20 had colon adenocarcinoma metastasis.

Of the 60 cases, 40 (66.7%) were male and 20 (33.3%) were female. Of the hepatocellular carcinoma cases, 16 (80%) were men, 4 (20%) were women; of the cholangiocellular carcinomas, 13 (65%) were men and 7 (35%) were women; and of the colon adenocarcinoma metastases, 11 (55%) were male, and 9 (45%) were female. The age range of the cases was between 33 and 86, with a mean age of 63. The age range of patients with hepatocellular carcinoma was 33-74 (mean age 64.5 years), 45-86 years (mean age 59.5 years) in patients with cholangiocellular carcinoma, and 40-84 years (mean age 64 years) in patients with colon adenocarcinoma metastases. Immunohistochemical evaluations were evaluated by two different pathologists at the same time and classified in tables.

In the comparison between Glypican-3 expression and cancer types, expression was detected in 17 (85%) cases with HCC, 3 (15%) cases with CCC, and 2 (10%) cases with colon adenocarcinoma; however, expression was not observed in 3 (15%) cases with HCC, 17 (85%) cases with CCC, and 18 (90%) cases

with colon adenocarcinoma. These findings showed a statistically significant relationship between cancer type and Glypican3 (Pearson $p:0.003$, $p<005$). (Table 1)(Figure 9)

In the comparison between Agrin expression and cancer types, expression was detected in 19 (95%) cases of HCC, 10 (50%) cases with CCC, and 1 (5%) case with colon adenocarcinoma; whereas any expression was not observed in 1 (5%) case with HCC, 10 (50%) cases with CCC, and 19 (95%) cases with colon adenocarcinoma. These findings showed that there was a statistically significant relationship between cancer type and Agrin (Pearson $p:0.00$, $4p<005$). (Table 2)(Figure 10)

In the comparison between CDX2 expression and cancer types; while expression was detected in 5 (25%) cases with HCC, 1 (5%) case with CCC, and 18 (90%) cases with colon adenocarcinoma; expression was not observed in 15 (75%) cases with HCC, 19 (95%) cases with CCC, and 2 (10%) cases with colon adenocarcinoma. These findings showed a statistically significant relationship between cancer type and CDX2 (Pearson $p:0.000$, $p<005$). (Table 3)(Figure 11).

In the comparison between HepPar1 expression and cancer types, expression was detected in 19 (95%) cases with HCC and in 2 (90%) cases with CCC; while expression was not observed in 1 (5%) case with HCC, 18 (90%) cases with CCC, and 20 (100%) cases with colon adenocarcinoma. These findings showed a statistically significant relationship between cancer type and HepPar1 (Pearson $p:0.000$, $p<005$).

In the comparison between AFP expression and cancer types, expression was detected in 15 (75%) cases with HCC, 2 (10%) cases with CCC, and 1 (5%) case with colon adenocarcinoma; yet no expression was observed in 5 (25%) cases with HCC, 18 (90%) cases with CCC, and 19 (95%) cases with colon adenocarcinoma. These findings showed that there was a statistically significant relationship between cancer type and AFP (Pearson $p:0.000$, $p<005$).

In the comparison between CEA expression and cancer types, expression was detected in 2 (90%) cases with HCC, 16 (80%) cases with CCC, and 18 (90%) cases with colon adenocarcinoma; while expression was not observed in 18 (90%) cases with HCC, 4 (20%) cases with CCC, and 2 (10%) cases with colon adenocarcinoma. These findings showed a statistically significant relationship between cancer type and CEA (Pearson $p:0.000$, $p<005$).

In the comparison between CD10 expression and cancer types, expression was detected in 15 (75%) cases with HCC, 4 (20%) cases with CCC, and 4 (20%) cases with colon adenocarcinoma; whilst expression was not observed in 5 (25%) cases with HCC, 16 (80%) cases with CCC, and 16 (80%) cases with colon adenocarcinoma. These findings showed a

statistically significant relationship between cancer type and CD10 (Pearson p:0.000, p<005).

In the comparison between CK7 expression and cancer types, expression was detected in 14 (70%) cases with HCC, 17 (85%) cases with CCC, and 5 (25%) cases with colon adenocarcinoma; while no expression was observed in 6 (30%) cases with HCC, 3 (15%) cases with CCC, and 15 (75%) cases with colon adenocarcinoma. These findings showed a statistically significant relationship between cancer type and CK7 (Pearson p:0.000, p<005).

In the comparison between CK20 expression and cancer types, expression was detected in 4 (20%)

cases with HCC, in 1 (5%) case with CCC, and in 18 (90%) cases with colon adenocarcinoma; whereas expression was not observed in 16 (80%) cases with HCC, 19 (95%) cases with CCC, and 2 (10%) cases with colon adenocarcinoma. These findings showed a statistically significant relationship between cancer type and CK20 (Pearson p:0.000, p<005).

In the comparison between CK19 expression and cancer types, expression was detected in 8 (40%) cases with HCC, 20 (100%) cases with CCC, and 18

Table 1. Distribution of GPC-3 histoscore by tumor types, age and sex

		Number of cases (n=60)	GPC-3 Histoscore				P Value
			Negative	Weak	Middle	Strong	
Age (Year)	≥49	49 (%81,6)	33 (%55)	6(%10)	4 (%6,6)	7 (%11,6)	0,062
	<49	11 (%18,3)	5 (%8,3)	1 (%0,16)	2 (%3,3)	2 (%3,3)	
Gender	Male	40 (%66,7)	23 (%38,3)	4 (%6,6)	4 (%6,6)	8 (%13,3)	0,156
	Female	20 (%33,3)	15 (%25)	3 (%5)	2 (%3,3)	1 (%1,6)	
Tumor types	HCC	20 (%33,3)	6 (%10)	3 (%5)	4 (%6,6)	8 (%13,3)	0,003
	CCC	20 (%33,3)	13 (%21,6)	2 (%3,3)	2 (%3,3)	1 (%1,6)	
	CAM	20 (%33,3)	19 (%31,6)	2 (%3,3)	0 (%0)	0 (%0)	

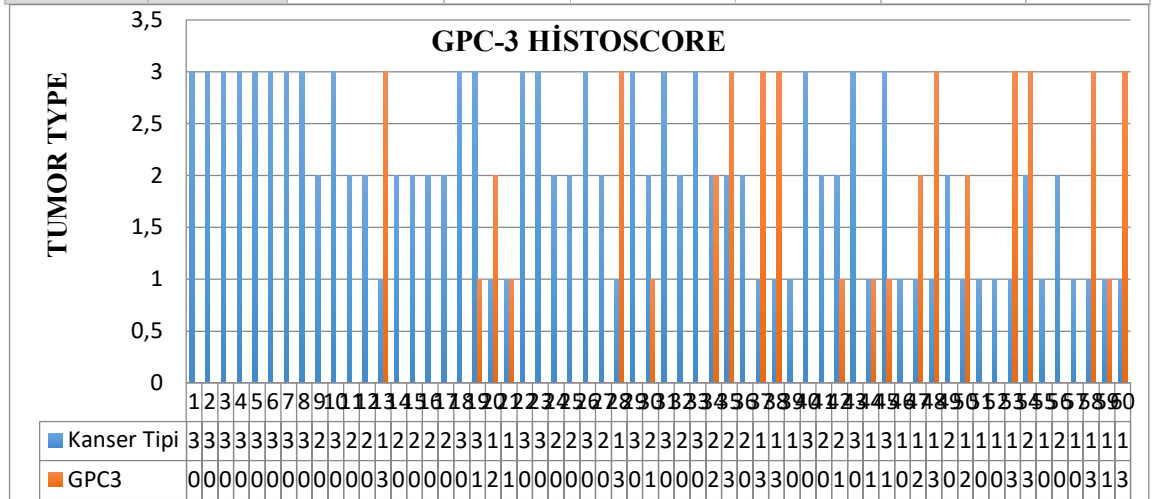


Table 2. Distribution of Agrin/CD34 histoscore by tumor types, age and sex

		Number of Cases (n=60)	Agrin/CD34 Histoscore				P Value
			Negative	Weak	Middle	Strong	
Age (Year)	≥49	49 (%81,6)	11 (%18,3)	15 (%25)	16 (%26,6)	9 (%15)	0,040
	<49	11 (%18,3)	1 (%1,6)	3 (%5)	2 (%3,3)	3 (%5)	
Gender	Male	40 (%66,7)	8 (%13,3)	13 (%21,6)	12 (%20)	7 (%11,6)	

	Female	20 (%33,3)	4 (%6,6)	5 (%8,3)	7 (%11,6)	4 (%6,6)	0,050
Tumor types	HCC	20 (%33,3)	1 (%1,6)	7 (%11,6)	5 (%8,3)	4 (%6,6)	0,004
	CCC	20 (%33,3)	10 (%16,6)	5 (%8,3)	7 (%11,6)	2 (%3,3)	
	CAM	20 (%33,3)	1 (%1,6)	4 (%6,6)	10 (%16,6)	4 (%6,6)	

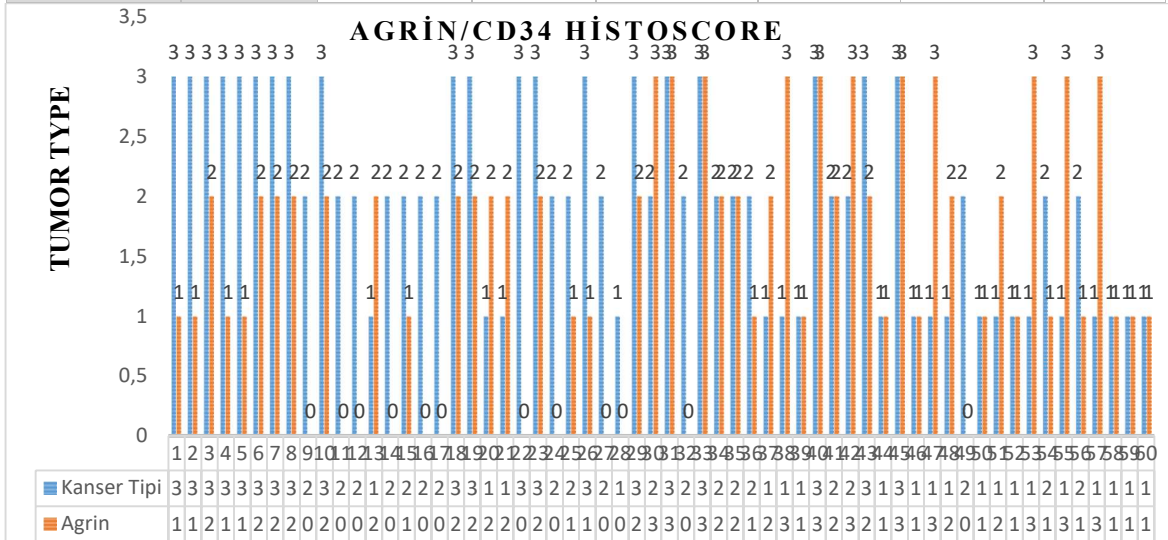
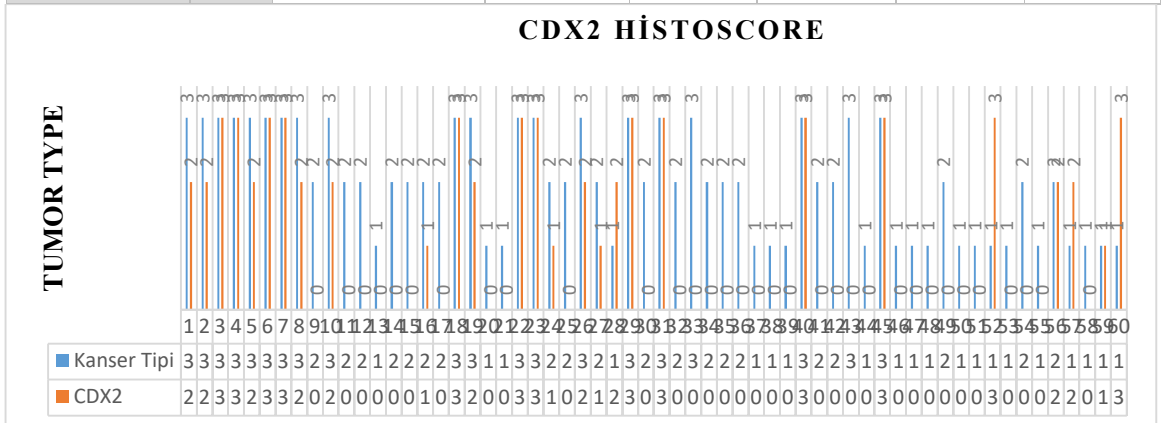


Table 3. Distribution of CDX2 histoscore by tumor types, age and sex

		Number of Cases (n=60)	CDX2 histoscore				P Value
			Negative	Weak	Middle	Strong	
Age (Year)	≥49	49 (%51,25)	29 (% 48,3)	4 (%6,6)	8 (%13,3)	10 (%16,6)	0,012
	<49	11 (%48,75)	4 (%6,6)	0 (%0)	2 (%3,3)	3 (%5)	
Gender	Male	40 (%66,7)	24 (%40)	4 (%6,6)	8 (%13,3)	5 (%8,3)	0,036
	Female	20 (%33,3)	9 (%15)	0 (%0)	2 (%3,3)	8 (%13,3)	
Tumor types	HCC	20 (%33,3)	15 (%25)	1 (%1,6)	2 (%3,3)	2 (%3,3)	0,000
	CCC	20 (%33,3)	16 (%26,6)	3 (%5)	0 (%0)	0 (%0)	
	CAM	20 (%33,3)	2 (%3,3)	0 (0)	8 (%13,3)	11 (%18,3)	



(90%) cases with colon adenocarcinoma; whilst expression was not observed in 12 (60%) cases with HCC and in 2 (10%) cases with colon adenocarcinoma. These findings showed a statistically significant relationship between cancer type and CK19 (Pearson $p:0.000$, $p<005$).

In the comparison between CK8/18 expression and cancer types, expression was detected in 20 (100%) cases with HCC, 3 (15%) cases with CCC, and 1 (5%) case with colon adenocarcinoma; while no expression was observed in 17 (85%) patients with CCC and 19 (95%) patients with colon adenocarcinoma. These findings showed a statistically significant relationship between cancer type and CK8 (Pearson $p:0.000$, $p<005$).

4. DISCUSSION

HCC is one of the most common primary malignancies and ranks fourth in the world for cancer-related deaths. It constitutes 5% of all cancers and 70-80% of liver cancers. In the 2000s, 564,000 new cases were described in the world. Its prevalence varies according to geographical localizations. Its incidence increases with age (65 years and older). It is rare in North America and Western Europe before the age of 50 (1-2,32).

Major risk factors are cirrhosis, chronic hepatitis B, chronic hepatitis C, toxic (alcohol and aflatoxins) and metabolic causes (diabetes mellitus, nonalcoholic fatty liver disease (NASCH), hereditary hemochromatosis, primary biliary cirrhosis, autoimmune hepatitis) (1-3).

Catching the disease at an early stage is important for the treatment, recurrence and presentation of the tumor. Only 25% of patients are diagnosed early to receive appropriate curative treatment. The surveillance of inoperable patients is approximately 5 months. The 5-year surveillance is less than 10-15% (33).

Although HCC constitutes approximately 10-15% of liver tumors, it varies according to geographical regions. Its incidence is increasing worldwide. Parasites such as *Clonorchis sinensis* and *opisthorchis viverrini*, nitrosamines and aflatoxin are in the first place in its etiology (32).

Metastatic carcinomas of the liver are the most common malignant tumors of the liver. It has the highest ranking among malignancies developing from noncirrhotic liver in all developed western countries (32).

Identification of new molecular targets and markers is an urgent need for the development of new treatment approaches in liver malignancies. The fact that these markers guide us in early diagnosis will have a more effective sensitivity and specificity, as well as increase in the success of patients in curative treatments and prolongation of their surveys will lead to positive results that closely concern and affect the patient population (1,34).

FIGURE 1. Colon Adenocarcinoma metastasing of liver (GPC3 NEGATIVE)

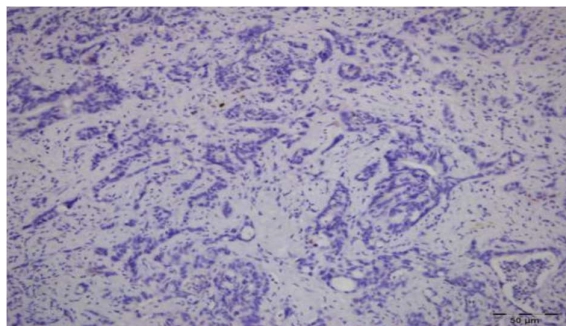


FIGURE 2. HCC (GPC3 +1 POSITIVE)

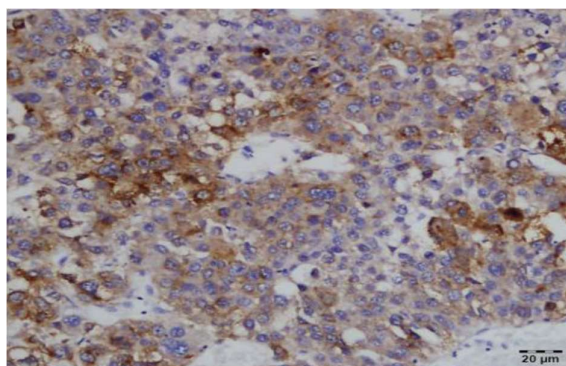


FIGURE 3. HCC (GPC3 +3 POSITIVE)

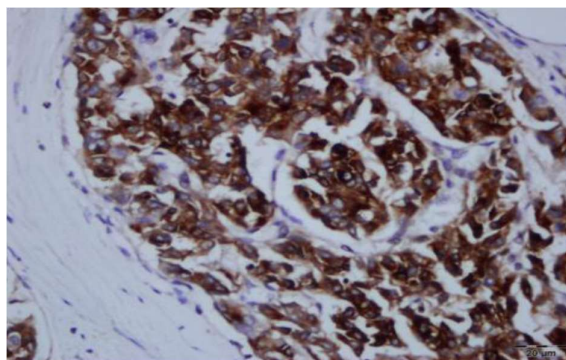


FIGURE 4. HCC (AGRN/CD34 +2 POSITIVE)

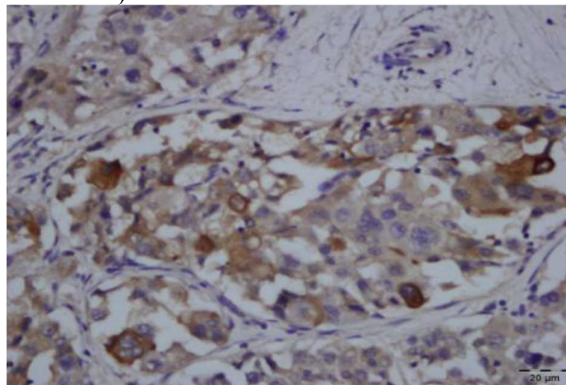


FIGURE 5. HCC (AGRIN/CD34 +3 POSITIVE)

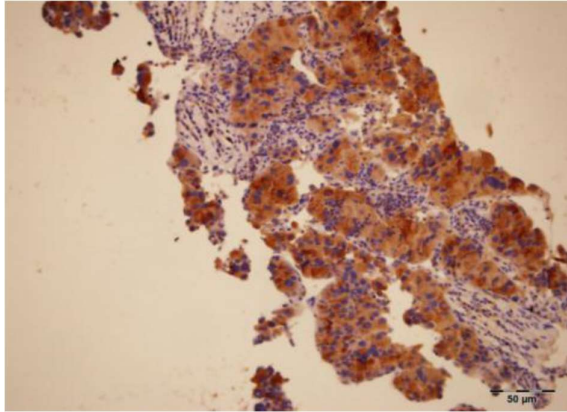


FIGURE 6. Colon Adenocarcinoma metastasing of liver (CDX2 +3 POSITIVE)

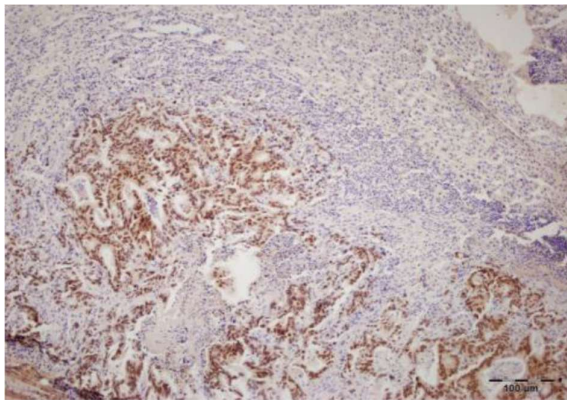


FIGURE 7. HCC (HepPar-1 +3POSITIVE)

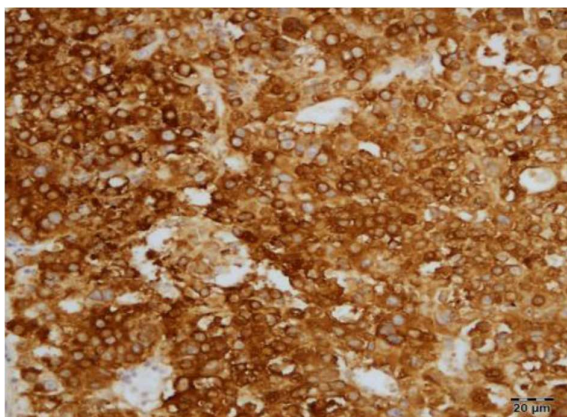
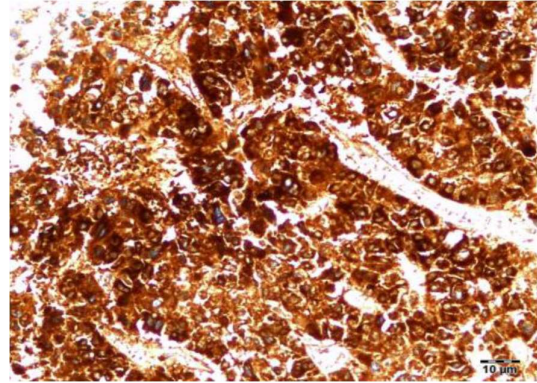


FIGURE 8: HCC (AFP +3POSITIVE)



The most important of these markers today is Glypican-3 (GPC-3). Its structure, function and biology are important. GPC-3 is an antibody whose routine use has started relatively, but has not become widespread, and its efficiency has been proven in studies.

Differentiating HCC from CCA, especially ICC (intrahepatic cholangiocarcinoma), poses an important problem. In the study of Hsu et al. in 1997, GPC-3 was not expressed in ICC, gallbladder adenocarcinoma and colon adenocarcinoma; however, it was expressed in 75% of HCC and 10% of gastric adenocarcinoma (14). Yamauchi et al. tested GPC-3 expression in CCC in a small series of 16 subjects and results were negative. (36). Daniel Baumhoer et al. found that using GPC-3 was limited in the differential diagnosis of CCC and some other metastatic tumors (35). In our case, 17/20 (85%) of the cases with HCC and 3/20 of the cases with CCC had GPC-3 positivity, and in accordance with the literature, it was established that GPC-3 is very important in the diagnosis to differentiate HCC from CCC.

Mitchell Ho et al. observed that the expression of GPC-3 was mostly in the cytoplasmic pattern, while Shirakowa et al. previously observed that there was a mixed pattern (cytoplasmic and membranous) in about half of the HCC cases, and a cytoplasmic pattern in the other half (34). In our study, we observed that the most of the cases (15 out of 17 positive cases) had a cytoplasmic staining pattern. In the other 2 cases, we detected a stronger cytoplasmic pattern with a weak membranous staining. Contrary to the literature, we observed that our findings were in the direction of cytoplasmic staining.

Naoko Yamauchi et al. observed in their study the immunohistochemical reactivity of GPC-3 in the differential diagnosis of benign and malignant hepatocellular lesions by using these monoclonal antibodies in paraffin tissues. While expression was observed in fetal liver, expression could not be detected in normal adult liver, cirrhosis and hepatitis.

They found positive results in 84% (47/56) of the cases with HCC and hepatoblastoma. When comparing AFP and GPC-3 immunohistochemically, they found that GPC-3 was much more sensitive and specific in HCC. They observed that GPC-3 is an important oncofetal protein in the differential diagnosis. Naoko Yamauchi et al. found that GPC-3 was superior to AFP in HCC cases (36). In our study, positivity was 85% with GPC-3 and 75% (15/20) with AFP. These data were evaluated as similar with the literature.

Saverio Ligato et al. observed GPC-3 to be positive in 16 of 17 patients with metastatic tumors (3 colorectal carcinoma, 3 pancreatic carcinomas, 2 breast carcinoma, 2 gastric carcinoma, 1 adenoid cystic carcinoma, 3 non-small cell carcinoma lung carcinoma, 1 lung small cell carcinoma. carcinoma, 1 high grade sarcoma, 1 neuroendocrine especially anaplastic carcinoma) (37). Naoko Yamauchi et al. found positive in 1 of 23 colorectal metastatic tumors in their study (94). In our study, all metastatic cases were colorectal carcinoma. Of these, we obtained positivity in 1 (5%) of 20 cases. Our findings were evaluated as to be coherent with the literature.

Nafis Shafizadeh et al. compared GPC3 with HepPar1 in 80 resection materials with HCC. GPC3 was expressed in 79% (46/80) of poorly differentiated cases and 6.4% (7/80) of HCC fibrolamellar variant. Of 46 HCC cases, 56% were well differentiated, 83% moderately differentiated, and 89% poorly differentiated. Reticulin loss and focal abnormalities that closely resemble hepatic adenomas were noted in 10 of 16 well-differentiated cases. GPC3 expression was observed in 50% of this group. GPC3 was found to be more highly positive in cirrhotic liver. While it was negative in all hepatic adenomas and macroregenerative nodules, it was positive in 3 high-grade dysplastic nodules. Focal staining was observed in the patient with 4 cirrhotic regenerative nodules. Compared with HepPar1, GPC3 was more sensitive in poorly differentiated HCC cases (GPC3 89%, HepPar1 63%). The difference was more obvious when only diffuse positive staining was considered. In conclusion, Nafis Shafizadeh et al. showed that GPC3 has a high sensitivity for the diagnosis of HCC, and it is less sensitive in well-differentiated and fibrolamellar variant HCC, while its superiority over HepPar1 is obvious in poorly differentiated cases (38). In our study, GPC3 expression was observed in 85% (17/20) cases with HCC, while its expression was observed in 95% (19/20) with HepPar1. It was thought that the reason why the sensitivity of GPC3 was lower than HepPar1 in our cases was due to the fact that the cases included better differentiated HCCs.

Dina Kandil et al. accepted Grade 0 (no staining) and Grade 1 (weak staining) as a negative result in their immunocytochemical study with GPC-3 in the cytological materials of 20 patients with HCC, 20

with metastatic tumors and 20 with benign lesions. Grade 2 (moderate cytoplasmic staining) and Grade 3 (strong cytoplasmic staining) were evaluated as positive. While 90% (18/20) staining was obtained in the HCC group, they found negative in 100% (20/20) of metastatic tumors and 100% (20/20) of benign lesions. Strong and moderate expressions were not shown in any case. In HCC, the sensitivity of immunocytochemical staining was 90% and the specificity was 100%. Immunocytochemical staining was found to be superior to immunohistochemical staining in 25% of cases with HCC (39).

Peter Tatrai et al. detected small amounts of agrin in the basement membranes of the bile ducts and blood vessels in their study. They observed a significant, dramatic increase in the amount of agrin with the increase in the blood vessels and bile duct structures of the newly formed septal structures in liver cirrhosis, as in the areas of neovascularization in HCC. In this study, which was conducted in 29 liver cases with HCC and cirrhosis, a strong positivity for agrin was observed in the basement membranes of blood vessels and bile ducts, while negativity was always detected in regenerative nodules in cirrhosis (18).

Considering the selectivity of agrin in tumor microvascularization, it has been observed that it may help in recognizing malignant transformation in cirrhotic liver. As a result of these studies, it was thought that agrin was probably originated from active myofibroblasts, vascular smooth muscle cells and biliary epithelial cells. When agrin, which is dependent on various growth factors, is examined, it has been reported that it has a supportive role in bile duct proliferation and a stimulating role in tumor vascularization, as in integrins (18-19,22). Agrin is an immunohistochemical marker that detects malignant nodules in the liver.

Peter Tatrai, in his study of 38 benign (8 large regenerative nodules, 23 low-grade dysplastic nodules, 7 high-grade dysplastic nodules) and 29 malignant liver lesions, determined that agrin, like CD34, was 93.1% sensitive and 92.6% specific. (20).

E.Batmunkh et al. studied agrin in 80 liver resection materials immunohistochemically. They were observed in the portal areas around the bile ducts and vascular structures in the normal liver, while they were observed in the basement membrane of the newly formed vessels in HCC. They found that basement membrane-specific tumor antigens are also present in well-differentiated HCC areas and may play a role in tumor progression (22).

When the literature was examined, no staining with Agrin/CD34 was observed in colorectal metastatic carcinomas, while we had 1 positive case in our study. It was thought that this might be caused by antibodies.

Christopher A et al. found in their work that while CDX2 staining was not observed in any of the HCC cases, positive staining was observed in all 60 colorectal carcinoma cases. While positivity was obtained in 9 of 17 cases with CCA, no staining was detected in 8 (40).

Alexandre Shariley et al. performed immunocytochemical studies to overcome the difficulties of cytological diagnosis in fine needle aspiration biopsies of the liver. In this study, they established a large panel of monoclonal antibodies, including CDX2, in the differential diagnosis of regenerative nodules and metastatic carcinomas from HCC. While a strong positivity was observed with CDX2 in most cases with colon carcinoma metastasis, they evaluated CDX2 as negative in cases with HCC and CCA (41).

A. Jinewath et al. investigated the relationship between the intestinal phenotype of the CDX2 gene with gastric and gallbladder carcinoma. They studied at CCA to demonstrate the value of immunohistochemical staining to compare the expression of this protein with clinicopathological factors of CDX2, whose role in cholangiocarcinogenesis is unknown. They found that it was expressed in 29/59 cases (49.2%). Its expression was found to be slightly higher in papillary type CCA than tubular type CCA (37.3%). They showed that papillary type CCA is more associated with intestinal type phenotype and can be used in the differential diagnosis from tubular type CCA (42).

In our study, immunoreactivity with CDX2 was observed in 18/20 (90%) cases with colon adenocarcinoma metastasis, while expression was not observed in 2/20 (10%) cases. These 2 cases were observed to be poorly differentiated.

In cases with CCA, we found a lower reactivity compared to higher values in the literature, with CDX2 positivity in 1/19 (5%) cases. We thought that this low reactivity was due to the tubular type (90%) of our cases. While no expression was observed in the literature in cases with HCC, we found CDX2 positivity in 5/20 (25%) cases in our study.

In conclusion, Glypican-3, Agrin, CDX2 were studied in 3 different types of liver tumors (Hepatocellular carcinoma, cholangiocellular carcinoma, colon adenocarcinoma metastasis) by immunohistochemical method. The antibodies studied were evaluated together with previously studied HepPar1, AFP, CEA, CD10, CK7, CK20, CK19, CK8, CK18. Expression of Glypican-3 was 85% in HCC and 15% in CCC. In HCC, 95% (19/20) expression was observed with HepPar1. In cases with HCC, positivity was 85% with GPC-3 and 75% (15/20) with AFP. With these data, it was determined that GPC3 is a superior oncofetal antigen compared to AFP. Expression of Agrin/CD342 in HCC was

95%. The expression of CDX2 in patients with colon adenocarcinoma metastases was 95%. With these findings, we concluded that GPC-3 and CDX2 are markers can be used in routine studies, and Agrin/CD34 can be put into routine practice as a result of larger series studies.

Conflict of Interest: The authors declare that no conflict of interest.

Funding: Financial Support: This study was financially supported by Atatürk University Rectorate within the scope of Scientific Research Project (BAP).

5. REFERENCES

- 1-Carol Man Tong, Stephanie Ma and Xin-Yuan Guan, Biology of Hepatic Cancer Stem Cells. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2011;1440-1746.
- 2- Asmaa Ibrahim Gomaa, shahid A Khan, Mireille B Toledano, Imam Waked, simon D Taylor-Robinson. Hepatocellular carcinoma : Epidemiology , risk factors and pathogenesis. *World Journal Gastroenterology* 2008 ;14:4300-4308.
- 3- J Schölmerich, D Schacherer. Diagnostic biopsy for hepatocellular carcinoma in cirrhosis: useful, necessary, dangerous, or academic sport? *Gut* 2004;53: 1224-1226.
- 4- Kay Washington. liver neoplasms In: Christine A. Iacobuzio-Donahue Elizabeth A. Montgomery, *Gastrointestinal and Liver Pathology* 1st ed. Churchill Livingstone Elsevier:2005;p582-632.
- 5- Linda D. Ferrel, Kim R. Geisinger. *Surgical Diseases of the Liver* In: Silverberg SG, DeLellis RA et al (eds). *Silverberg's Principles and Cytopathology*. 4th ed. Churchill Livingstone Elsevier. 2006;p1530-1536.
- 6- Jakubovic BD, Jothy S. Glypican-3: From the mutations of Simpson-Golabi-Behmel genetic syndrome to a tumor marker for hepatocellular carcinoma. *Experimental and Molecular Pathology* 2007; 184-189.
- 7- Filmus J, Glypicans in growth control and cancer. 2001;11:19R-23R. Review
- 8- Pilia G, Hughes-Benzie RM, MacKenzie A, Baybayan P, Chen EY, Huber R, Neri G, Cao A, Forabosco A, Schlessinger D. Mutations in GPC3, a glypican gene, cause the Simpson-Golabi-Behmel overgrowth
- 9- Gonzalez AD, Kaya M, Shi W, Song H, Testa JR, Penn LZ, Filmus J. OCI-5/GPC3, a glypican encoded by a gene that is mutated in the Simpson-Golabi-Behmel overgrowth syndrome, induces apoptosis in a cell line-specific manner. *The Journal of Cell Biology*. 1998 ;141:1407-14.

- 10- Xiang YY, Ladedo V, Filmus J. Glypican-3 expression is silenced in human breast cancer. *Oncogene*. 2001;20:7408-12.
- 11- Man XB, Tang L, Zhang BH, Li SJ, Qiu XH, Wu MC, Wang HY. Upregulation of Glypican-3 expression in hepatocellular carcinoma but downregulation in cholangiocarcinoma indicates its differential diagnosis value in primary liver cancers. *Liver International*. 2005 ; 25:962-6.9- Rosenberg AE., Roth S.I.:Bone In:Mills S.E.Histology for Pathologists.third edition. Lippincott Williams& Wilkins.2007:p686-697.
- 12- Coggin JH. The implications of embryonic gene expression in neoplasia.CRC Crit. rev.Onco./Hemat. 1992;5: 37-55.
- 13- Matsuura H, Takio K, Titani K, Greene T, Levery SB, Salyan ME, Hakomori S. The oncofetal structure of human fibronectin defined by monoclonal antibody FDC-6. Unique structural requirement for the antigenic specificity provided by a glycosylhexapeptide. *The Journal of Biological Chemistry*. 1988;263:3314-22.
- 14- Hsu HC, Cheng W, Lai PL. Cloning and expression of a developmentally regulated transcript MXR7 in hepatocellular carcinoma: biological significance and temporospatial distribution. *Cancer Research*. 1997;57:5179-84.15- Cho KJ, Lunderquist A. The peribiliary vascular plexus: the microvascular architecture of the bile duct in the rabbit and in clinical cases. *Radiology*. 1983;147:35764.
- 15- Washington K. Liver Neoplasms In:Lacobuzio-Donahue CA, Montgomery EA. *Gastrointestinal and Liver Pathology*. 1th ed. Churchill Livingstone Elsevier, 2005:582-632.
- 16- Anatelli F, Chuang ST, Yang XJ, Wang HL. Value of glypican 3 immunostaining in the diagnosis of hepatocellular carcinoma on needle biopsy. *Am J Clin Pathol* 2008; 130: 219–23–8.
- 17- Asmaa I Gomaa, Shahid A Khan, Edward LS Leen, Imam Waked,simon D Taylor-Robinson.Diagnosis of hepatocellular carcinoma.*World Journal of Gastroenterology* 2009;15:1301-1314.
- 18- Peter Tatrai, Jozsef Dudas, Enkhjargal Batmunkh, Miklos Mathe and et all. Agrin, a novel basement membrane component in human and rat liver, accumulates in cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Laboratory Investigation* 2006;86: 1149-1160.
- 19- Peter Tatrai. Selective deposition of agrin in the microvascularite of hepatocellular carcinoma: aspects in pathogenesis and differential diagnosis. *Semmelweis University Doctoral School of Pathology, Doctoral (Ph. D.) theses, Budapest, 2008.*
- 20- Peter Tatrai, Somoracz A, Batmunkh E and et all. Agrin and CD34 immunohistochemistry for the discrimination of benign versus malignant hepatocellular lesions. *Am J Surg Pathol*. 2009 ;33:874-85.
- 21- Ho SB, Shekels LL, Toribana NW, Kim YS, Lyftogt C, Cherwitz DL et al. Mucin gene expression in normal, preneoplastic and neoplastic human gastric epithelium. *Cancer Rec* 1995; 55:2681-90.
- 22-Batmunkh E, Tatrai P,Szabo E and et all. Comparison of the expression of agrin, a basement membrane heparin sulfate proteoglycan,in cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma. *Hum Pathology*. 2007 ;38:1508.
- 23- James R,Erler T,Kazenwadel J.Structure of the murine homeobox gene cdx-2. Expression in embryonic and adult intestinal epithelium. *J Biol Chem* 1994; 269:15229-37.
- 24- Suh E,Traber PG. An intestine-specific homeobox gene regulates proliferation and differentiation. *Mol Cel* 56- McGinnis W, Krumlauf R. Homeobox genes and axial patterning. *Cell* 1992; 68:283-302.
- 25- McGinnis W, Krumlauf R. Homeobox genes and axial patterning. *Cell* 1992; 68:283-302.
- 26- Freund JN, Domon-Dell C,Kedinger M,Duluc I. The Cdx-1 and Cdx-2 homeobox genes in the intestine. *Biochem Cell Biol* 1998;76: 957.
- 27- Mallo GV, Rechreche H, Frigerio JM, Rocha D, Zweibaum A, Lacasa M, Jordan BR, Dusetti NJ, Dagorn JC, Iovanna JL. Molecular cloning, sequencing and expression of the mRNA encoding human Cdx1 and Cdx2 homeobox. Down-regulation of Cdx1 and Cdx2 mRNA expression during colorectal carcinogenesis. *Int J Cancer*. 1997;74:3544.
- 28- Mallo GV, Soubeyran PLissitzky JC,Andre F,Farnarier C,Marvaldi J,Dagorn JC,Iovanna JL.Expression of the Cdx1 and Cdx2 homeotic genes leads to reduced malignancy in colon cancer-derived cells. *J Biol Chem*. 1998; 273:14030-6.
- 29- Sivagnanasundaram S,Islam I,Talbot I,Drummond F,Walters JR, Edwards YHThe homeobox gene CDX2 in colorectal carcinoma: a genetic analysis. *Br J Cancer*. 2001;84:218-25.
- 30- Yagi OK, Akiyama Y,Yuasa Y.Genomic structure and alterations of homeobox gene CDX2 in colorectal carcinomas. *Br J Cancer*. 1999;7:440-4.
- 31- Barbareschi M,Roldo C,Zamboni G,Capelli P,Cavazza A, Macri E, Cangi MG, Chilosi M,Dogliani C. CDX-2 homeobox gene product expression in neuroendocrine tumors: its role as a marker of intestinal neuroendocrine tumors. *Am J Surg Pathol*.2004;28:1169-76.
- 32- Stanley R. Hamilton, Lauri A. Aaltonen. :World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. Lyon France IARC Press 2000;158-202.
- 33- Rosenberg AE., Roth S.I.:Bone In:Mills S.E.Histology for Pathologists.third edition. Lippincott Williams& Wilkins.2007:p686-697.

34- Mitchell Ho and Heungnam Kim, Glypican-3: a new target for cancer immunotherapy. *Eur J Cancer*. 2011; 47: 333-338.

35-Daniel Baumhoer, Luigi Tornillo, Sylvia Stadlmann, Massimo Roncalli, Eva Karamitopoulou Diamantis, and Luigi M. Terracciano, Glypican 3 Expression in Human Nonneoplastic, Preneoplastic, and Neoplastic Tissues. *Am J Clin Pathol* 2008;129:899-906.

36- Naoko Yamauchi, Akira Watanabe, Michiyo Hishunuma and et al. The glypican3 oncofetal protein is a promising diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Modern Pathology* 2005;18:1591-1598.

37- Saverio Ligato, Daniza Mandich and Richard W Carton, Utility of glypican-3 in differentiating hepatocellular carcinoma from other primary and metastatic lesions in FNA of the liver: an immunocytochemical study. *Modern Pathology* 2008; 21:626-631.

38- Nafis Shafizade, Linda D Ferrell and Sanjay Kakar, Utility and limitations of glypican-3 expression for the diagnosis of hepatocellular carcinoma at both ends of the differentiation spectrum. *Modern Pathology* 2008;21:1011-1018.

39- Dina Kandil, Gladwyn Leiman, Mark Allegretta, Winifred Trotman, Liron Pantanowitz, Robert Goulart, Mark Evans, Glypican-3 Immunocytochemistry in Liver Fine-needle Aspirates. *Cancer Cytopathology* 2007; Volume 111, Number 5.

40- Christopher A. Moskaluk, Hong Zhang, Steven M. Powell, Lisa A. Cerilli, Garret M. Hampton, Henry F. Frierson, Jr. Cdx2 Protein Expression in Normal and Malignant Human Tissues: An Immunohistochemical Survey Using Tissue Microarrays. *Mod Pathol* 2003;16:913-919.

41- Alexandre Sherlley Casimiro Onofre, Natalia Pomjanski, Birgit Buckstegge, Alfred Böcking, Immunocytochemical Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma and Identification of Carcinomas of Unknown Primary Metastatic to the Liver on Fine-Needle Aspiration Cytologies. *Cancer Cytopathology* 2007/Volume 111/ Number 4.

42- Jinawath A, Akiyama Y, Yuasa Y, Pairojkul C, Expression of phosphorylated ERK1/2 and homeodomain protein CDX2 in cholangiocarcinoma. *J.Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132:805-10.

DÜŞÜK AKIM İLE ORTA VE YÜKSEK AKIM ANESTEZİ ALTINDAKİ HASTALARDA İNHALER ANESTEZİK VE MEDİKAL GAZ TÜKETİMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF INHALER ANESTHETIC AND MEDICAL GAS CONSUMPTION IN PATIENTS UNDER LOW FLOW WITH MEDIUM AND HIGH FLOW ANESTHESIA

Berivan BOZAN¹, Lale İBRAHİMBEYLİ¹, Ela Nur MEDETOĞLU¹, Sümeyye AL¹, Erkan Cem ÇELİK^{1✉}

1. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, Erzurum/ TÜRKİYE

ORCID: 0000-0002-40871-15511, 0000-0002-2325-026x2, 0000-0003-4514-16943, 000-0001-9283-6814⁴, 0000-0002-7773-95625

Geliş Tarihi / Received	Kabul Tarihi / Accepted	Yayın Tarihi / Published
24.04.2022	18.06.2022	31.07.2022

Bu makaleye atıfta bulunmak için / To cite this article:

Bozan B, İbrahimbeyli L, Medetoğlu EN, Al S, Çelik EC. Düşük akım ile orta ve yüksek akım anestezi altındaki hastalarda inhaler anestezi ve medikal gaz tüketimlerinin değerlendirilmesi, J Surg. Med. Sci. 2022; 1(2): 41-44

Özet

Giriş; Düşük akım anestezi ile sıcak ve nemli hava ile ventilasyon sağlanır, inhaler anesteziklerin tüketiminde azalma, oksijen, nitroz oksit gibi medikal gazların tüketiminde azalma sağlanır. Bu çalışmada hastanemiz ameliyathane ünitesinde hastalar içerisinde düşük (<1 litre/dakika) ve orta ve üstü (>1 litre/dakika) akım anestezi uygulanan hastaların inhaler anestezi tüketimleri, oksijen ve varsa nitroz oksit tüketimleri ve operasyon süreleri retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. **Metot;** Yerel etik kurul onamı sonrası çalışmaya başlanılmış ve 15 mart- 15 mayıs tarihleri arasında üroloji kliniği tarafından alınan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma için 1 litre/dakika ve aşağısındaki akım değerleri düşük akım olarak kabul edilmiştir. 2 litre/dakika ve üzeri akımlar orta tüksek akım olarak kabul edilmiştir. Çalışma grupları Grup DA (<1 litre/dakika akım) ve Grup OYA (>1 litre/dakika akım) olarak ikiye ayrılmıştır. Çalışma verileri için anestezi dokümanları değerlendirilmiş, inhaler anestezi tüketimleri, oksijen ve varsa nitroz oksit tüketimleri, operasyon süreleri ve tüketim maliyetleri bu kağıtlara kaydedilen tüketim değerleri ile elde edilmiştir. **Bulgular;** Demografik veriler değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık görülmemiştir. (p>0.05) İnhaler anestezi ve oksijen tüketimi değerlendirildiğinde düşük akım lehine istatistiksel olarak anlamlı bir azalma mevcuttu. (p<0.05) Nitroz oksit tüketimi değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık görülmemiştir. (p>0.05) **Sonuç;** Çalışma sonucunda düşük akım anestezi uygulanan hastalarda orta akım anestezi uygulanan hastalara kıyasla daha düşük inhaler anestezi, daha düşük medikal gaz tüketimi olduğu görülmüştür.

Keywords: Anestezi, Düşük akım, Sevofloran, Desfloran, Maliyet

Özet

Objectives; Under low flow anesthesia, ventilation is provided with hot and humid air, a decrease in the consumption of inhaler anesthetics and a decrease in the consumption of medical gases such as oxygen and nitrous oxide are provided. In this study, it was aimed to retrospectively evaluate the inhaler anesthesia consumption, oxygen and, if available, nitrous oxide consumption, and operation time of patients who underwent low (<1 liter/minute) and medium and high (>2 liter/minute) flow anesthesia in the operating room unit of our hospital. **Method;** After the approval of the local ethics committee, the study was started and the patients who were taken by the urology clinic between 15 March and 15 May were included in the study. Flow values of 1 liter/minute and below were accepted as low flow for the study. Flows of 2 liter/minute and above are considered as medium high flow. Study groups were divided into Group DA (<1 liter/minute flow) and Group OYA (>1 liter/minute flow). Anesthesia documents were evaluated for the study data, inhaler anesthesia consumptions, oxygen and, if any, nitrous oxide consumptions, operation duration and consumption costs were obtained with the consumption values recorded on these papers. **Results;** When demographic data were evaluated, no statistical difference was observed between the groups.(p>0.05) When inhaled anesthetic and oxygen consumption were evaluated, there was a statistically significant decrease in favor of low flow.(p<0.05) When nitrous oxide consumption was evaluated, there was no statistical difference between the groups.(p>0.05) **Conclusion;** As a result of the study, it was observed that patients who were applied low-flow anesthesia had lower inhaler anesthetic and lower medical gas consumption compared to the patients who received mid-flow anesthesia.

Anahtar kelimeler: Anesthesia, Low flow, Sevoflurane, Desflurane, Cost

1. GİRİŞ

Düşük akım anestezi, sofistike anestezi makinalarının üretimi ve kullanımını takiben dünya genelinde son 2 dekatta konuşulmaya ve kullanılmaya başlanılmıştır. İnhaler anesteziklerin tüketiminde azalma, oksijen, nitröz oksit gibi medikal gazların tüketiminde azalma, sürekli yenilenen hava ile alınan soğuk ve nem içermeyen taze gazlar yerine nemli ve sıcak gazların kullanımının artması ve medikal gazların çevre üzerine oluşturduğu olumsuz etkilerin azaltılması birçok uygulayıcı için düşük akımın kullanılması lehine motivasyon yaratmıştır.(1-2)

Sağlık sigorta giderleri nüfus artışı ile dünya genelinde yaygın şekilde artış göstermektedir. Bu sebeple bireyin alacağı her sağlık tüketimi ekonomiler üzerinde olumsuz etkiler oluşturmaktadır. (3) Düşük akım anesteziye anesteziyoloji pratiğinde tam da bu ihtiyaca yönelik bir çözüm sunmaktadır. Literatürde düşük akım anestezinin inhaler anestezik tüketimini azalttığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Düşük akım anestezinin diğer etkileri düşünüldüğünde, eğer hasta takibi iyi yapılırsa, akciğer dinamiklerini de olumlu yönde etkileyebileceği görülmüştür.(4-5)

Bu çalışmada hastanemiz ameliyathane ünitesinde 2 ay boyunca üroloji kliniği tarafından alınan hastalar içerisinde düşük (<1 litre/dakika) ve orta ve üstü (>2 litre/dakika) akım anestezi uygulanan hastaların inhaler anestezi tüketimleri, oksijen ve varsa nitröz oksit tüketimleri ve operasyon süreleri retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. METOT

Yerel etik kurul onamı sonrası çalışmaya başlanılmış ve mart ve mayıs ayları içerisinde üroloji kliniği tarafından alınan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma verileri için anestezi dokümanları değerlendirilmiş, inhaler anestezi tüketimleri, oksijen ve varsa nitröz oksit tüketimleri, operasyon süreleri ve tüketim maliyetleri bu kağıtlara kaydedilen tüketim değerleri ile elde edilmiştir. Çalışma için 1 litre/dakika ve aşağısındaki akım değerleri düşük akım olarak kabul edilmiştir. 2 litre/dakika ve üzeri akımlar orta yüksek akım olarak kabul edilmiştir. Çalışma grupları Grup DA (<1 litre/dakika akım) ve Grup OYA (>2 litre/dakika akım) olarak ikiye ayrılmıştır.

Elde edilen verilerin SPSS 20 istatistik programı üzerinden istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Verileri normal dağılım gösterip göstermediği

Kolmogorov-Smirnov testi analiz edilmiş ve normal dağılım göstermeyen veriler Mann Whitney-U testi ile değerlendirilmiştir. Kategorik veriler Ki Kare testi ile analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda istatistiksel analiz sonucunda $p<0.05$ olan veriler anlamlı olarak kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

Çalışmaya toplam 147 adet hasta dahil edilmiştir. Bu hastalardan endotrakeal entübasyon ve laringeal maske uygulaması yapılan, anestezi dokümanları ve hasta bilgi yönetim sistemi yolu ile bilgi edinilen 95 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların 73 tanesine düşük akım (35 desfloran, 38 sevofloran) 22 tanesine ise orta veya yüksek akım (11 desfloran, 11 sevofloran) ile anestezi uygulanmıştır. Hastaların 29 tanesi endotrakeal entübasyon (18 düşük akım, 11 orta veya yüksek akım) 66 tanesine laringeal maske (55 düşük akım, 11 orta veya yüksek akım) uygulanmıştır.

Demografik veriler değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık görülmemiştir. (Tablo 1) ($p>0.05$) İnhaler anestezik tüketimi değerlendirildiğinde (Grup DA; 10[5-23], 30,27±58,29, Grup OYA; 24[16-85], 51,91±67,91) düşük akım lehine istatistiksel olarak anlamlı bir azalma mevcuttu. ($p<0.05$)

Oksijen tüketimleri değerlendirildiğinde (Grup MA; 11[7-23], 27,79±39,63, Grup OYA; 64[18-79], 68,09±65,21) düşük akım lehine istatistiksel olarak anlamlı bir azalma mevcuttu. ($p<0.05$) Nitröz oksit tüketimi değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık görülmemiştir. ($p>0.05$) (Tablo 2)

4. TARTIŞMA

Çalışma sonucunda düşük akım uygulanan hastalarda inhaler anesteziklerin tüketimi ve oksijen tüketimi orta-yüksek akım anestezi uygulanan gruba kıyasla daha düşük olmuştur. Nitröz oksit tüketimleri arasında bir fark görülmemiştir.

Literatür değerlendirildiğinde 4 lt/dk ve üzeri çok yüksek akım, 2-4 lt/dk yüksek akım, 1-2 lt/dk orta akım, 0.5-1 lt/dk düşük akım, .25-0.5 lt/dk minimal akım ve <0.25 lt/dk metabolik akım olarak tanımlanmıştır.(4) Düşük akım anestezi uygulamasının CO₂ absorbanı içermesi nedeni ile yarı kapalı ve kapalı yeniden soluma sistemleri içerisinde kullanımı uygun görülmüştür.(6) Bizde bu retrospektif çalışmada 1 litre ve altını düşük akım olarak kabul ettik. Kliniğimizde anestezi uygulama

Tablo 1: Gruplar arası demografik verilerin değerlendirilmesi

	Grup DA	Grup OYA	p
Yaş	43 [29-58], 43,27±20,94	33.5[22-52], 33,68±20,89	0,94*
Kilo (kg)	76[68-83], 71,26±18,58	73.5[57-83], 62,45±27,74	0,346*
Boy (cm)	165[155-173], 159±23,12	161.5[146-173], 148,45±34,64	0,403*
Cinsiyet E/K	33/40	10/12	0,587**
Operasyon Süresi (dk)	45[33-62], 80,53±95,98	68.5[40-130], 100,45±90,32	0,75*
ET/LMA	18/55	11/11	0,34**

Veriler sayı, median [%25-%75] veya ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. Kg; kilogram, cm; santimetre, E; erkek, K; kadın, dk; dakika, ET, endotrakeal entübasyon, LMA; laringeal maske

*Mann-Whitney-U testi

** Ki-kare testi

Tablo 2: Gruplar arası inhaler anestezi, oksijen ve nitroz oksit tüketimlerinin değerlendirilmesi.

	Grup DA	Grup OYA	p
İnhaler anestezi (D/S)	35/38	11/11	0.529*
Sevofloran Tüketimi (ml)	6[4-12], 10,13±11,43	24[16-39], 35,64±31,37	<0.001**
Desfloran Tüketimi (ml)	21[10-51], 48,14±68,31	31[24-110], 74,09±86,15	0.029**
Nitroz oksit tüketimi (L)	0[0-0], 1,53±6,48	0[0-0], 2,50±11,73	0.606**
Oksijen Tüketimi (L)	11[7-23], 27,79±39,63	64[18-79], 68,09±65,21	0.001**

Veriler sayı, median [%25-%75], ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. ml; mililitre, L; Litre,

* Ki-kare testi

** Mann-Whitney-U test

öncesi 200 ml ve altının kaçak sınırı olarak belirlememiz nedeniyle testi geçmeyen cihazlar farklı cihazlarla değiştirilerek kullanıldı.

Ürolojik cerrahiler, barındırdığı hasta ve operasyon türleri ile farklı anestezi türlerinin uygulanması açısından oldukça çeşitli girişimler barındırmaktadır. Sedasyon anestesinin yanında supraglottik havayolu araçları, endotrakeal entübasyon ve rejyonel anestezi girişimlerinin hepsi ürolojik cerrahi girişimlerde anestezi pratiğinde mevcuttur. Bu çalışmada düşük anestezi kullanımı açısından sadece endotrakeal entübasyon uygulanan ve supraglottik havayolu uygulanan hastalar dâhil edilmiştir.(7) Literatürde düşük akım anestezide supraglottik enstürmanların güvenle kullanıldığı birçok çalışma bulunmaktadır. Genellikle kısa süreli vakaların anestezi yönetiminde kullanılması sebebiyle tüketim açısından endotrakeal entübasyon uygulanan hastalara kıyasla supraglottik cihazlar düşük akım pratiğinde tüketim haricinde nemli-sıcak taze gaz tüketimi gibi sekonder faydaları gözetilerek kullanılması daha rasyonel görülmektedir.

Her ne kadar cerrahi girişimlerin yanında anestezi harcamaları düşük bir meblağ tutsa da miktar

açısından sayıca fazla miktarda anestezi uygulanması yekünde yüksek harcama matrahı oluşturmaktadır.(3) Ayrıca giderek artan sağlık harcamalarının ve tedavi giderleri sigorta ücretlerinde artışa neden olmaktadır. Bu artışın önüne geçebilmek adına rasyonel verilerle kanıtlanmış tedavi modaliteleri büyük önem arz etmektedir. Genel anestezi uygulanan hastalarda ventilasyon esnasında anestezi taze gaz akış miktarının azaltılması da rasyonel olarak kanıtlanmış bir tasarruf tekniğidir. Yapılan bir çalışmada yüksek ve düşük akım sevofloran, yüksek ve düşük akım izofloran ve total intravöz anestezi (TIVA) uygulanan hasta gruplarında en düşük ilaç maliyetinin düşük akım izofloran uygulanan hasta gruplarında en yüksek maliyetin ise TIVA ile olduğu gösterilmiştir.(8) Çocuklarda anestezi induksiyonu ve anestezi idamesinde standart 8 lt/dakika ve 1 lt/dakika taze gaz ile sevofloran ile anestezi induksiyonu uygulanan çocuk hastalarda anestezi tüketimlerinde anlamlı düzeyde düşüşün olduğu, başarılı laringeal maske uygulama zamanlarının benzer olduğu, uygulamaya sekonder hemodinamik yanıtlarda bir fark olmadığı ve ek iv anestezi ihtiyaçlarının da benzer olduğu görülmüştür.(9)

Literatür değerlendirildiğinde düşük akım anestezi modaliteleri daha çok inhaler anestezi tüketimi ile ilişkilendirilirse de taze gaz tüketiminin azalması oksijen ve azot gibi medikal ve sürükleyici gazların tüketimini de azaltmaktadır.(8) Kafalı ve kafsız tüpler ile endotrakeal entübasyon uygulanan çocuk hastalarda sevofloran ve medikal gaz tüketimlerinin değerlendirildiği bir çalışmada medikal gaz tüketimlerinin yarı yarıya düştüğü görülmüştür. (10) Bu çalışma her ne kadar düşük akım çalışması olarak gözükmese de kafsız tüp ile ventilasyon yapılan hasta grubunda dakikalık akım iki kat olarak belirlenmiş olması düşük akım anestezi pratiği ile örtüşmektedir.(11)

Tüm bu verilerin aksine yeni absorbanların fiyat yükseklikleri nedeniyle düşük akım sırasında absorban tüketimlerindeki artışların maliyetleri artırabileceği veya fiyat avantajı oluşturmadığını bildiren farklı çalışmalarda mevcuttur.(3)

Bu çalışma da bazı limitasyonlar bulunmaktadır. Çalışmanın retrospektif olması verilerin doğruluğu ve eksikliği, sadece ürolojik cerrahileri içermesi nedeniyle cerrahi çeşitliliğinin sınırlı olması, nitroz oksit kullanımının az olması nitroz oksit tüketimi açısından sınırlı bir fikir vermesi açısından limitasyonlar içermektedir. Ayrıca tam maliyetin hesaplanabilmesi açısından sodalime gibi karbondioksit absorbanlarının tüketimi bu çalışma içerisinde değerlendirilmemiştir.

Çalışma sonucunda düşük akım anestezi uygulanan hastalarda orta akım anestezi uygulanan hastalara kıyasla daha düşük inhaler anestezik, daha düşük medikal gaz tüketimi olduğu görülmüştür.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Finansman: Yok.

5. KAYNAKLAR

1. Varughese S, Ahmed R. Environmental and Occupational Considerations of Anesthesia: A Narrative Review and Update. *Anesth Analg*. 2021 Oct;133(4):826–35.
2. Brattwall M, Warrén-Stomberg M, Hesselvik F, Jakobsson J. Brief review: theory and practice of minimal fresh gas flow anesthesia. *Canadian journal of anaesthesia = Journal canadien d'anesthesie*. 2012 Aug;59(8):785–97.
3. Odin I, Feiss P. Low flow and economics of inhalational anaesthesia. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2005 Sep;19(3):399–413.
4. Colak YZ, Toprak HI. Feasibility, safety, and economic consequences of using low flow anesthesia according to body weight. *J Anesth*. 2020 Aug;34(4):537–42.
5. Doger C, Kahveci K, Ornek D, But A, Aksoy M, Gokcinar D, et al. Effects of Low-Flow Sevoflurane Anesthesia on Pulmonary Functions in Patients Undergoing Laparoscopic Abdominal Surgery. *Biomed Res Int*. 2016;2016:3068467.
6. Baum J, Stanke HG. [Low-flow and minimal-flow anesthesia with sevoflurane]. *Anaesthesist*. 1998 Nov;47 Suppl 1:S70–6.
7. El-Seify ZA, Khattab AM, Shaaban A, Radojevic D, Jankovic I. Low flow anesthesia: Efficacy and outcome of laryngeal mask airway versus pressure-optimized cuffed-endotracheal tube. *Saudi J Anaesth*. 2010 Jan;4(1):6–10.
8. Malhotra R, Kumar N, Jain A. Cost identification analysis of general anesthesia. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2020;36(2):219–26.
9. Singh A, Sinha R, Aravindan A, Kumar KR, Datta PK. Comparison of low-fresh gas flow technique to standard technique of sevoflurane induction in children-A randomized controlled trial. *Paediatr Anaesth*. 2019 Apr;29(4):304–9.
10. Boonmak P, Boonmak S, Pattanittum P. High initial concentration versus low initial concentration sevoflurane for inhalational induction of anaesthesia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Sep;(9):CD006837.
11. Eschertzhuber S, Salgo B, Schmitz A, Roth W, Frotzler A, Keller CH, et al. Cuffed endotracheal tubes in children reduce sevoflurane and medical gas consumption and related costs. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2010 Aug;54(7):855–8

EFFECTIVENESS OF INTRAPLEURAL FIBRINOLYTIC THERAPY

İNTRAPLEVRAL FİBRİNOLİTİK TEDAVİ ETKİNLİĞİ

Mehmet AĞAR^{1✉}, İlham GÜLÇEK², Muhammed KALKAN²

1-Department of Thoracic Surgery, Fethi Sekin City Hospital, Elazığ, Turkey

2-Department of Thoracic Surgery, İnönü University, Turgut Özal Medical Center, Malatya, Turkey

ORCID: 0000-0002-4129¹-766X, 0000-0001-6204-455X², 0000-0003-2952-3502³

Received/Geliş Tarihi	Accepted/Kabul Tarihi	Published/Yayın Tarihi
18.04.2022	18.06.2022	31.07.2022

To cite this article/Bu makaleye atıfta bulunmak için:

Agar M, Gulcek I, Kalkan M. Effectiveness of intrapleural fibrinolytic therapy, J Surg. Med. Sci. 2022; 1(2): 45-49

Abstract

Objectives: Fluids filling the complicated pleural space may disrupt the normal function of the lung and require medical or surgical intervention. Streptokinase or Tissue Plasminogen Activator (tPA) acts by breaking down fibrin and some other proteins, and with intrapleural fibrinolytic therapy (IPFT) performed at the appropriate time, this process can be interrupted, the development of fibrous crust on the lung can be prevented, and the patient can be saved from undergoing more invasive procedures. **Method:** In this study, 280 cases who underwent IPFT with tube/catheter thoracostomy between 2003 and 2020 were reviewed retrospectively. Fibrinolytic agent dissolved in 100 cc saline was administered through the intrapleural space via tube or catheter thoracostomy. Thoracostomy tube or catheter was clamped for 1-4 hours to ensure optimum effect. Then, the clamp was opened, and the patient was followed up with close drainage. As an IPFT agent in 100 cc of saline solution, 250000 IU of streptokinase or daily doses of 5-10mg Tissue Plasminogen Activator (tPA) was applied. **Results:** A total of 280 patients (195 (69.6%) male and 85 (30.6%) female) with a mean age of 51.5 (5-86) years underwent IPFT. Streptokinase was applied through the pleural space to 85 (30.3%) and Tissue Plasminogen Activator (tPA) to 195 (69.7%) cases. After this treatment, complete response was obtained in 252 and partial response in 11 patients. As complications, intrapleural bleeding was observed in 12 and aseptic pouch in 13 cases. The success of the treatment was determined as 90 percent. **Conclusion:** Instead of more invasive surgical procedures in the treatment of non-draining complicated pleural effusion, IPFT is a safe, effective, and highly successful procedure with a lower side effect profile.

Keywords: Intrapleural fibrinolytic, Streptokinase, Tissue plasminogen activator (tPA), Pleural effusion**Özet**

Giriş: Komplike olmuş plevral aralığı dolduran sıvılar akciğerin restriksiyonuna neden olarak ekspansiyonunu engeller. Böylece akciğerin normal işlevini bozarak müdahale gerektirecek duruma gelmesine neden olabilirler. Streptokinaz ya da Tissue Plazminojen Aktivatörü (tPA) intra plevral boşluğa verilerek bu alanda oluşan fibrin ve diğer bazı proteinleri parçalayarak etki eder. Uygun zamanda yapılan intraplevral fibrinolitik tedavi (IPFT) ile fibrin oluşma süreci kesintiye uğrattırılır. Böylece akciğer üzerinde fibröz kabuk gelişimi önlenerek hasta daha invaziv işlemlerden kurtarılabilir. **Metot:** Bu çalışmada 2003-2020 yılları arasında komplike olmuş plevral aralığı dolduran sıvılar için tüp veya kateter torakostomisi ile IPFT uygulanan 280 olgu retrospektif olarak incelendi. Fibrinolitik ajan, 100 cc serum fizyolojik içerisinde tüp veya kateter torakostomi aracılığı ile intraplevral boşluğa verildi. Optimum etkiyi sağlamak için tüp veya kateter torakostomi 1-4 saat klemlendi. Sonrasında klemp açılarak yakın drenaj takipleri yapıldı. IPFT ajanı olarak 100 cc SF içinde 250000 IU streptokinaz veya 5-10mg/gün Tissue Plazminojen Aktivatörü (tPA) uygulandı. **Bulgular:** IPFT uygulanan 280 hastanın 195'i (%69.6) erkek, 85'i (%30.6) kadın hastaydı. Hastaların ortalama yaşı 51.5 (en küçük 5y ve en büyük 86y) olarak hesaplandı. Plevral aralıktan 85 (%30.3) olguya streptokinaz, 195 (%69.7) olguya Tissue Plazminojen Aktivatörü (tPA) uygulandı. Uygulanan bu tedavi sonrası hastaların 252'sinde tam yanıt, 11'inde kısmi yanıt alınırken, tedavi uygulanmasına rağmen 17 hastada tedaviye yanıt alınmadı. Komplikasyon olarak hastaların 12'sinde intraplevral kanama ve 13'ünde aseptik poş gözlemlendi. Uyguladığımız bu tedavinin başarısı %90 olarak belirlendi. **Sonuç:** Drene olmayan komplike plevral efüzyon tedavisinde daha invazif cerrahi girişimler yerine IPFT güvenli, etkili ve yan etkisi az başarısı yüksek, bir uygulamadır.

Anahtar kelimeler: İntraplevral fibrinolitik, Streptokinaz, Tissue plazminojen aktivatörü (t-PA), Plevral efüzyon.

1. INTRODUCTION

Activation of the plasminogen-plasmin system provides degradation and polymerization of fibrin. Activation of this system is either through a factor 12-into two groups extrinsic (tissue) and intrinsic (vessel wall) activators (Figure 1). Although the treatment and approach protocols vary according to the etiology of the pleural effusion developed, the generally applied treatment methods are; pleural drainage methods such as the application of catheter/tube thoracostomy into the pleural space, parenteral antibiotic treatments, surgical interventions such as IPFT, video thoracoscopic surgery (VATS) or thoracotomy. IPFT, which combines medical or interventional methods, is the treatment with fibrinolytic agents delivered into the intrapleural space according to the etiology of the effusion. Intrapleural fibrinolytic therapy (IPFT) provides drainage in complicated pleural fluids that cannot be drained by conventional methods and prevent patients from resorting to more aggressive diagnostic and treatment methods (1).

dependent pathway or with the aid of plasminogen activators (PAs). Plasminogen activators are divided

Fluids filling the complicated pleural space may disrupt the normal function of the lung and require intervention. Adequate and complete drainage may not be achieved with catheter/tube thoracostomy. A fibrous crust may form over the lung within 7-10 days in blood, clots, empyema, and benign or malignant pleural fluids that cannot be drained effectively and ultimately cause lung restriction and prevent its expansion. Streptokinase or Tissue Plasminogen Activator (tPA) acts by breaking down fibrin and some other proteins, and this process can be interrupted by IPFT performed at the appropriate time. The development of fibrous crust on the lung can be prevented, thereby saving the patient from the application of more invasive procedures.

Figure 1: Mechanism of fibrin formation

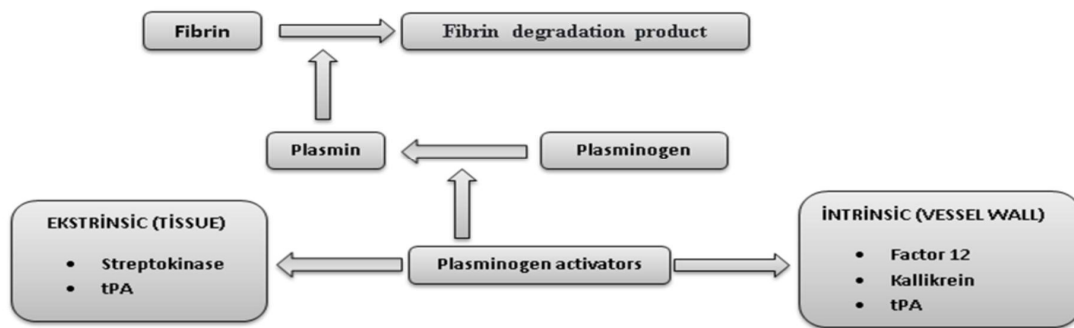
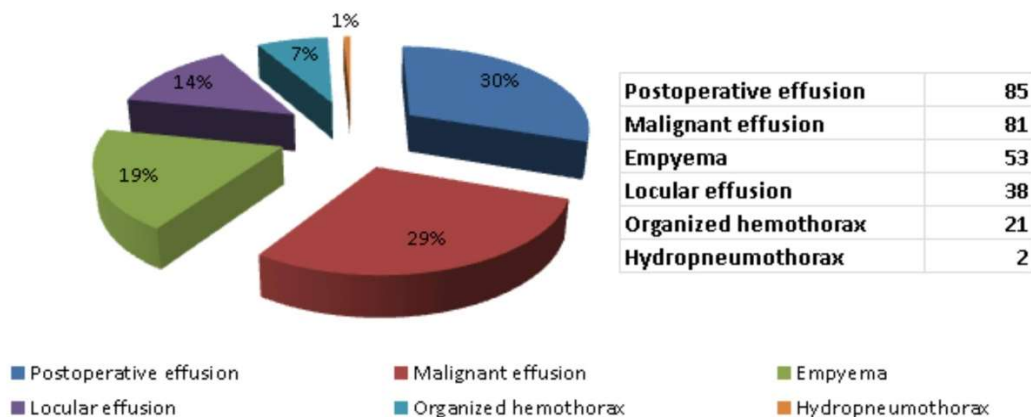


Figure 2:. Diagnoses and distribution of patients who underwent IPFT



Postoperative effusion	85
Malignant effusion	81
Empyema	53
Locular effusion	38
Organized hemothorax	21
Hydropneumothorax	2

2. METHODS

In this study, 280 cases who underwent IPFT with tube or catheter thoracostomy between 2003 and 2020 were reviewed retrospectively. Our cases were evaluated in terms of age, gender, indications for applied procedures, application methods, response to treatment, and complications. IPFT was planned for the cases where complete drainage could not be achieved with catheter or tube thoracostomy, and clinical and radiological improvement was not detected. Streptokinase (250000 IU/day) or Tissue Plasminogen Activator (tPA) (5-10 mg/day) were used as IPFT agents. One of them was reconstituted with 100 cc saline solution and applied through the intrapleural cavity by tube or catheter thoracostomy. Then catheter was clamped for 1-4 hours to ensure the optimum effect of the drug. During this period, the patient's positions were changed to allow the agent to penetrate the intrapleural space better. Then the clamp was opened, and the patient was followed up with close drainage. Intrapleural fibrinolytic agents were administered to the cases 1-7 times on average.

3. RESULTS

A total of 280 patients [195 (69.6%) males and 85 (30.6%) females] with a mean age of 51.5 years range, 5-86 years underwent IPFT. Catheter thoracostomy was performed in 114 (40.7%), and tube thoracostomy in 166 (59.3%) cases. These patients received IPFT with the indications of postoperative pleural effusion (n=85), malignant pleural effusion (n=81), empyema (n=53), loculated pleural effusion (n=38), organized hemothorax (n=21), and hydropneumothorax (n=2) (Figure 2). Streptokinase was applied to 85 (30.3%) cases, and Tissue Plasminogen Activator (tPA) was applied to 195 (69.7%) cases through the pleural space. After this treatment, complete response was obtained in 252 and partial response in 11 patients. Treatment of 17 patients who were unresponsive to IPFT was completed with VATS (n=10) or thoracotomy with pleural debridement (n=7). As complications, intrapleural bleeding was observed in 12 and aseptic pouch in 13 cases. Among patients who developed intrapleural hemorrhage, only 4 cases required blood transfusion. These patients' treatment was interrupted, and supportive care with erythrocyte suspension was provided.

The criteria for unresponsiveness to treatment were determined as the treatment-refractory active drainage, lack of clinical and radiological improvement, failure to restore normal lung capacity, and the presence of a pouch on the drained side

despite drainage. Treatment response in patients who underwent IPFT was evaluated with PA AC radiographs. The success of the treatment was determined as 90%. Only 6% of the patients did not respond to the treatment. Those patients' treatment was achieved with surgical interventions (Table 1).

Table 1. Distribution of responses to treatment

Response to treatment	Number (n)	Percent (%)
Full response	252	90%
Partial response	11	4%
Unsuccessful	17	6%

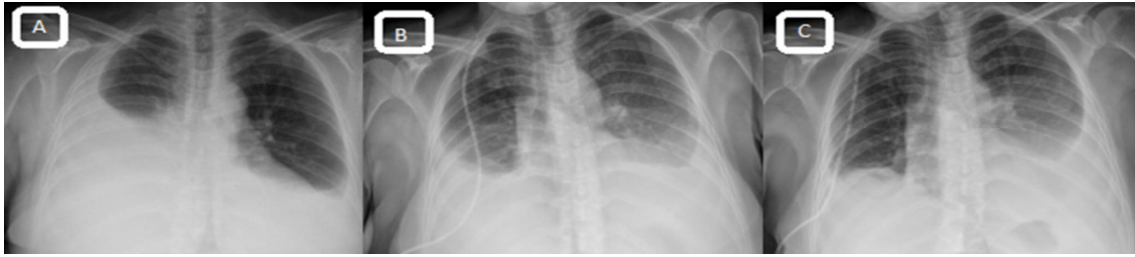
4. DISCUSSION

The most common causes of malignant pleural effusions are lung cancer in men and pleural effusions due to breast cancer in women. The most common cause of benign pleural effusions is parapneumonic effusions. The incidence of parapneumonic effusion in patients hospitalized for pneumonia and receiving treatment is 20 to 40 percent (3). The incidence of empyema among these patients ranges between 1 to 5 percent (4). Intrapleural fibrinolytic treatment is often effective in complicated pleural effusions refractory to medical treatment or those that cannot be drained by catheter thoracostomy.

The most commonly used agents are streptokinase, urokinase, and tissue plasminogen activator (tPA). Streptokinase is a protein with a half-life of 18-83 minutes, and group C beta-hemolytic streptococci synthesize it. It manifests its effect by binding to the plasminogen proactivator and converting inactive plasminogen to active plasmin. Activated plasmin also breaks down fibrin. Urokinase is an enzyme synthesized by the kidney and exerts its effect by directly converting plasminogen to active plasmin. Tissue plasminogen activator is an endogenously and recombinantly produced agent with a half-life of 5-72 minutes and shows its effect by activating fibrin-bound plasminogen. (5).

As a very effective method, the success of IPFT is reported to be in the range of 80-94 percent in the literature reviews. Ulutaş et al. applied IPFT to 85 patients with had a postprocedural success rate of 91.8 percent (1). Similarly, Robinson et al. (n=13), Inci et al. (n=24), and Thommi et al. reported postprocedural success rates of 77%, 91.7%, and

Figure 3: Effusion that did not regress (B) despite the application of pleurecan in a patient with a diagnosis of ovarian cancer (A) and PA AC X-ray after IPFT (C)



85%, respectively (6,7,8). In our study, in line with the literature, the complete response rate to treatment was 90% in patients who underwent IPFT too. In many studies conducted on different groups, varying results have been obtained in parameters such as response to treatment, clinical improvement, or reduced need for surgery. In a randomized controlled study conducted by Tunçözgür et al., intrapleural urokinase was administered to 24 of 49 patients and intrapleural saline to 25 of them. As a result, the authors had found that the fluid drainage significantly increased, the length of hospital stay decreased, and the need for surgery decreased in the group treated with urokinase (9). Contrary to this, in a study conducted by Maskell et al. (MIST1 group), 427 patients were divided into intrapleural streptokinase and saline placebo groups. No difference was observed between groups in terms of mortality, need for surgery, radiological outcome, and hospital stay (10). Similarly, Cameron et al. reviewed data analysis of 761 cases included in the Cochrane database in 2008 and had not observed any decrease in mortality in the group receiving intrapleural fibrinolytic therapy (11). In a retrospective study conducted by Skeete et al. on 41 patients, radiological regression was observed with tPA application in 79% of the patients, the need for surgery was eliminated in 78% of the patients, and surgery was performed in 2 patients with hemothorax (12). In our study, the need for surgery decreased considerably after IPFT, and only 6% of the patients were operated due to unresponsiveness to treatment. Fibrinolytic therapy's common side effects are chest pain, fever, allergic reaction, and intrapleural bleeding. (13). The most common complication of IPFT is intrapleural bleeding. The incidence of intrapleural bleeding in patients receiving IPFT has been reported to 1.8 to 12 percent (14-17). Abu Daft et al. reported that pleural bleeding developed in 15 patients in their series of 237 patients, and emergency thoracotomy was required in 3 patients (18). In our study, intrapleural hemorrhage developed in 12 (4.2%) patients who underwent IPFT, and blood transfusion was required in 4 cases. Bleeding was controlled by interrupting the treatment. Despite the possibility of complications, IPFT is a safe treatment

method. Publications show that it can be used safely in pregnant women and children (19).

5. CONCLUSION

IPFT can be applied before surgical interventions when loculated empyemas, organized hemothorax-hematomas, densely fibrinous and non-draining malignant-benign pleural effusions. It is a safe, effective, and highly successful procedure with a lower side-effect profile. It still maintains its effectiveness as an alternative to surgery.

Conflict of Interest: The authors declare that no conflict of interest.

Funding: None.

6. REFERENCES

1. Ulutaş H, Çelik MR, Kuzucu A. Intrapleural Fibrinolytic Treatment: Management of 85 Cases. *Journal of Turgut Ozal Medical Center* 2015;22(2):99-102. DOI: 10.7247/jtomc.2014.2367
2. Tillett WS, Sherry S. The effect in patients of streptococcal fibrinolysin (streptokinase) and streptococcal desoxyribonuclease on fibrinous, purulent, and sanguinous pleural exudations. *J Clin Invest* 1949; 28:173-90.
3. Light RW. Parapneumonic effusions and empyema. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3: 75-80.
4. Maskell NA, Davies CW, Nunn AJ. UK Controlled trial of intrapleural streptokinase for pleural infection. *N Engl J Med* 2005; 352: 865-74.
5. Bridevaux PO, Tschopp JM, Cardillo G, Marquette CH, Noppen M, Astoul P. Short-term safety of thoracoscopic talc pleurodesis for recurrent primary spontaneous pneumothorax: a prospective

6. Cameron R, Davies HR. Intrapleural fibrinolytic therapy versus conservative management in the treatment of adult parapneumonic effusions and empyema. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; CD002312.
7. Skeete DA, Rutherford EJ, Schlidt SA, et al. Intrapleural tissue plasminogen activator for complicated pleural effusions. *J Trauma* 2004;57:1178-83.
8. Ozcelik C, Inci I, Nizam O, Onat S. Intrapleural fibrinolytic treatment of multiloculated postpneumonic empyemas. *Ann Thorac Surg* 2003;76:1849-53.
9. Piccolo F, Pitman N, Bhatnagar R, et al. Intrapleural tissue plasminogen activator and deoxyribonuclease for pleural infection. An effective and safe alternative to surgery. *Ann Am Thorac Soc* 2014;11:1419-25.
10. Majid A, Kheir F, Folch A, et al. Concurrent Intrapleural Instillation of Tissue Plasminogen Activator and DNase for Pleural Infection. A Single-Center Experience. *Ann Am Thorac Soc* 2016;13:1512-8.
11. Mehta HJ, Biswas A, Penley AM, et al. Management of Intrapleural Sepsis with Once Daily Use of Tissue Plasminogen Activator and Deoxyribonuclease. *Respiration* 2016; 91:101-6.
12. Alemán C, Porcel JM, Alegre J, et al. Intrapleural Fibrinolysis with Urokinase Versus Alteplase in Complicated Parapneumonic Pleural Effusions and Empyemas: A Prospective Randomized Study. *Lung* 2015;193:993-1000.
13. Abu Daft S, Donna E.M, Derar A. et al. Intrapleural fibrinolytic therapy (IPFT) in loculated pleural effusions: analysis of predictors for failure of therapy and bleeding: a cohort study. *BMJ Open* 2013;3:e001887.
14. Ulutas H, Yekeler E, Sak ZHA, Doru I, Kuzucu A. Fibrinolytic therapy for parapneumonic empyema during pregnancy. *Respiratory Medicine Case Reports* 2012; volume 5, page 55-58.

NİGELLA SATİVA EKSTRESİNİN CAS: 490-91-5 DENEYSEL SUBARAKNOİD KANAMAYA BAĞLI VASKÜLER DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN İŞİK MİKROSKOBİK VE STEREOLOJİK İNCELENMESİ

THE STEREOLOGICAL AND LIGHT MICROSCOPY INVESTIGATION OF THE EFFECT OF NIGELLA SATİVA EXTRACT CAS: 490-91-5 ON VASCULAR CHANGES IN EXPERIMENTAL SUBARACHNOID HEMORRHAGE MODEL

Mehmet Kürşat KARADAĞ¹✉, Hakan Hadi KADIOĞLU¹

1. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Erzurum/TÜRKİYE

ORCID: 0000-0001-9123-0597, 0000-0002-7744-6241

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
06.06.2022	24.06.2022	31.07.2022

Bu makaleye atıfta bulunmak için / to cite this article:

Karadag M, Kadioğlu G. Nigella sativa ekstresinin cas: 490-91-5 deneysel subaraknoid kanamaya bağlı vasküler değişiklikler üzerine olan etkisinin ışık mikroskopik ve stereolojik incelenmesi, J Surg. Med. Sci. 2022; 1(2): 50-60

Özet

Giriş: Bu çalışmada Nigella Sativa Ekstresinin CAS:490-91-5, ratlarda oluşturulan deneysel subaraknoid kanama modelinde vazospazm üzerine etkileri incelendi. **Metot:** 60 adet erkek Wistar cinsi albino rat, altı gruba ayrıldı. Grup 1 (kontrol), grup 2 (sham), grup 3 (subaraknoid kanama sonrası birinci saatte dekapitasyon), grup 4 (subaraknoid kanama sonrası 48. saatte dekapitasyon), grup 5 (subaraknoid kanama öncesi thymoquinone verilip, 6 saat sonrasında subaraknoid kanama oluşturulup bundan 1 saat sonra dekapitasyon) ve grup 6 (subaraknoid kanama sonrası birinci, 24. ve 48. saatlerde thymoquinone verilip sonrasında dekapitasyon) olarak tanzim edildi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda dimetil sülfoksit yardımı ile dilüe edilerek hazırlanan thymoquinone, 5mg/kg dozunda intraperitoneal yolla verildi. İşlem sırasında 8 adet rat kaybı oldu. Kalan 52 adet ratın dekapitasyon işlemi sonrasında baziler arterlerin lümen alanları ve duvar kalınlıkları stereolojik yöntemle histopatolojik olarak incelendi. **Bulgular:** Subaraknoid kanama öncesi tek doz verilen (grup5) ve subaraknoid kanama sonrası 3 gün thymoquinone verilen (grup6) grupların her ikisi de hiç thymoquinone verilmeyen (grup3) gruba göre baziller arter lümen alanlarında genişleme istatistiksel olarak anlamlıdır. Arter duvar kalınlıkları thymoquinone verilen (grup6 ve grup5) gruplar ile thymoquinone verilmeyenler (grup3, grup4) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu sonuç bize ilaç verilme ve verilmeme durumu arasında duvar kalınlığı açısından farklılık olduğunu ortaya koymuş, ilaç verilen gruplarda duvar kalınlığı azalmıştır. **Sonuç:** Bu çalışmada elde edilen bulgular, thymoquinone'nun ratlarda subaraknoid kanama sonrası vazospazmı önleyici olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Nigella Sativa Ekstresi CAS:490-91-5, stereoloji, subaraknoid kanama, vazospazm

Abstract

Objective: In this study, the effect of Nigella Sativa Extract CAS: 490-91-5 The effects on vasospasm in an experimental subarachnoid hemorrhage model in rats was investigated. **Method:** 60 male Wistar albino rats divided into 6 groups as following; Group 1 (control), group 2 (sham), group 3 (decapitation, one hour after subarachnoid hemorrhage), group 4 (decapitation, 48 hours after subarachnoid hemorrhage), group 5 (6 hours prior to subarachnoid hemorrhage thymoquinone injection and one hour later after subarachnoid hemorrhage decapitation), group 6 (thymoquinone injection 1, 24 and 48 hours later subarachnoid hemorrhage and decapitation after last injection). Thymoquinone that prepared in the Atatürk University Biochemistry Laboratory via dilatation of dimethyl sulfoxide injected intraperitoneally with the dose of 5mg/kg to the rats. 8 rats died during the procedure. The basilar artery lumen size and wall thickness of remaining 52 rats investigated with a stereological approach histopathologically after decapitation. **Results:** The widening of basilar artery lumen of group 5 (one dose of thymoquinone) and group 6 (3 doses of thymoquinone after subarachnoid hemorrhage) is statistically significantly increased than group 3 (no thymoquinone injection). The difference of artery wall thicknesses between thymoquinone injected groups (5 and 6) and non-thymoquinone injected groups (3-4) are also statistically significant. This result indicates that the thymoquinone effectively makes a significant difference to the wall thickness, thymoquinone injected groups have decreased wall thickness. **Conclusion:** The result of this study shows that thyquinone scan prevent vasospasm related to subarachnoid hemorrhage. Further studies that use this agent in clinical trials are needed to show the clinical effects of thymoquinone.

Key Words: Nigella Sativa Extract CAS: 490-91-5, stereology, subarachnoid hemorrhage, vasospasms

1. GİRİŞ

Subaraknoid kanama (SAK), değişik patolojilere bağlı olarak pia mater ile araknoid mater arasındaki beyin omurilik sıvısının bulunduğu subaraknoid mesafede kan bulunması olarak tanımlanmaktadır. SAK ciddi mortalite ve morbiditeye sebep olabilen akut serebrovasküler bir patolojidir (1). Serebrovasküler hastalıklar arasında aterotromboz, emboli ve primer intraserebral kanamayı takiben 4.sıklıkta SAK yer almaktadır. SAK'ın en sık sebebi travmadır. Travma dışı SAK'lara ise primer veya spontan SAK denir. Erişkinlerde travmatik olmayan SAK'ın yaklaşık olarak %85 nedeni sakküler anevrizmaların rüptüre olmasıdır. İntrakranial arteriovenöz malformasyonlar, hipertansiyon, ateroskleroz, intrakranial tümörler, vaskülitler, kanama diyatezleri, kanama diskrazileri, enfeksiyonlar, cerrahi girişimler, intoksikasyonlar ve idiopatik sebepler yer almaktadır (2, 3).

SAK'ın görülme sıklığı ırklar arasında değişkenlik göstermektedir. Anevrizmal SAK'ın görülme sıklığı Finlandiya ve Japon ırklarında daha fazla olmakla birlikte ortalama 6-7/100.000'dir. SAK insidansı kadınlarda erkeklere göre 1.6 kat daha fazladır. SAK en sık 60 yaş ve üzeri kişilerde görülmektedir (5, 6). SAK sonrası yeniden kanama, vazospazm (VS), hidrosefali, intraventriküler ve intraserebral kanamalar, nöbet, sıvı elektrolit bozuklukları, beyin ödemi, serebral iskemik morbidite ve mortaliteyi önemli oranda artıran komplikasyonlardır. SAK'nın %30 mortalitesi ve %40-50 oranında morbiditesi bulunmaktadır. Kanama sonrası serebral dolaşım bozukluğu ve nöronal hasar nedeniyle SAK geçiren her 10 hastadan ancak 2'si kanama öncesi durumunu geri dönmektedir (3).

Serebral vazospazm; SAK sonrası serebral arterlerin geri dönüşümlü olarak daralmasıdır. SAK sonrası 3-7 günler arasında gelişir ve 14.günden sonra geriler. Anjiyografik vazospazm yaklaşık %70-80 oranında izlenirken, klinik vazospazm ise hastaların yaklaşık %30'unda gözlenir. SAK sonrası serebral infarkt ise %26 oranında izlenmektedir. SAK'a bağlı gelişen morbidite ve mortalitede birinci derecede etken vazospazmdır. Yıllardan beri yapılan klinik, laboratuvar ve deneysel çalışmalara rağmen hala vazospazma dair açıklanamayan hususlar bulunmaktadır (6).

Vazospazm ile ilgili bugüne kadar yapılan deneysel çalışmalarda birçok teori öne sürülmüştür. Bu çalışmaların bir kısmında damar duvarı değişiklikleri sonucunda hücrel immünite kaynaklı vaskülopati ve inflamasyonun vazospazma neden olduğu gösterilmiştir. Bu inflamasyon sonrası vazospazma "MyD88-nuclear factor kB(NF-kB)" bağımlı patolojik sinyal yolağı üzerinden tümör nekrotizan faktör alfa (TNF-alfa), İnterlökin 1b (IL-

1B) ve interlökin 6 (IL-6) başta olmak üzere inflamatuvar sitokinler sebep olmaktadır (7). Yine yapılan çalışmalarda SAK'da subaraknoid mesafedeki oksihemoglobinin oksidasyonu ile methemoglobin ve superoksit anyon radikallerinin oluştuğu gösterilmektedir. Bunların da lipit peroksidasyonuna yol açtığı ve sonucunda hidroksil radikalleri ile lipit peroksitlerin meydana gelerek, serbest radikaller ile birlikte güçlü vazospazm etkinliğe sahip oldukları gösterilmektedir (8).

Thymoquinone (TQ), Ranunculaceae botanik ailesine üye olan Nigella sativa veya halk arasında çörek otu olarak adlandırılan bitkiden üretilmektedir. Çörek otu insanoğlu tarafından 2000 yıldan fazla süredir birçok hastalıkta geleneksel olarak kullanılmıştır. (9) Çörek otunun biyolojik olarak aktif kısmının yağ derivesi içerisinde fikse edilen "2-isopropyl-5-methylbenzo-1, 4-quinone (Thymoquinone)" isimli madde olduğu yapılan kimyasal çalışmalar ile ortaya konulmuştur (10).

TQ 'nun antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliği olduğu bilinmektedir. TQ, demir bağımlı lipit peroksidasyonunu güçlü bir şekilde engellemektedir. Vazospazmotik etkinliği olan serbest oksijen radikalleri ve peroksit radikallerinin oluşumunu baskılayarak antioksidan özellik göstermektedir (11). TQ'nun vazospazmotik etkisi olduğu bilinen IL-1, TNF-alfa, IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin "NF-KB patolojik sinyal yolağı" üzerinden yapımını azaltmaktadır (12). TQ'nun hem antioksidan hemde anti-inflamatuvar etkinliği sayesinde vazospazma neden olan sitokin ve serbest radikallerin üretimini engelleyerek, serebral vazospazm üzerinde etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Deneysel Hayvanları

Bu çalışma, Erzurum Atatürk Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'nun 30.06.2017 tarih ve 79 numaralı onayı ile yapıldı. Çalışmada, 60 adet her biri 200-250 gram ağırlığında Wistar cinsi erkek albino rat kullanıldı. Ratlar, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Çalışmamızda, deneysel subaraknoid kanama modelleri arasında tercih edilen tekli kanama modeli kullanılmış olup, toplam deney süresi 48 saat olarak belirlendi (13,14).

2.2. Deneysel Prosedürü ve Doku Örneklerinin Alınması

Denekler işlem öncesi sekiz saat süre ile aç bırakıldı. İntramüsküler ketamin hidroklorür 50 mg/kg ve xylazin 5 mg/kg ile anestetize edildi. Yapılacak işleme göre supin veya prone pozisyonda masaya tespit edilen deneklerin işlem yapılacak anatomik

sahaları traşlanarak dezenfekte edildi. Deneyde kullanılacak olan Nigella Sativa Ekstresi CAS:490-91-5 (TQ), Sigma-Aldrich firması tarafından üretilmiş %98 saflıkta, kirli sarı renkte, kristal tozu halinde olup, katalog numarası 274666-1G'tir. Üretici firma tarafından teslim edilen TQ, oda sıcaklığında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda dimetil sülfoksit (DMSO) yardımı ile dilüe edildi. Deney sonrası ratlar Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde oda sıcaklığında yemek içmek serbest olarak takip edildi. Deneyler sırasında toplam sekiz adet rat öldü. Çalışmamızdaki mortalite oranı %13.33 olarak tespit edildi. Geriye kalan ratların sayısı, deney sonuçlarını istatistiksel olarak değerlendirebilmek açısından yeterli olduğundan ölenlerin yerine yeni ratlar çalışmaya eklenmedi.

Ratlar altı gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu (n=8) belirlendi ve her hangi bir müdahale yapılmayan denekler perfüzyon fiksasyon yöntemi ile dekapite edildikten sonra alınan beyin örneklerinde baziler arter alanları ve baziler arter duvar kalınlıkları incelendi. İkinci grup sham grubu (n=7) olarak belirlendi. Subaraknoid kanama oluşturulmaksızın sisterna magnaya 0.15 cc steril serum fizyolojik verildikten bir saat sonra perfüzyon fiksasyon yöntemi ile dekapite edilerek alınan beyin örneklerinden baziler arter alanları ve baziler arter duvar kalınlıkları incelendi. Üçüncü grup SAK grubu (n=8) olup sisterna magnaya tek sefere mahsus 0.15 cc otolog nonheparinize kan enjekte edildikten bir saat sonra perfüzyon fiksasyon yöntemi ile dekapite edilerek alınan beyin örneklerinden baziler arter alanları ve baziler arter duvar kalınlıkları incelendi. Dördüncü grup SAK grubu olup (n=9) olup sisterna magnaya 0.15 cc otolog nonheparinize kan verildikten sonra 48 saat süre ile takip edilen ve ardından perfüzyon fiksasyon yöntemi ile dekapite edilerek alınan beyin örneklerinden baziler arter alanları ve baziler arter duvar kalınlıkları incelendi. Beşinci grup profilaktik olarak 12,5 mg/kg TQ intraperitoneal yolla verildikten 6 saat sonra sisterna magnaya 0.15 cc otolog nonheparinize kan enjekte edilip takip eden birinci saatte perfüzyon fiksasyon yöntemi ile dekapite edilen grup (n=10) olup alınan beyin örneklerinden baziler arter alanları ve baziler arter duvar kalınlıkları incelendi. Altıncı grup (n=10) ise sisterna magnaya 0.15 cc otolog nonheparinize kan enjekte edilip birinci saat, 24. saat ve 48. saatte olmak üzere toplam üç doz intraperitoneal yolla 12,5 mg/kg TQ verilerek son dozdan beş dakika sonra perfüzyon fiksasyon yöntemi ile dekapite edilip alınan beyin örneklerinden baziler arter alanları ve baziler arter duvar kalınlıkları incelendi.

2.3. Histopatolojik Analizler

Alınan dokuların hazırlanması Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarı'nda yapılmış olup, histolojik incelemeler Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Beyin dokuları baziler arterin anatomik seyri göz önünde bulundurularak üst sınır mamiller cisimler, alt sınır pons ile bulbusun birleşim noktası olacak şekilde proksimal, orta ve distal kısımlardan kesitler alınarak rutin takip işlemi için SAKURA® firmasının ürettiği Tissue-Tek VIP adlı doku takip cihazı içerisine yerleştirilerek izleme alındı. Takip işlemi tamamlanan dokular, parafin bloklara gömüldü. Hematoksilen & Eosin ve TUNEL boyaları uygulamak için 0.5 mikrometre (µm) kalınlıkta kesitler alındı. Kesitler, grupların dağılımını bilmeyen iki tarafsız patolog tarafından Leica marka ışık mikroskopu altında MBF® Bioscience firmasına ait Stereo Investigator adlı yazılım eşliğinde bilgisayar ortamında incelendi ve baziler arter lümen alanlarının ölçülmesi ile beraber kesitlerin fotoğraflanması da yine bu program yardımı ile yapıldı. Her bir rata ait baziler arterden proksimal, orta ve distal kısımlar olmak üzere çıkarılan üçer kesit, 10'luk, 100'lük ve 200'lük magnifikasyonla incelendi. Arter lümen alanı, her bir rata ait baziler arterin üç farklı kesiti, endotel tabakaları boyunca bilgisayar ortamında Stereo Investigator programı yardımı ile çizilerek objektif olarak belirlenmiş oldu ve bu üç kesitin ortalaması nihai değer olarak kaydedildi. Yine damar duvar kalınlıklarında, her bir rata ait baziler arterin üç farklı kesiti, Stereo Investigator programı ile objektif olarak ölçülüp ortalaması alınarak nihai değer olarak kaydedildi.

2.4. Histolojik İnceleme

Grup 1 ve 2' nin H&E boyası yapılan preparatları histolojik olarak incelendiğinde benzer özellik gösterdiği görüldü. Işık mikroskopik incelemede arter duvarının intima, media ve adventitsya tabakaları ile perivasküler alan ve çevre dokuların normal histolojik yapıya sahip olduğu izlendi (Resim 1, A-C). TUNEL boyama yapılan preparatlarda arter duvarında ve çevre dokularında apoptozu düşündürcek morfolojik değişiklik gözlenmedi (Resim 1, B-D) . Grup 3'ün yapılan histolojik incelemesinde H&E boyama yapılan preparatlarda damar duvar kalınlığının arttığı, damar lümen alanının azaldığı, endotel tabakada kıvrımlaşmanın olduğu gözlemlendi (Resim 2-A). TUNEL boyama yapılan preparatlarda apoptozu düşündürcek bulgu saptanmadı. İntrasellüler ödem, endotel hücrelerde lümene doğru çıkıntı ve alttaki elastik laminadan ayrılma görüldü (Resim 2-B). Grup 4'de H&E boyama sonrası yapılan histolojik incelemede baziller arter damar lumeninde daralma, duvar kalınlığında artış, perivasküler alanda kan elemanları ve yer yer endotelde kıvrımlaşma izlendi (Resim 2-C). TUNEL boyama yapılan preparatlarda

apopitozu düşündürecek değişikler yani nükleer pozitivite izlenmiştir (Resim 2-D). Grup 5’de H&E ve TUNEL ile yapılan boyamalarda baziller arter damar lumen alanının daraldığı ilaç verilmeyen SAK gruplarına göre daha az daraldığı , damar duvar kalınlığının artmadığı, sitoplazmik vakuolizasyonun görüldüğü gözlemlendi (Resim 3-A). TUNEL boyamada baziller arterde apopitoz düşündürecek morfolojik değişiklik izlenmediği gösterilmiştir (Resim 3-B). Yalnız çevre dokularda apopitotik hücrelerde TUNEL metodu ile nükleer pozitivite izlenmiştir (Resim 4-A). Grup 6’da H&E ve TUNEL boyama yapılan preparatlarda baziller arter lumeninde daralma, duvar kalınlığında belirgin artış izlenmemiş olup, TUNEL boyamada apopitoz düşündürecek morfolojik değişiklik izlenmedi (Resim 3 C-D). Yalnız çevre dokularda apopitotik hücrelerde TUNEL metodu ile nükleer pozitivite izlendi (Resim 4-B).

2.5. Stereolojik İnceleme

Analizler IBM SPSS 20 istatistik analiz programı ile yapıldı. Veriler ortalama, standart sapma, medyan, minimum, maksimum, yüzde ve sayı olarak sunuldu. Sürekli değişkenlerin normal dağılımına Shapiro Wilk testi ile bakıldı. İki den fazla bağımsız grup ile sürekli değişkenlerin kıyaslanmasında normal dağılım şartı sağlandığı durumda ANOVA testi, sağlanmadığı durumda Kruskal Wallis testi kullanıldı. ANOVA testi sonrası post-hoc testler varyanslar homojen olduğunda Tukey testi ile varyanslar homojen olmadığı durumda Tamhane’s T2 testi kullanılarak yapıldı. Kruskal Wallis testi sonrası post-hoc testler için Kruskal Wallis testi sonrası post-hoc testleri kullanılarak yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak alındı.

3. BULGULAR

Tablo 1 ve 2’de baziller arter lümen alanlarının ortalama değerlerinin hangi gruplar arasında

istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre damar lümen alanlarına bakıldığında kontrol grubu ile SAK’tan bir saat sonra dekapite edilen, SAK’tan 48 saat sonra dekapite edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. ($p < 0,001$). Sham grubuna göre ise istatistiksel olarak yine üçüncü grup anlam ifade etmektedir ($p < 0,001$). SAK oluşturulduktan bir saat sonra dekapite edilen gruba göre ise grup 1 ve 2 istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$). SAK sonrası 48.saatte dekapite edilen gruba göre ise birinci grup anlamlıdır ($p < 0,001$). Proflaktik olarak TQ verilip sonrasında SAK oluşturulan ve bir saat sonra dekapite edilen gruba göre ise istatistiksel olarak hiçbir grup anlamlı değildir ($p < 0,001$). SAK oluşturulup günlük TQ verilen ve 48.saatte dekapite edilen gruba göre istatistiksel olarak hiçbir grup ile anlamlı değildir ($p < 0,01$).

Tablo 3 ve 4’de baziller arter duvar kalınlığı ortalama değerlerinin hangi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre ise damar duvar kalınlıklarına bakıldığında kontrol grubu ile bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir ($p < 0,001$). Sham grubuna göre ise istatistiksel olarak yine grup 6 hariç bütün gruplar ile anlamlı sonuçlar elde edilmiştir ($p < 0,001$). SAK oluşturulduktan bir saat sonra dekapite edilen grup ile bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. SAK sonrası 48. saatte dekapite edilen grup ile bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir ($p < 0,01$). Proflaktik olarak TQ verilip sonrasında SAK oluşturulan ve bir saat sonra dekapite edilen grup ile grup 6 hariç bütün gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. ($p < 0,05$) SAK oluşturulup günlük TQ verilen ve 48.saatte dekapite edilen gruba

Tablo 1: Baziller Arter Lümen Alanlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Gruplar		Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	p	post-hoc
Ortalama	Mean	280,16	259,25	183,34	202,22	208,47	229,78	<0.05	3-2, 3-1, 4-1,
	Standard Deviation	78,02	54,68	30,86	27,22	25,54	17,77		
	Median	256,61	254,18	173,59	199,97	211,79	226,04		
	Minimum	211,53	175,13	146,43	173,24	163,64	211,46		
	Maximum	458,98	338,23	230,43	267,08	247,01	269,46		

Tablo 2: Baziller Arter Lümen Alanlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Baziller lümen alanı	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
Grup 1	280,16	(-)	**	*	(-)	(-)
Grup 2	(-)	259,25	*	(-)	(-)	(-)
Grup 3	**	*	183,34	(-)	(-)	(-)
Grup 4	*	(-)	(-)	202,22	(-)	(-)
Grup 5	(-)	(-)	(-)	(-)	208,47	(-)
Grup 6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	229,78

* = p<0,05, ** = p<0,01, *** = p<0,001, (-) = anlamsız

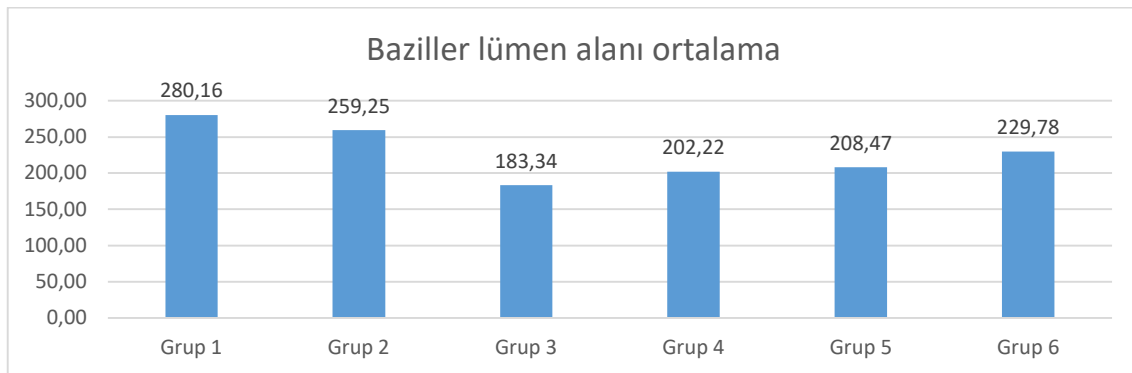
Tablo 3: Baziler Arter Duvar Kalınlıklarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	p	post-hoc	
Ortalama	Mean	24,18	26,77	35,36	33,03	29,47	27,76	<0.05	1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-6, 2-3, 2-4, 2-5, 3-4, 3-5, 3-6, 4-5, 4-6,
	Standard Deviation	2,22	1,71	1,84	1,12	1,18	1,27		
	Median	24,52	26,6	35,58	32,77	29,55	27,58		
	Minimum	20,53	23,6	32,57	31,7	27,67	26,3		
	Maximum	27,27	29,23	38,67	34,63	31,47	29,63		

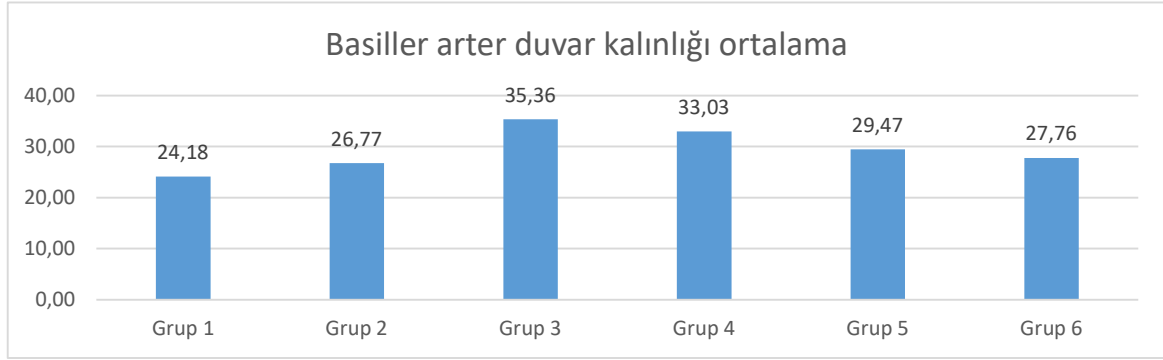
Tablo 4: Baziler Arter Duvar Kalınlıklarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Basiller arter duvar kalınlığı ortalama	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
Grup 1	24,18	*	***	***	***	***
Grup 2	*	26,77	***	***	*	(-)
Grup 3	***	***	35,36	*	***	***
Grup 4	***	***	*	33,03	***	***
Grup 5	***	*	***	***	29,47	(-)
Grup 6	***	(-)	***	***	(-)	27,76

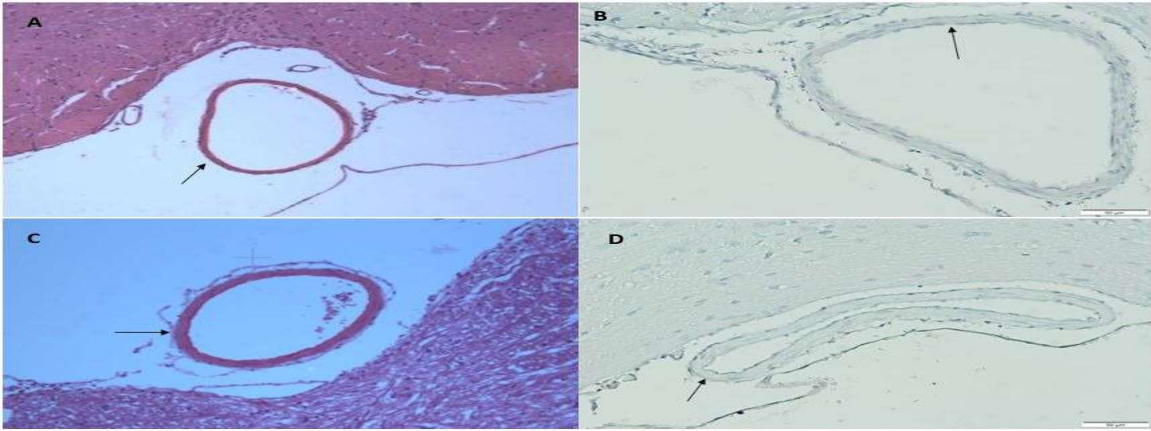
* = p<0,05, ** = p<0,01, *** = p<0,001, (-) = anlamsız

Grafik 1: Baziller arter lümen alanlarının gruptaki ortalama değerini gösteren grafik

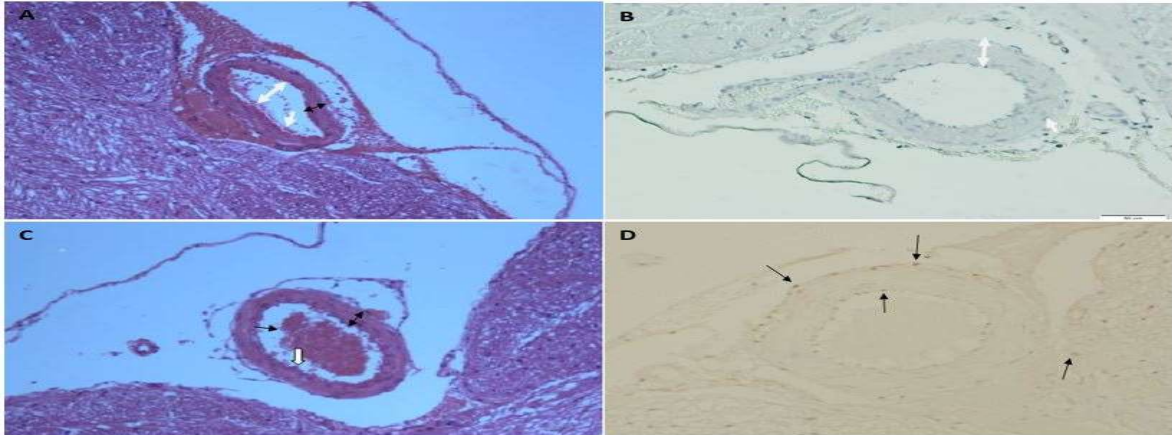
Grafik 2: Baziller arter duvar kalınlığının gruptaki ortalama değerini gösteren grafik



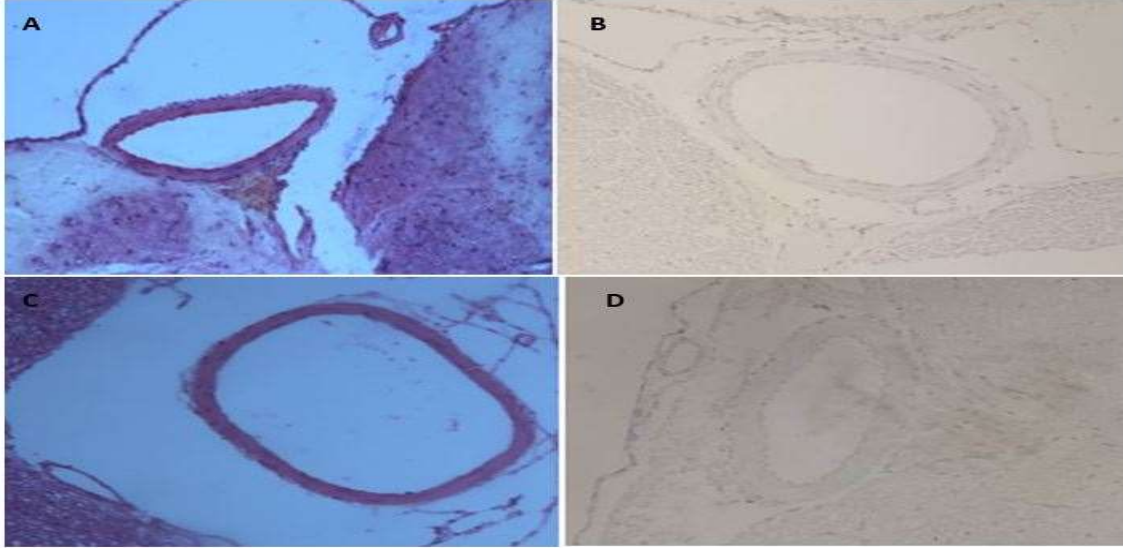
Resim 1: A ve C Grup 1-2'e ait normal morfolojiye sahip baziller arter görünümü (siyah ok), H&E, x200
B ve D Grup 1-2'e ait apoptoz ve nekroz görülmemiş baziller arter görünümü (siyah ok) TUNNEL, x200



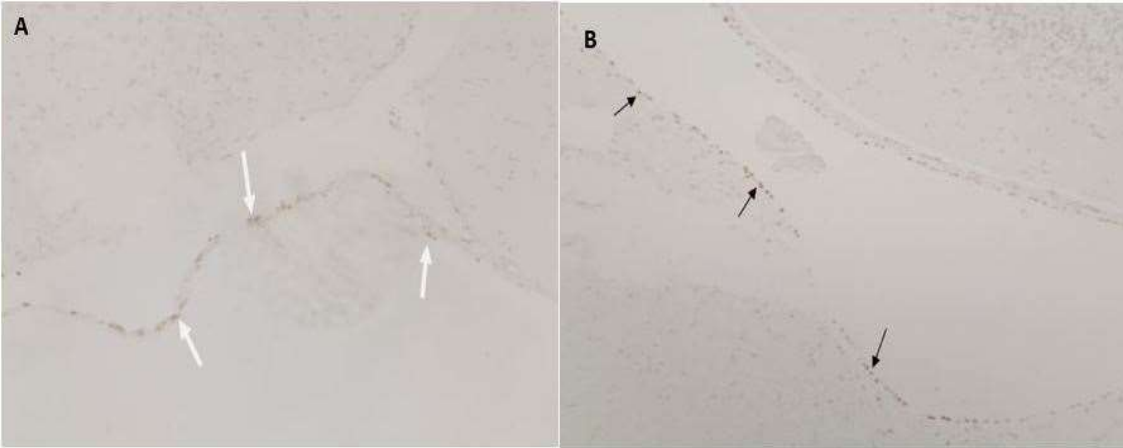
Resim 2: A- Grup 3'e ait deneğin baziller arter kesiti. Baziller arter duvar kalınlığında artış(çift uçlu siyah ok) Baziller arter lumen alanında daralma(çift uçlu beyaz ok), Endotelde kıvrımlaşma (beyaz ok),H&E,x200
B- Grup 3'e ait apoptoz ve nekrozun görülmediği, sitoplazmik vakuolizasyonun görüldüğü (beyaz ok), damar duvarında kalınlaşma (çift taraflı beyaz ok) görülen baziller arter görünümü. TUNNEL,x200
C- Grup 4'e ait damar lumen alanında daralma, damar duvarında kalınlaşma (çift uçlu siyah ok), perivasküler alanda kan ürünleri (tek uçlu siyah ok), endotelde kıvrılaşma izlenen baziller arter görünümü. (tek uçlu beyaz ok) H&E, x200
D- Grup 4'e ait entotel, adventisya ve çevre dokularda TUNEL metodu ile pozitivite izlenen baziller arter görünümü (Siyah oklar). TUNEL, x200.



Resim 3: A-B. Profilaktik olarak TQ verildikten sonra SAK oluşturulan grup 5'e ait deneğin baziller arter görünümleri. A. H&E, x200 B. TUNNEL, x200
C-D. SAK oluşturulan 3 doz TQ verildikten sonra dekapite edilen grup 6'ya ait deneğin baziller arter kesitleri. A. H&E, x200 B. TUNNEL, x200



Resim 4: A. Grup 5'de çevre dokularda apoptotik hücrelerde nükleer pozitivite izlenmiştir (beyaz ok). TUNEL, x200
B. Grup 6'da çevre dokularda apoptotik hücrelerde nükleer pozitivite izlenmiştir (siyah ok). TUNEL, x200



göre ise istatistiksel olarak ikinci ve beşinci gruplar hariç anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.

Grafik 1'e bakıldığında da baziller arter lümen alanlarının ortalama değerinin en düşük grup 3 de en yüksek grup 1 de olduğu ve ilaç verilen gruplardaki ortalama değerlerin bu iki grup arasında olduğu görülmektedir. Grafik 2'ye bakıldığında da baziller

arter duvar kalınlığının ortalama değerinin en yüksek grup 3 de en düşük grup 1 de olduğu ve ilaç verilen gruplardaki ortalama değerlerin bu iki grup arasında olduğu görülmektedir. Elde ettiğimiz istatistiksel verilere göre TQ'nin baziller arter lümen alanı üzerine etkisinin minimal olduğu asıl etkisinin baziller arter duvar kalınlığı üzerine olduğu sonucuna varılmıştır

4. TARTIŞMA

Vazospazm morbite ve mortaliteye en fazla sebep olan SAK komplikasyonudur. Serebral vazospazm kanla dolu subaraknoid mesafeden geçen büyük arterlerin fokal, segmental ve diffüz uzun süreli, şiddetli ve geri dönüşümlü belirgin daralması olarak tanımlanabilir. Kasılma sadece serebral damarlarda görülür, periferik damarlar etkilenmez. Subaraknoid mesafedeki kan yıkım ürünlerine karşı damar duvarının farmakolojik reaksiyonu olup mesafedeki kan miktarı ile vazospazm şiddeti ilişkilidir. 1980'li yıllarda Sasaki ve arkadaşları (15) oksihemoglobinin otooksidasyon ile methemoglobine dönüşmesi sırasında açığa çıkan serbest oksijen radikallerinin membran fosfolipidlerinde peroksidasyona yol açtığını, bunun da serebral vazospazmın etyopatogenezinde önemli bir rolü olduğunu ileri sürdüler. Serebral vazospazm olduğu düşünülen hastalarda klinik ve radyolojik değerlendirme birlikte yapılmalıdır. Klinik vazospazm beyin iskemisi sonucu geç başlayan nörolojik kayıpla karakterizedir. Klasik olarak kanamanın 3 ile 7. günleri arasında başlar ve 14. günden sonra geriler. Tanıda transkraniyal doppler ultrasonografi (TDUS) ilk tercih edilen noninvaziv, kolay ve yatak başı uygulanabilir bir yöntemdir. Serebral arterlerdeki akımı gösterebilmesi açısından önemli bir tetkiktir (16). Anjiyografik vazospazm yaklaşık %70-80 oranında gözlenirken, klinik vazospazm ise %30 gözlenir. Serebral vazospazm klasik olarak anevrizma rüptürüne bağlı SAK'ın komplikasyonu olmasına rağmen % 5-10 oranında ağır kafa travması ve daha az oranlarda meningeal enfeksiyon ve diğer serebrovasküler hastalıklarda görülebilir. (17,18).

Kanda bulunan granülositler, monositler, lenfositler inflamasyon sahasına gelir ve TNF α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6 ve IL-8 substratlarını salgılatarak inflamasyonun akut evresini başlatmış olur. Bu inflamatuvar mediatörlerin sentezi ve düzenlenmesi ise normalde hücre sitoplazmasında inaktif halde bulunan bir transkripsiyon faktörü, Nükleer Faktör kappaB (NF- κ B) tarafından sağlanır. İnaktif halde bulunan NF- κ B'yı reaktif oksijen türevleri (ROT), hidroksiradikal (OH $^-$) ve superoksit (O $^-$) gibi serbest radikaller ve hidrojen peroksit (H $_2$ O $_2$), aktive ederek vazospazmın inflamasyon kaskadını başlatır. NF-kappaB adezyon molekülleri ve sitokinlerin düzenlenmesini sağlayarak serebral vazospazmda etkili olabileceği düşünülmektedir (19,20,21).

Yine yapılan çalışmalarda bir başka teoride ise SAK 'da subaraknoid mesafedeki oksihemoglobinin oksidasyonu ile subaraknoid aralıkta methemoglobin ve superoksit anyon radikallerini oluşturduğu gösterilmektedir. Bunlarında lipit peroksidasyonuna yol açtığı ve serbest radikallerin, lipit peroksidasyonu sonucu oluşan hidroksil radikaller ile lipit peroksitlerin güçlü vazospazm etkinliğe sahip olduğu gösterilmektedir (8,22).

Endotel hücreleri NO gibi vazodilatator ve endotelin (ET) gibide vazokonstriktor maddeler üretmektedir. Serebral vazospazma yol açan en önemli faktörlerin endotel kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Hayvan deneylerinde ve klinik çalışmalarda SAK sonrası NO düzeylerinin 10. dakikada düştüğü gösterilmiştir. Bu durumda endotel disfonksiyonuna sebep olan asıl faktörün oksihemoglobin veya bilirubin olduğu tahmin edilmektedir. SAK sonrasında hemoglobin NO'ye bağlanarak etkisini azaltmaktadır. SAK'ın inflamatuvar sürecinde ET-1 de sentezlenmektedir. Subaraknoid mesafedeki kan pıhtısının hemolizi sonrasında lökositlerden ET-1 sentezi indüklemektedir. ET-1 hem vazokonstriksiyona yol açar hem de endotelial ve düz kas hücrelerinde proliferatif etki göstererek vazospazm oluşturmaktadır (23). Subaraknoid aralıktaki pıhtı kaynaklı oksihemoglobin endotelden ET-1 sekresyonunu arttırır. ET bilinen endojen vazokonstriktör maddelerin en güçlüsüdür (24).

TQ, demir bağımlı lipit peroksidasyonun güçlü bir şekilde engeller. Bu etkisini vazospazmotik etkinliği olan serbest oksijen radikallerinin ve peroksit radikallerinin oluşumunu engelleyerek sağladığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Yine yapılan çalışmalarda TQ'nun vazospazmotik etkisi olan proinflamatuvar sitokinlerin yapımını azalttığı görülmektedir (21). Yapılan çalışmalarda TQ'nun vazospazmotik etkisi olan IL-1, TNF-alfa, IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin "NF-KB patolojik sinyal yolağı" üzerinden yapımını azalttığı görülmektedir (11,12).

TQ'nun anti oksidatif potansiyeli, molekülün kuinon yapısının redoks özellikleri, TQ'nun fizyolojik engeller arasında çapraz geçiş yapma kabiliyeti ve subselüler bölümlere kolay erişimine bağlı olarak ortamdaki serbest radikallerin etkilerini yok eder (25). TQ, bir dizi oksido redüksiyon sonrası oluşan metabolitler ile endojen anti-oksidan savunma moleküllerini aktive ederek serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu metabolitler, hemoglobin ve miyoglobin'in oksidatif stresini önlemede etkindirler. GSH, SOD, katalaz (CAT), glutatyon-S-transferaz (GST) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) hücrelerin anti-oksidan sistemini oluşturmaktadır. Antioksidan enzimlerin, serbest radikal kaynaklı oksidatif hasarı nötralize etmesinden sorumlu olduğu iyi bilinmektedir (26).

Oksidatif hasara bağlı hastalıklarda tedavi amacıyla doğal antioksidan bileşikler ve fitokimyasalların kullanılması, serbest radikalleri azaltarak oksidatif hasar kaynaklı patogeneze iyileşme sağlamıştır (27). Antioksidan enzimler hücrel savunma sisteminde reaktif oksijen türlerine (ROT) karşı vücudu korur. TQ ROT'a karşı güçlü bir fitokimyasal antioksidan etki oluşturur (11). TQ 'nun antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptotik, antitümör ve

antimetazatik etkinliği olduğu bilinmektedir. Bu etkinliği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Yaptığımız bu çalışmada ilk olarak Solomon ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olan sisterna magnaya kan enjeksiyonu yöntemi kullanılmıştır. SAK modellerinde birçok hayvan kullanılmış olup, biz çalışmamızda en yaygın olarak kullanılan ratları tercih ettik. SAK oluşturmak için en fazla kullanılan 3 yöntemden birincisi; arter içerisine bir kateter yardımı ile girilip, bifurkasyon noktasının rüptüre edilerek SAK oluşturulmasıdır, ikincisi; arterin uygun diseksiyonu sonrasında otolog kanın arter etrafına enjekte edilmesidir, ncs ise; başka bir bölgeden alınan otolog kanın sisterna magnaya enjekte edilmesi suretiyle oluşturulan SAK'tır. (13,28) Kullandığımız tekli kanama modelinde SAK sonrası vazospazmın en şiddetli birinci saat sonlarına doğru oluştuğu, 48 saat devam ettiği ve daha sonrasında vazospazmın yavaş yavaş azaldığı bilinmektedir. (14)

Günümüzde geçerliliğini sürdüren SAK tedavilerini değerlendirdiğimizde; ilk olarak "3H" tedavisinden bahsetmek gerekir. Hipertansiyon, hipervolemi ve hemodilüsyon triadından oluşan bu yöntemle intravasküler hacmin artırılması ile doku perfüzyonunun yeniden sağlanarak iskeminin geri döndürülmesi amaçlanmaktadır. Ancak pulmoner ödem, serebral dem, İKB artışı, hemorajik enfarkt gelişimi, yeniden kanama, kardiyak aritmi, miyokart iskemisi gibi komplikasyonlardan dolayı tedavinin kullanım alanı ve güvenirliliği daralmakta olup, bakım maliyetinde artışa sebep olmaktadır. (29)

Kalsiyum kanal blokörleri de tedavi de kullanılmakta olup, damar düz kas hücrelerine Ca girişini engelleyerek vazospazmdan beyni korumaktadır. En sık ve yaygın olarak kullanılanı Nimodipin olup, nörolojik hasarı ve kötü prognozu düzelttiği bilinmektedir (30). Ancak fibronolitik aktiviteyi arttırması sebebiyle yeniden kanama riskine yol açmasının yanı sıra, karaciğerden itrah edilmesinden dolayı karaciğer fonksiyon bozukluğu olan hastalarda dikkatli kullanılması gerekir. Başka bir kalsiyum kanal blokörü olan Nikardipin ise intraatriyel bolus olarak verilmesiyle anjiyografik vazospazmı azalttığı görülmüştür, lakin invaziv bir yöntem olması kullanımını sınırlamaktadır (31).

Kanama sonrasında ve iskemik süreç boyunca oluşabilecek dem için, kortikosteroid kullanılması sitotoksik ödemi çözücü etkisi bulunmasına rağmen; uzun dönemde enfeksiyon, GIS kanama, hiperglisemi gibi etkilere sebep olmaktadır. Bu da kullanımını kısıtlayıcı bir etmendir. (32)

Son yıllarda vazospazmın tedavisinde statinlerin kullanımını gündeme gelmiştir. SAK ncesi statin kullanan hasta grubunda vazospazmın görülme sıklığı normal popülasyon ile kıyaslandığında

belirgin olarak azalmıştır. Kanama sonrası statin başlananlarda da anjiyografik vazospazmın ve iskemik hasarın daha az görünmesi sevindirici bir gelişmedir. (33)

Milrinon inotropik bir ilaç olup, fosfodiesteraz-3 inhibisyonu yaparak damarlarda vazodilatatör etki gösterir. Serebral vazospazmı azaltarak nörolojik düzelme sağlaması yanında pulmoner ödem, miyokardiyal iskemi, hipotansiyon gibi komplikasyonları da azaltmaktadır. (34)

ETA reseptör antagonisti olan Clazosontan'ın kullanıldığı çalışmalarda; vazospazmı önlediği, bazı hastalarda spazmı tamamen tedavi ettiği bildirilmiştir. Fakat ciddi hipotansiyon gelişme riski kullanımı sırasında göz ardı edilmemelidir. (35)

Bunların yanı sıra invazif bir yöntem olan Papaverin paletlerinin operasyon sonrasında arter segmentlerinin üzerine yerleştirilmesinin de vazospazmı postoperastif olarak engellediği ve herhangi bir yan etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Papaverin'in buradan yola çıkarak intraatriyal infüzyon yöntemi ile kullanılmasının nrodefesit oluşumu ve vazospazmı azaltacağı dşnlmekle beraber, refleks vazokonstrüksiyona neden olabileceği de öne sürülmektedir. (36)

Mevcut tedavilerle kıyaslandığında; antispazm, antiapopitotik, antienflamatuar ve nöroprotektif etkileri bulunan ajanlarla, TQ'nun etkilerinin benzer olduğu görülmektedir. Deneyimiz sonucunda çıkan istatistiksel verilere bakıldığında da TQ'nin umut vaat edici bir ajan olarak karşımıza çıkmaktadır. Henüz klinik çalışması bulunmaması nedeniyle insanda SAK'taki etki profili tam olarak bilinemese de, yaygın olarak kullanılan, temini kolay olan, maliyeti düşük bir madde olması ve kayda değer bir yan etkisinin görülmemiş olması, güven aralığının geniş olması; TQ'un ilaç geliştirilmesi için uygun bir aday olarak görünmektedir. Deneyimizde elde ettiğimiz veriler sonucunda TQ'nun SAK gelişmeden önce kullanımının apopitoz ve vazospazmda azalmaya yol açtığı sonucuna varılmıştır. Buradan yola çıkarak TQ'nun risk grubunda profilaktik bir ajan olarak kullanımının olabileceğini düşünmekteyiz. Var olan tedavilerin halen SAK'ın medikal sağaltımında yeterli olmadığı ve bu ilaçların yan etkilerinin mortalite ve morbidite üzerinde olumsuz etkileri ya da kullanım alanlarını kısıtlaması, halen bu sahada daha etkin ve güvenilir ilaçlara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

5. SONUÇ

Yaptığımız deneysel çalışmada elde ettiğimiz verilere göre, literatürde daha önce santral sinir sistemi ile ilgili yapılan SAK modeli dışındaki

çalışmalarda antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptotik etkinliği gösterilmiş olan TQ'nun yaptuğız SAK sonrası ana vasküler yapılarında gelişen vazospazmı tedavi edici ve apoptozu önleyici etkisini tespit ettik.

Literatür taraması sonucunda TQ'nun etkinliği, güvenirliği, kullanım kolaylığı, ulaşılabilirliği hakkında anlamlı sonuçlara ulaşılmıştır. Deneyimiz sonucunda elde ettiğimiz patolojik bulgular ve istatistik değerlendirmeler ilacın etkinliğini ve güvenirliğinin olduğunu gösterdi. Sonuç olarak bu ajan ile ilgili ayrıntılı çalışmalara başlanmasının SAK'in en mortal komplikasyonu olan vazospazmı önlemekte faydalı olacağı kanaatindeyiz.

6. KAYNAKLAR

- 1.Weir B. (ed)Subarachnoid Hemorrhage: Causes and cures. Oxford University Press. NY. 1998; 144-176
- 2.Bederson JBi Connolly ES, Batjer HH, et al. Guidelines for the manangement of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A statement for Healthcare Professionals from a Special Writing Group of the Stroke Council, American Heart Association. Stroke 2009; 40: 994-1025
- 3.Kocaeli H, Korfalı E. Anevrizmal subaraknoid kanama ve komplikasyonları. Temel Nroşirurji. Korfalı E, Zileli M (ed). Türk Nroşirurji Derneği Yayınları, Ankara, 2010, sayfa 803-814
- 4.De Rooij NK, Linn FH, van der Plas JA, et al. Incidence of subarachnoid haemorrhage: a systematic review with emphasis on region, age, gender and time trends. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2007 Dec; 78(12): 1365-72.
- 5.Van Gijn J, Kerr RS, Rinkel GJ. Subarachnoid haemorrhage. Lancet 2007; 369: 306-18
- 6.Findlay JM. Cerebral Vasospasm in Youmans' Neurological Surgergy, Winn HR(ed), Elsevier, Philedelphia 2014, sayfa 3791-3800
- 7.Eisenhut M. Vasospasm in cerebral inflammation. Int J Inflam. 2014;2014: 509-707
- 8.Cook DA, Volrath B: Free radicals and intracellular events associated with cerebrovascular spasm. Cardiovasc Res 1995; 30: 493-500
- 9.Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of Nigella Sativa. Phytother. Res. 2003; 17: 299-305
- 10.Taborsky J, Kunt M, Kloucek P, et al. Identification of potential sources of thymoquinone and related compounds in Asteraceae, Cupressaceae, Lamiaceae, and Ranunculaceae families. Cent Eur J Chem. 2012; 10: 1899-1906
- 11.Mansour MA, Nagi MN, El-Khatib AS, et al. Effects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice a possible mechanism of action. Cell Biochem Funct 2002; 20: 143-151
- 12.Vaillancourt F, Silva P, Shi Q, et al. Elucidation of molecular mechanisms underlying the protective effects of thymoquinone against rheumatoid arthritis. J Cell Biochem. 2011; 112: 107-117
- 13.Marbacher S, Fandino J, Kitchen ND. Standard intracranial in vivo animal models of delayed cerebral vasospasm. Br J Neurosurg. 2010; 24: 415-34
- 14.Barry KJ, Gogjian MA, Stein BM. Small animal model for investigation of subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm. Stroke. 1979; 10: 538-41.
- 15.Sasaki T, Wakai S, Asano T, Watanabe T, Kirino T, şano K. The effect of a lipid hydroperoxide of arachidonic acid on the canine basilar artery. An experimental study on cerebral vasospasm. J Neurosurgery. 1981;54: 357-365.
- 16.Mills JN, Mehta V, Russin J, et al. Advanced imaging modalities in the detection of cerebral vasospasm. Neurol Res Int. 2013;2013:415960.
- 17.Findlay JM: Cerebral vasospasm in Youmans' Neurological Surgery, Winn HR (ed), Elsevier, Philedelphia 2014; sayfa: 3791-3800
- 18.Haley EC Jr, Kassell NF, Apperson-Hansen C, Maile MH, Alves WM: A randomized, double blind, vehicle controlled trial of tirilazad mesylate in patients with aneurismal subarachnoid hemorrhage: A cooperative study in North America. J neurosurg 1997;86: 467-474
- 19.Bowman G, Bonneau RH, Chinchilli VM, Tracey KJ, Cockroft KM. A novel inhibitor of inflammatory cytokine production(CNI-1493) reduces rodent post- hemorrhagic vasospasm. Neurocrit Care. 2006; 5: 222-9
- 20.Gallia GL, Tamargo RJ. Leukocyte-endothelial cell interactions in chronic vasospasm after subarachnoid hemorrhage. Neurol Res. 2006; 28: 750-8
- 21.Zhou ML, Shi JX, Hang CH, Cheng HL, Qi XP, Mao L, Chen KF, Yin HX. Potential contribution of nuclear factor-kappa B to cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in rabbits. J Cereb Blood Flow Metab. Feb 7 2007.
- 22.Misra HP, Fridovich I. The generation of superoxide radical during the autooxidation of hemoglobin. J Biol Chem 1972; 10: 6960-62
- 23.Grasso G: An overview of new pharmacological treatments for cerebrovascular dysfunction after experimental subarachnoid hemorrhage. Brain Res Brain Res Rev 2004; 44 : 49-63
- 24.Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobaya-shi M, Mitsui Y. A novel potent vasoconstrictor peptide pro-duced by vascular endothelial cells. Nature 1988;332:411-5.

25. Badary OA, Taha RA, Gamal El-Din AM, et al. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug Chem Toxicol* 2003; 26: 87-98
26. Darakhshan S, Pour AB, Colagar AH, Sisakhtnezhad S, et al. Thymoquinone and its therapeutic potentials. *Pharmacological Research*. 2015; 95-96: 138-158.
27. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* seed. *Int Immunopharmacol*. 2005; 5: 1749-1770
28. Solomon RA, Antunes JL, Chen RY, et al. Decrease in cerebral blood flow in rats after experimental subarachnoid hemorrhage: a new animal model. *Stroke*. 1985; 16: 58-64.
29. Sen J, Belli A, Albon H, Morgan L, Petzold A, Kitchen N. Triple-H therapy in the management of aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Lancet Neurol*. 2003; 2: 614- 621
30. Roos YB, Levi M, Carroll TA, et al. Nimodipine increases fibrinolytic activity in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2001; 32: 1860-2.
31. Linfante I, Delgado-Mederos R, Andreone V, et al. Angiographic and hemodynamic effect of high concentration of intra-arterial nicardipine in cerebral vasospasm. *Neurosurgery*. 2008;63: 1080-6; discussion 86-7.
32. Lannes M, Teitelbaum J, del Pilar Cortes M, et al. Milrinone and hemeostasis to treat cerebral vasospasm associated with subarachnoid hemorrhage: the Montreal Neurological Hospital Protocol. *Neurocrit Care*. 2012;16: 354-62
33. McGirt MJ, Blessing R, Alexander MJ, et al. Risk of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage reduced by statin therapy: A multivariate analysis of an institutional experience. *J Neurosurg*. 2006; 105: 671-4.
34. Huang D, Shenoy A, Cui J, et al. In situ detection of AP sites and DNA strand breaks bearing 3'-phosphate termini in ischemic mouse brain. *FASEB J*. 2000; 14: 407-17.
35. Bautista C. Unresolved issues in the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *AACN Adv Crit Care*. 2012; 23: 175-85.
36. Dalbasti T, Karabiyikoglu M, Ozdamar N, et al. Efficacy of controlled-release papaverine pellets in preventing symptomatic cerebral vasospasm. *J Neurosurg*. 2001; 95: 44-5

LAPAROSKOPİK HİSTEREKTOMİ UYGULANAN FAKTÖR 7 YETERSİZLİĞİ OLAN HASTADA NADİR BİR KOMPLİKASYON; POSTOPERATİVE PULMONER EMBOLİ

A RARE COMPLICATION IN A PATIENT WITH FACTOR VII DEFICIENCY UNDERWENT LAPAROSCOPIC SURGERY: POSTOPERATIVE PULMONARY EMBOLISM

Mine ÇELİK¹, Gökce CİNLİ¹, Necmiye AY¹, İltiş YAMAN², Neslihan KURMAZ¹

1. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı
2. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Başakşehir Çam ve Sakura şehir Hastanesi Kadın Doğum Anabilim Dalı

ORCID: 0000-0002-4718-0921, 0000-0001-9496-0333, 0000-0003-1787-7522, 0000-0002-5563-2887, 0000-0003-4343-6819

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
11.03.2022	18.06.2022	31.07.2022

Bu makaleye atıfta bulunmak için / to cite this article:

Çelik M, Cinli G, Ay N, Yaman I, Kurmaz N. Laparoskopik histerektomi uygulanan faktör 7 yetersizliği olan hastada nadir bir komplikasyon; postoperative pulmoner emboli, J Surg. Med. Sci. 2022; 1(2):61-63

Özet

Faktör VII (FVII) yetmezliği kongenital otozomal resesif geçen pıhtılaşma bozukluğu olup prevalansı 1:500.000 dir. Bu olgu sunumunda anormal uterus kanaması olan faktör VII eksikliği mevcut ve laparoskopik histerektomi planlanan 41 yaşındaki hastanın anestezi yönetimi ve yoğun bakım sürecini sunmayı amaçladık. 41 yaşında (60 kg, 164 cm) önceden bilinen Faktör VII (FVII) yetmezliği olan hasta anormal uterin kanama öyküsü ile operasyon planlandı. Preoperatif laboratuvar PT:70, INR:6.9, PTT:29 Hb: 13.3, Plt:274 ve F VII: %1.1 idi. Anestezi induksiyonunu takiben operasyon başlamadan 10 dakika önce 1500 mcg rFVIIa intravenöz yoldan 3 dakikada yavaş infüzyon ile verildi. İntraoperatif ilk koagülasyon parametreleri PT: 20.14, INR:0.8, aPTT: 27.3 olarak görüldü. Cerrahi esnasında minimal kanama oldu Hastanın operasyonu bitiminde extübe edildikten 5 dakika sonra Elektrokardiyografide ST elevasyonu, taşikardi (128/dk) hipotansiyon (60/30 mmHg) ve oksijen saturasyonunda ani düşme (SpO₂) gözlemlendi. Pulmoner BT anjiyo incelemesinde: Sağ ana pulmoner arter alt loblarında ve sol ana pulmoner arter alt lob dallarında yer yer akıma izin veren hipodens trombus materyali ile uyumlu görünüm mevcuttu. Postoperatif 3 gün yoğun bakımda akıp edilen hasta servise çıkarıldı. Faktör VII yetmezliği olan hastalarda hematoloji klavuzlarında da önerilen dozlarda da tromboemboli komplikasyonlarının olabileceği akılda tutulmalıdır.

Anahtar kelimeler: Faktör VII yetmezliği, pulmoner emboli, laparoskopi, histerektomi

Abstract

Factor VII (FVII) deficiency is a congenital autosomal recessive coagulation disorder with a prevalence of 1:500,000. In this case report, we aimed to present the anesthesia management and intensive care process of a 41-year-old patient with abnormal uterine bleeding, factor VII deficiency and planned laparoscopic hysterectomy. An operation was planned for a 41-year-old (60 kg, 164 cm) patient with known Factor VII (FVII) deficiency with a history of abnormal uterine bleeding. Preoperative Laboratory values were as follows; PT: 70, INR: 6.9, aPTT: 29 Hb: 13.3, Plt: 274 and F VII: 1.1%. Following the induction of anesthesia, 1500 mcg rFVIIa (novoseven NOVO NORDISK HEALTH PRODUCTS) was given intravenously over 3 minutes by slow infusion 10 minutes before starting the operation. Intraoperative first coagulation parameters were PT: 20.14, INR: 0.8, aPTT: 27.3. There was minimal bleeding during the surgery. At the end of the operation, 5 minutes after the patient was extubated, ST elevation, tachycardia (128/min), hypotension (60/30 mmHg) and a sudden decrease in oxygen saturation (SpO₂) were observed in the electrocardiogram. In pulmonary CT angiography, there was an appearance consistent with hypodense thrombus material that allowed flow in placed plin the lower lobes of the right main pulmonary artery and in the lower lobe branches of the left main pulmonary artery. The patient, who was followed up in the intensive care unit for 3 days postoperatively, was taken to the ward. It should be kept in mind that thromboembolism complications may occur in patients with factor VII deficiency, even given doses recommended in hematology guidelines.

Key words: Factor VII failure, pulmonary embolism, laparoscopy, hysterectomy

1. GİRİŞ

Faktör VII (FVII) yetmezliği kongenital otozomal resesif geçen pıhtılaşma bozukluğu olup prevalansı 1:500.000 dir. 1 Sadece karaciğer tarafından sentezlenen K vitaminine bağımlı bir protein olan Faktör VII yetmezliğinde en sık görülen semptomlar burun kanaması ve anormal uterus kanamalarıdır. Plazma seviyeleri 0,35 ila 0,60 mg/L arasında değişir ve yarı ömrü son derece kısadır (4-6 saat).1 Faktör seviyesinin %10 ve üzeri olduğu hastalarda genellikle kanama gözlenmezken %20 ve üzeri olduğunda ise kendiliğinden kanama beklenmemektedir. Herhangi bir yaralanmayı takiben dolaşımdaki aktif FVII, yaralanmaları takiben açığa çıkan doku faktörüne (DF) bağlanarak pıhtılaşmanın aktivasyonunu sağlar. Doku faktörü ve FVII birlikte, faktör IX ve faktör X'ü aktifleştirerek fibrin oluşumunu gerçekleştirirler.1,2,3 FVII yetersizliğinde rFVIIa (rekombinan faktör 7 konsantresi) nin perioperative dozu ile ilgili uygulamada netlik olmamasına rağmen önerilen dozlar hemostaz sağlanana kadar her 4-6 h 15-30 µg/kg'dır.(4)

Literatürde Faktör VII yetmezliği olan ve cerrahi geçiren hastaların anestezi yönetimi ile ilgili az sayıda olgu sunumu mevcutken rFVIIa tedavisi yapılan ve pulmoner emboli gelişen bir hastaya rastlanmadı.

Bu olgu sunumunda anormal uterus kanaması olan faktör VII eksikliği mevcut ve laparoskopik histerektomi planlanan 41 yaşındaki hastanın anestezi yönetimi esnasında uygulanan rFVIIa tedavisi sonrasında gelişen pulmoner emboliyi ve yoğun bakım sürecini sunmayı amaçladık.

2. OLGU

Bilgilendirilmiş olur formu alındıktan sonra vaka takdimi yapıldı. 41 yaşında (60 kg, 164 cm) önceden bilinen Faktör VII (FVII) yetmezliği olan ASA 2 olarak değerlendirilen hastaya anormal uterin kanama öyküsü ile operasyon planlandı. Hastanın daha önce dış çekimlerinde anormal kanama öyküsü mevcuttu. Preoperatif laboratuvar PT:70, INR:6.9, PTT:29 Hb: 13.3, Plt:274 ve F VII: %1.1 idi. Diğer laboratuvar parametrelerinde herhangi bir anormallik yoktu. Preoperatif olarak yapılan Hematoloji konsültasyonunda belirtildiği gibi Anestezi indüksiyonunu takiben operasyon başlamadan 10 dakika önce 1500 mcg rFVIIa (novoseven NOVO NORDİSK SAĞLIK ÜRÜNLERİ) intravenöz yoldan 3 dakikada yavaş infüzyon ile verilmesi ve 4 saatte bir tekrarlanması önerildi. Preoperatif olarak rFVIIa veya taze donmuş plazma infüzyonu uygulanmadı.

Operasyon masasına alınan hasta ile operasyonun

riskleri konuşularak bilgilendirilmiş olur formu imzalatıldı. Rutin monitörizasyon yapılan hastaya (EKG, Non invaziv kan basıncı, SpO₂,EtCO₂) 2 mg/kg propofol,0.6 mg/kg rokuronyum, 1 mcg/kg Fentanil ile anestezi indüksiyonu uygulandı. Anestezi idamesinde oksijen-sevoflurane-hava gaz (%40 oksijen 1 MAC Sevoflurane) karışımı, remifentanil 0.1-0.3 µg /kg /min, rokuronyum (5.0-7.0 µg /kg /saat) infüzyonu uygulandı. Entübasyon sonrasında sağ radyal artere intraarteriyel kanülasyon ve sonrasında arter monitörizasyonu yapıldı. Anestezi indüksiyonundan sonra rFVIIa 1500mcg dozunda intravenöz yoldan 3 dakikada uygulandı. Derin Trendelenburg pozisyonu verilen ve cerrahi kurallara uygun olarak kapatılan hastanın operasyonu yaklaşık 20 dakika sonra başlatıldı. İntraoperatif olarak koagülasyon parametreleri monitörize edilerek her 4 saatte bir 15 mcg/kg olacak şekilde rFVIIa uygulandı. İntraoperatif ilk koagülasyon parametreleri PT: 20.14, INR:0.8, aPTT: 27.3 olarak görüldü. Operasyon 5 saat sürdüğü için 2.doz rFVIIa 1500mcg intravenöz yoldan uygulandı. 2. Koagülasyon parametreleri ise PT: 6.31, INR: 0.718, aPTT: 27 olarak monitörize edildi. Hastanın intraoperatif hemodinamik parametreleri açısından stabil seyretti. Cerrahi esnasında minimal kanama oldu Hastanın operasyonu bitiminde extübe edildikten 5 dakika sonra Elektrokardiyografide ST elevasyonu, taşikardi (128/dk) hipotansiyon (60/30 mmHg) ve oksijen satürasyonunda ani düşme (SpO₂) gözlemlendi. Hastada göğüs ağrısı ve solunum güçlüğü başladı. Hipotansiyon tedavisi için Noradrenalin infüzyonu başlandı. Hastaya nazal yüksek akışlı oksijen tedavisi ve noradrenalin infüzyonu (0.1 mcg/kg/dk) sonrasında arteriyel tansiyon 80/60 mmHg nabız 121/dk EKG de ST elevasyonu devam etmekteydi. Hastaya göğüs hastalıkları uzmanı tarafından pulmoner emboli ön tanısı konarak koagülasyon monitörizasyonu, kardiyak enzim takibi, BT Pulmoner Anjiyografi çekilmesi tavsiyesi ile yoğun bakıma çıkarıldı. Pulmoner BT anjiyo incelemesinde: Sağ ana pulmoner arter alt loblarında ve sol ana pulmoner arter alt lob dallarında yer yer akıma izin veren hipodens trombüs materyali ile uyumlu görünüm mevcuttu. Ekokardiyografisinde ise Sağ kalp boşlukları geniş, hafif triküspit yetmezliği, sol kalp boşlukları normal ejeksiyon fraksiyonu %65 idi. Hastaya düşük molekül ağırlıklı heparin başlanarak klinik takiplerinde batın drenajında kanama şikayeti olmayınca rFVIIa tedavisi sonlandırıldı. Postoperatif olarak ilk gün drenajından 250 ml serohemorajik mayi olduğu görüldü Kadın doğum uzmanları tarafından anlamlı kabul edilmedi. Hastanın göğüs ağrısı şikayeti azaldı, hemodinamik parametreleri inotropik ilaca ihtiyaç duymaksızın normale geldi. Hastanın oksijen ihtiyacı kalmayınca 3 gün sonra servise gönderildi. Serviste 15 gün yatırılan hastaya 1 hafta sonar visit

yapıldı. Hastanın göğüs ağrısı şikayeti hafifte olsa hala mevcuttu ancak oksijen ihtiyacı yoktu.

3. TARTIŞMA

Konjenital Faktör 7 yetmezliğinde posttravmatik ve postoperatif kanama riskleri artar. Perioperatif rFVIIa tedavisi ile ilgili dozlar hakkında fikir birliği olmamasına rağmen doz aralığı 15–30 µg /kg doz her 4-6 saatte bir uygulanması önerilmektedir. (4)

Retrospektif bir çalışmada Faktör 7 seviyesi %10 un altında ise cerrahi prosedürlerden sonra kanama komplikasyonu riski artar denilmiştir. (5) Bizim çalışmamızda olgumuzun FVII aktivitesi %1.1 seviyesinde tespit edilmiş ve hastanın hikayesinde daha önce yapılmış dış çekimi işleminde kanama öyküsü mevcuttu.

Genel olarak verilmesi gereken doz 15mcg/kg olmasına karşın bazı araştırmacılar konjenital FVII eksikliğinde tromboembolik olayların daha düşük oranda gerçekleşmesi açısından 15 µg /kg dan daha düşük dozlar önermektedir. Cerrahi stres trombozla ilişkili durumlar için iyi bilinen bir risk faktörü olduğundan operasyon esnasında rFVII konsantrisi verilmesi tromboembolik olayların insidansını artırır. Operasyon esnasında PT-INR ve FVII seviyesinin takip edilmesi overdoz yapılmasını engeller. (6) Bizim olgumuzda intraoperatif olarak tavsiye edilen dozlarda (15 mcg/kg) rFVII konsantrisi ile yapılan replasman tedavisi sonrasında PT ,INR değerleri oldukça düşmüş ve bu düşüş pulmoner emboli gelişmesine neden olmuş olabilir. Hematoloji klavuzlarında da önerilen dozlarda da tromboemboli komplikasyonlarının olabileceği akılda tutulmalıdır.

Akut pulmoner emboli hala dünyada mortalitesi yüksek bir komplikasyondur. (7) En önemli risk faktörü derin ven trombozu (DVT) ve yaygın olarak kullanılan Virchow triadı(venöz staz, hiperkoagülabilite, damar duvarı hasarı olarak sınıflandırılan ve akut pulmoner emboli ile ilişkilendirilen bir durumdur.(8) Hastamızda intraoperative (5 saat) bir venöz staz varlığında uygulanan rFVIIa tedavisi ile INR : 0.8 seviyesine gerileyerek akut pulmoner emboli zemini hazırlanmış olabilir. Akut Pulmoner embolinin klinik bulguları çok geniş spektrum gösterir. En sık görülen klinik bulgular %81 oranında dispne, %70 oranında taşikardi, %50 oranında hipoksi FVII yetmezliği olan hastalarda operasyon öncesi DVT açısından tetkik edilmesi önem taşımaktadır. (9) Hastamızda da ekstübasyon sonrasında taşikardi, hipoksi ve hipotansiyon ön planda görüldü 3 günlük yoğun bakım süresince hemodinamisi stabil olmasına

karşın göğüs ağrısı devam etti. Operasyon esnasında mutlaka koagülasyon testine bakılarak ilave dozların yapılması akılda tutulmalıdır.

4. SONUÇ

Faktör 7 yetmezliği olan hastalarda multidisipliner yaklaşım ve koagülasyon parametrelerinin yakın monitörizasyonu ile hastalar güvenli bir perioperatif süreç geçirebilir. Operasyon esnasında mutlaka koagülasyon testine bakılarak ilave dozların yapılması akılda tutulmalıdır.

5. KAYNAKLAR

1. Mariani G, Bernardi F. Factor VII deficiency. Semin Thromb Hemost. 2009;35(4):400-406.
2. Sevenet PO, Kaczor DA, Depasse F. Factor VII deficiency: from basics to clinical laboratory diagnosis and patient management. Clin Appl Thromb Hemost 2017; 23: 703– 710.
3. Kim SH, Park YS, Kwon KH, Lee JH, Kim KC, Yoo MC. Surgery in patients with congenital factor VII deficiency: a single center experience. Korean J Hematol. 2012;47:281–5)
4. Mariana G,Konkle BA, Ingerslev J. Congenital factor VII deficiency: therapy with recombinant activated factor VII-a critical appraisal. Hemophilia.2006;12:19-27
5. Benlakhhal F, Mura T, Schved JF, Giansily-Blaizot M. A retrospective analysis of 157 surgical procedures performed without replacement therapy in 83 unrelated factor VII-deficient patients. J Thromb Haemost. 2011;9:1149–56.
6. Tran HT, Tjønnfjord GE, Paus A, Holme PA. rFVIIa administered by continuous infusion during surgery in patients with severe congenital FVII deficiency. Haemophilia. 2011;17:764–70.)
7. LeVarge B, Wright C, Rodriguez-Lopez J. Surgical management of acute and chronic pulmonary embolism. Clinical Chest Med 2018;39:659-67
8. Yavuz S, Toktaş F, Goncu T, et al. Surgical embolectomy for acute massive pulmonary embolism. Int J Clin Exp Med 2014;7:5362-75
9. Eric Secemsky, Yuchiao Chang, C Charles Jain, Joshua A Beckman, Jay Giri, Michael R Jaff, Kenneth Rosenfield, Rachel Rosovsky, Christopher Kabrhel, Ido Weinberg Contemporary Management and Outcomes of Patients with Massive and Submassive Pulmonary Embolism. Am J Med. 2018 Dec;131(12):1506-1514.e0. doi: 10.1016/j.amjmed.2018.07.035. Epub 2018 Aug 11.

TEDAVİDEN TANIYA ABDOMİNAL TÜBERKÜLOZ: OLGU SUNUMU

ABDOMİNAL TUBERCULOSIS FROM TREATMENT TO DIAGNOSIS: A CASE REPORT

Vefa ATIŞ¹, Rifat PEKSÖZ^{1✉}, Esra DIŞÇI¹, Enes AĞIRMAN¹, Adem ARSLAN²

1. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Kliniği Erzurum, TÜRKİYE.
2. Sağlık Bakanlığı, Ağrı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, Ağrı, TÜRKİYE

ORCID: 0000-0001-6368-4356¹, 0000-0003-4658-5254¹, 0000-0003-3657-3620¹, 0000-0002-0289-1252, 0000-0002-9083-9306

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
15.02.2022	23.03.2022	31.07.2022

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Atış V, Peksöz R, Dişçi E, Arslan a. Tedaviden tanıya abdominal tüberküloz: olgu sunumu, J Surg. Med. Sci. 2022; 1(2) 64-66

Özet

Abdominal tüberküloz çeşitli klinik prezentasyonlar ile karşımıza çıkmaktadır. Abdominal tüberküloz giderek artan bir ekstrapulmoner tüberküloz tipidir. Gelişmiş olan ülkelerde Human Immunodeficiency Virus gibi immunitiyi baskılayan hastalıklara veya sistemik kemoterapiye sekonder olarak görülmesine karşılık, ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelere kalabalık aile yapısı, hijyen yetersizliği gibi nedenlerle görülmektedir. Hastalar genel olarak ateş, kilo kaybı, infertilite, abdominal ağrı gibi semptomlarla başvururlar. Abdominal tüberküloz tanısı, semptomlarındaki değişkenliği ve mevcut tanısal testlerin sınırlılığı nedeniyle zordur. Tanı için en önemli faktör hastalıktan şüphelenmektir. Hastaların %20'lik kısmında tedaviden tanıya gidilmektedir. Hastaların çoğu antitüberküloz tedavisine iyi yanıt vermektedir ve çok az hasta cerrahiye ihtiyaç duymaktadır. Bu olgu sunumunda abdominal tüberküloz ön tanılı bir hastanın literatür bilgileri eşliğinde tartışılması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: abdominal tüberküloz, ampirik tedavi, peritonit

Abstract

Abdominal tuberculosis presents with various clinical presentations. Abdominal tuberculosis is an increasing type of extrapulmonary tuberculosis. Although it is seen as secondary to diseases that suppress immunity such as Human Immunodeficiency Virus or systemic chemotherapy in developed countries, it is seen in developing countries, such as our country, due to crowded family structure and poor hygiene. Patients generally present with symptoms such as fever, weight loss, infertility, and abdominal pain. Diagnosis of abdominal tuberculosis is difficult due to its variability in symptoms and the limitations of available diagnostic tests. The most important factor for diagnosis is to suspect the disease. In approximately 20% of patients are diagnosed by treatment. Most patients respond well to antituberculosis therapy and very few patients needs surgery. In this case report, it is aimed to discuss a patient with a prediagnosis of abdominal tuberculosis in the light of literature.

Key Words: Abdominal tuberculosis, empiric treatment, peritonitis

1. GİRİŞ

1882'de ilk Robert Koch tarafından tüberküloz basili tanımlandı. Dünya nüfusunun üçte biri tüberküloz ile enfekte olduğu tahmin ediliyor. Ortalama her yıl 8 milyon tüberküloz vakası bildirilmektedir. Abdominal tüberküloz nadir görülen bir hastalık olması ile beraber ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelere daha sık olarak karşımıza çıkmaktadır. Tüberkülozun olağan klinik seyri değişmektedir. Klasik pulmoner yerine ekstrapulmoner tüberküloz olguları ile karşılaşmaya başlanmıştır (1). Abdominal tüberkülozde yaygın görülen ekstrapulmoner tiplerindedir. Abdominal tüberküloz tanısı, semptomlarındaki değişkenliği ve mevcut tanısal testlerin sınırlılığı nedeniyle zordur.

Tanı için en önemli faktör hastalıktan şüphelenmektir.

Bu çalışmada konvansiyonel tanı yöntemleriyle tanısı konulamayıp ampirik tedavi ile hastalık tanısı konulan olgunun güncel literatür bilgileri eşliğinde tartışılması amaçlanmıştır.

2. OLGU

On dokuz yaşında bayan hasta yaklaşık 2 aydır olan karın ağrısı, iştahsızlık, karında şişkinlik şikayetleri ile hastanemize başvurdu. Bilinen ek bir hastalığı bulunmayan hastanın batın muayenesinde hafif distansiyon ve hassasiyet mevcuttu. Çekilen batın tomografisinde batın içi sıvı, psödomiksoma peritonei hali vardı. Hastaya mide ve kolon patolojilerini dışlamak amacı ile endoskopi ve

kolonoskopi yapıldı ve bulguları normal idi. Hastaya tanı koymak amaçlı laparoskopik inceleme yapıldı. Explorasyonda batında ve özellikle peritonda yaygın nodüler görünüm ve asit mevcut olduğu görüldü (Şekil 1,2). Hastanın peritonundan multipl sayıda biyopsiler alındı. Peritoneal biyopsi histopatolojik incelenmesinde lenfosit hakimiyeti olan granülamatoz lezyonlar izlendi. Hastanın kültürlerinde ve batın içi sıvı yaymasında basil üretilmedi. Hastanın takiplerinde nefes darlığı, öksürük gibi akciğer semptomları da gelişti. Klinik şüphe ve ameliyat görüntüleri üzerine abdominal tüberkülozdan şüphelenildi ve ampirik antitüberküloz tedavi başlandı. Yaklaşık 3 aydır tüberküloz tedavisi alan hastanın karın ağrısı ve şişkinliği geriledi yine akciğer semptomları kayboldu, takip ve tedavisi devam etmektedir.

Resim 1: Abdominal tüberküloz bağırsak yüzeyinde nodüler lezyonlar



Resim 2 Abdominal tüberküloz periton yüzeyinde nodüller lezyonlar.



3. TARTIŞMA

Tüberküloz peritonu farklı şekillerde etkileyebilir. Enfeksiyon daha sık olarak, primer akciğer odaktan

hematojen yayılım ile peritondaki gizli tüberküloz odaklarının etkinleştirilmesinden sonra ortaya çıkmaktadır (2). Çok az sıklıkla, bakteriler enfekte bir ince bağırsak segmentinden transmural veya tüberküloz salpenjitten doğrudan periton boşluğuna girerek hastalık oluşturabilirler (3). Hastaların %90'ından fazlasında semptomları olan asit vardır ve altta yatan karaciğer hastalığı veya son dönem böbrek hastalığı nedeniyle bunları bakteriyel peritonitten ayırt etmek zordur. Hastalar ateş, kilo kaybı, iştahsızlık gibi genel şikayetlerle başvurabildikleri gibi lokalize ya da yaygın asit ile başvurabilirler (4). Batında lokalize ve jeneralize asit abdominal tüberküloz olgularında en sık görülen klinik bulgulardır (5,6). Abdominal tüberkülozun kesin tanısı, periton lavaj sıvısında tüberküloz basilinin görülmesi veya üretilmesi ile ya da periton biyopsisinin patolojik incelenmesi ile kazeifikasyon içeren kronik granülomatoz iltihabın saptanması ile konulur (7,8). Enfeksiyonun ilk safhalarında klasik kazeifiye granülomların dışında, nonkazeifiye granülomlar görülebilir. Dandapat ve ark. (9)'nın yaptığı çalışmada nonkazeifiye olan granülomlarla seyreden enfeksiyon %20 iken, Taşova ve ark. (10)'nın yaptığı bir çalışmada ise bu oran %29.6 olarak saptanmıştır. Bazı çalışmalarda karın tüberkülozu olan vakaların %20 sinin hayatlarının herhangi bir döneminde ameliyata tabi tutulduğu gösterilmiştir. Bazı seçilmiş olgularda tanı için laparotomi uygulanabilir ya da laparoskopi kullanılabilir (4,8,11). Abdominal tüberkülozlu bazı hastalarda, primer olarak ileus veya bağırsak perforasyonunun sebep olduğu akut batın bildirilmiştir. Böyle durumlarda, hastalığın tanısı ve prognoz iyileştirilmesi amacı ile tanı için bir laparotomi önemlidir (12). Patolojik olarak kesin tanı konulamayan hastalarda klinik şüphe varlığında hastaya erken tüberküloz tedavisi başlanmalı ve hastanın semptomları takip edilmelidir. Semptomları gerileyen hastanın tüberküloz olduğu sonucuna varılabilir.

4. SONUÇ

Abdominal tüberküloz tüm tüberküloz vakalarının küçük bir kısmını oluşturmaktadır, ancak gelişmiş ülkeler de dahil olmak üzere dünya çapında görülme sıklığı artış göstermektedir. Abdominal tüberküloz semptomlarının belirsiz olması ve subakut bir yapıya sahip olması nedeniyle hastalıktan erken şüphelenilmesi önemlidir. Tanı amaçlı laparoskopi veya laparotomi sadece bir teşhis aracı değil, aynı zamanda bir tedavi yöntemi de olabilir. Mikrobiyolojik veya mikroskopik tanı konmasına rağmen, şüpheli intraoperatif bulgular varlığında erken antitüberküloz tedavi başlanmalıdır.

Çıkar çatışması: Çalışmamız ile ilgili hiçbir şekilde (mali vs.) çıkar çatışması olmadığını beyan ederiz.

Mali Destek: Bu çalışmada herhangi bir mali destek alınmamıştır.

5. KAYNAKLAR

1. Rasheed S, Zinicola R, Watson D, Bajwa A, McDonald PJ. Intra-abdominal and gastrointestinal tuberculosis. *Colorectal Dis.* 2007;9(9):773-783. doi:10.1111/j.1463-1318.2007.01337.x

2. Sanai FM, Bzeizi KI. Systematic review: tuberculous peritonitis--presenting features, diagnostic strategies and treatment. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;22(8):685-700. doi:10.1111/j.1365-2036.2005.02645.x

3. Tang LC, Cho HK, Wong Taam VC. Atypical presentation of female genital tract tuberculosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1984 ve 17:355-363. [https://doi.org/10.1016/0028-2243\(84\)90115-1](https://doi.org/10.1016/0028-2243(84)90115-1).

4. Kim HK, Kim SE, Park MI, Park SJ, Moon W, Kim JH, et al. A Case of Tuberculous Peritonitis Presenting as Small Bowel Obstruction. *Korean J Gastroenterol.* 2017 May;69(5):308-11. <https://doi.org/10.4166/kjg.2017.69.5.308> PMID:28539036

5. Güler İ, Yılmaz E, Onan A, Tıraş B, Güner H. İleri evre over tümörünü taklit eden peritoneal tüberkülozis: Olgu sunumu. *Türk Jinekoloji ve ObstetrikDerneği Dergisi.* 2008; 5(2): 130-133.

6. Şen S, Şahbudak Bal Z, Vardar F. Çocuklarda ekstrapulmoner tüberküloz hastalığının tanı ve tedavisi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 2014; 57: 109-22.

7. Köse Ş, Atalay S, Sönmez U, Çelik D, Özkan A, Albayrak H. Tüberküloz peritonit: iki olgu sunumu. *ANKEM.* 2016;30(1): 31-35.

8. Bolognesi M, Bolognesi D. Complicated and delayed diagnosis of tuberculous peritonitis. *Am J Case Rep.* 2013 Apr 16;14:109-12. doi:10.12659/AJCR.883886.

9. Dandapat MC, Mishra BM, Dash SP, Kar PK. Peripheral lymph node tuberculosis: a review of 80 cases. *Br J Surg.* 1990 Aug;77(8):911 - 2. <https://doi.org/10.1002/bjs.1800770823> PMID:2118407

10. Taşova Y, Saltoğlu N, Mıdıklı O, Kandemir Ö, Aksu HSZ, Dündar İH. Erişkinde 98 ekstrapulmoner tüberküloz olgusunun değerlendirilmesi, *Klimik Derg* 2000;13(1):17-23.

11. Kılıç Ö, Somer A, Hançerli Törün S, Keser Emiroğlu M, Salman N, Salman T, et al. Assessment of 35 children with abdominal tuberculosis. *Turk J Gastroenterol.* 2015 Mar;26(2):128-32. <https://doi.org/10.5152/tjg.2015.6123> PMID:25835110

12. Farantos C, Damilakis I, Germanos S, Lagoudellis A, Skaltsas S; FARANTOS. Acute intestinal obstruction as the first manifestation of tuberculous peritonitis. *Hell Cheirourgike.* 2013;85(3):192-6. <https://doi.org/10.1007/s13126-013-0036-2>

SİTUS İNVERSUS TOTALİSLİ HASTADA LAPAROSKOPİK KOLESİSTEKTOMİ: NADİR BİR OLGU SUNUMU

LAPAROSCOPIC CHOLECYSTECTOMY IN SITUS INVERSUS TOTALIS: A RARE CASE REPORT

Fuat ŞENTÜRK¹, Rifat PEKSÖZ¹, Mehmet İlhan YILDIRGAN¹, Yavuz ALBAYRAK¹, Esra DIŞÇI¹

1. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Kliniği Erzurum, TÜRKİYE.

ORCID: 0000-0002-2342-3642¹, 0000-0003-4658-5254¹, 0000-0002-9041-9352¹, 0000-0002-2535-4329¹, 0000-0003-3657-3620¹

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
15.02.2022	23.03.2022	31.07.2022
Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:		
Senturk F, Peksöz F, Yıldrgan MI, Albayrak Y, Dişçi E. Situs inversus totalisli hastada laparoskopik kolesistektomi: nadir bir olgu sunumu. J Surg. Med. Sci. 2022; 1(2):67-70		
Özet		
Situs inversus totalis (SİT) nadir görülen bir klinik durum olup, abdominal ve torasik organların ayna görüntüsü ters yerleşimidir. Situs inversusla birlikte tanımlanan kolelitiazis oldukça nadirdir. Situs inversuslu hastalarda da laparoskopik kolesistektomi etkili ve güvenli bir tedavi yöntemidir. Cerrahlar ters anatomi ve alışkın olmadıkları elle çalışmadan dolayı dikkatli olması gerekir. Bu çalışmamızda situs inversus totalis ile birlikte olan kolelitiazis olgusunu literatür bilgileri eşliğinde sunmayı amaçladık.		
Anahtar Kelimeler: Kolelitiazis; laparoskopik kolesistektomi; situs inversus totalis.		
Abstract		
Situs inversus totalis (SIT) is a rare clinical condition and is a mirror image transposition of the abdominal and thoracic organs. Cholelithiasis in situs inversus is very rare situation. Laparoscopic cholecystectomy is an effective and safe treatment method in patients with situs inversus. Surgeons need to be careful because of reverse anatomy and unconventional manual work. In this study, we aimed to present a case of cholelithiasis with situs inversus totalis in the light of literature.		
Key words: Cholelithiasis; laparoscopic cholecystectomy; situs inversus totalis		

1. GİRİŞ

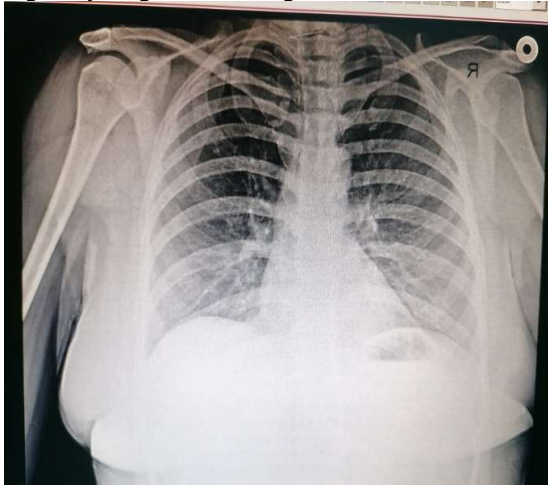
Situs inversus otosomal resesif geçişli bir anomalidir. Doğumda major organların ayna görüntüsü gibi yer değiştirdiği 1/5000-1/20.000' de bir görülen bir doğumsal olaydır (1,2). Genetik bir defekte bağlı olarak embriyonel dönemin ikinci haftasında ortaya çıkmaktadır. Parsiyel ve total olmak üzere iki çeşidi olup, total formunda tüm organlar ayna simetrisinde bulunurlar (3). Bu çalışmada kliniğimize kolelitiazis ön tanısıyla başvurup, laparoskopik kolesistektomi ameliyatı uyguladığımız total situs inversus olgusunu tartışmayı amaçladık.

2. OLGU

Kırk yaşında kadın hasta yaklaşık 3-4 aydır epigastrik ve sol üst kadranda olan karın ağrısı ve dispeptik şikâyetleri ile kliniğimize başvurdu. Yapılan tetkiklere göre situs inversus totalis (SİT) ve kolelitiazis tanısı konuldu. Fizik muayenede kalp tepe vurumu sağda olup, karın sol üst bölgede hassasiyeti mevcuttu. Laboratuvar tetkiklerinde önemli bir özellik saptanmadı. Arka-ön akciğer grafisinde mide fundus gazı sağda olup dekstrocardi hali mevcuttu (Şekil 1). Karın ultrasonografisinde (USG); safra kesesi ve karaciğer sol üst kadranda yerleşimliydi. Safra kesesi içerisinde milimetrik taşlar mevcut olup intrahepatik safra yolları ve koledok normaldi. Hastanın batın bilgisayarlı

tomografi (BT)'si SİT ile uyumlu idi (Şekil 2). Hasta ASA II anestezi riski ile elektif şartlarda ameliyat edildi. Operasyon odasında hastanın sağına cerrah ve kameraman asistan, hastanın soluna ise hemşire yerleşti. Hasta pozisyonu sağ yan ve baş yukarı olacak şekilde ayarlandı. Batın umblikus üstünden yapılan 1 cm'lik kesi ile verres iğnesi eşliğinde CO2 gazı ile şişirildi. Buradan 30 derece açılı kamera ve 10 mm'lik trokar yardımı ile batına girildi. Karın içi eksplorasyonda SİT hali mevcut olup başka ek bir patolojiye rastlanılmadı (Şekil 3). 10 mm'lik trokarın diğeri median epigastrik alana ve ksifoidden yaklaşık 5 cm aşağıya ise 2 adet 5 mm'lik trokarlar klasik laparoskopik kolesistektomideki yerleşim yerinin tam ayna aksi olacak şekilde yerleştirildi (Şekil 4). Kalot üçgeni açığa çıkarıldıktan sonra usulünce kolesistektomi yapıldı. Ameliyat sonrası 3. gün hasta şifa ile taburcu edildi. Hastadan bilgilendirilmiş ve aydınlatılmış onam formu imzası alındı.

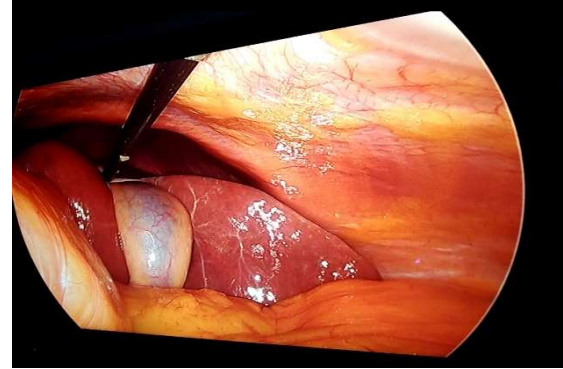
Resim 1: PA akciğer grafi. Dextrokardi ve sağda diyafragma altı mide gazı



Resim 2: Batın BT görüntüleri ile organların ayna görüntüsünde ters yerleşimi.



Resim 3: İntraoperatif görünüm



Resim 4: Trokar giriş yerleri



3. TARTIŞMA

Situs inversus totalis nadir görülen bir klinik durum olup, ilk olarak Fabricius tarafından 1600 yılında tanımlanmıştır. Safra kesesi taş insidansı normal hastalarda ve SİT'li hastalarda da aynıdır (4). SİT embriyonik orta bağırsağın saat yönünün tersine 270° döneceği yerde, saat yönünde 270° dönmesi ile meydana gelir. Böylelikle tüm abdominal ve torasik organlar normalde olması gereken bölgenin orta hatta göre simetriğine yerleşirler. Yani situs inversus normalin aynadaki görüntüsüdür. Böylelikle safra kesesi de sol üst kadrana yerleşir (5). Kartagener's sendromu (SİT, sinüzit ve bronşektazi) ve Yokhikawa's sendromu (SİT, Bilateral renal displazi, Pankreatik fibrozis ve Mekonyum ileusu) ile birlikte bulunabilir (6,7). SİT'li hastalarda ilk laparoskopik kolesistektomi 1991 yılında Campos ve Sipes tarafından rapor edilmiş olup, bugüne kadar laparoskopik olarak 80'den fazla literatürde vaka bildirilmiştir (8). Anatomik varyasyondan dolayı sistik kanal ve arter dikkatli izole edilmelidir. Portlar normalin ayna görüntüsünde yerleştirildiğinden sağ elini kullanan cerrahlar için oryantasyon zorluğu nedeniyle sıkıntı yaratabilir ve komplikasyon gelişme riskini artırabilir (9). Cerrah sol eliyle subsifoid porttan girdiği aletle Hartman poşunu tutarken, sağ eliyle de sol subkostal porttan diseksiyon işlemini yapar (10). Laparoskopik kolesistektominin SİT'i olan olgularda özel bir komplikasyonu yoktur. Ancak özellikle sistik arter ve sistik kanalın diseksiyonunda daha dikkatli olunmalıdır. Deneyimli cerrahlar tarafından yapılan ameliyatlarda hem operasyon daha kolay olabilecek, hem de yaşanabilecek iyatrojenik yaralanmalar önenebilecektir (3).

SİT'te bilier trakt ve vasküler anomaliler eşlik edebileceği için gerektiğinde intraoperatif kolanjiyografi yapılabilir (11,12). Rungsakulkij ve ark. ekstrahepatik bilier ağacı görüntülemek için indosiyenin yeşili kullanılarak fluoresan kolanjiyografi yapmışlardır (6,10). Son zamanlarda laparoskopik tek port ile SİT de kolesistektomi olguları bildirilmiştir. Bu yöntemin avantajı: sağ elini

kullanan cerrah için diseksiyon kolaylığı sağlaması ve tek insizyondan dolayı kozmetik sonuçların daha iyi olmasıdır. Ancak teknik olarak 4 port yöntemine göre daha zor ve maliyetli olma gibi dezavantajları vardır (13). Han ve ark. ilk olarak 2011 yılında tek insizyondan multiport kolesistektomi işlemi yapmışlar ancak dezavantaj olarak, yarı fleksibl kamera sistemi ve ters açılı el aletlerine ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir (9). Olgumuz sağ elini kullanan cerrah tarafından dört port yöntemiyle sorunsuz bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

4. SONUÇ

Sonuç olarak, SİT'li hastalarda laparoskopik işlem kontrendikasyon teşkil etmez. Trokar ve aletlerin ters yerleşimi, operasyona uyum sağlanmasında yaşanan sıkıntı ve manüplasyonlarda zorluklar yaşanması söz konusudur. Bu sebeple komplikasyon gelişme riski artmaktadır. Ancak gerektiğinde açık cerrahiye geçmekten kaçınılmamalıdır. Komplikasyonsuz gerçekleştirilecek açık bir cerrahi, tehlikeli olabilecek laparoskopik bir cerrahiye her zaman tercih edilmelidir.

Çıkar çatışması: Çalışmamız ile ilgili hiçbir şekilde (mali vs.) çıkar çatışması olmadığını beyan ederiz.

Mali Destek: Bu çalışmada herhangi bir mali destek alınmamıştır.

5. REFERANSLAR

1. Eisenberg D. Cholecystectomy in situs inversus totalis: a laparoscopic approach. *Int Med Case Rep J.* 2009 Oct;2:27-9. <https://doi.org/10.2147/IMCRJ.S7702> PMID:23754879
2. Peksöz R, Yeni M, Dablan A, Dişçi E. A rare acute abdomen case: acute appendicitis in a patient with situs inversus totalis. *Journal of Surgery and Medicine.* 2019;3(10):766-8. <https://doi.org/10.28982/josam.570128>.
3. Akçan A, Akyıldız H, Ekici F, Artaş Y. Kolelitiazisle birlikte olan bir total situs inversus olgusu Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal). 2007;29(1):75-77.
4. Goyal S, Garg A, Singla VK. Laparoscopic cholecystectomy in situs inversus totalis: two case reports with review of literature. *Archives of Medicine and Health Sciences.* 2015;3(2):272-8. <https://doi.org/10.4103/2321-4848.171921>.
5. Girgin M, Kanat BK, Ayten R. Situs inversus totalisli hastada laparoskopik kolesistektomi. *J Kartal TR.* 2012;23(2):91-4. <https://doi.org/10.5505/jkartaltr.2012.26121>.

6. AIKhlaiwy O, AlMuhsin AM, Zakameh E, Taha MY. Laparoscopic cholecystectomy in situs inversus totalis: case report with review of techniques. *Int J Surg Case Rep.* 2019;59:208–12. <https://doi.org/10.1016/j.ijscr.2019.05.050> PMID:31181389
7. Karthik N, Rajamanikkam B, Kumar BS. Laparoscopic cholecystectomy in situs inversus totalis: A case report. *IAIM.* 2020;7(6):39–43.
8. Jang JY, Lee W, Cho J, Jeong CY, Hong SC. Laparoscopic cholecystectomy in two patients with situs inversus totalis: A Case Report. *J Minim Invasive Surg.* 2018;21(2):82–5. <https://doi.org/10.7602/jmis.2018.21.2.82>.
9. Goyal S, Garg A, Singla VK. Laparoscopic cholecystectomy in situs inversus totalis: A review article. *Arch Clin Exp Surg.* 2016;5(3):169–76. <https://doi.org/10.5455/aces.20150610060815>.
10. Rungsakulkij N, Tangtawee P. Fluorescence cholangiography during laparoscopic cholecystectomy in a patient with situs inversus totalis: a case report and literature review. *BMC Surg.* PMID:21626341 2017 Apr;17(1):43. <https://doi.org/10.1186/s12893-017-0242-x> PMID:28427402
11. Pitiakoudis M, Tsaroucha AK, Katotomichelakis M, Polychronidis A, Simopoulos C. Laparoscopic cholecystectomy in a patient with situs inversus using ultrasonically activated coagulating scissors. Report of a case and review of the literature. *Acta Chir Belg.* 2005 Feb;105(1):114–7. <https://doi.org/10.1080/00015458.2005.11679682> PMID:15790219
12. Djohan RS, Rodriguez HE, Wiesman IM, Unti JA, Podbielski FJ. Laparoscopic cholecystectomy and appendectomy in situs inversus totalis. *JSLs.* 2000 Jul-Sep;4(3):251–4. PMID:10987405
13. Han HJ, Choi SB, Kim CY, Kim WB, Song TJ, Choi SY. Single-incision multiport laparoscopic cholecystectomy for a patient with situs inversus totalis: report of a case. *Surg Today.* 2011 Jun;41(6):877–80. <https://doi.org/10.1007/s00595-010-4387-9>

A DIALECTICAL METAPHOR ON THE MARVELOUS SIMILARITIES BETWEEN THE BLOOD-BRAIN AND THE RIVER- LAND BARRIERS

KAN-BEYİN VE IRMAK-TOPRAK BARIYERLERİ ARASINDAKİ MUHTEŞEM BENZERLİKLER ÜSTÜNE DİYALEKTİK BİR METAFOR.

Mehmet Dumlu AYDIN¹

1. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Erzurum/TÜRKİYE

ORCID: 0000-0002-0383-9739¹

Received/ Geliş Tarihi
25.07.2022

Accepted Kabul Tarihi
26.05.2022

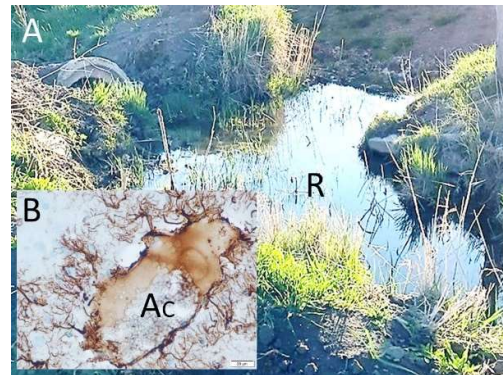
Published Yayın Tarihi
31.07.2022

To cite this article/ Bu makaleye atıfta bulunmak için:

Aydin MD. Dialectical metaphor on the marvelous similarities between the blood-brain and the river-land barriers. J Surg. Med. Sci. 2022; 1(2):71-72

Blood-brain barrier; It consists of blood vessels and glia cells of the brain, cerebrospinal fluid around the vessels, and peace-fight cells located at these distances (A Prat, Glia. 2001). This structure, which provides the balance of the central nervous system between life and death, not only refuses to interfere with the private world of the brain, but also prevents the brain's declaration of eternal freedom. The blood-brain barrier primarily tries diplomacy through the neural circuits it contains in the protection of the software and hardware of the brain. If this is not successful; Due to the cerebrospinal fluid it contains, it uses the strategies of sea, land with astrocytes, and air wars with the molecules it produces. In terms of its structure and functions, the blood-brain barrier is similar to the rivers that give life to the earth and maintain its balance. River beds are like arteries and veins, plants and trees on riverbanks are like

Figure 1: You view a river (With Eye, Unknown Dye?!, $x\infty$) in Picture A and the blood-brain barrier in Picture B (LM, GFAP, $x40$). Pictures belong to my own archive.



glia cells, aquatic creatures living in rivers are blood cells, birds are neurotransmitters, and the sounds and smells of rivers resemble electrical currents used in nerve transmissions. The deterioration of blood-brain barriers in all living things, including humans, cannot sufficiently disrupt the river-soil barrier, perhaps due to the mercy of the rivers. But the disruption of the river-soil barrier can completely

destroy the blood-brain barrier in living things and turn the Earth into Mars.

References

1. A Prat, K Biernacki, K Wosik, J P Antel: Glial cell influence on the human blood-brain barrier *Glia*. 2001 Nov;36(2):145-55.