



TIP FAKÜLTESİ

DİCLE TIP DERGİSİ

DİCLE MEDICAL JOURNAL

pISSN 1300-2945
eISSN 1308-9889

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayını Journal
of Dicle University Medical School

Yılda Dört Kez Yayınlanır
Publishes Four Times a Year

Açık Erişim
Open Access
www.diclemedj.org

Kaynak Gösterimi
Abbreviation for Citation
Dicle Med J





DICLE TIP DERGİSİ

DICLE MEDICAL JOURNAL

İmtiyaz Sahibi / Grantee

Cahfer GÜLOĞLU, Türkiye

Editör / Editor

Hakkı Murat BİLGİN, Türkiye

Alan Editörleri / Field Editors

Serda EM
Selahattin TEKEŞ
Sevgi İRTEGÜN KANDEMİR
Mustafa İÇER
Mehmet TÜRE
M. Tolga KAFADAR

Yayın Kurulu / Editorial Board

Hakkı Murat BİLGİN
Serda EM
Selahattin TEKEŞ
Sevgi İRTEGÜN KANDEMİR
Mustafa İÇER
Mehmet TÜRE
M. Tolga KAFADAR

İletişim / Contact

Saibe BAYRAM

pISSN 1300 - 2945
eISSN 1308 - 9889

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayını
Journal of Dicle University Medical School

Yılda Dört Kez Yayınlanır
Publishes Four Times a Year

Açık Erişim
Open Access
www.diclemedj.org

Kaynak Gösterimi
Abbreviation for Citation
Dicle Med J



DICLE TIP DERGİSİ

DICLE MEDICAL JOURNAL

Danışma Kurulu / Advisory Board

Dr. Mehmet KARAKOÇ, Dicle Üniv. Diyarbakır,
Türkiye

Dr. Ahmet METE, Gaziantep Üniv. Gaziantep, Türkiye

Dr. Alpaslan Kemal TUZCU, Dicle Üniv. Diyarbakır,
Türkiye

Dr. Ayfer GÖZÜ PİRİNÇÇİOĞLU, Dicle Üniv.
Diyarbakır, Türkiye

Dr. Aynur EREN TOPKAYA, Namık Kemal Üniv.
Tekirdağ, Türkiye

Dr. Ayşe Filiz KOÇ, Çukurova Üniv. Adana Türkiye

Dr. Azis POLLOZHANI, Mother Teresa Univ. Skopje,
Macedonia

Dr. Cahfer GÜLOĞLU, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Çiğdem YILDIRIM GÜÇLÜ, Ankara Üniv. Ankara,
Türkiye

Dr. Derya UÇMAK, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Diclehan ORAL, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Elif AĞAÇAYAK, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Gönül Ölmez KAVAK, Dicle Üniv. Diyarbakır,
Türkiye

Dr. Güney BADEMCI, Miami Univ. Miami, ABD

Dr. Gülsen ÖZKAYA SAHİN, Lund University, İsveç

Dr. H. Murat BİLGİN, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Hakkı ŞİMŞEK, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Hasan YILMAZ, Yüzüncüyıl Üniv. Van, Türkiye

Dr. Harbir KOHLI, PGIMER Chandigarh, India

Dr. İlker KELLE, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. İsmail TOPÇU, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Jagdish CHANDRA, Lady Hardinge Medical
College Delhi, Bangladeş, India

Dr. Lut TAMAM, Çukurova Üniv. Adana, Türkiye

Dr. Mehmet AKDAĞ, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Mehmet Hanifi OKUR, Dicle Üniv. Diyarbakır,
Türkiye

Dr. Mehmet KÜÇÜKÖNER, Dicle Üniv. Diyarbakır,
Türkiye

Dr. M. Nuri ÖZBEK, Diyarbakır Çocuk Hastalıkları
Hast. Diyarbakır, Türkiye

Dr. M. Orhan AYYILDIZ, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. M. Kamuran BİRCAN, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. M. Kemal ÇELEN, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Melek DEMİR, Pamukkale Üniv. Denizli, Türkiye

Dr. Mustafa KELLE, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Mustafa ÖZKAN, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Mustafa TEKİN, Miami Univ. Miami, ABD

Dr. Muzaffer Murat DEĞERTEKİN, Yeditepe Üniv. İstanbul, Türkiye

Dr. Müzeyyen YILDIRIM BAYLAN, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Onur KARATUNA, EUCAST Development Laboratory, Växjö, İsveç

Dr. Refik ÜLKÜ, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. S. Uğur KEKLİKÇİ, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Selçuk TUNİK, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Sadullah GİRGİN, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Salvatore RUBINO, University of Sassari, Sassari, Italy

Dr. Serdar ONAT, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Sevin MEŞE, İstanbul Üniv. İstanbul, Türkiye

Dr. Silvana SANNE, University of Sassari, Sassari, Italy

Dr. Şeyhmus ERTOP, Bülent Ecevit Üniv. Zonguldak, Türkiye

Dr. Talip GÜL, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Ulaş ALABALIK, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Yusuf TAMAM, Adana Şehir Eğitim ve Araştırma

Hast. Adana, Türkiye

Dr. Zeynep GÜLAY, Dokuz Eylül Üniv. İzmir, Türkiye

Dr. Zülfikar YILMAZ, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye

Dr. Z. Ceren KARAHAN, Ankara Üniv. Ankara, Türkiye

Dr. M. Zülküf AKDAĞ, Dicle Üniv. Diyarbakır, Türkiye



TIP FAKÜLTESİ

www.diclemedj.org



Dicle Tıp Dergisi, Index Copernicus, ProQuest, CrossRef, ULAKBIM Türk Tıp Dizini, Türkiye Atıf İndeksi ve Türk Medline veri tabanlarında yer almaktadır.

Dicle Medical Journal is abstracted/indexed by Index Copernicus, ProQuest, CrossRef, ULAKBIM Medical Index, Turkey Citation Index and Turk Medline

Dicle Tıp Dergisi yılda dört sayı (Mart, Haziran, Eylül, Aralık) yayınlanan “çift-hakemli” dergidir.
Dicle Medical Journal is a quarterly (March, June, September, December), peer-reviewed journal.

Basım Tarihi: Haziran 2023
Publishing Date: June 2023

Copyright © Dicle Tıp Dergisi 2023, Her hakkı saklıdır / *All rights reserved*

İletişim / Communication

Dicle Tıp Dergisi Editörlüğü, Tıp Fakültesi Dekanlığı 21280 Diyarbakır - Türkiye
Tel / **Phone:** +90 412 248 80 01 / 4737,

Faks / **Fax:** +90 412 248 84 40

Web Address: www.diclemedj.org

E-posta / E-mail: didemedj@hotmail.com

Tasarım ve Baskı / Printing

Dicle Tıp Dergisi Editöryal Kurulu Diyarbakır, Türkiye

DİCLE TIP DERGİSİ YAZIM KURALLARI VE YAZARLARA BİLGİ

1. Dicle Tıp Dergisi, sağlık bilimlerinin değişik disiplinlerinde yapılmış orijinal araştırma, kısa rapor, olgu sunumu, editöre mektup ve sağlık bilimleri alanındaki son gelişmeleri yansıtan ve dergi yönetiminin davetiyle yazılmış derleme tarzında hazırlanmış yazıları yayımlar.

2. Bir yazının yayınlanabilmesi için daha önce başka bir dergide yayınlanmamış veya başka bir dergiye yayınlanmak üzere gönderilmemiş olması ve Dergi yönetimi tarafından yayına uygun görülmüş olması gerekir.

3. Derginin dili Türkçe ve İngilizce'dir. Her iki dilde hazırlanmış yazılar yayınlanmak üzere kabul edilebilir.

4. Yazılar aşağıda belirtilen şekilde hazırlanmalıdır;

a- Başlık, açıklayıcı, yazının içeriğini yansıtacak şekilde ve öz olmalıdır.

b- Yazarların isimleri ve çalıştıkları kurumlar ile iletişim kurulacak yazara ait yazışma adresi, eposta adresi, telefon ve varsa faks numaraları başlık sayfasında verilmeli; çalışmayı destekleyen kurum ya da kurumlar varsa not olarak belirtilmelidir.

c- Orijinal makalelerde: Özet/İngilizce Abstract (İngilizce özetin başına makalenin İngilizce adı eklenmelidir), Anahtar kelimeler/Keywords, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma ve Kaynaklar; Olgu Sunumlarında; Özet, İngilizce Özet (İngilizce özetin başına yazının İngilizce adı da yazılmalıdır), Giriş, Olguların Sunumu, Tartışma ve Kaynaklar sırası ile yazılmalıdır. İngilizce olarak yazılan yazılarda da Türkçe özet ve anahtar kelimeler yazılmalıdır. İngilizce yazılan yazılarda İngilizce ve Türkçe başlıklar, İngilizce ve Türkçe özetler ve anahtar kelimeler bulunmalı ve yazı Orijinal araştırmalar için: Introduction, Materials and methods, Results, Discussion ve References alt başlıklarını içermeli; İngilizce olgu sunumunda İngilizce ve Türkçe özetler ve Anahtar kelimeler, Introduction, Case, Discussion, ve References alt başlıklarını içermelidir.

d- Yazılarda genel kabul görmüş kısaltmalar kullanılmalı, bütün kısaltmaların açılımları ilk geçtikleri yerde parantez içinde belirtilmelidir.

e- Özet 250 kelimeyi geçmemeli ve çalışmanın tamamının anlaşılmasını sağlayacak nitelikte olmalıdır. Türkçe özet, Amaç, Gereç ve yöntem, Bulgular ve Sonuç alt başlıklarını içermeli; İngilizce özette Objectives, Materials and methods, Results ve Conclusion alt bölümleri olacak şekilde yapılandırılmalıdır. Özet ve İngilizce

Özetin altına araştırma ile ilgili 3-5 Anahtar kelime (Keywords) yazılmalıdır. Anahtar Kelimelerin İngilizcesi Index Medicus'daki Medical Subjects Headings'e uygun olmalı, Türkçe Anahtar kelimeler ise Türkiye Bilim Terimleri'nden (<http://www.bilimterimleri.com>) seçilmelidir.

f- Kaynaklar: Yazıda; önemli, yeni ve/veya çalışmayı doğrudan ilgilendiren kaynaklara yer verilmelidir.

Araştırma yazılarında kaynak adedi en çok 35, olgu sunumlarında ise en çok 10 adet olmalıdır. Derlemelerde kaynak sınırlaması yoktur. Kaynaklar metin içinde geçtikleri sıraya göre numaralanıp parantez içinde belirtilmeli ve kaynaklar bölümünde bu sıra numarasına göre yazılmalıdır. Kaynak yazımında, altı veya daha az sayıda yazar varsa tüm yazarların adları yazılmalı; altıdan çok yazar varsa ilk üç isim yazıldıktan sonra "ve ark." veya "et al." ifadesi kullanılmalıdır. Kaynaklarda dergi adlarının kısaltılmış yazımları için "List of Journals Indexed in Index Medicus" esas alınmalıdır. Index de yer almayan dergiler için kısaltma yapılmamalıdır. Kaynakların doğruluğundan yazarlar sorumludur.

Kaynak yazım örnekleri;

Kitaplar; Tüm yazarların soyadları, adlarının baş harfleri, kitabın adı, baskısı, yayınlandığı yer, yayınlayan kitapevi, yayın yılı, sayfa numarası (başlangıç-bitiş).

Örnek

Hatch DJ, Sumner E, Hellman J. The Surgical Neonate: Anaesthesia and Intensive Care, 3rd edn. London: Edward Arnold, 1994:120-5.

Kitaptan Bölüm İçin: Tüm yazarların soyadları, adlarının baş harfleri, bölüm adı, kitabın yazarlarının soyadları, adlarının baş harfleri, kitabın adı, baskısı, yayınlandığı yer, yayınlayan kitapevi, yayın yılı, sayfa numarası (başlangıç- bitiş).

Örnek

Motoyama EK. Respiratory physiology in infants and children. In: Motoyama EK, Davis PJ, eds. Smith's Anesthesia for Infants and Children, 5th edn. St. Louis: C.V. Mosby, 1990:11-76.

Sürelî Yayından Makale: Tüm yazarların soyadları, adlarının baş harfleri, makale adı, derginin Index Medicus'a göre kısaltılmış adı, yayın yılı, cilt numarası ve sayfa numarası (başlangıç-bitiş).

Örnek

a- Anderson NJ, Abbott GD, Mogridge N, Allan RB, Maling TM, Wells E. Vesicoureteric reflux in the newborn: relationship to fetal renal pelvic diameter. *Pediatr Nephrol* 1997;11:610-6.

b- Dunne FP, Elliot P, Gammage MD, et al. Cardiovascular function and glucocorticoid replacements patients with hypopituitarism. *Clin Endocrinol* 1995;43:629-32.

c- İnternette Kaynak Gösterimi: Basılmış

yazıya internet aracılığıyla da ulaşılabilir; yazarlar yazının İnternet adresini, ilave olarak, Kaynaklara ekleyebilirler.

Örnek

Testylier G, Tonduli L, Malabiau R, Debouzy JC. Effects of exposure to low level radiofrequency fields on acetylcholine release in hippocampus of freely moving rats. *Bioelectromagnetics* 2002; 23: 249-255. Ulaşılabilir adres: <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext?ID=92013984&PLACEBO=IE.pdf>

5. Yazılar Microsoft Word Programı kullanılarak 12 punto, kenar boşlukları 2.5 cm olacak şekilde ve 1.5 satır aralığı ile hazırlanmış olmalıdır. Başvurular online olarak www.diclemedj.org web sayfasındaki *Online Makale Gönderimi* kısmından internet üzerinden yapılmalıdır,

6. Fotoğraf, şekil, grafik, çizim ve şemaların toplam sayısı en fazla 6 olmalıdır. Fotoğraflar JPG (veya JPEG) formatında ait olduğu yazıyı ve fotoğrafın numarasıyla etiketlenip, e-postaya eklenerek gönderilmelidir. Bir insan fotoğrafı ise şahsın tanınmaması için gözleri bir bantla kapatılmalıdır. Mikroskop kullanılarak çekilmiş resimlerde büyütme oranı ve kullanılan boya belirtilmelidir.

7. Orijinal makaleler; başlık sayfası, tablo, şekil, grafik ve resimler hariç 15 sayfayı; olgu bildirimleri 8 sayfayı, derleme yazıları ise 10 sayfayı geçmemelidir.

8. Yayınlanan yazıların bilimsel içeriğine ilişkin her türlü hukuki sorumluluk ve imla hatalarının sorumluluğu yazarlara aittir.

9. Yazıların araştırma ve yayın etiğine uygun olarak hazırlanması bir zorunluluktur. Yazarlar, insan ile ilgili tüm klinik araştırmalarda etik ilkeleri kabul ettiklerini, araştırmayı bu ilkelere uygun olarak yaptıklarını belirtmelidirler. Bununla ilgili olarak Gereç ve Yöntem bölümünde: klinik araştırmanın yapıldığı kurumdaki etik kuruldan prospektif her çalışma için onay aldıklarını ve çalışmaya katılmış kişilerden veya bu kişilerin vasilerinden bilgilendirilmiş onam aldıklarını; hayvanlar ile ilgili deneysel çalışmalarda ise hayvan haklarını koruduklarını, ilgili deney

hayvanları etik kurulundan onay aldıklarını belirtmek zorundadırlar. İnsan veya deney hayvanı üzerinde yapılan deneysel çalışmaların sonuçları ile ilgili olarak, dergiye yapılan başvuru esnasında, etik kurul onay belgesi alınmış olmalıdır.

10. Dergi Yönetimi yazının içeriği ile ilgili hakemlerin değerlendirilmesini aldıktan sonra; yayına kabul edip etmeme veya gerekli gördüğü düzeltmelerin yapılmasını isteme hakkına sahiptir. Dergi yönetimi, ön inceleme yaparak, gerekli gördüğü durumlarda, yazıyı hakem değerlendirmesine sunmadan yazara iade edebilir.

11. Yayınlanmak üzere kabul edilen yazılar basılmadan önce baskı düzeltmesi için yazarına gönderilir. Yazının basılabilmesi için, istenen sürede düzeltilmiş olarak, Dicle Tıp Dergisi'ne geri gönderilmiş olması gerekir.

12. Yayınlanan yazıların telif hakkı Dicle Tıp Dergisi'ne aittir.

13. Yazarlarının tümünün imzasını taşıyan veya diğer yazarlara ait sorumluluğu üstlenmek kaydıyla Sorumlu yazar tarafından imzalanan, Yayın Hakkı Devir Sözleşmesi makale dergiye ilk gönderildiğinde başvuru ile birlikte PDF dosya formatında başvuru dosyaları ekinde gönderilmelidir.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Dicle Medical Journal

Journal of Dicle University Medical Faculty

ISSN: 1330-2945 (print version)

ISSN: 1308-9889 (electronic version)

Dicle Medical Journal will consider the publication of manuscripts dealing with clinical or laboratory investigations, including original investigations, case reports, invited reviews and letter to editors in the broad field of Medicine. Animal or in vitro research will also be considered. All manuscripts are subject to peer - review process. Manuscripts can be written in English or Turkish. All manuscripts should be prepared as appropriate for "Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journals (<http://www.icmje.org/>). All submitted manuscripts must be contributed solely to Dicle Medical Journal not to be under consideration for publication elsewhere. A copyright transfer statement must be signed by all authors and accompany each submission.

Ethical Considerations

Manuscripts submitted for publication must contain a statement indicated that all prospective human studies have been approved by the ethics

Committee, have therefore been performed in accordance with the ethical standards of 2008 Declaration of Helsinki. It should also be clearly stated that all persons gave informed consent prior to their inclusion in the study. Studies involving animals must have the animal ethics committee approval and be conducted in accordance with the care and use of laboratory animals standards.

Copyright agreement

All submitted materials become the property of Dicle Tıp Dergisi / Dicle Medical Journal. If a submission is accepted for publication, authors will sign a copyright transfer agreement. Copyright transfer agreement signed by all authors or by the correspondent Author on behalf of all authors should be sent to the Journal in a PDF file during the first submission process. The publisher reserves the copyright. Materials published in Dicle Tıp Dergisi / Dicle Medical Journal may not be reproduced or published elsewhere without written permission of the Publisher.

Manuscript preparation

Manuscripts should be arranged in the following order; Title page, Abstracts, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References, Tables, Figure Legends, Figures. All of these sections should run consecutively. The use of subheads is encouraged.

Title page: The title page should not contain abbreviations. The title page should contain the full names and affiliations of all authors and complete contact information (including address, phone number, fax number, email) of the corresponding author.

Abstract: An abstract of no more than 250 words in length, describing the aims, the results that were obtained from presented data and the conclusions. Abstract should be written in a structured manner including Objectives, Materials and methods, Results and Conclusions subheadings.

Keywords: Up to five keywords should be supplied following the abstract. The keywords should reflect the central topic of the article. Keywords should be convenient with Medical Subjects Headings of Index Medicus.

References: References should be numbered consecutively in order of their appearance in the text and listed in numerical order. Journal titles should be abbreviated according to Index Medicus. The name of all authors should be written in the References, if six or fewer authors exist names of all authors should be given, and if the number of authors exceeds six give the first three authors and et al. References with correct punctuation should be as follows:

Journals

Anderson NJ, Abbott GD, Mogridge N, Allan RB, Maling TM, Wells E. Vesicoureteric reflux in the newborn: relationship to fetal renal pelvic diameter. *Pediatr Nephrol* 1997;11:610-6. Dunne FP, Elliot P, Gammage MD, et al. Cardiovascular function and glucocorticoid replacement in patients with hypopituitarism. *Clin Endocrinol* 1995;43:629-32.

Books

Hatch DJ, Sumner E, Hellman J. *The Surgical Neonate: Anaesthesia and Intensive Care*, 3rd edn. London: Edward Arnold, 1994:120-5.

Chapter in a book: Motoyama EK. Respiratory physiology in infants and children. In: Motoyama EK, Davis PJ, eds. *Smith's Anesthesia for Infants and Children*, 5th edn. St. Louis: C.V. Mosby, 1990:11-76. A paper published online but not (yet) in print can be cited using the Digital Object Identifier (DOI).

Tables and Illustrations: Tables must be self explanatory and must not duplicate information in the text. Each table must have a title and should be numbered in order of appearance in the text. Any symbol and abbreviations used in the table body must be defined in a footnote to the table. All manuscripts must be submitted from www.diclemedj.org via Online Submission.



www.diclemedj.org



Bilimsel Hakemlere Teşekkür / *Acknowledgement of Referees*

Dergimize yayınlanmak üzere gönderilmiş olan makaleleri titiz bir şekilde değerlendiren kıymetli hakem hocalarımıza, değerli katkılarından dolayı teşekkür eder, katkılarının devamını dileriz.

We greatly appreciate the contributions made by the scientists, who worked as reviewers for Dicle Medical Journal and we expect their contributions to the following journal issues.

Editör / *Editor*

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

ÖZGÜN ARAŞTIRMA / ORIGINAL ARTICLE

Investigation of Hip Extension and Flexion Muscle Strength in Female Weightlifting Athletes

Kadın Halter Sporcularında Kalça Ekstansiyon ve Fleksiyon Kas Kuvvetlerinin Araştırılması

Bülent Işık, Kenan Erdağı

130

Burn wound bacterial profile and antibiotic sensitivity results in Turkey's southeast region of Anatolia

Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Yanık Yarası Bakteri Profili ve Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları

Cemalettin Durgun, Ebral Yiğit

141

Clinical Results of Combined Systemic Steroid and Retroorbital Radiotherapy Treatment in Active Thyroid Associated Ophthalmopathy

Aktif Tiroid Orbitopatide Kombine Sistemik Steroid ve Retroorbital Radyoterapi Tedavisinin Klinik Sonuçları

Bilge Batu Oto, Didem Çolpan Öksüz, Seda Sert, Ömer Erol Uzel, Ahmet Murat Sarıcı 149

Factors Affecting Serum Vitamin D Level in Epilepsy

Epilepside Serum D Vitamini Düzeyini Etkileyen Faktörler

Pınar Bengi Boz

156

Six months follow up of hemodialysis patients after SARS-CoV-2 vaccinations: Effects of the booster dose and vaccine type

Hemodiyaliz Hastalarının SARS-CoV-2 aşılamalarının ardından 6 aylık takibi: Rapel doz ve aşı türünün etkileri

Ahmet Murt, Mehmet Riza Altıparmak, Harika Oyku Dinc, Serkan Feyyaz Yalin, Meral Mese, Serap Yadigar, Zeynep Yıldız, Bekir Kocazeybek, Meltem Pekpak, Muveddet Rezzan Ataman

165

A Study on The Presence of Legionella pneumophila in Hospital Water Samples from Eastern Turkey

Türkiye'nin Doğusundaki Hastanelerden Alınan Su Örneklerinde Legionella pneumophila Varlığı

Elif Aydın, Yalçın Dicle, Duygu Kübra Tuna 173

Türkiye'nin Doğusundaki Hastanelerden Alınan Su Örneklerinde Legionella pneumophila Varlığı

Kalkaneus kırıklarında Gissane ve Böhler Açılarının Ölçümünde Mobil Telefon Uygulaması Kullanımının Güvenirliği ve Geçerliliği

Onur Gürsan, Ertuğrul Şahin 181

Management of Cardiac Implantable Electronic Devices removal with cardiopulmonary bypass: A single center experience

Kardiyak İmplant Edilebilir Elektronik Cihazların kardiyopulmoner bypass ile çıkarılmasının yönetimi: Tek merkez deneyimi

Timuçin Aksu, Çiğdem Tel Üstünişik 187

Identification of Spore-Forming Intestinal Parasites with Pentaplex Real-Time PCR

Spor Oluşturan Bağırsak Parazitlerinin Pentaplex Real-Time PCR ile Tanımlanması

Fadime Eroğlu 194

Importance of using tissue PCR to diagnose CMV colitis in ulcerative colitis

Ülseratif kolitli hastalarda CMV tanısında doku PCR'in önemi

Tuba Tuba Erürker Öztürk, Murat Kıyıcı, Macit Gülten, Enver Dolar, Selim Gürel, Selim Giray Nak, Fatih Eren 203

Prioritising of Retinal Diseases During Covid-19 Outbreak

Covid-19 Salgın Sürecinde Retina Hastalıklarının Önceliklendirilmesi

İnci Elif Erbahçeci Timur, Nagihan Uğurlu 211

Differentiation of High-Attenuation Renal Cyst and RCC with CT Texture Analysis on Unenhanced CT

Kontrastsız BT'de BT tekstür analizi ile Yüksek atenuasyonlu Renal Kist ve RCC'nin ayrımı

Mustafa Yıldırım, Murat Baykara, Mustafa Koç 220

Relationship between growth hormone and insulin like growth factor-1 levels and atherosclerotic risk markers in patients with acromegaly

Akromegali hastalarında Growth hormon ve insülin like growth faktör-1 düzeyi ile aterosklerotik risk belirteçleri arasındaki ilişki

Erdal Bodakçı, Faruk Kılınc, Mazhar Müslüm Tuna, Zafer Pekkolay, Aziz Karabulut, Alpaslan Kemal Tuzcu 227

Servikal Örneklerde Human Papillomavirüs Genotiplendirme ve Sitopatoloji Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Evaluation of Human Papillomavirus Genotyping and Cytopathology Results in Cervical Samples

Hacer Yerlikaya, Filiz Orak, Murat Aral, Kezban Tülay Yalçınkaya, Sezen Koçarlan, Kadir Güzin, Adem Doğaner 235

Non-Valvüler Atrial Fibrilasyon Hastalığı Olan Bireylerde Cha2ds2-Vasc -Skorunun Ekokardiyografik Parametrelerle İlişkisi: Tek Deneyim Merkezi

The Relationship Of Cha2ds2-Vasc-Score And Echocardiographic Parameters In Individuals With Non-Valvular Atrial Fibrillation Disease: Single Experience Center

Ramazan Duz, Aytaç Akyol, Naci Babat 245

Elit Genç Atletlerin Beslenme Durumunun Değerlendirilmesi

Evaluation of Nutritional Status of Elite Young Athletes

İrem Akpolat, Fatma Çelik 255

Neoadjuvan Kemoterapi Alan Luminal Tip Meme Kanserli Hastalarda Patolojik Tam Yanıtı Predikte Eden Faktörler

Factors Predicting Pathological Complete Response in Patients with Luminal Type Breast Cancer Receiving Neoadjuvant Chemotherapy

Zuhat Urakçı, Nadiye Akdeniz, Sezai Tunç, Zeynep Oruç, Mehmet Küçüköner, Muhammet Ali Kaplan, Hüseyin Büyükbayram, Abdurrahman Işıkdoğan 269

OLGU SUNUMU / CASE REPORT

Tofacitinib Kullanımı Sonrası Gelişen İyatrojenik Kaposi Sarkomu Olgusu

A Case of Iatrogenic Kaposi's Sarcoma Developed After Tofacitinib Use

Ezgi Sanlı, Hasan Fidan, Mehmet Çağlayan, Selver Özşener Özekinci, Derya Uçmak 277

Granülomatöz Polianjitis ve İnflamatuvar Miyozit Birlikteliği: Bir Olgu Sunumu

Granulomatosis with Polyangiitis and Inflammatory Myositis: A Case Report

Derya Yıldırım, Fatma Sıla Eroğlu, Hamit Küçük, Hazan Karadeniz 282



Investigation of Hip Extension and Flexion Muscle Strength in Female Weightlifting Athletes

Bülent Işık¹, Kenan Erdagi²

1 Departments of Physiology, Medical School, University of Karamanoğlu Mehmetbey, Karaman, Turkey

2 Physical Education and Sports Department, Faculty of Education, Necmettin Erbakan University, Konya, Turkey

Received: 01.02.2023; Revised: 22.03.2023; Accepted: 03.04.2023

Abstract

Objective: It was aimed to investigate hip flexion and extension muscle strength of female weightlifters athletes participating in national and international weightlifting championships.

Methods: Hip extension, hip flexion strength measurements, weightlifting performances and demographic data of female athletes participating in international weightlifting championships (n= 15) and female athletes participating in national weightlifting championships (n= 15) included in our study were determined. Hip flexion/extension muscle strength measurements of the athletes were performed with a Lafayette hand-held dynamometer.

Results: It was observed that hip flexion and extension muscle strength values of female weightlifters who do weightlifting at international level values were higher than the values of female weightlifters who do weightlifting at the national level ($p < .05$). There was a statistically significant difference between right-left hip-flexion values in female weightlifting athletes who do elite weightlifting sports ($p < .05$).

Conclusion: It was determined that hip extension-flexion muscle strength of athletes participating in international championships were higher than hip extension-flexion muscle strength values of athletes participating in national championships. Considering that asymmetrical developments may cause sports injuries, it is thought that it is important to evaluate the asymmetrical development of hip muscle groups in certain periods.

Keywords: Hand-held dynamometry, Hip strength, Muscle strength, Olympic style weightlifting

DOI: 10.5798/dicletip.1313136

Correspondence / Yazışma Adresi: Bülent Işık, Departments of Physiology, Medical School, University of Karamanoğlu Mehmetbey, Karaman, Turkey e-mail: drbulent42@gmail.com

Kadın Halter Sporcularında Kalça Ekstansiyon ve Fleksiyon Kas Kuvvetlerinin Araştırılması

Öz

Amaç: Ulusal ve uluslararası düzeyde halter şampiyonalarına katılan kadın halter sporcularının kalça fleksiyon ve ekstansiyon kas kuvvetlerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Yöntemler: Çalışmamızda yer alan uluslararası halter şampiyonalarına katılan kadın sporcular (n= 15) ve ulusal halter şampiyonalarına katılan kadın sporcuların (n= 15) kalça ekstansiyon, kalça fleksiyon kuvvet ölçümleri, halter performansları ve demografik verileri belirlendi. Sporcuların kalça fleksiyon/ekstansiyon kas kuvvetleri Lafayette el dinamometresi ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Uluslararası düzeyde halter sporu yapan kadın halter sporcularının kalça fleksiyon ve ekstansiyon kas kuvveti değerlerinin ulusal düzeyde halter sporu yapan kadın halter sporcularından daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p < .05$). Elit düzeyde halter sporu yapan kadın halter sporcu gruplarında sağ-sol kalça-fleksiyon değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlemlendi ($p < .05$).

Sonuç: Uluslararası düzeyde şampiyonalara katılan sporcuların kalça ekstansiyon-fleksiyon kas kuvvetlerinin ulusal düzeyde şampiyonalara katılan sporcuların kalça ekstansiyon-fleksiyon kas kuvveti değerlerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Asimetrik gelişimlerin sportif yaralanmalara sebep olabileceği düşüncesinden hareketle belirli periyotlarda kalça bölgesi kas gruplarının asimetrik gelişimlerinin değerlendirilmesinin önemli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: El Dinamometresi, Kalça kuvveti, Kas kuvveti, Olimpik stil halter.

INTRODUCTION

Weightlifting sport has been called Olympic style weightlifting, since the day it was accepted in Olympic Games. Olympic style weightlifting championships are held in 10 different body weight categories for different age groups of both female and male athletes. Female and male weightlifting athletes participating in the championships compete in snatch and clean and jerk techniques by lifting one-repetitive maximal weight¹.

Many muscles function in the fulfillment of the hip joint functions, which has a structure suitable for movement in three axes. The hip joint formed between the caput osis femoris and the acetabulum is located between the spheroid group joints^{2,3}. There are twenty two known muscles that act on the hip joint. Many of these muscles are responsible for movement and dynamic stabilization of the hip joint. The main flexor muscle of the hip joint is the iliopsoas, which consists of the psoas major-minor and iliacus. The psoas major begins at the thoracic XII-lumbar V vertebral bodies and ends at the

trochanter minor of the femur. At the level of the inguinal ligament, the psoas major and iliacus muscles combine to form the "iliopsoas" muscle⁴. For the iliopsoas muscle in hip flexion; sartorius, rectus femoris, pectineus and tensor fascia lata muscles have supporting functions. The gluteus maximus, the antagonist of m. iliopsoas, is the strongest extensor muscle of the hip joint. In the hip joint, the biceps femoris, semitendinosus and semimembranosus muscles have supporting functions in the extension of the thigh³. The iliopsoas muscle has important functions in flexion of the pelvis, lateral flexion of the lower vertebral column and upright posture of the trunk⁵. The gluteal muscles have important functions in hip extension/abduction and rotation of the hip and are important in stabilizing the knee joint and keeping the trunk in an upright position⁶. In Olympic style weightlifting, where stabilization of the trunk, pelvis and lower extremities is important, the strength parameters of the muscles and muscle groups in these regions are

important in terms of athletic performance¹. Sports are one of the leading causes of musculoskeletal injuries involving the hip and knee joints⁷. Knowing the hip muscle strength is important in terms of preventing lower extremity injuries due to sports activities. Research shows that decreases in hip muscle strength are associated with lower extremity injuries⁸. It has been stated that hip muscle weakness will impair the coordination of not only the lower extremity but also the trunk and pelvis⁹. In studies conducted in different sports branches, it is known that imbalances in agonist/antagonist strength ratios increase the injury risk factor¹⁰. Insufficient muscle strength that stabilizes the hip joint also affects knee kinematics negatively¹¹.

In both female and male weightlifters, a stable trunk on a strong pelvic and hip structure can be obtained with strong and proportional hip muscles. In this way, the athletes can display a high level of weightlifting performance while being protected from the risk of injury¹. In light of the available information, we hope that knowing the hip flexion and extension muscle strength values of female weightlifters participating in championships at national and international level will contribute to the literature and weightlifting professionals.

From this point of view, in current study, it was aimed to investigate the hip flexion and extension muscle strength of female weightlifters participating in national and international weightlifting championships.

METHODS

Participants

The female weightlifters participating in the research were composed of female weightlifters who participated in the Olympic style weightlifting championships at the national (n=15) and international (n=15) level. Elite level athletes (Elite-W) who participated in international championships were athletes who

participated in the Olympic Games, World and European Weightlifting Championships. The athletes participating in the championships at the national level (Non Elite-W) were composed of female athletes who participated in the Turkey Weightlifting Championships and special weightlifting tournaments. Elite-W group was formed from athletes who have been doing regular and active weightlifting sports (at least 6 days a week) for the last 5 years in the Turkish Weightlifting National Teams. The Non Elite-W group was selected from the athletes who have been doing weightlifting (at least 5 days a week) regularly and actively for 4 years. Before the physical measurements of the athletes, the health examinations were made by the medical doctor (BI). The athletes participating in the study were given general information about the study process. Signed consent forms were obtained from all athletes who agreed to participate in the study. The study complies with the Declaration of Helsinki and the ethical approval of the study was obtained from the Clinical Research Ethics Committee of Karamanoğlu Mehmetbey University Faculty of Medicine (approval number; 01-2023/22, dated; 19.01.2023)

Data Collection Tools

The age (years), how long they had been involved in weightlifting (years), weekly training times (weeks) and injury history of all the athletes included in the study were recorded by questioning. Anthropometric characters such as height, body weight, and hip extension and flexion strength values were measured on the days when the athletes did not train and in their own places. The body weights of the athletes were measured with Tanita brand bioimpedance (MC 580), height measurements with Seca brand height meter (213 portable mechanic, Germany), and body mass indexes (BMI) were performed by dividing the body weight value by the square of the height measurement in accordance with the

literature^{12,13}. All measurements were performed by the same investigator (KE).

One-repetition maximal (1RM) snatch and clean-and-jerk records for the gained by the weightlifters in World weightlifting championships, European weightlifting championships and international tournaments and weightlifting championships in Turkey were taken from the official web sites of World Weightlifting Federation¹⁴ (https://www.iwf.net/new_bw/results_by_events/), European Weightlifting Federation¹⁵ (<http://result.ewfed.com/>) and Turkish Weightlifting Federation¹⁶ (<https://halter.gov.tr/sonuclar/>).

Hip extensor and flexor muscle strengths were evaluated isometrically with a manual hand dynamometer (Model-01165, A.B.D). In the evaluation of isometric muscle strength, while the athlete performs the desired movement with all her strength; the evaluator applied counterforce in the opposite direction of the movement, proportional to the force exerted by the athlete, until the point where the athlete could overcome her strength. Evaluation was done in three repetitions and the average was taken. The obtained values were recorded in kilograms (kg). Between repetitions of the test, a 30-second rest break was given.

Hip extensor isometric muscle strength (Hip-Ext) was evaluated in the prone position. The manual hand dynamometer was placed at the posterior level 5 cm proximal to the medial malleolus, and the athlete was asked to lift her leg upwards with all her strength. Hip flexor muscle strength (Hip-Flex) was evaluated in the sitting position. Athletes were asked to sit with their hips and knees at 90° and cross their arms across their chest. The manual hand dynamometer was placed 5 cm above the midpoint of the patella and the athlete was asked to lift the knee upwards with all her strength^{17,18}. In order to determine the lower extremity dominance, the athletes were tested

for hitting the ball, stepping on the 20 cm platform and descending from the 20 cm platform. In at least two of these three tests, the extremity used first was determined as the dominant side. Individuals with right foot dominant were included in the study.

The criteria for inclusion in the study were to be between the ages of 18-20, to be active in weightlifting for at least four years, 5 days a week, and to not have had a hip or knee injury in the past year. It was questioned whether the athletes had any sports injuries, a medical condition they were treated for, or whether they had undergone physical therapy with any previous operation. Weightlifting athletes who had hip joint range of motion limitation and pain in both lower extremities during the evaluations were excluded from the study.

Statistical Analyses

Before proceeding to the basic analysis, descriptive statistics of demographic variables were examined. In addition, Skewness and Kurtosis values, histograms and Q-Q plots were examined to examine whether the data set satisfies the normality assumption. The results obtained showed that the data met the normality assumption. In order to evaluate whether the elite and non-elite athlete groups differed significantly in terms of anthropometric, demographic and sportive performance values, t-Test analysis was performed for independent groups. To compare the right-left hip-extension and hip flexion asymmetry values, the t-Test was conducted for the paired groups. The relationships between right-left hip-extension and hip flexion values and anthropometric, demographic and sportive performance values were evaluated with Pearson correlation analysis. The level of significance for the analysis results was determined as $p < .05$. All data for this study were analyzed using SPSS computer software for Windows (IBM Corp. Released 2017. IBM

SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp).

RESULTS

The demographic, anthropometric and training age values of the groups were presented in Table I.

Age values of Elite-W's were observed to be statistically different from the values of Non-Elite-Ws $t(28) = 2.856$, ($p < .01$). There was no statistically significant difference between the groups in terms of other parameters.

Table I: Comparison of demographic and anthropometric values of elite and non-elite female weightlifting groups

Parameters	Groups	n	Mean	SD	t	p
Age (year)	Elite-W	15	19.67	1.23	2.856	.008**
	Non Elite-W	15	18.53	.915		
Height (cm)	Elite-W	15	160.33	7.20	-.441	.663
	Non Elite-W	15	161.40	6.01		
Body weight (kg)	Elite-W	15	67.98	16.66	.070	.945
	Non Elite-W	15	67.57	15.83		
BMI (kg/m ²)	Elite-W	15	26.14	4.61	.245	.808
	Non Elite-W	15	25.72	4.78		
Training age (year)	Elite-W	15	6.93	1.79	1.922	.065
	Non Elite-W	15	5.73	1.62		

Elite-W: Elite Weightlifters, Non Elite-W: Non-Elite Weightlifters, n: Number of athletes, BMI: Body Mass Index, **p < .01, SD: Standard Deviation

Maximum snatch, maximum clean and jerk, Right-Left Hip-Ext and Hip-Flex values of the groups included in the study are presented in Table II. It was determined that the maximum snatch, maximum clean and jerk, Right-left Hip-Ext, Right-left Hip-Flex values of Elite-W's were higher than the values of Non Elite-W's ($p < .01$).

Table II: Weightlifting performance data and hip muscle strength values of athlete groups

Parameters	Grup	n	Mean	SD	t	p
Maximum snatch (kg)	Elite-W	15	86.67	10.26	3.399	.002**
	Non Elite-W	15	74.47	9.38		
Maximum clean and jerk (kg)	Elite-W	15	112.73	15.67	3.456	.002**
	Non Elite-W	15	94.60	12.94		
Right Hip-Ext (kg)	Elite-W	15	24.77	3.53	4.731	.000**
	Non Elite-W	15	19.19	2.91		
Left Hip-Ext (kg)	Elite-W	15	23.96	3.81	3.713	.001**
	Non Elite-W	15	18.88	3.68		
Right Hip-Flex (kg)	Elite-W	15	22.46	3.42	3.677	.001**
	Non Elite-W	15	17.98	3.24		
Left Hip-Flex (kg)	Elite-W	15	21.59	3.81	2.967	.006**
	Non Elite-W	15	17.87	3.03		

Elite-W: Elite Weightlifters, Non Elite-W: Non-Elite Weightlifters, Ext: Extension, Flex: Flexion, kg: kilogram, n: Number of athletes, ** p < .01, SD: Standard Deviation

Right-left Hip-Ext, Right-left Hip-Flex asymmetry comparisons of Elite-W and Non-Elite-W's are presented in Table III. A statistically significant difference was observed between Right-left Hip-Flex values of Elite-W's $t(14) = 2,355$, $p < .05$). On the other hand, there was no statistically significant difference between Right-left Hip-Ext, Right-left Hip-Flex strength parameter values of the athletes in the Non Elite-W groups.

Table III: The asymmetry comparison of Right-left Hip-Ext and Right-left Hip-Flex of Olympic style weightlifting athletes

Groups	Right/Left Hip-Ext/Flex (kg)	Mean	SD	t	p
Elite-W (n=15)	Right Hip-Ext	24.77	3.53	1.685	.114
	Left Hip-Ext	23.96	3.81		
	Right Hip-Flex	22.46	3.42	2.35	.034*
	Left Hip-Flex	21.59	3.81		
Non Elite-W (n=15)	Right Hip-Ext	19.19	2.91	.674	.511
	Left Hip-Ext	18.90	3.68		
	Right Hip-Flex	17.98	3.24	.292	.774
	Left Hip-Flex	17.87	3.03		

Elite-W: Elite Weightlifters, Non Elite-W: Non-Elite Weightlifters, Ext: Extension, Flex: Flexion, kg: kilogram, n: Number of athletes, * p < .05, SD: Standard Deviation

The correlations between Right-left Hip-Ext and Right-left Hip-Flex values and anthropometric values, training age and maximal snatch and clean and jerk performances of Elite-W and Non Elite-W athletes are presented in Table IV.

A statistically significant and positive correlation was observed between Right-left Hip Ext, Right-left Hip Flex values and height, body weight and maximal clean and jerk values in Elite-W's. In Elite-W's; It was determined that body weight was positively correlated with Right-left Hip Ext, Right-left Hip Flex. BMI was significantly positively correlated with Right

Hip Ext, Right Hip Flex in Elite-W's. Moreover, Maximum snatch was significantly positively correlated with Left Hip Ext in Elite-W's. On the other hand, it was determined that there was no significant correlation between Right-left Hip Ext, Right-left Hip Flex values and age and training age in Elite-W's.

It was observed that there was no significant correlation between Right-left Hip Ext, Right-left Hip Flex values of age, height, body weight, BMI, training age and weightlifting performances in Non Elite-W's.

Table IV: Correlation between athletes' hip extension and hip flexion strengths and anthropometric variables, training age and weightlifting performance

Variable	Elite-W (n=15)				Non Elite-W (n=15)			
	Right Hip Ext	Left Hip Ext	Right Hip Flex	Left Hip Flex	Right Hip Ext	Left Hip Ext	Right Hip Flex	Left Hip Flex
Age	.203	.174	.278	.325	.172	.058	.102	-.015
Height (cm)	.611*	.673**	.568*	.643**	-.152	-.159	.188	.224
Body weight (kg)	.637*	.572*	.604*	.603*	.012	.023	.307	.361
BMI (kg/m ²)	.558*	.453	.549*	.508	.051	.073	.296	.357
Training age (year)	.249	.264	.406	.326	.006	-.065	.274	.286
Max snatch (kg)	.460	.558*	.470	.461	-.180	-.161	.303	.294
Max clean and jerk	.593*	.662**	.595*	.580*	.045	-.027	.418	.315
Right Hip Ext (kg)	1	.874***	.809***	.854***	1	.887***	.784***	.610*
Left Hip Ex (kg)	.874***	1	.840***	.894***	.887***	1	.777***	.722**
Right Hip Flex (kg)	.809***	.840***	1	.928***	.784***	.777***	1	.886***
Left Hip Flex (kg)	.854***	.894***	.928***	1	.610*	.722**	.886***	1

Elite-W: Elite Weightlifters, Non Elite-W: Non-Elite Weightlifters, Ext: Extension, Flex: Flexion, kg: kilogram, n: Number of athletes, BMI: Body Mass Index, ** p < .01, * p < .05, *** p < .001

DISCUSSION

Olympic style weightlifting is an Olympic sports branch in which single repetitive maximal weights are lifted with snatch and clean and jerk techniques¹. In Olympic style weightlifting, stabilization of the lower and upper extremities and the trunk has an important role in achieving success. In static and dynamic activities such as walking, running, standing upright, bending forward and sideways, and lifting weights, the abdominal posterior wall muscles are responsible for the stabilization of the lumbar

spine and hips and the control of the lumbar lordos with these functions¹⁹. The strength parameters of the muscles in the posterior abdominal wall are of great importance during the dynamic and static loads where the weight is lifted. Because, the strength of the posterior abdominal wall muscles is of great importance in terms of both the sportive success of the athletes and the prevention of sportive injuries²⁰. In a study examining the volumes of the posterior abdominal wall muscles of Olympic style weightlifting athletes and the relationship of these muscles with sportive

performance, it has been stated that the 12-week special training applied to the athletes provides an increase in the abdominal posterior wall muscle volumes of the athletes and the increase in the volume observed in these muscles positively affects the maximal weights that the athletes lift. The authors stated that it would be a correct approach to add specific exercises that develop the posterior abdominal wall muscles to the general weightlifting programs at the point of contributing to the athletic success of Olympic weightlifters in national and international competitions²⁰. Gluteal muscles have important functions in keeping the trunk upright, stabilizing the hip joint, climbing stairs, fixing the hip and knee joints in weight lifting, sprinting, squatting and climbing a steep hill²¹⁻²³. In a study in which the muscle cross-sectional surface areas of the gluteal muscles of Olympic style weightlifting athletes were determined through magnetic resonance images, it has been explained that the gluteus maximus muscle cross-sectional surface area of the athletes is larger than the gluteus maximus muscle cross-sectional areas of the sedentary individuals, but no statistical difference was observed between the gluteus medius and minimus muscle group cross-sectional areas of the athletes and sedentary groups. The authors stated that there is a positive correlation between muscle strength and muscle cross-sectional area, therefore, adding exercises that develop these muscle groups to weightlifting training programs in order to increase the gluteal muscle cross-sectional area determined in weightlifters can be effective in both sportive performance of the athletes and in preventing sports injuries that may occur in this region²⁴. In order for the muscles and joint mobility in the hip region to have correct and balanced biomechanics, force couples and agonist/antagonist force ratios should be at a sufficient level. Imbalances in strength ratios cause various injuries during sports activities^{18,25}. Niemuth et al.¹⁸ stated that

the losses observed in hip abduction and flexion forces are among the factors that predispose to sports injuries, and also stated that there was a significant correlation between muscle strength weakness observed in the muscles of the hip region and running injuries in runners with sports injuries.

In a study examining the differences between injured and uninjured limbs in terms of tennis players who have a groin injury and do not have this sportive injury, hip strength and jump height, the authors stated that tennis players with groin injured have weaker adductor muscle strength and that this observed adductor muscle weakness is related to groin injury²⁶. Although no statistically significant difference was observed between the height, body weight, BMI, and training age values of Elite-W and Non-Elite-W's in our study, significant differences were observed in terms of hip extension and flexion strength parameters. The observed difference may have been caused by the differences in the training, snatch, clean and jerk techniques, and the maximum weight lifted among the athlete groups, as observed in correlation analyses. Adding exercises that develop the hip extension and flexion muscle groups to the weightlifting training of Non Elite-W's may be beneficial. As a result, it is believed that with strong hip muscles, not only the risk of injury can be reduced but also athletic performance can be increased.

Gallo-Salazar et al.²⁷ stated that they found the hip abductor muscle strength to be higher on the non-dominant side and the adductor muscle strength on the dominant side in their research on the hip region muscle strength evaluation of tennis players. The authors emphasized that the asymmetrical developments observed in the muscle groups are related to the training techniques applied to the athletes and that the evaluation of the muscle strength of the muscles around the hips before the season is important

in terms of preventing asymmetrical developments. In a study in which the muscle group strength of the hip region (flexor, extensor, abductor, adductor, internal rotator, external rotator) of runners with and without sporting injuries was determined, the authors explained that no asymmetric development was observed in the hip strength parameters of non-injured runners. It was stated that they detected asymmetrical developments in the injured runners. It has been reported that adding hip strengthening exercises to training programs would be beneficial in terms of increasing the strength parameters of the muscle groups in the hip region and minimizing the observed asymmetrical developments¹⁸. In a study in which the gluteal muscles and iliopsoas muscle group volume of professional tennis players, football players and healthy individuals were determined; it was shown that the gluteal muscles of the non-dominant side of tennis players were more hypertrophic than the dominant side. In the same study, it was stated that the gluteal muscles and iliopsoas muscle group volume were more symmetrical in football players and healthy sedentary individuals. The authors declared that the presence of side asymmetry in the extremities may cause sports injury²⁸. In a study investigating the relationships between hip abduction and extension strengths and lower extremity injury and low back pain in female and male athletes; it was determined that the strength parameters of the left hip extensors were higher in athletes, and that the right hip abductors were stronger than the left hip abductors. The authors stated that the observed asymmetrical strength differences may be due to the applied training methods and the differences in the sports branch²⁹. In a study investigating the adductor-related groin pain of soccer players with chronic sports injuries and soccer players without sports injuries, it has been reported that a statistically significant difference was observed in the dominant-non-

dominant ratios of adductor-abductor muscle peak torques of the athletes. In addition, it has been reported that the adductor muscle strength of the athletes with sports injuries is quite low in the affected side. The authors stated that the agonist-antagonist muscle strength ratio imbalances observed in the hip muscle groups of soccer players may cause sports injuries, and it would be beneficial to reorganize the training programs of the athletes in order to eliminate such problems²⁵. It has been reported that there is a positive correlation between hip flexors, extensors and abductor muscle strengths, core area endurance and balance tests in basketball player women whose hip strength measurements were performed. In the same study, the authors explained that the hip extensors have an important function in the control of the pelvis and trunk³⁰. In a study in which the cross-sectional surface areas of the gluteal muscles of weightlifting athletes and sedentary individuals were determined through magnetic resonance images, it was stated that asymmetrical developments observed in muscle cross-sectional surfaces may also cause asymmetrical developments in muscle strength ratios. Due to the fact that weightlifting is a symmetrical sport, no asymmetrical development was detected in the gluteal muscle groups of the athletes participating in the study, but it was stated that it would be beneficial to prevent asymmetrical developments that may occur by performing radiological imaging of this region at certain periods, considering that asymmetrical developments may cause sports injuries²⁴. No asymmetrical development was observed between the right-left Hip Ext and Right-left Hip Flex values of the Non Elite-W's in our study, however, a statistically significant difference was observed between the Right-left Hip Flex values of the Elite-W's. In the jerk section, which is the second phase of the clean and jerk technique, the athletes open their feet forward and backward with the scissoring technique and lift the weight above the head,

so at this stage, the loads on the leg and hip region differ depending on the use of the dominant foot. Therefore, we speculate that the difference observed in Elite-W's may be the use of the right foot as the dominant foot in the jerk section, which is the second phase of the clean and jerk technique. Furthermore, in elite weightlifters, the asymmetry of hip muscle strength in our study may be associated with technical problems caused by intense and heavy training.

The main limitation of our study is the use of manual hand dynamometer instead of isokinetic systems during hip extension-flexion muscle strength evaluation. It should be noted that isokinetic systems will provide clearer, more objective and detailed information in muscle strength evaluation. In addition, in isokinetic systems, since it will provide not only isometric but also concentric and eccentric evaluation of muscle strength, it may be a more effective determinant in determining risk factors. However, manual hand dynamometer is frequently preferred during hip evaluations in the clinic because of the high cost of isokinetic systems, the laborious and time-consuming hip evaluation. Therefore, in our study, the manual hand dynamometer, which has more practical and accessible clinical applications, was preferred. Another limitation was that the athletes included in our study were formed from asymptomatic individuals. In future studies, it will be possible to evaluate the strength and power parameters of the muscle groups in the hip region by including the athletes with symptoms in the study.

In conclusion, our research has shown that the hip extension and flexion muscle strengths of Elite-W's are statistically significantly higher than Non-Elite W's. Therefore, considering the positive relationship between strength increase and performance increase, we predict that it may be beneficial to add special exercises that increase the development of hip extensor and

flexor muscle strength to the training programs of Non Elite-W's. In addition, although weightlifting is a symmetrical sport, the asymmetric development observed in Elite W's was found to be remarkable. Therefore, based on the thought that asymmetrical developments may cause sports injuries and negatively affect weightlifting performance, we think that it may be useful to evaluate the strength parameters of the lower extremity and hip muscle groups of weightlifters at certain periods.

Acknowledgments

The authors thank the female weightlifters, their trainers and instructor Erkan ÖZBAY for their valuable contributions to the study.

Ethics Committee Approval: The study protocols were approved by the Clinical Research Ethics Committee of Karamanoğlu Mehmetbey University Faculty of Medicine (date: 19.01.2023, protocol number: 01-2023/22).

Conflict of Interest: The authors declared no conflicts of interest.

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

REFERENCES

1. Erdağı K. Olympic Weightlifting Training and Muscle Groups at Weight Training, 1st edn. Ankara: Gazi Publishers, 2019: 1-112. ISBN: 978-605-344-923-2 (In Turkish).
2. Netter FH, Iannotti JP, Parker R. Netter Collection of Medical Illustrations. 2nd ed. Philadelphia: W B Saunders Company, 2013: 653-70.
3. Arıncı K. & Elhan, A. Anatomi 1. cilt 3. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2001: 109-388-111. ISBN: 975-7467-29-4 (In Turkish).
4. Byrne DP, Mulhall KJ, Baker JF. Anatomy & biomechanics of the hip. *Open Sports Med J.* 2010; 4:51-7. doi: 10.2174/1874387001004010051
5. Tatu L, Parratte B, Vuillier F, Diop M, Monnier G. Descriptive anatomy of the femoral portion of the iliopsoas muscle. *Anatomical basis of anterior snapping of the hip. Surg Radiol Anat.* 2001; 23(6): 371-74. doi: 10.1007/s00276-001-0371-9

6. Ward SR, Winters TM, Blemker SS. The architectural design of the gluteal muscle group: implications for movement and rehabilitation. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2010; 40(2): 95-102. doi:10.2519/jospt.2010.3302
7. Ergün T, Korkmaz M. Profile of Musculoskeletal Injuries of The Soldiers Who Are Serving As Contracted Soldier And Sergeants. *Dicle Med J.* 2021; 48(3): 544-50. doi: 10.5798/dicletip.988068, (In Turkish).
8. Zhang Z, Lee W, Ng G, Fu S. Isometric strength of the hip abductors and external rotators in athletes with and without patellar tendinopathy. *Eur J Appl Physiol.* 2018; 118(8): 1635-40. doi:10.1007/s00421-018-3896-x
9. Smith JA, Popovich JM Jr, Kulig K. The influence of hip strength on lower-limb, pelvis, and trunk kinematics and coordination patterns during walking and hopping in healthy women. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2014; 44(7): 525-31. doi:10.2519/jospt.2014.5028
10. Diamond LE, Wrigley TV, Hinman RS, et al. Isometric and isokinetic hip strength and agonist/antagonist ratios in symptomatic femoroacetabular impingement. *J Sci Med Sport.* 2016; 19(9): 696-701. doi:10.1016/j.jsams.2015.10.002
11. Araujo VL, Souza TR, Carvalhais V, Cruz AC, Fonseca ST. Effects of hip and trunk muscle strengthening on hip function and lower limb kinematics during step-down task. *Clin Biomech (Bristol, Avon).* 2017; 44: 28-35. doi:10.1016/j.clinbiomech.2017.02.012
12. Sözmen K, Ünal B, Sakarya S, et al. Association of Anthropometric Measurement Methods with Cardiovascular Disease Risk in Turkey. *Dicle Med J.* 2016; 43(1): 99-106. doi:10.5798/diclemedj.0921.2016.01.0646 (In Turkish).
13. Kaynar Ö, Öztürk N, Kıyıcı F, Baygutağ N, Bakan E. The Effects of Short-Term Intensive Exercise on Levels of Liver Enzymes and Serum Lipids in Kick Boxing Athletes. *Dicle Med. J.* 2016; 43(1): 130-34. doi: 10.5798/diclemedj.0921.2016.01.0652 (In Turkish).
14. World Weightlifting Federation. https://www.iwf.net/new_bw/results_by_events/, (accessed date; 25.01.2023)
15. European Weightlifting Federation. <http://result.ewfed.com/>, (accessed date; 25.01.2023)
16. Turkey Weightlifting Federation. <https://halter.gov.tr/sonuclar/>, (accessed date; 25.01.2023)
17. Mentipaly BF, Perraton LG, Bower KJ, et al. Assessment of Lower Limb Muscle Strength and Power Using Hand-Held and Fixed Dynamometry: A Reliability and Validity Study. *PLoS One.* 2015; 10(10): e0140822. Published 2015 Oct 28. doi:10.1371/journal.pone.0140822
18. Niemuth PE, Johnson RJ, Myers MJ, Thieman TJ. Hip muscle weakness and overuse injuries in recreational runners. *Clin J Sport Med.* 2005; 15(1): 14-21. doi:10.1097/00042752-200501000-00004
19. Jemmett RS, Macdonald DA & Agur AMR. Anatomical relationships between selected segmental muscles of the lumbar spine in the context of multi-planar segmental motion: a preliminary investigation. *Man Ther.* 2004; 9(4): 203-10. doi:10.1016/j.math.2004.07.006
20. Erdağı K, Poyraz N, Bahar S, Işık B & Aslan H. The impacts of elastic band training on the posterior abdominal wall muscles of olympic-style weightlifters. *JETS.* 2019; 7(5): 54-64. doi:10.11114/jets.v7i5.4148
21. Neumann DA. Kinesiology of the hip: a focus on muscular actions. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2010; 40(2): 82-94. doi:10.2519/jospt.2010.3025
22. Paulsen F, Waschke J. Sobotta Atlas of Human Anatomy General Anatomy and Musculoskeletal System, 23rd edn. Munich: Elsevier, Urban & Fischer, 2010: 83-90
23. Bartlett JL, Sumner B, Ellis RG, Kram R. Activity and functions of the human gluteal muscles in walking, running, sprinting, and climbing. *Am J Phys Anthropol.* 2014; 153(1):124-131. doi:10.1002/ajpa.22419
24. Erdağı K & Işık B. The Study of the Cross-Sectional Areas of the Gluteal Muscles on Magnetic Resonance Images of the Weightlifting Athletes.

Progress in Nutrition. 2021; 23(3): e2021300. doi:10.23751/pn.v23i3.12068

25. Belhaj K, Meftah S, Mahir L, Lmidmani F, Elfatimi A. Isokinetic imbalance of adductor–abductor hip muscles in professional soccer players with chronic adductor-related groin pain. *Eur J Sport Sci.* 2016; 16(8): 1226-31. doi:10.1080/17461391.2016.1164248

26. Moreno-Pérez V, Lopez-Valenciano A, Barbado D, et al. Comparisons of hip strength and countermovement jump height in elite tennis players with and without acute history of groin injuries. *Musculoskelet Sci Pract.* 2017; 29: 144-49. doi:10.1016/j.msksp.2017.04.006

27. Gallo-Salazar C, Del Coso J, Barbado D, et al. Impact of a competition with two consecutive matches in a day on physical performance in young

tennis players. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2017; 42(7): 750-56. doi:10.1139/apnm-2016-0540

28. Sanchis-Moysi J, Idoate F, Izquierdo M, Calbet JA, Dorado C. Iliopsoas and gluteal muscles are asymmetric in tennis players but not in soccer players. *PLoS One.* 2011; 6(7): e22858. doi:10.1371/journal.pone.0022858

29. Nadler SF, Malanga GA, DePrince M, Stitik TP, Feinberg JH. The relationship between lower extremity injury, low back pain, and hip muscle strength in male and female collegiate athletes. *Clin J Sport Med.* 2000; 10(2): 89-97. doi:10.1097/00042752-200004000-0000241.

30. Ambegaonkar JP, Mettinger LM, Caswell SV, Burt A, Cortes N. Relationships between core endurance, hip strength, and balance in collegiate female athletes. *Int J Sports Phys Ther.* 2014; 9(5): 604-16.



Burn wound bacterial profile and antibiotic sensitivity results in Turkey's southeast region of Anatolia

Cemalettin Durgun¹, Ebral Yiğit²

1 Memorial Dicle Hospital Department of General Surgery, Diyarbakır, Turkey

2 Gazi Yasargil Training and Research Hospital Department of General Surgery, Diyarbakır, Turkey

Received: 26.12.2022; Revised: 28.03.2023; Accepted: 10.04.2023

Abstract

Introduction: The conducted study was done to reveal the profile of bacteria isolated from wound sites of patients hospitalized in our burn center. We also aimed to find the appropriate sensitive antibiotics for use in the treatment.

Methods: In the study, we examined 394 patients with (+) wound cultures reports from the 1,415 patients hospitalized at the Gazi Yaşargil Training and Research Hospital Burn Center between January 2010 and January 2020.

Results: From 394 patients, 217 (55%) were male and 177 (45%) were female. The average age of patients was 12.86 ± 17.34 (min 1 - max: 94 years). In the wound culture results, bacteria were 70.55% gram-positive and 28.68% gram-negative. *Candida albicans* was found in wound culture growth at a rate of 0.07%. The most common gram (+) pathogen was *Staphylococcus aureus* at 23.09% (n = 91). The most common gram (-) pathogens were *Escherichia coli* at 9.13% (n = 36) and *Pseudomonas aeruginosa* at 9.13% (n = 36).

Conclusion: As a result of our study, we found that the most common causes of burn infections in our region were due to *S. aureus*, *E. coli*, and *P. aeruginosa*. We hope that the use of broad spectrum antibiotics can be effective against these bacteria and will contribute to clinical treatments until culture reports are available.

Keywords: Burn, Wound, Microbiological culture results, Antibiotics

Highlights

- The reasons that increase the infection rate of burn wound sites in our region
- The common results of burn wound culture report in our region.
- The results of susceptibility rate of bacteria to antibiotics in our region
- The results of resistant rate of bacteria to antibiotics in our region

DOI: 10.5798/dicletip.1313154

Correspondence / Yazışma Adresi: Cemalettin Durgun, Memorial Dicle Hospital Urfayolu üzeri 3. Km 507. Sk. No: 150 Kayapınar, Diyarbakır, Turkey 21070 e-mail: drdurgun@gmail.com

Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Yanık Yarası Bakteri Profili ve Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları

Öz

Giriş: Yapılan çalışmada, bölgemizin tek yanık merkezi olan yanık merkezimizde yatan hastaların yara yerlerinden izole edilen bakteri profilini ortaya çıkarmak ve ayrıca tedavide kullanılmak üzere uygun duyarlı antibiyotikleri bulmayı amaçladık.

Yöntemler: Çalışmada Ocak 2010-Ocak 2020 tarihleri arasında Gazi Yaşargil Training and Research Hastanesi Yanık Merkezi'nde yatan 1.415 hastadan (+) yara kültürü raporu alınan 394 hasta incelendi.

Bulgular: 394 hastanın 217'si (%55) erkek, 177'si (%45) kadındı. Hastaların ortalama yaşı $12,86 \pm 17,34$ (min 1 - max: 94 yıl) idi. Yara kültürü sonuçlarında %70,55 bakteri gram (+) ve %28,68 gram (-) olarak bulundu. Yara kültüründe %0,07 oranında *Candida albicans* üremesi saptandı. En yaygın gram (+) patojen %23,09 (n=91) ile *Staphylococcus aureus* idi. En sık görülen gram (-) patojenler %9,13 (n=36) ile *Escherichia coli* ve %9,13 (n=36) ile *Pseudomonas aeruginosa* idi.

Sonuç: Çalışmamız sonucunda bölgemizde yanık enfeksiyonlarının en sık nedenlerinin *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya bağlı olduğunu tespit ettik. Bu bakterilere karşı etkili geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının kültür raporları gelene kadar klinik tedavilere katkı sağlayacağını umuyoruz.

Anahtar Kelimeler: Yanık, Yara, Mikrobiyolojik kültür sonuçları, Antibiyotikler

Öne Çıkanlar

- Bölgemizde yanık yara yeri enfeksiyon oranını arttıran nedenler
- Yanık yara kültürü raporunun bölgemizde yaygın olarak görülen sonuçları
- Bölgemizdeki bakterilerin antibiyotiklere duyarlılık sonuçları
- Bölgemizde bakterilerin antibiyotiklere direnç sonuçları

INTRODUCTION

Burn is a type of injury to the skin and other tissues caused by heat, electricity, chemicals, friction or radiation¹. About 180,000 deaths a year are caused by burns, and most of these deaths occur in less developed countries¹. Children and women are the most affected groups from burn injuries. Non-fatal burn wounds result in significant morbidity, prolonged hospital stays, cosmetic impairments, and often stigmatization and rejection¹. In 2015, 67 million people were affected by burns².

Burn wound sites are a sensitive region for the growth of opportunistic organisms³. Infection is an important cause of morbidity and mortality in burn patients and creates difficulties in burn treatment⁴. The risk of infection, which can lead to sepsis, is increased due to changes in a patient's immunity after burn trauma⁵. After the initial care, complications due to infections in burn patients constitute 50%-75% of the

mortality⁶⁻⁸. There are many factors that cause wound infection in burn injuries, including being in an immunocompromised state, invasive procedures performed in healthcare facilities, and prolonged hospitalization. Patient age, total body surface area (TBSA) and the degree of burn wounds are factors that affect the morbidity and mortality of patients. In addition, the factors affecting morbidity and mortality related to microbiological organisms are the type and number of infections, enzyme / toxin production, and the mobility of organisms.

Superficial bacterial contamination can cause sepsis in burn patients and both are directly linked to each other⁸⁻¹⁰. There are three characteristic areas of a burn wound. The first is the coagulation site closest to the heat source, which forms a scab. The second area is adjacent to this zone and called the stasis zone, An increased risk of ischemia depending on decreased blood perfusion. The third zone is the hyperemia zone which, relative to normal skin,

increased blood flow with vasodilation bypasses with minimal cellular damage. The most important, it is the region containing the most protein-rich eschar, which supports microbial growth as result of its dead and avascular structure. Moreover, these properties prevent the accessing of immune cells and systemic antibiotics⁶. Burn wound remains sterile for a certain period of time after a thermal injury³, but is then enriched by organisms that are carried by healthcare and other personnel¹¹.

Gastrointestinal system is an important source of infection in burn patients. Endogenous organisms may contaminate the burn wound site via feces¹¹.

The increasing patient number in public hospitals causes delay of several days between taking patient cultures and receiving the reports of culture result. At this critical time, Empirical antibiotic therapy can be administered to burn patients to control infections. However, antibiotic resistance increases as result of inappropriate antibiotic prescriptions and unnecessary use¹²⁻¹⁴.

Therefore, in this study, we carried out to identify the burn wound bacterial profile and their antibiotic sensitivity of inpatients in our region. Until the wound culture reports are finalized, they were made to find suitable sensitive antibiotics for use in their treatments.

METHODS

The study was conducted between January 2010 and January 2020 in accordance with the principles of the 2008 revision of the Declaration of Helsinki, and approval was obtained prior to the study from the local ethics committee for retrospective research (Gazi Yaşargil Training and Research Hospital Ethics Committee/02.07.2021/E-810). The patients hospitalized in Gazi Yaşargil Training and Research Hospital Burn Center were scanned using retrospective clinical records and computer

records. We have included patients admitted to our hospital burn center. Patients who were re-admitted for follow up or outpatient clinic control after one time were excluded from the study. Culture reports of 395 (+) from a total of 1,415 patients were included. Wound cultures were taken from all patients at admission. Age, sex, admission time, place of application, burn degree, burn type, TBSA, burn type, and length of hospital stay were recorded from the patient's records.

Data were analyzed using Statistical Package for Social Sciences (SPSS), v23.0 (IBM SPSS Statistics, Armonk, NY). Descriptive statistics were applied to find frequencies, percentages, means and standard deviations. Quantitative variables such as age and TBSA are expressed as means and standard deviations. Qualitative variables such as bacterial type and burn type are expressed in frequencies and percentages. Normality of quantitative variables was checked by applying Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests. Mann-Whitney U tests and Kruskal-Wallis tests were used to find significant differences between the means of nonparametric variables with two or more categories, respectively. The chi-square test was used to compare the percentages of the two categorical variables. The significance level of $p < 0.05$, respectively.

RESULTS

The culture-positive reports of 394 patients from the initial 1,415 patients were included. There were 194 patients (49.2%) who were hospitalized from the emergency room. Another 200 of these (50.8%) were hospitalized from the polyclinic. We had 201 (51.0%) patients from rural and 193 (49.0%) patients from the city center who applied to our hospital. There were 284 (72.1%) patients who arrived on the day of the burn injury, while 110 (27.9%) applied one day or more after the burn injury. There were 394 patients including 217 (55%) male and 177 (45%) female. The mean age of the patients was 12.86 ± 17.34 (min: 1 - max: 94) years. With regard to the types of burns, 317 (80.45%) patients were scalded, 45 (11.42%) had

flame burns, 22 (5.58%) had electrical burns, 3 (0.76%) were burned from embers, 2 (0.05%) had frostbite, 2 (0.05%) had hot object contact burns, and 1 patient (0.02%) each had burns due to tandoori, grape leaves, or green walnuts (Table 1).

Burn injuries were seen mostly in the right lower extremity of 209 (53.04%) patients and in the left lower extremity of 194 (49.23%) patients (Table 1).

Table I: General information About the Patients

Patient		number	percent	all patients %	p value
sex	man	217	55%	56.4%	0.387
	women	177	45%	43.6%	
age group	0-4 ages	224	5.8%	53.2%	0.012
	5-9 ages	39	9.9%	12.5%	
	10-14 ages	14	3.5%	5.0%	
	15-24 ages	37	9.4%	8.9%	
	25-34 ages	30	7.6%	7.7%	
	35-44 ages	17	4.3%	4.8%	
	45-64ages	23	5.8%	5.5%	
	65+	10	2.5%	2.4%	
Application Place	emergency	194	49.2%	49.75%	
	policlinic	200	50.8%	50.25%	
	1 or more day delay	110	27.9%	23.1%	
place of residence	rural	201	51.0%	47.85%	0.065
	urban	193	49.0%	52.15%	
season	winter (December, January, February)	105	26.64%	24.02%	
	spring (March, April, May)	87	22.08%	25.72%	
	summer (June, July, August)	84	21.32%	24.17%	
	autumn (September, October, November)	118	29.95%	26.09%	
Cause of burns	scalding burns	317	80.45%	76.60%	
	flame burns	45	11.42%	9.18%	
	electrical burns	22	5.58%	3.67%	
	embers burns	3	0.76%		
	asphalt burns	2	0.05%		
	frostbite	2	0.05%	0.03%	
	hot object conract burns	2	0.05%		
	tandoori	1	0.02%		
	grape leaf burn	1	0.02%		
	green walnut	1	0.02%		
Location of burns	head-neck	76	19.28%	21.41%	p:0.14
	upper right extremity	133	33.75%	32.08%	p:0.40
	upper left extremity	132	33.5%	32.79%	p:0.159
	front chest + abdomen	112	28.42%	27.85%	0.202
	posterior chest + lumbar region	35	8.88%	7.63%	0.197
	Perineum	29	7.36%	5.30%	0.36
	Lower right extremity	209	53.04%	42.54%	0.152
	lower left extremity	194	49.23%	40.56%	0.52
Burn degree			2.67(min:2-max:4)	2.64(min:2-max:4)	0.04
% burned			14.18(min:2-max:50%)	9.22(min:1-max:50) %	0.083
length of stay in hospital			12.88(min:1-max:39)	6.0 gün(min:1-max:39)	

The average burn degree was 2.67 (min: 2–max: 4). The burn percentage average was 14.18% (min: 2–max: 50). Laboratory test results of the white blood cells (WBC) and C-reactive protein

(CRP) were 13.6 ± 7.13 and 29.49 ± 21.25 respectively.

In the wound culture results, 70.55% were gram (+) and 28.68% were gram (-) bacteria. *C. albicans* was found in wound culture growths at a rate of 0.07%. *S. aureus* was the most common gram (+) bacteria with 23.09% (n = 91). The most common gram (-) bacteria were *E. coli* with 9.13% (n = 36) and *P. aeruginosa* with 9.13% (n = 36) (Table 2).

Table II: Wound Site Culture Results

Bacteria genus	Species	NUMBER	PERCENT
GRAM(-)		113	28.68%
Escherichia	coli	36	9.13%
Enterobacter	aerogenes	4	1.01%
	cloacae	6	1.52%
Pseudomonas	aeruginosa	36	9.13%
	fluorescens	1	0.02%
	putida	2	0.50%
Acinetobacter	Baumannii	8	2.03%
Proteus	mirabilis	6	1.52%
Klebsiella	pneumoniae	5	1.26%
Pantoea	agglomerans	3	0.07%
Serratia	marcescens	2	0.50%
Sphingomonas	paucimobilis	2	0.50%
Aeromonas	Hydrophila	1	0.02%
Burkholderia	cepacia	1	0.02%
GRAM (+)		278	70.55%
Staphylococcus	aureus	91	23.09%
	capitis	3	0.07%
	epidermidis	76	19.28%
	haemolyticus	27	6.85%
	hominis	33	8.37%
	lugdunensis	1	0.02%
	pseudintermedius	1	0.02%
	saprophyticus	2	0.50%
	simulans	1	0.02%
	warneri	2	0.50%
	xylosuse	5	1.26%
Streptococcus	spp	4	1.01%
	pyogenes	3	0.07%
	agalactiae	1	0.02%
Enterococcus	avium	1	0.02%
	faecalis	18	4.56%
Kocuria	kristinae	3	0.07%
	rosea	1	0.02%
Lactococcus	garvieae	1	0.02%
Micrococcus	lylae	1	0.02%
YEAST		3	0.07%
Candida	albicans	3	0.07%
TOTAL		394	100

In the wound culture results of the patients who arrived late (≥ 1 day following their burn), the most gram (+) results were 65.14%. Among these, the most common was *S. aureus* with 20.18% (Table 3).

Table III: Cultural Results in Patients Arriving Late For 1 Day or Mo

Bacteria genus	Species	NUMBER	PERCENT
Gram(-)		38	34.86%
Acinetobacter	baumannii	2	1.83%
Escherichia	coli	10	9.17%
	faecalis	7	6.42%
Klebsiella	pneumoniae	2	1.83%
Pantoea	agglomerans	1	0.91%
Proteus	mirabilis	3	2.75%
pseudomonas	aeruginosa	10	9.17%
	putida	2	1.83%
serratia	marcescens	1	0.91%
Gram(+)		71	65.14%
enterococcus	avium	1	0.91%
kocuria	kristinae	1	0.91%
lactococcus	garvieae	1	0.91%
staphylococcus	aureus	22	20.18%
	epidermidis	17	15.59%
	haemolyticus	9	8.25%
	hominis	12	11.0%
	lugdunensis	1	0.91%
	xylosus	2	1.83%
streptococcus	Spp.	2	1.83%
	agalactiae	1	0.91%
	mutis	1	0.91%
	pyogenes	1	0.91%
Total		109	100%

We had 19 patients who had to be followed up in the intensive care center because of the infection clinic. The mean length of stay in the intensive care unit was 11 days (min: 2-max: 36). Gram (+) organisms were isolated with the highest rate of 78.95% in the culture results of patients in need of intensive care. *S. aureus* was the most common organism with 21.05% (Table 4).

Table IV: Pathogens Insulated in Cultural Results in Patients in Intensive Care

Bacteria genus	Species	NUMBER	PERCENT
Gram(-)		4	21.05%
acinetobacter	baumannii	1	5.26%
escherichia	coli	2	10.52%
proteus	mirabilis	1	5.26%
Gram(+)		15	78.95%
enterococcus	faecalis	1	5.26%
staphylococcus	aerous	4	21.05%
	epidermidis	8	42.10%
	heamolyticus	1	5.26%
	hominis	1	5.26%
Total		19	100%

In the antibiogram of Staphylococcus, which was the most common bacterium in our culture results, the antibiotics to which it was most resistant were cefazoline, tobramycin, and cefoxitin. Antibiotics to which it was most sensitive included moxifloxacin, teicoplanin, imipenem, and colistin (Figure 1).

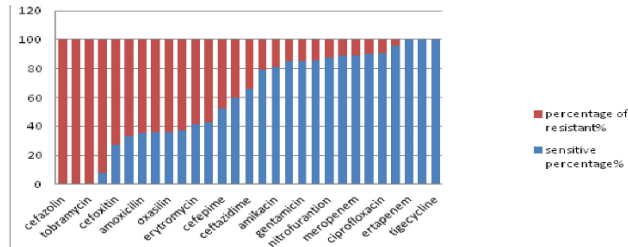


Figure 1: Staphylococcus antibiotic sensitivity

E. coli was one of the most common gram (-) bacteria in our culture results, it was the most resistant to cefturoxime, amoxicillin, oxacillin, and ampicillin. Antibiotics to which it was most sensitive to were ertapenem, meropenem, netilmicin, and teicoplanin (Figure 2).

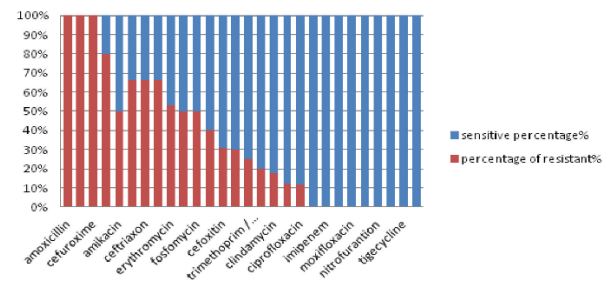


Figure 2: Escherichia coli antibiotic sensitivity

The resistance rate of all Staphylococcus to methicillin was 24.80%, and the resistance rate of S. aureus to methicillin was 20.31%. Our rate of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) (+) E. coli was 36.11%.

Percentages of resistance to methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and ESBL (+) E. coli microorganisms included the penicillin and cephalosporin group of antibiotics. This resistance showed rates of almost 100%. This group of bacteria was more sensitive to antibiotics like piperacillin/tazobactam and trimethoprim/sulfamethoxazole (Figure 3).

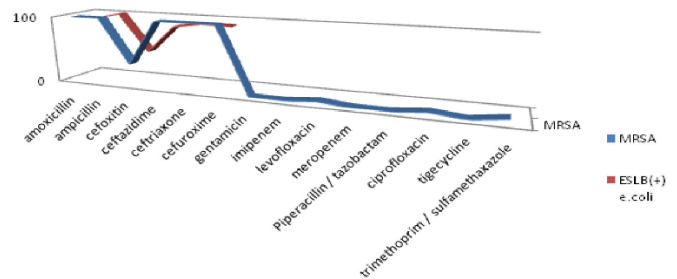


Figure 3: MRSA and ESBL (+) E.coli resistance percentages

The antibiotics to which Pseudomonas, which was the most prominent of the gram (-) pathogens, were most resistant to in the antibiogram were penicillin G, erythromycin, and ampicillin. Antibiotics to which it was most sensitive to included tigecycline, moxifloxacin, levofloxacin (Figure 4).

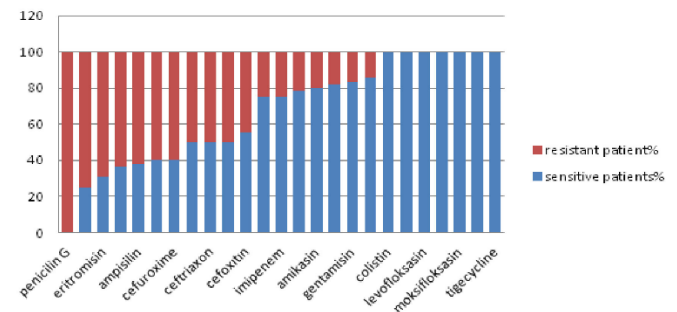


Figure 4: Pseudomonas antibiotic sensitivity

The average antibiotic sensitivity rate of Staphylococcus, which was the most common gram (+) bacteria, was 62.6% and the resistance

rate to antibiotics was 37.4%. The average antibiotic sensitivity rates of *Escherichia* and *Pseudomonas*, which were among the most common gram (-) bacteria, were 64.9% and 68.1%, respectively. Moreover, their resistance rates to antibiotics were 35.1% and 31.9%, respectively (Figure 5).

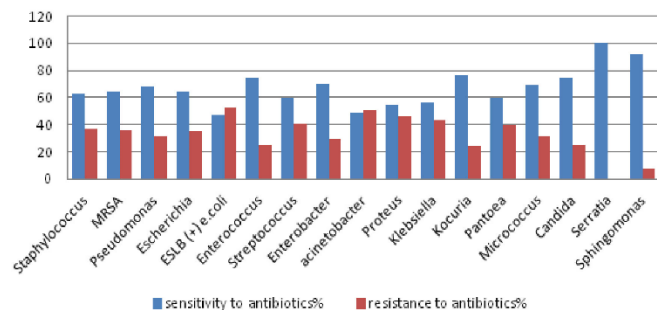


Figure 5: Susceptibility and resistance percentages to microorganism

The average length of stay was 12.86 ± 17.34 (range: 1–39) days. Of the total number of patients, 21 (1.48%) died, two from insufficient fluid replacement in the first 24 hours and the 19 from wound site infections.

DISCUSSION

Wound infection treatment is important in burns. Because wound infection in burns causes prolongation length of hospital stay, sepsis, and even mortality. Wound site infectious diseases are the diseases caused by the proliferation and the invasion of microorganisms on wound sites. It is essential to know the risk factors and treatment of wound infections, which continues to be one of the most important problems of modern burn treatment. With the antibiotic resistance developing in the world, it is important to know the effective antibiotic to be used against microorganisms in the burn wounds.

Datta S.¹⁶ and Meroj A. et al.¹⁷, more women than men affected by the burn injury. However, in our study, it was observed that males (55%) were affected more than females (45%) from burn injuries. This result is consistent with studies by Saaq M.¹⁸ and Chaudhary N.

Ave¹⁹. The reason for this may be more exposure to occupational hazards of the men; Therefore, the risk of burns is higher than women.

Our study involved patients of all ages. The most common cause of burn injuries varied by age groups. While scalding burns and hot object contact burns are mostly seen in children in our region, scald burns, electrical burns, flame burns, chemical burns were observed in mostly adult groups. The age group with the most wound culture (+) was the 0–4 age group, consistent with the study by Tekin Recep et al.²⁰. The reason for this is the most active years occur in the 0–5 age group who generally do not recognize the dangers of their environment. While the burned TBSA was 2%–50% in patients hospitalized in our study, Saaq M. et al. reported 5–40%¹⁸, and 3–93% in the study by Chaudhary N. A. et al.¹⁹.

In our study, the most common cause of burns was scalding, followed by flame and electrical burns. Saaq M.¹⁸. and Chaudhary N.A¹⁹. et al. Reported that the most common cause of burns was flame burns. The reason for the higher rate of scalding burns in our study was because families with many children have more unprotected contact with hot liquids in the kitchen. Therefore, we think scalding burns occurred more frequently due to this environment.

Based on data from the Central Asian and Eastern Europe Antimicrobial Resistance Surveillance (CAESAR) study, *S. aureus* ranks third among the most frequently isolated microorganisms from invasive samples in our country^{21,22}. In the 2017 CAESAR study, the rate of MRSA in our country was 26%²¹.

S. aureus was the most common (23.09%) cause of wound culture (+) results in our study. *S. aureus* was resistant to 20.31% methicillin. Our methicillin resistance rate was close to the that of the CAESAR study. We attribute the lower

level in our study to the use of antibiotics that were dependent on the culture results.

According to the results of the antibiotic sensitivity tests in our study, the antibiotics most sensitive to MRSA were ciprofloxacin, piperacillin/tazobactam, and trimethoprim/sulfamethoxazole.

In our study, the most common microorganism isolated from burn wounds was *S. aureus*, followed by gram (-) pathogens *P. aeruginosa* and *E. coli*. Mehta M., Tekin Recep et al.^{23,24} and its results are inconsistent with our results. Mehta M. et al. The rates of *P. aeruginosa* and *E. coli* were 52% and 10.0%, respectively. According to research conducted by Al Laham et al, *P. aeruginosa* and *E. coli* rates were 52.0% and 9.0 %, respectively. In our study, the rates of *P. aeruginosa* and *E. coli* were 9.13% and 9.13%, respectively. In studies carried out by Mehta M et al., the *P. aeruginosa* resistances to gentamicin amikacin and ciprofloxacin were high (40%–75%). In our study, this rate was lower (16%–19%). In the study by Rahman M. et al., The rate of ESBL (+) *E. coli* found in burn wound cultures is 45.5%²⁵. In our study, this rate was lower by 36.11%.

Various potential risk factors have been investigated for their role in burn wound colonization in burn centers²⁶. When we compared the positive culture results of male patients to all male patients admitted to our burn center (56.4% vs. 55.0%, respectively), the positive culture results of female patients to all female patients admitted to our burn center (43.6% vs. 43.0%, respectively) were not in agreement. We think that the male sex plays a (+) role in the outcome of the culture, however this was not statistically significant ($p = 0.387$).

The percentage of patients coming from rural and city centers was 47.85% and 52.15%, respectively. This ratio was 51.0% and 49.9% in those who had (+) wound culture results. We think that residing in rural areas increases the rate of wound infection. However, this was not statistically significant ($p = 0.065$).

We found that the upper and lower extremities were more commonly contaminated than other areas. In particular, the percentage of perineal infections increased more than the general patient rate. The perineal burn rate in all patients vs. the perineal burn rate in infected patients was 5.3% vs. 7.36%, respectively. This was not a statistically significant difference ($p = 0.36$).

The risk of a (+) wound culture increases as the TBSA increases, with an average of 14.18% (min: 2–max: 50) and 9.22% (min: 1–max: 50) in all patients with culture results. But this difference was not significant ($p = 0.083$).

CONCLUSION

This study is the first large-scale study conducted in our region to compare the results of organisms that cause burn wound infections. Recently, due to increased antibiotic resistance, duration of stay in hospital of patients with increasing morbidity and mortality rates. As a result of our study, we found that the most common causes of burn infections in our region were caused by *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli*. We hope that the use of broad-spectrum antibiotics that can be effective against these bacteria will contribute to clinical treatments until culture results are obtained. Thus, it avoids the unnecessary use of antibiotics we hope to reduce the rate of resistance to antibiotics in southeast of turkey.

Study limitations

The most important factors limiting our study are the retrospective nature of our study.

Ethics Committee Approval: The study was conducted between January 2010 and January 2020 in accordance with the principles of the 2008 revision of the Declaration of Helsinki, and approval was obtained prior to the study from the local ethics committee for retrospective research (Gazi Yaşargil Training and Research Hospital Ethics Committee/02.07.2021/E-810).

Conflict of Interest: The authors declared no conflicts of interest.

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

REFERENCES

1. Burns. (2018). Accessed: May 27, 2019: <http://www.who.int/news-room/factsheets/detail/burns>.
2. GBD 2015 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators: Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016,388:1545-602. 10.1016/S0140-6736(16)31678-6
3. Pruitt BA Jr, McManus AT, Kim SH, et al: Burn wound infections: Current status .*World J Surg*. 1998, 22:135-45. 10.1007/s002689900361
4. Weber JM, McManus AT, Nursing Committee of the International Society for Burn Injuries: Infection control in burn patients. *Burns*. 2004, 30: A16-24. 10.1016/j.burns.2004.08.003
5. Farina JA, Rosique MJ, Rosique RG: Curbing inflammation in burn patients. *Int J Inflam*. 2013, 2013:715645. 10.1155/2013/715645
6. Church D, Elsayed S, Reid O, et al: Burn wound infections. *Clin Microbiol Rev*. 2006, 19:403-34. 10.1128/CMR.19.2.403-434.2006
7. Raz-Pasteur A, Hussein K, Finkelstein R, et al: Blood stream infections (BSI) in severe burn patients--early and late BSI: a 9-year study. *Burns*. 2013, 39:636-42. 10.1016/j.burns.2012.09.015
8. Burn Wound Infections. (2011). Accessed: August 31, 2013: <http://search.medscape.com/search/?q=Burn%20Wound%20Infections>.
9. Fitzwater J, Purdue GF, Hunt JL, et al: The risk factors and time course of sepsis and organ dysfunction after burn trauma. *J Trauma*. 2003, 54:959-66. 10.1097/01.TA.0000029382.26295.AB
10. Rafla K, Tredget E: Infection control in the burn unit . *Burns*. 2011, 37:5-15. 10.1016/j.burns.2009.06.198
11. Weinstein RA, Mayhall CG: The epidemiology of burn wound infections: then and now . *Clin Infect Dis*. 2003, 37:543-50. 10.1086/376993
12. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013. (2013). Accessed: December 25,2018: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>.
13. Demir Yiğit, Yasemin, and Ebrar Yiğit. "Flame burns." *Dermatologic therapy* 34.6 (2021): e15133.
14. Ventola CL: The antibiotic resistance crisis. Part 1: causes and threats . *P T*. 2015, 40:277-83.
15. Greenhalgh DG, Saffle JR, Holmes JH 4th, et al.: American Burn Association consensus conference to define sepsis and infection in burns. *J Burn Care Res*. 2007, 28:776-90. 10.1097/BCR.0b013e3181599bc9
16. Datta S, Ghosh T, Sarkar D, et al: Bacteriological profile of burn wounds and their antibiotic susceptibility pattern in a tertiary care hospital. *Int J Sci Stud*. 2016, 4:141-45.
17. Meroj A, Jasem et al. The most frequent bacterial infections in burn injuries at burn units of two hospitals in Baghdad. *Iraqi Journal of Public Health* (2018) 2:1
18. Saaq M, Ahmad S, Zaib MS: Burn wound infections and antibiotic susceptibility patterns at Pakistan Institute of Medical Sciences, Islamabad, Pakistan. *World J Plast Surg*. 2015, 4:9 15.
19. Chaudhary N A, Munawar M D, Khan M T, et al. (June 01, 2019) Epidemiology, Bacteriological Profile, and Antibiotic Sensitivity Pattern of Burn Wounds in the Burn Unit of a Tertiary Care Hospital. *Cureus* 11(6):e4794. DOI 10.7759/cureus.4794.
20. Tekin, R., et al. "The evaluation of patients with burns during fifteen years period." *Clin Ter* 164.5 (2013):385-9.
21. "Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance. Annual report 2018". <http://www.euro.who.int/en/health-topics/diseaseprevention/antimicrobialresistance/publications/2018/central-asian-and-eastern-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance-annual-report-2018>.
22. Tekin, Recep, et al. "Risk factors for nosocomial burn wound infection caused by multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*." *Journal of Burn Care & Research* 35.1 (2014): e73-e80.
23. Mehta M, Dutta P, Gupta V: Bacterial isolates from burn wound infections and their antibiograms: a eight-year study. *Indian J Plast Surg*. 2007, 40:25-28. 10.4103/0970-0358.32659
24. Tekin, Recep, et al. "An evaluation of pediatric burn patients a fifteen-years period." *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery* 18.6 (2012): 514-8.
25. Mostaqimur Rahman, Hafiza Sultana , Md. Abdullahil Mosawuir , Status of Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Producing Bacteria Isolated from Surgical and Burn Wound at Tertiary Care Hospital in Dhaka City, Bangladesh *Journal of Infectious Diseases* June 2018, DOI: <http://dx.doi.org/10.3329/bjid.v5i1.37712>
26. Air temperature in Turkey's southeast region of Anatolia: www.mgm.gov.tr 2020.



Clinical Results of Combined Systemic Steroid and Retroorbital Radiotherapy Treatment in Active Thyroid Associated Ophthalmopathy

Bilge Batu Oto¹, Didem Colpan Oksuz², Seda Sert³, Omer Erol Uzel², Ahmet Murat Sarici¹

1 Department of Ophthalmology, Istanbul University, Cerrahpasa, Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul, Turkey

2 Department of Radiation Oncology, Istanbul University, Cerrahpasa, Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul, Turkey

3 Ophthalmology Clinic, Gumushane State Hospital, Gumushane, Turkey

Received: 27.01.2023; Revised: 18.04.2023; Accepted: 25.04.2023

Abstract

Objective: The aim of this study is to evaluate the efficacy of a different steroid dosage protocol which consists of intravenous pulse methylprednisolone combined with retroorbital radiotherapy in the treatment of active thyroid associated ophthalmopathy.

Methods: The medical records of 29 patients who were treated with a standard protocol and who were followed-up for at least 6 months were retrospectively analyzed. The treatment protocol consisted of intravenous pulse methylprednisolone 1gram/day for 3 consecutive days, followed by retroorbital radiotherapy. Oral prednisolone which was tapered over a 3-month course was given as a maintenance dose.

Results: 58 eyes of 29 patients were included in the study. Twelve patients were female (41%) and 17 were male (59%) with a mean age of 47.7 ± 12.6 years. The clinical activity score was 4.8 ± 1.3 and 2.8 ± 1.2 , before and after treatment, respectively ($P < 0.05$). 14 eyes (31%) had an improvement in best corrected visual acuity. In 28 eyes with had proptosis, proptosis regressed after treatment. Among 21 patients with diplopia, 13 (61%) patients reported an improvement in diplopia after treatment ($P < 0.05$). None of our patients had any adverse event due to systemic steroid and retroorbital radiotherapy.

Conclusions: Pulse intravenously applied methylprednisolone for 3 days as 1 gram/day, combined with retroorbital radiotherapy proved to be effective in control of moderate to severe and active thyroid associated ophthalmopathy. In the 6-month follow-up significant decrease in clinical activity score and improvement in diplopia was observed in addition to improvement in best corrected visual acuity.

Keywords: Orbital radiotherapy; Thyroid ophthalmopathy; Graves' disease

DOI: 10.5798/dicletip.1313177

Correspondence / Yazışma Adresi: Bilge Batu Oto, Department of Ophthalmology, Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Medical Faculty Istanbul, Turkey e-mail: batubilge@gmail.com

Aktif Tiroid Orbitopatide Kombine Sistemik Steroid ve Retroorbital Radyoterapi Tedavisinin Klinik Sonuçları

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı, aktif tiroid orbitopati tedavisinde retroorbital radyoterapi ile kombine intravenöz pulse metilprednizolondan oluşan farklı bir steroid dozaj protokolünün etkinliğini değerlendirmektir.

Yöntemler: Belirlenmiş standart protokol ile tedavi edilen ve en az 6 ay takip edilen 29 hastanın tıbbi kayıtları retrospektif olarak incelendi. Tedavi protokolü arka arkaya 3 gün 1 gram/gün dozunda intravenöz pulse metilprednizolon ve ardından retroorbital radyoterapiden oluşuyordu. İdame dozu olarak oral prednizolon 3 ay süreyle ayda bir doz azaltılarak verildi.

Bulgular: 29 hastanın 58 gözü çalışmaya dahil edildi. 12 hasta (%41) kadın, 17 hasta (%59) erkekti ve ortalama yaşları $47,7 \pm 12,6$ idi. Klinik aktivite skoru tedaviden önce ve sonra sırasıyla $4,8 \pm 1,3$ ve $2,8 \pm 1,2$ idi ($p < 0,05$). 14 gözde (%31) en iyi düzeltilmiş görme keskinliğinde iyileşme görüldü. Propitozisi bulunan 28 gözde tedavi sonrası propitozis geriledi. Diplopsi olan 21 hastadan 13'ü (%61) tedaviden sonra diplopiye iyileşme bildirdi ($p < 0,05$). Hiçbir hastamızda sistemik steroid tedavisine ve retroorbital radyoterapiye bağlı yan etki görülmedi.

Sonuç: Pulse intravenöz 3 gün süreyle 1 gram/gün dozunda uygulanan metilprednizolon, retroorbital radyoterapi ile kombine edildiğinde aktif tiroid orbitopatinin kontrolünde etkili oldu. 6 aylık takipte en iyi düzeltilmiş görme keskinliğinde düzelmenin yanı sıra klinik aktivite skorunda anlamlı azalma ve çift görmede düzelme izlendi.

Anahtar kelimeler: Orbital radyoterapi; tiroid orbitopati; Graves' hastalığı

INTRODUCTION

Graves' disease is an autoimmune disorder that manifests itself with hyperthyroidism, diffuse goiter and ophthalmopathy. Ophthalmopathy is the most common extrathyroidal manifestation.

Although thyroid associated ophthalmopathy (TAO) is often seen in Graves' patients, it is an autoimmune disease of retroorbital tissue that can sometimes be seen in hypothyroid and even euthyroid patients^{1,2}.

Annual incidence of Graves' disease is 0.3% in the United States. Though Graves' disease is 6-7 times more common in women than in men, severe ophthalmopathy is more common in men. TAO usually begins between the ages of 30-50 and progresses more severely after the age of 50³. TAO commonly begins within 18 months after the initial diagnosis of Graves' disease. However, the onset of orbitopathy may be 10 years before or 20 years after the onset of thyroid disease⁴. About half of Graves' patients have ocular involvement but are generally mild; clinically significant disease occurs in 20-30% and there is a threat to vision in 3-5% of patients⁵. Clinical manifestations of TAO include

exophthalmos, strabismus, periorbital edema, eyelid retraction, extraocular muscle dysfunction, conjunctival hyperemia, eyelid edema, chemosis and rarely compressive optic neuropathy. The most common complaints in TAO are pain, blurry vision, diplopia, epiphora and photophobia. Non-preventable risk factors for TAO are age, gender, genetic susceptibility. Preventable risk factors are smoking, stress, thyroid dysfunction, and radioactive iodine treatment.

TAO is known to be an autoimmune disorder. Autoimmunity occurs against common antigens in the thyroid gland and orbital tissue. It's known that autoantibodies occur against the thyroid stimulating hormone (TSH) receptor. In addition, autoantibodies have been reported to occur against caldesmon⁶ and orbital fibroblast membrane antigen collagen XIII⁷. Autoantibodies produced against Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) have also been shown to increase orbital involvement⁸. Reactive T lymphocytes, which recognize the common antigen in the thyroid gland and orbit, infiltrate

the orbital and the extraocular muscles perimysium. Adhesion molecules stimulated by cytokines also contribute to this event. After infiltration of orbital tissue by T lymphocytes, the antigen is recognized by the T cell receptor on lymphocytes (Th). CD8+ lymphocytes are activated by cytokines secreted by Th lymphocytes. The cytokines cause the synthesis and secretion of the glycosaminoglycans (GAGs) by fibroblasts. Because of their water attracting properties, GAGs lead to proptosis, periorbital edema, and extraocular muscle swelling. Orbital fibroblasts contain preadipocyte cells which turn into adipocytes under hormonal stimulation. These cells also contribute to increased volume of retroorbital adipose tissue⁹. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation of (PPAR- γ) is also important. This increases the adipose tissue in the retrobulbar region¹⁰.

Lymphocytes which infiltrate the orbit are highly radiosensitive. Retroorbital radiotherapy (RT) is useful in the treatment of TAO, because it reduces glycosaminoglycan, hyaluronan deposition and has anti-inflammatory effect by promoting lymphocyte apoptosis^{11,12}. RT should be combined with steroid therapy, since the effect of radiotherapy can take several weeks to begin, and radiotherapy initially causes temporary inflammation. The main effect of radiotherapy is on the extraocular muscles. Radiotherapy increases the motility of the globe and has a healing effect on diplopia. The contraindications of RT include inactive stages of TAO, patients younger than 35 years of age due to a theoretical risk and poorly controlled diabetes. The most serious side effect is the development of secondary malignancy, namely meningioma or pigmented basal cell carcinoma^{13,14}. However long-term follow-up has not revealed a high incidence of radiation induced secondary tumors¹⁵. Ocular adverse effects include

microvascular retinopathy, cataract, and conjunctivitis.

According to the EUGOGO criteria, intravenous methylprednisolone (ivMP) combined with oral mycophenolate sodium is the first line treatment for moderate to severe and active Graves' orbitopathy¹⁶. Corticosteroids provide clinical improvement in the acute phase of the disease, but not in the chronic period. Corticosteroids have immunosuppressive and anti-inflammatory effects and reduces GAG synthesis and secretion from fibroblasts. The effect starts quickly, symptoms will recover quickly. While orbital pain, injection, conjunctival edema, soft tissue inflammation and compression-induced optic neuropathy will recover rapidly, proptosis and improvement in ophthalmoplegia is less subtle. According to the EUGOGO guidelines, treatment consists of weekly intravenous injection of 500 mg of methylprednisolone for 6 weeks, followed by a weekly dose of 250 mg for 6 weeks. Intravenous (iv) route is more effective than oral route¹⁷. In a recent study which included 166 patients, high-dose ivMP (the cumulative dose of 7.5 g ivMP) treatment was applied and it was revealed that the most common side effect was asymptomatic changes in the laboratory values, and only 5% of patients developed severe side effects that would require discontinuation of the treatment¹⁸. Previous studies reported better outcomes in reducing the severity of TAO with combination of RT and iv glucocorticoids compared to iv glucocorticoids alone¹⁹⁻²¹. EUGOGO 2021 guideline proposed orbital radiotherapy combined with iv glucocorticoids as a second line treatment in the management of moderate to severe and active TAO, especially in patients with ocular motility disorders¹⁶. Still, there is no defined treatment dosage of the iv glucocorticoids. In this study, we aimed to evaluate the efficacy of pulse ivMP (1 gram daily for 3 consecutive days) followed by retroorbital radiation.

METHODS

The medical records of 29 patients who were treated with combined ivMP and retroorbital radiotherapy for thyroid orbitopathy in the ophthalmology and radiation oncology clinics of Cerrahpasa Medical Faculty between January 2012 and January 2019 were retrospectively analyzed. Patients who had CAS ≥ 3 and aged between 35 and 80 were included. Only patients who were followed-up at least 6 months after the treatment were enrolled in the study. Patients who had pregnancy, contraindication for receiving systemic corticosteroids or had medical history of diseases such as glaucoma and diabetic retinopathy were excluded. The study was conducted according to the tenets of the Declaration of Helsinki and ethical approval was obtained from the institutional review board (Cerrahpaşa Clinical Ethics Committee, Date: 02.06.2021, Approval Number: 103785).

Baseline and follow-up data collected included the best corrected visual acuity (BCVA) with Snellen chart, clinical activity score (CAS)²² extraocular muscle functions, and presence of diplopia or proptosis. Proptosis (in millimeters) was measured with the Hertel exophthalmometer by the same practitioner. An exophthalmometry reading over 21 mm was considered pathological. The follow-up data was obtained from clinical reports 6 months after treatment. History of any ocular surgery (orbital decompression, extraocular muscle surgery) was noted.

Primary outcome was defined as treatment efficacy at 6 months follow-up. Treatment efficacy was determined according to improvement in CAS.

Treatment administration

Steroid treatment was applied for 3 consecutive days at a rate of 1 gram daily. Radiotherapy was delivered to the retroorbital field in 10 fractions with the total dose of 20 Gray by using a linear accelerator with 6 MV photon energy. Then, oral

prednisolone with a dose of 48 mg for the initial month was given, the prednisolone dose was tapered monthly by half dose over a 3-month period (48 mg, 24 mg and 12 mg daily for the first, second and third month, respectively) Before receiving systemic corticosteroid, all patients were evaluated with an extensive work-up (electrocardiogram, chest radiography, glycated hemoglobin (HbA1c), full blood count, liver and kidney function test, hepatitis screen, tuberculosis and syphilis screening) to ensure they had no contraindications before ivMP treatment.

Statistical analysis

Descriptive statistics were expressed as mean and standard deviation (SD). Distribution of normal data was evaluated with Shapiro Wilk test. Statistical evaluation was made by Wilcoxon dependent value analyses and paired sample t test. p values below 0.05 was accepted as statistically significant. SPSS (version: 21.0) was used for the statistical analyses.

RESULTS

58 eyes of 29 patients were included in the study. 12 of the patients were female (41%) and 17 were male (59%). The average age of the patients at the time of initial admission was 47.7 ± 12.6 years. The CAS before and after treatment was 4.8 ± 1.3 and 2.8 ± 1.2 respectively, which demonstrated a statistically significance ($P < 0.05$). 9 patients (14 eyes) had an improvement in BCVA (31%). In 28 eyes with proptosis, the mean ophthalmometry measurement was 25.6 ± 2.4 mm before treatment and 23.1 ± 2.6 mm after treatment ($p > 0.05$). Among 21 patients who had diplopia before treatment, 13 (61%) reported an improvement ($p < 0.05$) (Table I). None of the patients reported worsening in diplopia. Orbital decompression surgery was performed in 3 (10.3%) treatment-resistant patients during the follow-up period. Among 29 patients, 26 (89.6%) showed treatment response and no

recurrence was observed during the 6-month follow-up period in treatment responsive patients. Radiotherapy-induced retinopathy and cataracts were not observed in any patients. None of our patients had any adverse event due to systemic steroid treatment.

DISCUSSION

The aim of this study was to demonstrate the efficacy of retroorbital radiotherapy combined with high dose pulse iv methylprednisolone therapy in moderate to severe and active TAO and observe the effect of this different dosage modality of steroid application in Graves' ophthalmopathy.

Our study is different from other studies in the literature in terms of the steroid regimen applied. Patients were given ivMP treatment for 3 consecutive days at a rate of 1 gram daily, then RT was applied and 3-month oral steroid treatment was given as a maintenance treatment. Oral steroid was given 48mg/daily for the first month and then 24 mg/daily for the second month and 12 mg/daily for the third month. In the 6-month follow-up after treatment it was observed that; CAS decreased, diplopia improved significantly, and BCVA increased in 31% of patients with clinical regression in proptosis.

None of our patients had any adverse event due to systemic steroid and RT. It can be said that the steroid applied at this level is a safe dose. Initial high dose with a short tapering time interval proved to be effective in 89.6% of patients in control of TAO with this new treatment regimen. Only 3 patients had treatment-resistant clinical findings and all 3 had undergone orbital decompression surgery. None of treatment responsive patients showed any recurrence during the 6-month follow-up period.

Different studies proved that combination therapy composed of ivMP and orbital radiotherapy was superior to iv steroid

treatment alone in the management of moderate to severe and active TAO¹⁹⁻²³. Recurrence rate was shown to be lower with combination therapy²¹. Besides, it was suggested that combined treatment with radiotherapy might compensate for lower steroid doses²⁰ which is in consistence with our findings.

Varying steroid dosage regimens were applied in the treatment of active TAO^{20,21,23}. EUGOGO guideline recommends a cumulative iv steroid dosage of 4.5 gr over a course of 12 weeks when treatment is combined with mycophenolate sodium. When applied with RR there is no precise dosing for the iv. methylprednisolone. A study comparing the effectiveness of combined retroorbital irradiation plus iv steroids and iv steroids alone in the treatment of moderate to severe Graves' ophthalmopathy proved that the combination therapy was more effective²⁰. In addition, simultaneous administration of ivMP and RT showed a more favorable effect compared to subsequent use of RT after ivMP, implying that RT should be carried out early concomitantly with ivMP²⁴. In another study which included an ivMP cumulative dose at a range of 6-8 g showed that exophthalmometry readings, diplopia, CAS, and visual acuity improved significantly after treatment especially in females compared to males at 72-month follow-up²⁵. In contrast, a study comparing the effect of pulse steroid therapy with or without retroorbital therapy revealed that there was no difference in proptosis and rectus muscle hypertrophy at the 6-month follow-up²⁶.

IvMP followed by oral prednisolone may not be solely effective to prevent recurrences in TAO. Previous studies reported recurrence rates between 9.5-20% within 6-12 months follow-up with ivMP alone whereas in our study, we observed no recurrences with combined treatment during the 6 months follow-up period^{27,28}. Compressive optic neuropathy has

been shown to be less common in patients treated with combined corticosteroids and radiotherapy than in patients treated only steroids. Combined therapy has been shown to be protective against both optic neuropathy and disease progression²⁹.

Our study carries the limitations of retrospective studies, and the application of different steroid regimens cannot be compared. Performing a prospective study on the follow-up of TAO would be quite difficult due to the different clinical characteristics of each patient. Our study only includes clinical findings before and after treatment and no comparison in orbital magnetic resonance imaging or other laboratory findings were evaluated before and after treatment.

In conclusion, ivMP 1gr/day for 3 consecutive days and combined with radiotherapy in Graves's ophthalmopathy patients who have CAS ≥ 3 is an effective and safe treatment regimen. In our study, a higher initial dose of iv methylprednisolone with a shorter course of maintenance therapy was applied which proved to be safe and effective. Maintenance of oral therapy with tapering in 3 months is advised.

Ethics Committee Approval: The study was conducted according to the tenets of the Declaration of Helsinki and ethical approval was obtained from the institutional review board (Cerrahpaşa Clinical Ethics Committee, Date: 02.06.2021, Approval Number: 103785).

Conflict of Interest: The authors declared no conflicts of interest.

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

REFERENCES

1. Ginsberg J. Diagnosis and management of Graves' disease. *CMAJ*. 2003 Mar 4;168(5):575-85.
2. Bahn RS. Graves' ophthalmopathy. *N Engl J Med*. 2010 Feb 25;362(8):726-38. doi: 10.1056/NEJMra0905750.
3. Bartalena L, Tanda ML, Bogazzi F, et al. An update on the pharmacological management of hyperthyroidism due to Graves' disease. *Expert Opin Pharmacother*. 2005 Jun;6(6):851-61. doi: 10.1517/14656566.6.6.851.
4. Marcocci C, Bartalena L, Bogazzi F, Panicucci M, Pinchera A. Studies on the occurrence of ophthalmopathy in Graves' disease. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1989 Apr;120(4):473-8. doi: 10.1530/acta.0.1200473.
5. Bartalena L, Pinchera A, Marcocci C. Management of Graves' ophthalmopathy: reality and perspectives. *Endocr Rev*. 2000 Apr;21(2):168-99. doi: 10.1210/edrv.21.2.0393.
6. Gunji K, Kubota S, Stolarski C, et al. A 63 kDa skeletal muscle protein associated with eye muscle inflammation in Graves' disease is identified as the calcium binding protein calsequestrin. *Autoimmunity*. 1999;29(1):1-9. doi: 10.3109/08916939908995967.
7. Wall JR, Lahooti H. Pathogenesis of thyroid eye disease - does autoimmunity against the TSH receptor explain all cases? *Endokrynol Pol*. 2011;62 Suppl 1:1-7.
8. Douglas RS, Gianoukakis AG, Kamat S, Smith TJ. Aberrant expression of the insulin-like growth factor-1 receptor by T cells from patients with Graves' disease may carry functional consequences for disease pathogenesis. *J Immunol*. 2007 Mar 1;178(5):3281-7. doi: 10.4049/jimmunol.178.5.3281.
9. Sorisky A, Pardasani D, Gagnon A, Smith TJ. Evidence of adipocyte differentiation in human orbital fibroblasts in primary culture. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996 Sep;81(9):3428-31. doi: 10.1210/jcem.81.9.8784110.
10. Bahn RS. Clinical review 157: Pathophysiology of Graves' ophthalmopathy: the cycle of disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 May;88(5):1939-46. doi: 10.1210/jc.2002-030010.
11. Bartalena L, Marcocci C, Manetti L, et al. Orbital radiotherapy for Graves' ophthalmopathy. *Thyroid*. 1998 May;8(5):439-41. doi: 10.1089/thy.1998.8.439
12. Wang Y, Zhou H, Fan X. The effect of orbital radiation therapy on thyroid-associated orbitopathy complicated with dysthyroid optic neuropathy. *Front Med*. 2017 Sep;11(3):359-364. doi: 10.1007/s11684-017-0528-5.

13. Gillis CC, Chang EH, Al-Kharazi K, Pickles T. Secondary malignancy following radiotherapy for thyroid eye disease. *Rep Pract Oncol Radiother*. 2016 May-Jun;21(3):156-61. doi: 10.1016/j.rpor.2016.01.001.;
14. Haenssle HA, Richter A, Buhl T, et al. Pigmented basal cell carcinomas 15 years after orbital radiation therapy for Graves ophthalmopathy. *Arch Dermatol*. 2011 Apr;147(4):511-2. doi: 10.1001/archdermatol.2011.74.
15. Kinyoun JL, Kalina RE, Brower SA, Mills RP, Johnson RH. Radiation retinopathy after orbital irradiation for Graves' ophthalmopathy. *Arch Ophthalmol*. 1984 Oct;102(10):1473-6. doi: 10.1001/archophth.1984.01040031193016.
16. Bartalena L, Kahaly GJ, Baldeschi L, et al. EUGOGO †. The 2021 European Group on Graves' orbitopathy (EUGOGO) clinical practice guidelines for the medical management of Graves' orbitopathy. *Eur J Endocrinol*. 2021 Aug 27;185(4):G43-G67. doi: 10.1530/EJE-21-0479.
17. Kahaly GJ. Management of Graves Thyroidal and Extrathyroidal Disease: An Update. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020 Dec 1;105(12):3704–20. doi: 10.1210/clinem/dgaa646.
18. Schovaneck J, Cibickova L, Karhanova M, et al. Retrospective analysis of patients with Graves orbitopathy treated by pulses of methylprednisolone, with a focus on adverse events. *Endocr Pract*. 2018 Jul;24(7):652-657. doi: 10.4158/EP-2018-0047.
19. Sobel RK, Aakalu VK, Vagefi MR, et al. Orbital Radiation for Thyroid Eye Disease: A Report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology*. 2022 Apr;129(4):450-455. doi: 10.1016/j.ophtha.2021.10.025. Epub 2021 Dec 9.
20. Oeverhaus M, Witteler T, Lax H, et al. Combination Therapy of Intravenous Steroids and Orbital Irradiation is More Effective Than Intravenous Steroids Alone in Patients with Graves' Orbitopathy. *Horm Metab Res*. 2017 Oct;49(10):739-747. doi: 10.1055/s-0043-116945. Epub 2017 Sep 18.
21. Kim JW, Han SH, Son BJ, et al. Efficacy of combined orbital radiation and systemic steroids in the management of Graves' orbitopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016 May;254(5):991-8. doi: 10.1007/s00417-016-3280-7. Epub 2016 Feb 15.
22. Mourits MP, Prummel MF, Wiersinga WM, Koornneef L. Clinical activity score as a guide in the management of patients with Graves' ophthalmopathy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1997 Jul;47(1):9-14. doi: 10.1046/j.1365-2265.1997.2331047.x
23. Ng CM, Yuen HK, Choi KL, et al. Combined orbital irradiation and systemic steroids compared with systemic steroids alone in the management of moderate-to-severe Graves' ophthalmopathy: a preliminary study. *Hong Kong Med J*. 2005 Oct;11(5):322-30.
24. Limone PP, Bianco L, Mellano M, et al. Is concomitant treatment with steroids and radiotherapy more favorable than sequential treatment in moderate-to-severe graves orbitopathy? *Radiol Med*. 2021 Feb;126(2):334-342. doi: 10.1007/s11547-020-01244-5
25. Sisti E, Menconi F, Leo M, et al. Long-term outcome of Graves' orbitopathy following high-dose intravenous glucocorticoids and orbital radiotherapy. *J Endocrinol Invest*. 2015 Jun;38(6):661-8. doi: 10.1007/s40618-015-0241-7.
26. Ohtsuka K, Sato A, Kawaguchi S, Hashimoto M, Suzuki Y. Effect of steroid pulse therapy with and without orbital radiotherapy on Graves' ophthalmopathy. *Am J Ophthalmol*. 2003 Mar;135(3):285-90. doi: 10.1016/s0002-9394(02)01970-0.
27. Ueki S, Hasegawa Y, Hatase T, Kiyokawa M, Fukuchi T. One-year recurrence rate of Graves ophthalmopathy presenting as diplopia in the primary position after varied doses of intravenous methylprednisolone followed by oral prednisolone with dosing based on the magnetic resonance imaging findings. *Jpn J Ophthalmol*. 2023 Jan;67(1):91-96. doi: 10.1007/s10384-022-00954-9.
28. Tsirouki T, Bargiota A, Tigas S, et al. Clinical and imaging evaluation of the response to intravenous steroids in patients with Graves' orbitopathy and analysis on who requires additional therapy. *Clin Ophthalmol*. 2016 Nov 17;10:2277-2289. doi: 10.2147/OPHTH.S118555.
29. Shams PN, Ma R, Pickles T, Rootman J, Dolman PJ. Reduced risk of compressive optic neuropathy using orbital radiotherapy in patients with active thyroid eye disease. *Am J Ophthalmol*. 2014 Jun;157(6):1299-305. doi: 10.1016/j.ajo.2014.02.044.



Factors Affecting Serum Vitamin D Level in Epilepsy

Pınar Bengi Boz ^{ID} 1

1 Neurology Clinic of Adana City Training and Research Hospital, Adana, Turkey

Received: 30.01.2023; Revised: 13.04.2023; Accepted: 14.04.2023

Abstract

Objective: Our aim was evaluate the relationship between 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D) and old and new generation anti-seizure drugs (ASDs), seizure type and seizure frequency in epilepsy patients.

Method: A total of 96 individuals aged 18 years and older with epilepsy were included in this study who were followed up in the SBU Adana City Training and Research Hospital Epilepsy outpatient clinic between January 1, 2020 and November 1, 2022 and met the inclusion criteria. Patients were grouped by age, gender, seizure type, frequency, and ASDs usage (according to their relationship with cytochrome P450 enzymes). Complete blood count, kidney functions, serum ASD levels and calcium, magnesium, phosphate and parathormone levels, season when 25(OH)D were measured, and sun exposure time was also obtained from patient file scans.

Results: 55.2% of the patients were women and the mean age was 32.56±12.90 (Min:18 Max:71). 25(OH)D level was found to be deficient or insufficient in 95.8% of the patients. The 25(OH)D level was statistically significantly lower in patients with generalized and complex partial epilepsy who were exposed to the sun for less than one hour per week compared to the focal type and those exposed to the sun for more than one hour per week. $p<0.05$)

Conclusion: 25(OH)D levels should be closely monitored in patients with epilepsy who use ASD for a long time it should be aimed to provide effective seizure control and a positive effect on bone metabolism with appropriate replacement therapy.

Keywords: Epilepsy, seizure, anti-seizure medication, vitamin 25(OH)D

DOI: 10.5798/dicletip.1313185

Correspondence / Yazışma Adresi: Pınar Bengi Boz, Neurology Clinic of Adana City Training and Research Hospital, Adana, Turkey e-mail: pbengibo@hotmai.com

Epilepside Serum D Vitamini Düzeyini Etkileyen Faktörler

Öz

Amaç: D vitamininin epilepsi hastalarında eski ve yeni jenerasyon nöbet önleyici ilaçlar (NÖİ), nöbet tipi ve nöbet sıklığıyla arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amaçlandı.

Yöntemler: Çalışmaya 1 Ocak 2020- 1 Kasım 2022 tarihleri arasında SBU Adana Şehir eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniği Epilepsi polikliniğinde takip edilen ve dahil edilme kriterlerini karşılayan 18 yaş ve üzeri epilepsi tanılı 96 hasta alındı. Hastalar yaş, cins, nöbet tipi, nöbet sıklığı ve kullandıkları nöbet önleyici ilaçlarına göre gruplandırıldı. Nöbet önleyici ilaçlar (NÖİ) hepatik sitokrom P450 enzimlerini indükleme yeteneklerine göre gruplandırıldı. Tam kan sayımı, böbrek fonksiyonları, serum NÖİ ilaç düzeyleri ve kalsiyum, magnezyum, fosfat ve parathormon (PTH) düzeyleri, D vitamini ölçülen mevsim ve güneşe maruziyet süresi de ayrıca hasta dosya taramalarından elde edildi.

Bulgular: Hastaların %55.2 si kadın olup yaş ortalaması $32,56 \pm 12,90$ (Min:18 Max:71) dir. %77,1'i Jeneralize epilepsi tanılı olup %60,4'ü (58 kişi) son üç ay içerisinde nöbet geçirdiğini belirtmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastaların %95,8'inin serum (25-Hidroksivitamin D (25(OH)D) vitamini düzeyi eksik ya da yetersiz seviyede olduğu tespit edilmiştir. Jeneralize ve kompleks parsiyel epilepsisi olanların ve haftada bir saatten az güneşe maruz kaldıklarını belirtmiş olanların serum 25(OH)D vitamini seviyesi fokal tipe göre ve haftada bir saatten fazla güneşe maruz kalanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük çıkmıştır. ($p < 0,05$)

Sonuç: Uzun süreli NÖİ kullanan ve jeneralize veya kompleks parsiyel epilepsisi olan ve güneşe maruziyeti haftada 1 saatten az olan hastaların serum 25(OH)D vitamini düzeyleri yakın takip edilerek uygun replasman tedavisi ile kemik metabolizmasına olumlu etkileri yanı sıra etkin nöbet kontrolü sağlanabilir.

Anahtar kelimeler: Epilepsi, nöbet, nöbet önleyici ilaç, vitamin, 25(OH)D vitamin.

MAIN POINTS

The aim of the research is to evaluate serum 25(OH)D vitamin levels and the factors affecting this level in epilepsy patients who are followed up regularly for one year or more.

- 25(OH)D levels were found to be deficient or insufficient in 95.8% of the patients included in the study.
- The 25(OH)D level was statistically significantly lower in patients with generalized and complex partial epilepsy who were exposed to the sun for less than one hour per week compared to the focal type and those exposed to the sun for more than one hour per week. ($p < 0.05$)
- Another important aim of this study is to inform clinicians dealing with epilepsy about the importance of appropriate replacement by closely monitoring 25(OH) D levels of patients who use long-term anti-seizure medication, have generalized or complex partial epilepsy,

and are exposed to the sun for less than 1 hour per week.

INTRODUCTION

Vitamin D is important for bones and its deficiency causes many diseases. 7-Dehydrocholesterol turns into cholecalciferol, also called vitamin D, on skin exposed to sunlight UVB (290-315 nm). Cholecalciferol binds to vitamin D binding protein, an-globulin synthesized in the liver, and is converted to 25(OH)D' by cytochrome P450 enzymes in the liver and to its active metabolite, 1,25 α -hydroxyvitamin D, in the kidney¹. The circulation and storage form of vitamin D is 25(OH)D¹.

Vitamin D is a neurosteroid with an important role in neuroprotection, brain development and immunomodulation, and it crosses the blood-brain barrier and plays a protective role in neurodegenerative diseases by regulating

neurotrophic factors²⁻⁵. Its role in the pathophysiology and treatment of epilepsy is quite complex.

Hollo et al. reported that vitamin D decreased the frequency of seizures in epilepsy patients⁶. In epilepsy patients taking anti-seizure drugs (ASDs) that induce cytochrome p450 enzyme system, vitamin D deficiency and thus osteoporosis risk are common^{7,8}. Osteoporosis is associated with balance and risk of falling⁹. A recent meta-analysis reported an approximately 40% increased risk of femoral fracture for values less than 20 ng/mL (50 nmol/L)¹⁰.

Although enzyme-inducing and non-inducing ASDs are known to affect bone density, there is still a lack of consensus on effective vitamin D dosing in epilepsy.

So, we planned to review the possible relationship between vitamin D levels, old and new generation ASDs, seizure type and seizure frequency in epilepsy patients from different perspectives.

METHODS

Between 1 January 2020 and 1 November 2022, 96 patients aged 18 years and older who were followed up in the Neurology Clinic of SBU Adana City Training and Research Hospital and met the inclusion criteria were included. Health Sciences University Adana Medical Faculty City Hospital Clinical Research Ethics Committee approved the study. (No:115/2227 and 2022-11-03).

Epilepsy was defined and managed in accordance with the practical clinical definition from the The International League Against Epilepsy (ILAE)¹¹. Cadwell Sierra brand electroencephalography (EEG) device with 18 channels, banana mount, 7uV/mm sensitivity, 30 mm/sec sweep speed and 1-70 Hz filter was used in the diagnosis and follow-up of epilepsy.

Patients with transient ischemic attack (TIA), migraine, syncope, and psychogenic non-

epileptic seizures (PNES) were not included in the study.

The study excluded the patients who were pregnant, had change in anti-seizure medication schedule in the three months before the study, took vitamin D supplements six months before the study or took medication that interferes with the metabolism of this vitamin. The study also excluded the patients with a diagnosis of a disease causing a disorder in the metabolism of this vitamin, liver and kidney dysfunction, hypercalcemia, kidney stones, parathyroid disease or stomach operation history, toxic habits such as alcohol, tobacco, and substance use, vegetarian or vegan diet habits.

Patients were grouped by age, gender, seizure type, seizure frequency, and seizure medications they used. The seizure type was analyzed in three groups as focal, complex partial and generalized, and the frequency of seizures in three groups as those with seizures in the last 0-3 months, those with seizures between 4 and 12 months, and those without seizures for a year or more. Sun exposure was divided into two groups as less than one hour per week and one hour and more per week. The seasons of the year in which the measurements were made were grouped as spring, summer, autumn and winter. ASDs were grouped according to their ability to induce hepatic cytochrome P450 enzymes:

- Enzyme-inducing ASD users: EIASD (phenytoin, phenobarbital, carbamazepine, eslicarbazepine acetate, primidone, oxcarbazepine and topiramate >200 mg/day)

- Non-enzyme-inducing ASD users: non-EIASD (valproate, lamotrigine, gabapentin, levetiracetam, clobazam, pregabalin, zonisamide, lacosamide, perampanel, topiramate ≤200 mg/day and benzodiazepine)

- EIASD + NonEIASD

- Two NonEIASDs

- Two EIASDs
- Users of ASDs of 3 or more

Laboratory data (vitamin D, parathyroid hormone (PTH)etc.) were studied with the paramagnetic particle chemiluminescence immunoanalysis method on Beckman Coulter Access Immunoasay Systems-DXI 800 device, and complete blood count, kidney functions, serum ASDs levels and calcium, magnesium, phosphate and PTH levels obtained from patient file scans.

Statistical Analysis

Frequency, percentage, arithmetic mean, and standard deviation were used in the evaluation of socio-demographic data of individuals with epilepsy diagnosis included in the study. The normal distribution property of dependent variables was examined with Skewness and Curtosis values. Since the values were between -1.98 and + 1.98, it was accepted that the data showed a normal distribution¹². Independent simple t test and one-way analysis of variance (ANOVA) were used to examine the effects of dependent variables on vitamin D, Calcium, Phosphorus and PTH. Tukey test was used to test the significance of groups because of ANOVA. The correlation between dependent variables was evaluated with Pearson correlation analysis. The significance value (p value) of the tests was considered significant if it was below 0.05.

RESULTS

Of the 96 patients participating in the study, 53 (55.2%) were female, and the mean age of the patients was 32.56±12.90 (Min:18, Max:71). 77.1% of the patients were diagnosed with generalized epilepsy, and 60.4% (58 people) stated that they had seizures in the last three months. 59.4% were using one or two drugs that did not induce enzymes. 86.3% of the

patients stated that they were exposed to the sun less than 1 hour a week. Descriptive characteristics of the patients are given in Table 1.

Table 1: Descriptive characteristics of the patients

Descriptive characteristics (N:96)	Number	%
Gender		
Female	53	55.2
Male	43	44.8
Age		
18-24 years	32	33.3
25-34 years	29	30.2
35 years and older	35	36.5
Epilepsy type		
Focal	4	4.2
Complex partial	18	18.8
Generalized	74	77.1
Seizure frequency		
Seizure in the last 3 months	58	60.4
Seizure in 4-12 months	11	11.5
Seizure-free for more than 1 year	27	28.1
ASD		
EIASD	7	7.3
Non-EIASD	41	42.7
Dual ASDs (EIASD+Non-EIASD)	14	14.6
Dual ASDs (Both Non-EIASD)	16	16.7
3 or more ASDs	18	18.8
Sun Exposure		
< 1 hour per week	83	86.5
1 hour or more per week	13	13.5

ASD: Anti-seizure drug, EIASD: Enzyme inducing anti-seizure drug, Non-EIASD: Non-enzyme inducing anti-seizure drug,

25(OH)D levels were found to be insufficient or deficient in 95.8% of the patients. Calcium levels in 6 patients, Phosphorus levels in 7 patients were below the reference values, and PTH values in 7 patients were above the reference values (Table 2).

Table II: General Evaluation of 25-(OH) Vitamin D, Calcium, Phosphorus and Parathormone Levels of Patients

(N:143)	Number	%
25(OH) vitamin D		
<20 µg/L (Deficient)	72	78.1
20-30 µg/L (Insufficient)	20	17.7
≥30 µg/L (Normal)	4	4.2
Calcium		
<8,8 mg/dl (Low)	6	6.3
≥8.8 (Normal)	90	93.8
Phosphorus		
<2,5 mg/dl (Low)	7	7.3
≥2,5 mg/dl (Normal)	89	92.7
Parathormone		
<12 ng/L (Low)	0	0.0
12-88 ng/L (Normal)	89	92.7
≥88 ng/L (High)	7	7.3

There was no statistically significant difference between the gender variable and serum 25(OH)D, phosphorus and PTH levels of the patients, while the calcium levels were higher in favor of male patients. ($p < 0.05$) (Table 3).

There was no significant difference between the age groups of the patients and 25(OH)D, phosphorus and calcium levels ($p > 0.05$), but a significant difference was found between the PTH levels and age groups ($p < 0.05$). In the post hoc analysis performed to evaluate which groups the significance stemmed from, it was determined that PTH levels were higher in the group over 35 years of age than in the 25-34 age group (Table 3).

Table III: 25(OH) Vitamin D, calcium, phosphorus and parathormone values by age and gender

	25(OH) vitamin D		Calcium		Phosphorus		Parathormone		
	(N)	Mean	S.D	Mean	S.D	Mean	S.D	Mean	S.D
Gender	Female (53)	15,39	8,17	9,30	,62	3,44	,74	55,95	27,45
	Male (43)	18,26	7,75	9,76	,44	3,50	,76	48,73	30,84
	Test Values	t: -1,750 p:0,083		t: -3,997 p:0,000		t: -0,407 p:0,685		t: 1,212 p:0,229	
Age	18-24 years ^a (32)	18,51	10,64	9,69	,42	3,72	,85	47,20	29,63
	25-34 years ^b (29)	15,70	5,95	9,45	,85	3,36	,73	45,77	23,30
	35 years and older ^c (35)	15,81	6,70	9,38	,41	3,32	,60	63,52	30,45
	Test Values	F: 1,246 p: 0,292		F: 2,472 p: 0,090		F: 2,979 p: 0,056		F: 4,056 p: 0,020 c>b	

t: Independent Simple t Test F: One way ANOVA p: Significant Value SD: Standard deviation

There was no difference between epilepsy type and phosphorus, calcium and PTH levels ($p > 0.05$). (Table 4.) However, 25(OH)D levels were found to be significantly lower in individuals with generalized and complex partial epilepsy compared to individuals with focal epilepsy, and this decrease was much more pronounced in patients with generalized

epilepsy than in patients with partial epilepsy ($p < 0.05$) (Table 4).

There was no statistically significant difference in 25(OH)D, phosphorus, calcium and PTH levels with the anti-seizure medication used by the patients ($p > 0.05$) (Table 4).

There was no difference between the patients' sun exposure and phosphorus, calcium and PTH levels ($p > 0.05$). However, 25(OH)D vitamin

levels were significantly lower in patients who were exposed to the sun for less than one hour per week compared to those exposed more than one hour per week ($p < 0.05$) (Table 4).

Table IV: Evaluation of Factors Affecting 25(OH) Vitamin D, Calcium, Phosphorus and Parathormone Levels of Patients

		25(OH) vitamin D		Calcium		Phosphorus		Parathormone	
(N)		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Epilepsy Type	Focal^a (4)	28,37	8,47	10,07	,22	3,42	1,21	38,67	9,74
	Complex partial^b (18)	16,90	5,81	9,47	,42	3,28	,62	58,75	35,03
	Generalized^c (74)	15,99	8,12	9,48	,63	3,51	,75	52,01	28,13
	Test Values	F:4,826 p:0,010 a>b/a>c		F:1,915 p:0,153		F:0,664 p:0,517		F:0,872 p:0,422	
Seizure Frequency	Seizure in the last 3 months^a (58)	17,2	8,69	9,38	,65	3,50	,74	56,71	32,16
	Seizure in 4-12 months^b (11)	16,62	7,49	9,72	,36	3,53	,90	47,28	19,90
	Seizure-free for more than 1 year^c (27)	15,58	7,01	9,68	,47	3,36	,72	46,37	24,14
	Test Değerleri	F:0,365 p:0,695		F:3,202 p:0,045 b>a		F:0,381 p:0,684		F:1,390 p:0,254	
ASD	EİASD (7)	15,61	6,81	9,57	,31	3,50	,53	61,71	46,52
	Non-EİASD (41)	17,16	7,70	9,56	,77	3,42	,82	44,70	16,15
	Dual ASDs (EİASD+Non-EİASD) (14)	16,98	12,15	9,56	,42	3,44	,73	66,35	39,55
	Dual ASD (Both Non-EİASD) (16)	16,77	6,27	9,40	,42	3,46	,50	54,80	17,64
	3 or more ASDs (18)	15,68	7,64	9,42	,47	3,58	,89	55,05	39,11
	Test Values	F:0,135 p:0,969		F:0,336 p:0,853		F:0,135 p:0,969		F:1,825 p:0,131	
Sun Exposure	<1 hour per week (83)	14,54	5,41	9,49	,61	3,47	,73	53,69	30,05
	1 hour or mor eper week (13)	30,35	9,02	9,63	,47	3,40	,88	46,53	21,90
	Test Values	F: -8,334 p:0,000		F:0,779 p:0,438		F:0,319 p:0,751		F:0,823 p:0,413	

t:Independent Simple t Test F: One way ANOVA p:Significant Value SD: Standard deviation ASD: Anti-seizure drug, EİASD: Enzyme inducing anti-seizure drug, Non-EİASD: Non- enzyme inducing anti-seizure drug,

DISCUSSION

Although 25(OH)D deficiency varies according to geographical regions, it is below 20% in Northern Europe, while it reaches 60% in other parts of Europe and even up to 80% in Middle Eastern countries¹³. In Turkey, it has been

stated that there is vitamin D deficiency up to 74.9%.

This study revealed that 25(OH) D deficiency (78.1%) was more common in epileptic patients using ASD than in previous studies^{7,14}. This may be due to geographical and ethnic differences or clothing style.

The most important finding of our study is that many epilepsy patients treated with ASDs are deficient in vitamin D, even if good seizure control is achieved. Although vitamin D deficiency was more common in patients with EIASDs and polytherapy, it was also found to be very common in epilepsy patients who received non-EIASDs. As the type and severity of epilepsy increased, vitamin D deficiency was observed to be higher. Patients with less than one hour of sun exposure per week had lower vitamin D levels, indicating the well-known role of UV radiation on vitamin D synthesis. Considering that the risk of fracture may increase due to seizures and decreased coordination caused by the underlying brain disease or ASDs, close monitoring of vitamin D levels and appropriate replacement are especially important in epilepsy patients.

Many studies support that vitamin D deficiency is more common in older EIASD use¹⁵⁻²⁰. Most studies support that non-enzyme-inducing drugs do not alter vitamin D metabolism^{21,22}. The results for valproic acid are controversial^{23,24}.

It has previously been reported that chronic ASD use is an independent factor for lowering plasma vitamin D levels, regardless of the type of ASDs²⁵. In our study, it was noted that vitamin D deficiency was also high in epilepsy patients using non-enzyme-inducing ASDs. This may be due to the nature of epilepsy itself, as well as to the use of ASDs, or to the different mechanisms underlying the undesirable effects of ASDs on bone health, and to chronic use of ASDs. For this reason, we recommend close monitoring of vitamin D levels of epilepsy patients, regardless of the treatment they receive.

According to the Turkish Endocrine and Metabolism Society, the minimum daily vitamin D level required for bone and muscle health in adults aged 19-70 is 600 IU, and 1500-2000 IU to keep it at 30 ng/ml²⁶. In a study conducted in Denmark, it was observed that 64% of patients

could not reach adequate vitamin D levels despite 15 months of vitamin D supplementation up to 1200 IU/day²⁷. In a Portuguese epilepsy cohort, A 79.3 percent of 25(OH) vitamin D deficiency was detected, and it was stated that with 8 weeks of 6670 IU/day cholecalciferol treatment, 98.9% of the patients achieved an adequate increase in their 25(OH) vitamin D levels¹⁴. This indicates that appropriate replacement doses should be reconsidered, especially in epilepsy patients. Therefore, future studies should research the effective vitamin D level in epilepsy patients and the dose of adequate vitamin D replacement. Although there are many studies pointing to the neurogenesis and neuroprotective role of vitamin D, our knowledge about the effect of vitamin D deficiency on cellular and neural tissues is limited. It seems that a good investigation of the process that causes the neural tissue to turn into epileptiform flow and whether this pathological process can be corrected after vitamin D replacement will be the subject of future research.

Relatively small sample size, lack of follow-up and treatment doses are the limitations of our study.

CONCLUSION

25(OH)D levels should be closely monitored in patients with epilepsy who use ASD for a long time it should be aimed to provide effective seizure control and a positive effect on bone metabolism with appropriate replacement therapy.

Author Contributions: Concept – P.B.B Design - P.B.B ; Supervision – P.B.B; Resources – P.B.B; Materials – P.B.B Data Collection and/or Processing – P.B.B; Analysis and/or Interpretation – P.B.B; Literature Search – P.B.B; Writing Manuscript – P.B.B Critical Review – P.B.B; Other – P.B.B

Ethics Committee Approval: Health Sciences University Adana Medical Faculty City Hospital Clinical

Research Ethics Committee approved the study. (No:115/2227 and 2022-11-03).

Conflict of Interest: The authors declared no conflicts of interest.

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

REFERENCES

1. Bertoldo F, Cianferotti L, Di Monaco M, et al. Definition, Assessment, and Management of Vitamin D Inadequacy: Suggestions, Recommendations, and Warnings from the Italian Society for Osteoporosis, Mineral Metabolism and Bone Diseases (SIOMMMS). *Nutrients*. 2022; 14(19): 4148. doi:10.3390/nu14194148
2. Zelzer S, Meinitzer A, Herrmann M, Goessler W, Enko D. A Novel Method for the Determination of Vitamin D Metabolites Assessed at the Blood-Cerebrospinal Fluid Barrier. *Biomolecules*. 2021; 11(9): 1288. doi:10.3390/biom11091288
3. Tuckey RC, Cheng CYS, Slominski AT. The serum vitamin D metabolome: What we know and what is still to discover. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2019; 186: 4-21. doi:10.1016/j.jsbmb.2018.09.003
4. Vanherwegen AS, Gysemans C, Mathieu C. Regulation of Immune Function by Vitamin D and Its Use in Diseases of Immunity. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2017; 46(4): 1061-94. doi:10.1016/j.ecl.2017.07.010
5. Gil Á, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab*. 2018; 72(2): 87-95. doi:10.1159/000486536
6. Holló A, Clemens Z, Kamondi A, Lakatos P, Szűcs A. Correction of vitamin D deficiency improves seizure control in epilepsy: a pilot study. *Epilepsy Behav*. 2012; 24(1): 131-3. doi:10.1016/j.yebeh.2012.03.011
7. Teagarden DL, Meador KJ, Loring DW. Low vitamin D levels are common in patients with epilepsy. *Epilepsy research*. 2014; 108(8): 1352-6.
8. McNamara NA, Romanowski EMF, Olson DP, Shellhaas RA. Bone Health and Endocrine Comorbidities in Pediatric Epilepsy. *Semin Pediatr Neurol*. 2017; 24(4): 301-9. doi:10.1016/j.spn.2017.10.005
9. AK Türkyılmaz, EE Kurt, G Devrimsel. The effect of serum vitamin D level and bone mineral density on balance and the risk of falling in postmenopausal women. *Diclemedj*. 2013; 40(3): 391-5. doi:10.5798/diclemedj.0921.2013.03.0295
10. Feng Y, Cheng G, Wang H, Chen B. The associations between serum 25-hydroxyvitamin D level and the risk of total fracture and hip fracture. *Osteoporos Int*. 2017; 28(5): 1641-52. doi:10.1007/s00198-017-3955-x
11. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014; 55(4): 475-82. doi:10.1111/epi.12550
12. Tabachnick BG, Fidell LS. *Experimental Designs Using ANOVA*. Vol 724. Thomson/Brooks/Cole Belmont, CA; 2007.
13. Lips P, Cashman KD, Lamberg-Allardt C, et al. Current vitamin D status in European and Middle East countries and strategies to prevent vitamin D deficiency: a position statement of the European Calcified Tissue Society. *Eur J Endocrinol*. 2019; 180(4): P23-P54. doi:10.1530/EJE-18-0736
14. Cunha IA, Saraiva AM, Lopes P, et al. Vitamin D deficiency in a Portuguese epilepsy cohort: who is at risk and how to treat. *Epileptic Disord*. 2021; 23(2): 291-8. doi:10.1684/epd.2021.1268
15. Siniscalchi A, Murphy S, Cione E, Piro L, Sarro GD, Gallelli L. Antiepileptic Drugs and Bone Health: Current Concepts. *Psychopharmacol Bull*. 2020; 50(2): 36-44. Accessed November 19, 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7255839/>
16. Suljic EM, Mehicevic A, Mahmutbegovic N. Effect of Long-term Carbamazepine Therapy on Bone Health. *Med Arch*. 2018; 72(4): 262-6. doi:10.5455/medarh.2018.72.262-6,
17. Sreedharan M, Devadathan K, Mohammed Kunju PA, et al. Vitamin D Deficiency in Ambulant Children on Carbamazepine or Sodium Valproate Monotherapy. *Indian Pediatr*. 2018; 55(4): 307-10.
18. Menninga N, Koukounas Y, Margolis A, Breslow R, Gidal B. Effects of enzyme-inducing antiseizure medication on vitamin D dosing in adult veterans

with epilepsy. *Epilepsy Res.* 2020; 161: 106287. doi:10.1016/j.eplepsyres.2020.106287

19. Aksoy D, Güveli BT, Ak PD, et al. Effects of Oxcarbazepine and Levetiracetam on Calcium, Ionized Calcium, and 25-OH Vitamin-D3 Levels in Patients with Epilepsy. *Clin Psychopharmacol Neurosci.* 2016; 14(1): 74-8. doi:10.9758/cpn.2016.14.1.74

20. Wang W, Gao Y, Zheng W, Li M, Zheng X. Phenobarbital inhibits osteoclast differentiation and function through NF- κ B and MAPKs signaling pathway. *Int Immunopharmacol.* 2019; 69: 118-25. doi:10.1016/j.intimp.2019.01.033

21. Koo DL, Joo EY, Kim D, Hong SB. Effects of levetiracetam as a monotherapy on bone mineral density and biochemical markers of bone metabolism in patients with epilepsy. *Epilepsy Res.* 2013; 104(1-2): 134-9. doi:10.1016/j.eplepsyres.2012.09.002

22. Artemiadis AK, Lambrinouadaki I, Voskou P, et al. Preliminary evidence for gender effects of levetiracetam monotherapy duration on bone health of patients with epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2016; 55: 84-6. doi:10.1016/j.yebeh.2015.12.025

23. Albaghdadi O, Alhalabi MS, Alourfi Z, Youssef LA. Bone health and vitamin D status in young epilepsy patients on valproate monotherapy. *Clin Neurol Neurosurg.* 2016; 146: 52-6. doi:10.1016/j.clineuro.2016.04.019

24. Rahimdel A, Dehghan A, Moghadam MA, Ardekani AM. Relationship between Bone Density and Biochemical Markers of Bone among Two Groups Taking Carbamazepine and Sodium Valproate for Epilepsy in Comparison with Healthy Individuals in Yazd. *Electron Physician.* 2016; 8(11): 3257-65. doi:10.19082/3257

25. Yildiz EP, Poyrazoglu Ş, Bektas G, Kardelen AD, Aydinli N. Potential risk factors for vitamin D levels in medium- and long-term use of antiepileptic drugs in childhood. *Acta Neurol Belg.* 2017; 117(2): 447-53. doi:10.1007/s13760-017-0775-x

26. Osteoproz ve metabolik kemik hastalıkları tanı ve tedavi klavuzu. *tjem.* Published online 2016. doi:10.4274/tjem.omkhttk

27. Snoeijs-Schouwenaars FM, van Deursen KC, Tan IY, Verschuure P, Majoie MH. Vitamin D supplementation in children with epilepsy and intellectual disability. *Pediatr Neurol.* 2015; 52(2): 160-4. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2014.10.001



Six months follow up of hemodialysis patients after SARS-CoV-2 vaccinations: Effects of the booster dose and vaccine type

Ahmet Murt ¹, Mehmet Riza Altıparmak ¹, Harika Oyku Dinc ², Serkan Feyyaz Yalin ³, Meral Mese ³, Serap Yadigar ³, Zeynep Yıldız ⁴, Bekir Kocazeybek ⁵, Meltem Pekpak ¹, Muveddet Rezzan Ataman ¹

¹ Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Medical Faculty, Department of Internal Medicine, Division of Nephrology, Istanbul, Turkey

² Bezmialem University, Department of Pharmaceutical Microbiology, Istanbul, Turkey

³ Dr Lutfi Kırdar City Hospital, Department of Internal Medicine, Division of Nephrology, Istanbul, Turkey

⁴ Dr Lutfi Kırdar City Hospital, Department of Biochemistry, Istanbul, Turkey

⁵ Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Medical Faculty, Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Istanbul, Turkey

Received: 09.03.2023; Revised: 08.05.2023; Accepted: 10.05.2023

Abstract

Background: As hemodialysis patients are among the vulnerable groups for severe COVID-19, proper vaccination of these patients is quite important. However vaccine responsiveness is generally reduced in hemodialysis patients and strategies should be developed to maintain protection in the long term.

Objectives: This study aimed to analyse the changes in antibody levels of SARS-CoV-2 vaccinated hemodialysis patients after six months and to compare the effectiveness of inactivated and mRNA vaccines.

Methods: Eighty-five hemodialysis patients were followed up for six months after their initial vaccinations for SARS-CoV-2. Persistence of humoral responses were compared between patients who got inactivated or mRNA vaccines and also between patients who received a booster dose and those who didn't. SARS-CoV-2 antibody titers were measured by a commercial test that measures IgG antibodies toward the receptor-binding domain of spike protein.

Results: Seropositivity that was achieved by initial vaccination dropped abruptly by 6 months. Patients who received a booster dose had significantly higher antibody levels than those who didn't (1120,8 ± 983,3 AU/mL vs 313,3 ± 435,3 AU/mL respectively; p<0,001) and higher seropositivity as well (88% vs 65%). Seropositivity with mRNA vaccine at the end of 6th month was 81,8% while this decreased to 50% for inactivated vaccine. Patients who received mRNA vaccine initially or as the third dose could maintain 88,4% of seropositivity and this was higher than other patients who have just got inactivated vaccine (p=0,013).

Conclusion: Humoral immune response by SARS-CoV-2 vaccines is not very stable in hemodialysis patients and planning the booster doses should not be delayed. mRNA vaccines have better immunogenicity than inactivated vaccines.

Keywords: SARS-CoV-2, immunization, vaccines, hemodialysis, protection

DOI: 10.5798/dicletip.1313206

Correspondence / Yazışma Adresi: Ahmet Murt, Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Medical Faculty, Department of Internal Medicine, Division of Nephrology, Istanbul, Turkey e-mail: ahmet.murt@istanbul.edu.tr

Hemodiyaliz Hastalarının SARS-CoV-2 aşılama larının ardından 6 aylık takibi: Rapel doz ve aşı türünün etkileri

Öz

Giriş: Hemodiyaliz hastaları COVID-19'u ağır geçirmeye yatkın olduklarından, bu hastaların uygun şekilde aşılama ları büyük önem taşımaktadır. Ne var ki, hemodiyaliz hastalarında genel olarak aşı yanıtları zayıftır ve uzun süreli koruma için stratejiler geliştirilmelidir.

Amaç: Bu çalışmada SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı aşılama lan hemodiyaliz hastalarındaki antikor düzeyi değişimlerinin altı aylık bir süredeki değişimlerinin analiz edilmesi ve inaktif aşı ile mRNA aşılama larının etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: İlk doz SARS-CoV-2 aşılama ları takiben, 85 hemodiyaliz hastası altı ay boyunca takip edilmiştir. Hümorale immün yanıtın ne kadar kalıcı olduğu inaktif veya mRNA aşısı yapılan hastalar arasında ve ayrıca rapel doz yapılan ve yapılmayan hastalar arasında karşılaştırılmıştır. SARS-CoV-2 antikor seviyeleri, virüsün spike glikoproteininin reseptör-bağlayan kısmına karşı gelişen IgG antikorlarını ölçen bir ticari kitle ölçümüştür.

Bulgular: İlk doz aşılama larla elden edilen seropozitifliğin 6 ay içinde ciddi bir şekilde düştüğü görülmüştür. Altıncı ayın sonunda, rapel doz yapılmış olanların yapılmamış olanlara göre hem antikor titrelerinin (sırasıyla $1120,8 \pm 983,3$ AU/mL vs $313,3 \pm 435,3$ AU/mL; $p < 0,001$) hem de seropozitiflik oranlarının (%88 vs %65) anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır. mRNA aşısı olanlar için altıncı ayın sonunda %81,8 olan seropozitiflik, inaktif aşı olanlar için %50'ye kadar düşmektedir. İlk aşılama sırasında veya üçüncü doz olarak mRNA aşısı yapılanlarda %88,4'lük seropozitiflik muhafaza edilebilmiş olup, bu oran sadece inaktif aşı olanlara göre anlamlı olarak daha yüksektir. ($p=0,013$)

Sonuç: SARS-CoV-2 aşılama larıyla elde edilen hümorale immün yanıt hemodiyaliz hastalarında kalıcı değildir ve rapel dozların planlanması geciktirilmemelidir. mRNA aşılama larının immünojenitesi inaktif aşılama larından daha yüksektir.

Anahtar kelimeler: SARS-CoV-2, bağışıklama, aşılama, hemodiyaliz.

INTRODUCTION

With their weakened immunity, hemodialysis patients are among the vulnerable groups for infectious diseases¹. It's already known that COVID-19 has bad prognosis in hemodialysis patients^{2,3}. That's why vaccination is great importance to halt the negative effects of the pandemic on this group. However, vaccine responsiveness is generally reduced in hemodialysis patients due to the loss of function in the cells of immune system⁴. Newly developed vaccines against SARS-CoV-2 were found to activate immune response to some extent in hemodialysis patients^{5,6}. Different vaccines have been used in different settings and previous experiences showed that mRNA vaccines generated more antibodies than inactivated vaccines⁷.

While initial immunologic response of hemodialysis patients to the vaccines matters, long-term protective effects of the vaccines

should also be evaluated in order to integrate booster-dosing strategies in the follow up of these patients.

In this study we aimed to evaluate the persistence of antibody response to SARS-CoV-2 vaccines in hemodialysis patients. We have analyzed the effect of third doses of the vaccines on the antibody levels. In literature, longitudinal antibody analyses were previously conducted mainly for mRNA vaccines and comparison between inactivated and mRNA vaccines are lacking. With this study, we also tried to make inferences about the protective properties of different vaccines.

METHODS

Setting

Hemodialysis patients from two tertiary healthcare centers were followed up after they initially received SARS-CoV-2 vaccines. Patients

received either inactivated vaccine (CoronaVac®) or mRNA vaccine (BNT162b2) in accordance with national immunization protocols. All patients underwent hemodialysis three times weekly.

Clinical Follow up

Demographic data (age, sex), chronic kidney disease (CKD) related clinical data (etiology, duration of dialysis, dialysis adequacy, serum albumin, C-Reactive protein, parathormone and ferritin levels, complete blood count, mean arterial pressure) were evaluated. Symptom inquiries were made on monthly basis and real time polymerase chain reaction (PCR) tests were performed at each monthly visit to control any active SARS-CoV-2 infection in the follow-up.

Exclusion Criteria

Patients who had documented COVID-19, who had malignancies, and those who received immune-suppressive treatment in the previous 12 months were excluded from the study. Additionally, patients who have missed at least one of their regular monthly visits and those who have reported any upper or lower respiratory tract infections were also excluded.

The Vaccines

Patients were initially immunized either with CoronaVac®, an inactivated SARS-CoV-2 vaccine which was developed by Sinovac Life Sciences (Beijing, China) or BNT162b2, a nucleoside-modified RNA (mRNA) vaccine developed by BioNTech/Pfizer (Mainz, Germany). For initial immunization, CoronaVac® was administered intramuscularly 3 µg of two doses 28 days apart and BNT162b2 was administered intramuscularly 30-µg of two doses 28 days apart. In the follow up, patients could get an additional dose, three months after initial vaccination, with either of the vaccines (3 µg of CoronaVac or 30 µg of BNT162b2). Vaccine types and receiving the additional doses were dependent on the patients' choices.

Control group

The control group was composed of 61 healthy controls. They initially received CoronaVac® without any booster doses in the follow up. None had any documented SARS-CoV-2 infection before the initial vaccination.

Antibody Measurement

Antibody responses in the sera of vaccinated patients or controls were analyzed after the initial vaccinations and at the end of 6th month post vaccination. Initial antibody responses were controlled on 21st - 28th day following vaccinations and 6th month controls were done between 170th – 190th days. The analysis was carried out by Abbott SARS-CoV-2 IgG II Quant (Chicago, USA) which is a chemiluminescent microparticle immunoassay that measures IgG antibodies towards the spike receptor binding domain (RBD) of SARS-CoV-2. Quantitative IgG level determination was performed on Abbott ARCHITECT i1000 (Chicago, USA) equipment. All sera were diluted by 1:2 (75µL serum + 75µL diluent) and studied in full-automated mode. 50 AU (arbitrary unit) /mL was accepted as the cut-off value for positivity according to manufacturer's instructions.

Statistical Analysis

Continuous parametric data were presented as average ± standard deviation and t-test was used for comparisons. Categorical data were presented as percentages and compared by Fisher's exact or chi-square test. Correlations of continuous parameters were computed by Pearson's test. SPSS Statistics software version 22.0 (Chicago, IL) was used to carry out statistical analysis and $p < 0,05$ (two sided) was accepted as the statistical significance.

Ethics approval

The study was approved both by the institutional review board of Cerrahpasa Medical Faculty (approval nr: 09/04/2021 – A06) and by the COVID-19 research supervision

committee of Ministry of Health (approval nr: 2021-03-08T10_50_25). All patients gave informed consent to be a part of the study.

RESULTS

We recruited 85 hemodialysis patients after they received first two doses of CoronaVac® or BNT162b2. During six months follow-up, four patients died one of which was because of COVID-19. Three patients died of cardiovascular etiologies. Ten additional patients experienced COVID-19 infection.

Among 11 patients (12,9%) who experienced COVID-19 in the follow-up period, one patient died and she was seronegative after initial vaccination. Two of these patients were hospitalized while remaining eight could be managed as outpatients. Initial mean antibody titer generated by the vaccine in these patients was $100,9 \pm 106,3$ AU/mL and they were $61,3 \pm 19,2$ years old. 54,5% of them were seronegative after initial vaccinations.

Nineteen patients reported symptoms of upper or lower respiratory tract infection without confirmed COVID-19. Nine patients missed at least one of their regular monthly controls and two patients were diagnosed with a new malignancy in the follow-up period. SARS-CoV-2 IgG levels were measured at the end of 6th month for the remaining 41 patients. Among their chronic kidney disease (CKD) etiologies, 15 had diabetes, 10 had hypertension, 9 had glomerulonephritis, 2 had cystic kidney disease, 1 had Fabry disease and 1 had amyloidosis. CKD etiology was unknown for the remaining three patients.

Eighteen patients received a booster dose after $97,7 \pm 5,0$ days following the initial immunization period. 23 patients chose not to receive a booster dose. While patients with the additional dose could maintain the

seropositivity rate of 88%, this fell to 65% for patients without a booster dose. Antibody titers at 6th month were significantly higher for patients with a booster dose than patients without a booster ($1120,8 \pm 983,3$ AU/mL vs $313,3 \pm 435,3$ AU/mL respectively; $p < 0,001$). Clinical comparison of patients with and without a booster dose can be found in table-I.

Table I: Clinical data, antibody levels and seropositivity of patients with and without a booster dose

	Patients with a booster dose (n=18)	No booster dose (n=23)	p
Age	56,6 ± 16,4	63,8 ± 12,8	0,10
Male Sex (n, (%))	12 (66,6)	15 (65,2)	1,00
Dialysis Vintage (months)	40,6 ± 60,0	24,5 ± 22,8	0,24
Mean Arterial Pressure (mmHg)	100,0 ± 9,8	102,9 ± 10,2	0,36
Kt/V (Urea)	1,58 ± 0,36	1,70 ± 0,33	0,27
Albumin (g/dL)	4,0 ± 0,4	3,9 ± 0,3	0,72
CRP (mg/L)	11,3 ± 9,9	9,1 ± 10,4	0,51
Leukocytes (*10 ³ /μL)	6,5 ± 1,9	6,9 ± 2,3	0,54
Lymphocytes (/μL)	1577 ± 661	1856 ± 810	0,24
Hemoglobin (g/dL)	10,5 ± 1,0	10,7 ± 1,3	0,62
Parathormon (pg/mL)	533 ± 394	506 ± 462	0,84
Ferritin (ng/mL)	797 ± 357	784 ± 387	0,90
Initial antibody response (AU/mL)	541,1 ± 549,8	302,2 ± 324,1	0,09
Initial seropositivity rate (%)	88	82	0,60
6th month antibody titers (AU/mL)	1120,8 ± 983,3	313,3 ± 425,3	0,001
6th month seropositivity ratio (%)	88	65	0,07

Among patients who didn't get a booster dose, 12 patients received CoronaVac® and 11 patients got BNT162b2. Although antibody titers didn't differ at 6th month for both vaccines, seropositivity with CoronaVac decreased to 50% while it was 81,8% for BNT162b2 vaccinated patients (Table-II).

Table II: Sixth month comparison of patients who were initially immunized with different vaccines

	CoronaVac® (n=12)	BNT162b2 (n=11)	P
Age	64,0 ± 14,6	63,1 ± 11,1	0,87
Male Sex (n, (%))	6 (50)	9 (81,8)	0,12
Dialysis Vintage (months)	28,0 ± 27,2	20,7 ± 14,2	0,43
Kt/V (Urea)	1,66 ± 0,38	1,75 ± 0,28	0,54
Mean Arterial Pressure (mmHg)	105,9 ± 8,9	99,6 ± 11,0	0,14
Albumin (g/dL)	4,08 ± 0,38	3,87 ± 0,34	0,18
Leukocytes (*10 ³ /μL)	7,07 ± 2,67	6,83 ± 1,96	0,81
Lymphocytes (/μL)	1802 ± 926	1914 ± 702	0,74
Hemoglobin (g/dL)	10,8 ± 1,5	10,7 ± 1,1	0,92
Ferritin (ng/mL)	787,4 ± 488,3	780,6 ± 259,5	0,96
CRP (mg/L)	9,1 ± 10,7	9,2 ± 10,7	0,97
Parathormon (pg/mL)	584 ± 602	420 ± 239	0,40
SARS-CoV-2 IgG (AU/mL)	236,5 ± 397,2	397,0 ± 457,8	0,37
Seropositivity (%)	50	81,8	0,12

As initial seropositivity and persistence of the humoral response was higher with BNT162b2 vaccine, we have also compared the humoral response in patients who have received at least one dose of BNT162b2 (n=26) with those who have just got CoronaVac® (n=15). Antibody titers at 6th month were significantly higher for patients who received at least one dose of BNT162b2, when compared to others who only received CoronaVac® (921,7 ± 908,9 AU/mL vs 228,6 ± 356,9 AU/mL respectively; p=0,0075). Seropositivity could be maintained at a rate of 88,4% in patients who received BNT162b2, while it stayed around 53% for the other group (Table-III).

Table III: Comparison of patients who received at least one dose of BNT162b2 with those who has just got CoronaVac®

	At least one dose of BNT162b2 (n=26)	Pure CoronaVac® (n=15)	p
Age	59,3 ± 13,7	62,7 ± 14,2	0,49
Male Sex (n, (%))	19 (73,1)	8 (53,3)	0,19
Dialysis vintage (months)	23,7 ± 14,7	45,2 ± 67,8	0,12
Kt/V (Urea)	1,67 ± 0,33	1,61 ± 0,31	0,63
Albumin (g/dL)	3,93 ± 0,42	4,11 ± 0,36	0,17
Leukocytes (*10 ³ /μL)	6,75 ± 1,94	6,80 ± 2,50	0,94
Lymphocytes (/μL)	1759 ± 686	1689 ± 880	0,77
Hemoglobin (g/dL)	10,6 ± 0,9	10,8 ± 1,5	0,59
Ferritin (ng/mL)	775 ± 293	816 ± 485	0,73
CRP (mg/L)	10,7 ± 8,2	9,9 ± 8,9	0,77
Parathormon (pg/mL)	463,8 ± 331,6	613,2 ± 561,3	0,28
Initial antibody response (AU/mL)	505,0 ± 511,2	237 ± 240	0,07
Initial seropositivity (%)	92,3	73,3	0,16
6th month antibody titer (AU/mL)	921,7 ± 908,9	228,6 ± 356,9	0,0075
6th month seropositivity (%)	88,4	53,3	0,013

Initial antibody responses were inversely correlated with patients' age (r=-0,41, p=0,006). 6th month antibody levels were correlated with initial antibody responses (r=0,31, p=0,045). Although 6th month antibody levels were also inversely correlated with age, it didn't reach statistical significance.

Antibody titers at the end of 6th month for healthy controls (n=61, 31 males, 30 females, age: 56,5 ± 5,5) who were initially immunized by CoronaVac® were 188 ± 171 AU/mL.

Healthy subjects could maintain 88% of seropositivity without a booster dose, which was significantly higher than hemodialysis patients ($p=0,002$).

DISCUSSION

SARS-CoV-2 vaccines were previously shown to generate antibodies in hemodialysis patients⁸. While literature generally focuses on mRNA vaccines, inactivated vaccine has also been shown to generate seropositivity, albeit at a lower rate than mRNA vaccines⁷.

The persistence of antibodies or protection capacities of the vaccines in the long term are not very well known yet. A report that included healthy population who were vaccinated with BNT162b2 found decreasing levels of median antibody levels towards the end of 6th month, when compared to the peak levels⁹. However, same report also found that around 80% of seropositivity could be maintained even with lower antibody levels.

Another report found that, spike antibodies decreased both for BNT162b2 and ChAdOx1 (Oxford-AstraZeneca) vaccines when 70 days pass from the 2nd dose¹⁰. Similarly, Collier et al. found that neutralizing capacity of BNT162b2 vaccine declined sharply by the 6th month¹¹.

In another study, the trend of decreasing humoral response over six months was found more profound in subjects with co-morbidities like kidney or liver diseases¹². Increasing age was also a factor that further decreased antibody levels in that study.

B cell subpopulations, including the memory B cells are diminished in hemodialysis patients and this leads to poor humoral response¹³. Among study subjects who received CoronaVac® without any booster doses, healthy controls had significantly higher seropositivity (88%) than hemodialysis patients (50%) at 6th month. BNT162b2 seems to generate more stable humoral immune

response in hemodialysis patients with 81,8% of seropositivity at the end of 6th month. Similarly, a 20% loss of seropositivity was reported for BNT162b2 vaccinated hemodialysis patients four months after initial two-dose vaccination regimen¹⁴. We couldn't attribute the difference to age, dialysis adequacy, inflammation, hemoglobin or lymphocyte levels, as all were similar for groups that were compared. Antibodies reaching the seropositivity threshold might provide protection from COVID-19. Eleven of our patients experienced symptomatic COVID-19 in the follow up period and 54,5% of them was seronegative after initial vaccination. It's not exactly known if there's a correlation between antibody titers and the strength of protection. However, we have found that initial antibody responses were correlated with antibody titers after 6 months. Initial antibody responses were also inversely correlated with age.

Application of booster doses is also among the areas of SARS-CoV-2 vaccine research. We have found that hemodialysis patients who received a booster dose could maintain 88% of seropositivity at the end of 6th month, while this fell to 65% in patients without the booster. Antibody levels were also significantly higher in patients who received the third dose. Such difference points out to the importance of the booster dose to maintain the protection from SARS-CoV-2. A recent report highlighted that the third BNT162b2 dose generated higher antibodies in patients older than 60 years¹⁵. Similarly, a third BNT162b2 dose that was applied one month after the second dose was shown to generate higher antibody levels for hemodialysis patients¹⁶. While exact timing of the third dose is another area for further research, our patients received the booster dose on $97,7 \pm 5,0$ th day in average.

Current SARS-CoV-2 vaccination literature revolves around mRNA vaccines, with BNT162b2 being the most widely studied.

However, as pandemic evolves with new variants, different vaccines might be used in different resource settings. A considerable proportion of our patients chose inactivated vaccine and we had the opportunity to compare two vaccines in our patients. Results of our study suggest that BNT162b2 vaccine might have better protection in hemodialysis patients and that planning the booster dose with BNT162b2 can be a reasonable strategy for patients who didn't receive it initially.

This study has some limitations. Firstly we haven't isolated B cell subpopulations but checked the SARS-CoV-2 IgG levels as a marker of humoral immunity. Additionally, we haven't studied cellular immune response in our patients, which might have provided further information about immunogenicity of the vaccines. Antibody levels were checked twice in this study. Longitudinal analysis of antibody levels at each control might have helped us identify the kinetics of antibodies in hemodialysis patients. Also, the antibody titers are given with arbitrary units (AU). This is because of the lack of international standardization for SARS-CoV-2 antibody units that may be measured by different devices and kits. To overcome this limitation we have used the same device and kits in all phases of our study. Lastly, we didn't have a control group who were vaccinated with BNT162b2. This was mainly because earlier approval of inactivated vaccine in our country and it was the only option for healthy people when our study was designed.

In conclusion, vaccine induced humoral immunity is not very stable in hemodialysis patients and booster doses should be scheduled timely. When compared to inactivated vaccine, BNT162b2 seems to provide better protection in hemodialysis patients.

Data Availability: The dataset of this study is available from the corresponding author upon a reasonable request.

Ethics Committee Approval: The study was approved both by the institutional review board of Cerrahpasa Medical Faculty (approval nr: 09/04/2021 – A06) and by the COVID-19 research supervision committee of Ministry of Health (approval nr: 2021-03-08T10_50_25). All patients gave informed consent to be a part of the study.

Conflict of Interest: The authors declared no conflicts of interest.

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

REFERENCES

1. Wakasugi M, Kawamura K, Yamamoto S, Kazama JJ, Narita I. High Mortality Rate of Infectious Diseases in Dialysis Patients: A Comparison With the General Population in Japan. *Ther Apher Dial.* 2012; 16(3): 226-31.
2. Valeri AM, Robbins-Juarez SY, Stevens JS, et al. Presentation and outcomes of patients with ESKD and COVID-19. *J Am Soc Nephrol.* 2020;31(7):1409–15.
3. Yilmaz Z, Yilmaz S. COVID-19 in Hemodialysis Patients. *Dicle Med J.* 2021; 48: 140-144
4. Litjens NHR, Huisman M, van den Dorpel M, Betjes MGH. Impaired Immune Responses and Antigen-Specific Memory CD4+ T Cells in Hemodialysis Patients. *J Am Soc Nephrol.* Aug 2008; 19 (8): 1483-90.
5. Hasmann S, Paal M, Füleßl L, Fischereder M, Schönermarck U. Humoral immunity to SARS-CoV-2 vaccination in haemodialysis patients. *The Lancet Reg Health Eur.* 2021 Nov; 10: 100237.
6. Strengert M, Becker M, Ramos GM, et al. Cellular and humoral immunogenicity of a SARS-CoV-2 mRNA vaccine in patients on haemodialysis. *EBioMedicine.* 2021; 70: 103524. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103524
7. Murt A, Altiparmak MR, Yadigar S, et al. Antibody responses to the SARS-CoV-2 vaccines in hemodialysis patients: Is inactivated vaccine effective? *Ther Apher Dial.* 2021; 1-6. Doi: 10.1111/1744-9987.13752
8. Bachelet T, Bourdenx JP, Martinez C, et al. Humoral response after SARS-CoV-2 mRNA vaccines

- in dialysis patients: Integrating anti-SARS-CoV-2 Spike-Protein-RBD antibody monitoring to manage dialysis centers in pandemic times. *PLoS One*. 2021; 16(10): e0257646. Doi: 10.1371/journal.pone.0257646.
9. Campo F, Venuti A, Pimpinelli F, et al. Antibody Persistence 6 months post-vaccination with BNT162b2 among Health Care Workers. *Vaccines (Basel)*. 2021 Oct 3; 9 (10): 1125. Doi: 10.3390/vaccines9101125.
10. Shrotri M, Navaratnam AMD, Nguyen V, et al. Spike-antibody waning after second dose of BNT162b2 or ChAdOx1. *Lancet*. 2021 Jul 31; 398: 385-387. Doi: 10.1016/S0140-6736(21)01642-1.
11. Collier AY, Yu J, McMahan K, et al. Differential Kinetics of Immune Responses Elicited by COVID-19 Vaccines. *N Eng J Med*. 2021 Nov 18; 385 (21):2010-2.
12. Levin EG, Lustig Y, Cohen C, et al. Waning Immune Humoral Response to BNT162b2 COVID-19 Vaccine over 6 Months. *N Eng J Med*. 2021 Dec 9; 385 (24): e84.
13. Pahl MV, Gollapudi S, Sepassi L, et al. Effect of end-stage renal disease on B-lymphocyte subpopulations, IL-7, BAFF and BAFF receptor expression. *Nephrol Dial Transplant*. 2010 Jan; 25(1): 205-12.
14. Weigert A, Bergman M-L, Gonçalves LA, et al. Longitudinal Analysis of Antibody Responses to the mRNA BNT162b2 Vaccine in Patients Undergoing Maintenance Hemodialysis: A 6-Month Follow-Up. *Front. Med (Lausanne)*. 2021 Dec 24; 8:796676. DOI: 10.3389/fmed.2021.796676
15. Eliakim-Raz N, Leibovici-Weisman Y, Stemmer A, et al. Antibody Titers Before and After a Third Dose of the SARS-CoV-2 BNT162b2 Vaccine in Adults Aged ≥ 60 years. *JAMA*. 2021 Dec 7;326(21):2203-4
16. Dekervel M, Henry N, Torreggiani M, et al. Humoral response to a third injection of BNT162b2 vaccine in patients on maintenance haemodialysis. *Clin Kidney J*. 2021 Aug 13; 14(11): 2349-55.



A Study on The Presence of Legionella pneumophila in Hospital Water Samples from Eastern Turkey

Elif Aydın¹, Yalçın Dicle², Duygu Kübra Tuna³

1 Kütahya Health Sciences University, Tavsanlı Health Services Vocational School, Kütahya, Turkey

2 Mardin Artuklu University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Mardin, Turkey

3 Edremit State Hospital, Microbiology Laboratory, Balıkesir, Turkey

Received: 26.12.2022; Revised: 25.05.2023; Accepted: 25.05.2023

Abstract

Objective: Legionnaires' disease is a fatal form of pneumonia brought on by an infection mostly caused by the 60 different species of Legionella pneumophila. Legionnaires' illness is caused by Legionella spp.-contaminated water systems. In this work, we sought to analyze Legionella species, serogroups (SG), and contamination in the water sources of hospitals in five regions in eastern Turkey.

Methods: Between January 2017 and December 2018, a total of 1008 samples were examined, including 2 cooling towers, 62 hot water tanks, 104 cold water tanks, and 840 faucet shower heads. Samples were collected by the standard culture method L. pneumophila SG 1, it was analyzed for L. pneumophila SG 2-16 and Legionella spp. The samples were inoculated into BCYE and GVPC medium, and the colonies were assessed using a latex agglutination test, followed by species- and serotype-level identifications.

Results: In our study, a total of 1008 water samples were examined, of which 35.31% (356) belonged to 2017, while 64.68% (652) belonged to 2018. 83.33% of the water samples were taken from faucets and shower heads, 10.32% from the cold water tank, 6.15% from the hot water tank, and 0.2% from the cooling tower, and the highest positivity rate was observed in the hot water tank with 12.60%. 7.04% (71) of the samples were positive, and 16.9% (12) of the positive samples were L. pneumophila SG 1, 77.46% (55) L. pneumophila SG 2-14 was detected, while 5.63% (4) were nonpneumophila (Legionella spp) it has been determined as.

Conclusions: Legionella disease remains a significant public health threat. The water tanks of hospitals and hotels should be investigated more thoroughly, the necessary disinfection procedures should be carried out frequently. All hospitals should have water management policies, and towns and large buildings should establish comprehensive water system management programs that decrease Legionella growth and transmission. To enhance prevention measures and clinical diagnosis, we also need quicker ways of detecting Legionella in water systems and clinical samples.

Keywords: Legionella pneumophila, water samples, hospital, BCYE, GVPC

DOI: 10.5798/dicletip.1313238

Correspondence / Yazışma Adresi: Yalcin Dicle, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Mardin Artuklu University, 47100, Mardin, Turkey, e-mail: yalcindicle@hotmail.com

Türkiye'nin Doğusundaki Hastanelerden Alınan Su Örneklerinde Legionella pneumophila Varlığı

Öz

Amaç: Lejyoner hastalığı, 60 türü tanımlanan, ağırlıklı olarak Legionella pneumophila' ya bağlı enfeksiyonun neden olduğu ölümcül bir pnömonidir. Legionella spp. ile kirlenmiş su sistemleri lejyoner hastalığının sorumlu kaynaklarıdır. Bu çalışmada Türkiye'nin doğusunda bulunan beş ilin hastanelerinin su kaynaklarında, Legionella kontaminasyonunu, Legionella türlerini ve sero gruplarını (SG) retrospektif olarak değerlendirmeyi amaçladık.

Yöntemler: Ocak 2017 ile Aralık 2018 arasında, 2 soğutma kulesi, 62 sıcak su tankı, 104 soğuk su deposu, 840 musluk duş başlığı örneği olmak üzere toplam 1008 örnek incelenmiştir. Örnekler, standart kültür yöntemi ile L. pneumophila SG 1, L. pneumophila SG 2-16 ve Legionella spp açısından analiz edilmiştir. Örnekler BCYE ve GVPC besiyerlerine inoküle edilmiş ve koloniler lateks aglütinasyon testi kullanılarak değerlendirilmiş, ardından tür ve serotip düzeyinde tanımlamalar yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmamızda, toplam 1008 su örneği incelenmiş olup, bunların %35.31'i (356) 2017 yılına ait iken, %64.68'i (652) 2018 yılına aittir. Su örneklerinin %83.33 musluk ve duş başlıklarından, %10.32'si soğuk su deposundan, %6.15'i sıcak su tankından ve %0.2' si ise soğutma kulesinden alınmış olup en fazla pozitiflik oranı %12.60 ile sıcak su tankında görülmüştür. Örneklerin %7.04'ü (71) pozitif olup, pozitif örneklerin %16.9'u (12) L. pneumophila SG 1, %77.46 'sı (55) L. pneumophila SG 2-14 olarak tespit edilirken, % 5.63'ü (4) nonpneumophila (Legionella spp.) olarak tespit edilmiştir.

Sonuçlar: Legionella hastalığı, önemli bir halk sağlığı tehdidi olmaya devam etmektedir. Hastanelerin ve otellerin su depoları daha kapsamlı araştırılmalı, gerekli dezenfeksiyon işlemleri sık sık yapılmalıdır. Bu enfeksiyonları önlemek için, belediyelerin ve büyük binaların personeli, Legionella büyümesini ve bulaşmasını azaltan etkili su sistemi yönetimi programları uygulamalı ve tüm hastanelerin su yönetimi politikaları olmalıdır. Ayrıca, önleme stratejilerini ve klinik teşhisi geliştirmek için su sistemlerinde ve klinik örneklerde Legionella'yı tespit etmek için daha hızlı yöntemlere ihtiyacımız var.

Anahtar kelimeler: Legionella pneumophila, su örnekleri, hastane, BCYE, GVPC.

INTRODUCTION

Legionnaires' disease (LD), first appeared in the United States in 1976 and was described in 1977, it is a disease with an L. pneumophila effect that can range from a mild lower respiratory tract infection to a coma, more often with pneumoniae¹. Legionella bacteria, LD, Pontiac fever, and extrapulmonary syndrome are the causative agents. Pontiac fever is a community-acquired, travel-related, and nosocomial-related opportunistic pathogen that leads to a febrile picture with flu-like symptoms, LD lung, and extrapulmonary syndrome leading to serious clinical pictures involving extrapulmonary organs². It is noted that ~70% of LD cases are of community origin, ~20% are travel-related, and ~10% are nosocomial³. Studies conducted show that 74-91% of patients are 50 years of age or older, and men are 1.4 to 4.3 times more common than women⁴.

The prevalence of Legionnaires' disease is rising on a global scale. From 4921 in 2011 to 11.343 in 2018, the number of reported cases in Europe

grew by 300%, and from 2301 in 2005 to 7104 in 2018 in the USA^{5,6}. Globally, the death rate for legionnaires' disease ranges from 2.2 to 10.3%, with Singapore reporting the lowest incidence and European nations reporting the highest rate⁴. Hospital epidemics have a mortality rate that can reach 48%⁷.

There are 60 species and 80 distinct serotypes of Legionella⁸. WHO estimates that only 5-10% of illnesses are brought on by other Legionella species (L. bozemanii, L. dumoffii, L. micdadei, and L. longbeachae), whereas 20-30% are brought on by other L. pneumophila serogroups. The majority of clinical cases of LD are caused by L. pneumophila (L. pneumophila 1), a member of serogroup 1 (SG)⁹. L. pneumophila accounts for around ~90% of LD cases. Legionella species may persist for a long period in aquatic environments and grow in the presence of free-living protozoa and biocides, such as chlorine¹⁰. More and more reports of Legionella contamination in cooling towers, spas, foot spas, and drinking water

systems of lodgings, nursing homes, and healthcare institutions are being made¹¹. By inhaling or aspirating polluted aerosols or water, transmission can happen. Aerosols are solid or liquid particles suspended in air and can contain particles of any size¹². The biofilm layers in the water and the amoeba and the cilia protozoa serve as both a food source and a shelter in adverse conditions and are survival surfaces for *Legionella*¹³. Studies show that 20 amoeba and two ciliated protozoa are hosts for *Legionella*. Although the number of studies related to water samples is limited in Turkey, colonization was detected in hotels by 10-76.2%, hospitals by 7-27.2%, houses by 21.3%, cooling towers by 26%, and hot spring thermal waters by 11%¹⁴.

Legionnaires' disease surveillance is carried out to prevent cases and outbreaks at specified intervals in hospital-acquired Legionnaires' disease and to investigate the source in case of reported cases. Within the scope of the "Control Program" of the Ministry of Health, General Directorate of Public Health, Department of Infectious Diseases, *Legionella* research, prevention of the disease in all accommodation units, especially hotels, and hospitals, and the measures to be taken when necessary are carried out within the legal framework. The procedures and principles regarding the measures to be taken to be prepared against Legionnaires' disease, to prevent and combat the disease, and the procedures and principles regarding the notification of the disease are implemented and in this context, the regulation published on "Legionnaires' Disease Control Procedures and Principles" is complied with. "Legionnaires' Disease Control Program Guide" has been developed to ensure standardization of the work to be carried out within the scope of the regulation. In the light of the regulations made with this guide; it is aimed to ensure that Legionnaires' Disease is diagnosed within the framework of certain standards, to obtain accurate notifications, to organize the work to be carried out in accommodation units within the

scope of environmental surveillance, and to reveal the extent of the disease in Turkey. In addition, *Legionella* samples are usually taken every 3 months by the Environmental Health Unit of Public Health or Community Health Centers and analyzed by the relevant Public Health Laboratory¹.

In this study, we aimed to retrospectively evaluate the *Legionella* contamination in the water systems of hospitals belonging to 5 eastern cities of our country, related *Legionella* species, and serogroups.

METHODS

Between January 2017 and December 2018, a total of 1008 water samples taken from various water systems of hospitals located in the provinces of Van, Bitlis, Muş, Iğdır, and Hakkâri were examined for *Legionella* (Table I). In our study, samples were taken from a total of 35 hospitals, 13 from Van, 6 from Hakkâri, 7 from Bitlis, 7 from Muş, and 2 from Iğdır.

Table I: Culture and serogrouping results of samples collected from water systems

Sample type	Samples n (%)	<i>Legionella</i> reproduce n (%)	Lateks aglütinasyon serogrup results	n
Faucet	840 (83.33)	62 (7.38)	<i>L. pneumophila</i> SG 1	9
Shower Head			<i>L. pneumophila</i> SG 2-16	49
			<i>Legionella</i> spp.	4
Cold Water Tank	104 (10.32)	1 (0.98)	<i>L. pneumophila</i> SG 1	1
Hot Water Tank	62 (6.15)	8 (12.60)	<i>L. pneumophila</i> SG 1	2
			<i>L. pneumophila</i> SG 2-16	6
Cooling Tower	2 (0.2)	0		0
Total	1008	71		71(7.04%)

Water samples (100 ml) were taken in sterile, sealed, and twist-capped bottles. Buffered Charcoal Extract Agar (BCYE) and Glycine Vancomycin Polymyxin Cycloheximide (GVPC) media were used for *Legionella* isolation¹⁵.

Taking into account the characteristics of the sampling point, water was sown “directly” and/or “after acid treatment” and/or “after filtering and acid treatment” on the culture plates. Water samples taken from the tank, fountain, faucet, and shower heads were divided into two growth media, using a drigalski spatula to spread one with 0.1 ml BCYE and the other one with 0,1 ml GVPC. 50 ml of water was taken from the same sample and passed through a 0.2 µm membrane filter. The resulting filter was placed in 5 ml of sterile water and vortexed for 30 sec. After adding 2 ml of the 5 ml solution in which the filter was located to the 2 ml HCl-KCl (pH 2.2) acid solution prepared in advance, 3 minutes have waited and 0.1 ml BCYE and GVPC media were taken and cultivation was performed by spreading with a drigalski spatula. Two to six plaque media were used for each water sample (Figure 1).

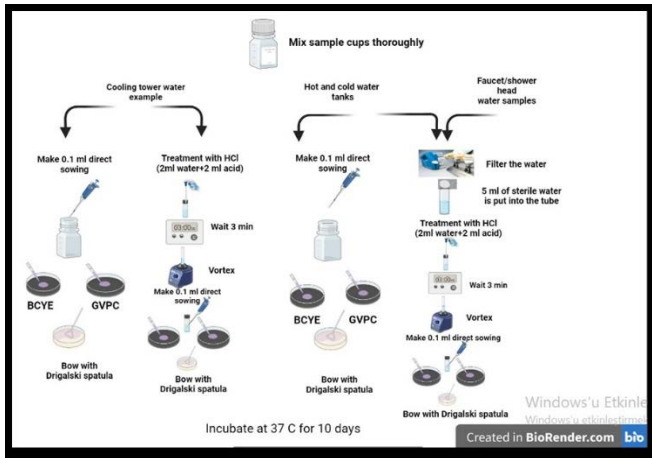


Figure 1: Flow chart for the preparation of samples taken from different sampling points for culture in the laboratory and their cultivation in primary culture media.

The media that were spread were placed in an incubator with a temperature of 36-37 °C and humidity of at least 85% and left for incubation. First of all, starting on day 3, assessments were started and followed by days 5, 7, and 10. Colonies that are considered suspicious were assessed after the 3rd day, the colony was evaluated using a microscope and UV light; when examined with the naked eye, its surfaces

are smooth, slightly dished, gray-white, 1-3 mm in diameter; under a microscope, colonies with pink, purple, green or frosted glass edges are evaluated as the target colony (HSGM 2014). A single colony passage was made from suspected Legionella colonies to the BCYE and blood agar medium (Figure 2).

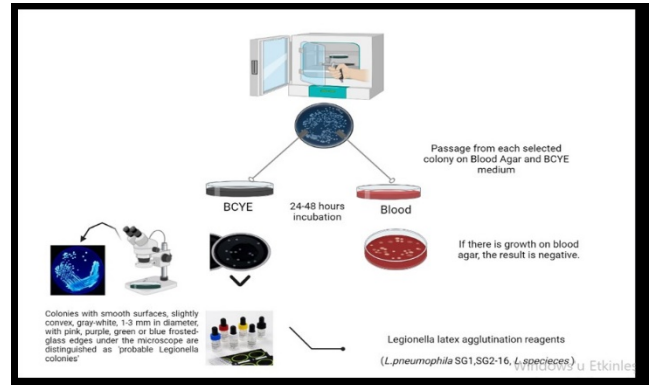


Figure 2: Parallel passage method and subsequent identification steps from suspicious colonies determined by colony microscope in primary culture of water sample to blood agar and BCYE agar plates.

The passages left for incubation were evaluated a day later, but if there was no reproduction, they were incubated for another day. Colonies that did reproduce in BCYE media and did not reproduce in blood agar were evaluated as suspected Legionella. Colonies that were considered to be Legionella were typed by performing a latex agglutination test (Migrogen M45, UK) for serological examination.

This study was approved by the local institutional ethical board (University Kafkas-Interventional Clinical Research Ethics Committee; File Number: 2018/11).

RESULTS

Between January 2017- December 2018, a total of 1008 water samples belonging to various water systems of hospitals located in the eastern provinces of Turkey were bacteriologically and serologically investigated for Legionella bacteria in our study. Of these, 35.31% (356) belong to the year 2017, while 64.68% (652) belong to the year 2018. When

the seasonal distribution of the samples was examined, 25.49% (257) of them were taken in autumn, 5.65% (57) in winter, 25.59% (258) in spring, and 46.23% (466) in summer. The positivity rate in the autumn, winter, spring, and summer seasons are: 29.57 % (21), 7.04 % (5), 33.8% (24), 29.57% (21), and the greatest positivity was observed in the spring months (Graphic 1).



Graphic 1. The distribution rate of Legionella samples according to seasons.

As a result of the study, the results of the latex agglutination test and serogroup (SG) from Legionella colonies are shown in Table II. 7.04% (71) of the samples were positive and 16.9% (12) of the positive samples were *L. pneumophila* SG 1, 77.46% (55) of them were *L. pneumophila* SG 2-14, while 5.63% (4) were nonpneumophila.

Table II: Serogrouping results of samples collected from water systems according to cities and years

City	Year	Negative n (%)	Positive n (%)	Latex agglutination serogrup results	n
Van	2017	232	8	<i>L. pneumophila</i> SG 1	4
				<i>L. pneumophila</i> SG 2-16	2
	2018	292	15	<i>L. pneumophila</i> SG 1	8
				<i>L. pneumophila</i> SG 2-16	7
					0
Bitlis	2017	31	16	<i>L. pneumophila</i> SG 1	0
				<i>L. pneumophila</i> SG 2-16	15
	2018	167	23	<i>L. pneumophila</i> SG 1	1
				<i>L. pneumophila</i> SG 2-16	22
					1
Muş	2017	67	2	<i>L. pneumophila</i> SG 1	0
				<i>L. pneumophila</i> SG 2-16	2
	2018	74	4	<i>L. pneumophila</i> SG 1	0
				<i>L. pneumophila</i> SG 2-16	4
					0
Hakkâri	2017	0	0	<i>L. pneumophila</i> SG 1	0
				<i>L. pneumophila</i> SG 2-16	0
	2018	33	0	<i>L. pneumophila</i> SG 1	0
				<i>L. pneumophila</i> SG 2-16	0
					0
İğdır	2017	0	0	<i>L. pneumophila</i> SG 1	0
				<i>L. pneumophila</i> SG 2-16	0
	2018	41	3	<i>L. pneumophila</i> SG 1	0
				<i>L. pneumophila</i> SG 2-16	3
					0
Total		937	71		71 (%)

DISCUSSION

Bacteria of the genus *Legionella*, which maintain their viability by colonizing water systems at different temperatures, cause Legionnaires' disease outbreaks, but also reduce the quality of life and cause economic losses. In addition, these bacteria are not affected much by adverse conditions, as they can live as intracellular parasites in unicellular creatures that can be found in waters with biofilm layers formed in water sources. The presence of bacteria in public living spaces such as hospitals poses a risk of infection, especially in patients with immune system problems. In addition, it can maintain its vitality for two hours in cooling systems such as air conditioning, it can easily multiply in water pipes and spread to the environment.

Although water-borne diseases are significantly reduced by water management and sanitation, outbreaks continue to occur. The US Centers for Disease Control and Prevention (CDC) blamed *Legionella* for 66% of the outbreaks and 6% of the diseases that occurred between 2011 and 2012. It has been determined that 66% of *Legionella* outbreak was caused by building plumbing and 13% was caused by untreated groundwater¹⁵.

When the studies conducted in our country were examined; In their study on 43 samples belonging to Aktaş's environmental and hospital water systems, they isolated 69.76% of *Legionella*. Of these, 26.66% were isolated from shower heads, 30% from faucets, and 43.33% from samples they took from warehouses. In addition, there are 8 *Legionella* spp from the warehouses they have isolated. They isolated bacteria from samples taken from the largest number of warehouses¹⁶. In Ayhan's thesis study conducted on 215 samples, they detected *Legionella* in 13.74% of them, reported that 26.43% were from warehouses and 16.85% were from faucet shower heads¹⁷. In a different investigation with 2.025 samples, 3.2% of the water samples from hospitals (94.8%), hotels (1.6%), Turkish baths (0.2%), and shopping malls (0.2%) had *Legionella*. Of the 65 samples that tested positive, *L. pneumophila*

serogroup 2-14 was discovered in 46 (70.8%) of them¹⁸. Mouchtori and co isolated *Legionella* in 20.8% (Mouchtouri et al. 2007) of 385 hot and cold water samples belonging to hotels in Greece, Borella and co isolated *Legionella* in 22.6% of shower heads and tap water in Italy, Zietz and co isolated *Legionella* in 26% of hot water samples in Germany^{19,20}. In our study, 1008 water samples were examined and *Legionella* was isolated from 7.04% of them. 83.33% of the samples were taken from faucets and shower heads, 10.32% from the cold water tank, 6.15% from the hot water tank, and 0.2% from the cooling tower, and the highest positivity rate was observed in the hot water tank with 12.60%. This situation has shown similarities with the literature and has been interpreted as an advantage for the colonization of these organisms by warm and stagnant waters.

Of the 8 *Legionella* isolates obtained from a water sample of 150 units made in our country, 6 were found to have *L. pneumophila* SG 2-15, and 2 of them have *Legionella* spp.²¹. Again, in another study conducted in schools, hospitals, and hotels, they detected *Legionella* in 29.71% of 313 samples, 79.56% of them were *L. pneumophila* SG 2-14, and 20.43% were *L. pneumophila* SG 1²². In another study, *Legionella* has detected in 13.74% of the samples taken, and 61.11% were *L. pneumophila* SG 2-15, *Legionella* spp in 27.77%, and *L. pneumophila* SG 1 at 11.11%²³. When the studies conducted are examined worldwide; Laganà and co, detected *Legionella* in 64% of 92 water samples, 36% of which were *L. pneumophila* SG 1, 51%, *L. pneumophila* SG 2-14, and 13% detected both serogroups²⁴. According to Goutziana and co a total of 96 *Legionella* isolates were detected in the study of 90.6% and 44.8% of *L. pneumophila* SG 1 account for 44.8% of it was noted *L. pneumophila* SG 2-14 and the remaining 9.4% were also detected as *Legionella* spp.²⁵. In our study, 7.04% of the samples were positive and 16.9% of the positive samples were *L. pneumophila* SG 1, 77.46% of *L. pneumophila* SG 2-14, 5.63% *Legionella* spp. it has been determined that the most we have detected *L.*

pneumophila SG 2-14 and our results are consistent with the literature.

When a literature review was conducted, there was no similar study in which a study was conducted by month. In our study, the highest positivity rate was observed in the spring months (33.8%) and then in the summer and autumn at the same rate. We attribute this to the fact that the spring seasons are a transitional period and it is the period when the heaters do not burn, so they start to heat up with air conditioners. In the summer season, we think that it is due to the fact that it is preferred to cool down with the air conditioning in the extreme temperatures.

CONCLUSIONS

Legionnaires' disease is considered a preventable infection, especially hospital-acquired LD, due to its potential to cause an epidemic, and is a disease of public health importance and is monitored under the control program. Legionella infections are not well known in our country and are not considered by clinicians in the first place. To be examined for Legionella, especially in cases of nosocomial pneumonia, it should be passed to the system as a routine test in the microbiology laboratories of all hospitals. In Legionella analyses performed by Health Directorates at specific intervals with water samples taken from hospitals, routine use of urinary antigen test should be mandatory in nosocomial pneumonias encountered in the hospital in case of pneumophila SG 1 reproduction.

To prevent the disease, it is also recommended that hospitals conduct risk assessments, implement routine preventive measures, conduct a program with active case surveillance, and periodically clean and decontaminate these areas at frequent intervals.

Legionella culture analysis results from a minimum of 5 and maximum of 12 days, which would cause it to fail in managing an outbreak of the epidemic that results in more comprehensive epidemiological research in laboratories for PCR, DFA, PCR, and FISH and especially that we believe should be done routinely supported by molecular

techniques. In the studies, seasonal differentiation of samples, evaluation of the sampled waters in terms of temperature, pH, and chlorine value; it is proposed to evaluate the sampled structures and the water system in terms of parameters such as the year of use, material, and the way the water is heated.

Ethics Committee Approval: This study was approved by the local institutional ethics committee (Van Training and Research Hospital Clinical Research Ethics Committee; File no: 2018/11).

Conflict of Interest: The authors declared no conflicts of interest.

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

REFERENCES

1. General Directorate of Public Health (HSGM), Republic of Turkey Ministry of Health. Legionnaires' Disease Control Program Guide, 2018. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Bulasici-hastaliklar-db/hastaliklar/Lejyoner/Lejyoner_Hastalik_Rehber_i/Lejyoner_Hastaligi_Kontrol_Programi_Rehberi_24_072018.pdf (Access date: 2022.08.18).
2. Cunha BA, Burillo A, Bouza E. Legionnaires' disease. *Lancet* 2016; 387(10016): 376–85.
3. Robert F, Don W, Dan C, et al. Legionnaires' disease outbreaks and cooling towers, New York City, New York, USA, *Emerging Infect Dis* 2017; 23: 1769.
4. Phin N, Parry-Ford F, Harrison T, et al. Epidemiology and clinical management of Legionnaires' disease. *Lancet Infect Dis* 2014; 14: 1011-21.
5. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Legionnaires' Disease Surveillance Network, Surveillance Atlas of Infectious Diseases, 2018. <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx> (Access date: 2022.08.18).
6. Smith P, Moore M, Alexander N, Hicks L, O'loughlin R. Surveillance for travel-associated Legionnaires disease-United States, 2005–2006. *Morb Mortal Wkly Rep* 2007; 56: 1261–3.

7. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), National Notifiable Diseases Surveillance System. 2018 Annual Tables of Infectious Disease Data, Atlanta, GA, CDC Division of Health Informatics and Surveillance, 2019. <https://www.cdc.gov/nndss/data-statistics/infectious-tables/index.html> (Access date: 2022.08.18).
8. Mercante JW, Winchell JM, et al. Current and emerging Legionella diagnostics for laboratory and outbreak investigations. *Clin Microbiol Rev* 2015; 28: 95–133.
9. Kozak-Muiznieks NA, Lucas CE, Brown E, et al. Prevalence of sequence types among clinical and environmental isolates of Legionella pneumophila serogroup 1 in the United States from 1982 to 2012. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 201–11.
10. Qin T, Zhou H, Ren H, et al. Distribution of sequence-based types of Legionella pneumophila serogroup 1 strains isolated from cooling towers, hot springs, and potable water systems in China. *Appl Environ Microbiol* 2014; 80: 2150–7.
11. Prussin II, Aaron J, Schwake DO, Marr LC, Linsey C. Ten questions concerning the aerosolization and transmission of Legionella in the built environment. *Build Environ* 2017; 123: 684–95.
12. Mcburnett LR, Holt NT, Alum A, Abbaszadegan M. Legionella- A threat to groundwater: Pathogen transport in recharge basin. *Sci Total Environ* 2018; 621: 1485-90.
13. Erdoğan H. Legionnaires' disease. *Mediterr J Infect Microbes Antimicrob* 2018; 7: 2.
14. Karlyn DB, Julia WG, Virginia AR, et al. Surveillance for waterborne disease outbreaks associated with drinking water- United States, 2011-2012. *Morb Mortal Wkly Rep* 2015; 64: 842-8.
15. General Directorate of Public Health (HSGM), Republic of Turkey Ministry of Health. Identification of Legionella Species in Water. National Microbiology Standards, 2014. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/SudaLegionellaTanimlanmasi.pdf (Access date: 2022.08.18).
16. Aktaş A. Likes of Legionella pneumophila and macrolide activities in environmental water samples, Master's thesis, İstanbul, İstanbul University -Cerrahpaşa, 2019.
17. Ayhan U. Investigation of Legionella in water systems of Trabzon province buildings, Master's thesis, Giresun and Rize, Giresun University and Recep Tayyip Erdoğan University Health Sciences Institute, 2020.
18. Yilmaz A, Orhan F. Investigation of the presence of Legionella pneumophila in water samples from Erzurum and surrounding provinces in Turkey. *Ann Agric Environ Med* 2021; 28: 255-9.
19. Mouchtouri V, Velonakis E, Tsakalof A, et al. Risk Factors for Contamination of Hotel Water Distribution Systems by Legionella Species. *Appl Environ Microbiol* 2007; 3: 1489-92.
20. Borella P, Montagna M, Stampi S, Stancanelli G, Spira V, Triassi M. Legionella contamination in hot water of Italian hotels. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71: 5805-11.
21. Zietz B, Wiese J, Brengelmann F, Dunkelberg H. Presence of Legionellaceae in warm water supplies and typing of strains by polymerase chain reaction. *Epidemiol Infect* 2001; 126: 147-52.
22. Bayraktar ÖS. Isolation of Legionella spp. from natural environment waters in Kütahya and determination of some properties, Master's thesis, Kütahya, Dumlupınar University, 2017.
23. Mutaf S. Investigation of the presence of Legionella pneumophila in various cooling systems and water systems in Gaziantep city center, Master's thesis, Gaziantep, Gaziantep University, 2013.
24. Laganà P, Gambuzza ME, Delia S. Legionella risk assessment in cruise ships and ferries. *Ann Agric Environ Med* 2017; 24:276-82.
25. Goutziana G, Mouchtouri VA, Karanika M, et al. Legionella species colonization of water distribution systems, pools and air conditioning systems in cruise ships and ferries, *BMC public health* 2008; 8:1-7.



Reliability and Validity of Use of A Smartphone Application For The Measurement of Gissane and Bohler's Angles in Calcaneal Fractures

Onur Gürsan ¹, Ertuğrul Şahin ²

¹ Dokuz Eylül University, Department of Orthopedics and Traumatology, İzmir, Turkey

² Kafkas University, Department of Orthopedics and Traumatology, Kars, Turkey

Received: 12.11.2022; Revised: 12.05.2023; Accepted: 15.05.2023

Abstract

Objective: Calcaneus is the most often fractured bone of all the tarsal bones in the human skeleton. Initial evaluation of a suspected calcaneal fracture is often assessed with Böhler's and Gissane's angles. The aim of this study was to compare the reliability and consistency of measurements of Gissane and Böhler's angles by using a smartphone application (iPinPoint) and a computer-based program

Methods: A total of 41 patients were included. The measurement of fracture angulation was done by two orthopaedic surgeons twice one month apart using iPinPoint and Sectra. The inter- and intraobserver reliability was measured using intraclass correlation coefficients (ICCs). The intraobserver variabilities between the SECTRA and iPinPoint measurements for each participant were evaluated. Interobserver variability was also determined by comparing the results of Böhler's and Gissane angles among the surgeons

Results: The mean difference between the two techniques were 0.9° and 0.4° for Gissane and Böhler's angles, respectively. The intraobserver reliability of Gissane and Bohler's angles between smartphone and computer for each observer was very good (ICC=0.938 vs. 0.943, ICC= 0.970 vs 0.979, respectively). Interobserver reliability between two observers for SECTRA and iPinPoint results were very good (ICC=0.955, ICC=0.905 respectively).

Conclusion: iPinPoint application can be used for the measurement of Gissane and Bohler's angles safely. In addition, there are very good results that support it as a reliable and reproducible tool for SECTRA measurements.

Keywords: Calcaneus, fracture, measurement, smartphone, Interobserver reliability, Interobserver reliability

DOI: 10.5798/dicletip.1313245

Correspondence / Yazışma Adresi: Onur Gürsan, Dokuz Eylül University, Department of Orthopedics and Traumatology, İzmir e-mail: onur_84_gursan@hotmail.com

Kalkaneus Kırıklarında Gissane ve Böhler Açılarının Ölçümünde Mobil Telefon Uygulaması Kullanımının Güvenirliği ve Geçerliliği

Öz

Amaç: Kalkaneus, tüm tarsal kemikler arasında en sık kırılan kemiktir. Şüpheli kalkaneus kırığının ilk değerlendirmesi genellikle Böhler ve Gissane açıları ile değerlendirilir. Bu çalışmanın amacı, bir akıllı telefon uygulaması (iPinPoint) ve bilgisayar tabanlı bir program kullanarak Gissane ve Bohler açılarının ölçümlerinin güvenilirliğini ve tutarlılığını karşılaştırmaktır.

Yöntemler: Çalışmaya toplam 41 hasta dahil edildi. Kırık açılarının ölçümü iki ortopedi cerrahı tarafından bir ay arayla iki kez iPinPoint ve Sectra kullanılarak yapıldı. Gözlemciler arası ve gözlemciler içi güvenilirlik, sınıf içi korelasyon katsayıları (ICC'ler) kullanılarak ölçüldü. Her katılımcı için SECTRA ve iPinPoint ölçümleri arasındaki gözlemci içi değişkenlikler değerlendirildi. Cerrahlar arasında Bohler ve Gissane açılarının sonuçları karşılaştırılarak gözlemciler arası değişkenlik de belirlendi.

Bulgular: İki teknik arasındaki ortalama fark, Gissane ve Bohler açıları için sırasıyla 0.9° ve 0.4° idi. Gissane ve Bohler açılarının akıllı telefon ve bilgisayar sistemlerinde ölçülen değerleri her gözlemci için değerlendirildiğinde gözlemci içi güvenilirliği çok iyiydi (sırasıyla ICC=0.938'e karşı 0.943, ICC= 0.970'e karşı 0.979). SECTRA ve iPinPoint sonuçları için iki gözlemci arasındaki gözlemciler arası güvenilirlik çok iyiydi (sırasıyla ICC=0.955, ICC=0.905).

Sonuç: Gissane ve Bohler açılarının güvenli bir şekilde ölçülmesi için iPinPoint uygulaması kullanılabilir. Ayrıca bu ölçümlerin SECTRA ölçümleri kadar güvenilir ve tekrarlanabilir araçlar olduğunu destekleyen çok iyi sonuçlar elde edildi.

Anahtar kelimeler: Kalkaneus, kırık, ölçüm, akıllı telefon, Gözlemciler arası güvenilirlik, Gözlemciler arası güvenilirlik.

INTRODUCTION

The calcaneus takes the first place in fractures of tarsal bones in the human skeleton, accounting for 60 to 75 percent of all tarsal fractures¹. Though, fractures of the calcaneus are a relatively rare issue, with an informed incidence that changes from 11.5 to 13.7 per 100,000 persons per year²⁻⁴. Calcaneus fractures are well-known for their high potential for osteoarthritis and long-term disability that influence the daily lives of the affected individual negatively. Furthermore, the sequelae of the injury may create a substantial economic burden on the patient and the healthcare system⁵⁻⁷.

With the suspect of calcaneus fracture, evaluation usually starts with conventional radiographic imaging. In conventional radiographic images, Bohler's and Gissane angles are frequently measured. The decrease of Bohler's angle represents the collapse of the posterior facet. Normal values of the angle are between 20 and 40 degrees. There are two main

lines in the formation of this angle. The first line starts from the tip posterior facet and ends in the superior surface of the anterior facet. The second line starts from the tip of the posterior calcaneal tuberosity and ends at the posterior facet. Negative values of angle in a displaced and articular surface involvement of calcaneal fracture is associated with an unfavorable outcome⁵. The increase of the Gissane angle also gives information of posterior facet collapse. The angle is measured by the lines along the superior surfaces of the anterior process and the posterior facet of the calcaneal bone to meet at the calcaneal sulcus. Normally, it is between 120 and 145 degrees^{8,9}.

The presentation of smartphones provides the integration of new mobile technologies into daily life and the clinical applications. Smartphones are portable and practical, thus can quickly help physicians in the diagnosis and treatment of diseases. In a study, it was reported that 53% of orthopedic surgeons use

smartphones in their clinical practice¹⁰. iPinPoint (version imartSolutions, Greece) is a mobile application that enables the user to perform quick calculations with the aid of the camera. The user would take a picture (or use one from the album), and calculate distances or angles by simply tapping on the screen to pinpoint the angle or object of interest.

Currently, with the support of technological progress, radiological assessment of the fracture angulation is dealt with digital instruments. Despite this, it is still difficult to have these digital instruments in some cases and physicians would need other useful choices. In these conditions, mobile phone applications may exhibit as a practical alternative instrument in the assessment of angulation of fracture instead of computer-based solutions or conventional methods. However, for widespread usage of these applications, their accuracy and reliability must be proven. For this reason, it is necessary to compare the results with the usual methods.

The reliability of smartphone applications has previously been evaluated for Cobb angle analysis in scoliosis and kyphosis, pediatric forearm fractures angulation, and first-ray angular deformity assessments¹¹⁻¹⁵. On the other hand, no paper has investigated the assessment of Gissane and Bohler's angles in calcaneal fractures by using a smartphone application. The main goal of this manuscript was to exhibit the comparison of the reliability and consistency of measurements of Gissane and Böhler angles by using a smartphone application (iPinPoint) and a computer-based measurement program (SECTRA, version 20.2.10.3376, Sweden).

METHODS

Radiographic Evaluation

Digital scenes of foot lateral roentgenography of 103 patients with calcaneal fractures, consulted to our emergency department between 2018 –

2020 were retrospectively analyzed. Nondisplacement fractures and unclear images and patients with a previous surgery or history of fracture at the same place were excluded. A total of 41 patients were included in this study. The evaluation of fracture line angles was made by two orthopaedic surgeons twice one month apart using iPinPoint and Sectra (Figure 1 and Figure 2). The fracture angulation values which were measured on digital radiographs on the computer were accepted as reference to analyse and compare with smartphone measurements. The distinction between the measurement on the computer and iPinPoint, for each round were noted. Smartphone evaluations were performed using an Apple iPhone model XR (Apple Inc. Cupertino, CA, USA). The iPinPoint application was downloaded in full version from the Apple iTunes store. The average of two rounds was calculated and used as a main value. The intraobserver variabilities between the SECTRA and iPinPoint measurements for each participant were evaluated. Interobserver variability was also determined by comparing the results of Bohler's and Gissene's angles among the surgeons.



Figure 1. Measurement of Gissane angle in lateral radiographs by (A) iPinPoint and (B) SECTRA.

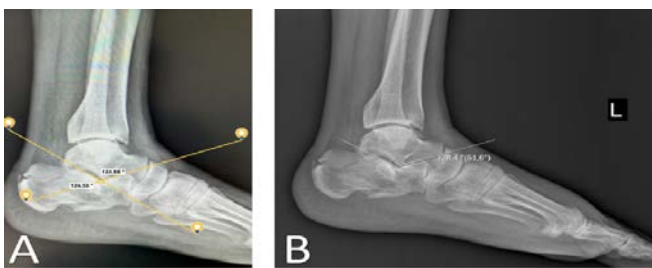


Figure 2. Measurement of Bohler's angle in lateral radiographs by (A) iPinPoint and (B) SECTRA.

Statistical Analysis

SPSS for Windows (version 23.0; IBM Corp, NY, USA) was the main program for statistical assessment. The distributions of the data were controlled with the Kolmogorov-Smirnov normality test. Continuous variables are presented as the mean ± standard deviation (SD) The inter and intraobserver reliability was determined using intraclass correlation coefficients (ICCs) for two participants. Values of 0–0.20 regarded poor reliability, 0.21–0.40 fair, 0.41–0.60 moderate, 0.61–0.80 good, 0.81–1.0 very good reliability¹⁶. A p-value of <0.05 was considered to be a statistically significant result.

Ethics Committee approval was obtained from the Dokuz Eylul University Non-Interventional Clinical Research Ethics Board with protocol number 2022/33-01 on October 19, 2022.

RESULTS

Patients were at 46,9 years old on average (17-69). Male sex was more than female (M 82.9%). The mean Gissane and Bohler’s angle assessments of the 2 observers for both instruments were shown in Table 1. The mean difference between the two techniques were 0.9° and 0.4° for Gissane and Bohler’s angles respectively.

Table I: Mean Gissane and Böhler’ angles in calcaneal fractures of All Observers for Each Technique

	SECTRA	iPinPoint
Observer 1		
Gissane	118.7 ± 9.2	119.7 ± 8.5
Bohler’s	20.8 ± 8.2	21.1 ± 8.2
Observer 2		
Gissane	119.6 ± 9.1	120.4 ± 9.1
Bohler’s	20.7 ± 8.1	21.1 ± 8.6

Table 2 demonstrated the intraobserver reliability of Gissane and Bohler’s angles between smartphone and computer for each observer was very good. Interobserver reliability between two observers for SECTRA

and iPinPoint results were very good and shown in Table 3 (ICC=0.955, ICC=0.905 respectively).

Table II: Intraobserver Values

	Gissane ICC (95% CI)	Bohler’s ICC (95% CI)
Observer 1	0.938 (0.884 – 0.967)	0.943 (0.894 – 0.970)
Observer 2	0.970 (0.944 – 0.984)	0.979 (0.960 – 0.989)

ICC: intraclass correlation coefficient, CI: confidence interval

Table III: Interobserver Values

	Gissane ICC (95% CI)	Bohler’s ICC (95% CI)
SECTRA	0.983 (0.968 – 0.991)	0.990 (0.982 – 0.995)
iPinPoint	0.978 (0.960 – 0.989)	0.959 (0.923 – 0.978)

ICC: intraclass correlation coefficient, CI: confidence interval

DISCUSSION

We did an intra- and interobserver reliability study using the iPhone application, iPinPoint, to analyse the usefulness of this tool in evaluating Gissane and Bohler’s angles in calcaneal fractures against the standard procedure using the SECTRA system. This study showed that the usefulness of the mobile phone tool in comparison with the standard technique on the computer for measuring Gissane and Bohler’s angles on calcaneal fractures was very good.

Mostly, computer-based assessment of digital radiographs through hospital-based instruments takes the place of manual measurement of Gissane and Bohler’s angles on conventional radiographs. Besides, mobile phones are used to consult about patients by sending the images in daily clinical practice, whereas consultant surgeons may not access computer-based systems at that time. In such circumstances, smartphones suggest a useful way to assess the fracture angles directly on the computer screen. In this study, we showed that while assessing the calcaneal fractures by mobile phones, using the PinPoint application was safe and had compatible results.

In this study, there is a fine distinction between iPinPoint and computer-based values which is compatible with the study conducted by Shaw et al. which has revealed just over 2° difference.

There are some previous reports on the reliability of smartphone applications in the assessment of scoliosis, kyphosis, first metatarsophalangeal issues, and pediatric forearm fractures by comparing them with other traditional techniques [1–6]. Shaw et al.¹¹ found that the goniometer and smartphone measurements of Cobb angles in scoliosis were equivalent to manual measurements with regard to reliability and compatibility. Jacquot et al.¹² measured kyphotic angles with the iPhone application and got good results that appeared to be a valid procedure. Ege et al.¹³ and Walter et al.¹⁴ compared smartphone and PACS evaluation of hallux valgus angles and reported that usage of smartphones is as compatible as computer systems. Ketenci et al.¹⁵ reported that the iPinPoint application may be a practical tool to exhibit digital PACS assessments while analyzing the fracture angulations of pediatric forearm fractures.

There were some limitations. Smartphone applications have an inclination to make measurement mistakes. For iPinPoint evaluation, to decrease the parallax errors, the smartphone screen should be kept parallel to the computer monitor while taking photos. The time consumption for both measurement techniques was not evaluated. However, as known, reaching and using mobile devices can be done very fast, and intrinsically we do not expect a slowdown in the measurement after the training period.

In conclusion, the iPinPoint application can be used for the measurement of Gissane and Bohler's angles safely. In addition, there are very good results that support it as a reliable and reproducible tool as SECTRA measurements. They may be useful when hard copy radiographs or digital images without

measuring tools need to be assessed. It will be unnecessary to carry extra devices for the measurements.

Ethics Committee Approval: Ethics Committee approval was obtained from the Dokuz Eylul University Non-Interventional Clinical Research Ethics Board with protocol number 2022/33-01 on October 19, 2022.

Conflict of Interest: The authors declared no conflicts of interest.

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

REFERENCES

1. Zwipp H, Rammelt S, Barthel S. Kalkaneusfraktur [Fracture of the calcaneus]. *Unfallchirurg*. 2005 Sep;108(9):737-47; quiz 748. German. doi: 10.1007/s00113-005-1000-6.
2. Brauer CA, Manns BJ, Ko M, et al. An economic evaluation of operative compared with nonoperative management of displaced intra-articular calcaneal fractures. *J Bone Jt Surg Am*. 2005;87(12):2741–9.
3. Court-Brown CM, Caesar B. Epidemiology of adult fractures: a review. *Injury*. 2006;37(8):691–7.
4. Mitchell MJ, McKinley JC, Robinson CM. The epidemiology of calcaneal fractures. *Foot (Edinb)*. 2009 Dec;19(4):197-200. doi: 10.1016/j.foot.2009.05.001. PMID: 20307476.
5. Buckley R, Tough S, McCormack R, et al. Operative compared with nonoperative treatment of displaced intra-articular calcaneal fractures: a prospective, randomized, controlled multicenter trial. *J Bone Jt Surg Am*. 2002;84-A (10):1733–44.
6. Van Tetering EA, Buckley RE. Functional outcome (SF-36) of patients with displaced calcaneal fractures compared to SF-36 normative data. *Foot Ankle Int*. 2004;25(10):733–8.
7. Westphal T, Piatek S, Halm JP, et al. Outcome of surgically treated intraarticular calcaneus fractures – SF-36 compared with AOFAS and MFS. *Acta Orthop Scand*. 2004;75(6):750–5.
8. Sengodan VC, Amruth KH, Karthikeyan. Bohler's and Gissane Angles in the Indian Population. *J Clin Imaging Sci*. 2012; 2:77. doi: 10.4103/2156-

- 7514.104310. Epub 2012 Dec 4. PMID: 23393633; PMCID: PMC3551522.
9. Shoukry FA, Aref YK, Sabry AAE. Evaluation of the normal calcaneal angles in Egyptian population. *Alexandria Journal of Medicine* 2012;48(2):91-97
10. Franko OI. Smartphone apps for orthopaedic surgeons. *Clin Orthop Relat Res.* 2011; 469:2042–2048.
11. Shaw M, Adam CJ, Izatt MT, et al. Use of the iPhone for Cobb angle measurement in scoliosis. *Eur Spine J* 2012; 21:1062–8.
12. Jacquot F, Charpentier A, Khelifi S, et al. Measuring the Cobb angle with the iPhone in kyphoses: a reliability study. *Int Orthop* 2012; 36:1655–60.
13. Ege T, Kose O, Koca K, et al. Use of the iPhone for radiographic evaluation of hallux valgus. *Skeletal Radiol* 2013; 42:269–73.
14. Walter R, Kosy JD, Cove R. Inter- and intra-observer reliability of a smartphone application for measuring hallux valgus angles. *Foot Ankle Surg* 2013; 19:18–21.
15. Ketenci IE, Yanık HS. Use of a Smartphone Application for Fracture Angulation Measurement. *The Medical Journal of Haydarpaşa Numune Training and Research Hospital.* 2019;59(1):50-3.
16. Shrout PE, Fleiss JL. Intraclass correlations: uses in assessing rater reliability. *Psychol Bull.* 1979 Mar;86(2):420-8. doi: 10.1037//0033-2909.86.2.420. PMID: 18839484.



Management of Cardiac Implantable Electronic Devices removal with cardiopulmonary bypass: A single center experience

Timucin Aksu ¹, Cigdem Tel Ustunisik ²

1 Department of Cardiovascular Surgery, Istanbul Mehmet Akif Ersoy Thoracic and Cardiovascular Surgery Training and Research Hospital, Istanbul, Turkey

2 Department of Cardiovascular Surgery, Istanbul University Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey

Received: 01.04.2023; Revised: 21.05.2023; Accepted: 25.05.2023

Abstract

Background: Currently, permanent pacemakers and internal defibrillators are widely used as a result of technological developments. Infection and dysfunction are the most important reasons for removing these devices from patients. Transvenous removal of these devices is the first recommended method. Failure of transvenous methods, presence of endocarditis, large vegetation or thrombus requires the use of surgical methods to remove these devices.

In this study, our purpose is to present our management in surgical removal of cardiac implantable electronic devices (CIED).

Methods: Between June 2017 and October 2019, 667 CIED were implanted and 10 patients underwent surgical removal of CIED in our hospital. The demographic data of the patients were obtained from the polyclinic files and the hospital registration system.

Results: Eight (80%) patients were male and the mean age was 55.3±16.4 years (22.0-77.0). Complete pacemaker system removal was decided by the heart team in all cases. In 4 patients, permanent pacemaker reimplantation was required intraoperatively.

Conclusion: CIED infection is a serious disease associated with high mortality. For this reason, we believe that it should be beneficial to consider the long-term results in determining permanent pacemaker and internal defibrillator indications.

Keywords: Cardiac implantable electronic device, cardiopulmonary bypass, cardiac pacemaker

DOI: 10.5798/dicletip.1313291

Correspondence / Yazışma Adresi: Cigdem Tel Ustunisik, Department of Cardiovascular Surgery, Istanbul University Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey e-mail: cigdemtel@gmail.com

Kardiyak İmplant Edilebilir Elektronik Cihazların kardiyopulmoner bypass ile çıkarılmasının yönetimi: Tek merkez deneyimi

Öz

Amaç: Günümüzde teknolojik gelişmeler sonucunda kalıcı kalp pilleri ve dahili defibrilatörler yaygın olarak kullanılmaktadır. Enfeksiyon ve disfonksiyon bu cihazların hastalardan çıkarılmasının en önemli sebepleridir. Bu cihazların transvenöz olarak çıkarılması önerilen ilk yöntemdir. Transvenöz yöntemlerin başarısız olması, endokardit gelişmesi, vejetasyon veya trombüsün varlığı, bu cihazları çıkarmak için cerrahi yöntemlerin kullanılmasını gerektirir.

Bu çalışmada, kardiyak implante edilebilir elektronik cihazların (CIED) cerrahi olarak çıkarılmasına yönelik tecrübemizi paylaşmayı amaçladık.

Yöntemler: Haziran 2017 ile Ekim 2019 arasında hastanemizde 667 CIED implante edildi ve 10 hastada CIED cerrahi olarak çıkarıldı. Hastaların demografik bilgileri poliklinik dosyalarından ve hastane kayıt sisteminden elde edildi.

Bulgular: Sekiz (%80) hasta erkekti ve yaş ortalaması 55,3±16,4 (22,0-77,0) idi. Tüm vakalarda kalıcı kalp pili sisteminin tamamen çıkarılmasına kalp konseyi tarafından karar verildi. Hastaların 4'üne intraoperatif olarak kalıcı kalp pili reimplantasyonu gerekti.

Sonuç: CIED enfeksiyonu, yüksek mortalite oranları ile ilişkili ciddi bir hastalıktır. Bu nedenle kalıcı kalp pili ve dahili defibrilatör endikasyonları belirlenirken uzun dönem sonuçlarının dikkate alınmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Kardiyak implante edilebilir elektronik cihaz, Kardiyopulmoner bypass, Kardiyak pacemaker.

INTRODUCTION

In recent years, cardiovascular implantable electronic devices (CIEDs) such as implantable cardioverter-defibrillators (ICDs) and cardiac resynchronization therapy (CRT) systems have led to a significant reduction in cardiac morbidity and mortality¹⁻⁴. As indications for device implantation expanded, the use of CIEDs has increased significantly. The frequency of CIED infections has also increased with the increase in CIED implantation. Today, the frequency of CIED infection seems to exceed the increase in device implantations⁵. Although the development of CIED-related infections is rare, it has a high mortality. In CIED infections, owing to unsuccessful results of the antimicrobial treatment approach, removal of the infected material is also considered as part of the treatment⁶. CIED infection can be systemic or can only be seen as a local battery pocket infection⁷. Infection and dysfunction are the most common reasons for removing these devices that are implanted in patients⁸; other rare indications are venous thrombosis, suspected migration and perforation⁹.

Transvenous methods are recommended firstly in most studies in removing these devices from the patient¹⁰. However, surgical treatment is still used in the failure of transvenous methods, endocarditis, vegetation in the valve tissue, development of thrombus and removal of some passively fixed electrodes^{11,12}.

This study aimed to share our experience with surgically removed CIED, the early and late results of patients, to draw attention to questioning the indication requirement for permanent pacemakers, taking into account the increased cost analysis studies and preventive measures related to CIED infection.

METHOD

Our study, which reflects the experience of single-center, was retrospectively evaluated in 10 patients who were diagnosed with CIED infection, which is a subgroup of infective endocarditis, according to modified Duke criteria¹³, and who underwent permanent removal of the pacemaker lead and battery with cardiopulmonary bypass. Ethics committee approval was obtained from our Hospital ethics

committee on 2022/02. These patients were first evaluated in the council consisting of an infectious disease specialist, cardiologist and cardiac surgeon, and it was decided to remove the pacemaker and battery by surgical method. In addition to transthoracic echocardiography (TTE), a transesophageal echocardiography (TEE) was performed on all patients as recommended by the guidelines¹⁴. TTE was used to evaluate pericardial effusion, ventricular dysfunction and pulmonary vascular pressure, while TEE was used to detect vegetations and size assessment. Patients with isolated battery pocket infections were excluded from the study. Appropriate antibiotherapy was started in all patients since diagnosis by the infectious disease specialist during the preoperative period. In all patients, the right atrium was opened under cardiopulmonary bypass (Figure 1). The superior vena cava, tricuspid valve, right atrium, and endocardium of the ventricle were visualized and the infected permanent pacemaker leads and batteries were removed. In the postoperative period, according to the results of the pacemaker system and blood culture, antibiotic therapy was administered in the period determined by the infectious disease specialist to be completed in at least 6 weeks.

Demographic data of the patients were obtained from the polyclinic files and the hospital registration system. Complete blood count and biochemical data were compared using values taken 1 day before surgery and 1 day after surgery.

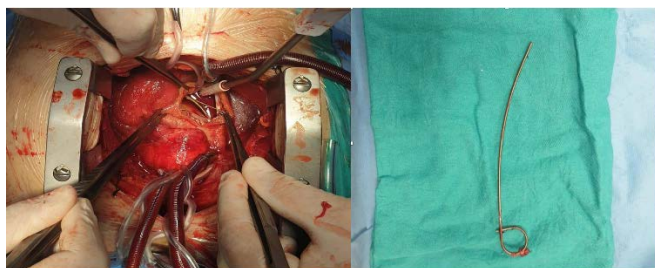


Figure 1: The vegetations at right atrium and ventricle leads on cardiopulmonary bypass.

Statistical Analysis

Analyses were performed using SPSS ver. 22.0 package program for Windows. Results

are expressed as mean \pm SD or median (lower and upper limit) for descriptive data. The

normality of the parameters was tested using the Shapiro-Wilk normality test. The Wilcoxon test was used to compare the change between preoperative and postoperative laboratory results. Values of $p < 0.05$ were considered statistically significant.

RESULTS

Eight of the patients were male (80%) and 2 were female (20%). The mean age was 55.3 ± 16.4 years (22.0-77.0). Four patients had uncontrolled diabetes and two patients had hypertension. Application complaints were fever in 5 patients and discharge in the battery site in 5 patients. Half of the patients had a previous history of cardiac surgery (Figure 2). Three patients had undergone surgical intervention due to infected lead at least once more. The demographic data of the patients are summarized in Table 1.



Figure 2: A 62 year-old female patient who had a previous cardiac surgery with permanent pacemaker pocket side and lead infection

Table I: Characteristics of patients

	Patients (n=10)
Age, years mean±SD (min-max)	55.3±16.4 (22.0-77.0)
Sex, male/female n (%)	8/2 (80.0/20.0)
Presence of diabetes mellitus Yes/No n (%)	4/6 (40.0/60.0)
Presence of hipertansion Yes/No n (%)	2/8 (20.0/80.0)
Presence of previous cardiac surgery Yes/No n (%)	5/5 (50.0/50.0)
Presence of previous surgical intervention for infected lead extraction Yes/No n (%)	3/7 (30.0/70.0)
Fever Yes/No n (%)	5/5 (50.0/50.0)
Discharge of battery Yes/No n (%)	5/5 (50.0/50.0)
Operation time (minute) mean±SD (min-max)	229.0±79.8 (140.0-420.0)
Cardiopulmonary bypass time (minute) mean±SD (min-max)	98.0±53.9 (6.0-187.0)
Intensive care unit time (day) mean±SD (min-max)	2.3±1.7 (1.0-5.0)
Hospitalization time (day) mean±SD (min-max)	42.9±18.3 (21.0-78.0)

Nine patients underwent sternotomy and one had a thoracotomy procedure. Cardiopulmonary bypass was used in all patients. Operations were performed under cross-clamp in 4 patients. Six patients were operated on the beating heart under cardiopulmonary bypass. Right atriotomy was performed in all cases. Pace leads in atrium and ventricle are released. One patient required ventriculotomy to release the ventricular lead. Four patients required valve resection because the infected lead and vegetation were fixed to the tricuspid valve, one patient underwent tricuspid replacement with a bioprosthetic valve, one patient underwent de Vega annuloplasty and two patients underwent ring annuloplasty. The released leads were removed from the battery pocket area by traction. Pace battery was removed with lead in 4 patients. It was observed that 4 patients who had a lead removed need reimplantation while 6 patients did not. In 40% of the patients, the lead and battery were removed, while in 60%, only the lead was removed. No cardiac or vascular complications or endocardial defects were observed during the surgery. At the end of the operation, the patients were taken to intensive care. Three of the patients were in normal sinus rhythm, three were in sinus

tachycardia and four were in blocky rhythm. Inotropic support was needed in 4 of the patients, one of them had a blocky rhythm.

Of the five patients who had previous history of cardiac surgery, only the lead was removed in three, and the lead and battery were removed in two. Three patients required postoperative inotropes, and two patients had a blocky rhythm.

Two patients required dialysis in the postoperative period, and one also had a history of cardiac surgery.

The patients who were taken into the service after the intensive care period were discharged when their antibiotherapy was completed. The preoperative hospital stay was determined as 26.1 ± 17.8 days (6.0-64.0 days), and the mean duration of post-op hospital stay was 16.8 ± 9.0 days (5.0-39.0 days). The postoperative hematocrit value was significantly lower than the preoperative hematocrit value ($p= 0.02$). The postoperative platelet value was significantly higher than the preoperative platelet value ($p= 0.02$). There was no significant difference in comparison of other blood parameters ($p> 0.05$) (Table 2).

Table II: Comparison the features of the patients preoperation and postoperation

	<i>Preoperative . day</i>	<i>Postoperative .day</i>	<i>p</i>
Ejection fraction % mean±SD	45.5±14.2	44.5±13.4	0.68
Median (25th-75th pers)	50.0 (35-55)	47.5 (40-50)	
White blood cell (x10 ³) mean±SD	12.3±7.8	13.3±3.6	0.24
Median (25th-75th pers)	10.9 (8.2-15.8)	14.7 (9.4-16.4)	
Platelet (x10 ³) mean±SD	188.0±87.9	257.7±130.4	0.02
Median (25th-75th pers)	168.0 (148.0-196.0)	200.0 (162.0-365.0)	
Hematocrit % mean±SD	32.6±6.5	28.2±3.3	0.02
Median (25th-75th pers)	31.2 (26.6-39.0)	26.8 (26.3-30.0)	
C-reactive protein mg/dL mean±SD	29.4±23.9	81.7±94.3	0.17
Median (25th-75th pers)	28.4 (7.3-46.4)	33.8 (15.5-161.4)	
Aspartate aminotransferase (AST) U/L mean±SD,	17.8±3.9	23.2±18.9	0.61
Median (25th-75th pers)	18.0 (15.0-20.0)	18.0 (12.0-33.0)	
Alanine aminotransferase (ALT) U/L mean±SD Median	13.4±7.0	14.3±13.5	0.78
(25th-75th pers)	12.5 (8.0-20.0)	11.0 (6.0-15.0)	
Serum creatinine mg/dl mean±SD	1.9±2.0	1.5±1.5	0.14
Median (25th-75th pers)	1.1 (0.8-2.1)	1.1 (0.7-1.4)	

The mortality rate in this study was 0%. In the follow-up, eight patients came to their control without any problem, one case was removed from follow-up as a result of two-year non-follow-up, and one case made their follow-up at another center voluntarily.

DISCUSSION

In recent years, CIEDs have been increasingly used to treat problems of cardiac electrophysiology⁵. Although rare, CIED infection is associated with high mortality and morbidity¹⁵. Studies have shown that there is a relationship between the male gender and the risk of CIED infection, but the underlying mechanism is unclear^{16,17}. The fact that eight of the cases in our study are male may support this relationship.

The incidence of CIED infection was 1.9 per 1000 device-years, and more common in ICD than permanent pacemakers¹⁵. Of the cases in our study, seven were patients with pacemakers and three were patients with ICD-induced CIED infection.

The main mechanism of infection is the contamination of the generator pocket during

device implantation or at a later time, following skin infection and/or erosion at the pocket site. With this contamination, microorganisms can spread throughout the electrode to the endocardium and the electrode tip. A separate mechanism is that bacteremia in another part of the body holds the electrodes through the blood. Although it is a subgroup of infective endocarditis, this disease is more difficult in terms of diagnosis and treatment strategy. CIED infection can occur in different ways, with fever and local signs of infection being the main stimulants⁷. In half of our cases, clinical manifestation was fever, while in the other half, this was local pocket discharge. Echocardiography and blood cultures are the cornerstone of the diagnosis, as in other findings of infective endocarditis⁷. However, a normal echocardiographic examination does not rule out CIED infection. Transesophageal echocardiography is required for every patient with suspected CIED infection¹⁴. In order to make a diagnosis in the preoperative period, TEE and TTE were performed in all of our cases. While the rate of development of endocarditis due to CIED infection was reported as 10% in

previous studies^{18,19}, this rate has been shown to increase up to 25% more recent studies^{20,21}. There is no standard diagnostic tool for CIED endocarditis. Today, modified Duke criteria¹³ and ESC 2015 criteria²² used for the diagnosis of infective endocarditis are the only available framework for the diagnosis of CIED endocarditis.

The treatment of CIED infection should include the removal of infected material (generator and electrodes) along with adequate antibiotic therapy^{7,17,23}. Staphylococcus bacteria occasionally cause CIED infection⁷. In only three of the ten cases we studied, there was a reproduction in culture. Methicillin-sensitive Staphylococcus was detected in two cases and enterobacter in one case. Preoperative using of antibiotherapy might cause these negative culture results. Serious and fatal complications may develop in the extraction of pacemaker lead and battery. In a 10-year prospective study, major complications developed in two out of five cases (superior vena cava laceration and superior vena cava massive thrombosis)²⁴. In a 13-year retrospective study by Sohail et al., major complications (two massive bleeding, one cardiac arrest, one subclavian vein laceration, one ventricular injury) were reported in five of the 19 patients who underwent surgery due to CIED infection²³. In our study, none of the ten patients developed a major complication.

Given the risks of open surgery, the first choice for removing medical devices is the lead extraction by transvenous means, which poses less risk. It's more difficult to remove ICD from the coronary sinus. Despite the evolution of transvenous lead extraction techniques, there are still risks associated with the process. The main complications include rupture of the tricuspid valve, damage to the myocardium, venous lacerations, cardiac tamponade and pulmonary embolism¹⁴. If these complications develop, cardiac surgical intervention is required.

In our study, our patients who underwent surgical procedures were taken to intensive care without any problems. Five of our cases were patients with previous cardiac surgery anamnesis. In four cases,

permanent pacemaker lead and battery were placed again in the same session, during the operation or evaluations before the operation. Other patients were also taken to intensive care with a temporary pacemaker and there was no need for a permanent pacemaker in a subsequent follow-up. Therefore, surgical removal of the pacemaker system, accompanied by cardiopulmonary bypass, should be considered a safe and applicable method for CIED infection.

In recent years, studies have been carried out to prevent CIED infection which causes significant cost increases, especially in the health sector²⁵. It should be determined whether reimplantation is required before the electronic devices are completely removed. In our study, after removing the electronic devices, the CIED reimplantation rate of 40% indicates the importance of determining the requirement in both the initial CIED implantation and the reimplantation process.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was obtained from İstanbul Mehmet Akif Ersoy Thoracic and Cardiovascular Surgery Training Research Hospital ethics committee on 2022/02.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

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

REFERENCES

1. Bardy GH, Lee KL, Mark DB, et al. Amiodarone or an implantable cardioverter-defibrillator for congestive heart failure. *N Engl J Med.* 2005;352(3):225–37.
2. Linde C, Abraham WT, Gold MR, et al. Randomized trial of cardiac resynchronization in mildly symptomatic heart failure patients and in asymptomatic patients with left ventricular dysfunction and previous heart failure symptoms. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52(23):1834–43.
3. Moss AJ, Hall WJ, Cannom DS, et al. Cardiac resynchronization therapy for the prevention of heart-failure events. *N Engl J Med.* 2009;361(14):1329–38.
4. Cazeau S, Leclercq C, Lavergne T, et al. Effects of multisite biventricular pacing in patients with heart

- failure and intraventricular conduction delay. *N Engl J Med.* 2001;344(12):873–80.
5. Voigt A, Shalaby A, Saba S. Continued rise in rates of cardiovascular implantable electronic device infections in the United States: temporal trends and causative insights. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2010;33(4):414–9.
6. Margey R, McCann H, Blake G, et al. Contemporary management of and outcomes from cardiac device related infections. *Europace* 2010;12:64-70.
7. Baddour LM, Epstein AE, Erickson CC, et al. Update on cardiovascular implantable electronic device infections and their management: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2010;121:458-77.
8. Kantharia BK, Kutalek SP. Extraction of pacemaker and implantable cardioverter defibrillator leads. *Curr Opin Cardiol* 1999 Jan; 14(1):44-51.
9. Colavita PG, Zimmern SH, Gallgher JJ, et al. Intravascular extraction of chronic pacemaker leads: efficacy and follow up: *Pacing Clin Electrophysiol* 1993 Dec; 16(12):2333-6.
10. Farooqi FM, Talsania S, Hamid S, et al. Extraction of cardiac rhythm devices: indications, techniques and outcomes for the removal of pacemaker and defibrillator leads. *Int J Clin Pract* 2010;64:1140-7.
11. Brodman R, Frame R, Andrews C, et al. Removal of infected transvenous leads requiring cardiopulmonary bypass or inflow occlusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 103:649-54.
12. Frame R, Brodman R, Furman S et al. Surgical removal of infected transvenous pacemaker leads. *Pace* 1993 Dec; 16:2343.
13. Li JS, Sexton DJ, Mick N, et al. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clin Infect Dis* 2000;30:633–8.
14. Bongiorni MG, Burri H, Deharo JC, et al. 2018 EHRA expert consensus statement on lead extraction: recommendations on definitions, endpoints, research trial design, and data collection requirements for clinical scientific studies and registries: endorsed by APHRS/HRS/LAHRs. *Europace.* 2018;20((7)):1217–1217. doi: 10.1093/europace/euy050.
15. Uslan DZ, Sohail MR, St Sauver JL, et al. Permanent pacemaker and implantable cardioverter defibrillator infection: a population-based study. *Arch Intern Med* 2007;167:669-75.
16. Johansen JB, Jorgensen OD, Moller M, et al. Infection after pacemaker implantation: infection rates and risk factors associated with infection in a population-based cohort study of 46299 consecutive patients. *Eur Heart J.* 2011;32(8):991–8.
17. Lin YS, Hung SP, Chen PR, et al. Risk factors influencing complications of cardiac implantable electronic device implantation: infection, pneumothorax and heart perforation: a nationwide population-based cohort study. *Medicine (Baltimore).* 2014;93(27):e213.
18. Chua JD, Wilkoff BL, Lee I, et al. Diagnosis and management of infections involving implantable electrophysiologic cardiac devices. *Ann Intern Med* 2000;133:604-8.
19. Baddour LM, Bettmann MA, Bolger AF, et al. Nonvalvular cardiovascular device-related infections. *Circulation* 2003;108:2015-3.
20. Sohail MR, Uslan DZ, Khan AH, et al. Infective endocarditis complicating permanent pacemaker and implantable cardioverter-defibrillator infection. *Mayo Clin Proc* 2008;83:46-53.
21. Villamil Cajoto I, Rodríguez Framil M, Van den Eynde Collado A, et al. Permanent transvenous pacemaker infections: An analysis of 59 cases. *Eur J Intern Med* 2007;18:484-8.
22. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: the task force for the management of infective endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *Eur Heart J* 2015;36:3075–128.
23. Sohail MR, Uslan DZ, Khan AH, et al. Management and outcome of permanent pacemaker and implantable cardioverter-defibrillator infections. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1851-9.
24. del Río A, Anguera I, Miró JM, et al. Surgical treatment of pacemaker and defibrillator lead endocarditis: the impact of electrode lead extraction on outcome. *Chest* 2003;124:1451-9.
25. Fozia Zahir Ahmed, Catherine Fullwood, Mahvash Zaman et al. *PLoS One.* 2019; 14(1): e0206611. Published online 2019 Jan 2. doi: 10.1371/journal.pone.0206611



Identification of Spore-Forming Intestinal Parasites with Pentaplex Real-Time PCR

Fadime Eroglu ¹

1 Aksaray University, Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Aksaray, Turkey

Received: 12.11.2022; Revised: 21.05.2023; Accepted: 23.05.2023

Abstract

Objective: Spore-forming intestinal parasites; *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp., *Cytoisospora* spp., *Encephalitozoon* spp., and *Sarcocystis* spp. are very common in immunocompromised patients, but these parasites are overlooked by healthcare professionals. It was aimed to develop a new pentaplex real-time PCR panel for the identification of spore-forming intestinal parasites in this study.

Methods: Primer-probes for pentaplex real-time PCR were designed using the “PrimerQuest Tool (Integrated DNA technologies, Coralville, USA) software program” and “Multiple sequence alignment use a computer software Primer Express™Software v3.0.1 Lienc (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA)”. The primer-probes designed in the study were spore-forming *Cryptosporidium* spp. (ATCC®87715™), *Cyclospora* spp. (ATCC®PRA-3000SD™), *Cystoispora* spp. (KF648871), *Encephalitozoon* spp. (FJ026010) and *Sarcocystis* spp. (ATCC®CCL-70) parasites were amplified with DNA isolates from the American Type Culture Collection (ATCC) and then these primer-probes were validated with 232 DNA samples obtained from the stools of the patient samples.

Results: It was found that Cycle Threshold (Ct) \pm 25.7, Standard curve (R²): \pm 0,993, and Efficiency (E): %96,1 according to the results of multiplex real-time PCR analysis. Similar results were found in pentaplex real-time PCR analysis of DNA isolates of stool samples. When the pentaplex real-time PCR results of DNA samples isolates from stool samples were compared with the positive predictive value results of traditional methods, it was found that the pentaplex results were higher.

Conclusion: The new designed pentaplex real-time PCR panel can be used in the diagnosis of spore-forming intestinal parasites, which are very common in immunocompromised patients. Thus, the diagnosis of five different parasites can be made faster, more economically and faster with a single reaction.

Keywords: Spore-forming intestinal parasites, pentaplex real-time PCR, rapid diagnostic

DOI: 10.5798/dicletip.1313299

Correspondence / Yazışma Adresi: Fadime Eroglu, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Aksaray, Aksaray, Turkey e-mail: erogulfadime@hotmail.com

Spor Oluşturan Bağırsak Parazitlerinin Pentaplex Real-Time PCR ile Tanımlanması

Öz

Amaç: Spor oluşturan bağırsak parazitleri; *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp., *Cytoisospora* spp., *Encephalitozoon* spp., ve *Sarcocystis* spp. bağırsak baskılanmış hastalarda çok yaygındır, ancak bu parazitler sağlık personeli tarafından göz ardı edilir. Bu çalışmada spor oluşturan bağırsak parazitlerinin tanımlanması için yeni bir pentaplex real-time PCR panelinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Pentaplex real-time PCR için primer-problar “Primer Quest Tool (Integrated DNA technologies, Coralville, USA) software programı” ve “Multiple sequence alignment use a computer software Primer Express™ Software v3.0.1 Lience (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA)” programı kullanılarak tasarlandı. Çalışmada tasarlanan primer-problar, Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (ATCC)’nunda temin edilen, spor oluşturan *Cryptosporidium* spp. (ATCC®87715™), *Cyclospora* spp. (ATCC®PRA-3000SD™), *Cystoisospora* spp. (KF648871), *Encephalitozoon* spp. (FJ026010), and *Sarcocystis* spp. (ATCC®CCL-70) parazitlerinin DNA izolatları ile amplifiye edildikten sonra hasta örneklerinden elde edilen 232 DNA örneği ile doğrulandı.

Bulgular: Pentaplex real-time PCR analizi sonuçlarına göre analizin döngü Eşiği (Ct) $\pm 25,7$, standart eğrisi (R²): $\pm 0,993$ ve verimliliği (E): %96,1 olarak bulundu. Dışkı örneklerinin DNA izolatlarının pentaplex real-time PCR analizinde de benzer sonuçlar bulundu. Dışkı örneklerinden izole edilen DNA örneklerinin pentaplex sonuçları ile geleneksel yöntemlerin pozitif öngörme değerinin yüksek olduğu bulundu.

Sonuç: Bağırsak sistemi baskılanmış hastalarda çok sık görülen sporlu bağırsak parazitlerinin tanısında yeni tasarlanan pentaplex real-time PCR paneli kullanılabilir. Böylece beş farklı parazitin tanısı tek bir reaksiyon ile daha hızlı, daha ekonomik ve daha hızlı konulabilir.

Anahtar kelimeler: Sporlu bağırsak parazitleri, pentaplex gerçek zamanlı PCR, hızlı teşhis.

INTRODUCTION

Intestinal parasitic infections are characterized by clinical symptoms such as abdominal pain, vomiting, fever, chills and diarrhea^{1,2}. *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp., *Cytoisospora* spp., *Encephalitozoon* spp., and *Sarcocystis* spp. are spore-forming intestinal parasites and these are known to be the most common cause of intestinal parasite infection. All of them are obligate intracellular parasites of intestinal epithelial cells. These intestinal parasites are opportunistic pathogens, mainly seen in immunocompromised patients such as HIV patients, organ transplant recipients, and cancer patients^{3,4}. The clinical symptoms of intestinal infections are overlooked by health professionals because that resemble the clinical symptoms of other diseases or are suppressed by the symptoms of other infections³. Therefore, clinical symptoms are not sufficient in the diagnosis of intestinal parasite infection

and laboratory investigations are needed for diagnosis of these infection.

The diseases caused by these parasites are cosmopolitan diseases and the prevalence of the diseases varies according to the geographical region, the population studied, the sample selection technique and the diagnostic methods used⁵⁻⁷. The diagnosis of these diseases can be based directly on the presence of parasites spores in stool samples or indirectly by serological methods. However, these methods can show low sensitivity depending on the clinical course of the infection, the intensity of the infection, the type of parasite, the life cycle of the parasite, and the experience of the microscopist⁸⁻¹⁰.

The real-time PCR, which is one of the molecular methods in the diagnosis of intestinal parasite infections, has been used in recent years¹¹. The multiplex real-time PCR is used in the diagnosis of other diseases because it is a high-throughput test with faster return¹². The multiplex real-

time PCR can identify many pathogens in a single reaction with more than one primer-probe and takes names like pentaplex, hexaplex depending on the number of probe used^{13,14}.

It is difficult to distinguish *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp., and *Encephalitozoon* spp., which are morphologically similar, with traditional methods in laboratories where specialists are not available. Detection of these parasites with faster and cheaper methods such as pentaplex rather than conventional methods will be beneficial for public health and national economy. Therefore, in this study, it was aimed to develop a new pentaplex real-time pcr panel to identify spore-forming intestinal parasites (*Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp., *Cytoisospora* spp., *Encephalitozoon* spp., *Sarcocystis* spp.) more economically and faster.

METHODS

Parasite Strains and DNA extraction

Strains of the spore-forming intestinal parasites *Cryptosporidium* spp. (ATCC®87715™), *Cyclospora* spp. (ATCC®PRA-3000SD™), *Cystoispora* spp. (KF648871), *Encephalitozoon* spp. (FJ026010), and *Sarcocystis* spp. (ATCC®CCL-70) were purchased from the American Type Culture Collection (ATCC). Positive controls of intestinal parasites obtained from ATCC and these controls were prepared according to product sheet. In addition, sterile water was used as negative control in this study.

Each spore-forming intestinal parasite strains obtained from ATCC was prepared using different media according to the product sheet. Parasites grown in culture were collected with a sterile pipette and washed with 100 µL of 1 × TE buffer (10 mM Tris base, 1 mM EDTA, pH 8.5) for DNA isolation. Total DNA extraction was performed using the QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to the manufacturer's instructions. The concentrations of parasite DNA were evaluated with nanodrop

spectrophotometers (Thermo Scientific, Wilmington, USA).

Design of primers and probes

The target gene sequences of the parasites to be identified in this study were obtained from the GenBank website (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). The primer-probes were designed from the nucleotide sequences in the GenBank and these primer-probes cover 98-99% nucleotides of each parasite. The each real-time PCR primers and probes were designed using the online "PrimerQuest Tool (Integrated DNA technologies, Coralville, USA) software programme". The melting temperature (T_m) of primers was designed to be 60°C and the probes were specially designed with a T_m of 65°C. Therefore, the predicted amplicon size was limited to 100-150 bp for each primer pair to potentially increase the reaction sensitivity.

Multiple sequence alignment use a computer software "Primer Express™ Software v3.0.1 Lience (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA) multiple primer analyzer". The primers and probes used for pentaplex real-time PCR in this study were designed to simultaneously detect the following five parasites: *Cryptosporidium* spp. (ATCC®87715™), *Cyclospora* spp. (ATCC®PRA-3000SD™), *Cystoispora* spp. (KF648871), *Encephalitozoon* spp. (FJ026010) and *Sarcocystis* spp. (ATCC®CCL-70).

The primers and probes in each panel were checked for potential secondary structures cross primer dimers and self dimers formations prior to synthesis. The annealing temperature of pentaplex real-time PCR was optimized as 60°C in this study. Since more than one primer-probe is placed in the same tube in pentaplex real-time PCR, each probe were marked with different fluorescent dyes. The recognition wavelengths of fluorescent dyes were checked using the Spectral Overlay Tool for multiplexed

QPCR (Biosearch Technologies, Middleton, USA). All of intestinal parasite nucleotides were synthesized by Integrated DNA Technologies. The information of the primer and probe

sequences, amplicon sizes, targeted genes, and dye of oligonucleotide used for diagnosis of spore forming intestinal parasites in Table 1.

Table 1: The combination of primers-probes using the pentaplex real-time PCR assay for the spore-forming intestinalis parasites in this study

Parasites	Target Dye	gene-	Primer-Pobe Sequence-Dye	Amplicon Length
Cryptosporidium spp.	ssuRNA		F: GCTTTAGACGGTAGGGTATTGG P: TTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGA-hex R: CTTAGATGTGGTAGCCGTTTCT	131 bp
Cyclospora spp.	ssuRNA		F: TGGTTTCTAGGACCAAGGTAATG P: TCACCTCTGACAGTTAAATACGAATGCC-fam R: GGCAAATGCTTTCGCAGTAG	115 bp
Cystoispora spp	18srRNA		F: AGCTTTCGACGGTAGTGTATTG P: TTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGA-rox R: CCTTAGATGTGGTAGCCGTTTC	105 bp
Encephalitozoon spp.	Alpha-tubulin gene		F: CCACCCTGGACAGCTTATTT P: TGCAGCAAATAACTATGCCCGAGGG-cy5 R: TCTCCTCCCAACAGTGAATG	91 bp
Sarcocystis spp.	18SrRNA		F: ATGGTCGCAAGGCTGAAA P: TAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCA-vic R: CCTGTCATCCTTCCATGTCTG	121 bp

Pentaplex real-time PCR assay and using stool samples

The pentaplex real-time PCR was performed in a total volume of 20 µL containing each 0.5 µM of forward and reverse primers, 0.25 µM of each probe, 1xMultiplex RT-PCR mixes (Qiagen, Hilden, Germany) and 5 µL DNA samples. The pentaplex real-time PCR assay was performed on a Rotor-Gene Q5plex Platform real-time PCR detection system (Qiagen, Hilden, Gemrnay) according to the following thermocycler programme; an initial denaturation step of 5 min at 95°C; followed by 40 cycles of 10 s at 95°C; and 15 s 60°C. The results of amplification and cycle threshold (Ct) values were calculated using Rotor-Gene Q5Plex Platform real-time PCR detection system software. In this study, a total of 232 DNA samples isolated from stool samples in the archive of Aksaray University Faculty of Medicine Parasitology Laboratory were used to investigate whether the new

designed pentaplex real-time PCR method analyzed in patient samples.

Other parasitological diagnostic methods

To validate the new pentaplex real-time PCR method designed in the study, 232 stool samples were analyzed with other parasitological diagnostic methods. Spore-forming intestinal parasites were investigated in stool samples taken from patients using ziehl neelsen staining and examined under a light microscope.

Cryptosporidium spp., Cyclospora spp., Cystoispora spp., Encephalitozoon spp., and Sarcocystis spp. (Handpicked Antibodies, Germany) were investigated using Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) stool human kit according to the manufacturer's instructions. The optical density (OD) values of ELISA methods were evaluated at 450 nm using an automatic ELISA reader.

The gene regions specific of *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp., *Cystoispora* spp., *Encephalitozoon* spp., and *Sarcocystis* spp. were targeted and primers were designed for PCR method¹⁵⁻¹⁷. After the PCR method is studied according to reference, PCR amplification products were evaluated by electrophoresis method with 1.5% agarose gel stained using 0.5 µg/mL ethidium bromide stain.

Statistical Analysis

All data were entered to computer and analyzed with Statistical Package for the Social Science v.22.0 software (SPSS Inc., Chicago, USA) and p-value were used for comparisons diagnostic methods and pentaplex real-time PCR. The results of ziehl-neelsen, ELISA, PCR and pentaplex real-time PCR assay was analyzed using the chi-square (χ²) test. The statistical significance limit will be taken as p<0.05 for this study. According to recent Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) approved guidelines for molecular diagnostic assays, parasite detection specificity of pentaplex

real-time PCR assay was compared with other diagnostic methods and expressed as negative predictive value and positive predictive value¹⁸.

RESULTS

The primers and probes designed in the study were optimized with pentaplex real-time PCR methods and optimized sequences of primer-probes were determined by having Ct values of less than ≤ 26. All of strains of reference parasites showed correlation for DNA concentration and Ct values (R²: 0.9921-0.1) along with high real-time PCR efficiencies ranging from 93.3% to 96.1% (Table 2). The pentaplex real-time PCR results of parasite strains used as control group and DNA samples isolated from patients were found to be similar (p=0.01). According to the pentaplex real-time PCR results of DNA isolates of stool samples, the Ct value was found to be between 19-32, while the R² value was found to be ±0.999 and E: %95. The results of DNA isolates from stool samples by pentaplex real-time PCR has been shown in figure 1.

Table II: The pentaplex real-time PCR efficiency (%) obtained from dependence of DNA concentrations on threshold cycle (Ct) values

Parasites	Average Ct of DNA concentrations					R ²	Slope	Efficiency (%)
	100 fg	10 fg	1 fg	100 ag	10 ag			
<i>Cryptosporidium</i> spp.	25.0	28.2	31.1	35.3	39.1	0.997	-3.6	93.3
<i>Cyclospora</i> spp.	26.2	28.1	30.2	34.5	38.1	0.995	-3.5	96.1
<i>Cystoispora</i> spp.	24.3	27.1	29.3	32.1	37.3	0.991	-3.6	95.2
<i>Encephalitozoon</i> spp.	25.4	28.2	30.1	32.3	35.4	0.990	-3.3	96.1
<i>Sarcocystis</i> spp.	24.5	27.3	31.1	33.5	38.2	0.993	-3.6	94.2

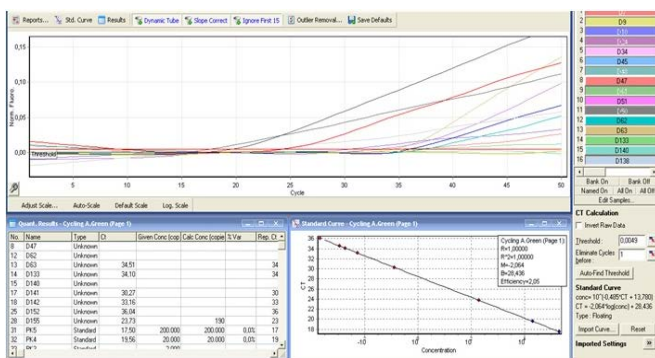


Figure 1: The results of DNA isolates from stool samples by pentaplex real-time PCR.

A total of 232 DNA samples isolated from the stool samples of the patients were used for the validation of new designed pentaplex real-time PCR method. Also, stool samples taken from 232 patients were analyzed by microscopy (ziehl-neelsen staining), ELISA and PCR methods. It was found that 9.5% (22/232) *Cryptosporidium* spp., 2.6% (6/232) *Cyclospora* spp., 5.2% (12/232) *Cytoisopora* spp., 3.5% (8/232) *Encephalitozoon* spp., 1.7% (4/232) *Sarcoystis* spp., according to the ziehl-neelsen staining method. Using ELISA method

10.3% (24/232) *Cryptosporidium* spp., 2.6% (6/232) *Cyclospora* spp., 5.6% (13/232) *Cytoisopora* spp., 3.1% (7/232) *Encephalitozoon* spp., 2.2% (5/232) *Sarcocystis* spp., were determined among stool samples of patients. It was found to be 11.6% (27/232)

Cryptosporidium spp., 3.5% (8/232) *Cyclospora* spp., 6.0% (14/232) *Cytoisopora* spp., 3.9% (9/232) *Encephalitozoon* spp., 2.2% (5/232) *Sarcocystis* spp. by PCR method (Table 3).

Table III: The results of conventional diagnostic methods and pentaplex real-time PCR method of DNA isolates from stool samples

Parasite	Ziehl-nelson				ELISA				PCR				Pentaplex RT PCR			
	(+)	(-)	%+	%-	(+)	(-)	%+	%-	(+)	(-)	%+	%-	(+)	(-)	%+	%-
<i>Cryptosporidium</i> spp	22	210	9.5	90.5	24	208	10.3	89.7	27	205	11.6	88.4	27	205	11.6	88.4
<i>Cyclospora</i> spp.	6	226	2.6	97.4	6	226	2.6	97.4	8	224	3.5	96.5	8	224	3.4	96.6
<i>Cytoisopora</i> spp	12	220	5.2	94.8	13	219	5.6	94.4	14	218	6.0	94.0	14	218	6.0	94.0
<i>Encephalitozoon</i>	8	224	3.5	96.5	7	225	3.1	96.9	9	223	3.9	96.1	10	222	4.3	95.7
<i>Sarcocystis</i> spp.	4	228	1.7	98.3	5	227	2.2	97.8	5	227	2.2	97.8	6	226	2.5	97.5

All of the DNA isolates of stool samples were scanned with the new pentaplex real-time PCR panel, and this method showed an accurate identification rate with conventional methods. It was found to be 11.6% (27/232) *Cryptosporidium* spp., 3.4% (8/232) *Cyclospora* spp., 6.0% (14/232) *Cytoisopora* spp., 4.3% (10/232) *Encephalitozoon* spp., 2.5% (6/232) *Sarcocystis* spp. according to the result of new pentaplex real-time PCR panel (Table 3). When the results of the pentaplex method are compared with the conventional methods used for the diagnosis of spore-forming intestinal parasites, it has been observed that the positive predictive value of pentaplex diagnostic methods is higher than other diagnostic methods used in the study (p<0.01).

DISCUSSION

Spore-forming intestinal parasites infections are one of the main causes of health-service consultations in developing countries and these infections are an important cause of morbidity worldwide. The clinical symptoms of *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp., *Cytoisopora* spp., and *Sarcocystis* spp. parasites include abdominal pain, diarrhea, dehydration,

weight loss, fever, vomiting, and these parasites have been reported mostly in immunocompromised patients^{19,20}. Immunocompromised patients experience symptoms that are confused with the clinical symptoms of spore-forming intestinal parasites, such as abdominal pain, fever, and diarrhea, due to side effects of treatment or decreased in the CD4+T cell/ CD8+T cell ratio²¹. The mortality rates are increasing in patients due to the mixing of clinical symptoms and ignorance of spore-forming intestinal parasites by healthcare professionals. Therefore, laboratory diagnostic methods are needed in the diagnosis of infections to confirm clinical symptoms.

Laboratory diagnosis of spore-forming intestinal parasites is performed by conventional methods, including culture, antigen test, microscopic examination, and molecular methods²². There is a growing interest in alternative methods, such as DNA detection mostly by real-time PCR, to overcome the limitations of conventional methods for diagnosis of intestinal parasite in recently. It has been reported in multiplex real-time PCR method, which can identify many parasites in a single reaction from different countries. Nazeer et al. used multiplex real-time PCR method to

identify intestinal parasites *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp., and *Entamoeba histolytica* in Egypt. Their studies have shown that the triplex real-time PCR method, performed in closed system, which can identify several parasites, is useful for rapid and accurate diagnosis of parasites²³. Won et al. analyzed eight parasites caused to gastroenteritis using octaplex real-time PCR and they have reported that this method useful to determine to these parasite. They have reported that octaplex real-time PCR rapid method and higher sensitivity than convensiyonel methods⁹. Basuni et al. have been developed a pentaplex real-time PCR method for the identification of soil-transmitted helminths²⁴. They reported that this method can be used in epidemiology, diagnosis and treatment programs. The costs of the conventional methods and the pentaplex real-time PCR method were compared and they reported that these methods were close to each other in their study²⁴.

The real-time PCR method has been used not only for parasite identification but also for the identification of other viruses, bacteria and fungi^{14,25,26}. In addition, in many studies on the diagnosis of parasites, it has been reported that the sensitivity of real-time PCR method is higher than PCR and other conventional methods such as microscopy. It is known that the real-time PCR method is more sensitive depending on the use of the probe and the closed system principle of this method^{27,28}. According to the results of this study, the positive predictive value of real-time PCR was found to be higher in the identification of parasites and the results of this study support the results of the previous study.

The distribution and prevalence of spore-forming intestinal parasites are affected by personal hygiene practices, dietary habits, education level of the society, socio-economic status and climatic conditions^{29,30}. In addition, the severity of spore-forming intestinal

parasites infections varies according to the immunological status of the host and can be seen as asymptomatic. In long-term intestinal parasite infections, serious clinical symptoms such as anemia, malabsorption and mental retardation can be seen in children. Intestinal parasite infections are important cause of morbidity and mortality in the world. Morbidity and mortality rates of these infections can be reduced by early and rapid diagnosis. The pentaplex real-time PCR can be used in the diagnosis of intestinal parasite infection, thus preventing health problems caused by these infections.

CONCLUSION

The use of pentaplex real-time PCR method in the definition of spore-forming intestinal parasites can solve problems such as dependency on well-trained microscopists, low sensitivity in diagnosis, and loss of time in diagnosis. Although the microscopy method has limitations in diagnosis, it is still accepted as the reference standard method for routine diagnosis due to its low cost and easy applicability in endemic countries. Over the last decade, pentaplex real-time PCR and microscopy method have been compared in different countries and positive results have been obtained regarding pentaplex real-time PCR method^{25,26}. The design and evaluation, optimization and validation of the pentaplex real-time PCR panel requires investment in time and cost. However, after optimization, cost-effectiveness, time saving and high efficiency in diagnosis make the pentaplex real-time PCR method more advantageous than other diagnostic methods. In this study, pentaplex real-time PCR panel was developed a fast, efficient, cost-effective and easy to perform to be used in the diagnosis of spore-forming intestinal parasites, which are very common in immunocompromised patients and overlooked due to the symptoms of other diseases. Moreover, clinical performance of the pentaplex

real-time PCR panel was validated on stool samples from variety patients. The pentaplex real-time PCR panel is suitable for the diagnosis of mixed intestinal parasites infections and its diagnostic potential can be expanded with studies including more clinical samples. The pentaplex real-time PCR can diagnose several types of parasites at the same time. This panel is one of great importance in diagnosis of spore-forming intestinal parasites infections, especially in immunocompromised patients where multiple intestinal parasites infections are common. In addition, this panel can be adapted for epidemiological research and contribute significantly to improving patient management and infection control.

Ethics Committee Approval: All stool samples were taken and processed by our routine diagnostic laboratory for routine diagnostic analysis and DNA extraction. All samples were used anonymously in this pentaplex real-time PCR panel development and permission was obtained from the Dean of Aksaray University Faculty of Medicine and the head of the Department of Medical Parasitology.

Conflict of Interest: The authors declared no conflicts of interest.

Financial Disclosure: This study was supported by the Aksaray University Research Grant ASUBAP.2020.035.

REFERENCES

1. Basuni M, Mohamed Z, Ahmad M, Zakaria NZ, Noordin R. Detection of selected intestinal helminths and protozoa at hospital universiti sains malaysia using multiplex real-time PCR. *Trop Biomed.* 2012; 29(3):434-42.
2. Zebardast N, Yeganeh F, Gharavi MJ, et al. Simultaneous detection and differentiation of *Entamoeba histolytica*, *E. dispar*, *E. moshkovskii*, *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium* spp. in human fecal samples using multiplex PCR and Qpcr-MCA. *Acta Trop.* 2016; 162:233-8.
3. Klassen MK, Neafie RC, Wear DJ, Meyers WM. Cryptosporidiosis, Isosporiasis, Cyclosporiasis, Sarcocystosis. Topics on the pathology of protozoan and invasive arthropod diseases, Defense Technical Information Center 2011; 13th section, 1-19.
4. Kwon JY, Seo JY, Kim TY, Lee H, Won Ju J. First identification and genotyping of *Enterocytozoon bieneusi* and prevalence of *Encephalitozoon intestinalis* in patients with acute diarrhea in the republic of Korea. *Pathogens.* 2021; 3;10(11):1424.
5. Jerez LE, Nunez-Fernandez FA, Fraga Nodarse J, et al. Diagnosis of intestinal protozoan infections in patients in Cuba by microscopy and molecular methods: advantages and disadvantages. *J Microbiol Methods.* 2020; 179: 106102.
6. Halanova M, Valencakova A, Jarcuska P, et al. Screening of opportunistic *Encephalitozoon intestinalis* and *Enterocytozoon bieneusi* in immunocompromised patients in Slovakia. *Cent Eur J Public Health.* 2019; 27(4):330-4.
7. Polat E, Özdemir S, Sirekbasan S. The distribution of intestinal parasites in patients presenting to a university hospital in Istanbul: a seven year retrospective analysis. *Turkiye Parazitol Derg.* 2020;4;44(3):139.
8. Morio F, Valot S, Laude A, et al. Evaluation of a new multiplex PCR assay (ParaGENIE G-Amoeba Real-Time PCR kit) targeting *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar/Entamoeba moshkovskii* from stool specimens: evidence for the limited performances of microscopy-based approach for amoeba species identification. *Clin Microbiol Infect.* 2018; 24(11):1205-9.
9. Won EJ, Kim SH, Kee SJ, et al. Multiplex Real-Time PCR assay targeting eight parasites customized to the Korean population: potential use for detection in diarrheal stool samples from gastroenteritis patients. *Los One.* 2016; 18;11(11):e0166957.
10. Hove RJ, van Esbroeck M, Vervoort T, et al. Molecular diagnostics of intestinal parasites in returning travellers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009; 28:1045-53.
11. Sow D, Parola P, Sylla K, et al. Performance of real-time polymerase chain reaction for the detection of 20 gastrointestinal parasites in clinical samples from Senegal. *Am J Trop Med Hyg.* 2017;97(1):173-182.

12. Shi X, Liu X, Wang Q, et al. A multiplex real-time PCR panel assay for simultaneous detection and differentiation of 12 common swine viruses. *J Virol Methods*. 2016; 236:258-265.
13. Köppel R, Ganeshan A, van Velsen F, Bucher T. Five pentaplex real-time PCR systems for the efficient determination of 20 genetically modified maize traits in food. *Eur Food Res Technol*. 2017; 243 (2).
14. Jiang C, Luo Y, Yuan Y, et al. Conventional octaplex PCR for the simultaneous identification of eight mainstream closely related *Dendrobium* species. *Industrial Crops&Products*. 2018; 112; 576-96.
15. Leone A, Ripabelli G, Sammarco ML, Grasso GM. Detection of cryptosporidium spp. from human faeces by PCR-RFLP, cloning and sequencing. *Parasitol Res*. 2009; 104(3): 583-7.
16. Taniuchi M, Verweij JJ, Sethabutr O, et al. Multiplex polymerase chain reaction method to detect *Cyclospora*, *Cystoisopora*, and *Microsporidia* in stool samples. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011; 71(4):386-90.
17. Hamidinejet H, Moetamedi H, Alborzi A, Hatami A. Molecular detection of *Sarcoystis* species in slaughtered sheep by PCR-RFLP from South-western of Iran. *J Parasitol Dis*. 2014; 38(2):233-37.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute, webstore.ansi.org. (accessed date: 01.04.2022).
19. Çelebi D, Çelebi Ö. Prevalence of *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* and *Cryptosporidium* spp. *Dicle Med J*. 2021; 48(3): 425-30.
20. Bustin SA, Benes V, Garson JA, et al. The MIQE guidelines: minimum information for publication of Quantitative real-time PCR Experiments. *Clinical Chemistry*. 2009; 611-22.
21. Wolday D, Genrecherkos T, Arefaine ZG, et al. Effect of co-infection with intestinal parasites on COVID-19 severity: a prospective observation cohort study. *Eclinical Medicine*. 2021; 39; 101054.
22. Frickmann H, Schwarz NG, Rakotozandrindrainy R, May J, Hagen RM. PCR for enteric pathogens in high-prevalence settings. What does a positive signal tell us? *Infect Dis* 2015; 47(7): 491-98.
23. Nazeer JT, El Sayed Khalifa K, von Theien H, et al. Use of multiplex real-time PCR for detection of common diarrhea causing protozoan parasites in Egypt. *Parasitol Res*. 2013; 112(2): 595-01.
24. Basuni M, Muhi J, Othman N, et al. A pentaplex real-time polymerase chain reaction assay for detection of four species of soil-transmitted helminths. *Am J Trop Med Hyg*. 2011; 84(2): 338-43.
25. Mishra N, Ng J, Rakeman JL, et al. One step pentaplex real-time polymerase chain reaction assay for detection of zika, dengue, chikungunya, west Nile viruses and a human housekeeping gene. *Journal of Clinical Virology*. 2019; 120: 44-50.
26. Okolie CE, Wooldridge KG, Turner DP, Cockayne A, James R. Development of a new pentaplex real-time PCR assay for the identification of poly-microbial specimens containing *Staphylococcus aureus* and other staphylococci, with simultaneous detection of staphylococcal virulence and methicillin resistance markers. *Molecular and Cellular Probes*. 2015; 29; 144-50.
27. Sow D, Parola P, Sylla K, et al. Performance of real-time polymerase chain reaction assays for the detection of 20 gastrointestinal parasites in clinical samples from Senegal. *Am J Trop Med Hyg*. 2017; 97(1): 173-82.
28. Merdekios B, Pareyn M, Tadesse D, et al. Evaluation of conventional and four real-time PCR methods for the detection of *Leishmania* on field collected samples in Ethiopia. *Plos Negl Trop Dis*. 2021; 15(1):e0008903.
29. Mehraj V, Hatcher J, Akhtar S, Rafique G, Beg MA. Prevalence and factors associated with intestinal parasitic infection among children in an urban slum of Karachi. *Plos One*. 2008; 3(11): e3680.
30. Cengiz Taş Z, Beyhan YE, Çiçek M, Yılmaz H. Intestinal and hepatic parasites determined in a university hospital parasitology laboratory. *Dicle Medical Journal*. 2015; 42(3): 350-54.



Importance of using tissue PCR to diagnose CMV colitis in ulcerative colitis

Tuba Erürker Öztürk^{ID1}, Murat Kıyıcı^{ID2}, Macit Gülten^{ID2}, Enver Dolar^{ID2}, Selim Gürel^{ID2}, Selim Giray Nak^{ID2}, Fatih Eren^{ID2}

¹ Denizli State Hospital Department of Gastroenterology, Denizli, Turkey

² Uludag University Medicine Faculty Department of Gastroenterology, Uludag University Medicine Faculty Hospital, Bursa, Turkey

Received: 11.06.2022; Revised: 07.03.2023; Accepted: 08.05.2023

Abstract

Objective: To show the importance of tissue Cytomegalovirus (CMV) PCR to diagnose CMV infection in patients with treatment-resistant ulcerative colitis.

Methods: Fifteen patients who had previously been diagnosed as ulcerative colitis with clinical, endoscopic, histological, and radiological criteria and who had referred to our clinic with acute exacerbation who were diagnosed with CMV colitis and received CMV treatment, were evaluated retrospectively. After the demographic and clinical characteristics of the patients were noted, Mayo scores were evaluated to determine ulcerative colitis activity. Patients' age, gender, laboratory values, type of colitis, and Mayo scores were recorded. Biopsy results, CMV IgM, serum, and tissue CMV DNA levels were noted. Descriptive statistical parameters of the demographical data were calculated.

Results: Eleven of the patients were male, and four were female. The mean age of the patients was 42±11,3. The mean duration of the disease was 28±46 months. Twelve patients had pancolitis, and three patients had distal colitis. All patients' Mayo score was 12 points. All patients were steroid-resistant, and none had previously received biological agent therapy. 7 of 15 patients had serum CMV DNA levels over 1000 copies/mL. Tissue CMV DNA levels of 8 patients were found higher than 250 copies/mg, although serum CMV DNA levels were below 1000 copies/mL. Pathology samples of 11 patients were evaluated, and CMV inclusion bodies were not detected. All patients received ganciclovir for CMV treatment. After treatment, CMV DNA of all patients was negative, and diarrhea and inflammation markers were reduced.

Conclusion: For the diagnosis of CMV, CMV-PCR in colon tissue specimens should also be considered in addition to endoscopic appearance and serum CMV DNA levels.

Keywords: CMV DNA; PCR; Ulcerative colitis; CMV colitis; Cytomegalovirus

DOI: 10.5798/dicletip.1313321

Correspondence / Yazışma Adresi: Tuba Erürker Öztürk, Denizli State Hospital Department of Gastroenterology, Denizli, Turkey e-mail: drozturktuba@gmail.com

Ülseratif kolitli hastalarda CMV tanısında doku PCR'ın önemi

Öz

Amaç: Tedaviye dirençli ülseratif kolit hastalarında Cytomegalovirus (CMV) enfeksiyonu tanısı koyarken doku CMV PCR düzeyinin daha önemli olduğunu göstermektir.

Yöntemler: Klinik, endoskopik, histoloji ve radyolojik kriterlere göre daha önce ülseratif kolit tanısı almış akut alevlenme ile tarafımıza refere edilmiş CMV kolit saptanıp CMV tedavisi alan 15 hastanın dosyası retrospektif olarak değerlendirildi. Hastaların demografik ve klinik bulguları not edildikten sonra ülseratif kolit aktivasyonu Mayo skoruna göre sınıflandırıldı. Hastaların yaşı, cinsiyeti, laboratuvar değerleri, kolitin tipi, ve Mayo skoru kaydedildi. Biyopsi sonuçları, CMV IgM, serum ve doku CMV DNA düzeyleri değerlendirildi. Demografik dataların diskriptif istatistiksel parametreleri hesaplandı.

Bulgular: 15 hastanın 11'i erkek, 4'ü kadındı. Hastaların ortalama yaşları $42 \pm 11,3$ yılı. Ortalama ülseratif kolit hastalık süreleri 28 ± 46 aydı. 12 hastanın hastalık tutulumu pankolit 3 hastanın ise distal kolit şeklinde idi. Tüm hastalar steroide dirençli hastalardı ve daha önce biyolojik ajan tedavisi kullanmamışlardı. 15 hastanın 7'inde serum CMV DNA düzeyi 1000 kopya/mL'nin üzerindeydi. 8 hastanın da serum CMV DNA düzeyi 1000 kopya/mL'nin altında olmasına rağmen doku CMV DNA düzeyleri 250 kopya/mg'ın üzerindeydi. 11 hastanın patoloji sonuçları değerlendirildi. Patoloji örneklerinde CMV inklüzyon cisimcikleri izlenmedi. Tüm hastalara CMV tedavisi için gansiklovir tedavisi verildi. Tedavi sonrasında serum CMV DNA düzeyleri negatifti. Hastaların dışkılama sayıları günde 1-2 kez olmak üzere normal kıvamdaydı ve inflamasyon belirteçleri normal seviyelere gerilemişti.

Sonuç: CMV kolitinin tanısı için kolonun tipik endoskopik görünümü ve serum CMV DNA düzeyi kadar doku CMV DNA düzeyi de göz önünde tutulmalıdır.

Anahtar kelimeler: CMV DNA, PCR, Ülseratif kolit, CMV koliti, Cytomegalovirus.

INTRODUCTION

Cytomegalovirus (CMV), a member of the herpesviral family, is double-stranded and enveloped DNA virus. This virus has a high transmission rate (60-90%) and a long latency in the body¹. In 15.4-34% of patients with inflammatory bowel diseases (IBDs) who received steroids and/or other immunosuppressive therapies, CMV can lead to viral gastroenteritis².

Activation of the virus can be caused by many factors such as psychological stress, fever, trauma, or immunosuppressive treatment. CMVs replicate slowly and are characterized by causing late cell pathology. The endoscopic appearance of CMV colitis could be various. The most common lesion is an ulcer. Ulcers could be superficial or deep, single, or multiple^{3,4}. Diffusive and deep ulcers can cause intestinal pseudoobstruction, perforation, and/or toxic megacolon. Segmental ulcerative erosions and linear ulcers can be confused with the endoscopic appearance of Crohn's disease.

Mucosal hemorrhage, edema, erosions, pseudomembranes, and obstructive inflammatory masses are other possible lesions that can be seen macroscopically in endoscopy. Diagnosis can be made easily by observing several inclusion bodies in the biopsy specimen. However, the absence of inclusion bodies does not exclude CMV infection. Another diagnostic method to show CMV is immunochemistry. Serological tests, antigen tests, PCR, in situ hybridization, and viral culture are the other tests that can be used to diagnose CMV⁵⁻⁷. Isolation of CMV in culture is not useful for diagnosis because CMV can survive for a long time after the primer infection, and therefore it can't show active infection. Histology and hematoxylin-eosin (H&E) staining of intranuclear inclusion bodies in patients with ulcerative colitis has been reported as significant for CMV diagnosis according to the current European Crohn's and Colitis Organization guidelines⁸. PCR is the most sensitive method for diagnosing most viral infections, including CMV infection⁹. The cut-off value of both tissue and

serum CMV DNA has not yet been determined, but values above 250 copies / mL seem appropriate for CMV colitis¹⁰⁻¹¹.

In our study, we aimed to emphasize the importance of tissue CMV DNA level for diagnosis CMV colitis in patients with steroid-resistant ulcerative colitis.

METHODS

All ulcerative colitis patients hospitalized between 2014 and 2017 with acute exacerbation were screened. Patients were examined for opportunistic infections due to acute exacerbation. All patients underwent colonoscopy. In addition, both serum CMV and tissue CMV levels were studied from these patients. Fifteen patients with high serum and/or tissue CMV levels were included in the study. Patients with *Clostridium difficile* infection and negative serum and/or tissue CMV levels were excluded from the study. Fifteen patients who were hospitalized with ulcerative colitis diagnosis between 2014 and 2017 at the Gastroenterology Clinic of Uludag University Medicine Faculty Hospital were reviewed retrospectively. This study was carried out after the approval of the Local Ethics Committee (2017-4/47). Fifteen patients who were previously diagnosed ulcerative colitis with clinically, endoscopically, histologically, and radiologically criteria, and who referred to our clinic with acute exacerbation were evaluated. The mean age of the patients was 42 ± 11.3 (range:20-59). 11 of the patients were male, and four were female. All of the patients referred to our clinic with activation. All patients Mayo score was 12 points. The mean duration of the disease was $28 \pm 46,5$ (range: 2-192) months. Twelve patients (80%) had pancolitis, and three patients had distal colitis. All patients were steroid-resistant, and none had previously received biological agent therapy. All patients had 4 gr/ day mesalamine, 60 mg/day methylprednisolone and 100mg/day azathioprine. The demographic characteristics and treatments of the patients are shown in the table (Table 1).

Table I: Demographic and clinical characteristics of the patients

	Ulcerative colitis (n=15)
Sex (male/female)	11/4
Average age (years) \pm SD	42 \pm 11.3(range: 20-59)
Duration of the disease (months)	28 \pm 46,5(range: 2-192)
Type of colitis	
• Pancolitis	12 (80%)
• Distal colitis	3
Severity of the disease	
• Severe	15 (100%)
• Other	0
Treatment	
• MES-CS-immunomodulator	15 (100%)
• Anti-TNF	0

After the demographic and clinical characteristics of the patients were noted, Mayo scores were evaluated to determine ulcerative colitis activity. Patients' age, gender, laboratory values, and Mayo scores were recorded. Corticosteroid resistance was defined as the absence of healing despite steroid use at 30 mg or more for at least two weeks⁵. Gastric microscopy, gastric amoeba antigen, *Clostridium difficile* toxin A-B test, gaita culture, and serum CMV DNA levels were routinely examined in all patients who were referred due to acute ulcerative colitis. Current treatments and medications were mesalamine (Salofalk, Ali Raif Medical, Istanbul, Turkey), methylprednisolone (Prednol, Mustafa Nevzat Medical, Istanbul Turkey), azathioprine (Imuran, GlaxoSmithKline, Boronia Victoria, Australia). All patients were evaluated with colonoscopy. Patients with inflammation up to the proximal part of the hepatic flexure were evaluated as pancolitis, and those with inflammation up to the splenic flexure were evaluated as distal (left-sided) colitis⁵. During a colonoscopy, samples were taken for both pathology and CMV DNA from the activated mucosa. Clinical, laboratory, and endoscopic findings were used to assess the remission.

Detection of CMV in serum and tissue specimens

Quantitative evaluation of CMV DNA in serum and tissue was performed with Abbott M200Sp CMV DNA Real-Time PCR Test (Abbott Diagnostics GmbH, Chicago, USA). Plasma and serum samples

were used directly. At least four mucosal biopsies were taken from the ulcerative area. Biopsy specimens were also examined for CMV inclusion bodies.

Diagnosis and treatment protocol of CMV infection

CMV infection was diagnosed with the presence of one or more criteria (plasma or tissue CMV DNA positivity or staining of inclusion bodies with H&E). Serum CMV DNA lower limit value was determined as 1000 copies / mL and tissue CMV DNA lower limit value was determined 250 copies/mg¹¹. All patients were evaluated as CMV colitis. CMV DNA was studied in 13 tissue samples of 15 patients. 7 of 15 patients had serum CMV-DNA levels over 1000 copies / mL. Pathology samples of 10 patients were evaluated, and CMV inclusion bodies weren't detected. Ganciclovir (Cymevene, Roche Products Limited, Welwyn Garden City, UK) was administered for three weeks to treat CMV infection. During this time, the dose of steroids was reduced stepwise.

Statistical Analysis

SPSS program (2015) version 23 was used for statistical analysis. Descriptive statistical parameters (mean, standard deviation, median frequency, ratio, and min-max) of the study data

were calculated. The Shapiro-Wilks and Anderson-Darling tests were used for testing normality. Non-parametric tests were used for non-normal distributed data.

RESULTS

Fifteen patients with steroid-resistant ulcerative colitis with serum CMV DNA levels>1000 copies/mL or tissue CMV DNA levels>250 copies/mg were treated with 5 mg/kg ganciclovir. Tissue CMV DNA levels of 8 patients were found higher than 250 copies/mg, although serum CMV DNA levels were below 1000 copies/mL. The pathologic specimens of 11 patients were evaluated for CMV inclusion bodies, but inclusion bodies weren't seen. Pathologic specimens could not be evaluated immunohistochemically due to technical insufficiency. Tissue CMV DNA was studied in 13 patients, and the lowest value was determined as 1735 copies/mg. This diagnosis was not supported by pathology in patients diagnosed with tissue CMV DNA levels. This may be due to technical inadequacy, inappropriate sampling, or inexperience in evaluating.

The characteristics of the patients diagnosed with steroid-resistant CMV colitis are described in the table (Table 2). The appearance of CMV colitis in colonoscopy was showed in image 1-3.

Table II: Characteristics of patients with resistant ulcerative colitis with tissue CMV levels higher than 1,000 copies/mg

Patient number	Age-sex	Type of colitis	CMV IgM	Serum CMV DNA (copies/mL)	Tissue CMV DNA (copies/mg)	CMV pathology
1	51-M	Pancolitis	Negative	<20	9.599,8	Negative
2	53-M	Pancolitis	Negative	51.618	1.096.492,4	Negative
3	55-M	Pancolitis	Unknown	3.055	Not performed	Not performed
4	20-F	Pancolitis	Negative	1.190	4,334	Negative
5	47-M	Pancolitis	Unknown	4.651	155.786,4	Negative
6	59-M	Pancolitis	Positive	6.367	Not performed	Not performed
7	29-M	Pancolitis	Unknown	5.407	17.959,8	Negative
8	40-M	Pancolitis	Negative	50	5.153,8	Negative
9	46-F	Pancolitis	Positive	108	18.211,6	Negative
10	27-F	Pancolitis	Unknown	123	5.170,9	Negative
11	50-F	Distal colitis	Unknown	313	25.066,1	Negative
12	47-M	Distal colitis	Negative	13.647	5.361,4	Not performed
13	40-M	Pancolitis	Unknown	44	1.735,9	Not performed
14	39-M	Pancolitis	Unknown	705	449.457,8	Negative
15	35-M	Distal colitis	Negative	91	174.150,8	Negative

Antiviral therapy was initiated regardless of the tissue CMV DNA level in 8 patients with serum CMV DNA levels < 1000 copies/mL. In 8 patients, tissue CMV DNA level was determined to be over 250 copies/mg, and antiviral treatment was initiated. Fifteen patients were treated with ganciclovir for three weeks. Serum and tissue CMV DNA levels were found negative after treatment.

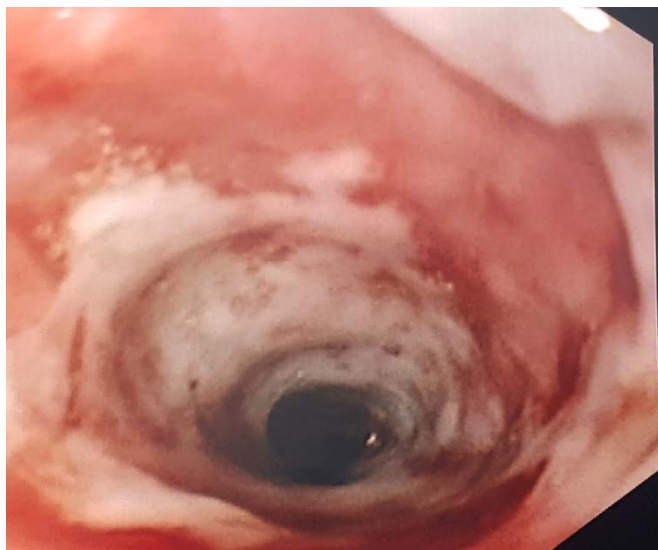


Figure 1: Ulcers appearance of CMV colitis in colonoscopy

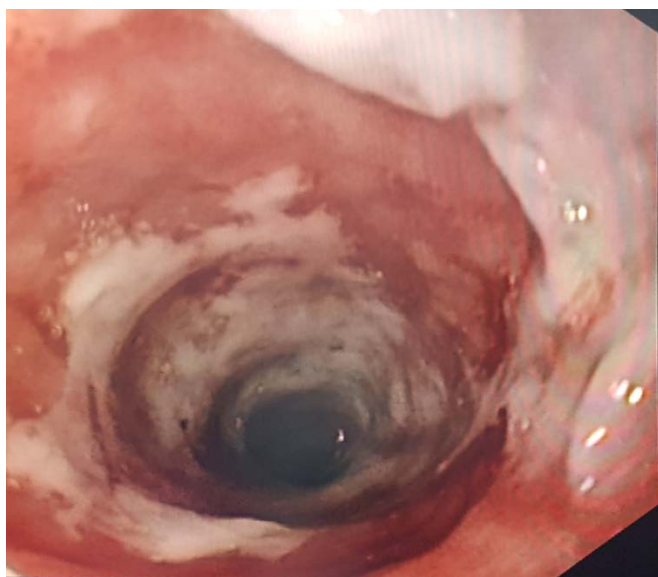


Figure 2: Erythematous and edematous appearance of CMV colitis in colonoscopy

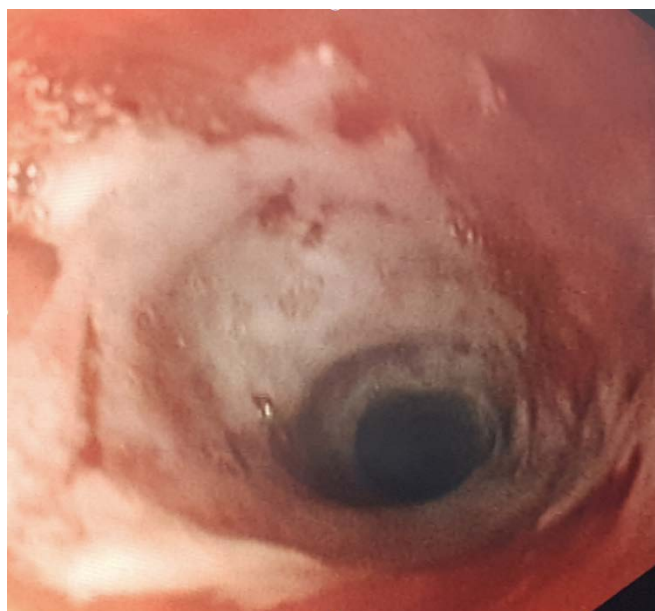


Figure 3: Appearance of CMV colitis in colonoscopy

DISCUSSION

Ulcerative colitis has been known since the 1900s. However, aminosalicylates were found to be effective for the treatment of this disease in the 1940s^{11,12,26}. Resistance in the treatment of this disease is one of the important problems encountered. The association of CMV with ulcerative colitis is known from the 1960s, but it is important to detect the virus prior to antiviral treatment.

In patients with ulcerative colitis, CMV infection was first reported in the USA in 1961¹³. Since then, CMV infection is being investigated in ulcerative colitis patients. However, an effective diagnostic method is still controversial. It is controversial whether CMV reactivation increases inflammation in patients with IBD or whether it is only a surrogate marker for IBD¹⁴. In a prospective study, it was shown that CMV infection was seen in 4.5% of new-onset ulcerative colitis, suggesting that immunosuppressive drugs may be a significant risk factor for CMV infection¹⁵. However, it is also possible that CMV is an "innocent audience" in the background of the colon mucosa during an active IBD period. For this reason, routine CMV tests are not recommended for all patients

with ulcerative colitis. However, during the steroid-resistant colitis or acute exacerbations treated with steroid therapy, PCR or immunohistochemical methods should be used to evaluate CMV. Several studies have used many different methods to diagnose CMV infection in steroid-resistant ulcerative colitis. Although studies have shown that tissue CMV DNA testing in mucosal biopsies is the most sensitive method for detecting CMV colitis, it is not explicitly stated which approach is better¹⁶⁻¹⁹. Detection of CMV DNA by PCR analysis in mucosal biopsies has been described as the most sensitive method in patients with CMV enteritis²⁰⁻²². Although serum CMV DNA is negative, CMV infection can be detected in tissue samples. Although the serum CMV DNA level of a patient in our study was negative, the tissue CMV DNA level was found to be 9599,8 copies/mg.

Our study was a retrospective study that patients who referred to the hospital with acute exacerbations and with steroid-resistant ulcerative colitis were evaluated. Since our study is retrospective, some patient's tissue CMV DNA and pathology assessments were missing. The possibility of acute gastroenteritis caused by other infections was excluded, and patients were evaluated for CMV colitis. Despite the steroid treatment, the daily bloody stool frequency of these patients was six or more, and the general clinics were not improved.

Serum CMV DNA levels were studied in all patients. Antiviral therapy was initiated regardless of the tissue CMV DNA level in 7 patients with serum CMV DNA levels >1000 copies/mL. In 8 patients, tissue CMV DNA level was determined to be over 250 copies/mg, and antiviral treatment was initiated. The most recommended diagnostic method is to show inclusion bodies with immunohistochemical staining in pathology specimens^{23,24,27}. In our study, the pathologic specimens of 11 patients were evaluated for CMV inclusion bodies, but

inclusion bodies weren't seen. Pathologic specimens could not be evaluated immunohistochemically due to technical insufficiency. The viral culture wasn't studied patients, which is a gold standard method for CMV treatment. Since virus infection in culture could last for weeks, it is not a practical method; routine usage is not recommended²⁵. There is no serum and tissue CMV DNA lower limit value that was determined for CMV colitis diagnosis. Most of the studies suggest the lower limit value for tissue CMV DNA as 250 copies/mg. In our study, tissue CMV DNA was studied in 13 patients, and the lowest value was determined as 1735 copies/mg. This diagnosis was not supported by pathology in patients diagnosed with tissue CMV DNA levels. This may be due to technical inadequacy, inappropriate sampling, or inexperience in evaluating.

In Beswick et al's review they stated that the evaluation of CMV infection in acute exacerbation in IBD is necessary for disease management and treatment selection. Also detection of CMV should be assessed a poorer prognosis for this group of patients. Because of CMV PCR has a high false-positive rate they recommend to use immunohistochemical analysis for diagnose²⁸.

Mourad et al's suggest that it is important to keep a high clinical suspicion for CMV infection who has acute exacerbation of UC. This group of patients are presenting with worsening of their gastrointestinal symptoms, regardless of their immunosuppression treatment. A delay in the diagnosis and subsequent management could be associated with poor outcomes, including increased colectomy rates. If patients have multiple inclusion bodies, they have started antiviral treatment regardless of CMV tissue PCR or positive IHC stains. If the inclusion bodies are negative and patients have high CMV tissue PCR [>250 copies/mg of tissue] or high IHC staining [>four cells/ section], then they

would also propose the endication of anti-viral therapy²⁹.

Goetgebuer et al. defined most Dutch gastroenterologists acknowledge the importance of CMV colitis in IBD. They have given the initiation of treatment according to tissue CMV PCR or pathology species³⁰.

Kwon et al. found a high rate of CMV infection in IBD in their study. It has been reported that the diagnosis of CMV infection is cost-effective by reducing patient morbidity and hospitalization rates³¹.

However, despite the low serum CMV DNA levels, the high levels of tissue CMV DNA are noteworthy. This indicates that tissue CMV DNA level is more valuable data for the diagnosis of CMV colitis. This can be better demonstrated with more patients and multicenter studies.

CMV infection should also be considered in treatment-resistant patients and in patients who develop acute attacks while under treatment. For the diagnosis of CMV, CMV-PCR in colon tissue specimens should also be considered. In addition to endoscopic appearance and serum CMV DNA levels.

Ethics Committee Approval: Fifteen patients who were hospitalized with ulcerative colitis diagnosis between 2014 and 2017 at the Gastroenterology Clinic of were reviewed retrospectively. This study was carried out after the approval of the Local Ethics Committee (2017-4/47).

Conflict of Interest: The authors declared no conflicts of interest.

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

REFERENCES

1. Staras SA, Dollard SC, Radford KW, et al. Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988-1994. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 1143-51.
2. Papadakis KA, Tung JK, Binder SW, et al. Outcome of cytomegalovirus infections in patients with

inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2137-42.

3. Odze RD, Goldblum JR. *Surgical pathology of the GI tract, liver, biliary tract, and pancreas*. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders/Elsevier, 2009; 52-53.

4. Carter D, Olchovsky D, Pokroy R, Ezra D. Cytomegalovirus-associated colitis causing diarrhea in an immunocompetent patient. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6898-9.

5. Iida T, Ikeya K, Watanabe F, et al. Looking for endoscopic features of cytomegalovirus colitis: a study of 187 patients with active ulcerative colitis, positive and negative for cytomegalovirus. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1156-63.

6. Omiya M, Matsushita M, Tanaka T, Kawamata s, Okazaki K. The absence of large ulcer predicts latent cytomegalovirus infection in ulcerative colitis with positive mucosal viral assay. *Intern Med* 2010; 49: 2277-82.

7. Suzuki H, Kato J, Kuriyama M, et al. Specific endoscopic features of ulcerative colitis complicated by cytomegalovirus infection. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1245-51.

8. Rahier JF, Magro F, Abreu C, et al. Second European evidence-based consensus on the prevention, diagnosis and management of opportunistic infections in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 2014; 8: 443-68.

9. Storch GA, Buller RS, Bailey TC, et al. Comparison of PCR and pp65 antigenemia assay with quantitative shell vial culture for detection of cytomegalovirus in blood leukocytes from solid-organ transplant recipients. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 997-1003.

10. Roblin X, Pillet S, Oussalah A, et al. Cytomegalovirus load in inflamed intestinal tissue is predictive of resistance to immunosuppressive therapy in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 2001-8.

11. Sager K, Alam S, Bond A, Chinnappan L, Probert CS. Review article: cytomegalovirus and inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2015; 41: 725-33.

12. Wilks S, Moxon W. *Lectures on pathological anatomy*. London: Longmans, Green, 1889.

13. Powell RD, Warner NE, Levine RS, Kirsner JB. Cytomegalic inclusion disease and ulcerative colitis; report of a case in a young adult. *Am J Med* 1961; 30: 334-40.
14. Lawlor G, Moss AC. Cytomegalovirus in inflammatory bowel disease: pathogen or innocent bystander? *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1620-7.
15. Kim YS, Kim YH, Kim JS, et al. Cytomegalovirus infection in patients with new onset ulcerative colitis: a prospective study. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1098-01.
16. Cotte L, Drouet E, Bissuel F, Denoyel A, Trepo C. Diagnostic value of amplification of human cytomegalovirus DNA from gastrointestinal biopsies from human immunodeficiency virus-infected patients. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2066-9.
17. Hommes DW, Sterringa G, van Deventer SJ, Tytgat GNJ, Weel J. The pathogenicity of cytomegalovirus in inflammatory bowel disease: a systematic review and evidence-based recommendations for future research. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 245-50.
18. Kandiel A, Lashner B. Cytomegalovirus colitis complicating inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2857-65.
19. Kou T, Nakase H, Tamaki H, et al. Cytomegalovirus infection in patients with ulcerative colitis diagnosed by quantitative real-time PCR analysis. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1052-5.
20. Rahbar A, Bostrom L, Lagerstedt U, et al. Evidence of active cytomegalovirus infection and increased production of IL-6 in tissue specimens obtained from patients with inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2003; 9: 154-161.
21. Robey SS, Gage WR, Kuhajda FP. Comparison of immunoperoxidase and DNA in situ hybridization techniques in the diagnosis of cytomegalovirus colitis. *Am J Clin Pathol* 1988; 89: 666-71.
22. Wakefield AJ, Fox JD, Sawyerr AM, et al. Detection of herpesvirus DNA in the large intestine of patients with ulcerative colitis and Crohn's disease using the nested polymerase chain reaction. *J Med Virol* 1992; 38: 183-90.
23. Garrido E, Carrera E, Manzano R, Lopez-Sanroman A. Clinical significance of cytomegalovirus infection in patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 17-25.
24. Ormeci AC, Akyuz F, Baran B, et al. Steroid-refractory inflammatory bowel disease is a risk factor for CMV infection. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2016; 20: 858-65.
25. Landry ML, Ferguson D. Comparison of quantitative cytomegalovirus antigenemia assay with culture methods and correlation with clinical disease. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2851-6.
26. Göral V. Endoscopic Features of Ulcerative Colitis. *Türkiye Klinikleri J. Gastroenterohepatol-Special Topics* 2009; 2 (1):34-40.
27. Kelle İ, Erdiñç M. General Features of Antiviral Drugs. Erdiñç M, editör. *Viral Enfeksiyonlarda Güncel Tedavi Yaklaşımları ve İmmünizasyon*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2021. p.8-30.
28. Beswick L, Ye B and van Langenberg D. Toward an Algorithm for the Diagnosis and Management of CMV in Patients with Colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2016;22:2966-76.
29. Mourad FH, Hashash JG, Kariyawasam VJ, Leong RW. Ulcerative Colitis and Cytomegalovirus Infection: From A to Z. *Journal of Crohn's and Colitis*, 2020, 1162-71.
30. Goetgebuer RL, van der Woude CD, Bakker L, et al. The diagnosis and management of CMV colitis in IBD patients shows high practice variation: a national survey among gastroenterologists. *Scand J Gastroenterol* 2022 Nov; 57(11):1321-1326.
31. Kwon J, Flux D, Farraye FA, Kröner PT. Cytomegalovirus-related colitis in patients with inflammatory bowel disease. *Int J Colorectal Dis*. 2022 Mar; 37(3): 685-691.



Prioritising of Retinal Diseases During Covid-19 Outbreak

İnci Elif Erbahçeci Timur¹, Nagihan Uğurlu¹

1 Ankara City Hospital, Department of Ophthalmology, Ankara, Turkey

Received: 08.06.2022; Revised: 26.05.2023; Accepted: 29.05.2023

Abstract

Purpose: The aim of this study was to determine a management strategy for patients with retinal diseases to minimise the potential risk of visual impairment due to the postponement of treatments and visits during the lockdown for COVID-19.

Methods: Records of all patients who had rescheduled for retina appointments from March 20, 2020, to June 1, 2020, were identified to evaluate the details regarding best-corrected visual acuity (BCVA) before the COVID-19 pandemic (V_0 visit) and at the first visit after lockdown (V_1 visit); primary diagnosis, duration of postponement (weeks), change in Snellen line and intravitreal injection (IVI) requirement were recorded. Patients were rescheduled according to our diagnosis-based triage practice pattern; emergency, Group 1; urgent, Group 2; routine, Group 3; and elective, Group 4. BCVA, loss of Snellen line, IVI requirement, and duration of postponement were compared between V_0 and V_1 visits. In addition, BCVA, change in Snellen line, and the relationship between loss in Snellen line and duration of postponement was evaluated in intravitreally injected patients with neovascular age-related macular degeneration (nAMD) and diabetic macular edema (DME).

Results: A total of 1,383 eyes of 763 patients were recruited in this study. The difference in BCVA at V_0 visit was statistically significant among the groups and better in Group 4 ($p<0.000$). BCVA at V_1 visit was worse in group 1 and statistically different between groups ($p<0.001$). BCVA was also worse at V_1 visit than V_0 visit in groups 1 and 2 ($p<0.001$ and $p=0.003$). Patients with nAMD had more loss in Snellen line than patients with DME in Group 1 who were injected intravitreally ($p=0.004$).

Conclusion: These results can support retina specialists in anticipating the possible clinical consequences of outbreaks on retina patients and developing successful management strategies.

Keywords: COVID-19; coronavirus outbreak; prioritising, retinal diseases

DOI: 10.5798/dicletip.1313332

Correspondence / Yazışma Adresi: İnci Elif Erbahçeci Timur, Ankara City Hospital, Department of Ophthalmology, 06800, Ankara, Turkey, e-mail: incieliftimur@gmail.com

Covid-19 Salgın Sürecinde Retina Hastalıklarının Önceliklendirilmesi

Öz

Amaç: Çalışmanın amacı COVID-19 karantinası sırasında retina hastalığı olanlarda tedavi ve muayene ziyaretlerinin ertelenmesi nedeniyle potansiyel görme bozukluğu riskinin en aza indirecek bir yönetim stratejisi belirlemektir.

Yöntemler: 20 Mart 2020 - 1 Haziran 2020 tarihleri arasında retina takipleri yeniden planlanan hastalar belirlenerek COVID-19 pandemisi öncesi (M_0 muayene) ve pandemi sırasındaki ilk muayene (M_1 muayene) en iyi düzeltilmiş görme keskinlikleri (EİDGK), primer tanıları, ertelenme süresi (hafta), Snellen sıra değişiklikleri ve intravitreal enjeksiyon gereksinimi hasta kayıtlarından elde edildi. Hastaların takip planları tanıya dayalı triyaj uygulama sistemimize göre Grup 1; acil, Grup 2; zorunlu, Grup 3; rutin ve Grup 4; elektif olarak yeniden belirlendi. M_0 ve M_1 muayenelerdeki EİDGK, Snellen sıra değişiklikleri, intravitreal enjeksiyon gereksinimi ve ertelenme süreleri karşılaştırıldı. İntravitreal enjeksiyon uygulanan neovasküler yaşa bağlı makula dejeneransı (YBMD) olan hastalar ve diyabetik maküler ödemli (DMÖ) hastalardaki EİDGK ve Snellen sıra değişiklikleri; Snellen sıra kaybı ile gecikme süresi arasındaki ilişki değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmaya 763 hastanın toplam 1383 gözü dahil edildi. M_0 muayenede EİDGK-gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklıydı ve Grup 4'te daha iyiydi ($p<0,000$). M_1 muayenedeki EİDGK Grup 1'de daha kötüydü ve her grup arasında istatistiksel olarak farklılık vardı ($p<0,001$). Ayrıca EİDGK Grup 1 ve Grup 2'de M_1 muayenede M_0 muayeneden daha kötüydü ($p<0,001$ ve $p=0,003$). Grup 1'de intravitreal enjeksiyon yapılanlardan neovasküler YBMD'li hastalarda DMÖ'lü hastalara göre Snellen sıra kaybı daha fazlaydı ($p=0.004$)

Sonuç: Bu sonuçlar retina uzmanlarına salgının retina hastalarındaki olası klinik sonuçları tahmin etme ve başarılı yönetim stratejileri geliştirilmesinde yol gösterici olabilir.

Anahtar kelimeler: COVID-19; koronavirüs salgını; önceliklendirme; retina hastalıkları.

INTRODUCTION

In December 2019, a new strain of the coronavirus family causing severe pneumonia was identified¹. The disease was named 'Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)' by the World Health Organization (WHO) and then elucidated as a Public Health Emergency of International Concern and approved COVID-19 as a pandemic on March 11, 2020².

Being 65 years or older, having poorly controlled underlying health problems, and living in care facilities are the widespread risk factors for developing serious symptoms of COVID-19 infection, and these factors are also common among patients with retinal diseases. Many patients with retinal diseases may also have one or more health problems such as chronic lung disease, serious cardiovascular complications, being immunocompromised, diabetes mellitus, hypertension, obesity, chronic liver, and chronic kidney diseases, all of which make them vulnerable to more severe COVID-19 disease³.

Retinal diseases, including neovascular age-related macular degeneration (nAMD), diabetic

macular edema (DME), and macular edema secondary to retinal vein occlusion (RVO), require intravitreal anti-vascular endothelial growth factor (anti-VEGF) or steroid injections in a timely manner. A postponement of care for these patients can serve in permanent visual impairment, and thence, a follow-up algorithm is essential for these patients. Therefore, the retina specialists sought to triage patients and decided that needs urgent care. Eye care professionals must always consider individual medical and social situations apart from financial status such as age of the patient, laterality of the disease, location of the patient, and the availability of medical care during the lockdown.

To characterise the proper reappointment interval and produce guidance on implementing steps to prioritise treatment and grade priority, we sought to identify the demographic features of patients, intravitreal injection (IVI) rate, and visual acuity according to medical records before and during the COVID-19 pandemic. Management of patients with retinal diseases requires determining indispensable medical needs and considering healthcare staff and patients to

decrease the risk of infection spread. The present study aims to determine the management strategy of retinal diseases by our diagnosis-based triage practice pattern and identify the effects of delay in follow-up and intravitreal treatment on the visual status of patients during the COVID-19 pandemic.

METHODS

Yildirim Beyazit University Medical School Ethic Committee of Clinic Trials (Ankara, Turkey) confirmed the study on December 16, 2020, with an approval number of 116. Furthermore, written informed consent was acquired from the subjects in accordance with the Declaration of Helsinki. The present prospective study utilised data from medical records in the retina department of a tertiary referral hospital in Turkey.

After the first COVID-19-positive patient was seen in Turkey in March 2020, health services were interrupted for a while. Continuation of care for patients with retinal diseases, where possible, is essential to avoid irreversible vision impairment. Obscuring delays of appointments without rescheduling within a proper time may result unpredictably. When considering these factors, the necessity of a triage pattern is apparent. Our management strategy for prioritising to grade the disease severity during the outbreak was based on the diagnosis and clinical features. Appointments of patients with retinal diseases between March 20, 2020, and June 1, 2020, were rescheduled, and patients were prioritised as mentioned in Table 1.

Table 1: Triage of retinal clinic situations

	Emergency-seeimmediately- Group 1	Urgent-see as soon as possible- Group 2	Routine-reschedule 4-6 months Group 3	Elective-reschedule>6 months-Group 4
New/Follow-up cases	<ul style="list-style-type: none"> • Suspected or confirmed active nAMD needing treatment • IVI for DME, CRVO, and macular edema. • Active PDR requiring and continuing treatment never lasered and/or with recent vitreous hemorrhage at last visit • IVI controls without loading dose • Treatment-naive PDR patients 	<ul style="list-style-type: none"> • Macular edema requiring treatment • Severe NPDR with/without macular edema • IVI controls with just completed loading dose • nAMD in the first two years of treatment • Late-stage AMD with just vision loss before the outbreak • RVO requiring treatment (laser or IVI) 	<ul style="list-style-type: none"> • Advanced stage non-neovascular (dry) AMD • Stable nAMD (require no treatment) • Moderate NPDR without macular edema • CSCR • Retinal dystrophies • Screening for macular drug toxicity • Stable RVO with macular edema, having had multiple intravitreal injections 	<ul style="list-style-type: none"> • Early-stage non-neovascular (dry) AMD • Mild NPDR • Stable; treated proliferative diabetic retinopathy • Peripheral retinal degeneration

AMD: age-related macular degeneration, CRVO: central retinal vein occlusion, CSCR: central serous chorioretinopathy, IVI: intravitreal injection, nAMD: neovascular age-related macular degeneration, NPDR: non-proliferative diabetic retinopathy, PDR: proliferative diabetic retinopathy, RVO: retinal vein occlusion

Guidance for prioritising patients according to medical history and need

Based on our diagnosis-based triage system, we classified cases as emergency, urgent, routine, and elective (1 to 4). Group 1 is emergency and see the patient immediately; Group 2 is urgent and considers examining the patient as soon as possible; and Group 3 is routine and reschedule appointments within 3-6 months. The cases that can be postponed for more than six months without a prominent risk for visual impairment

and functioning are qualified as “elective” and classified as Group 4.

Intravitreal injection control patients without loading dose, suspected or confirmed active nAMD needing treatment, new cases with vision loss or visual field defects, and new central retinal vein occlusion (CRVO) cases were prioritised as Group 1, and their treatment schedules were maintained immediately. In addition, IVI for nAMD, DME, RVO, and macular edema were classified as Group 1 to complete the loading dose

for maximising the reappointment interval as much as possible.

Patients with nAMD in the first two years of treatment who need frequent IVI two years after the diagnosis of nAMD^{4,5}, late-stage non-neovascular (dry) AMD with vision loss at the last visit before the outbreak of COVID-19, and IVI controls with a recently completed loading dose apart from visual status were prioritised as group 2.

Patients with DME and macular edema secondary to branch retinal vein occlusion (BRVO) are less likely to endure irreversible vision loss in the short term^{6,7} nevertheless, extended and delayed treatments (> 4–6 months) should be prevented; the process should be assessed depending on the analysis of subgroups, age, types of diabetes and course of disease progression during the follow-up period. Generally, diabetic retinopathy (DRP) stages were defined as severe nonproliferative diabetic retinopathy (NPDR) in Group 2, moderate NPDR in Group 3, and mild NPDR in Group 4 unless macular edema persists (Table 1).

Proliferative diabetic retinopathy (PDR) patients without-DME, vitreous hemorrhage, panretinal photocoagulation need, and patients with asymptomatic peripheral retinal degeneration and early-stage non-neovascular AMD were classified into Group 4.

Subgroup analysis of DRP was classified as PDR and NPDR; PDR was subgrouped as active or inactive, and NPDR as mild, moderate, or severe. The subgroup analysis of AMD was described as neovascular and non-neovascular; nAMD as active or stable and non-neovascular as early, intermediate, or late stage.

All prioritised patients were called to inform them about rescheduling and arrange a new appointment. The records of 763 patients examined after the lockdown were recruited in this study. Best corrected visual acuity (BCVA) before the COVID-19 pandemic (V_0 visit) and at the first visit after lockdown (V_1 visit), gender, age, primary diagnosis, duration of postponement

(weeks), change in Snellen line, and IVI requirement for each group were evaluated. BCVA, loss of Snellen line, intravitreal injection requirement, and duration of postponement were compared between V_0 and V_1 visits. BCVA and loss of Snellen line were evaluated in intravitreally injected patients with nAMD and DME. The relationship between loss in Snellen line and duration of postponement was determined. The IVI rate and the distribution of diagnosis in each group were also compared.

Statistical Analysis

All analyses and calculations were performed via IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.). BCVA at V_0 and V_1 visits were determined using Snellen chart and converted to the logarithm of the minimal angle of resolution (logMAR) for the statistical analyses. Independent samples t-test or Mann-Whitney U test was used to compare quantitative variables among groups. Paired sample t-test was used to determine the differences at V_0 and V_1 visits in each group. Correlations with changes in Snellen line were analysed using Spearman's correlation coefficient. All data were expressed as mean \pm standard deviation (\pm SD). A p-value < 0.05 was considered statistically significant in the present study.

RESULTS

A total of 763 patients' appointments were rescheduled. 432 (56.7%) women and 331 (43.3%) men were recruited in this study. BCVA was worse at V_1 visit ($p=0.000$); mean BCVA was 0.46 ± 0.49 logMAR units at V_0 visit and 0.48 ± 0.51 logMAR units at V_1 visit. 1383 eyes of 763 patients were analysed; 98 (7.1%) eyes had active nAMD, and 102 (7.4%) had active PDR. In addition, 430 (31.1%) had non-neovascular AMD, and 36 (2.6%) had stable nAMD. Of the studied eyes, 347 (25.1%) had NPDR, and 143 (10.3%) had inactive PDR. Furthermore, 592 (42.8%) patients had any form of DRP, and 63 (4.6%) had CRVO or BRVO. The distribution of diagnosis in the study population is summarised in Table 2.

Table II: Distribution of diagnosis in the study population

Diagnosis	n, %
Active nAMD	98 (7.1%)
Non-neovascular AMD	430 (31.1%)
Stabil nAMD	36 (2.6%)
DRP	592 (42.8%)
NPDR	347 (25.1%)
Active PDR	102 (7.4%)
Inactive PDR	143 (10.3%)
CRVO/BRVO	18/45 (4.6%)
Peripheral retinal degeneration	32 (2.3%)
Epiretinal membrane	36 (2.6%)
Others (CSCR, telangiectasia, degenerative myopia, HTRP, retinal dystrophy)	96 (6.9%)
Total	1383 (100%)

AMD: age-related macular degeneration, BRVO: branch retinal vein occlusion, CRVO: central retinal vein occlusion, CSCR: central serous chorioretinopathy, DRP: diabetic retinopathy, HTRP: hypertensive retinopathy, n: number, nAMD: neovascular age-related macular degeneration, NPDR: non-proliferative diabetic retinopathy, PDR: proliferative diabetic retinopathy.

Group 1 consisted of 177 (12.8%) eyes of 94 (12.3%) patients; 211 (15.3%) eyes of 116 (15.2%) patients were in Group 2, 464 (33.6%) eyes of 256 (33.6%) patients were in Group 3 and 531 (38.4%) eyes of 297 (38.9%) patients were in

Table III: Characteristic features of study groups

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	p-value
Number of patients	94 (12.3%)	116 (15.2%)	256 (33.6%)	297 (38.9%)	
Number of eyes	177 (12.8%)	211 (15.3%)	464 (33.6%)	531 (38.4%)	
Age (years)	63.63±7.7	64.61±7.75	58.3±8.6	59.5±9.3	0.000*
BCVA(logMAR)					
V ₀	0.76±0.59	0.65±0.55	0.50±0.48	0.25±0.31	0.000*
V ₁	0.9±0.66	0.71±0.54	0.51±0.48	0.25±0.32	0.000*
Active nAMD (n,%)	43 (23.7%)	55 (26.1%)	-	-	
Non-neovascular AMD (n,%)	16 (9%)	28 (13.2%)	124 (26.7%)	262 (49.3%)	
DRP (n,%)	107 (59.9%)	103 (47.9%)	212 (45.7%)	170 (31.9%)	
Active PDR (n,%)	44 (23.8%)	58 (26.6%)	-	-	
Inactive PDR(n,%)	-	-	89 (19%)	54 (10%)	
NPDR (n,%)	63 (36.1%)	45 (21.3%)	123 (26.7%)	116 (21.9%)	
CRVO/BRVO (n,%)	5/3 (4.5%)	4/10 (6.6%)	8/27 (7.5)	1/5 (1.1%)	
Requirement of IVI (n,%)	114(64.4%)	53 (25.1%)	8 (1.7%)	-	
Duration of postponement(weeks)	3.8±1	6.3±1.2	16.4±4.7	29.9±5.7	0.000*

AMD: age-related macular degeneration, BCVA: best-corrected visual acuity, BRVO: branch retinal vein occlusion, CRVO: central retinal vein occlusion, DRP: diabetic retinopathy, IVI: intravitreal injection, n: number, nAMD: neovascular age-related macular degeneration, NPDR: non-proliferative diabetic retinopathy, PDR: proliferative diabetic retinopathy, V₀: last visit before COVID-19 pandemic, V₁: first visit after the lockdown. *p<0.001

In total, 175 eyes in groups 1, 2, and 3 required IVI. There was a significant difference in IVI requirement between groups, with the most being found in Group 1 (p<0.01): 114 (64.4%) eyes in Group 1, 53 (25.1%) in Group 2 and 8 (1.7%) in Group 3. The duration of postponement was 3.8±1 weeks in Group 1, 6.3±1.2 weeks in Group 2,

Group 4 (Table 3.). When comparing BCVA at V₁ visit between groups apart from groups 1 and 2, the comparisons were statistically significant and better in Group 4 (p<0.000, each comparison; apart from Group 1 vs Group 2 p=0.081). BCVA at V₁ visit was worst in Group 1 and statistically different among groups (p<0.001, in all comparisons). BCVA was worse at V₁ visit than V₀ visit in groups 1 and 2 (p=0.000 and p=0.003). No difference was observed in groups 3 and 4 (p=0.117 and p=0.830).

The majority of patients in Group 1 had active nAMD (n=43, 23.7%) and active PDR (n=44, 23.8%). Group 2 was similar to group 1; active nAMD (n=55, 26.1%) and active PDR (n=58, 26.6%). The majority of patients were taken care of for DRP (n=212, 45.7%) in Group 3 and non-neovascular AMD (n=262, 49.3%) in Group 4 (Table 3).

16.4±4.7 weeks in Group 3, and 29.9±5.7 weeks in Group 4 (Table 3).

Of the eyes requiring IVI, 114 (65.1%) were in Group 1, 53 (30.3%) were in Group 2, and 8 (4.6%) were in Group 3. These injections included both loading and PRN (pro re nata) doses. Patients with active PDR and NPDR with macular edema

required more IVI in groups 1 (eyes, n=63; 55.3%) and 2 (eyes, n=26; 49%). BCVA at V₁ visit was significantly worse in Group 1 and Group 2 than BCVA at V₀ visit (p<0.001 and p<0.001), and no difference was found in Group 3 (p=0.588) (Table4).

Table IV: Distribution of intravitreal injection requirement by diagnosis

	Group 1	Group 2	Group 3
Number, n (%)	114 (65.1%)	53 (30.3%)	8 (4.6%)
Active nAMD (n,%)	41 (36%)	23 (43.4%)	
DME	63 (55.3%)	26 (49%)	3 (37.5%)
Active PDR (n,%)	22 (19.3%)	13(24.5%)	
NPDR (n,%)	41 (36%)	13 (24.5%)	3 (37.5%)
RVO (n,%)	8 (6.6%)	4 (7.6%)	5 (62.5%)
Other (n,%)	2(2.1%)		
BCVA (logMAR)			
V ₀	0.81±0.49	0.63±0.41	0.67±0.65
V ₁	1.02±0.59	0.82±0.45	0.76±0.59
p-value	0.000*	0.000*	0.588

BCVA: best-corrected visual acuity, DME: diabetic macular edema, nAMD: neovascular age-related macular degeneration, NPDR: non-proliferative diabetic retinopathy, PDR: proliferative diabetic retinopathy, RVO: retinal vein occlusion, V₀: last visit before COVID-19 pandemic, V₁: first visit after the lockdown. *p<0.001

Intravitreally injected patients were also compared in groups 1 and 2 according to the diagnosis of retinal diseases such as nAMD and DME. BCVA at V₀ and V₁ visits were worse, and loss in Snellen line was more in patients with nAMD than in patients with DME in Group 1 (p=0.031, p<0.001, and p=0.004). Patients with nAMD were also older than patients with DME in groups 1 and 2 (p<0.001 and p<0.001). However, the duration of postponement was not different between patients with nAMD or DME in groups 1 and 2 (p=0.623 and p=0.984) (Table 5). A longer duration of postponement and the priority of group had moderate correlation with more loss in Snellen line (p<0.001, Spearman correlation: 0.422 and CI:0.367-0.477, p<0.001, Spearman correlation: 0.415, CI:0.359-0.469 and p<0.001).

Table V: Comparison of intravitreally injected patients with nAMD and DME in groups 1 and 2.

	Group 1			Group 2		
	nAMD (n=41)	DME (n=63)	pvalue	nAMD (n=23)	DME (n=26)	pvalue
Age (years)	69.3±4.5	61±7.2	0.000**	69.8±5.2	60.3±5.4	0.000**
BCVA (logMAR)						
V ₀	0.97±0.56	0.74±0.41	0.031*	0.68±0.45	0.63±0.39	0.944
V ₁	1.3±0.65	0.85±0.45	0.000**	0.94±0.44	0.94±0.44	0.242
Change in Snellenline	-0.094±0.097	-0.045±0.055	0.004*	-0.078±0.079	-0.135±0.103	0.057
Duration of postponement(weeks)	3.95±1.02	3.84±1.13	0.623	6.65±1.43	6.77±1.17	0.984

BCVA: best corrected visual acuity, DME: diabetic macular edema, nAMD: neovascular age-related macular degeneration, V₀: last visit before COVID-19 pandemic, V₁: first visit after the lockdown. *p<0.05 **p<0.001

DISCUSSION

The COVID-19 outbreak has resulted in unpreventable number of infections and deaths in recent times and continues to damage the healthcare systems. Meanwhile, we can provide the appropriate care by constituting a safety practice pattern and prioritising patients vulnerable to COVID-19. In addition, several organisations, including the American Society of Retina Specialists, Canadian Ophthalmological

Society, and Japanese Ophthalmological Society, have declared general guidance for ophthalmologists to administer care to patients during the COVID-19 pandemic⁸⁻¹⁴. However, these guidances are specifically appropriate to the country's healthcare system, and their applicability to other countries is based on country-specific factors.

In the present study, we have developed a triage pattern for managing patients with retinal

diseases during the COVID-19 lockdown and outbreak in Turkey. As significant as visual impairment may be to patients, we always consider that non-ophthalmic life-threatening conditions must replace ophthalmological considerations with this diagnosis-based triage practice pattern. The safety of patients and healthcare staff is critical in all steps.

A decline in the number of appointments can decrease the risk of exposure to COVID-19, though an extended period of not visiting the ophthalmologist may result in irreversible visual impairment. Thus, patients with retinal disorders can be triaged effectively and efficiently using this triage pattern without facilitating disease transmission. Postponed appointments were rescheduled by determining each patient's diagnosis, prognosis, and medical history. After prioritising, all patients in each group were called to inform them about the rescheduling date; therefore, appointment delay was favorably controlled.

Government restrictions on the movement of >65 years older elderly persons in Turkey to decrease any potential exposure to the virus, and the stack of arranged appointments may necessitate prioritising the appointments for the elderly population essential. When considering the vulnerability of elderly patients, the accuracy of triage systems has been receiving attention. Going through patients' medical records may be time-consuming, but it constitutes the basis of the triage system.

Retinal diseases, including PDR, DME, and nAMD, that can result in permanent visual impairment if not treated in a proper time manner constituted the majority of patients requiring IVI in priority groups 1 and 2 of the study. Therefore, these patients generally cannot have their visits delayed for an extended period. On the other hand, retina specialists had difficulty determining which patients requiring intravitreal treatment were the most likely to

endure a prolongation of their regular follow-up interval to reduce patient, medical staff, and physician exposure and decrease the spread of COVID-19. The requirement of IVI, diagnosis distribution, and visual acuity varied between priority groups in this study. 64 of 98 patients with active nAMD required intravitreal treatment, and 35 of 102 patients with active PDR required intravitreal treatment. There was more Snellen line loss in patients with nAMD than in patients with DME. Snellen line loss had a moderate positive correlation with the duration of postponement. The worst visual acuity, the least number of patients, and the most amount of IVI were in Group 1. Viola et al¹⁵ determined lower adherence to IVI treatment rate during lockdown weeks compared to unlocked weeks and the previous trimester. In the current study, loss in Snellen line was more, and BCVA at V₀ and V₁ visits were worse in patients with nAMD than in patients with DME intravitreally injected in Group 1. Defining the bounds of groups and examining the prioritised groups as soon as possible may minimise the unpredictable outcomes of COVID-19 on patients with retinal diseases and in retina departments. Thus, the goal of our practice pattern is to optimise the advantages for patients. Individual patient factors may need to be considered when determining whether to bring a patient in or when defining the period between visits.

Intravitreal injections are mandatory visits, and a longer duration of postponement may increase the risk of potential vision loss for patients with nAMD rather than patients with DME. However, while planning to reduce the risk of vision loss and avoid exposure to viral loads, priority patients should be identified with a diagnosis-based triage practice pattern. Increased loss in Snellen line was associated with a longer duration of postponement in the high-risk group. This relation may be because of

the short-term effect of the COVID-19 pandemic on patients with retinal diseases.

In retina departments, retina specialists are on the frontline, which means a high risk of exposure to COVID-19 because they examine patients at a very close distance. Thus, the psychological stress caused by COVID-19 on healthcare providers is unavoidable, a fact that has been well described^{16,17}. Prioritising patients according to this triage pattern would avoid not only the burden on healthcare professionals but also support their well-being.

To the best of our knowledge, no studies have been published on the distribution of diagnosis in rescheduled patients, characteristic features, and differences in prioritised groups in a retina department. Our triage scheme also has some limitations. In this study, the available data of a single centre were limited to short-term, had records of two different time periods, and lacked long-term results. Furthermore, this study did not include the evaluation of those outcomes that should have been done after the end of the pandemic was absent. Therefore, we could not compare our preliminary results with any in the literature.

We hope this diagnosis-based triage practice pattern should become the preferred practice of retina specialists, where applicable. Indeed, the applicability of this practice pattern will be based on the actual status of the pandemic in each individual country; however, the general principles should be appropriate worldwide.

CONCLUSION

The probability of exposure to COVID-19 can be reduced by postponing scheduled appointments. Triage based on the severity of retinal diseases and COVID-19 status, appropriate and acceptable personal protective equipment, social distancing, sanitisation, and other mandatory precautions should help retina specialists perform their professional responsibilities in a safe manner. Using

preferred triage practice patterns will facilitate overcoming safer patient encounters without detriments to the patients and healthcare staff. In conclusion, these preliminary results can help retina specialists anticipate the possible consequences of outbreaks on retina patients and develop successful management strategies. These results also emphasise prioritising the retinal diseases is mandatory for avoiding persistent visual impairments.

This study was declared as a presentation at the Spring Symposium of the Turkish Ophthalmological Association, 2021

Ethics Committee Approval: Yildirim Beyazit University Medical School Ethic Committee of Clinic Trials (Ankara, Turkey) confirmed the study on December 16, 2020, with an approval number of 116. Furthermore, written informed consent was acquired from the subjects in accordance with the Declaration of Helsinki.

Conflict of Interest: The authors declared no conflicts of interest.

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

REFERENCES

1. Guan W-J, Ni Z-Y, Hu Y. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;1-13.
2. Cucinotta D, Vanelli M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Biomed.* 2020;91(1):157-160.
3. Jee Y. WHO International Health Regulations Emergency Committee for the COVID-19 outbreak. *Epidemiol Health.* 2020;42:e2020013. doi: 10.4178/epih.e2020013.
4. Bakri SJ, Thorne JE, Ho AC et al. Safety and Efficacy of Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapies for Neovascular Age-Related Macular Degeneration: A Report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology.* 2019;126(1):55-63. doi: 10.1016/j.ophtha.2018.07.028.
5. Freund KB, Korobelnik JF, Devenyi R, et al. Treat-and-extend regimens with anti-VEGF agents in

retinal diseases: a literature review and consensus recommendations. *Retina*. 2015;35(8):1489-506.

6. Bressler NM, Beaulieu WT, Glassman AR, et al. Persistent macular thickening following intravitreal aflibercept, bevacizumab, or ranibizumab for central-involved diabetic macular edema with vision impairment: a secondary analysis of a randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmol*. 2018;136:257-69.

7. Schmidt-Erfurth U, Lang GE, Holz FG, et al. RESTORE Extension Study Group (2014) Three year outcomes of individualized ranibizumab treatment in patients with diabetic macular edema: the RESTORE extension study. *Ophthalmology*. 2014; 121:1045-53.

8. American Academy of Ophthalmology (2020) Important coronavirus updates for ophthalmologists. March 31, 2020 <https://www.aaof.org/education/headline/alert-important-coronavirus-context>

9. Kodjikian L. Quelle conduite à tenir adopter vis à vis des injections intravitréennes (IVT) dans cette période d'épidémie au Covid-19 - SARS-CoV-2 ? [How to approach intravitreal injections during this COVID-19 pandemic ?]. *J Fr Ophtalmol*. 2020;43(6):539-540. doi: 10.1016/j.jfo.2020.04.019.

10. Nguyen AX, Gervasio KA, Wu AY. Differences in SARS-CoV-2 recommendations from major ophthalmology societies worldwide. *BMJ Open Ophthalmol*. 2020;5(1):e000525.

11. Lim LW, Yip LW, Tay HW et al. Sustainable practice of ophthalmology during COVID-19:

challenges and solutions. *Graefes Arch ClinExpOphthalmol*. 2020;258(7):1427-36. doi: 10.1007/s00417-020-04682-z.

12. Hahn P, Blim JF, Packo K, et al. The Impact of COVID-19 on US and International Retina Specialists, Their Practices, and Their Patients. *J Vitreoretin Dis*. 2021;6(1):40-6. doi: 10.1177/24741264211034112

13. Chaudhary V, Rosenberg D, Barbosa J, et al. National survey of Canadian Retina Society members on guidelines for ophthalmic care during the COVID-19 crisis: Canadian Retina Research Network (CR2N) COVID-19 Steering Committee analysis. *Can J Ophthalmol*. 2020;55(5):452-4. doi: 10.1016/j.cjco.2020.06.001.

14. Hu V, Wolvaardt E. Ophthalmology during COVID-19: who to see and when. *Community Eye Health*. 2020;33(109):20-3.

15. Viola F, Milella P, Giuffrida FP, Ganci S, Invernizzi A. The impact of coronavirus disease (COVID-19) pandemic on intravitreal injections treatment for macular diseases: report from a referral hospital in Milan. *Retina*. 2021;14(4):701-5.

16. Enli TF, Koyuncu E, Özel Ş. A review of protective and risk factors affecting psychosocial health of healthcare workers in pandemics. *Ankara Med J*. 2020; 20: 488-504.

17. Yalçın G, Sayınbatur B, Karay E, Karakaş M. Psychological Stress of Healthcare Workers Caused by the COVID-19 Pandemic. *Dicle Med J*. 2020;47(3):525-41.



Differentiation of High-Attenuation Renal Cyst and RCC with CT Texture Analysis on Unenhanced CT

Mustafa Yıldırım¹, Murat Baykara², Mustafa Koç³

1 Department of Radiology, University of Health Sciences, Elazığ Fethi Sekin City Hospital, Elazığ, Turkey

2 Department of Radiology, Fırat University, Faculty of Medicine, Elazığ, Turkey

Received: 05.06.2022; Revised: 05.06.2023; Accepted: 06.06.2023

Abstract

Objective: The goal of this research is to evaluate the efficiency of computed tomography texture analysis in differentiating renal cell carcinoma from a high-attenuation renal cyst on non-contrast computed tomography.

Methods: Forty-nine non-contrast abdominal computed tomography examinations, 27 patients with high-attenuation renal cyst and 22 patients with renal cell carcinoma were evaluated retrospectively. Region of interest was drawn to cover the entire lesion in the sections. Gray-level intensity (Hounsfield Unit value), entropy, standard deviation, uniformity, kurtosis, skewness, size% lower, size % mean, size% upper, values were obtained by texture analysis. The findings of both groups were compared statistically.

Results: Mean and median gray-level intensity values and entropy values were significantly higher in renal cell carcinoma than in high-attenuation renal cyst ($p<0.001$). There was no significant difference in other parameters. When receiver operator characteristics analysis was performed for the mean value, the area under the curve value was found to be 0,754. When the threshold value was selected as 34.5708, 72.7% sensitivity and 66.7% specificity was found.

Conclusion: Texture analysis may be useful in differentiating renal cell carcinoma from high-attenuation renal cysts on non-contrast computed tomography.

Key words: Texture analysis, High-attenuation renal cyst, Renal cell carcinoma

DOI: 10.5798/dicletip.1313342

Correspondence / Yazışma Adresi: Mustafa Yıldırım, Department of Radiology, University of Health Sciences, Elazığ Fethi Sekin City Hospital, Elazığ, Turkey e-mail: Mustafa23468@outlook.com

Kontrastsız BT'de BT tekstür analizi ile Yüksek atenuasyonlu Renal Kist ve RCC'nin ayrımı

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı kontrastsız bilgisayarlı tomografide, yüksek atenuasyonlu renal kist ve renal hücreli karsinom ayrımında, bilgisayarlı tomografi tekstür analizinin etkinliğini değerlendirmektir.

Yöntemler: Kırk dokuz kontrastsız abdomen bilgisayarlı tomografi incelemesi, yüksek atenuasyonlu 27 renal kistli hasta ve renal hücreli karsinomlu 22 hasta retrospektif olarak değerlendirildi. İlgili alanı, kesitlerde tüm lezyonu kapsayacak şekilde çizildi. Gri seviye intensitesi (Hounsfield birim değeri), entropi, standart deviasyon, uniformite (uniformity), basıklık (kurtosis), çarpıklık (skewness), size % lower, size % mean, size % upper, değerleri tekstür analizi ile elde edildi. Her iki grubun bulguları istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: Ortalama ve medyan gri seviye intensitesi değerleri ile entropi değerleri renal hücreli karsinomda anlamlı olarak yüksek-atenuasyonlu kistten daha yüksekti ($p<0.001$). Diğer parametrelerde anlamlı bir farklılık yoktu. Ortalama değer için alıcı işlem karakteristikleri analizi yapıldığında, eğri altındaki alan 0,754 olarak bulundu. Kesim değeri 34.5708 seçildiğinde, %72,7 sensitivite ve %66,7 spesifite bulundu.

Sonuç: Kontrastsız bilgisayarlı tomografide, renal hücreli karsinomu yüksek atenuasyonlu renal kistlerden ayırt etmede tekstür analizi faydalı olabilir.

Anahtar kelimeler: Tekstür analizi, Yüksek atenuasyonlu renal kist, Renal hücreli karsinom

INTRODUCTION

Renal cell carcinoma (RCC) is the eighth most prevalent cancer in humans, arising from the renal tubular epithelium¹. RCC constitutes 2% of all malignant tumors seen in adults and 80% of all kidney tumors². It has clinical outcomes with wide variation³. Major clinical features are macroscopic hematuria (60 %), flank pain (40 %), palpable flank mass (30-40%). This triad is only seen in 10-15% of patients⁴ Therefore, RCC is most commonly diagnosed incidentally with ultrasound, computed tomography (CT), or Magnetic Resonance Imaging MRI⁵.

With radiological imaging is used more often in daily practice incidental kidney lesions are determined commonly, especially among the elderly. Many of these are detected on non-contrast abdominal CT^{6,7}. A non-contrast abdomen CT is used to assess flank pain, renal stone, and screening colon cancer. The most common renal lesions are cysts and renal cysts are present in ~40% of all CT scans⁸. Benign renal cysts with water attenuation, homogeneous, and well-defined are easily characterized at CT. But, some benign renal cysts have high attenuation (>20 HU) due to

proteinaceous or hemorrhagic contents. Ari et al showed that a homogeneous renal lesion with an attenuation of 70 HU or higher at unenhanced CT is more than 99.9% likely high-attenuation renal cyst⁹. But hyperattenuating renal cysts with values below 70 HU may not be differentiated from RCC at non-contrast CT because both have similar densities¹⁰. Density measurement alone may cause errors in diagnosis¹¹. Therefore, ultrasound, contrast-enhanced CT or MR imaging (especially T1 sequence) may be required. But non-contrast imaging should be done in patients with chronic kidney disease or IV contrast media allergy¹². In addition, new imaging increases the radiation dose, cost, and workload. Therefore, it is important to differentiate RCC from high-attenuation cysts with values below 70 HU on unenhanced CT.

Tissue heterogeneity is associated with microscopic biological changes. The radiological images used for diagnosis are digital. Texture analysis is a technique for evaluating signal properties in digital images, such as gray-level intensity and pixel location. Entropy, gray-level intensity, uniformity,

skewness, and kurtosis are all measured using this post-processing technique¹³.

The majority of RCCs are heterogeneous, especially when measured in the small region of interests (ROI)¹⁴. Texture analysis can provide information regarding intralésional heterogeneity. Therefore, texture analysis may be useful in distinguishing between cysts and RCC. In the literature, we could not find any data related to texture analysis in the differentiation of high-attenuation cyst and RCC. The aim of this study is to evaluate the efficiency of CTTA in differentiating high-attenuation renal cysts from RCC on non-contrast CT.

METHODS

Study Design and Participants

Firat University local ethics committee approved this retrospective study on 16 December 2021 (Protocol No: 2021/13-48). The research was carried out at Firat University Hospital. Images of patients who underwent non-contrast abdominal CT between 2017-2020 were examined retrospectively. Imaging indications were flank pain, renal stone, hematuria, and patients with chronic kidney disease or IV contrast media allergy. 140 renal lesions with a density higher than 20 HU were detected. Renal lesion with an attenuation of 70 HU or higher at unenhanced CT is high-attenuation renal cyst⁹. Therefore, 80 renal lesions with a density greater than 70 HU were excluded from the study. 60 renal lesions with a density higher than 20 HU were included in the study. Contrast-enhanced MRI had been performed in 49 of 60 patients. MRI findings of 27 patients were compatible with Bosniak type 2 cyst, and MRI findings of 22 patients were compatible with RCC. RCC diagnosis of 22 patients had been pathologically confirmed. Thus, forty-nine non-contrast abdominal CT examinations, 27 patients with high-attenuation renal cysts, and 22 patients with RCC were included in the study.

CT protocol and Texture analysis

CT examinations were made by a GE Optima (General Electric Medical Systems, Milwaukee, WI) with 128 detectors. The axial abdomen images were loaded into a 27-inch iMac computer. Texture analysis was measured using OsiriX V.4.9 imaging software. An ROI was drawn in the sections to cover the whole lesion. (Figure 1, Figure 2). The mean, standard deviation, median, minimum, maximum, variance, entropy, uniformity, skewness, kurtosis, size %L, size %M and size %U values were obtained from the gray level intensities of the pixels in the ROIs¹³. Measurement was made at a single slice of the lesion. An in-house MATLAB software was used to give the whole image analysis algorithm. (version R2009b; MathWorks, Natick, MA, USA). The results of both groups were compared statistically.



Figure 1: High-attenuation renal Cyst and CT texture analysis

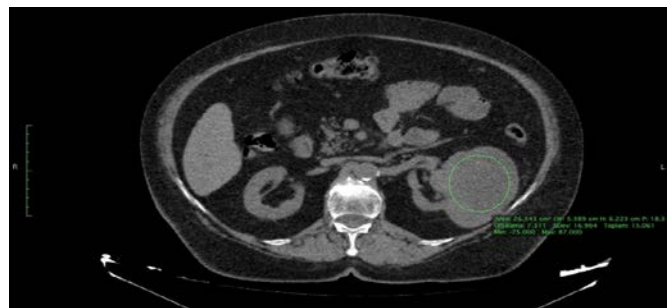


Figure 2: RCC and CT texture analysis

Statistical Analysis

IBM SPSS for Windows, version 25.0, was used to conduct statistical analyses (IBM statistics for Windows version 25, IBM Corporation, Armonk,

New York, USA). The mean ± standard deviation are used to present the data. The Kolmogorov-Smirnov test was used to determine the normality of the distribution and the Student t-test was used to compare the groups. Statistical significance was defined as a p-value of less than 0.05. The Area Under the Curve (AUC) was used to determine the predicted validity of parameters.

RESULTS

The age range of patients with cysts was between 40 and 77 years. The age range of patients with RCC was between 44 and 73. Of the patients with hyperattenuating cysts, 15 were male and 12 were female. Of the patients with RCC, 14 were male and 8 were female. No significant difference was observed between the two groups in terms of gender and age. Density values of the hyperattenuating cysts were between 20 and 39 HU. Density values of the RCCs were between 34 and 64 HU. Mean gray-level intensity, median value, and entropy values were significantly higher in RCC than in high-attenuation renal cysts ($p < 0.001$) (Figure 3, Figure 4). Other parameters did not show a significant difference (Table 1). When receiver operator characteristics (ROC) analysis was performed for the mean value, the AUC value was found to be 0,754. When the threshold value was selected as 34.5708, 72.7% sensitivity and 66.7% specificity was found (Figure 5).

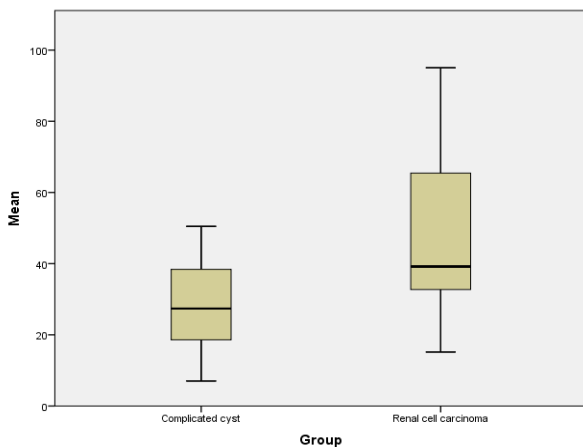


Figure 3. Mean values of RCC and high-attenuation renal cyst

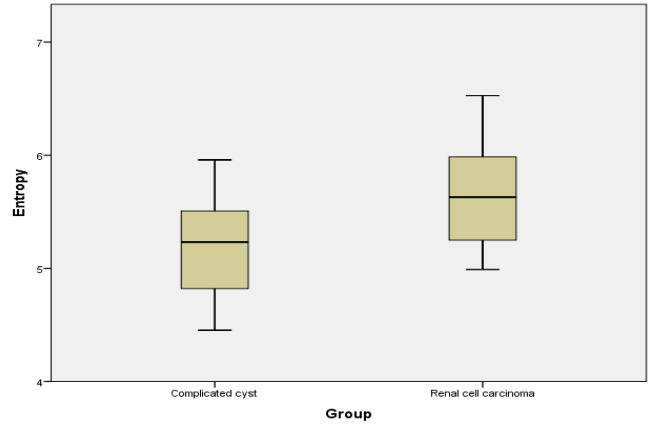


Figure 4. Entropy values of RCC and high-attenuation renal cyst

Table I: Texture analysis parameters for renal cyst and RCC

	High-attenuation renal cyst (n=27)		Renal cell carcinoma (n=22)		p
	Mean	Standard Deviation	Mean	Standard Deviation	
Mean	28.44	12.57	47.78	22.79	<0.001
Standard Deviation	21.50	18.25	26.23	38.91	0.577
Minimum	-18.70	29.40	-9.23	47.34	0.395
Maximum	181.04	303.56	190.45	324.17	0.917
Median	26.98	13.67	43.27	18.21	<0.001
Variance	782.96	1532.05	2133.36	6360.87	0.291
Entropy	5.15	0.52	5.64	0.41	<0.001
Size%L	12.94	6.08	13.57	4.91	0.697
Size%U	13.26	4.85	14.83	1.87	0.159
Size%M	73.79	10.39	71.60	6.60	0.394
Kurtosis	15.68	32.87	4.91	4.91	0.135
Skewness	1.24	2.79	0.43	1.11	0.205
Uniformity	0.25	0.15	0.23	0.09	0.592

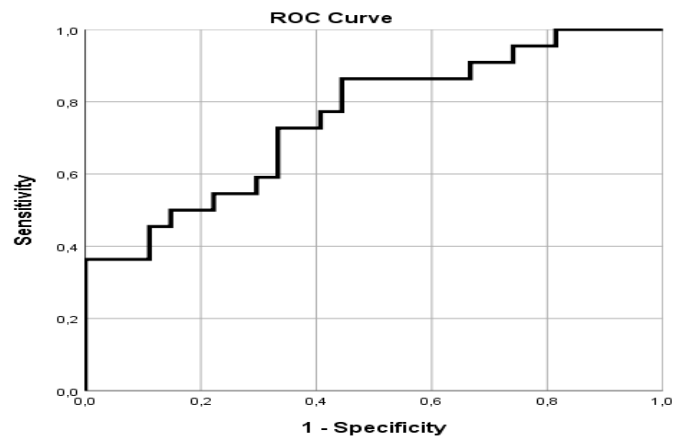


Figure 5. ROC curve for the mean value (AUC=0.754).

DISCUSSION

The aim of this research was to evaluate the efficiency of CTTA in differentiating renal cell carcinoma from a high-attenuation renal cyst on non-contrast CT. In our study, mean and median gray-level intensity values and entropy values were significantly higher in renal cell carcinoma than in high-attenuation renal cyst ($p < 0.001$).

Most incidental renal lesions are benign cysts. Some of the benign cysts are complex cysts. A hemorrhagic cyst with an attenuation of >70 HU is also a complex cyst and the diagnosis is already straightforward on CT. But differentiation of other high-attenuation renal cysts from RCC can be difficult on unenhanced CT. Contrast-enhanced imaging should be performed in differentiating high-attenuation renal cyst from RCC. The aim of this study was to demonstrate the efficacy of CTTA in differentiating complicated cysts and RCC without the need for contrast-enhanced imaging. According to the findings of our study, texture analysis may be useful in differentiating hyperattenuating renal cysts and RCC on unenhanced CT images.

Hyperattenuating renal cysts do not even need follow-up. But contrast-enhanced imaging should be performed in patients with RCC to make the subtype differentiation, staging, and evaluate the relationship with adjacent structures (collecting system, vascular structures). CTTA can provide an effective triage for additional imaging. CTTA may identify hyperattenuating cysts and this eliminates the need for contrast imaging.

RCCs are generally heterogeneous¹⁴. Texture analysis can reveal details about heterogeneity. The degree of lesion heterogeneity is important in evaluating renal masses. In our study, lesion heterogeneity was evaluated by texture analysis. Texture analysis not only evaluates gray-level attenuation, but also kurtosis, uniformity, skewness, and entropy. Entropy

assesses the irregularity of the pixel histogram. Our study showed entropy values were significantly higher in RCC than in high-attenuation renal cysts ($p < 0.001$).

Schieda et al showed that sarcomatoid RCC is more heterogeneous than clear cell RCC¹⁵. Yu et al.¹⁶ showed that texture analysis is a tool for distinguishing RCC and oncocytomas. Raman et al.¹⁷ showed that texture features including standard deviation, entropy, and mean gray-level intensity may be useful in differentiating malignant and benign renal masses on contrast-enhanced CT. Our study was performed on non-contrast CT. Nathan et al. reported that high entropy may be useful to differentiate cysts from low-attenuation RCC at non-contrast CT and sensitivity and specificity of entropy were better than the other analysis parameters¹⁸. Other studies showed that entropy can be used to differentiate RCC from fat-poor renal angiomyolipoma¹⁹⁻²¹. Texture parameters, especially mean gray-level intensity and entropy are useful in characterizing renal lesions. In our study, entropy and mean gray-level intensity values were significantly higher in RCC than in high-attenuation renal cyst. When a high-attenuation renal lesion is incidentally detected on non-contrast CT, texture analysis can be used for lesion characterization.

Takahashi et al.²² showed that skewness is useful in differentiating RCC from angiomyolipoma on unenhanced CT. Skewness value was not significant in our study. Besides all these, CT texture features, especially entropy, are associated with tumor histopathologic results²³.

There were a few limitations to our study. This study was conducted retrospectively and with a small number of cases. Texture analysis measurement was made at a single slice of the mass. There was no pathologic proof of a high-attenuation renal cyst.

In conclusion, hyperattenuating renal cyst and RCC may have a similar appearance on non-contrast CT. Our study purposed to demonstrate the effectiveness of CT texture analysis in differentiating hyperattenuating cysts and RCC on unenhanced CT. According to the findings of our study, texture analysis can be useful in differentiating hyperattenuating renal cyst from RCC on non-contrast CT. According to texture analysis, it can be decided whether to perform contrast-enhanced imaging or not.

Ethics Committee Approval: Firat University local ethics committee approved this retrospective study on 16 December 2021 (Protocol No: 2021/13-48).

Conflict of Interest: The authors declared no conflicts of interest.

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

REFERENCES

1. Ng CS, Wood CG, Silverman PM, et-al. Renal cell carcinoma: diagnosis, staging, and surveillance. *AJR Am J Roentgenol.* 2008; 191: 1220-32.
2. Ferlay J, et al. GLOBOCAN 2012 v1. 0, Cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase No. 11. 2013. [accessed on Aug 4, 2016];International Agency for Research on Cancer Web site. 2016 Available online: <http://globocan.iarc.fr>.
3. Bakır Ş, Özekinci Selver. The Prognostic Significance of the KI-67 and CD-44 in Renal Cell Carcinomas. *Dicle Med J.* 2005; 32: 123-30.
4. Federle MP, Jeffrey RB, Woodward PJ, et al. *Diagnostic Imaging: Abdomen*, Published by Amirsys®. Lippincott Williams & Wilkins. (2009) ISBN:1931884714
5. Ward RD, Tanaka H, Campbell SC, Remer EM. 2017 AUA renal mass and localized renal cancer guidelines: imaging implications. *RadioGraphics.* 2018; 38: 2021-33.
6. O'Connor SD, Pickhardt PJ, Kim DH, Oliva MR, Silverman SG. Incidental finding of renal masses at unenhanced CT: prevalence and analysis of features for guiding management. *AJR.* 2011; 197: 139-45.
7. Moreno CC, Hemingway J, Johnson AC, et al. Changing abdominal imaging utilization patterns: perspectives from medicare beneficiaries over two decades. *J Am Coll Radiol.* 2016; 13: 894-903.
8. McHugh K, Stringer DA, Hebert D, et-al. Simple renal cysts in children: diagnosis and follow-up with US. *Radiology.* 1991; 178: 383-5.
9. Jonisch AI, Rubinowitz AN, Mutalik PG, Israel GM. Can High-Attenuation Renal Cysts Be Differentiated from Renal Cell Carcinoma at Unenhanced CT? *Radiology.* 2007; 243: 445-50.
10. Coleman BG, Arger PH, Mintz MC, Pollack HM, Banner MP. Hyperdense renal masses: a computed tomographic dilemma. *AJR Am J Roentgenol.* 1984; 143: 291-4.
11. Herts BR, Silverman SG, Hindman NM, et al. Management of the incidental renal mass on CT: a white paper of the ACR Incidental Findings Committee. *J Am Coll Radiol.* 2018; 15: 264-73.
12. Catalano O, Nunziata A, Sandomenico F, Siani A. Acute flank pain: comparison of unenhanced helical CT and ultrasonography in detecting causes other than ureterolithiasis. *Emerg Radiol.* 2002; 9: 146-54.
13. Castellano G, Bonilha L, Li LM, Cendes F. Texture analysis of medical images. *Clin Radiol.* 2004; 59: 1061-9.
14. McGahan JP, Sidhar K, Fananapazir G, et al. Renal cell carcinoma attenuation values on unenhanced CT: importance of multiple, small region-of-interest measurements. *Abdom Radiol (NY).* 2017; 42: 2325-33.
15. Schieda N, Thornhill RE, Al-Subhi M, et al. Diagnosis of sarcomatoid renal cell carcinoma with CT: evaluation by qualitative imaging features and texture analysis. *AJR.* 2015; 204: 1013-23.
16. Yu H, Scalera J, Khalid M, et al. Texture analysis as a radiomic marker for differentiating renal tumors. *Abdom Radiol (NY).* 2017; 42: 2470-8.
17. Raman SP, Chen Y, Schroeder JL, Huang P, Fishman EK. CT texture analysis of renal masses: pilot study using random forest classification for prediction of pathology. *Acad Radiol.* 2014; 21: 1587-96.

18. Nathan Y Kim, Meghan G Lubner, Jered T Nystrom, et al. Utility of CT Texture Analysis in Differentiating Low-Attenuation Renal Cell Carcinoma From Cysts: A Bi-Institutional Retrospective Study. *AJR Am J Roentgenol.* 2019; 213: 1259-66.
19. Hodgdon T, McInnes MDF, Schieda N, et al. Can quantitative CT texture analysis be used to differentiate fat-poor renal angiomyolipoma from renal cell carcinoma on unenhanced CT images? *Radiology.* 2015; 276: 787-96.
20. Varghese BA, Chen F, Hwang DH, et al. Differentiation of predominantly solid enhancing lipid poor renal cell masses by use of contrast-enhanced CT: evaluating the role of texture in tumor subtyping. *AJR.* 2018; 211: 288-96.
21. Kim JY, Kim JK, Kim N, Cho K-S. CT histogram analysis: differentiation of angiomyolipoma without visible fat from renal cell carcinoma at CT imaging. *Radiology.* 2008; 246: 472-9.
22. Takahashi N, Takeuchi M, Sasaguri K, et al. CT negative attenuation pixel distribution and texture analysis for detection of fat in small angiomyolipoma on unenhanced CT. *Abdom Radiol (NY).* 2016; 41: 1142-51.
23. Lubner MG, Stabo N, Abel EJ, Del Rio AM, Pickhardt PJ. CT textural analysis of large primary renal cell carcinomas: pretreatment tumor heterogeneity correlates with histologic findings and clinical outcomes. *AJR.* 2016; 207: 96-105.



Akromegali hastalarında Growth hormon ve insülin like growth faktör-1 düzeyi ile aterosklerotik risk belirteçleri arasındaki ilişki

Erdal Bodakçı¹, Faruk Kılınç², Mazhar Müslüm Tuna³, Zafer Pekkolay⁴, Aziz Karabulut⁵, Alpaslan Kemal Tuzcu⁴

1 Eskişehir Şehir Hastanesi, Romatoloji BD, Eskişehir, Türkiye

2 Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji BD, Elazığ, Türkiye

3 Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ümraniye SUAM, Endokrinoloji BD, İstanbul, Türkiye

4 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji BD, Diyarbakır, Türkiye

5 Memorial Hastanesi, Kardiyoloji BD, Diyarbakır, Türkiye

Geliş: 22.03.2022; Revizyon: 29.03.2023; Kabul Tarihi: 03.04.2023

Öz

Amaç: Akromegali hastalarında büyüme hormonu (BH) ve insülin benzeri büyüme faktörü- 1(IGF-1) düzeyi ile hastalık süresi ile aktif ve remisyonda bulunan hastaların epikardiyal yağ kalınlığı ve karotis intima-media kalınlığı arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Yöntemler: Bu çalışmaya 40 akromegalik hasta (23 kadın, 17 erkek) ve 40 kontrol grubu (23 kadın, 17 erkek) dahil edildi. Hastaların kilo, boy, vücut kitle indeksi, bel çevresi, sistolik ve diastolik kan basınçları, lipid paneli, insülin, glukoz, üre, kreatinin, BH, IGF-1 düzeyi ölçüldü ve tam kan sayımı yapıldı. Ekokardiyografik olarak epikardiyal yağ kalınlığı ve doppler ultrasonografi ile karotis intima-media kalınlığına bakıldı.

Bulgular: Hastaların yaş ortalaması 39.5 ± 10.1 , kontrol grubunun yaş ortalaması 39.3 ± 10.1 yılı. Tüm hastaların BH ve IGF-1 düzeyi kontrol grubundan yüksekti($p<0.001$). Hastaların epikardiyal yağ kalınlığı kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksekti($p<0.001$). Hastaların karotis intima-media kalınlığı kontrol grubundan daha kalındı($p<0.001$). Hastaların epikardiyal yağ kalınlığı ve karotis intima-media kalınlığı arasında pozitif bir korelasyon vardı(R^2 linear: 0,495).

Sonuç: Akromegali hastalarında kontrol sağlıklı grubuna göre epikardiyal yağ ve karotis intima-media kalınlığının daha yüksek bulunması akromegalide aterosklerozun erken gelişebileceğinin göstergesi olabilir.

Anahtar kelimeler: Akromegali, epikardiyal yağ kalınlığı, karotis intima-media kalınlığı

DOI: 10.5798/dicletip.1313363

Correspondence / Yazışma Adresi: Erdal Bodakçı, Eskişehir Şehir Hastanesi Romatoloji kliniği, Eskişehir, Türkiye e-mail: drebodakci@gmail.com

Relationship between growth hormone and insulin like growth factor-1 levels and atherosclerotic risk markers in patients with acromegaly

Abstract

Objective: We aimed to investigate the relationship between growth hormone (GH) and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) levels in patients with acromegaly, disease duration, and epicardial fat thickness and carotid intima-media thickness in active and remission patients.

Method: In this study, 40 acromegaly patients (23 female, 17 male) and 40 control groups (23 female, 17 male) were included.

Forty acromegalic patients (23 women, 17 men) and 40 control groups (23 women, 17 men) were included in this study. Weight, height, body mass index, waist circumference, systolic and diastolic blood pressures, lipid panel, insulin, glucose, urea, creatinine, GH, IGF-1 levels of the patients were measured and complete blood count was performed. Epicardial fat thickness was measured echocardiographically and carotid intima-media thickness was measured by Doppler ultrasonography.

Results: The mean age of the patients was 39.5 ± 10.1 years, and the mean age of the control group was 39.3 ± 10.1 years. GH and IGF-1 levels of all patients were higher than the control group ($p < 0.001$). Epicardial fat thickness of the patients was significantly higher than the control group ($p < 0.001$). The carotid intima-media thickness of the patients was thicker than the control group ($p < 0.001$). There was a positive correlation between epicardial fat thickness and carotid intima-media thickness of the patients (R^2 linear: 0.495).

Conclusion: The fact that epicardial fat and carotid intima-media thickness are higher in acromegaly patients compared to the control healthy group may be an indication that atherosclerosis may develop early in acromegaly.

Keywords: Acromegaly, epicardial fat thickness, carotid intima-media thickness.

GİRİŞ

Akromegali, hipofiz bezinde büyüme hormonu (BH) salgılayan adenomun neden olduğu nadir görülen bir hastalıktır¹. Yıllık insidansı, milyonda 6-8 olarak bilinir. Prevalansı ise milyonda 40 ile 70 arasında seyreder². %95 oranında, ön hipofizden aşırı büyüme hormonu salınımına bağlıdır.

Akromegali, BH' nun aşırı sekresyonunun oluşturduğu metabolik etkiler nedeniyle morbidite ve mortalitede artış ile seyreder. Akromegalik hastalarda kardiyovasküler hastalıklar, solunum hastalıkları ve kansere bağlı mortalitenin 2-4 kat arttığı bilinmektedir³. Kardiyak komplikasyonlar; erken ve ileri evrelerde egzersizle azalmış diastolik fonksiyon ve kardiyak outputla karakterize kardiyomiyopatiyi ve daha ileri evrelerde ise dilate kardiyomiyopatiyle birlikte ileri konjestif kalp yetmezliğini içerir^{4,5}. Ayrıca akromegali, aterosklerotik hastalıkları hızlandırabilecek artmış hipertansiyon, hiperlipidemi ve tip 2

diabetes mellitus prevalansı ile ilişkilidir. Hastaların %25,2' sinde hipertansiyon, %15' inde kardiyomegali mevcuttur⁴. Kardiyak fonksiyonlardaki bozulma, akromegalide mortalitenin önemli bir belirleyicisidir³. Tanı anında kardiyak hastalığı bulunan hastaların genellikle tamamı on beş yıl içinde kaybedilir. Kardiyak mortaliteden dolayı erken aterosklerozun belirlenmesi ile kardiyovasküler hastalığın erken tespiti söz konusu olabilir. Epikardiyal yağ kalınlığı (EYK) klinik olarak abdominal yağ dokusu, koroner arter hastalığı, subklinik ateroskleroz ve kardiyak morfoloji ile ilişkilidir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda, EYK' nin kardiyovasküler hastalık için risk faktörü olduğu anlaşılmıştır⁶. Ayrıca yine akromegali hastalarında karotis intima-media kalınlığının (KIMK) artmış olması; prematür ateroskleroz, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar açısından risk faktörü olduğu saptanmıştır⁷.

Çalışmamızda; akromegali tanısı olan aktif veya remisyonundaki hastaları, sağlıklı kontrol grubuyla

karşılaştırarak EYK ve KIMK ölçümünün BH ve IGF-1 ile ilişkisini araştırmayı amaçladık. Ayrıca diğer çalışmalardan farklı olarak sadece EYK veya sadece KIMK ölçümünün yeterli olup olmadığını araştırmayı planlandık.

YÖNTEMLER

Hasta Seçimi ve Dışlama Kriterleri

Bu çalışmaya, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları kliniğince takip edilen akromegali tanısı almış, tedavisi devam eden, remisyonda olan hastalar dahil edilmiştir. Çalışmaya 23'ü kadın (%57,5), 17'si erkek (%42,5) olmak üzere toplam 40 hasta dahil edildi. Kontrol grubunda tamamen sağlıklı 23 kadın ve 17 erkek alındı. Çalışmaya bilinen kalp hastalığı olan, diyabetes mellitus, obez (VKİ>30), hipertansif (TA>140/90), hiperlipidemi, sigara içen, metabolik sendrom, HOMA- IR formülüne göre insülin direnci saptanan hastalar dahil edilmedi. EYK ve KIMK artışı yapacak diğer durumların ekartasyonu için hasta ve kontrol grubunun kilo, boy, vücut kitle indeksi, bel çevresi, sistolik ve diastolik kan basınçları, lipid paneli, insülin, glukoz, üre, kreatinin, BH, IGF-1 düzeyi ve tam kan sayımı yapıldı. Aynı kardiyolog tarafından ekokardiyografik olarak EYK ve doppler ultrasonografi ile KIMK bakıldı. Bu çalışma için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi girişimsel olmayan klinik araştırmalar Etik Kurulu'ndan 15.04.2015 tarihli 271 numaralı karar ile onay alınmıştır.

Biyokimyasal Ölçümler

Endokrinoloji kliniğimizde, akromegali hastalarının 1-3 aylık düzenli kontrol peryotlarıyla takip ve tedavisi yapılmaktadır. Bu kontrollerde hastalardan rutin olarak BH, IGF-1, karaciğer fonksiyon testleri, böbrek fonksiyon testleri ve tam kan sayımı, kan şekeri ve hastalıkla ilgili diğer biyokimyasal belirteçler çalışılmaktadır. Bizim çalışmamızda ise rutin yapılan bu işlemlerin dışında hastaların 12 saatlik açlık sonrası kan şekeri, insülin düzeyine ve lipid paneline günlük bakıldı(Siemens advia centaur cihazı). İnsülin direncini belirlemek

amacıyla, açlık kan şekeri ve insülin değerleri kullanılarak [HOMA-IR = Açlık plazma glikozu (mmol/l) x açlık plazma insülini (µU/ml) /22.5] formülü ile HOMA insülin rezistans indeksi hesaplandı. HOMA-IR ≥ 2.7'den yüksek olan hasta ve sağlıklı kontrol grubundakiler çalışmaya alınmadı. EYK ölçümü kardiyoloji uzmanı tarafından ekokardiyografik olarak her iki parasternal uzun ve kısa aks görüntülerinden sağ ventrikül serbest duvarı üzerinden ölçülmüştür. EYK' nın sağ ventrikül önündeki kalınlığının ölçümünün iki sebebi vardır: Birincisi; bu noktada EYK net kalınlığının en fazla olduğu bölge olması, ikincisi tüm açılardan uygun görülmesidir. Karotis İntima-media kalınlığı ölçümü için ise büyüklükleri, yüzeyleşmeleri ve kısıtlı hareketlerinden dolayı karotis arterinden kalınlık ölçümü yapıldı. Çalışma grubu aktif, yeni tanı, remisyonda olan hastalardan oluşturuldu. Kontrol grubu benzer yaş grubunda ve herhangi bir hastalığı olmayan polikliniğe rutin test taraması için başvuran sağlıklı gönüllülerden oluşturuldu. Remisyon kriterleri olarak açlık BH düzeyinin <1.0 ug/l olması, 75 gr OGTT ile BH <0.4 ug/l olması ve normal IGF-1 düzeyi olarak kabul edildi.

Epikardiyal Yağ Kalınlığı Ölçümü

Hastalar hastanemiz kardiyoloji polikliniğinde bulunan HP HD 211 (Philips Hollanda) Ekokardiyografi cihazı ve 2,5 MHz ekokardiyografi probu ile değerlendirildi. EYK ölçümünde; parasternal uzun aks ve parasternal kısa aks görüntülerinden 2-D ve M-mode teknikleri kullanılarak sağ ventrikül serbest duvar ile perikard arasında kalan EYK dansitesi ile uyumlu hiperekojen alandan ölçüm yapıldı. Ölçümler milimetre cinsinden hesaplandı.

Karotis İntima-Media Ölçümü

İntima-media kalınlığı (İMK) ölçümleri; aynı hekim tarafından ultrasonografi cihazı ile (Aloka Prosound SSD 5000 machine; Japonya) 7,5 mHz doğrusal prob kullanılarak görüntülendi. Vasküler alan işaretlendikten sonra doğrusal proplar kullanılarak sağ ana karotid arterden longitudinal pozisyonda, bifürkasyonun yaklaşık 10 mm

distalinden ve karşı duvardan olacak şekilde ölçüm yapıldı. Hastalar, supin pozisyonda yatırılıp başı sol yöne çevrildi. Sağ tarafta klavikuların hemen üstünden başlanıp transdüser kraniyal yönde hareket ettirilerek sağ ana karotid arter incelendi. Yöntemin standardize edilebilmesi için plak oluşumu bulunan bölgelerden ölçüm alınmadı. İntima-media kalınlığı, ekojenik iki paralel çizgi olan lümen-intima ve media-adventisya anatomik bariyerleri arasında kalan bölge olarak görüntülendi ve mm olarak üç kez ölçülerek ortalamaları alındı.

İstatistik Yöntemi

Çalışmanın istatistiksel değerlendirmesi, SPSS 18.0 bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama \pm SD ve yüzde (%) olarak verildi. Gruplar arasındaki karşılaştırma normal dağılım gösteren değişkenlerde student t-testi, normal dağılım göstermeyen değişkenlerde Mann Whitney U-testi kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenler arasındaki ilişki Pearson korelasyon

analizi ve parametrik olmayan değişkenler için Spearman analizi ile test edildi.

BULGULAR

Hastaların yaş ortalaması 39.5 ± 10.1 yılı. Hastaların 23'ü kadın (%57,5) ve 17'si erkek (%42,5) idi. Kontrol grubunun yaş ortalaması 39.3 ± 10.1 yıl olup 23'ü kadın (%57,5), 17'si erkek (%42,5) idi. Hastalara ve kontrol grubuna ait veri ölçümleri ve bu değerlerin karşılaştırılması tablo I'de özetlenmiştir. Kontrol ve hasta grubunun yaş, cinsiyete göre BH, IGF-1, EYK ve KIMK düzeyleri tablo II' de özetlenmiştir. İlaç kullanım süresi ile EYK, KIMK ilişkisi tablo III' te gösterilmiştir. Hastaların epikardiyal yağ kalınlığı kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksekti ($p < 0.001$). Hastaların karotis intima-media kalınlığı kontrol grubundan daha kalındı ($p < 0.001$). Hastaların epikardiyal yağ kalınlığı ve karotis intima-media kalınlığı arasındaki pozitif bir korelasyon vardı (R^2 linear: 0,495).

Tablo I: Hasta ve kontrol grubuna ait klinik ve laboratuvar verileri

	Hasta grubu (Ort \pm SD)	Kontrol grubu (Ort \pm SD)	p değeri
Yaş (yıl)	39.5 \pm 10.1(25-59)	39.3 \pm 10.1 (23-57)	>0.05
Cinsiyet (E/K)	17 / 23	17/23	>0.05
IGF-1(ng/mL)	421.1 \pm 283.5	155.2 \pm 31.3	<0.01
BH (ng/mL)	2.73 \pm 2.5	0.28 \pm 0.06	<0.01
EYK (mm)	7.17 \pm 1.32	3.22 \pm 0.79	<0.01
KIMK (mm)	0.72 \pm 0.13	0.39 \pm 0.11	<0.01
Sistolik KB(mmHg)	123.7 \pm 9.4	120.0 \pm 9.1	<0.05
Diastolik KB(mmHg)	77.3 \pm 6.3	75.4 \pm 6.0	<0.05
VKİ(kg/ m ²)	25.4 \pm 2.9(18.3-29.4)	23.8 \pm 2.6 (18.4-28.9)	<0.05
Bel çevresi (cm)	87.5 \pm 7.4(72-105)	80.3 \pm 6.0 (68-90)	<0.01
HOMA-IR	2.02 \pm 0.66(0.4-3.01)	2.04 \pm 0.56(0.91-2.69)	>0.05
Açlık glukoz (mg/dl)	95.5 \pm 11.6 (81-121)	90.6 \pm 10.1(65-121)	<0.05
T.kolesterol(mg/dl)	182.9 \pm 30. (121-252)	179.2 \pm 42.6 (86-281)	>0.05
LDL kolesterol (mg/dl)	107 \pm 25.9 (52.0-176.0)	112.2 \pm 34.7(64-204)	<0.05
Trigliserid (mg/dl)	166.6 \pm 62.4(40-291)	120.6 \pm 58.6 (33-294)	<0.01

BH: Büyüme hormon, EYK: Epikardiyal yağ kalınlığı IGF-1:İnsülin like growth faktör-1, KIMK: Karotis intima-media kalınlığı VKİ: Vücut kitle indeksi; BÇ:Bel çevresi, HOMA-IR: Homeostatic Model Assessment, IR=İnsülin Rezistansı (direnci) , T.KOL: Total kolesterol, TG: Trigliserid, EYK :Epikardiyal yağ kalınlığı ,KIMK :Karotis intima- media Kalınlığı

Tablo II: Cinsiyete göre verilerin karşılaştırılması

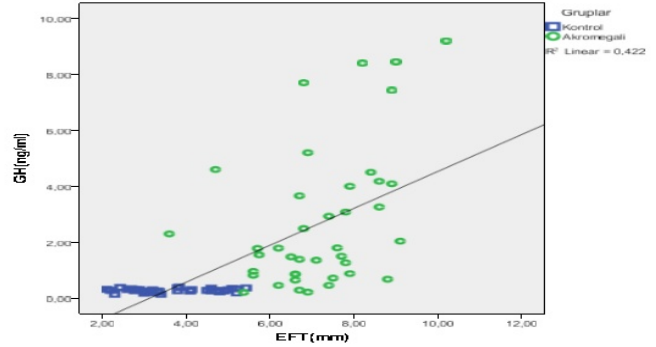
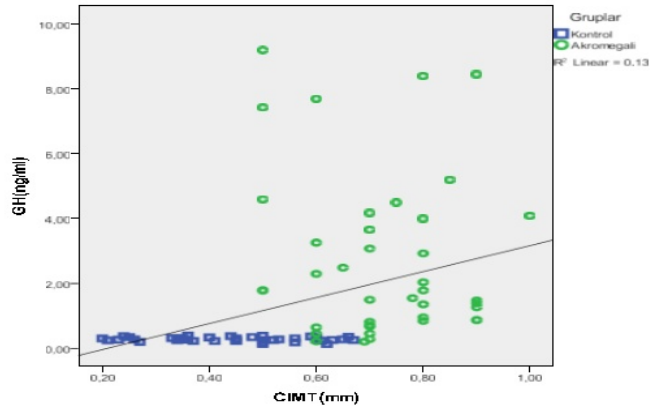
	Hasta grubu		Kontrol grubu	
	Erkek n: 17	Kadın n: 23	Erkek n: 17	Kadın n :23
BH	2.24±2.45	3.1±2.53	0.28±0.06	0.28±0.06
IGF-1	407.8±287.3	431.5±286.7	155.4±25.7	155.0±35.5
EYK	6.99 ±1.46	7.30 ±1.22	3.36±0.9	3.12±0.69
KIMK	0.71 ±0.1	0.72±0.15	0.38±0.12	0.39±0.11

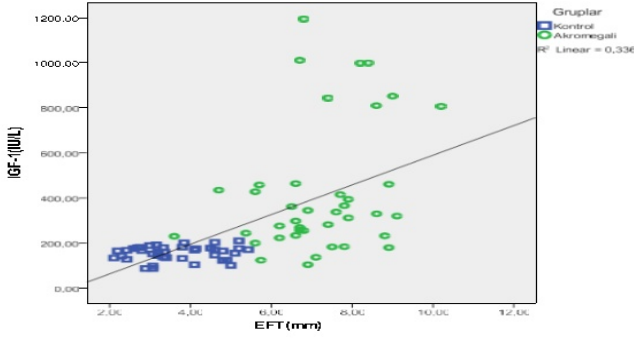
Tablo III: ilaç kullanım süresi ile EYK-KIMK ilişkisi

	<50 ay n: 23	>50 ay n: 17	Hastaların genel ortalaması n: 40
EYK	7.6 ±1.21	6.29±1.57	7.17±1.32
KIMK	0.73±0.14	0.71±0.12	0.72±0.13

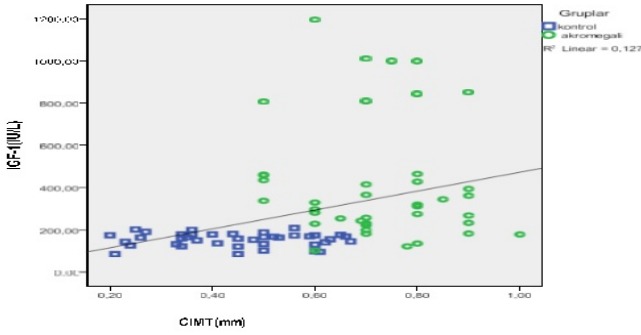
Hastalar pearson korelasyon analizi ile değerlendirildiğinde EYK değeri ile hastaların BH değerleri karşılaştırıldığında BH değeri artıkça anlamlı korelasyon olduğu görüldü (R2 linear=0,422) (şekil 1). BH değerleri ile KIMK değerleri karşılaştırıldığında BH değeri artıkça KIMK değerinin de arttığı görüldü(R2 linear=0,13) (şekil 2). EYK değeri ile hastaların IGF-1 değerleri karşılaştırıldığında IGF-1 değeri artıkça anlamlı farklılık olduğu görüldü (R2 linear= 0,336)(şekil 3). IGF-1 değerleri ile KIMK değerleri karşılaştırıldığında IGF-1 değeri artıkça KIMK değerinin de arttığı görüldü (R2 linear=0,127) (Şekil 4). EYK artışına paralel bir şekilde KIMK' da artış görüldü (R2 linear= 0,495) (Şekil 5). Remisyondaki hasta sayısı 5, remisyonda olmayan hasta sayısı 35 olup tüm hastalar Octreotide-LAR 10, 20, 30 mg' lık dozlarda ilaç kullanımları vardı. Remisyondaki hastaların EYK değeri aktif hastalardaki EYK ortalama değerinden düşüktü (p<0.006). Tedavi ile EYK' nın azalabileceğini göstermektedir. Aynı şekilde remisyondaki hastaların KIMK değeri aktif hastalardaki KIMK ortalama değerinden düşüktü (p<0.005). Kadın ve erkekler BH ve IGF-1 açısından karşılaştırıldığında kadınlardaki değerler daha yüksek saptandı. Bunun sebebi 23 kadından 8 tanesi(%34), erkeklerin de 10 tanesi(%58) hipofizer cerrahi geçirmişti. Cerrahi sonrası hormon değerlerinin düşmesi ile ilişkilendirildi. EYK ve KIMK değerleri de kadınlarda erkeklerden

daha yüksek saptandı. Ama BH ve IGF-1 düzeyleri de yüksek olduğundan istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0.05). EYK ve KIMK değeri ile hastaların yaşı karşılaştırıldığında yaş artıkça anlamlı farklılık olmadığı görüldü. Yaştan ziyade hastalık aktivitesi ile ilişkili bulundu. İlaç kullanım süresi ile EYK, KIMK ilişkisine bakıldı(tablo 3). Hastaların ortalama ilaç kullanım süresi 50.74±47.4 (0-180) ay idi. 50 aydan az ilaç kullanan hastaların EYK 7.6±1.21mm, KIMK değeri 0.7±0.14 mm idi. 50 aydan fazla ilaç kullanan hastaların EYK değeri 6.29±1.57 mm, KIMK değeri 0.71±0.12 mm idi. 50 aydan az ilaç kullanan hastaların EYK değeri, 50 aydan fazla ilaç kullananlardan yüksek saptandı (p<0.046). Tedavi ile EYK ve KIMK değerlerinin azalabileceği görülmektedir. Akromegali hastalarında beden kitle indeksi ve bel çevresi kontrol grubuna göre daha yüksek saptandı(p=0.48 ile p=0,425). Açlık plazma glukozu kontrol grubuna göre daha yüksek saptandı(p=0,426).

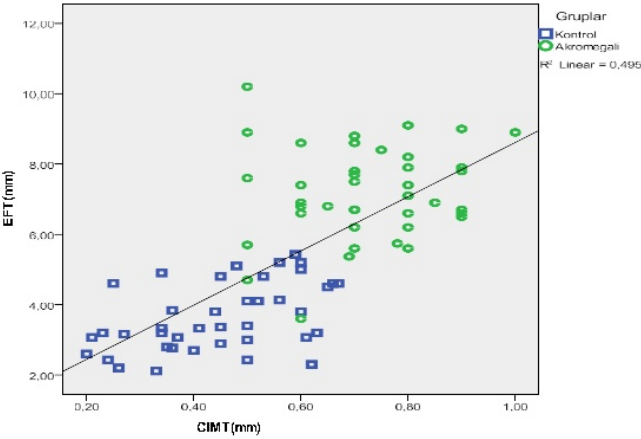
**Şekil 1:** BH arttıkça EYK' nında arttığını gösteren pearson korelasyon analizi**Şekil 2:** BH arttıkça KIMK' nda arttığını gösteren pearson korelasyon analizi



Şekil 3: IGF-1 düzeyi arttıkça EYK' nında arttığını gösteren pearson korelasyon analizi



Şekil 4: IGF-1 düzeyi arttıkça KIMK' nda arttığını gösteren pearson korelasyon analizi



Şekil 5: EYK düzeyi arttıkça KIMK' nda paralel bir şekilde arttığını gösteren pearson korelasyon analizi

TARTIŞMA

Klasik risk faktörlerinin aterosklerozun göstergesi olarak yetersiz kalmaları nedeniyle aterosklerozu öngörmede yeni biyokimyasal ve yeni görüntüleme yöntemlerine yönelik ilgi son yıllarda artış göstermektedir.

Biyokimyasal olarak çeşitli çalışmalarda visfatin, irisin, ürotensin-III gibi testler çalışılmış ve akromegalide kardiyovasküler risk faktörlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır⁸⁻¹⁰. Yeni çalışmalar aterosklerozun risk faktörleri arasında EYK ve KIMK göstermektedir. Epikardiyal yağ dokusunun çok sayıda sitokin salgıladığı bilinmektedir¹¹. Epikardiyal yağ dokusundan (EYD) salgılanan adipokinlerin, lokal olarak difüzyonla koronerlere ulaştığı gösterilmiştir¹². Bu sitokinlerin, monositleri uyararak intimaya göçüne ve makrofaja dönüşmelerine neden olarak aterosklerozu başlatabileceği öne sürülmektedir. Aynı zamanda koroner arter hastalığı olan kimselerin EYD' sinde, inflamasyonla ilgili genlerin subkutan yağ dokusuna göre daha fazla eksprese olduğu ve EYD' nin inflamasyonla ilişkili çok sayıda aracı molekülü salgıladığı, bypass cerrahisine giden hastalarda gösterilmiştir¹¹. EYD daha önce yapılan çalışmalarda tüm vücut visseral yağlanmasının göstergesi olarak intraabdominal yağlanma ile yakın ilişki içerisindedir. Ek olarak magnetik rezonans ölçümlerinde intraabdominal yağlanma ile transtorasik ekokardiyografi ölçümleri arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır¹³. Bizim çalışmada aktif ve remisyondaki akromegali hastalarında EYK' nın istatistiksel olarak yüksek bulunması, EYK' nın koroner ateroskleroz patogenezinde önemli rolü olduğu görüşünü desteklemektedir. Çalışmamızda hastaların epikardiyal yağ kalınlığı kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksekti ($p < 0.001$). Hastaların karotis intima-media kalınlığı kontrol grubundan daha kalındı ($p < 0.00$). BH düzeyi arttıkça EYK ve KIMK değerlerinin arttığı aynı şekilde IGF-1 düzeyi arttıkça EYK ile KIMK değerlerinin arttığı görüldü. Bu veriler ışığında yüksek GH ve IGF-1 düzeyinin artmış damar duvar kalınlığı ve aterosklerotik risk faktörü olduğunu söyleyebiliriz. Benzer bir çalışmada akromegalili hastalarda prematür aterosklerozu ön görmeye EYK ve KIMK' ın kontrol grubuna göre artmış olduğu saptanmıştır¹¹. BH ve IGF-1 düzeyinin KIMK ile EYK arasında pozitif korelasyon olduğu tespit edilmiş. Aktif ve remisyondaki hastalar arasında anlamlı fark saptanmamış¹⁴. Çalışmamıza 35 aktif

akromegali hastası alınmış olup EYK ortalaması, 5 remisyonda olan hastadan daha yüksekti ($p < 0,001$). Aktif akromegali hastalarının KIMK ortalaması, remisyondaki hastaların KIMK ortalamasından yüksekti ($p < 0,001$). Bu, bize tedavi ile BH ve IGF-1 'in kontrol altında tutulması durumunda EYK ve KIMK azalabileceği ve aterosklerotik risk faktörünü azaltabileceğini göstermekte. Tedavi ile kontrol altında olan hastaların, aktif hastalara göre ateroskleroz açısından düşük riske sahip olduğunu söyleyebiliriz.

Hastaların EYK ile KIMK' nın paralel bir şekilde artışı görüldü (R2 linear: 0,495). Bu, bize BH ile IGF- 1' in sadece kalp üzerinde değil vasküler sistem üzerinde de aterosklerozu hızlandırdığını göstermektedir. Böylece EYK ölçümü ile kalınlık artışının olduğu durumda, karotis intima-media da kalınlık artışı olduğu sonucu çıkarılabilir. Aynı şekilde sadece karotis intima-media ölçümü yapılarak EYK ve koroner arter hastalığı hakkında yorum yapılabilir. KIMK' nın, KAH için öngörücü rolü klinik çalışmalar ile ortaya konulmuştur¹⁵.

Hastaların ortalama ilaç kullanım süresi 50.7 ± 47.4 ay idi. Hastaları, 50 aydan daha kısa süre ilaç kullananlar ve 50 aydan daha uzun süre ilaç kullananlar olarak gruplandırdığımızda, 23 hasta 50 aydan az kullanmaktaydı, 17 hasta ise 50 aydan uzun süredir ilaç kullanmaktaydı. 50 aydan uzun süre ilaç kullanan hastaların hem EYK hemde KIMK kalınlıkları, 50 aydan az ilaç kullanan hastalara göre düşüktü ($p < 0.001$). Tedavi edilen ve BH/IGF-1 kontrolü sağlanan hastaların aterosklerotik risk açısından daha düşük riskli olduğu ve kalınlık artışlarının azaldığı sonucuna varılmıştır. Boysan ve ark. akromegali hastalarında 48 aylık Octreotide-LAR tedavisi ile takip ettikleri hastalarda 2 yıldan sonra KIMK' ın azaldığını belirtmişler. Bu sebepten daha uzun süre tedavi edilmesi gerektiğini vurgulamışlar¹⁶. Bizim çalışmada da 50 aylık tedavi ile EYK ve KIMK ' ın azaldığını ve kullanım süresinin artması ile bu düşüşün daha belirgin olduğunu gördük.

Beden kitle indeksi, bel çevresi, açlık plazma glukozu, trigliserid yüksekliği kontrol grubuna

göre daha yüksek saptandı. Hastalar obezite kriterlerini sağlamıyordu, açlık plazma glukozu insülin direnci ve diyabete sebep olmuyordu. LDL kontrol grubuna göre daha düşüktü, trigliserid daha yüksekti. Pearson korelasyon analizinde VKİ, bel çevresi, açlık plazma glukozu ve trigliserid ile EYK ve KIMK arasında bir korelasyon görülmedi. Hastaların VKİ 25.4 ± 2.9 , iken kontrol grubunun 23.8 ± 2.6 idi. Bu parametrelerle EYK ve KIMK artışına yine de katkısı olabilir ama bu artış GH ve IGF-1 kadar belirgin olmadığından göz ardı edilebilir.

Güncel bir çalışmada yaş ile EYK artışı olduğu görülmüş. Ayrıca diyabet, hipertansiyonu olan hastalarda çalışmaya alınmış¹⁷. Çalışmamızda ise gruplar benzer yaşta ve kardiyovasküler risk faktörü olan hastalar çalışmaya alınmadı.

Çalışmamızda bazı kısıtlılıkları var. Hasta sayımız az olup Akromegali hastalarımızın hepsi aynı klinik özellik göstermemekteydi. Tanı süreleri ve kullanmış oldukları ilaç dozları farklıydı. Remisyondaki hasta sayımız az idi. Uzun vadede kardiyovasküler olayların takibi yapılamadı.

Sonuç olarak Çalışmamızda bazal BH düzeyi ve IGF-1 düzeyi artıkça buna paralel olarak EYK ve KIMK' ta artış tespit edilmiştir. Tedavi ile özellikle remisyon sağlandığında ve BH/IGF-1 düzeyleri kontrol altına alındığında kardiyovasküler morbidite ve mortalite azaltılabilir. Ekokardiyografi ile non-invaziv metod olarak ölçülen EYK ve doppler ultrasonografi ile ölçülen KIMK, hastalığın erken kardiyovasküler riskini tahmin etmede ve önlemede faydalı olabilir. Ayrıca EYK ve KIMK artışları birbiriyle paralel olup iki ölçümden birinin kullanılması yeterli olabilir.

Etik Kurul Onayı: Araştırma için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Kurulu'ndan 15.04.2015 tarihi 271 numarasıyla etik kurul onayı alınmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma herhangi bir fontarafından desteklenmemiştir.

Declaration of Conflicting Interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: No financial support was received.

KAYNAKLAR

1. Melmed S. Medical progress: Acromegaly. *N Engl J Med* 2006; 355: 2558.
2. Fernandez A, Karavitaki N, Wass JA. Prevalence of pituitary adenomas: a community-based, cross-sectional study in Banbury (Oxfordshire, UK). *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010; 72: 377.
3. Dekkers OM, Biermasz NR, Vandembroucke, J. et al. Mortality in acromegaly: a metaanalysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(1): 61-7.
4. Mosca S, Paolillo S, Colao A. et al. Cardiovascular involvement in patients affected by acromegaly: an appraisal. *Int J Cardiol* 2013; 167(5): 1712-8.
5. Pivonello R, Auriemma RS, Grasso LF, et al. Complications of acromegaly: cardiovascular, respiratory and metabolic comorbidities. *Pituitary* 2017; 20(81):46-62.
6. Topaloglu O, Sayki Arslan M, Turak O, et al. "Three noninvasive methods in the evaluation of subclinical cardiovascular disease in patients with acromegaly: epicardial fat thickness, aortic stiffness and serum cell adhesion molecules." *Clinical endocrinology* 2014;80(5): 726-34.
7. Colao A, Spiezia S, Cerbone G, et al. Increased arterial intima-media thickness by B-M mode echodoppler ultraso-nography in acromegaly. *Clinical endocrinology* 2001; 54(4): 515-24.
8. Piskinpasa H, Okuturlar Y, Sadri S, et al. Visfatin Levels May be an Early Marker of Atherosclerosis in Patients with Acromegaly. *Horm Metab Res.* 2019 Oct;51(10):649-654. doi: 10.1055/a-0998-4079. Epub 2019 Sep 5.
9. Demirpence M, Guler A, Turkon H, et al., Is elevated urotensin II level a predictor for increased cardiovascular risk in subjects with acromegaly? *J Endocrinol Invest.* 2019 Feb;42(2):207-215. doi: 10.1007/s40618-018-0905-1. Epub 2018 May 26.
10. Calan M, Demirpence M. Increased circulating levels of irisin are associated with cardiovascular risk factors in subjects with acromegaly. *Hormones (Athens).* 2019 Dec;18(4):435-442. doi: 10.1007/s42000-019-00151-3. Epub 2019 Nov 6.
11. Baker AR, Silva NF, Quinn DW, et al. Human epicardial adipose tissue expresses a pathogenic profile of adipocytokines in patients with cardiovascular disease. *Cardiovascular Diabetology* 2006;5(1):1
12. Lohn M, Dubrovskaja G, Sharma AM, et al. Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. *The FASEB Journal* 2002;16(9): 1057-63.
13. Iacobellis G, Assael F, Ribaldo, MC, et al. Epicardial fat from echocardiography: a new method for visceral adipose tissue prediction. *Obesity research*,2003; 11(2) : 304-10.
14. Ozkan C, Altinova AE, Cerit ET, et al. "Markers of early atherosclerosis, oxidative stress and inflammation in patients with acromegaly." *Pituitary* 2014; 18(5): 621-9.
15. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *American journal of epidemiology* 1997;146(6): 483-94.
16. Boysan SN, Kantarci F, Kadioglu P, et al. "Atherosclerotic risk factors and premature atherosclerosis in acromegaly before and after 48 months of octreotide-LAR treatment." *Angiology* 2012; 63(7):522-7.
17. Can B, Olcay Coskun F, Takir M, et al. Association of Epicardial Adipose Tissue Thickness with Cardiovascular Risk in Acromegaly. *Medeni Med J.* 2022 Jun 23;37(2):131-7.



Servikal Örneklerde Human Papillomavirüs Genotiplendirme ve Sitopatoloji Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Hacer Yerlikaya¹, Filiz Orak¹, Murat Aral¹, Kezban Tülay Yalçınkaya¹, Sezen Koçarlan², Kadir Güzin³, Adem Doğaner⁴

¹ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

² Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

³ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

⁴ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

Geliş: 07.07.2022; Revizyon: 03.05.2023; Kabul Tarihi: 04.05.2023

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı, cinsel olarak aktif kadın hastalardan alınan servikal örneklerde human papillomavirüs DNA pozitifliğini araştırmak; genotiplerinin belirlenmesi ve Papanicolaou yayma ve kolposkopik biyopsi sonuçları ile karşılaştırılmasıdır.

Yöntemler: Çalışmaya üçüncü basamak bir hastanenin kadın hastalıkları ve doğum polikliniğine Kasım 2020-Ekim 2021 tarihleri arasında başvuran 18 yaş ve üzeri cinsel yönden aktif kadın hastalar dahil edildi. Servikal örneklerden human papillomavirüs DNA'nın kalitatif tespiti için in vitro real-time insan papillomavirüs PCR yöntemi kullanıldı.

Patoloji laboratuvarına gönderilen ve Papanicolaou sitoloji protokolüne göre boyanan serviks örnekleri ve hematoksilen-eozin ile boyanan kolposkopik biyopsi örnekleri deneyimli bir patolog tarafından değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmaya alınan 383 kadın hastanın 19 (%4,9)'unda human papillomavirüs 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 ve 68 genotiplerinden biri izole edildi. Beş (%26,3) hastada human papillomavirüs 16, bir (%5,2) hastada human papillomavirüs 18 ve kalan 13 (%68,4) hastada diğer yüksek riskli 13 tipten biri tespit edildi.

Düşük riskli human papillomavirüs genotipi saptanan kadınların yaş ortalaması 43,41±9,90 yıl, human papillomavirüs yüksek risk genotip saptanan kadınların yaş ortalaması ise 41,79±8,70 yıl olarak bulundu.

Bethesda 14 sınıflamasına göre 354 hastada normal sitoloji saptanırken, 19 (%5)'unda ASC-US, 2 (%0,5)'sinde ASC-H, 2 (%0,5)'sinde LSIL, 2(%0,5)'sinde HSIL, 3 (%0,8)'ünde AGC ve bir (%0,3) hastada adenokarsinoma in situ tespit edildi.

Human papillomavirüs genotip16 saptanan 5 hastadan 1 (%20)'inin sitolojisinde AGC ve 1 (%20)'inde ASC-H saptanırken, 3 (%60) hasta normal olarak değerlendirildi. Human papillomavirüs genotip18 saptanan bir hastanın sitoloji incelemesinde ise patoloji saptanmadı. On üç hastadan izole edilen diğer yüksek riskli insan papillomavirüs genotiplerinin sitolojik incelemesinde; 3 (%23) hastada ASC-US, 1 (%7,6) hastada HSIL ve 9 (%69,2) hastada normal sonuçlar elde edildi.

Sitoloji bulguları normal ve human papillomavirüs 16 pozitif olan hastaların biyopsi incelemesinde; Bir hastada CIN 1 ve CIN 2, HPV 18 pozitif bir hastada CIN 3 ve diğer HR-HPV hastalarından birinde skuamöz hücreli karsinom tespit edildi.

Sonuç: Kanser taramalarında ve hasta takiplerinde sitolojik incelemeler moleküler çalışmalarla birlikte değerlendirilmelidir. Bu çalışmalar aynı zamanda bölgesel epidemiyolojik verilerin elde edilmesine de katkı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Human papillomavirüs, genotip, Papanicolaou test

Evaluation of Human Papillomavirus Genotyping and Cytopathology Results in Cervical Samples

Abstract

Aim: The aim of this study was to investigate human papillomavirus DNA positivity in cervical samples taken from sexually active female patients; Determination of human papillomavirus genotypes and comparison with Papanicolaou smear and colposcopic biopsy results.

Methods: In this study sexually active female patients aged 18 years and over who applied to the obstetrics and gynecology clinic of a tertiary hospital between November 2020 and October 2021 were included. In vitro real-time HPV PCR method was used for the qualitative detection of human papillomavirus DNA from cervical specimens.

Cervical specimens, which were sent to the pathology laboratory and stained according to Papanicolaou cytology protocol, and colposcopic biopsy specimens stained with hematoxylin-eosin were evaluated by an experienced pathologist.

Results: One of the human papillomavirus genotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 and 68 was isolated in 19 (4.9%) of 383 female patients included in the study. human papillomavirus 16 was detected in five (26.3%) patients, human papillomavirus 18 was detected in one (5.2%) patient, and one of 13 other high-risk types was detected in the remaining 13 (68.4%) patients.

The mean age of women with low-risk human papillomavirus genotype was 43.41±9.90 years, and the mean age of women with human papillomavirus high-risk genotype was 41.79±8.70 years.

According to the Bethesda 14 classification, normal cytology was detected in 354 patients, ASC-US in 19 (5%), ASC-H in two (0.5%), LSIL in two (0.5%), HSIL in two (0.5%), AGC in 3 (0.8%) and one patient (0.3%) had adenocarcinoma in situ.

While AGC was detected in 1 (20%) of 5 patients with human papillomavirus genotype 16, ASC-H was detected in 1 (20%) patient, 3 (60%) patients were evaluated as normal. No pathology was found in the cytology examination of the patient with human papillomavirus genotype 18.

In the cytological examination of other high-risk human papillomavirus genotypes isolated from 13 patients; ASCUS results were obtained in 3 (23%) patients, HSIL in 1 (7.6%) and normal results in 9 (69.2%) patients.

In the biopsy examination of patients with normal cytology findings and HPV 16 positive; CIN 1 and CIN 2 were detected in one patient, CIN 3 in one HPV 18 positive patient, and squamous cell carcinoma in one of the other HR-HPV patients.

Conclusion: In cancer screening and patient follow-up, cytological evaluations should be evaluated together with molecular studies. These studies will also contribute to the acquisition of regional epidemiological data.

Keywords: Human papillomavirus, genotype, Papanicolaou test.

DOI: 10.5798/dicletip.1313386

Correspondence / Yazışma Adresi: Filiz Orak, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye e-mail: drfilizorak@hotmail.com

GİRİŞ

İnsan papillomavirüsü (Human Papillomavirus; HPV), birçok memeli türünde enfeksiyon oluşturan küçük, zarfsız bir DNA virüs grubudur¹.

HPV normalde semptomları olan veya olmayan erkek ve kadınların anogenital bölgesinde yaygın olarak bulunmaktadır. Cinsel olarak aktif kadın ve erkeklerin çoğu hayatlarının bir döneminde enfekte olur ve %90'dan fazlası enfeksiyonu kalıcı sorunlara neden olmadan geçirir². Daha çok benign tümörlerden sorumlu olan papillomavirüsler, malignite oluşumunu da tetiklemektedir¹.

Genital bölgede enfeksiyona neden olan HPV tipleri malignite potansiyellerine göre düşük riskli tipler (6, 11, 13, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81), muhtemel yüksek riskli tipler (26, 53, 66, 68, 73, 82) ve yüksek riskli tipler (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) (HR-HPV) olarak gruplandırılmaktadır¹. Yüksek riskli insan papillomavirüsü (HR-HPV) genotiplerinden herhangi birinin kalıcı enfeksiyonu, serviks kanserinin veya onun öncülü servikal intraepitelyal neoplazinin (CIN) gelişmesine yol açtığı bildirilmiştir³.

HPV ilişkili karsinogenez, CIN olarak tanımlanan prekanseröz epitelyal değişiklik ile başlar ve yıllar sonra invaziv kanser oluşumuyla sonuçlanabilmektedir. Bazı hastalarda ilk tanı sırasında ağır dereceli displazi (CIN III) mevcut olmasına rağmen genellikle düşük dereceli displazi (CIN I) olarak başlar, zaman içinde orta (CIN II) ve ağır dereceli displaziye (CIN III) dönüşür. Genel anlamda, CIN derecesi malignitenin ilerlemesi ile ilişkilidir. Ancak çoğu olguda yüksek dereceli lezyonların bile kansere dönüşmediği hatta gerilediği bilinmektedir³.

Türkiye'de 2021 yılında yayınlanan ulusal rapora göre HPV' nin neden olduğu serviks-uteri kanser insidansı yüz binde 5,93; ölüm oranı ise 2,92 bulunmuştur⁴.

Serviks kanseri, tarama testi ile erken teşhis edilerek önlenilebilen en önemli jinekolojik kanser türüdür².

Sitoloji tarama testi olan Papanicolau (Pap) test ile yassı hücreli serviks kanseri ve HPV enfeksiyonuna bağlı epitelyal değişiklikler (CIN1, CIN2 ve CIN3 şeklinde) erken aşamada saptanmaktadır⁵.

Günümüzde servikal sitoloji için Bethesda Sınıflaması kullanılmaktadır. Buna göre; premalign skuamöz lezyonlar üç kategoriye ayrılmıştır: Atipik skuamöz intraepitelyal hücreler (ASC), düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyonlar (LSIL) ve önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler (ASC-US).

Atipik skuamöz intraepitelyal hücreler, önemi belirsiz olanlar (ASC-US) ve yüksek dereceli bir lezyonun dışlanamadığı (ASC-H) olarak sınıflandırılmaktadır. ASC-US' da skuamöz hücreler tamamen normal görünmemekte ancak hücre değişikliklerinin anlamı kesin değildir. ASC-H'de de hücreler anormal görünür ve anlamı belirsizdir ancak prekanseröz lezyon olma riski ASC-US' a göre daha yüksektir. LSIL, koilositik atipi veya hafif displazi adı verilen HPV değişiklikleriyle uyumlu sitolojik değişiklikleri içerir ve servikal intraepitelyal neoplazi sınıflamasındaki CIN I'e karşılık gelir. Öte yandan HSIL, servikal skuamöz hücrelerin boyutunda ve şeklinde daha ciddi anormallikler ile karakterizedir, kansere ilerleme olasılığı daha yüksektir ve CIN II ve CIN III'e karşılık gelen sitolojik bulguları ifade eder⁶.

Bunun yanında, önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler (ASC-US) veya düşük dereceli skuamöz intraepitelyal neoplazi (düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon, LSIL) gibi lezyonlar için kolposkopi veya ek bir teste gereksinim duyulmaktadır⁷.

Serviks kanserinin erken tanı ve taramasında bir diğer önemli yöntem de HPV DNA testidir. Mevcut tüm servikal tarama testleri içerisinde,

HPV testi en objektif ve tekrarlanabilir olanıdır. HPV DNA testinin serviks kanseri ile ilişkisi artık kanıtlanmış olup, serviks kanserli hastaların %99,9'unda HPV DNA varlığı gösterilmiştir⁵. Son yıllarda geliştirilen HPV DNA testinin sitolojik veya diğer bilinen tarama yöntemlerine göre daha duyarlı olduğu gösterilmiştir⁸.

Bu çalışmada, sağlıklı ve hasta bireylerden alınan serviks örneklerinde HPV DNA pozitifliğinin araştırılması; izole edilen HPV DNA'larının genotiplendirilmesi ve Papsmear ve kolposkopi biyopsi sonuçları ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Bu çalışmaya Kasım 2020 ile Ekim 2021 tarihleri arasında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne çeşitli şikayetler nedeni ile başvuran 18 yaş ve üzeri cinsel yönden aktif sağlıklı ve hasta bireyler dahil edildi.

Çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 01.03.2021 tarihli oturumda ve Karar No: 07/2021-08 ile onaylandı ve hastane başhekimliğinden çalışma izni alındı.

Smear Örneklerinin Toplanması ve Sitoloji İncelemesi

Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne başvuran hastalardan rutin jinekolojik muayene için servikal fırça ile servikal ostan saat yönünde 360° döndürülerek örnekler alındı. Alınan örnekler steril tüplere aktararak patoloji laboratuvarına gönderildi. Slaytlar geleneksel papsmear sitolojisi için hazırlandı, standart protokole göre boyandı ve deneyimli bir patolog tarafından değerlendirildi. Sonuçlar 2014 Bethesda 14 sınıflamasına göre yorumlandı⁶.

Biyopsi Örneklerinin Değerlendirilmesi

Kolposkopik incelemede yeşil filtreli 20 büyütmeli kolposkopi cihazı ile aseto-beyaz

alanlar, mozaik desenli alanlar, noktalama işaretleri, atipik damarlar, lökoplaki, aşınmış alanlar ve iyot tutmayan alanlardan servikal biyopsi örnekleri alındı. Biyopsi parçaları patoloji laboratuvarına gönderildi. Laboratuvara ulaşan örnekler standart doku takip işlemine alındıktan sonra hazırlanan hematoksilin-eozin boyalı kesitler ışık mikroskopunda CIN sınıflamasına göre değerlendirildi.

DNA İzolasyonu

Papsmear alınmasından sonra, bir Digene konik fırça örnekleyici (Qiagen, Hilden, ALMANYA, Kat. No. 619234) servikal os'a yerleştirildi ve üç kez 360° döndürüldü, çıkarıldı ve 1 ml digene standart taşıma ortamı (STM) (Qiagen, Gaithersburg, MD, ABD, Kat. 1081184)' na konuldu.

Örnekler oda sıcaklığında mikrobiyoloji laboratuvarına gönderildi ve çalışma gününe kadar buzdolabında +4°C'de saklandı. Servikal örneklerde DNA izolasyonu için EZ1 ® Virus Mini Kit v2.0 (Qiagen, Hilden, ALMANYA, Kat. No. 955134) ve Qiagen EZ1 Advanced (Hilden, Almanya) kullanıldı. 3.2 µl taşıyıcı, 6 µl internal kontrol, 50.8 µl AVE elüsyon tamponu dahil olmak üzere her çalışma için toplam 60 µl karışım hazırlandı ve karışıma 200 µl hasta örneği eklendi.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

HPV genotiplendirmesinde, PCR ürün tespiti için floresan probalar ile çalışan, 15 olası HR-HPV tipinin E7 genini tespit eden multipleks analizör QIAscreen HPV PCR testi (Qiagen, Amsterdam, Hollanda, Kat. No. 617005) kullanıldı. Multiplex PCR yöntemi, her reaksiyon için dört farklı floresan boya kullanarak genotiplerin eş zamanlı olarak saptanmasına olanak tanımaktadır. Dört farklı hedef için farklı floresan boyalar kullanıldı: HPV 16, HPV 18, 13 diğer HR-HPV tipi ve insan β-globin geni. İnsan β-globin geni, hem numune DNA'sının kalitesini hem de potansiyel inhibitör maddelerin

varlığını belirleyen bir internal kontrol olarak kullanıldı⁹.

QIAscreen pozitif kontrolünde β -globin hedefleri için 29'dan düşük, HPV 16 ve HPV 18 için 30'dan düşük ve diğer HPV genotipleri için 32'den düşük CT değerleri anlamlı kabul edildi.

İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesinde değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren kantitatif değişkenler için grup karşılaştırmaları SampleT-test ile, normal dağılım göstermeyen değişkenlerde grup karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Kategorik değişkenler açısından gruplar arasındaki frekans dağılım ilişkisi Ki-Kare testi ve Fisher testi ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ olarak kabul edildi. Verilerin değerlendirilmesinde IBM SPSS İstatistik versiyon 22 ve R 3.3.2 yazılımından yararlandı.

BULGULAR

PCR analizi

Çalışmada 383 hastanın servikal örnekleri analiz edildi. Yüksek riskli HPV tip rastlanan

kadınların yaş ortalaması $41,79 \pm 8,70$ yıl iken, yüksek riskli HPV tipi olmayan kadınların yaş ortalaması $43,41 \pm 9,90$ yıl bulundu. Ancak HPV genotipleri ile yaş grupları arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,484$).

Hastaların 19 (%4,9)'unda yüksek riskli HPV olan HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 ve 68 genotiplerinden biri izole edildi. Bunlar: 5 (%26,3) örnekte HPV 16, 1 (%5,2) örnekte HPV 18 ve kalan 13 (%68,4) örnekte ise diğer yüksek riskli 13 tipten biri tespit edildi.

Patoloji Değerlendirmesi

Sitolojik incelemede; 383 hastanın 354 (%92,4)'ünde inceleme sonuçları normal kabul edildi. Geriye kalan 19 (%5) hastada önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler (ASC-US), 2 (%0,5) hastada yüksek dereceli bir lezyonun dışlanamadığı atipik skuamöz hücreler (ASC-H), 2 (%0,5) hastada düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyonlar (LSIL), 2 (%0,5) hastada yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (HSIL), 3 (%0,8) hastada atipik glandüler hücre (AGC) ve bir (%0,3) hastada adenokarsinoma in situ değerlendirildi (Tablo 1).

Tablo 1: HR-HPV pozitifliğine göre papsmear sonuçlarının dağılımı

HPV DNA	PapSmear Sonucu											p	
	ASC-US		ASC-H		LSIL		HSIL		AGC		Benign		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n		%
HR-HPV (+)	3	15,8	0	0	1	50	1	50	1	33,3	13	3,7	0,019
HR-HPV (-)	16	84,2	2	100	1	50	1	50	2	66,7	341	96,3	

HR-HPV: Yüksek riskli HPV tipi, ASC-US: Önemi belirsiz atipik skuamöz hücre, ASC-H: Yüksek dereceli skuamöz hücrenin dışlanamadığı atipikskuamöz lezyon, LSIL: Düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon, HSIL: Yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon, AGC: Atipik glandüler hücre

Yöntemlerin Karşılaştırması

PCR analizi sitoloji inceleme sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde; HPV 16 saptanan beş hastanın birinde atipik glandüler hücre (AGC), birinde yüksek dereceli bir lezyonun dışlanamadığı atipik skuamöz hücreler (ASC-H) değerlendirilirken, üç hastada patoloji

saptanmadı. HPV 18 saptanan bir hastada ise patoloji tespit edilmedi. Diğer yüksek riskli HPV genotiplerinden biri izole edilen 13 hastanın üçünde önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler (ASC-US), birinde HSIL (yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon) ve dokuzunda normal sitoloji sonuçları elde edildi (Tablo 2).

Tablo II: HPV DNA ve papsmear sonuçlarının karşılaştırılması

Pap Test Sonucu	HPV 16		HPV 18		Diğer HR-HPV		p
	n	%	n	%	n	%	
Benign	3	60	1	100	9	69,2	0,2 26
ASCUS	0	0	0	0	3	23,1	
ASC-H	1	20	0	0	0	0	
AGC	1	20	0	0	0	0	
LSIL	0	0	0	0	0	0	
HSIL	0	0	0	0	1	7,7	

HR-HPV: Yüksek riskli HPV tipi, ASC-US: Önemi belirsiz atipik skuamöz hücre, ASC-H: Yüksek dereceli skuamöz hücrenin dışlanamadığı atipik skuamöz lezyon, LSIL: Düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon, HSIL: Yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon, AGC: Atipik glandüler hücre

Sitolojik incelemeye göre; 383 hastanın 183 (%47,7)'ünde hafif enflamasyon saptanırken, 56 (%14,6)'sında orta düzeyde, 38 (%9,9)'inde ise şiddetli enflamasyon tespit edildi.

Hafif enflamasyonlu hastalardan birinde HPV 18, üçünde ise diğer HR-HPV genotiplerinden biri izole edildi. Diğer HR-HPV genotiplerinden biri izole edilen üç hastada orta derecede enflamasyon, iki hastada şiddetli enflamasyon ve bir hastada enflamasyon belirtisi bulunmadı. Enflamasyon belirtisi olmayan bir hastada ise HPV 16 izole edildi (Tablo 3).

Tablo III: HPV DNA genotiplerine göre servikal enflamasyon şiddeti

Enflamasyon	HPV 16		HPV 18		Diğer HR-HPV		p
	n	%	n	%	n	%	
Hafif	0	0	1	100	3	33,3	0,347
Orta	0	0	0	0	3	33,3	
Şiddetli	0	0	0	0	2	22,2	
Negatif	1	100	0	0	1	11,1	

Çalışma sonucunda HPV PCR analizine göre papsmear testinin duyarlılığı %26, özgüllüğü %93 olarak bulundu.

Kolposkopik biyopsi alınan smear sitolojisi negatif ve HPV 16 pozitif olan beş hastadan birinde eski sınıflandırmaya göre; CIN 2 (HSIL),

bir hastada CIN 1 (LSIL) ve diğer iki hastada normal sonuç bulundu. HPV 18 pozitif ve smear sitolojisi negatif olan bir hastanın biyopsi sonucu ise CIN 3 (HSIL) olarak değerlendirildi.

Diğer HR-HPV tiplerinden biri pozitif ve smear sitolojisi negatif olmasına rağmen bir hastada biyopsi sonucunda skuamöz hücreli karsinom saptandı. Ayrıca bir hastada CIN 1 (LSIL) ve bir hastada da CIN 2 (HSIL) tespit edildi (Tablo 4).

Tablo IV: HPV DNA genotiplerine göre biyopsi inceleme sonucu

HPV Genotip	Biyopsi Sonucu				
	Normal n	CIN 1 n	CIN 2 n	CIN 3 n	Malignite n
HPV 16 (n=5)	2	1	1	0	0
HPV 18 (n=1)	0	0	0	1	0
Diğer HR-HPV (n=13)	10	1	1	0	1

CIN: Servikal intraepitelyal neoplazi, HR-HPV: Yüksek riskli HPV tip, n: Sayı.

TARTIŞMA

Yüksek riskli HPV tiplerinin servikal skuamöz hücreli kanser ve CIN ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle rahim ağzı kanseri risk grubundaki kadınlara HPV taraması ve klinik takip önerilmektedir².

HPV 16 ve 18 serviks kanseri vakalarında en sık izole edilen genotiplerdir. Özellikle HPV 16 hastaların %50'den fazlasında tespit edilmiştir².

Bu durumu destekleyen bir çalışma Ünlübilgin ve diğerleri tarafından yapılmıştır. Majör sitolojik anomalisi (AGC, ASCH ve HSIL) olan hastaların %43, %78,2 ve %83,3'ünde en sık HPV16 saptanmıştır¹⁰. Yine Egli-Gany ve ark'ının çalışmasına göre; biyopsi sonucu CIN 3 ve malignite (adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom) olan hastalarda en sık HPV16 ve/veya HPV18 saptanmıştır¹¹.

Aydoğan ve ark. çalışmalarında, smear patolojisi olan hastalarda en sık HPV tip 16 (%38) saptanırken, sitolojisi normal olan hastalarda; sıklık sırasına göre HPV 16 (%32), HPV 39

(%7,2), HPV 18 (%4,3) ve HPV 11 bulunmuştur¹². Kayseri’de ise kadınlarda yapılan kanser tarama testlerinin sonucunda HPV pozitif olan hastaların %26,7’sinde HPV 16 ve %13,4’ünde ise HPV 51 saptanmıştır¹³.

Çalışmamızda HPV pozitif olanlarda sıklık sırasına göre; diğer HR-HPV tipleri (%81,3), HPV 16 (%26,3) ve HPV 18 (%6,3) tespit edilmiştir.

Erdoğan ve ark. bizim çalışmamıza benzer şekilde en sık HPV16 ve 18 dışında kalan diğer onkogenik HPV tiplerini saptamışlardır (%51,3)¹⁴.

HPV pozitiflik oranlarının; hastaların sosyokültürel özelliklerine, kullanılan tanı yöntemlerine ve alınan örneklerin kalitesine göre farklılık gösterdiği bildirilmektedir³.

Dünyanın farklı bölgelerinden elde edilen çalışmaların sonuçlarına göre normal servikal sitolojiye sahip örneğin analizinde; en yüksek HPV pozitiflik oranı Okyanusya (%21,8) ve Afrika’da (%21,1) saptanmıştır. Ayrıca Avrupa’da HPV oranı %14,2, Amerika’da %11,5 ve Asya’da %9,4 bulunmuştur¹.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda HPV pozitiflik oranları %4,16 ile %21,1 arasında değişmektedir^{4,12-15}. Çalışmamızda HPV pozitiflik oranı %4,9 (n=19) bulunmuş olup, diğer çalışmalara göre düşük saptanmıştır.

Gelişmiş ülkelerde papsmear testinin yanı sıra kolposkopi, servikal biyopsi, endoservikal küretaj gibi ileri tanı yöntemlerinin kullanılmasının serviks kanseri gelişimini %80’den fazla azalttığı bildirilmektedir¹⁶.

Papsmear testi, düşük maliyeti ve uygulama kolaylığı nedeniyle serviks kanseri taramasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Papsmear testinin kullanılmasıyla serviks kanseri mortalitesinde önemli ölçüde azalma ve preinvazif lezyon insidansında artış gözlenmiştir. Ancak papsmear testinde yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar tek başına

papsmear testinin yeterli olmadığını göstermektedir¹⁷.

Servikal yaymanın sitolojik olarak değerlendirilmesi ve aynı örnekte eş zamanlı HPV DNA çalışılması “Co-test” olarak adlandırılmaktadır. Co-test, günümüzde 30 yaş üzerindeki kadınlarda en çok kabul gören tarama yöntemidir. Otuz yaş altı grupta ise HPV enfeksiyonları yüksek oranda geçici olduğundan co-test önerilmemektedir; persistans düşüktür ve testin yanlış pozitiflik oranını arttırdığı bildirilmiştir¹⁸. Bununla birlikte, Avrupa tanı kılavuzları, co-testin daha düşük pozitif prediktif değer ve daha yüksek kolposkopi sevk oranlarına sahip olması nedeniyle HPV test (sitoloji testi) ile takip yapılmasını önermektedir¹⁹.

Pankaj ve ark. Hindistan’da yaptıkları analizde, papsmear sitolojisinin serviks kanserini saptamadaki duyarlılığını %75,80 ve özgüllüğünü %98,05 olarak bulmuşlardır²⁰. Çalışmamızda papsmear testinin duyarlılığı %26 ve özgüllüğü %93 saptanmıştır. Papsmear testinin özgüllüğü yüksek olmasına rağmen duyarlılığı düşük bulunmuştur. Nekrotik kalıntı ve enflamasyonun, papsmear testinin doğruluğunu sınırladığı bildirilmiştir. Ayrıca aile öyküsü, vajinal kanama, hipertansiyon ve papsmear testinin bir arada kullanılmasının rahim ağzı kanseri taramasının etkinliğini iyileştirdiği gösterilmiştir²¹.

ASC-US sitolojik yayma incelemelerinde en sık rastlanan patolojidir²²⁻²⁴. Ancak ASC-US vakalarının yaklaşık yarısının 12 aylık takipte düzeldiği görülmüştür²⁴. Bu nedenle papsmear testinde ASC-US veya LSIL saptanan hastalarda sitolojik inceleme ile takip, HSIL saptanan hastalarda ise kolposkopik biyopsi yapılması önerilmektedir²³. Öte yandan Kuramoto ve ark. ASC-US sitolojisi olan hastalarda yüksek oranda (%42,6) HR-HPV tespit etmişlerdir²⁵.

Erdoğan’ın çalışmasında HPV DNA pozitif hastaların sitolojik incelemesinde; %39,8 LSIL,

%32,5 ASC-US, %5,5 HGSIL ve %3,3 malign sitoloji saptanmıştır. Bu çalışmada HPV 16 hem normal sitoloji hem de patoloji olan yaymada en sık tespit edilen genotip olmuştur¹⁴.

Çalışmamızda HPV 16 olan 5 hastanın üçünde patoloji saptanmazken, bir hastada AGC ve bir hastada ASC-H değerlendirilmiştir. HPV18 tespit edilen bir hastada ise patoloji saptanmamıştır. Diğer HR-HPV genotiplerinden birine sahip 13 (%81,3) hastanın üçü ASC-US, biri HSIL ve dokuzu normal sitoloji ile uyumlu bulunmuştur.

Literatürde aksi yönde çalışmalar da bulunmaktadır. Örnek olarak, Jácome-Galarza ve ark. Meksika'da 159.288 kişiden alınan örneklerde sitolojiyi %64,4'ünde normal, %26,6'sında LSIL ve %8,8'inde HSIL saptamışlardır²⁶.

Çalışmamızda sitolojiye göre HPV pozitifliği değerlendirildiğinde; ASC-US sitoloji sonucu olan 18 hastanın ikisinde diğer HR-HPV tipleri ve LSIL olan iki hastadan birinde HPV 16 pozitifliği saptanmıştır.

Ülkemizde ulusal kanser tarama standartlarına göre HPV için yaş aralığı 30-65 olarak belirlenmiştir. Genellikle HPV pozitifliği 25 yaş altı ve 45-50 yaş arası kadınlarda daha sık görülmektedir. HPV pozitifliği erken yaşta tanınmasına rağmen vakaların %50-90'ında spontan gerileme görülmektedir. Ancak hasta HPV genotip 16 ve/veya 18 ise kolposkopik inceleme yapılmaktadır²⁷.

Genellikle HPV pozitifliği sıklıkla 25 yaş altı ve 45-50 yaş arası kadınlarda daha sık rastlanmaktadır. HPV pozitifliği erken yaşta tanınmasına rağmen vakaların %50-90'ında spontan gerileme görülmektedir².

2018 yılında Göktuğ ve ark. 52000 kadın hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, en yüksek HPV pozitifliği 40 yaş grubunda (%5,1) ve en düşük 65 yaş grubunda (%0,1) bulunmuştur²⁸.

Çalışmamızda benzer şekilde HR-HPV pozitif olguların %57'si 35-44 yaş grubunda tespit edilirken, %21'i 45-54 yaş grubunda, %15'i 25-34 yaş grubunda ve %0,5'i 55 ve üzeri yaş grubunda saptanmıştır.

Gilham ve ark. çalışmalarında 10 yıl boyunca takip ettikleri hastalarda sitolojisi normal veya düşük dereceli anomalisi olan hastalarda CIN 3 ve kanser gelişimi %2,9; HPV 16/18 pozitif ve smear sitoloji negatif veya borderline anomalisi olanlarda %19,4-23,8; diğer HR-HPV genotip ve yayma sitolojisi normal ve/veya sınırda olan hastalarda %3,2-4,5 saptanmıştır⁵. Lazare ve ark. ise persistan HPV 16, 52, 58 ve 33 olan kadınlarda 24 ay içinde CIN 1 ve 2 geliştiğini tespit etmişlerdir. Smear sitolojisi normal veya düşük dereceli olan hastalarda %2,9 CIN 3 ve kanser gelişimi saptamışlardır²⁹.

2022 yılında yayınlanan Türkiye geneli HPV raporuna göre, sitolojisi normal olan kadınlarda HPV Tip 16 ve 18 sıklığı %4,2; CIN 1 (LSIL) olan hastalarda %24,1; CIN 2 ve 3 saptanan hastalarda %30,2 ve serviks kanseri saptanan hastalarda ise %67,6 olarak bildirilmiştir⁴.

Çalışmamızda HPV 16 pozitif ve sitolojik incelemesi negatif olan dört hastadan birinde kolposkopik biyopsi sonucu CIN 2 (HSIL), bir hastada CIN 1 (LSIL) ve diğer iki hastada normal bulunmuştur. HPV 18 pozitif ve negatif smear sitolojisi olan bir hastanın biyopsi sonucu CIN 3 (HSIL) olarak belirlenmiştir. Ayrıca diğer HR-HPV pozitif hastada sitolojik inceleme negatif olmasına rağmen biyopsi sonucu ile skuamöz hücreli karsinom değerlendirilmiştir. Bu bulgular, papsmear sitolojisinin lezyonları saptamak için tek başına yeterli olmadığını ve diğer HR-HPV tiplerinin kanser öncesi lezyonlara veya kansere dönüşebileceğini göstermektedir^{29,30}.

Sonuç olarak, papsmear testi negatif olmasına rağmen gelişen CIN lezyonları, diğer HR-HPV tiplerini de tanımlayan moleküler tanı yöntemlerinin co-test ile birlikte

değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Bu çalışma Hacer Yerlikaya'nın tezinden derlendi.

Etik Kurul Onayı: Çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 01.03.2021 tarihli oturumda ve Karar No: 07/2021-08 ile onaylandı ve hastane başhekimliğinden çalışma izni alındı.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma herhangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Declaration of Conflicting Interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: No financial support was received.

KAYNAKLAR

1. Kombe AJ, Li B, Zahid A, et al. Epidemiology and Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases, Molecular Pathogenesis, and Vaccine Evaluation. *Front Public Health*. 2020; 8: 552028.
2. WHO. Human Papillomavirus. <https://www.who.int/teams/health-product-policy-and-standards/standards-and-specifications/vaccine-standardization/human-papillomavirus>. Erişim tarihi: 02.07.2022.
3. Le Conte BA, Szaniszló P, Fennewald SM, et al. Differences in the viral genome between HPV-positive cervical and oropharyngeal cancer. *PLoS ONE*. 2018; 13: e0203403.
4. Turkey: Human Papillomavirus and Related Diseases, Summary Report 2022 <https://hpcvcentre.net/statistics/reports/TUR.pdf?t=1566212891661>. Erişim tarihi: 02.07.2022.
5. Gilham C, Sargent A, Peto J. Triaging women with human papillomavirus infection and normal cytology or low-grade dyskaryosis: evidence from 10-year followup of the ARTISTIC trial cohort. *BJOG*. 2020;127(1):58-68. doi: 10.1111/1471-0528.15957.
6. Pangarkar MA. The Bethesda System for reporting cervical cytology. *Cytojournal*. 2022;19:28. doi: 10.25259/CMAS_03_07_2021.

7. Bhatla N, Singhal S. Primary HPV screening for cervical cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2020; 65: 98-108.

8. Aitken CA, vanAgt HME, Siebers AG, et al. Introduction of primary screening using high-risk HPV DNA detection in the Dutch cervical cancer screening programme: a population-based cohort study. *BMC Med*. 2019 11;17(1):228. doi: 10.1186/s12916-019-1460-0.

9. Menu and flexibility with QIAScreen HPV PCR Test. <https://herqiagen.com/qiascreen/>. Erişim

10. Ünlübilgin E, Koç S. Major Sitolojik Anormalliklerde Kolposkopik Histopatoloji Sonuçlarımız: Tersiyer bir Merkezde 5 Yıllık Deneyim. *Dicle Med J*. 2021; 48 (2) : 282-291.

11. Egli-Gany D, SpaarZographos A, Diebold J, human papilloma virus Human papillomavirus genotype distribution and socio-behavioural characteristics in women with cervical pre-cancer and cancer at the start of a human papillomavirus vaccination programme: the CIN3+plus study. *BMC Cancer*. 2019;19(1):111. doi: 10.1186/s12885-018-5248-y.

12. Aydoğan S, Yazgan A, Taş EE, et al. Eş zamanlı servikal sitoloji örneklerinde yüksek riskli HPV tiplerinin varlığı ve dağılımı. *Türk Hij Den Biyol Derg*. 2018; 75(1): 13 - 20.

13. Yıldız S, Özdemir ME, Gökçek MB, et al. Kayseri ili 2018 yılı HPV tarama sonuçlarının Değerlendirilmesi. *Türk J Public Health*. 2021; 19 (3).

14. Erdoğan İH. Moleküler HPV Uygulanan Olgularda HPV sonuçları ile patolojik materyallerin karşılaştırılması. *Dicle Med J*. 2019; 46 (1): 167-72.

15. Erdoğan P, Akkaya F. Ulusal serviks kanseri tarama programının mevsimsellik ve demografik eğilimleri: COVID-19 pandemisinin etkisi. *Türk J Public Health*. 2022; 20 (1):152-63.

16. Arbyn M, Weiderpass E, Bruni L, et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a world wide analysis. *Lancet Glob Health*. 2020; 8 (2): e191-e203.

17. Koliopoulos G, Nyaga VN, Santesso N, et al. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population. *Cochrane*

- Database Syst Rev. 2017; 8 (8): CD008587. doi: 10.1002/14651858.CD008587.pub2.
18. Cervical Cancer. What Should I Know About Screening? https://www.cdc.gov/cancer/cervical/basic_info/screening.htm Erişim tarihi: 28.06.2022.
19. Jans L, Zetterström K, Bergengren L, et al. The value of adding a single co-test in HPV primary screening. *Prev Med.* 2021; 149: 106617. doi: 10.1016/j.ypmed.2021.106617.
20. Pankaj S, Kumari A, Kumari S, et al. Evaluation of Sensitivity and Specificity of Papsmear, LBC and HPV in Screening of Cervical Cancer. *Indian J Gynecol Oncol.* 2018; 16: 49.
21. Al-Madani W, Ahmed AE, Arabi H, et al. Modelling risk assessment for cervical cancer in symptomatic Saudi women. *Saudi Med J.* 2019; 40 (5): 447-451. doi: 10.15537/smj.2019.5.24085.
22. Ronco G, Giorgi Rossi P. Role of HPV DNA testing in modern gynaecological practice. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018; 47: 107-118. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2017.08.002.
23. Arslan E, Gökdağlı F, Bozdağ H, et al. Abnormal papsmear frequency and comparison of repeat cytological follow-up with colposcopy during patient management: the importance of pathologist's guidance in the management. *North Clin Istanbul.* 2019; 6 (1): 69-74. doi: 10.14744/nci.2018.93270.
24. Sundström K, Lu D, Elfström KM, et al. Follow-up of women with cervical cytological abnormalities showing atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion: a nationwide cohort study. *Am J Obstet Gynecol.* 2017; 216 (1): 48.e1-48.e15. doi: 10.1016/j.ajog.2016.07.042.
25. Kuramoto H, Banno M, Sugimoto N, et al. Comparison of cytologic findings between specimens with and without high-risk HPV infection in those with ASC-US judgement. *Hum Cell.* 2020; 33 (2): 397-404. doi: 10.1007/s13577-019-00307-8.
26. Jácome-Galarza I, Ito-Nakashimada MA, Figueroa-Aguilar G, et al. Prevalence of Human Papillomavirus in Women from the State of Michoacan, Mexico, Showed High Frequency of Unusual Virus Genotypes. *Rev Invest Clin.* 2017; 69 (5): 262-269. doi: 10.24875/ric.17002065.
27. T.C. Sağlık Bakanlığı Servis Kanseri Tarama Programı Ulusal Standartları (internet). <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/kansertarama-standartlari/listesi/serviskanseri-tarama-program%C4%B1-ulusal-standartlar%C4%B1>. Erişim tarihi: 28.06.2022.
28. Göktuğ Kadioğlu B, Çınar Tanrıverdi E, Alay H, et al. Erzurum ilinde 52.000 kadında hybrid capture 2 yöntemi kullanılarak yapılan insan papilloma virüs (HPV) tarama sonuçlarının serviks kanseri ile ilişkisi [Relation of cervical cancer with the results of human papillomavirus (HPV) screening carried out via hybrid capture 2 method on 52.000 women in Erzurum]. *Mikrobiyol Bul.* 2018; 52 (4): 367-375. doi: 10.5578/mb.67419.
29. Lazare C, Xiao S, Meng Y, et al. Evaluation of Cervical Intraepithelial Neoplasia Occurrence Following the Recorded Onset of Persistent High-Risk Human Papillomavirus Infection: A Retrospective Study on Infection Duration. *Front Oncol.* 2019; 9: 976. doi: 10.3389/fonc.2019.00976.
30. Arbyn M, Smith SB, Temin S, et al. Collaboration on Self-Sampling and HPV Testing. Detecting cervical precancer and reaching underscreened women by using HPV testing on self samples: updated meta-analyses. *BMJ.* 2018; 363: k4823. doi: 10.1136/bmj.k4823.



Non-Valvüler Atriyal Fibrilasyon Hastalığı Olan Bireylerde Cha2ds2-Vasc –Skorunun Ekokardiyografik Parametrelerle İlişkisi: Tek Deneyim Merkezi

Ramazan Duz¹, Aytaç Akyol¹, Naci Babat¹

1 Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

Geliş: 26.01.2023; Revizyon: 03.05.2023; Kabul Tarihi: 08.05.2023

Öz

Amaç: Atriyal fibrilasyon (AF) nın tromboembolik olaylarından korunmak için Oral-antikoagülan (OAK) başlama endikasyonu CHA2DS2VASc puanlama sisteminde iki ve üzeri olan bireylerde OAK kullanımı tavsiye edilmektedir. Non-valvüler AF hastalarının tedavisinde oral antikoagülan kullanım endikasyonu belirlenmesinde CHA2DS2-VASc skorunun kullanılması ile beraber ekokardiyografik (Epikardiyal yağ dokusu(EYD) karotis intima media kalınlığının (KİMK) (aortik propagasyon velositesi) AVP) parametreler non-valvüler AF'nin tedavisi için önemli bir hedef organı olabilir.

Yöntemler: Non-valvüler atriyal fibrilasyon tanısı alan ve 18-90 yaş aralığında başvuran 100 hasta üzerinden gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubu için çalışmaya dahil edilen 50 hasta ile birlikte çalışmada toplam 150 birey gözlemlenmiştir. Hastalara ait AVP, EYD, KİMK değerleri ekokardiografi laboratuvarımızdaki VividE9 Ekoakardiyografi cihazı (Advanced Technology Laboratories) kullanılarak 3.0 ve 10-MHz'lik probalar ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Bizim çalışmamızın verileri sonucunda Epikardiyal yağ dokusu ve karotis intima media kalınlığı CHA2DS2-VASc skoruyla ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ,Aortik Propagasyon Velositesi ile anlamlı bulunmadı. Çalışmamızda hasta sayımızın azlığı,çok fazla kişisel ve/veya işlemsel farklılık saptanmasında payı olabileceğinden dolayı bu konuda daha fazla hasta sayısını içeren prospektif çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Sonuç. Non-valvüler AF hastalarının tedavisinde oral antikoagülan kullanım endikasyonu belirlenmesinde CHA2DS2-VASc skorunun kullanılması ile beraber ekokardiyografik (AVP, EYD, KİMK) parametreler non-valvüler AF'nin tedavisi için önemli bir hedef organı olabilir.

Anahtar kelimeler: Non-valvüler atriyal fibrilasyon, CHA2DS2-VASc skoru, karotis intima media kalınlığı, aortik propagasyon velositesi, epikardiyal yağ dokusu

DOI: 10.5798/dicletip.1313402

Correspondence / Yazışma Adresi: Naci Babat, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye e-mail: nacibabat@hotmail.com

The Relationship Of Cha2ds2-Vasc-Score And Echocardiographic Parameters In Individuals With Non-Valvular Atrial Fibrillation Disease: Single Experience Center

Abstract

Aim: In order to prevent thromboembolic events of atrial fibrillation (AF), OAC(oral-anticoagulant) use is recommended in individuals with an OAC initiation indication of two or more in the CHA2DS2VASc scoring system. Echocardiographic (epicardial adipose tissue (EAT) carotid intima-media thickness (CIMT) (aortic propagation velocity) AVP) parameters together with the use of CHA2DS2-VASc score to determine the indication for oral anticoagulant use in the treatment of non-valvular AF patients are important for the treatment of non-valvular AF can be a target organ.

Method: The study was carried out with 100 patients, aged between 18-90 years, diagnosed with non-valvular atrial fibrillation. A total of 150 individuals were observed in the study with 50 patients included in the study for the control group. AVP, EYD, CIMT values of the patients were measured with 3.0 and 10-MHz probes using the Vivide9 Echocardiography device (Advanced Technology Laboratories) in our echocardiography laboratory.

Results: As a result of the data of our study, the relationship between Epicardial adipose tissue (EAT) and carotid intima-media thickness (CIMT) and CHA2DS2-VASc score was statistically significant, but it was not found to be significant with Aortic Propagation Velocity (AVP). Prospective studies with a larger number of patients are needed in this regard, as this may have a role in determining the difference.

Conclusion: Echocardiographic (AVP, EYD, CIMT) parameters can be an important target organ for the treatment of non-valvular AF, together with the use of the CHA2DS2-VASc score to determine the indication for oral anticoagulant use in the treatment of non-valvular AF patients.

Keywords: Non-valvular atrial fibrillation, CHA2DS2-VASc score, carotid intima media thickness, aortic propagation velocity, epicardial adipose tissue.

GİRİŞ

Atriyal fibrilasyon (AF) nüfusun %1-2'sinde görülmekte olup, klinik pratikte erişkin bireylerde en sık görülen aritmi problemidir. AF bağlantılı tromboembolik olaylar ve hemodinamik anomaliler morbidite ve mortaliteye önemli oranda sebep olmaktadır¹⁻⁴. AF'nin sebep olduğu tromboembolik vakaların en başında iskemik inme gelmektedir. AF iskemik inmeye sebep olan bağımsız güçlü bir risk faktörüdür. AF hastaları bir yıllık iskemik inme riski başka ek hastalıklara bağlı olarak %3 ile %8 oranında değişmektedir⁵. Oral-antikoagülan başlama endikasyonu CHADS2 skoru ile belirtilirken 2010 ESC(European Society of Cardiology) kılavuzunda CHA2DS-2VASc [konjestif kalp yetersizliği, hipertansiyon, yaş ≥75 (iki kat),

diyabet, inme (iki kat), damar hastalığı, 65-74 arası yaş, ve cinsiyet kategorisi (kadın)] 9 puan

üzerinden değerlendirilen skor sisteminde 2 ve üzeri puan alan hastalarda oral antikoagülan kullanımı önerilmektedir. Aortik propagasyon velositesi ölçümü kolay ve pratik

bir yöntemdir ve hastalarda noninvaziv kardiyovasküler risk analizi için kullanılabilir ve ileri değerlendirme gerektiren yüksek kardiyovasküler riski olan hastaların belirlenmesinde etkin rol alabilir⁶. Aterosklerotik hastalığın belirti vermediği dönemde ateroskleroz hastalığın derecesi ile meydana gelebilecek ölümcül vasküler olayları önceden tespit etmek için asemptomatik hastalarda pek çok farklı çalışmalar yapılmıştır özellikle dopler arter ultrasonu ile karotis intima media kalınlığını ölçülerek kardiyovasküler ve inme risk yüzdesi tespit edilebilmesinde kullanılabileceği görülmüştür⁷⁻¹⁰. Epikardiyal yağ dokusu kardiyak yapılara olan yakınlığı ve çeşitli proinflatuar sitokinlerin kaynağı olması nedeniyle çoklu

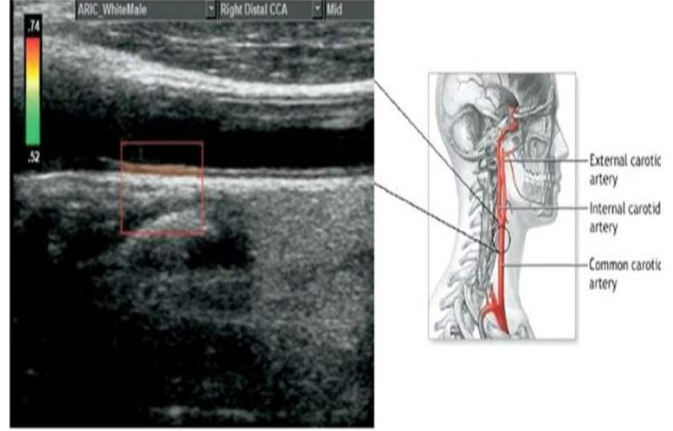
mekanizmalarla AF'nin patogeneğinde sorumlu tutulmuştur. Non-valvüler AF'de inme ve tromboembolizm tedavisi için oral antikoagülan kullanımını belirleyen CHA₂DS₂-VASc skorunun puanlanmasında ekokardiyografik parametrelerle (KİMK, EYD ve AVP) ilişkisinin anlamlı olup olmadığını araştırdık.

YÖNTEMLER

Çalışma yüzüncü yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji ABD polikliniğindeki non-valvüler atriyal fibrilasyon tanılı, 18-90 yaş aralığında 100 hasta ile gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubu için çalışmaya dahil edilen 50 hasta ile birlikte çalışmada toplam 150 hasta değerlendirilmiştir. Hastaların beden kitle indeksleri , boy, kilo, cinsiyet, yaş, sigara , açlık kan şekeri , lipid paneli gibi genel laboratuvar tetkiklerine bakılarak değerlendirilmeler yapıldı . Hastalara ait AVP, EYD, KİMK değerleri ekokardiografi laboratuvarımızdaki VividE9 Ekoakardiyografi cihazı (Advanced Technology Laboratories) kullanılarak 3.0 ve 10-MHz'lik probalar ile gerçekleştirildi.

KİMK Ölçümü:

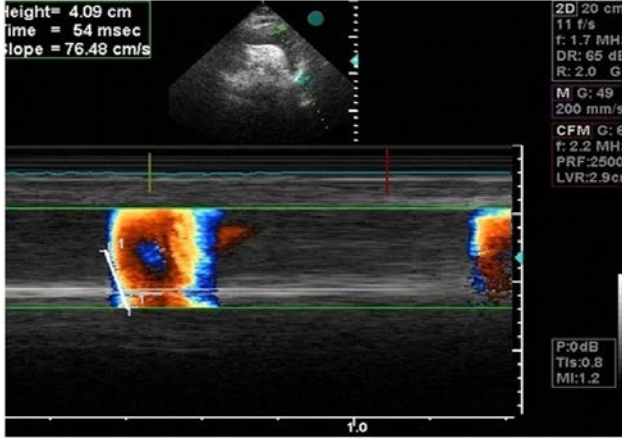
KİMK ölçümleri için bireyler, başları arkaya doğru, sırtüstü pozisyonda eğimli olarak yerleştirildi. Klinik veriler hakkında bilgisi bulunmayan tecrübeli iki operatör tarafından, Sol ve Sağ karotis arterler, 10 mHz doğrusal prob ile görüntülendi. Ana karotis arter bulbusundan başlayarak ilk iki cm'lik distal bölgenin içerisinde bir cm'lik bir segment tespit edildi. Ölçümler maximum intima-media kalınlığı görülen görüntüler kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir değer belirlenmesi amacıyla, sol ve sağ ana karotis arterlerden en az 3 ölçüm alındı ve söz konusu 3 ölçümün ortalamasıyla KİMK değeri belirlendi (Şekil1).



Şekil 1: Sağda AKA orta segmentinin DUSG B-mode görüntüsü

Aortik Propasyon Velositesi Ölçümü:

Ekokardiyografide hastalar dinlendikten sonra başları arkaya doğru sırtüstü pozisyonda, eğimli olarak sedyeye uzatıldı. Birbiri ile bağlantısı bulunmayan iki tecrübeli operatör, ölçümleri 3.0MHz transducer prop ile gerçekleştirdi. Supin pozisyonunda superasternal bir pencereden aşağı uzanan aorta paralel olarak, renkli M-mod formatında, ana akıma paralel kursor kullanılarak ölçümler yapıldı. Renkli Dopler Nyquistin limiti 30-50cm/sn olarak ayarlandı. Kayıtlar 200 mm/sn tarama hızında yapılarak alev biçiminde M-mod spatiotemporal velosite bulundu. Alev eğilimi net olmadığında net görülen bir isovelosite eğilimi elde edilinceye kadar aliasing'in velositesi değiştirilebilmek amacıyla bazal kaydırma gerçekleştirildi. Ardından eğimin bitiş ve başlangıç noktaları arasındaki mesafenin, geçen süreye bölünmesiyle aortik akımın hızı elde edildi. AVP değeri olarak, minimum üç defa bulunan değer ortalaması kabul edildi (Şekil:2).



Şekil 2: AVP ölçümünün İnen Aort'ta yapılması

EYD Kalınlığı Ölçülmesi:

Hastalar, Ekokardiyografik analiz için genellikle sol lateral dekübit pozisyonuna döndürülerek 2D ekokardiyografi cihazıyla 3,0MHz transducer ile gerçekleştirilmiştir. Transtorasik ekokardiyografik görüntüleme epikardiyal yağ dokunun ölçümleri parasternal uzun aksda görüntülenmesinde sağ ventrikül serbest duvarının komşuluğundaki ekolusen alan kalınlığı, aort anulusuna dikey olarak end diyastolde yapılmıştır (Şekil-3).



Şekil 3: Kırmızı çizgiler ile işaretlenmiş ekolusen alan EYD'nin göstermektedir

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistik değerlendirmemiz, SPSS 16 programından istifade edilerek gerçekleştirildi. Kategorik değişkenler için yüzde ve sayı kullanılırken sayısal değişkenler için ise tanımlayıcı istatistiklerden (maksimum,

minimum, standart sapma, ortanca, ortalama) istifade edildi. Ayrıca, Sayısal değişkenlerin bağımsız grup karşılaştırmaları, man whitney u ve t testleri ile yapıldı. Kategorik değişkenlerin grup karşılaştırmalarında çapraz tablo istatistikleri kullanıldı. Çapraz tablo istatistiklerinde Ki-kare testine bakıldı. Hasta grubunun sayısal değerleri arasındaki ilişki Pearson ve spearman korelasyon testlerinden istifade edilerek gerçekleştirildi. İstatistiksel anlamda $p < 0,05$ değeri anlamlı alındı.

BULGULAR

Çalışmamıza toplam 150 tane hasta alındı. Bu hastalardan 100 tanesi AF ve 50 tanesi kontrol grubuydu. Atriyal fibrilasyon'lu hastalar kronik, paroksizmal, yeni başlangıçlı AF olarak 3 gruba ayrıldı. Çalışmaya katılanların 77'si (%51,3) kadın ve 73'ü (%48,7) erkekti. Hasta gruplarında ortalama yaş $65,77 \pm 9,69$ (min 42-max 86), kontrol gruplarında ortalama yaş $66,94 \pm 10,99$ (min:35-max:87). Non-valvüler AF 100 hastanın ilk atak sayısı 3(%3) kişi, paroksizmal AF 14(%14) kişi, kalıcı AF 83(%83) kişi olarak belirlendi. Hipertansiyon (HT) hastalarda saptanan en sık komorbid durumdu 92(%92) kontrol grubunda hipertansiyon 27(%54) tespit edildi. Daha sonra sırasıyla; Koroner arter hastalığı (KAH) hasta grubunda 74(%74) kontrol grubunda 2(%2), diabetes mellitus hasta grubunda 17(%17) kontrol grubunda 9(%18), inme hasta grubunda 10 (%10) kontrol grubunda 0(%0) izlemekteydi. Kardiyovasküler risk faktörlerinin non-valvüler atriyal fibrilasyonlu hastalarla, normal kontrol grubu arasındaki dağılımına bakıldığında HT ($p: 0,000$) ve KAH ($p: 0,000$) mevcudiyeti hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek görüldü, hasta ve kontrol grubuna göre HT ve KAH sahip birey farklılığı istatistiksel olarak anlamlıdır. Dm, yaş, cinsiyet, sigara değerlerinde ise hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$) (Tablo 1-2).

Tablo I: Hasta ve kontrol grubundaki ek hastalık oranları ve yüzdelik oranları

	Sayı (n)	Sigara (n)	Sigara (%)	HT (n)	HT (%)	DM (n)	DM (%)	KAH (n)	KAH (%)	SVO (n)	SVO (%)
Hasta	100	29	29	92	92	17	17	74	74	10	10
Kontrol	50	11	22	27	54	9	18	2	4	-	-

Tablo II: Hasta ve kontrol grubunun kah risk faktörlerinin yüzdelik dağılımı

		Sayı (n)	Yüzde (%)	P değeri (* p<0,05)
Sigara Kullanımı	Hasta Grubu	29/100	29	0,057
	Kontrol Grubu	11/50	22	
Hipertansiyon	Hasta Grubu	92/100	92	0,000*
	Kontrol Grubu	27/50	54	
Diabetes Mellitus	Hasta Grubu	17/100	17	0,763
	Kontrol Grubu	9/50	18	
Koroner Arter hastalığı	Hasta Grubu	74/100	74	0,000*
	Kontrol Grubu	2/50	4	

Yaş ve KİMK arası ilişkiye bakıldığında aralarında anlamlı ilişki bulundu(p:0,000) Hasta grubunun 0,80 mm±0.22 kontrol grubunun 0,67 ±0,137 göre bakılan KİMK ortalaması istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p:0,009). Hasta grubunun kontrol grubuna göre EYD istatistiksel olarak anlamlı bulundu(p:0,018),hasta grubu ile kontrol grubu arasında AVP istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı(p:0,772). Hasta grubunun kontrol grubuna göre VKİ istatistiksel olarak anlamlı bulundu(p:0,000), Hasta grubunun kontrol grubuna göre KAH istatistiksel olarak anlamlı bulundu(p:0,000)(Tablo-3).

Tablo II: Kardiyovasküler risk faktörlerinin KİMK, EYD ve AVP'nin gruplar arasındaki dağılımı.

	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	P Değeri (* p<0,05)
Yaş (yıl)	65,77±9,69	66,94±10,99	0,749
KİMK	0,80±0,22	0,67±0,137	0,009*
EYD (cm)	0,542±0,142	0,478±0,101	0,018*
AVP (cm/sn)	43,79±8	41,26±6,68	0,772
VKİ (kg/m ²)	28,136±5,88	25,334±2,43	0,000*
HT (n/%)	92/92	27/54	0,000*
DM (n/%)	17/17	9/18	0,763
Sigara Kullanan (n/%)	29/29	11/22	0,057
KAH (n/%)	74/74	2/4	0,000*

Yaşın KİMK üzerine etkisi ile ilgili yapılan popülasyon çalışmalarında yaş ile KİMK artışı arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır¹¹. Bizim çalışmamızda daha önceki çalışmaları destekler mahiyette hasta grubunda yaşın EYD ve KİMK arasında pozitif yönde anlamlı ilişki olduğunu saptadık(p<0.000). Fakat aynı ilişkiyi AVP ile yaş arasında gözlemleyemedik.

Hasta grubundaki EYD , KİMK ile VKİ arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ama AVP ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.KİMK ile EYD ortalaması arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu.AVP ortalamasıyla EYD

ortalaması arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. AVP ortalamasıyla KİMK ortalaması arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (tablo-4).

Tablo IV: Hasta grubundaki EYD, KİMK ve AVP'nin birbirleriyle, yaş/VKİ ile ilişkileri.

	Yaş	VKİ	EYD	KİMK	AVP
EYD	0,000*	0,001*		0,000*	0,361
KİMK	0,000*	0,02*	0,000*		0,291
AVP	0,936	0,181	0,361	0,291	

Erkek cinsiyet iskemik inmede değiştirilemez risk faktörleri arasında olmasının yansıra, KİMK artışı ile ilişkisi de yapılan bazı çalışmalarda anlamlı olarak gösterilmişken bazı çalışmalarda ise etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır¹²⁻¹⁴.

Bizim çalışmamızda ise iskemik inmeli hastalar içinde erkek cinsiyetin KİMK artışı üzerine anlamlı etkisi olmadığı görüldü (p>0.05). Erkek cinsiyetin AVP ve EYD ile ilişkilerine baktığımızda ise aynı şekilde yaş ile ikisi arasında anlamlı ilişki olmadığı görülmüştür (p>0.05). Hasta grubunda EYD'nin cinsiyet, DM, HT, SVO, sigarayla ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmedi. Hasta grubunda KİMK'nin DM, HT, SVO, sigarayla ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmedi. Hasta grubunda AVP'nin DM, HT, SVO, sigarayla ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmedi (Tablo-5).

Tablo V: Hasta grubundaki EYD, KİMK ve AVP'nin kardiyovasküler risk faktörleri ile ilişkisi.

	Cinsiyet	DM	HT	SVO	Sigara
EYD	0,139	0,443	0,167	0,394	0,473
KİMK	0,240	0,496	0,204	0,188	0,158
AVP	0,191	0,442	0,271	0,141	0,359

Tablo VIII: CHA2DS2VASC skorunun KİMK, AVP, EYD ile ilişkisi

	CHA2DS2VASC (1) (n=5)	CHA2DS2VASC (2) (n=19)	CHA2DS2VASC (3) (n=32)	CHA2DS2VASC (4) (n=34)	CHA2DS2VASC (5) (n=5)	CHA2DS2VASC (6) (n=4)	CHA2DS2VASC (7) (n=1)	p (*p<0,05)
EYD	0,48±0,04	0,47±0,07	0,56±0,08	0,65±0,08	0,74±0,05	0,83±0,01	0,74	0,000*
KİMK	0,52±0,11	0,59±0,09	0,69±0,09	0,79±0,07	0,95±0,1	1,15±0,06	1,2	0,000*
AVP	42,4±5	43,84±8,02	43,25±6,8	43,24±6,77	50,8±19,68	44,5±9,81	48	0,606

Hasta ve kontrol grubuna göre glukoz düzeyi istatistiksel olarak anlamlı farklı görüldü (p:0,024), kreatin total kolesterol, HDL, LDL, TG anlamlı farklılık yoktur (tablo-6).

Tablo VI: Çalışma Grubunun Laboratuvar Özellikleri

	Hasta	Kontrol	P (* p<0,05)
Kreatinin (mg/dl)	1,02±0,89	0,83±0,24	0,107
Glukoz (mg/dl)	129,13±70,98	115,72±41,91	0,024*
Total kolesterol (mg/dl)	177,73±49,04	187,08±38,32	0,066
LDL (mg/dl)	110,62±39,06	113,98±35,77	0,189
HDL (mg/dl)	37,84±10,79	39,54±10,60	0,766
Trigliserit (mg/dl)	154,5±79,11	169,68±88,02	0,501

CHA2DS2VASC skorunun ortalaması ile HAS-BLED skorunun ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu. CHA2DS2VASC ve HAS-BLED skorları için AF grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında kronik AF grubunda yeni başlangıçlı AF ve paroksizmal AF grubuna göre daha anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Tablo-6) CHA2DS2VASC skorunun KİMK, EYD ile arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ama AVP anlamlı bulunmadı (Tablo-7).

Tablo VII: Hastaların CHA2DS2VASC ve HAS-BLED skorları

İnme ve kanama skorları	Kronik AF-4	Paroksizmal AF-2	Yeni başlangıçlı AF-1	Kontrol	P (* p<0,05)
CHA ₂ DS ₂ VASC	3,51±1,09	2,57±1,09	1,33±0,58	-	0,048*
HAS-BLED	1,69±0,73	1,14±1,03	1,33±0,58	-	0,000*

CHA2DS2VASC skorunun KİMK, EYD ile arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ama AVP anlamlı bulunmadı (tablo 8).

TARTIŞMA

En çok görülen kardiyak ritm bozukluğu olan AF, kırk yaş üstünde bireylerde yaşam boyu gelişme ihtimali dörtte birdir. Atriyal Fibrilasyonda tromboemboli ve inme tehlikesi çok yüksektir. Yakın bir zamana kadar atriyal fibrilasyonda inme tehlikesini azaltmak için antikoagülasyon sağlamaya yönelik genellikle varfarin kullanılmaktaydı. Varfarin ayrıca gıda ve ilaçlarla etkileşimde olan, düzenli gözlem isteyen, kullanımı güç bir ilaçtır. Bu nedenle, hastaları gereksiz yere varfarinin olası tehlikelerine maruz bırakmamak için eski tedavi kılavuzlarında yüksek riskli hastaların belirlenmesi ve bu hastaların tedavi edilmesi üzerinde durulmaktaydı. Ancak, bu düşük, orta ve yüksek risk kategorisi ayrımları çok net değildir ve öngörü düzeyi de düşüktür. İnme riski devamlılık arz eder ve bireyde güçlü bir risk faktörüyle beraber AF mevcutsa, mortalite bu bireylerde daha fazladır. Ayrıca, bu bireylerde morbidite ile kısıtlılık da daha yüksektir. ESC 2012 güncellemesiyle; CHA2DS21-VASc verisi tek risk değerlendirmesi şeklinde tespit edilmiştir. Bu risk değerlendirme faktörleri, CHA2DIS2-VAISc [cinsiyet (kadın), 65-74 yaş aralığı, damar hastalığı, inme (2 kat), diyabet, yaş \geq 75 (iki kat), hipertansiyon, ve konjestif kalp yetersizliği] kısaltmasıyla tanımlanır. Non valvüler atriyal fibrilasyonu olan hastalara oral antikoagülan kullanımını belirleyen cha2ds2-vasc skorunun puanlamasında transtorasik ekokardiyografik olarak AVP, EYD ve KİMK le ilişkisinin anlamlı olup olmadığını incelemeyi hedefledik. Yakın dönemde en çok istifade edilen yöntemlerden biri olan Transtorasik ekokardiyografi; hastalar için minimum risk oluşturan, ekonomik, non-invaziv ve pratik görüntüleme tekniklerinden EYD, AVP ve KİMK kalınlık ölçümleri ile birlikte son dönemde üzerinde en çok durulan yöntemlerdir. Şimdiye kadar gerçekleştirilen pek çok çalışma, epikardiyal yağ dokusunun obezite, ateroskleroz, diyabet, hipertansiyon,

metabolik sendrom ve glikoz intoleransı ile güçlü ilişkileri olduğunu ifade etmektedir. AF hakkında daha önceden gerçekleştirilmiş olan çalışmalar, AF'nin EYD ile ilişkili olabileceğine yönelik görüşler içermektedir^{15,16}. Batal ve ark. nın yaptığı çalışmaya göre, ilerlemiş posterior sol atriyal yağ kalınlığı sol atriyum alanı, vücut kitle indeksi ve yaştan bağımsız bir şekilde AF yükü ile bağlantılıdır¹⁷. Büyük ihtimalle atriyal aritmiler ise, Atriyal septumdaki yoğun yağ birikimleri ile ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde EYDK'deki artış sol ventrikülün kitlesinin artması ve bozulmuş diyastolik fonksiyonla bağlantılı olması ile açıklanmıştır¹⁸⁻¹⁹. Yakın dönemde gerçekleştirilmiş bir araştırmada sol atriyum boyutlarında artma; EYDK ile ilişkilendirilmiştir²⁰. Yaptıkları çalışma ile Iacobellis ve ark.²¹, obez hastalarda EYDK ile sağ ventrikül kavite büyüklüğünün ilişkisini incelemişler, sonuç olarak obez ve obez olmayan hastaların tamamında, epikardiyal yağ kalınlığı ile sağ ventrikül kavite büyüklüğü arasında ilişki olduğunu görmüşlerdir. KİMK hakkında gerçekleştirilmiş olan araştırmaların önemli bir kısmı, risk faktörleri ve kardiyovasküler hastalıklar hakkındadır. Karotis arterinde tespit edilmiş olan aterosklerozun, serebral ya da koroner damardaki ateroskleroza yönelik bir işaret olup olmadığı hakkında pek çok araştırma gerçekleştirilmiş ve aterosklerozun sistemik bir hastalık olduğu ve KİMK'nin bunun bir göstergesi olduğu sonucuna ulaşılmıştır^{22,23}. Klasik kardiyovasküler risk faktörlerinin bilinen etkileri haricinde, KİMK ölçümlerindeki artışın subklinik hastalık ile ilgili bir gösterge olduğu, inme ve kardiyovasküler hastalığın habercisi olabileceği ifade edilmiştir²⁴. Lynne ve ark.nın 438 olguluk araştırmalarında, kalsifiye arteriyel plakları bilgisayarlı tomografiyle, KİMK ise ultrasonografiyle incelenmiş, karotis ve koroner arterlerdeki kalsifiye plakların subklinik ateroskleroz ile bağlantılı olduğu ve aterosklerozun bir göstergesi olabileceği belirtilmiştir²⁵. Lorenz ve ark.nın yaptığı meta-

analizde, KİMK'daki her 0.1 mm'lik artmayla miyokart enfarktüsü geçirme riskinin %10'dan %15'e, iskemik inme geçirme riskinin ise %13'ten %18'e yükseldiği görülmüştür. Benzer şekilde ARIC (Atherosclerosis Risk in Community), Rotterdam, Yao City, KİHD (Kuopio Ischemic Heart Disease Study), CHS (Cardiovascular Health Study) ve PARC (Paroi Artérielle et Risque Cardio-vasculaire) çalışmalarının tamamında, KİMK ölçümü ile inme ve miyokart enfarktüsü riski ve kardiyovasküler nedenli ölümler arasında bağlantı olduğu görülmüştür. 6416 katılımcı hasta ile gerçekleştirilmiş olan PARC araştırmasında, KİMK ile Framingham risk skorlaması komponentleri arasında bağlantı tespit edilmiş ve risk tespiti için KİMK'nın Framingham risk skorlaması ile birlikte daha uygun olacağı değerlendirilmiştir²⁶⁻³¹.

Artmış KİMK; obezite, sigara, hiperkolesterolemi, diyabetes mellitus, hipertansiyon, yaş v.b. pek çok aterosklerotik risk etkeni ile ilişkilidir. Bu kapsamda KİMK ile aterosklerotik risk etkenleri arasındaki bağlantıyı gösteren klasik çalışmaların yanında CRP, homosistein, LDL, lipoprotein-a biyomarkırlarla da yapılan araştırmalar bulunmaktadır³²⁻³⁵. Bizim araştırmamızın analizleri sonucunda CHA2DS2-VASc skoruyla karotis intima media kalınlığı ve epikardiyal yağ dokusu bağlantısı istatistiksel olarak anlamlı görüldü ve non-valvüler AF tedavisinde önemli bir hedef organ olarak düşünülebilir. OAK kullanım endikasyonu bulunan Non-valvüler AF hastalarında CHA2DS2VASC skorunun hesaplanmasında ekokardiyografi (EYD, KİMK) parametrelerle desteklenmesi önerilir. Çalışmamızda hasta sayımızın azlığı bir etken olabileceği gibi; çok fazla işlemsel ve/veya kişisel farklılık tespitinin de katkısının ihtimali göz önünde bulundurulduğunda, bu konuda daha fazla hastayı kapsayan prospektif araştırmaların gerçekleştirilmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Etik Kurul Onayı: Çalışma 27/10/2015 tarihli karar no:03 -50480 numara ile van yüzüncü yıl üniveritesi yerel tıbbi etik kurulu tarafından onaylandı. Çalışma protokolü 2000 yılında revize edilen Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak yapıldı. Tüm denekler çalışma protokolü hakkında bilgilendirildi ve her gönüllü yazılı bilgilendirilmiş onam imzaladı.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma herhangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Declaration of Conflicting Interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: No financial support was received.

KAYNAKLAR

1. Kannel WB, Abbott RD, Savage DD, Mc Namara PM. Epidemiological features of chronic atrial fibrillation: The Framingham Study. *N Eng J Med*, 1982;306:1018-22.
2. ACC/AHA/ESC Guidelines for the Management of Patients With Atrial Fibrillation. *Circulation* 2006;49:2118-50.
3. Atrial fibrillation in general practise in France: the ALFA study. *Circulation* 1999; 99:3028-35.
4. Türk Atriyal Fibrilasyon (TAF) çalışması. Z.Yiğit (TAF araştırmacıları adına) Türk Kardiyoloji Derneği arşivi 2000; 28:8-1.
5. Albers GW, Dalen JE, Laupacis A, et al. Antithrombotic therapy in atrial fibrillation. *Chest* 2001;119:194s-206s.
6. Gunes Y., Tuncer M., Guntekin U., et al. The Relation between the Color M-Mode Propagation Velocity of the Descending Aorta and Coronary and Carotid Atherosclerosis and Flow-Mediated Dilatation. *Echocardiography*.2010 Mar;27(3):300-5.
7. L E Chambless, G Heiss, A R Folsom, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987–1993. *Am J Epidemiol* 1997;146:483–94.

8. Salonen J, Salonen R. Ultrasonographically assessed carotid morphology and the risk of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 1245–9.
9. Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation* 1993; 87(3 suppl): I156–65.
10. M L Bots, A W Hoes, P J Koudstaal, A Hofman, D E Grobbee. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: The Rotterdam Study. *Circulation* 1997; 96: 1432–7.
11. L E Chambless, G Heiss, A R Folsom, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study, 1987-1993. *Am J Epidemiol* 1997; 146: 483-94.
12. O’Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. *Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. N Engl J Med* 1999; 340: 14-22.
13. *Am J Cardiol.* 2009; 104(11):1601-2 (ISSN: 1879-1913) Iacobellis G Department of Medicine, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada.
14. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and metaanalysis. *Circulation* 2007;115:459-67.
15. Jacoby DS, Mohler IE, Rader DJ. Noninvasive atherosclerosis imaging for predicting cardiovascular events and assessing therapeutic interventions. *Curr Atheroscler Rep.* 2004; 6: 20–6.
16. Iacobellis G, Corradi D, Sharma AM. Epicardial adipose tissue: anatomic, biomolecular and clinical relationships with the heart. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2005; 2(10): 536-43.
17. Iacobellis G, Assael F, Ribaudo MC, et al. Epicardial fat from echocardiography: a new method for visceral adipose tissue prediction. *Obesity* 2003;45: 304-10.
18. Kitamura A, Iso H, Imano H, et al. Carotid intima-media thickness and plaque characteristics as a risk factor for stroke in Japanese elderly men. *Stroke* 2004; 35: 2788-94.
19. Iacobellis G, Barbaro G. The double role of epicardial adipose tissue as proand antiinflammatory organ. *Horm Metab Res* 2008; 40(7): 442-5.
20. Fox CS, Gona P, Hoffmann U, et al. Pericardial fat, intrathoracic fat, and measures of left ventricular structure and function: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2009;119:1586–91.
21. *Am J Cardiol.* 2009; 104(11):1601-2 (ISSN: 1879-1913) Iacobellis G Department of Medicine, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada.
22. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and metaanalysis. *Circulation* 2007;115:459-67.
23. M G Veller 1, C M Fisher, A N Nicolaides, et al. Measurement of the ultrasonic intimamedia complex thickness in normal subjects. *J Vasc. Surg* 1993; 17: 719-25.
24. Daniel HO, Joseph FP, Richard AK, et al. Carotid-artery intima-media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. *N Engl J Med.* 1999; 340: 12-22.
25. Lynne E Wagenknecht, Carl D Langefeld, J Jeffrey Carr, et al. Race-specific Relationships between Coronary and Carotid Artery Calcification and Carotid Intimal Medial Thickness. *Stroke.* 2004; 35: 97. 53
26. Touboul PJ, Vicaute E, Labreuche J, et al; PARC study participating physicians. Correlation between the Framingham risk score and intima media thickness: the Paroi Artérielle et Risque Cardio-vasculaire (PARC) study. *Atherosclerosis.* 2007; 192(2): 363-9.
27. O’Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. *Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. N Engl J Med* 1999; 340: 14-22.
28. Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation* 1993; 87(3 Suppl): I156-65.
29. Kitamura A, Iso H, Imano H, et al. Carotid intima-media thickness and plaque characteristics as a risk factor for stroke in Japanese elderly men. *Stroke* 2004; 35: 2788-94.

30. Van der Meer IM, Bots ML, Hofman A, et al. Predictive value of noninvasive measures of atherosclerosis for incident myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation* 2004; 109: 1089-94.
31. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study, 1987-1993. *Am J Epidemiol* 1997; 146: 483-94.
32. Baldassarre D, Tremoli E, Franceschini G, Michelagnoli S, Sirtori CR. Plasma lipoprotein(a) is an independent factor associated with carotid wall thickening in severely but not moderately hypercholesterolemic patients. *Stroke* 1996; 27: 1044-9.
33. Wallenfeldt K, Fagerberg B, Wikstrand J, Hulthe J. Oxidized low-density lipoprotein in plasma is a prognostic marker of subclinical atherosclerosis development in clinically healthy men. *J Intern Med* 2004; 256: 413-20.
34. Durga J, Verhoef P, Bots ML, Schouten E. Homocysteine and carotid intima-media thickness: a critical appraisal of the evidence. *Atherosclerosis* 2004; 176:1-19.
35. Wang D, Yang H, Quinones MJ, et al. A genome-wide scan for carotid artery intima-media thickness: the Mexican-American coronary artery disease family study. *Stroke* 2005; 36: 540-5.



Elit Genç Atletlerin Beslenme Durumunun Değerlendirilmesi

İrem Akpolat¹, Fatma Çelik²

1 Memorial Hastanesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Diyarbakır, Türkiye

2 Biruni Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

Geliş: 02.03.2023; Revizyon: 15.05.2023; Kabul Tarihi: 21.05.2023

Öz

Giriş: Bu araştırma olimpik kamp sürecinde 15-22 yaş aralığında olan 24 genç elit atletin katılımı ile gerçekleştirilmiştir.

Amaç: Elit atletlerin beslenme alışkanlıklarını ve sporcuların beslenmeye ilişkin tutumlarını belirleyip değerlendirmek amaçlanmıştır.

Yöntemler: Elit genç sporculara 'Sağlıklı Beslenmeye İlişkin Tutum Ölçeği (SBİTÖ)' uygulanmış. Katılımcıların besin tüketim sıklıkları ve 24 saatlik besin tüketim kayıtları alınmıştır. Elde edilen veriler çeşitli istatistik yöntemlerle değerlendirilmiştir.

Bulgular: Genel olarak sporcuların sadece % 25'inin 3 ana öğün tükettiği, % 25'nin 2 ana öğün ve % 50'sinin de bir ana öğün tükettiği belirlenmiştir. Çalışmamızda genç atletlerin toplam Sağlıklı Beslenmeye İlişkin Tutum Ölçeği (SBİTÖ) ve alt boyutlarının puan ortalamaları incelendiğinde; toplam SBİTÖ puanı 70,75 olup yüksek bulunmuştur. Bu oran erkeklerde 77,55(p=0,032) olup kadınların oranından daha yüksektir ve istatistiksel olarak da önemlidir. Yine erkeklerde olumlu beslenme alt boyut oranı (20,09) kadınların oranından daha yüksek olup önemlidir (p=0,005). Bu çalışmada, diğer çalışmalara benzer olarak en fazla tüketilen besinler peynir, yumurta, sebze-meyve, et-yumurta-kuru baklagiller, beyaz ekmekek, içecek çay şeklindedir.

Sonuçlar: Çalışma grubumuz, elit sporcular olup dünya çapında müsabakalara katılmalarına rağmen, beslenme konusunda uzman görüşü almadıkları, yeterli ve dengeli beslenmedikleri görülmüştür. Ülkemizde genç elit sporcuların beslenmesi ile ilgili verilerin yeterli olmadığı, araştırmanın evrenini daha geniş tutarak ve daha fazla bireye ulaşarak yararlı sonuçlar elde edilebileceği değerlendirilmekte ve bu çalışmanın yapılacak çalışmalara kaynak olacağı öngörülmektedir.

Anahtar kelimeler: Beslenme, elit atlet, SBİTÖ, BKİ

DOI: 10.5798/dicletip.1313413

Correspondence / Yazışma Adresi: İrem Akpolat, Diyarbakır Memorial Hastanesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü Diyarbakır, Türkiye e-mail: iremakpolat7@gmail.com

Evaluation of Nutritional Status of Elite Young Athletes

Abstract

Background: This research was carried out with 24 young elite athlete aged 15-22 years during the Olympic camp.

Objectives: The aim of this theses is to determine the eating habits of elite athletes.

Methods: Different type of questionnaires received their approvals about eating habits were applied to elite young athletes.

Results: 25% of athletes had three meals, 25% of athletes had two meals and remains had only one meals. In our research, when the total SBİTÖ (Attitude Scale Towards Healthy Eating) and the mean of lower dimensions' scores of young athletes were examined, the following issues were observed; the total SBİTÖ score was 70,75 generally for the young athletes and this score was evaluated as higher. This rate was 77,55 ($p=0,032$) for men, which was higher than women, and it had statistically significant meaning. Once again lower dimension of positive nourishment for men (20.09) was higher than women and it had statistically significant meaning ($p=0,005$), too. Similar to other studies, cheese, eggs, vegetables-fruits, meat, eggs, legumes, white bread, beverage, tea were the most consumed foods in this study.

Conclusions: Although our study group is elite athletes and participated in world-class competitions, it was observed that they did not receive expert opinion on nutrition and did not have adequate and balanced nutrition. It is considered that beneficial results can be obtained by keeping the universe of the research wider and reaching more individuals. As similar studies are added to the literature, they would be important in terms of being a source for research on the young population.

Keywords: Nutrition, elite athletes, SBİTÖ, BMI.

GİRİŞ

Sporcu beslenmesi bilim alanı, son yıllarda üzerinde çok fazla çalışma yapılan, spor bilimcilerinin olduğu kadar, sporcuların, antrenörlerin, sporcu ailelerinin ve spor ile ilgili bütün meslek gruplarının ilgisini çeken, doğru ve yeterli bilgi sahibi olunması gereken bir alandır. Sporunun sağlığını korumak daha da iyileştirmek ve performansını artırmak sporcu beslenmesinde temel hedeftir¹. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de spora olan ilgi ve önemin artmasıyla, artık daha çok sayıda insan için fiziksel aktivite ve spor yaşı erken yaşlarda olmaya başlayarak, yaşam boyu sürdürülmektedir. Bireysel sporlara ve özellikle atletizm sporuna da ilgi artmıştır. Koşular, atmalar ve atlamalar şeklinde ifade edilen doğal hareketlerden oluşan atletizm bedenini iyi şekilde gelişmesine ve sağlıklı kalınmasına katkı sağlamaktadır.

Yaş, cinsiyet, fiziksel aktivite, mevcut hastalıklar ve genetik yapı gibi faktörler besin ihtiyacını etkilemektedir. Gençlik döneminde gerekli

enerji ve besin ihtiyacı erişkinine kıyasla daha fazladır². Bu nedenle beslenme sorunlarının en fazla görüldüğü önemli gruplardan biri de genç sporculardır. Aynı zamanda sağlıklı, kaliteli ve uzun bir yaşam için, yeterli ve dengeli beslenme ile birlikte fiziksel aktivite ve sporun önemi çok önceden beri bilinmektedir. Elit düzeyde spor yapan bireyler için ise yüksek düzeyde sportif verimliliğe ulaşılabilmesi, vücut kompozisyonunun iyileştirilmesi ve sağlığının korunması için dengeli, düzenli ve amaca uygun beslenme önemli etkenlerden birisidir. Bu bireyler için besinlerin bileşimi ve öğün zamanlaması, antrenman ve müsabakalar kadar önemlidir. Bu araştırmada, elit genç sporcuların sağlığında ve egzersiz performansında önemli bir rol oynayan beslenme alışkanlıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 2021/47-51 karar numarası ile araştırmanın etik yönden uygun olduğuna dair onay alınmıştır.

Araştırmaya katılan bireylerde 18 yaşından küçük olanların ebeveyn ve antrenörlerinden önce sözlü olarak izin alınmış, daha sonra imzalı olarak antrenör onaylı izin belgesi alınmıştır.

Araştırma Ocak 2021 – Mayıs 2021 ayları arası, pandemi nedeniyle gerekli tedbirlere uyularak, olimpiyat atletizm hazırlık kampı olarak kullanılan, Dicle Üniversitesi Spor Tesisleri'nde (Diyarbakır) gerçekleştirildi. Dışlama kriterleri göz önünde bulundurularak ve gönüllü olmayı kabul eden, 15-22 yaş aralığında büyüme ve gelişme döneminde olan 24 elit sporcu dahil edilmiştir³. Tanısı konulmuş ruhsal ve/veya kronik hastalığı olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Araştırmaya katılan tüm elit sporculardan alınan veriler yüz yüze görüşmeyle elde edilmiştir. Çalışmaya katılan sporcuların, sosyo-demografik özelliklerini, vitamin-mineral alımlarını, sigara ve alkol kullanım durumlarını ve beslenme alışkanlıklarını öğrenmeyi amaçlayan sorulardan oluşan formlar ve geçerlilik ve güvenilirliği Demir⁴ tarafından yapılmış olan "Sağlıklı Beslenmeye İlişkin Tutum Ölçeği (SBİTÖ)" araştırmacıdan izin alınarak uygulanmıştır. Sporcuların besin tüketim sıklığı ve 24 saatlik besin tüketim kaydı saptanmıştır.

Sağlıklı Beslenmeye İlişkin Tutum Ölçeği (SBİTÖ)

Sporcuların beslenmeye ilişkin tutumlarını değerlendirmek için toplam 21 sorudan oluşan "Sağlıklı Beslenmeye İlişkin Tutum Ölçeği" (SBİTÖ) ; beslenme hakkında bilgi, beslenmeye yönelik duygu, olumlu beslenme ve kötü beslenme olmak üzere 4 alt boyuttan meydana gelmektedir. Ölçek, beslenme konusunda bilgi düzeyine ilişkin 5 soru, kötü beslenmeyle ilişkin 5 soru, olumlu beslenmeyle ilişkin 5 soru, beslenmeye yönelik duygu durumuna ilişkin 6 sorudan oluşmaktadır. Öleçekten alınabilecek en düşük puan 21, en yüksek puan 105'tir. SBİTÖ' den katılımcıların alacağı 21 puan çok düşük,

23-42 puan düşük, 43-63 puan orta, 64-84 puan yüksek ve 85-105 puan ideal düzeyde yüksek sağlıklı beslenmeye ilişkin tutuma sahip olduğu şeklinde açıklanmaktadır. Öleçekteki olumlu maddelere ait derecelendirme "Kesinlikle Katılmıyorum", "Katılmıyorum", "Kararsızım", "Katılıyorum", "Kesinlikle Katılıyorum" şeklindedir. Olumlu tutum maddeleri; 1, 2, 3, 4 ve 5 olumsuz tutum maddeleri ise 5, 4, 3, 2 ve 1 şeklinde puanlanmıştır⁵.

Besin Tüketiminin Saptanması

Elit genç atletlerin beslenme alışkanlıklarını belirlemek amacı ile eş zamanlı yapılan 45 ayrı besinden oluşan besin tüketim sıklık formu uygulanmıştır. Sporcuların besin tüketiminin saptanması için sorgulamanın doğru yapılıp, kayıtların tutulması ve değerlendirmelerin olması gerekir⁶.

Yirmi Dört Saatlik Geriye Dönük Besin Tüketim Kaydı

Genç atletlerin son 24 saatte besin tüketim durumları kullanılarak belirlenmiştir ve sporcular tarafından eş zamanlı olarak doldurulmuştur. "24 saatlik geriye dönük besin tüketim kaydı" bireylerin gün boyunca tükettikleri besinlerin tür ve miktarlarının saptanıp, enerji ve besin öğelerinin belirlenmesi temeline dayanmaktadır⁶. Ayrıca formda besin grubunun tüketim sıklığı ve miktarlarına ilişkin bilgiler de yer almaktadır. Beslenme Bilgi Sistemleri Paket Programı (BEBİS) 9 versiyonu kullanılarak bireylerin enerji, makro ve mikro besin öğelerinin alımı değerlendirilmiş ve analiz edilmiştir

Beden Kütle İndeksi (BKİ)

Vücut ağırlığı ve boy uzunluğu ölçümleri kullanılarak beden kütle indeksi hesaplanmıştır [BKİ= Beden ağırlığı (kg) / boy uzunluğu (m²)], Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) sınıflaması kullanılarak değerlendirilmiştir (düşük ağırlıklı <18.50 kg/m², Normal 18.50 - 24.99 kg/m², Şişman (Obez)> 30.00 kg/m²). Yaş altı bireyler

WHO'nun yaşa göre BKİ değerleri tablosu dikkate alınarak belirlenmiştir

İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenler için ortalama ve standart sapma (SS) hesaplandı. Değişkenlerin normalliği Shapiro-Wilk testi ile analiz edildi. İki grup medyan değerleri Mann-Whitney U testi ile analiz edildi. Kategorik değişkenlerin analizinde Khi-Kare testi kullanıldı. Khi-Kare testi varsayımları oluşmayan dağılımlarda Kolmogorov-Smirnov analizinden yararlandı. Kategorik değişkenler arası korelasyonlar için Spearman Korelasyon yöntemi kullanıldı. Hipotezler çift yönlü olup, $p \leq 0.05$ ise istatistiksel olarak önemli farklığın olduğu kabul edilerek, tüm istatistiksel analizler R yazılımı/programlama (sürüm 3.6.2 (2019-12-12) - CRAN) kullanılarak değerlendirildi.

BULGULAR

Araştırmaya katılan elit genç atletlerin sosyo-demografik özellikleri tablo I'de verilmiştir.

Tablo I: Elit Genç Kadın ve Erkek Atletlerin Sosyo-Demografik Özellikleri

Kadın		Erkek		P	χ^2
Yaş	Ort±ss	Ort±ss			
	17.154 ±2.115	17.818± 2.228		0,084	0,7
15-16	4 (30,8)	4 (36,4)		72	
17 ve üzeri	9 (69,2)	7 (63,6)			
KS(z)					
Yaşanılan yer	Evde aileyle	10 (76,9)	8 (72,7)	0,666	0,767
	Evde arkadaşlarla	3 (23,1)	0 (0)		
	Akrabaların yanında	0 (0)	1 (9,1)		
	Milli takım kampında	0 (0)	2 (18,2)		

χ^2 : Khi-Kare testi KS (z): Kolmogorov Smirnov Test

Katılımcıların sosyo-demografik özellik verileri (Tablo 1) cinsiyet dikkate alınarak yaşanılan yer arasındaki farklılık Kolmogorov Smirnov Testi ile analiz edildi. Atletlerin demografik özellikleri

frekans analizleriyle incelendi (Kadın 13, Erkek 11, n:24). Atletlerin %75,0'i evde ailesiyle yaşamaktadır. Sporcuların tamamının tanısı konulmuş hastalığı yoktur.

Elit genç kadın ve erkek atletlerin vitamin ve mineral kullanımı değerlendirilmesinde; sporcuların %62'sinin vitamin, mineral kullandığı belirlenmiştir. Vitamin, mineral tabletlerini öneren kişi durumu ile sporcuların cinsiyeti arasında istatistiksel önemli ilişki bulunmaktadır ($p=0,0029$, $p<0,05$) Kadınların yarısı doktordan tavsiye almış iken (%50,0), erkeklerin çoğunluğu kendisi almıştır (%57,1). Tablo verilmedi.

Tablo II. Elit Genç Atletlerin Ana, Ara, Atlanan Öğün Sayıları ve Diğer Beslenme Bilgilerine İlişkin Bulgular

	n	(%)
Tüketilen ana öğün sayısı	Bir	12 (50)
	İki	6 (25)
	Üç	6 (25)
Tüketilen ara öğün sayısı	Hiç tüketmiyor	9 (37,5)
	Bir	11 (45,8)
	İki	4 (16,7)
Öğün atlama	Evet, bazen	20 (83,3)
	Hiç	4 (16,7)
	Sabah	3 (15)
Atlanan öğünler	Öğle	12 (60)
	Akşam	2 (10)
	Ara öğün	7 (35)
	Zaman yetersizliği	14 (70)
Öğün atlama nedeni	Canı istemiyor,	3 (15)
	iştahsız	
	Zayıflatmak istiyor	1 (5)
Ara öğün yapma alışkanlığı	Alışkanlığı yok	2 (10)
	Var	6 (25)
	Yok	18 (75)
Ara öğün yapılan zaman	Akşam	2 (33,3)
	Ara Öğün	1 (16,7)
	İkinci	1 (16,7)
	Sabah	1 (16,7)
Yaklaşık tüketilen su miktarı (bardak)	Yatmadan önce	1 (16,7)
	5 ve daha az	7 (29,2)
	6-10	11 (45,8)
Yemeklerde tuzu kontrollü kullanma	10'dan fazla	6 (25)
	Evet	11 (47,8)
Çay, kahve içerken şeker kullanma	Hayır	12 (52,2)
	Evet	16 (66,7)
	Hayır	8 (33,3)

Atletlerin %50,0'si 1 ana öğün, %45,8'i 1 ara öğün tüketmektedir. Atletlerin %83,3'ü öğün atlamakta, %60,0 oranla en çok öğle öğünü atlanmakta, %70,0'i zaman yetersizliği nedeniyle öğün atlamaktadır. Atletlerin %25,0'inin ara öğün alışkanlığı bulunmakta, %33,3'ü akşam ara öğün yapmaktadır. Atletlerin %45,8'i 6-10 bardak günlük su içmekte, %66,7'si çay, kahve için şeker

kullanmaktadır. Elit genç atletlerin ana, ara, atlanan öğün sayıları ve diğer beslenme bilgileri ile cinsiyetlere ilişkin veriler incelendiğinde, beslenme bilgileri ile cinsiyet arasında Kolmogorov-Smirnov testi sonucunda istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$, tablo verilmedi).

Tablo III: Elit Genç Atletlerin Sağlıklı Beslenmeye İlişkin Tutum Ölçeği Tanımlayıcı Bulguları

SBİTÖ	$\bar{x} \pm SS$	Medyan	Üst değer	Alt değer
Beslenme Hakkında Bilgi	19,92±4,87	20	5	25
Beslenmeye Yönelik Duygu	19,75±5,23	20	8	27
Olumlu Beslenme	16,71±5,69	18	6	25
Kötü Beslenme	12,13±4,75	11	5	23
Toplam	70,75±13,83	71	46	101

Tablo 3' de atletlerin SBİTÖ değerlerinin tanımlayıcı verileri yer almaktadır

Tablo IV: Elit Genç Atletlerin Sağlıklı Beslenmeye İlişkin Tutum Ölçeği Puan Ortalamalarının Cinsiyete göre Dağılımı

SBİTÖ	Kadın	Erkek	U	p
	Medyan	Medyan		
Beslenme Hakkında Bilgi	20	20	61,000	0,537
Beslenmeye Yönelik Duygu	22	19	49,500	0,199
Olumlu Beslenme	13	21	23,500	0,005*
Kötü Beslenme	13	10	44,000	0,110
Toplam	67	78	34,500	0,032*

U: Mann Whitney U test

Tablo IV'de, kadın atletler ile erkek atletler arasında olumlu beslenme, Sağlıklı Beslenme ile İlişkili Tutum puanları bakımından istatistiksel anlamda önemli fark bulunmaktadır ($p<0,05$). Erkeklerde olumlu beslenme ($p=0,005$), toplam sağlıklı beslenme tutum ($p=0,032$) düzeyleri daha yüksektir ($p<0,05$). Fark diğer puanlar için önemli değildir ($p>0,05$).

Tablo V: Elit Genç Atletlerin Sağlıklı Beslenmeye İlişkin Tutum Ölçek (SBİTÖ) Düzeyinin Dağılımı

	n	(%)
Sağlıklı Beslenmeye İlişkin Tutum Düzeyi		
Orta	6	(25)
Yüksek	15	(62,5)
İdeal	3	(12,5)

Tablo V.'de Sağlıklı beslenme ile ilişkili tutum ölçeği düzeyi değerlendirildiğinde atletlerin %62,5'inin teorik olarak tutumu yüksek bulunmuştur.

Tablo VI' da elit atletlerin besin tüketim sıklığı formunun sonuçlarıyla ilişkili bulgular verilmiştir.

Tablo VI: Elit Genç Atletlerin Besin Tüketim Sıklıklarının Dağılım Yüzdeleri

Besin Sıklığı (%)	Tüketim	Besin Tüketim Sıklığı Puanları					
		1	2	3	4	5	6
Süt ve süt ürünleri		4,2	75,0	12,5	0,0	8,3	0,0
Süt		8,3	54,2	20,8	12,5	4,2	0,0
Ayran		12,5	54,2	25,0	4,2	0,0	4,2
Yoğurt		33,3	50,0	12,5	0,0	4,2	0,0
Tereyağı		29,2	37,5	12,5	4,2	4,2	12,5
Peynir		66,7	33,3	0,0	0,0	0,0	0,0
Et-Yumurta-Kurubaklagil		79,2	16,7	0,0	4,2	0,0	0,0
Kırmızı et		12,5	33,3	33,3	16,7	0,0	4,2
Et ürünleri		8,3	25,0	20,8	41,7	0,0	4,2
Sakatat		12,5	0,0	12,5	20,8	16,7	37,5
Tavuk		12,5	66,7	12,5	0,0	0,0	8,3
Balık		16,7	12,5	25,0	16,7	12,5	16,7
Yumurta		66,7	20,8	8,3	0,0	0,0	4,2
Kurubaklagiller		12,5	20,8	25,0	37,5	0,0	4,2
Sebze-Meyve		91,7	4,2	0,0	0,0	0,0	4,2
Domates		41,7	37,5	12,5	4,2	0,0	4,2
Yeşil sebzeler	yapraklı	20,8	25,0	37,5	8,3	4,2	4,2
Patates		29,2	41,7	20,8	4,2	0,0	4,2
Meyveler		50,0	20,8	16,7	8,3	0,0	4,2
Turuncgiller		41,7	25,0	16,7	8,3	4,2	4,2
Kuru meyveler		20,8	33,3	8,3	8,3	16,7	12,5
Ekmek-tahıllar		91,7	4,2	0,0	0,0	0,0	4,2
Beyaz ekmek		87,5	4,2	0,0	0,0	0,0	8,3
Kepekli ekmek		25,0	4,2	0,0	4,2	0,0	66,7
Pirinç		33,3	45,8	16,7	0,0	0,0	4,2
Bulgur		16,7	62,5	16,7	0,0	0,0	4,2
Makarna		4,2	70,8	20,8	0,0	0,0	4,2
Yağ-Şeker-Tatlı		8,3	16,7	0,0	70,8	0,0	4,2
Bal-reçel, Pekmez, Marmelat	Çikolata	62,5	33,3	0,0	0,0	0,0	4,2
İçecekler		91,7	4,2	0,0	0,0	0,0	4,2
Çay		66,7	25,0	0,0	0,0	4,2	4,2
Kahve		45,8	33,3	12,5	0,0	0,0	8,3
Ayran		16,7	66,7	16,7	0,0	0,0	0,0
Kola ve gazlı içecekler		20,8	50,0	12,5	4,2	12,5	0,0
Meyve suyu		20,8	58,3	12,5	4,2	0,0	4,2
Hazır yemek		8,3	12,5	12,5	12,5	41,7	12,5

1:Her gün, 2:Haftada 2-3 kez, 3:Haftada bir, 4:15 günde bir, 5:Ayda bir, 6:Tüketmiyorum

En fazla tüketilen besinler peynir, yumurta, sebze-meyve, et-yumurta-kurubaklagil, beyaz ekmek, içecek, çay şeklindedir. En az tüketilen besinler ise yağ-şeker-tatlı, hazır yemek, kepekli ekmek şeklindedir. Kadınlar ile erkek

sporcular arasında kırmızı et (p=0,030), kepekli ekmek (p=0,040), kola-gazlı içecek (p=0,023) tüketim sıklıkları bakımından istatistiksel önemli fark bulunmaktadır, erkekler de tüketim daha fazladır (p<0,05, tablo verilmedi).

Tablo VII: Elit Genç Atletlerde Cinsiyete Göre SBİTÖ Puanları İle Besin Tüketim Sıklığı Arasındaki İlişki

Besin Tüketim Sıklığı (%)	SBİTÖ Puanları									
	Kadın					Erkek				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Süt ve süt ürünleri	-0,336	-0,069	0,695**	-0,500	0,454	0,524	-0,152	0,253	0,352	0,300
Süt	-0,076	-0,522	0,294	-0,400	0,520	-0,411	0,158	0,371	-0,087	-0,087
Ayranc	-0,576*	0,227	0,093	0,253	-0,279	0,562	-0,182	-0,221	0,227	0,190
Yoğurt	-0,095	-0,519	0,544	-572*	,661*	-627*	-0,030	-0,091	0,120	-0,299
Tereyağı	0,348	0,016	0,272	-0,376	0,445	-0,047	-0,304	0,060	0,342	0,000
Peynir	0,181	-0,409	0,225	-0,315	0,447	0,157	-0,332	0,061	-0,150	0,239
Et-Yumurta-Kurubaklagil	0,275	0,158	-0,156	-0,039	-0,039	0,006	-0,550	-0,205	-0,241	0,181
Kırmızı et	-0,033	-0,018	0,019	-0,168	0,010	0,340	0,025	-0,020	-0,118	0,030
Et ürünleri	-0,320	-0,807**	-0,126	-0,413	0,269	0,178	-0,005	0,676*	0,060	0,263
Sakatat	-0,197	0,192	-0,077	0,038	-0,250	-0,232	0,255	-0,532	0,792**	-0,617*
Tavuk	-0,362	0,138	0,426	0,085	-0,075	-0,200	-0,217	0,121	0,407	-0,143
Balık	-0,310	-0,295	0,655*	-0,349	0,284	0,143	0,069	-0,260	0,312	-0,278
Yumurta	-0,023	-0,182	0,606*	-0,517	,603*	-0,033	-0,219	-0,498	0,056	-0,185
Kurubaklagiller	-0,233	0,162	0,138	0,059	-0,199	-0,015	-0,043	0,064	0,263	-0,141
Sebze-Meyve	X	x	x	x	x	-0,262	-0,041	-0,301	0,237	-0,324
Domates	-0,022	-0,268	0,239	-0,164	0,186	-0,588	-0,096	-0,139	0,305	-0,399
Yeşil yapraklı sebzeler	-0,181	-0,080	0,423	-0,149	0,121	-0,474	0,112	0,000	,691*	-0,485
Patates	0,271	-0,138	,593*	-0,221	0,475	-0,488	0,010	-0,272	0,262	-0,408
Meyveler	0,239	-684**	0,357	-0,439	,628*	-0,418	-0,249	-0,245	0,189	-0,275
Turunçgiller	0,381	-0,438	0,165	-0,354	0,466	-0,535	-0,257	-0,146	0,200	-0,297
Kuru meyveler	0,098	-689**	0,488	-666*	,653*	-0,485	-0,097	0,005	0,445	-0,318
Ekmek-tahıllar	0,471	0,473	0,233	0,078	0,232	-0,367	-0,303	-0,456	0,502	-0,400
Beyaz ekmek	0,471	0,473	0,233	0,078	0,232	-0,235	0,000	-0,265	0,187	-0,298
Kepekli ekmek	-0,538	-0,446	-0,035	-0,022	-0,127	-0,016	0,396	0,443	0,288	-0,090
Pirinç	-0,014	0,498	-0,354	,562*	-563*	-0,058	-0,219	-0,061	0,050	-0,020
Bulgur	0,028	0,508	-0,481	0,536	-583*	-0,253	-0,041	-0,327	0,495	-0,383
Makarna	0,151	0,410	-0,362	0,341	-0,445	-0,283	0,136	-0,479	,677*	-607*
Yağ-Şeker-Tatlı	-717**	-0,108	0,152	0,006	-0,224	-0,238	-0,465	-0,032	0,268	0,005
Bal-reçel, Çikolata Pekmez, Marmelat	-777**	-0,232	0,104	-0,250	0,517	-0,014	-0,518	-0,437	0,135	-0,054
İçecekler	X	x	x	x	x	-0,262	-0,041	-0,301	0,237	-0,324
Çay	-0,176	-0,308	-0,316	0,017	-0,067	-0,414	-0,309	-0,142	0,102	-0,204
Kahve	0,171	-0,054	-0,179	-0,178	0,061	-0,076	-0,144	-0,043	0,239	-0,115
Ayranc	-0,224	0,259	0,119	0,171	-0,176	0,386	0,426	-0,395	0,257	-0,245
Kola ve gazlı içecekler	0,185	0,516	-558*	0,359	-0,364	0,354	0,141	-0,241	-0,108	-0,039
Meyve suyu	0,123	-0,494	0,442	-733**	,713**	-0,022	-0,160	-0,273	0,337	-0,253
Hazır yemek	-0,077	0,335	0,090	0,520	-0,301	-0,289	0,319	-0,535	,757**	-603*

Spearman Korelasyon yöntemi r değerleri, *: p<0,05 **:p<0,01 1: Beslenme Hakkında Bilgi, 2:Beslenmeye Yönelik Duygu, 3:Olumlu Beslenme, 4:Kötü Beslenme, 5:Toplam

Tablo VII'de kadınlarda beslenme hakkında bilgi puanı ile ayran ($r=-0,576$), yağ-şeker-tatlı ($r=-0,717$), bal-reçel-çikolata vb. ($r=-0,777$) tüketim sıklıkları arasında negatif yönlü, istatistiksel önemli ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Beslenmeye yönelik duygu puanı ile et ürünleri ($r=-0,807$), meyve ($r=-0,684$), kuru meyve ($r=-0,689$) tüketim sıklıkları arasında negatif yönlü, istatistiksel önemli ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Olumlu beslenme puanı ile süt ve süt ürünleri ($r=0,695$), balık ($r=0,655$), yumurta ($r=0,606$), patates ($r=0,593$) tüketim sıklıkları arasında pozitif yönlü, kola ve gazlı içecekler tüketimleri ($r=-0,558$) arasında negatif yönlü, istatistiksel önemli ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Kötü beslenme puanı ile yoğurt ($r=-0,572$), kuru meyve ($r=-0,666$), meyve suyu ($r=-0,733$) tüketim sıklıkları arasında negatif yönlü, pirinç tüketim sıklığı arasında ($r=0,562$) pozitif yönlü istatistiksel önemli ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Sağlıklı Beslenme Tutum Ölçeği puanı ile yoğurt ($r=0,661$), yumurta ($r=0,603$), meyve ($r=0,628$), kuru meyve ($r=0,653$), meyve suyu ($r=0,713$) tüketim sıklıkları arasında pozitif yönlü, pirinç ($r=-0,563$), bulgur ($r=-0,583$) tüketim sıklıkları arasında negatif yönlü istatistiksel önemli ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer ilişkiler bu çalışma için önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Erkeklerde beslenmeye hakkında bilgi puanı ile yoğurt ($r=-0,627$) tüketim sıklığı arasında negatif yönlü istatistiksel önemli ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Olumlu beslenme puanı ile et ürünleri ($r=0,676$) tüketim sıklığı arasında pozitif yönlü, istatistiksel önemli ilişki bulunmaktadır ($p<0,05$). Kötü Beslenme puanı ile sakatat ($r=0,792$), yeşil yapraklı sebze ($r=0,691$) makarna ($r=0,677$), hazır yemek ($r=0,757$) tüketim sıklıkları arasında pozitif yönlü, istatistikse önemli ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Toplam SBİTÖ puanı ile sakatat, makarna, hazır yemek tüketim sıklıkları arasında negatif yönlü, istatistiksel önemli ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer ilişkiler bu çalışma için önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Elit Genç Atletlerde SBİTÖ Puanları ile Besin Tüketim Sıklığı Arasındaki İlişki değerlendirildiğinde; beslenme hakkında bilgi puanı ile yağ-şeker-tatlı ($r=0,464$), bal-reçel-çikolata vb. tüketimi ($r=-0,431$) arasında negatif yönlü, istatistiksel önemli ilişki bulunmaktadır ($p<0,05$). Beslenmeye Yönelik Duygu puanı ile et ürünleri ($r=-0,408$), kuru meyve ($r=-0,446$) tüketimleri arasında negatif yönlü, istatistiksel önemli ilişki bulunmaktadır ($p<0,05$). Olumlu beslenme puanı ile süt, süt ürünleri tüketimi ($r=0,475$) arasında pozitif yönlü, istatistiksel önemli ilişki bulunmaktadır ($p<0,05$). Kötü beslenme puanı ile bulgur ($r=0,408$), hazır yemek ($r=0,701$) tüketimleri arasında pozitif yönlü, istatistiksel önemli ilişki bulunmaktadır ($p<0,05$). Toplam SBİTÖ ile hazır yemek ($r=-0,483$) tüketimleri arasında negatif yönlü, istatistiksel önemli ilişki bulunmaktadır ($p<0,05$). Diğer ilişkiler önemli değildir ($p>0,05$) tablo verilmemiştir.

Tablo VIII ve IX'da elit atletlerin 24 saatlik geriye dönük besin tüketim kayıt formuyla makro ve mikro besin öğeleri tüketimine ilişkin bulgular verilmiştir.

Tablo VIII: Elit Genç Atletlerin Makro Besin Öğeleri Tüketim Durumları

	$\bar{x} \pm SS$	Medyan	Alt değer	Üst değer
Enerji (kcal)	1957,61±510,52	2041	885,5	2665,6
Su miktarı (ml)	1012,19±326,54	1035,5	410	1520,9
Protein miktarı(g)	83,34±25,9	84,1	28,4	140,6
Protein oranı %	17,63±4,67	17,5	11	28
Yağ miktarı (g)	110,34±37,34	113,8	35,1	172,9
Yağ oranı %	49,63±8,74	52	34	62
CHO miktarı(g)	155,41±57,52	148,5	73,7	270,7
CHO oranı %	32,75±9,08	32	20	51
Lif (g)	13,45±4,97	12,1	6,9	25,4
Alkol (g)	0,06±0,14	0	0	0,6
Çoklu doymamış y. (g)	16,4±7,78	16,5	5,2	39,7
Kolesterol (mg)	646,77±243,07	621	120,9	1124,5

Tablo IX: Elit Genç Atletlerin Mikro Besin Ögesi Tüketim Durumları

Mikro Ögeleri	Besin $\bar{x} \pm SS$	Medyan	Alt değer	Üst değer
A Vit. (μg)	1097,02 \pm 494,21	1108,8	188,2	1876,9
Karoten (mg)	2,03 \pm 1,41	1,8	0,2	5,5
E Vit. (mg)	12,72 \pm 6,02	13,9	3	22,6
B1 Vit/Tiamin (mg)	0,69 \pm 0,24	0,6	0,4	1,2
B2 Vit/Ribofl. (mg)	1,73 \pm 0,56	1,9	0,6	2,6
B6 Vit/Pirid. (mg)	1,33 \pm 0,43	1,4	0,7	2,4
Folat, topl. (μg)	277,58 \pm 106,19	276,1	91,2	508
C Vit. (mg)	63,83 \pm 49,51	47,8	9,5	212,7
Sodyum (mg)	5069,65 \pm 2048,4	4857	928,2	8807,4
Potasyum (mg)	2103,99 \pm 692,3	2059,8	1040,2	3254,8
Kalsiyum (mg)	718,06 \pm 272,36	731,3	114,4	1217,6
Magnezyum (mg)	203,63 \pm 56,8	205,9	109,5	313,6
Fosfor (mg)	1174,09 \pm 321,82	1192,8	483,5	1735,3
Demir (mg)	9,45 \pm 2,83	8,9	4,1	15
Çinko (mg)	11,83 \pm 5,99	9,9	4,6	31,3

Tablo IX' da atletlerin mikro besin öğeleri tüketim durumlarına ilişkin istatistikler verilmiştir. Elit genç atletlerin makro ve mikro besin öğeleri tüketim durumlarının cinsiyete göre karşılaştırılmasında, kadınlar ile erkek sporcular arasında besin ölçümleri bakımından istatistiksel önemli fark bulunmamaktadır ($p>0,05$, tablo verilmedi). Tablo X'da elit genç atletlerin antropometrik ölçümleri verilmiştir

Tablo X: Elit Genç Atletlerin Antropometrik Ölçümleri

Antropometrik Ölçümler	$\bar{x} \pm SS$	Medyan	Alt değer	Üst değer
Boy Uzunluğu (cm)	169,96 \pm 7,65	(170)	150	181
Ağırlık (kg)	54,63 \pm 8,97	(51,8)	40	74,4
BKI (kg/ m ²)	18,82 \pm 2,05	(18,5)	15	24,3

TARTIŞMA

Atletizm gençler arasında popüler bir spordur. Sağlığı korumak ve büyümeyi ve atletik performansı optimize etmek için genç sporcuların uygun bir diyet almaları gerekir. Ne yazık ki, birçok genç sporcunun beslenmesi, beslenme uzman önerilerinden ziyade toplumsal alışkanlıklardan etkilenir. Elit düzeyde spor yapan gençlerde sportif başarı ve

performans için antrenman ve müsabakalar kadar, besinlerin bileşimi ve öğün planlaması da normal spor yapan bireylere göre daha da önemlidir. Yeterli ve dengeli beslenme uygulamaları, spor yapan bireyin, bedensel ve ruhsal olarak büyüme ve gelişmesine yardımcı olmakta ve spor performansında artış sağlamaktadır^{7,8}. Dünyada spora verilen önemin artması bireyleri erken yaşlarda sportif aktivitelere yönlendirmiştir. Erken yaşta elit milli sporcu olmayı hedefleyen atletlerin mevcut beslenme durumları, sağlıklı beslenme tutum ölçükleri ve antropometrik ölçümlerini değerlendirdik. Çalışma kapsamında bulunan elit atletler beslenmenin oldukça önemli olduğu 15-22 yaş aralığında bulunmaktadır. Aynı zaman da elit sporcu ya da atlet olmak erken yaşta uzun ve disiplinli çalışma gerektirmektedir. Atletlerin %75'si ailesi ile birlikte yaşıyor olup (Tablo I), tamamı sigara ve alkol kullanmamaktadır.

Yaşları 15-22 yıl aralığında olan elit atletlerin katılımı ile gerçekleştirilen çalışmada; atletlerin genelinde sadece %25'inin 3 ana öğün tükettiği, %25'inin 2 ana öğün ve %50'sinin de bir ana öğün tükettiği belirlenmiştir (Tablo II). Diğer çalışmalarla karşılaştığımızda istatistiksel anlamda önemli olmazsa da temel olan 3 ana öğün beslenme düzeyimiz düşüktür. Cinsiyetler arasında da önemli bir farklılık bulunmamakla birlikte, kadınların %53,8'sinin erkeklerden (%45,5) daha yüksek oranda sadece bir ana öğün tükettiği gözlemlenmiştir ($p=0,999$). Pulur, amatör düzeyde basketbol oynayan bayan sporcuların, beslenme bilgi ve alışkanlıklarının araştırılması amacıyla yaptıkları çalışmada %43'ünün ana -ara öğün ayırımı yapmaksızın 3 öğün, %32'sinin de 2 öğün ile beslendiklerini bildirmiştir⁹. Yarar ve arkadaşları 18 farklı olimpik branştan rastgele seçilen elit düzey 334 sporcu ile yaptıkları çalışmalarında, %82,9'unu kadınların oluşturduğu örneklem genelinde %56,9'u nun 3 öğün, %37,1'i nin 4 öğün ve üstü öğün yemek

yediklerini belirtmektedir¹⁰. Acar, yedi spor branşından 329 erkek ve 73 kadın olmak üzere, yaşları 10-25 yıl arası 402 elit sporcu ile kapsamlı tez çalışması yapmışlardır. Bulgularında 18 genç elit atlet grubun da; Ana ve ara öğün sayılarına ilişkin verilerin değerlendirmelerinde toplamda %68,8' inin 3 ana öğün tükettiği, %27,9'unun 2 ana öğün tükettiği verilmiştir¹¹. Cinsiyet ayırımında, erkeklerin %46,7' sinin 2 ve 3 ana öğün tükettiği, %6,7'sinin bir ana öğün, kadınların ise %90,9'unun 3 ana öğün ve %9,1'inin de 2 ana öğün tükettiği belirlenmiş ve cinsiyetler arasında önemli bir farklılık belirtmemişlerdir ($p<0,05$). Atletlerin ara öğün sayıları değerlendirildiğinde %51,8' inin 1 ara öğün tükettiği, %41,5'inin hiç ara öğün tüketmediği ve %6,7'sinin 3 ara öğün tükettiği tespit edilmiş ve ara öğün açısından cinsiyetler arasında önemli bir farklılık olmadığını saptamışlardır¹¹. Çalışmamızda ara, ana ve öğün atlama nedeni beslenme bilgilerinde atletlerin toplamında ve cinsiyeti arasında istatistiksel anlamda önemli ilişki bulunmamıştır (Tablo II). Genel olarak ana ve ara öğün verilerimiz çalışmalarda verilen sonuçlardan daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeni olarak çalışmaya alınan sporcuların, beslenme konusunda uzman görüşü almamaları ve veri alma dönemimizin, olimpiyat kotası için yapmış oldukları yoğun kamp dönemine denk gelmesi olarak değerlendirilmiştir. Nitekim %77,8' si öğün atlama sebebi olarak da zaman yetersizliğini öne sürmüşlerdir (Tablo II). Yarar ve arkadaşlarının öğün atlama nedeni olarak; %47,6 sının yemeğe yeterli zaman ayıramadığı sonucu da sonucumuz ile uyumludur¹⁰.

Genel olarak kahvaltı yapmadan günde iki öğün yemek yemenin sportif performansı düşürdüğü, sık yemek yemenin de maksimum verimi artırdığı bildirilmektedir. Sporcuların, günde en az üç öğün yemeleri, hatta hafif olmak şartıyla öğün sayısının üç ana ve iki ara öğün olmak üzere beşe çıkarmaları doğru bir beslenme şeklidir. Spor yapan gençlerde antrenman

yoğunluğu ve egzersiz arttıkça gereksinimler daha da artabilir. Öğün sayısının artırılmasıyla kan şekeri düzeyinde sürekliliğin ve kas glikojen depolarının doyunluğunun sağlanacağı belirtilmiştir¹⁰. Büyüme ve gelişme arasındaki etkileşimler nedeniyle; Optimum performans sağlanabilmesi, yaralanmalardan ve diğer sağlık sorunlarından kaçınılması için, beslenme genç sporcularda çok önemli bir unsurdur¹². Yarar ve arkadaşlarının elit sporcularda yaptıkları çalışmada genç atletlerin %45,8'i 6-10 bardak (1,5-2 lt) günlük su içmekte olduğu 44,9'u günlük 1-2 litre su tükettiklerini belirlemişlerdir¹⁰. Parlak tarafından yapılan çalışmada sporcuların %39,4' ünün günlük 1-1,5 lt arası su tükettiği bulunmuştur¹³. Çalışmamızda elde ettiğimiz en yüksek su tüketim oranının Yarar ve arkadaşlarının sonuçları ile aynı olduğu görülmüştür (Tablo II). Yapılan başka bir çalışmada sporcuların %83,1' inin sıvı alımına dikkat ettiklerini belirtmelerine rağmen, sıvı tüketimlerinin yetersiz olduğu saptanmıştır¹⁴. Vücuttan normal koşullarda, değişik yollarla ortalama günlük olarak atılan sıvı miktarı yaklaşık 2,5 litredir¹⁵. Bu miktar göz önüne alındığında sporcularda, yapılan spor branşı ve yaşa göre değişken olmakla birlikte kaybın çok fazla olacağı ve bu nedenle sıvı gereksinimlerinin de çok fazla olduğu bilinmektedir. Ancak bizim çalışmamız ve benzer diğer çalışmalar sporcuların sıvı alımlarının yetersiz olduğunu göstermektedir. Su, sporcular için en önemli ancak gözden kaçan bir besindir. Vücudun nemli ve doğru sıcaklıkta tutulması için su ve sıvılar çok önemlidir. Vücudumuz bir saatlik şiddetli egzersizde birkaç litre ter kaybedebilir. Genç sporcularda ter ölçümü yapılarak, sıvı ihtiyaçlarının belirlendiği bir çalışmada yetişkinlere göre gençlerin sıvı ihtiyaçlarının daha fazla olacağı belirtilmiştir¹². Diyarbakır coğrafik olarak Türkiye'nin en sıcak bölgelerinden birinde yer alır. Sıcak iklimlerde doğal olarak sıvı kaybı canlılarda daha fazladır. Ayrıca sıcak ortamlarda egzersiz yapılırken,

çocuk ve gençlerin yüzey alanının vücut kütlelerine oranı, daha fazla olduğundan çevresel ısıyı yetişkinlere göre daha kolay emer böylece ısı birikimi oluşur, yetişkinlerle karşılaştırıldığında çocuklar ve gençler daha fazla ısı stresi yaşayabilir. Vücuttan aşırı sıvı kaybı ile oluşan dehidrasyona bağlı olarak sağlık problemleri oluşabilir. Yetersiz sıvı tüketimi kuvvet, dayanıklılık ve aerobik kapasiteyi olumsuz yönde etkileme potansiyeline sahiptir¹².

Beslenmeyle ilişkili sağlık sorunlarının önlenmesi ve azaltılmasında toplumun, özellikle de genç sporcuların beslenme konusunda bilgi düzeyinin artırılması, günlük hayatta sağlıklı beslenme becerilerinin ve davranışlarının geliştirilmesine katkıda bulunur¹⁶. Türkiye’de genç elit atletlerle yapılan çalışmaların sayısı sınırlıdır. Elit genç atlet ve diğer sporcular için beslenme tavsiyeleri, büyük ölçüde yetişkin sporculara ya da toplumun diğer bireylerine ait çalışmalardan elden edilen verilerle tahmini olarak yapılmaktadır.

Çalışmamızda genç atletlerin toplam SBİTÖ ve alt boyutlarının puan ortalamaları incelendiğinde; Atletlerin genelinde toplam SBİTÖ puanı 70,75 olup istatistiksel olarak önemli olmazsa da yüksektir (Tablo III). Bu oran erkeklerde 77,55 ($p=0,032$) olup kadınların oranından daha yüksektir ve istatistiksel olarak da önemlidir (Tablo IV). Yine erkeklerde olumlu beslenme alt boyut oranı (20,09) kadınların oranından daha yüksek olup önemlidir ($p=0,005$). Özenoğlu ve arkadaşları toplumda 20-65 yaş aralığında gönüllülerde yapmış olduğu çalışmalarında toplam SBİTÖ ortalama puanını 75,57 olarak vermişlerdir. Katılımcıların cinsiyete göre SBİTÖ toplam puanı karşılaştırıldığında önemli bir fark bulunmamıştır¹². Özenoğlu ve arkadaşları, SBİTÖ alt boyut Beslenme Hakkında Bilgi ortalamalarını (20,46) kadınlarda önemli derecede yüksek vermiştir ($P=0,046$)¹². Değerlerimiz birbirine yakın olmakla birlikte

çalışma gruplarımız farklıdır. Literatür araştırmamızda ülkemizde direkt olarak atletlerde SBİTÖ ölçeği ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bu anlamda sonuçlarımızın yapılacak çalışmalara katkı sunabileceği ön görülmektedir. Pulur’un 15-35 yaş arası bayan basketbolcuların beslenme bilgi ve alışkanlıkları üzerine yaptıkları çalışmada, sporcuların %52’sinin, Yarar ve arkadaşları, elit sporcularda yapmış olduğu çalışmada da sporcuların %49,4’ünün sporcu beslenmesi konusunda yeterli bilgiye sahip oldukları ifade edilmiştir^{9,10}. Atay ve arkadaşları çalışmalarında futbolcuların %73,7’sinin beslenme konusunda iyi ve çok iyi düzeyde beslenme bilgisine sahip olduklarını belirtmektedirler¹⁷. Çalışmamızda atletlerin teorik olarak %62,5’inin yüksek derecede sağlıklı beslenmeye ilişkin tutuma sahip oldukları gözlemlenmiştir (Tablo V). Özenoğlu ve arkadaşları da çalışma katılımcılarının %67,3 oranında yüksek derecede sağlıklı beslenmeye ilişkin tutuma sahip olduklarını bildirmektedir^{16,17}.

Çalışmalar, beslenme bilgisinin eğitim ve sosyo-ekonomik duruma bağlı olarak yaşla paralel arttığına vurgu yapmaktadır^{16,18,19}. Çalışmamızda atletlerin yaşı birbirine yakın olduğundan irdelenmemiştir. Coveney ve arkadaşlarının 18-35 yaş ile 35 yaş üstü bireylerin kıyaslandığı bir çalışmada, 35 yaş üstü bireylerin bulunduğu grupta beslenme bilgisi diğer gruba göre çok daha yüksek bulunmuştur¹⁸. Verilerimizin genç elit atletlere ait değerler olması ile birlikte, diğer araştırmacıların yorumladığı gibi sağlık sorunlarının yaş ile artma eğilimi gösterdiği, bireylerin de sağlıklı beslenmeye ilişkin bilgi ve tutumlarının da artmaya başladığı şeklinde yorumlanabilir. Diğer branş öğretmenlerine göre sağlıklı beslenme tutumlarının yüksek olduğu beden eğitimi öğretmen kadın ve erkeklerin genel olarak benzer tutumlar sergilediği, yaş ilerledikçe de beslenme

tutumlarının pozitif yönde iyileştiği belirtilmektedir²⁰. Genel olarak çalışmalarda kadınların erkeklere göre beslenme tutumlarına daha fazla dikkat ettikleri görüşü hâkimdir^{16,20,21}. Tahranda 7669 ergen katılımı ile yapılmış çalışmada, doğrulanmış bir bilgi, tutum ve uygulamalar (KAP) anketi ve bir gıda sıklığı anketi (FFQ) kullanılmış, çoğunda beslenme uygulamalarıyla beslenme bilgilerinin uyuşmadığı görülmüştür. Kadınların beslenme bilgisi erkeklerinkinden önemli derecede yüksek bulunmasına rağmen, erkeklerin daha iyi beslenme uygulamalarına sahip olduğu bildirilmektedir²². Yaşları 35 ile 74 arası 10.366 ABD'li ve 698 İsveç' li katılımcının bulunduğu çalışmada her iki popülasyonda da yüksek genel beslenme ve sağlık farkındalığına rağmen bilgi ve tutumlarda farklılıklar bulunmaktadır²³. Atletlerin besin tüketim sıklıklarının dağılımı genel olarak incelendiğinde %75,0'nın süt ve süt ürünlerini haftada 2-3 kez tükettikleri ve en çok olarak da süt, ayran, yoğurt olarak tercih ettikleri görülmüştür. Atletlerin %66,7'si yumurtayı her gün, %33,3'ü kırmızı eti, %66,7'si de tavuk etini en çok haftada 2-3 kez tükettiğini belirtmiştir (tablo VI). Acar tez çalışmasında atletlerin genel değerlendirmesinde süt ve süt ürünlerinin %50 ile en çok haftada 3-4 kez tüketildiği, yoğurdun ve ayranın %26,9 ile en çok haftada 3-4 kez tüketildiği, peynir çeşitlerinin de %34,6 ile en çok haftada 5-6 kez tüketildiği bildirilmiştir. Kırmızı et tüketimi %26,9 ile ayda bir, tavuk tüketimi %38,5 ile haftada 3-4 kez tüketildiğini bildirmiştir¹¹. Dolayısıyla çalışmamızda diğer çalışmalara benzer olarak en fazla tüketilen besinler peynir, yumurta, sebze-meyve, et-yumurta-kuru baklagiller, beyaz ekmek, içecek, çay şeklindedir. En az tüketilen besinler ise yağ-seker-tatlı, hazır yemek, kepekli ekmek yiyecekleridir. Kadınlar ile erkek atletler arasında yapılan karşılaştırmada, erkeklerde kırmızı et (4,82), kepekli ekmek (3,45), kola-gazlı içecek (5,18) tüketimi daha

yüksektir ($p < 0,05$). Fark diğer ölçümler için önemli değildir ($p > 0,05$).

Diğer sporcular gibi atletlerin de kendileri için gerekli olan aminoasitleri içeren et, süt grubu ve yumurta gibi hayvansal besinleri sıklıkla tükettikleri belirlenmiştir. Ayrıca bireyler kurubaklagil tüketerek bitkisel protein içeren besinlerden de yararlanmaktadır. Elzem aminoasit içeren proteinlerin alınması, protein sentezini uyararak net protein dengesinin sağlanmasında etkilidir²⁴.

Bu çalışmada atletlerin genelinde aldıkları günlük enerji düzeyi 1957,61 kkal olarak bulunmuştur (Tablo VIII). Kadınlarda günlük enerji düzeyi 1965,46 kkal erkeklerde de günlük enerji düzeyi 1948,33 kkal olarak birbirine yakın değerlerdir ve önerilen değerlerden daha düşüktür²⁵. Ağır egzersiz yapan 15-18 yaş arası gençlerde enerji gereksinimleri, erkeklerde; 3650-3925 kkal/gün, kadınlarda; 2875 kkal/gün olduğu bu gereksinim için uygun enerji içeren besin alınması gerektiği bildirilmektedir²⁵. Enerji gereksinimi, yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı, kas miktarı ve vücut yağı gibi faktörlere ve her spor branşına göre günlük 2000 kkal ile 5000 kkal arasında değişmekte, çok yoğun antrenman yapan ve genellikle yarışlara hazırlanan dayanıklılık sporcularında (günde 4-5 saat) daha yüksek düzeylere de (6000-12.000 kkal) çıkmaktadır. Yapılan çalışmada günlük ortalama enerji düzeyi her iki cinsiyet için önerilen düzeyin oldukça altındadır. Düşük enerji alımı; kas kaybı, kemik yoğunluğunda azalma, düzensiz menstrual siklus, yorgunluk, sakatlanma ve hastalık riskindeki artış ile sonuçlanır^{25,26}.

Elit Genç sporcular için günlük enerjinin %60'ı karbohidratlardan, %15'i proteinden ve %25'i yağlardan gelmesi bu sporcular için yeterli ve dengeli beslenmeyi sağlamaktadır^{15,27}. Çalışmamızda ise CHO tüketiminin genel değerlendirilmede, kadın ve erkeklerde sırasıyla %32,75, %33,08 ve %32,36 oranlarında

önerilenden daha az olduğu bulunmuştur. Günlük tüketilen protein miktarı genç yaş grubunda önerilenin üzerinde %17,63 bulunmuş olup, buna bağlı olarak bu sporcular için önerilen günlük enerjinin yaklaşık %15'inin sağlanabildiği gözlenmiştir. Günlük yağ tüketimi ise yine önerilenden daha fazladır, %49,63 oranda bulunmuş olup kadınlarda %50,23, erkeklerde %48,91 olarak belirlenmiştir.

Genç sporcuların yüksek karbonhidrat diyetinden yararlanıp yararlanmayacağı henüz tam olarak açıklanamamıştır. Birçok araştırmacı çalışmalarında, sporcu gençlerin toplam enerji alımlarının en az %50'sini karbonhidrat olarak tüketmelerini önermektedir. Diyetteki çoğu karbonhidrat, sınırlı miktarda basit şeker içeren (\leq % 10) kompleks karbonhidratlardan (tahıllar, makarna, pirinç vb.) olmasını önermektedir²⁸. Araştırmamıza katılan bireylerin karbonhidrat alımının toplam enerjiye oranı %31,76 olduğu bunun da Nemet ve arkadaşlarının çalışmalarında önerdiği düzeyin çok altında olduğu görülmüştür.

Proteinin toplam enerjiye oranı %17,63 olarak bulunmuştur. Smith'in çalışmasında, genç sporcularda protein alımının toplam enerjiye oranı %12-15 aralığında olması gerektiği söylenmektedir²⁹. Belirlenen çalışma verisi Smith'in önerilerine yakın bulunmuştur. Smith çalışmasında yağ alımının %20-30 değer aralığında önermektedir. Genç atletlerde yapılan bu çalışmada yağ alımının bir sporcunun alması gereken düzeyin çok üzerinde olduğu görülmektedir. Çalışmadaki bireylerin beslenmelerindeki yağ alımının toplam enerjiye oranı da %50,71 olarak yüksek bulunmuştur.

Vitaminler, mineraller ve kombinasyonları (multivitamin-mineral) genel popülasyonda baskın besin takviyeleridir. Vitaminler metabolik işlemleri, enerji sentezini, nörolojik işlemleri düzenleme ve hücrenin yıkımını önleme işlevlerini gören elzem organik

bileşiklerdir. Mineraller de metabolik işlemlerin gerçekleşmesi için gerekli olan elzem inorganik elementlerdir. Çeşitli vitamin ve mineral takviyelerinin performans artışına neden olduğu ile ilgili görüşler bulunmakla birlikte bilimsel olarak kanıtlanmamıştır. Çinko ve magnezyum dengesinin yetersiz olduğu durumlarda egzersiz kapasitesinin düşebildiği, sporcularda mineral diyet takviyesiyle genel olarak egzersiz kapasitesinin artırdığı görülmüştür. Eksikliğin görülmediği atletlerde de takviyenin performansı arttırdığı gösterilmiştir³⁰. Alpar, çalışmasında sporcuların multivitamin-mineral kullanım oranını %36,11'olarak vermiştir³¹. Çalışmamızda da, bireylerin %62,5'inin multivitamin-mineral kullandığı görülmüştür. Kadın ile erkek atletler arasında makro ve mikro besin tüketim ölçümleri bakımından istatistiksel anlamda önemli fark bulunmamaktadır.

Ünlü, elit sporcular ve sedanterleri karşılaştırdığı tez çalışmasında; elit kadın sporcularda vücut ağırlığı (kg) 54,55 \pm 6,89, boy (cm) 165,93 \pm 5,21, BKİ (kg/m²) 19,79 \pm 1,83, olarak bulmuştur 32. Pehlivan ve arkadaşları elit atletlerle yapmış oldukları çalışmada vücut ağırlıklarını 57.1kg, BKİ 20. 9 kg/m², Dirk ve arkadaşları, 20 yaş altı elit erkek ve kız atletlerin antropometrik ve fiziksel özelliklerini değerlendirdiği çalışmada 20 yaş altı erkek ve kızların boy uzunlukları 180.2 cm ve 170.3 cm, vücut ağırlıkları 69.3 kg ve 56.7 kg Boy uzunluğu ile vücut ağırlığı arasındaki pozitif ilişki de bilinmektedir^{33,34}. Şanlier, araştırmasına yaşları 18-25 arasında değişen 57 erkek, 63 kız toplam 120 genç almıştır. Erkeklerin BKİ'leri 22.6 kg/m², kızların BKİ'leri 21.0 kg/m², erkeklerde vücut yağ ağırlığı 15.8 kg, kızlarda vücut yağ ağırlığı 17.9 kg sonucuna varmıştır³⁵.

Çalışmada bulunan cinsiyete göre boy, kilo, BKİ değerlerinden (tablo X); BKİ değerleri Şanlier' in ve Ünlü' nün buldukları ile benzer, vücut ağırlığı

değerleri Pehlivan' nın çalışmaları ile yaklaşık olarak aynı, boy uzunluğu değerleri Dirik ve arkadaşları ile benzer bulunmuştur.

Yarar ve arkadaşlarının 15 yaş ve 21 yaş üzeri elit erkek ve kadın sporcuların beslenme bilgi ve alışkanlıkların değerlendirilmesi konusunda yaptığı çalışmada atletlerin sporcu beslenmesi konusunda kısıtlı bir bilgiye sahip olduğu ve yeterince beslenme konusuna önem vermediği tespit edilmiştir¹⁰. Çalışma bulgularımız ile bu sonuçlar örtüşmektedir

Literatüre bakıldığında, elit genç sporcu beslenmesi ile ilgili sorunların çözümüne katkı sunacak bu ve benzer yapılan çalışmalar artmakla birlikte hala cevaplanmamış çok sayıda soru bulunmaktadır. Çalışmamızda verisi paylaşılmış ancak ilgili kaynaklar bulunamadığı için tartışılmamış sonuçlarımız bulunmaktadır. Bu nedenlerle elit genç sporculara daha iyi beslenme tavsiyelerinde bulunmak, teorik bilgilerin tutum ve davranışlara yansımalarını sağlayacak daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu söylenebilir.

Bu Çalışma, 02.07. 2021 tarihinde; "Biruni Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Beslenme ve Diyetetik Lisansüstü Programında" yüksek lisans bitirme tezinin bir bölümü olarak sunulmuştur.

Etik Kurul Onayı: Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 2021/47-51 karar numarası ile araştırmanın etik yönden uygun olduğuna dair onay alınmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma herhangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Declaration of Conflicting Interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: No financial support was received.

KAYNAKLAR

1. Negro M. R. Essential Overview. Progress In Nutrition. Sports Nutrition Science, 2013; 3-30.

2. Lassi Z. M. Nutrition in Middle Childhood and Adolescence. S. N. In: Bundy DAP içinde, Child and Adolescent Health and Development. 3rd ed (s. 11 section). Washington (DC): The World Bank; 2017.

3. Villa M. (). Body Composition, Dietary Intake and the Risk of Low Energy Availability in Elite-Level Competitive Rhythmic Gymnasts . Nutrients, 2021; 2083.

4. Demir G. C. Sağlık Beslenmeye İlişkin Tutum Ölçeği (SBİTÖ) Geçerlilik ve Güvenilirlik Çalışması. Gaziantep Üniversitesi Spor Bilimleri Dergisi, 2019; 2536-5339.

5. Tekkurşun D. C. Sağlık Beslenmeye İlişkin Tutum Ölçeği (SBİTÖ) Geçerlilik ve Güvenilirlik Çalışması. Gaziantep Üniversitesi Spor Bilimleri Dergisi, 2019; 256-74.

6. Pekcan G. Beslenme Durumunun Saptanması. A. Baysal içinde, Diyet El Kitabı (s. 70). Ankara: Hatiboğlu Yayınevi, 2016.

7. Mc Manus A. A. Physiology of Elite Young Female Athletes. S. K. N. Armstrong içinde, The Elite Young Athlete, Basel: Karger. 2011; 23-46.

8. McManus, A. M. The Elite Young Athlete. S. K. N. Armstrong içinde, The Elite Young Athlete (2010).

9. Pulur, A. C. Bayan Basketbolcuların Beslenme Bilgisi Ve Alışkanlıkları. Pulur A., Cicioğlu İ. Atatürk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi. 2001; 44-47.

10. Yarar H. G. (2011). Elit Seviyedeki Sporcuların Beslenme Bilgi ve Alışkanlıklarının Değerlendirilmesi. Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bilim Dergisi, 368-71.

11. Acar S. 10-25 Yaş Arası Sivas İli Sporcularının Antropometrik ve Motorik Özelliklerinin Belirlenmesi Doktora Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü. 2019.

12. Petrie H. S. Nutritional Concer for the Child and Adolecent Competitor. Nutrition. 2004; 620-31.

13. Parlak N. Konya İlinde Aktif Spor Yapan 15-18 Yaş Arası Sporcuların Sıvı Alımı İle İlgili Bilgi Ve Alışkanlıklarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Konya: Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2008.

14. Saygın Ö.G. Amatör ve Profesyonel Futbolcuların Beslenme Alışkanlıklarının İncelenmesi. Uluslararası İnsan Bilimleri Dergisi, 2009; 178-96
15. Baysal A. (2019). Beslenme. Ankara: 19. Baskı, Hatipoğlu Yayınevi.
16. Özenoğlu A.G. Yetişkinlerde Beslenme Okuryazarlığın Sağlıklı Beslenmeye İlişkin Tutumlar ve Beden Kütle İndeksi İle İlişkisi. Life Science. 2021; 3-18.
17. Atay E. K. Türkiye Yarı Finallerine Katılan Yıldızlar Kategorisi İlköğretim Okulları Futbolcularının Beslenme Alışkanlık Düzeylerinin İncelenmesi. Türkiye Yarı Finallerine Katılan Yıldızlar Kategorisi İlköğretim Okulları Futbolcularının Beslenme 9.Uluslararası Spor Bilimleri Kongresi, Bildiri Kitapçığı. Muğla: 9.Uluslararası Spor Bilimleri Kongresi. 2006; 475- 7.
18. Coveney J. C. Coven Exploring Nutrition Knowledge and the Demographic Variation in Knowledge Levels in an Australian Community Sample. Public Health Nutr. 2008; 1365-71.
19. Henauv S. M. Determinants of Nutritional Knowledge in Young and Middle-aged Belgian Women and the Association with Their Dietary Behaviour. Appetite. 2009; 788-92.
20. Kusan O. H. Beden Eğitimi Öğretmenleri Ve Diğer Branş Öğretmenlerinin Sağlıklı Beslenmeye İlişkin Tutumlarının Bazı Değişkenlere Göre İncelenmesi (Kütahya İli Örneği). Rol Spor Bilimleri Dergisi. 2020; 74-83.
21. Güçer E. K. Gençlerin Beslenme Bilgi Alışkanlık ve Davranışları ile Beden Kitle İndeksleri Arasındaki İlişki. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi. 2009; 333-52.
22. Mirmiran P. A. Dietary Behaviour of Tehranian Adolescents Does Not Accord with Their Nutritional Knowledge. Public Health Nutrition. 2007; 897-901.
23. Girois S. K. Comparison of knowledge and attitudes about diet and health among 35- to 75-year-old adults in the United States and Geneva, Switzerland . American Journal of Public Health. 2001; 418-24r.
24. Bilgiç P.Amino asit suplemanlarının vücut bileşimine, biyokimyasal parametrelere ve kas geliştirmeye etkisi.Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Hacettepe Üniversitesi. 2009.
25. FAO. Human Energy Requirements: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation: Rome. 2004; 17-24 October.
26. TÜBER. (2015). Türkiye Beslenme Rehberi.
27. Ersoy G. (2006). Sporcu Beslenmesi. Ankara: Sinem Matbaacılık.
28. Nemet D. E. Pediatric sports nutrition: an update. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. 2009; 304-309.
29. Smith J. W. Performance Nutrition for Young Athletes. E. S.D.N.Bagchiand C.K. Sen içinde, In Nutrition and Enhanced Sports Performance: Muscle Building,Endurance and Strenght. 2013; 523-29.
30. Kreider R. A. Exercise & Sport Nutrition. Research&Recommendations Sports Nutrition Review Journal. 2004, 1-44.
31. Alpar F. 2011. Vücut Geliştirme Sporcularında Beslenme, Fiziksel Aktivite Ve Besin Takviyesi Kullanım Durumlarının İncelenmesi.Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
32. Ünlü U. 2017. Sporun Vücut Kompozisyonu Ve Kardiyopulmoner Fonksiyon Testleri Üzerine Etkisinin Araştırılması.Yüksek Lisans Tezi. Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
33. Pehlivan Ç. N. Elite Athletes' Characteristics in Esthetic Sports Related to Body Composition, Physiology, Bone Mineral Density and Nutrition. Int J Sport, Exer & Train Sci. 2018; 6-18.
34. Dirk A. Comparison of anthropometric characteristics and sprint start performance between elite adolescent and adult sprint athletes. European Journal of Sport Science. 2012; 9-15.
35. Şanlıer N. Gençlerde Biyokimyasal Bulgular, Antropometrik Ölçümler, Vücut Bileşimi, Beslenme Ve Fiziksel Aktivite Durumlarının Değerlendirilmesi. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi. 2005; 47-73.



Neoadjuvan Kemoterapi Alan Luminal Tip Meme Kanserli Hastalarda Patolojik Tam Yanıtı Predikte Eden Faktörler

Zuhat Uraççı¹, Nadiye Akdeniz², Sezai Tunç¹, Zeynep Oruç¹, Mehmet Küçüköner¹, Muhammet Ali Kaplan¹, Hüseyin Büyükbayram³, Abdurrahman Işıkoğan¹

¹ Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

² Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Birimi Diyarbakır, Türkiye

³ Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

Geliş: 27.03.2023; Revizyon: 21.05.2023; Kabul Tarihi: 22.05.2023

Öz

Amaç: Luminal tip meme kanserinde birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen günümüzde bu tip meme kanserinde patolojik tam yanıtı (pCR) predikte eden faktörler halen net olarak bilinmemektedir. Bu çalışmamızda neoadjuvan kemoterapi alan luminal tip meme kanserli hastalarda patolojik tam yanıtı predikte eden faktörleri incelemeyi amaçladık.

Yöntemler: Çalışmaya Ocak 2010 ile Aralık 2018 arasında onkoloji merkezimizde neoadjuvan kemoterapi alan, luminal tip lokal ve lokal ileri evre meme kanserli, 18 yaşından büyük, 122 kadın hasta dahil edildi. Çalışmamızda neoadjuvan kemoterapi alan luminal tip meme kanserli tanılı hastalarda patolojik tam yanıtı predikte etme potansiyeli olan faktörleri retrospektif olarak inceledik.

Bulgular: Hastaların menopozal durumu ($p=0.638$), tümör lokalizasyonu (sağ-sol) ($p=0.791$) ve tümör boyutu ($p=0.861$) ile pCR arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi. Patolojik tam yanıt ile invaziv duktal karsinom histolojisine sahip olma ($p=0.001$), östrojen reseptör (ER) negatifliği ($p=0.034$), insan epidermal büyüme faktörü reseptör-2 pozitifliği (HER2) ($p=0.030$) ve nod negatifliği ($p=0.023$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı. Patolojik tam yanıt ile hastalığın evresi (II-III) ($p=0.051$) ve Ki-67 düzeyi ($<20\%$ / $\geq 20\%$) ($p=0.060$) arasında sınırda istatistiksel anlamlılık mevcuttu.

Regresyon analizinde, diğer potansiyel prognostik faktörler ile birlikte değerlendirildiğinde, nod negatifliği ve ER negatifliği pCR'ı predikte eden bağımsız faktörler olarak saptandı ($p=0.008$, $p=0.040$, sırası ile). Patolojik tam yanıt elde edilen hasta grubuyla pCR sağlanamayan grup arasında hem hastalısız sağkalım (DFS) hem de genel sağkalım (OS) açısından farklılık izlenmedi ($p=0.315$, $p=0.576$ sırası ile).

Sonuç: Çalışmamızda ER negatifliği ve nod negatifliği pCR'ı predikte eden bağımsız faktörler olarak saptandı. Ki-67'nin $\geq 20\%$ üzerinde olması pCR açısından sınırda anlamlılık göstermekteydi. Luminal tip meme kanserli hasta grubunda patolojik tam yanıt prognostik bir faktör olarak saptanmadı.

Anahtar kelimeler: Luminal tip meme kanseri, neoadjuvan kemoterapi, patolojik tam yanıt

DOI: 10.5798/dicletip.1313421

Correspondence / Yazışma Adresi: Zuhat Uraççı, Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Kıtılıl Mah. Sur, Diyarbakır, Türkiye e-mail: dr.zurak@hotmail.com

Factors Predicting Pathological Complete Response in Patients with Luminal Type Breast Cancer Receiving Neoadjuvant Chemotherapy

Abstract

Objective: Although many studies have been conducted on luminal type breast cancer, the factors that predict pathological complete response (pCR) in this type breast cancer are still not known clearly. In this study, we aimed to investigate the factors that predict pathological complete response in patients with luminal type breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy.

Methods: The study included 122 female patients older than 18 years of age with luminal type local and locally advanced breast cancer who received neoadjuvant chemotherapy in our oncology center between January 2010 and December 2018. In our study, we retrospectively analyzed the factors that have the potential to predict pathological complete response in patients diagnosed with luminal type breast cancer who received neoadjuvant chemotherapy.

Results: There was no statistically significant relationship between pCR and menopausal status ($p=0.638$), tumor localization (right-left) ($p=0.791$) and tumor size ($p=0.861$). A statistically significant correlation was found between pCR and having invasive ductal carcinoma histology ($p=0.001$), estrogen receptor (ER) negativity ($p=0.034$), human epidermal growth factor receptor-2 (HER2) positivity ($p=0.030$) and node negativity ($p=0.023$). There was borderline statistical significance between pathological complete response and disease stage (II-III) ($p=0.051$) and Ki-67 level ($<20\%/ \geq 20\%$) ($p=0.060$).

In regression analysis, when evaluated together with other potential prognostic factors, node negativity and ER negativity were determined as independent factors predicting pCR ($p=0.008$, $p=0.040$, respectively). There was no difference between the patient group with pCR and the group without pCR in terms of both disease-free survival and overall survival ($p=0.315$, $p=0.576$, respectively).

Conclusion: In our study, ER negativity and node negativity were found to be independent factors predicting pCR. The Ki-67 score above 20% showed borderline significance in terms of pCR. Pathological complete response was not found as a prognostic factor in the patient group with luminal type breast cancer.

Keywords: Luminal type breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, complete pathological response.

GİRİŞ

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Maligniteye bağlı mortalitenin ikinci en sık nedenidir¹. Günümüzde lokal-ileri evre meme kanseri tedavisinde kemoterapi, cerrahi, radyoterapi, hormonal tedaviler ve hedefe yönelik tedaviler kullanılmaktadır. Lokal-ileri evre meme kanserinde kemoterapi neoadjuvan veya adjuvan amaçla kullanılabilir. Yapılan çalışmalarda neoadjuvan kemoterapi (NAK) yanıtının hastalıksız sağkalım (DFS) ve genel sağkalım (OS) ile güçlü bir korelasyon gösterdiği bildirilmiştir². Bundan dolayı NAK, günümüzde lokal-ileri evre meme kanseri tanılı hastalar için standart bir tedavi haline gelmiştir. Patolojik tam yanıt (pCR), NAK sonuçlarının önemli bir belirleyicisi olarak kabul edilmiş ve birçok klinik çalışmada prognostik bir belirteç olarak bildirilmiştir³. Başka çalışmalarda da pCR'ı predikte edebilecek hormon reseptör durumu, insan epidermal büyüme faktörü

reseptör-2 (HER2) durumu, histolojik grade, proliferasyon indeksi, tümör boyutu, yaş ve laboratuvar değerleri gibi bazı temel klinikopatolojik parametreler çalışılmıştır. Ancak pCR'ı predikte edebilecek bu faktörlerin değerlendirildiği çeşitli çalışmalarda pCR oranlarının farklı çıkması nedeniyle NAK etkinliğini tahmin etmede tek bir faktörün yeterli olmadığı belirtilmiştir⁴.

Meme kanseri, immünohistokimyasal belirteç ekspresyonu veya gen ekspresyon dizisi verileri ile farklı alt tiplere ayrılan heterojen bir hastalıktır. Luminal tip en sık görülen meme kanseri alt tipi olup, NAK yanıtları bu tip hastalıkta diğer alt tiplere göre daha düşüktür. Bu nedenle luminal tip meme kanserine sahip hastalarda NAK tedavisi günümüzde halen tartışmalı bir konudur. Patolojik tam yanıt oranları meme kanseri alt tiplerine göre büyük oranda farklılık göstermektedir. Luminal tip meme kanserinde prognoz daha iyi olmasına

rağmen, NAK sonrası pCR oranları HER2(+) ve triple negatif alt tiplerine göre daha düşüktür⁵. Luminal tip meme kanserinde pCR oranları %6 ila %11 arasında iken, triple negatif ve HER2(+) meme kanserinde bu oranlar %30 ila %60 arasında bildirilmiştir^{6,7}. Günümüzde luminal tip meme kanserinde klinikopatolojik faktörlerden bir veya birkaçının pCR'ı tahmin etmede kullanılabileceği belirtilmiştir. Ancak rutin kullanılan prediktif bir belirteç henüz belirlenmemiştir. Çalışmamızda neoadjuvan kemoterapi alan luminal tip meme kanseri tanılı hastalarda patolojik tam yanıtı predikte eden faktörleri incelemeyi amaçladık.

YÖNTEMLER

Çalışmaya Ocak 2010 ile Aralık 2018 arasında Tıbbi Onkoloji Kliniğimizde neoadjuvan kemoterapi alan luminal tip lokal ve lokal-ileri evre meme kanseri tanılı, 18 yaş üstü 122 kadın hasta alındı. Çalışmaya evre II-III non-inflamatuar meme kanseri hastaları dahil edildi. Neoadjuvan tedaviyi tamamlayamayan, adjuvan kemoterapi alan ve cerrahi yapılamayan hastalar çalışmaya alınmadı. Hasta dosyalarından yaş, menopoz durumu, TNM evresi, histolojik alt tip, hormon reseptör durumu, HER2 durumu, Ki-67 düzeyi, nüks ve son kontrol tarihi bilgilerine ulaşıldı. Tümör boyutu ve aksiller lenf nodu durumu ultrasonografi ve mamografi/meme MR sonuçlarından elde edildi. Şüpheli olgularda aksiller lenf nodundan ince iğne aspirasyon biyopsisi yapıldı. Sistemik evrelemede bilgisayarlı tomografi, kemik sintigrafisi ve gerekli hastalarda pozitron emisyon tomografisi kullanıldı. TNM evrelemesi Amerikan Ortak Kanser Komitesi (AJCC)⁷ versiyonuna göre yapıldı. Çalışma, hastanemiz girişimsel olmayan klinik araştırmalar etik kurulu tarafından onaylanmış ve Helsinki Bildirgesine göre etik ilkelere uygun olarak yürütülmüştür (etik kurul izin tarih/numara: 02.10.2019/225).

Patolojik değerlendirme

Tüm hastalarda invaziv hastalık tanısı biyopsi ile konuldu. Tümör dokusundan östrojen reseptörü

(ER), progesteron reseptörü (PR), HER-2 ve Ki-67 bakıldı. ER veya PR; %1 ve üzerinde pozitif nükleer boyanma olması durumunda pozitif kabul edildi. HER2 pozitifliği; immünohistokimyasal yöntem ile Cerb-B2'nin skor 3 boyanması veya skor 2 boyanıp floresan in-situ hibridizasyon yöntemi ile HER2 gen amplifikasyonu saptanması olarak kabul edildi. ER, PR, HER2 durumu ve Ki-67 düzeyine göre moleküler alt gruplar belirlendi⁴. ER veya PR pozitif, HER2 pozitif veya negatif olan hastalar luminal tip hastalık olarak kabul edildi ve çalışmaya dahil edildi. Cerrahi sonrası patolojik yanıt Miller-Payne skorlama sistemi ile değerlendirildi. Meme ve aksillada invaziv rezidü tümör kalmaması pCR olarak tanımlandı. Karsinoma in-situ olanlar komplet yanıtı dahil edildi⁵.

Tedavi

Hastaların tamamı neoadjuvan kemoterapi almıştı. Neoadjuvan tedavide AC (adriamisin, siklofosfamid), FEC (fluorourasil, epirubisin, siklofosfamid) ve taksanli (dozetaksel, paklitaksel) kemoterapi rejimleri verilmişti. HER2 pozitif hastalar neoadjuvan kemoterapiye ek olarak trastuzumab almışlardı. Ancak çalışmanın yapıldığı dönemde ülkemizde pertuzumab onayı olmadığından hastalara pertuzumab verilememişti. NAK'yi takiben hastalara meme koruyucu cerrahi, modifiye radikal mastektomi, sentinal lenf nodu örnekleme ve gerekli hastalarda aksiller lenf nodu diseksiyonu yapılmıştı. Güncel klavuz önerileri doğrultusunda hastalar adjuvan hormonal tedavi ve endikasyonu olması durumunda radyoterapi almışlardı⁸.

İstatistiksel Analiz

Değişkenlerin analizinde SPSS 25.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, United States) programı kullanıldı. Bağımsız iki grubun nicel verilere göre birbiri ile karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin birbiri ile karşılaştırılmasında ise Pearson Chi-Square ve/veya Fisher Exact testleri kullanıldı.

Hastaliksız sağkalım ve genel sağkalım için Kaplan-meier-Log Rank analizi yapıldı. Prognostik değişkenler için Regression analizi kullanıldı. Güven aralığı %95, p anlamlılık değeri <0,05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

Tüm hastalarda ortanca tanı yaşı 44 (25-78) yıl idi. Tüm hastalar değerlendirildiğinde pCR 27 (%22.1) hastada saptanmıştı. Patolojik tam yanıt sağlanamayan hastalarda ortanca tanı yaşı 44 (26-78) yıl ve pCR sağlanan hastalarda 45 (25-78) yıl idi. Premenopozal 77 (%63) hasta vardı ve 66 (%54) hastada primer tümör sol meme yerleşimliydi. Hastaların 95'inde (%78) invaziv duktal karsinom (İDK) ve 10'unda (%8) invaziv lobüler karsinom histopatolojik alt tipleri vardı. ER hastaların 118'inde (%97) pozitif, PR hastaların 104'ünde (%85) pozitif ve HER2 hastaların 46'sında (%38) pozitif. Hastaların 94'ü (%77) luminal B ve 28'i (%23) luminal A grupta idi. Hastaların 3'ünde (%2) T1, 70'inde (%57) T2, 35'inde (%29) T3 ve 14'ünde (%12) T4 tümör vardı. Hastaların 17'sinde (%14) lenf nodu negatif iken (N0), 44'ünde (%36) N1, 48'inde (%39) N2 ve 13'ünde (%11) ise N3 lenf nodu pozitifliği vardı. Hastaların 74'ü (%60.7) evre III hastalığa sahipti. Yetmiş altı hastada (%62) Ki-67 ≥%20 idi.

Hastaların menopozal durumu pCR'ı predikte etmiyordu (p=0.638). Tümörün sağ veya sol meme yerleşimli olması pCR açısından anlamlı değildi (p=0.791). Sadece İDK histolojisine sahip olan hastalarda pCR istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı (%28, %0, sırasıyla)(P=0.001). Ki-67 eşik değeri %20 olarak belirlendiğinde; Ki-67'nin %20 üzerinde olması pCR açısından sınırdan anlamlılık göstermekteydi (%28, %13, sırasıyla) (p=0.060). PR pozitifliği pCR'ı predikte etmezken (p=0.545), ER'nin negatif olması (p=0.034) ve HER2'nin pozitif olması (p=0.030) pCR açısından anlamlıydı. Tümör boyutu (T) ve pCR arasında istatistiksel anlamlılık yoktu (p=0.861). Nodal tutulumu olmayanlarda daha

yüksek pCR oranları mevcuttu (p=0.023). Evre III hastaların pCR oranı evre II hastalara göre daha düşüktü (%16, %31, sırasıyla) (p=0.051) (Tablo I).

Tablo I: Hastaların bazal karakteristik özellikleri

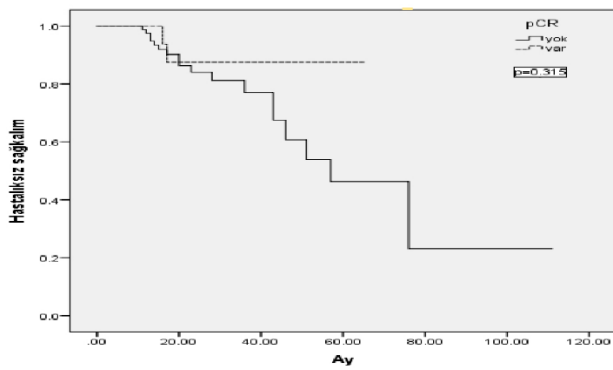
	pCR Yok	pCR Var	p
Yaş ortanca (min-max)	44 (26-78)	45 (25-67)	0,936
Menopozal durum			0,638
Premenopozal	61 (79)	16 (21)	
Postmenopozal	34 (76)	11 (24)	
Tümör Lokalizasyonu			0,791
Sağ	43 (77)	13 (23)	
Sol	52 (79)	14 (21)	
Histolojik Alt Tip			0,001
İnvaziv Duktal	68 (72)	27 (28)	
Diğer	27 (100)	0 (0)	
ER			0,034
Negatif	1 (25)	3 (75)	
Pozitif	94 (80)	24 (20)	
PR			0,545
Negatif	13 (72)	5 (28)	
Pozitif	82 (79)	22 (21)	
HER2			0,030
Negatif	64 (84)	12 (16)	
Pozitif	31 (67)	15 (33)	
Luminal			0,097
A	25 (89)	3 (11)	
B	70 (75)	24 (25)	
T Evresi			0,861
T1	2 (67)	1 (33)	
T2	56 (80)	14 (20)	
T3	27 (77)	8 (23)	
T4	10 (71)	4 (29)	
N Evresi			0,043
N0	9 (53)	8 (47)	
N 1-3	36 (82)	8 (18)	
N 4-9	38 (79)	10 (21)	
10 ve üzeri	12 (92)	1 (8)	
Evre			0,051
II	33 (69)	15 (31)	
III	62 (84)	12 (16)	
Ki 67			0,060
<20	40 (87)	6 (13)	
20 ve üzeri	55 (72)	21 (28)	

Regresyon analizinde ER negatifliği ve nod negatifliği pCR'ı predikte eden bağımsız faktörler olarak saptandı (p=0.040, p=0.008, sırası ile) (Tablo II). Medyan takip süresi 20.2 aydı. Tüm hastalar değerlendirildiğinde medyan DFS 76 ay saptandı. Medyan DFS açısından pCR elde edilen hastalar ile pCR elde edilmeyen hastalar arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0.315) (Şekil 1). Hastaların tümü değerlendirildiğinde medyan OS 81.2 ay saptandı. Patolojik tam yanıt sağlanan hastalarda pCR sağlanmayan hastalara göre

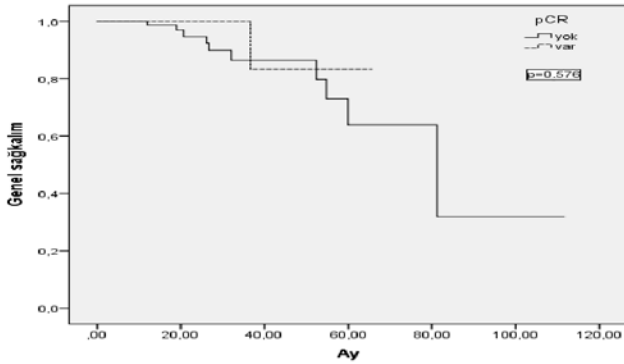
medyan OS açısından farklılık yoktu ($p=0.576$) (Şekil 2).

Tablo II: Regresyon analizine göre pCR'ı predikte eden faktörler

	p	OR	CI Alt Limit	Üst Limit
Histoloji (invaziv duktal)	0,998	-	<0,001	-
ER (negatif)	0,040	11,437	1,11	117,436
LN (negatif)	0,008	5,08	1,542	16,761
HER2 (pozitif)	0,254	1,754	0,668	4,609
Evre (III)	0,657	0,773	0,247	2,415



Şekil 1: pCR'a göre hastaliksiz sağkalım (DFS) Kaplan-meier eğrisi



Şekil 2: pCR'a göre genel sağkalım (OS) Kaplan-meier eğrisi

TARTIŞMA

Lokal-ileri evre meme kanserinin yönetimi günümüzde halen önemli bir problem olup tedavi yaklaşımı klinikler arasında farklılık göstermektedir. Luminal tip meme kanseri tanılı hastalarda lokalize evrede direkt cerrahi bir seçenek olmakla birlikte günümüzde tümörü meme koruyucu cerrahiye uygun hale getirmek

veya aksiller lenf nodu pozitifliğinde hastaları aksiller diseksiyondan kurtarmak amacıyla NAK tercih edilebilmektedir⁹. Meme kanseri ile ilgili NAK çalışmalarında pCR en sık kullanılan prognostik belirteçlerden biri haline gelmiştir. Etkin bir tedavi seçimi ve istenmeyen yan etkileri azaltma amaçlı NAK öncesi pCR olasılığının tahmin edilmesi önemlidir¹⁰.

Meme kanseri ile ilgili yapılan çalışmalarda yaş ve NAK etkinliği arasındaki ilişkiye ait net bir veri henüz bulunamamıştır. Bazı çalışmalarda genç hastalarda daha agresif tümör histolojisinin olması ve genç yaşta yoğun kemoterapi rejimlerinin daha iyi tolere edilmesi nedeniyle NAK sonrası aksiller pCR oranlarının daha iyi olduğu belirtilmiştir^{11,12}. Del Prete ve arkadaşları premenopozal hastalarda NAK yanıtlarının daha iyi olduğunu belirtmişlerdir¹³. Ancak başka bir çalışmada postmenopozal ve 51 yaş üzeri hastalarda, premenopozal ve 50 yaş altı hastalara göre daha iyi klinik yanıtlar olduğu saptanmıştır¹⁴. Resende ve arkadaşları ise menopoz durumu ile NAK yanıtları arasında bir ilişki saptamamışlardır¹⁵. Çalışmamızda menopoz durumu ile pCR arasında bir ilişki saptanmadı.

Son 20 yılda, pCR ile ilişkili olabilecek belirteçleri saptamak için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Histolojik alt tip, ER ve PR düzeyi, HER2 durumu, grade, tümör nekroz yaygınlığı, vasküler invazyon ve proliferasyon belirteçleri gibi birçok parametre patolojik tam yanıtla tutarsız bir şekilde ilişkilendirilmiştir¹⁶.

Yapılan çalışmalar histolojik alt tip ile klinik yanıt oranı açısından önemli bir ilişki olduğunu göstermektedir. Beresford ve arkadaşları İDK ile klinik yanıt arasında yüksek oranda bir korelasyon saptamışlardır¹⁷. Farklı bir çalışmada da İDK ile klinik yanıt arasında diğer alt tiplere göre önemli oranda istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur¹⁴. Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak İDK histolojisinde diğer histolojik alt tiplere göre pCR anlamlı oranda yüksek saptandı.

Çalışmalarda NAK sonrası pCR, proliferatif aktivite ve grade ile ilişkili bulunmuştur¹⁸. Bazı çalışmalarda yüksek Ki-67'ye sahip hastalarda kemoterapi yanıtının yüksek olduğu bildirilmişse de başka çalışmalarda kemoterapi yanıtı ilişkisi saptanmamıştır¹⁹. Kim ve arkadaşları²⁰ %25 üzeri Ki-67 ekspresyonunun pCR için önemli bağımsız prediktif bir faktör olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise Ki-67'nin %20 üzerinde olması pCR açısından sınırdaki istatistiksel anlamlılık göstermekteydi.

Meme kanserinde NAK ile pCR oranları moleküler alt tiplere göre farklılık göstermektedir. Hormon reseptörü pozitif hastalıkta pCR oranları %20'nin altındadır⁷. Luminal HER2 negatif meme kanserli hastalardaki pCR oranı bir çalışmada %9 saptanmıştır²¹. Tan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ER ve PR negatifliğinin pCR ile önemli oranda ilişkili olduğunu belirtmişlerdir²². Çalışmamızda tüm hastalar değerlendirildiğinde pCR 27 (%22,1) hastada saptanmıştı. PR pozitifliği pCR'ı predikte etmezken, ER'nin negatif olması pCR açısından anlamlıydı.

Phung ve arkadaşları²³ HER2 pozitif hastalarda neoadjuvan tedavide trastuzumab ve kemoterapi kombinasyonu ile pCR oranlarını %64,1 olarak bildirmişlerdir. HER2 pozitif meme kanserli hastalarda anti-HER2 tedaviler ile pCR oranları artmaktadır²⁴. Çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak HER2 pozitif grupta NAK ile pCR oranlarının arttığını saptadık.

Klinik TNM evresi ile pCR arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda TNM evresinin tümörün gerçek evresini tam yansıtmayabileceğinden, TNM evresinin neoadjuvan yanıtı predikte etmede öneminin sınırlı olduğu bildirilmiştir²⁵. Yijun Li ve arkadaşlarının²⁶ yaptığı bir çalışmada klinik T evresi ve klinik N evresi ile pCR arasında istatistiksel açıdan anlamlılık olmadığı belirtilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada da klinik evre ile pCR arasında bir ilişki saptanmamıştır²⁷. Shohdy ve arkadaşlarının²⁸ yaptığı çalışmada klinik T1-2 olan

hastalarda pCR oranları klinik T3-4 olanlara göre daha yüksek saptanmışken, klinik nodal evre ile pCR arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Çalışmamızda tümör boyutu ve pCR arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi. Nodal tutulum olmayanlarda daha yüksek pCR oranları mevcuttu. Evre III hastaların pCR oranı evre II hastalara göre daha düşüktü. Regresyon analizinde nod negatifliği pCR'ı predikte eden bağımsız bir faktör olarak saptandı.

Lokal-ileri evre meme kanserinde NAK sonrası pCR sağlanan hastaların rezidüel hastalığı olanlara göre daha iyi prognoza sahip olduğu gösterilmiştir²⁹. Yapılan çalışmalarda NAK yanıtının DFS ve OS ile güçlü bir korelasyon gösterdiği bildirilmiştir². Bizim çalışmamızda pCR elde edilen hasta grubuyla pCR elde edilmeyen hasta grubu arasında hem DFS hem de OS açısından farklılık izlenmedi.

Çalışmamızın retrospektif ve tek merkezli olması başlıca sınırlamalarıdır. Ayrıca patolojide grade ve lenfovasküler invazyon durumu ile ilgili bilgilerin eksik olması, pCR üzerinde çok etkili olan pertuzumab tedavisini hastaların almamış olmaları diğer sınırlamalardır. Ancak kemoterapi yararının sınırlı olduğu ve bu alanda çalışmaların az olduğu luminal grup hastalarda yapılmış olması, bu grup hastalarda NAK sonrası pCR'ı predikte eden faktörlerin değerlendirilmesi ve ayrıca gerçek yaşam verilerini yansıtmaması nedeni ile literatüre önemli katkılar sağlayabilir.

Sonuç olarak; çalışmamızda östrojen reseptör negatifliği ve nod negatifliği pCR'ı predikte eden bağımsız faktörler olarak saptandı. Ki-67'nin %20 üzerinde olması pCR açısından sınırdaki anlamlılık göstermekteydi. Luminal tip meme kanserinde pCR sağlanması DFS ve OS için istatistiksel olarak anlamlı bir prognostik gösterge değildi. Luminal tip meme kanserinde NAK yanıtını predikte eden faktörleri saptamak için daha yüksek hasta sayıları ile daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etik Kurul Onayı: Çalışma, hastanemiz girişimsel olmayan klinik araştırmalar etik kurulu tarafından

onaylanmış ve Helsinki Bildirgesine göre etik ilkelere uygun olarak yürütülmüştür (etik kurul izin tarih/numara: 02.10.2019/225).

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma herhangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Declaration of Conflicting Interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: No financial support was received.

KAYNAKLAR

1. Siegel RL, Miller KD. Cancer statistics. CA: A Cancer J. Clin. 2020; 70(1): 7–30.
2. Cortazar P, Zhang L, Untch M, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. Lancet. 2014; 384(9938): 164–72.
3. Kim HS, Yoo TK, Park WC, Chae BJ. Potential Benefits of Neoadjuvant Chemotherapy in Clinically Node-Positive Luminal Subtype Breast Cancer. J Breast Cancer. 2019; 22(3): 412–24.
4. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, et al. Strategies for subtypes— dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. Ann Oncol. 2011; 22(8): 1736–47.
5. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. J Clin Oncol. 2012; 30: 1796-804.
6. Alba E, Calvo L, Albanell J, et al. Chemotherapy (CT) and hormonotherapy (HT) as neoadjuvant treatment in luminal breast cancer patients: results from the GEICAM/2006-03, a multicenter, randomized, phase-II study. Ann Oncol. 2012; 23: 3069-74.
7. Schott AF, Hayes DF. Defining the benefits of neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. J Clin Oncol. 2012; 30(15): 1747-9.
8. National Comprehensive Cancer Network (NCCN). NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Breast Cancer. Version 3. 2023.
9. Kaufmann M, von Minckwitz G, Bear HD, et al. Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: new perspectives 2006. Ann Oncol. 2007; 18: 1927–34.
10. Mamounas EP. Neoadjuvant chemotherapy in operable breast cancer. Breast Care. 2006; 1: 348–51.
11. Koolen BB, Valde's Olmos RA, Wesseling J, et al. Early Assessment of Axillary Response with 18F-FDG PET/CT during Neoadjuvant Chemotherapy in Stage II–III Breast Cancer: Implications for Surgical Management of the Axilla. Ann Surg Oncol. 2013; 20(7): 2227–35.
12. Liu C, Jiang Y, Gu X, et al. Predicting level 2 axillary lymph node metastasis in a Chinese breast cancer population post-neoadjuvant chemotherapy: Development and assessment of a new predictive nomogram. Oncotarget. 2017; 8(45): 79147–56.
13. Del Prete S, Caraglia M, Luce A, et al. Clinical and pathological factors predictive of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: a single center experience. Oncol Lett. 2019; 18(4): 3873–79.
14. Reddy Kunnuru SK, Thiyagarajan M, Daniel JM, Balaji Singh K. A Study on Clinical and Pathological Responses to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Carcinoma. Breast Cancer (Dove Med Press). 2020; 12: 259-66.
15. Resende U, Cabello C, Ramalho SOB, Zeferino LC. Prognostic assessment of breast carcinoma submitted to neoadjuvant chemotherapy with pathological non-complete response. BMC Cancer. 2019; 19: 601.
16. Penault-Llorca F, Cayre A, Bouchet MF, et al. Induction chemotherapy for breast carcinoma: predictive markers and relation with outcome. Int J Oncol. 2003; 22: 1319–25.
17. Beresford MJ, Stott D, Makris A. Assessment of clinical response after two cycles of primary chemotherapy in breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2008; 109: 5.

18. Petit T, Wilt M, Velten M, et al. Comparative value of tumour grade, hormonal receptors, Ki-67, HER-2 and topoisomerase II alpha status as predictive markers in breast cancer patients treated with neoadjuvant anthracycline-based chemotherapy. *Eur J Cancer*. 2004; 40: 205–11.
19. Denkert C, Loibl S, Müller BM, et al. Ki-67 levels as predictive and prognostic parameters in pretherapeutic breast cancer core biopsies: a translational investigation in the neoadjuvant Gepar-Trio trial. *Ann Oncol*. 2013; 24(11): 2786–93.
20. Kim KI, Lee KH, Kim TR, Chun YS, Lee TH, Park HK. Ki-67 as a predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *J Breast Cancer*. 2014; 17: 40-6.
21. Caudle AS, Yu TK, Tucker SL, et al. Local-regional control according to surrogate markers of breast cancer subtypes and response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients undergoing breast conserving therapy. *Breast Cancer Res*. 2012; 14: R83.
22. Tan MC, Al Mushawah F, Gao F, et al. Predictors of complete pathological response after neoadjuvant systemic therapy for breast cancer. *Am J Surg*. 2009; 198: 520-25.
23. Phung HT, Nguyen HT, Van Nguyen T, Van Nguyen T, Thi Dinh LA, Van Nguyen C. Pathological complete response with neoadjuvant trastuzumab combined with Chemotherapy in HER2 positive breast cancer: a single institution retrospective analysis from vietnam. *Breast Cancer*. 2020; 12: 117–22.
24. Swain SM, Ewer MS, Viale G, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and standard anthracycline- and taxane-based chemotherapy for the neoadjuvant treatment of patients with HER2-positive localized breast cancer (BERENICE): a phase II, open-label, multicenter, multinational cardiac safety study. *Ann Oncol*. 2018; 29(3): 646-53.
25. Lee H, Lee DE, Park S, et al. Predicting Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Patients With Breast Cancer: Combined Statistical Modeling Using Clinicopathological Factors and FDG PET/CT Texture Parameters. *Clin Nucl Med*. 2019; 44(1): 21-9.
26. Li Y, Zhang J, Wang B, Zhang H, He J, Wang K. A nomogram based on clinicopathological features and serological indicators predicting breast pathologic complete response of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Sci Rep*. 2021; 11(1): 11348.
27. Ferreira R, Kneubil MC, Brollo J, et al. Evaluation of clinical and pathological response factors to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Mastology*. 2021; 31: 1-9.
28. Shohdy KS, Almeldin DS, Fekry MA, et al. Pathological responses and survival outcomes in patients with locally advanced breast cancer after neoadjuvant chemotherapy: a single-institute experience. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*. 2021; 33(1): 39.
29. Fisher B, Bryant J, Wolmark N, et al. Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J Clin Oncol*. 1998; 16: 2672–85.



Tofacitinib Kullanımı Sonrası Gelişen İyatrojenik Kaposi Sarkomu Olgusu

Ezgi Sanlı ^{ID}¹, Hasan Fidan ^{ID}¹, Mehmet Çağlayan ^{ID}², Selver Özşener Özekinci ^{ID}³, Derya Uçmak ^{ID}¹

1 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

2 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Ftr Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

3 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

Geliş: 18.08.2022; Revizyon: 17.04.2023; Kabul Tarihi: 25.04.2023

Öz

Kaposi sarkomu anjioproliferatif bir hastalık olup, dört klinik subtipi vardır: Kaposi sarkomunun; klasik, endemik (Afrika tipi), epidemik (AIDS ilişkili) ve iyatrojenik tip olmak üzere. İyatrojenik Kaposi sarkomu organ transplantasyonu yapılan hastalarda ilk olarak tanımlanmıştır. Daha az sıklıkla romatolojik, hematolojik ve pulmoner hastalık için immünsüpresif tedavi alımına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Sistemik steroid, azatioprin, siklosporin, siklofosamid, mikofenolat mofetil, leflunomid, metotreksat ve diğer oral immunsüpresif ilaçların kullanımı ile bildirilen iyatrojenik Kaposi sarkomu olguları mevcuttur. İmmunsüpresif tedavi alan tüm hastalarda Kaposi sarkomunun olabileceği göz önüne alınmalıdır. Tofacitinib romatoid artrit tedavisi için kullanılan oral janus kinaz inhibitörüdür. Spesifik olarak JAK'lara karşı geliştirildiği için hedefe yönelik sentetik "hastalık modifiye edici ilaç" olarak adlandırılır. Hastamız romatoid artrit tedavisi için tofacitinib kullanımı sonrası gelişen iyatrojenik Kaposi olgusudur. Tofacitinib ile malignitenin potansiyel riskinin olduğu bilincine varılarak hastalar yakın takip edilmelidir.

Anahtar kelimeler: Tofacitinib, İyatrojenik, Kaposi

A Case of Iatrogenic Kaposi's Sarcoma Developed After Tofacitinib Use

Abstract

Kaposi's sarcoma is an angioproliferative disorder, with four subtypes: classic, epidemic (AIDS related), endemic (African), and iatrogenic. Iatrogenic Kaposi's sarcoma was first described among organ transplant recipients. It has been reported less frequently during immunosuppressive therapy for a variety of clinical disorders such as rheumatologic disease, hematologic disease and pulmonary disease. It has been reported with use of systemic corticosteroids, azathioprine, cyclosporin, cyclophosphamide, mycophenolate mofetil, leflunomide, and methotrexate and other oral immunosuppressive agents. KS must be taken into account for all cases of patients undergoing immunosuppressive therapy. Tofacitinib is an oral Janus Kinase inhibitor for the treatment of rheumatoid arthritis. Specifically for development targeted against JAKs, it is called as synthetic "disease modifying drug". The patient who we will present is a case of iatrogenic Kaposi's sarcoma that developed after the use of tofacitinib for the treatment of rheumatoid arthritis. Patients should be closely with the understanding of potential malignancy risks associated with tofacitinib.

Keywords: Tofacitinib, Iatrogenic, Kaposi

DOI: 10.5798/dicletip.1313431

Correspondence / Yazışma Adresi: Ezgi Sanlı, Dicle Üniversitesi Dermatoloji Anabilim Dalı Diyarbakır, Türkiye e-mail: ezgisanli2102@gmail.com

GİRİŞ

Kaposi sarkomu, genellikle deriyi tutan multisentrik anjioproliferatif hastalık olup, 1872 yılında ilk defa Moritz Kaposi tarafından tanımlanmıştır¹. Kaposi sarkomunun tanımlanmış 4 klinik tipi bulunmaktadır. Bunlar; klasik, endemik (Afrika tipi), epidemik (AIDS ilişkili), iyatrojenik (transplantasyon ilişkili) Kaposi sarkomu şeklidir. İyatrojenik Kaposi sarkomu ilk kez organ transplantasyonu yapılan hastalarda tanımlanmışken daha az sıklıkla romatolojik, hematolojik ve pulmoner hastalık için immünsüpresif tedavi alımına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır². Literatürde birçok hastalık için steroidlerin tek başına uzun süreli kullanımı veya azatioprin, siklosporin, mikofenolat mofetil, leflunomid, metotreksat gibi ilaçlarla kombine kullanımına bağlı gelişen vakalar mevcuttur^{3,4}. Yaptığımız literatür taramalarında dermatolojide biyolojik ilaç kullanımı sonrası gelişen 12 adet kaposi sarkomu bildirilirken, tofacitinib kullanımına bağlı uluslararası bildirilen tek olguya rastladık⁵. Burada sunduğumuz olgumuz romatoid artrit için tofacitinib kullanımına bağlı olduğunu düşündüğümüz yurt içinden bildirilen ilk olgudur.

OLGU

72 yaşında kadın hastanın, kliniğimize başvurudan yaklaşık 1-2 ay önce sağ bacak ön yüzde diffüz yerleşim gösteren morumsu renkte kabarık geniş plak ve dağınık yerleşimli nodüller (Resim 1), sırtta çok sayıda değişik boyutlarda keskin sınırlı, mor renkli papüller tespit edildi. Ayrıca gövdede yaklaşık 3-4 ay önce başlamış olan değişik lokalizasyonlarda dağınık yerleşim gösteren çapları 10 cm'e kadar varabilen kenarları eritemli skuamlı ortası daha soluk 3-4 adet halkasal plakları mevcuttu (Resim 2). Kan biyokimyasında glukoz yüksekliği dışında rutin laboratuvar testleri normal değerlerde idi. Tam kan sayımı ve yapılan periferik yayması normaldi. HIV yönünden bakılan test

negatif saptandı. Batın ultrasonografisi, toraks ve batın tomografisi normal değerlendirildi. Hastanın anamnezinde 10 yıldır romatoid artrit hastası olduğu ve yaklaşık 4 yıldır 8 mg/gün sistemik steroid ve 10 mg/hafta metotreksat kullandığı fakat şikayetleri düzelmediği için son bir yıldır tedavisine 10 mg/gün tofacitinib oral tablet eklendiğini öğrendik. Hastamız tofacitinib tedavisinden sonra lezyonlarının oluştuğu ve tedavi devam ettikçe sayısının arttığını belirtiyor. Özgeçmişinde üç yıldır diabeti olan hastanın bunun için düzensiz ilaç kullanımı öyküsü mevcuttu. Plak lezyondan alınan 0,4 cm deri punch biyopsisinin histopatolojik incelemesinde tüm dermisi dolduran, bir kısmı yarık şeklinde, değişik büyüklükte damarlardan oluşmuş tümör izlendi (Resim 3). İmmünohistokimya çalışmada HHV8 ve CD31 pozitif boyandı ve Kaposi sarkomu tanısı aldı (Resim 4, 5). Gövdedeki halkasal lezyondan yapılan potasyum hidrosit bakısında mantar elemanları pozitif olarak saptandı. Halkasal lezyonlarına iki hafta topikal antifungal tedavi önerildi ve tamamen düzelmeye gözlemlendi. İlk planda kullandığı sistemik steroid ve metotreksat tedavisi azaltılarak kesilirken sadece tofacitinib kullanımına devam edildi. Kaposi sarkomu yönünden yapılan incelemede sistemik tutulum saptanmayan hastanın lokalize lezyonlarına günde iki kez topikal timolol solüsyon uygulandı. Hastanın lezyonlarının iki aylık takiple gerilemediğini hatta arttığını gözlemledik. Radyasyon onkolojisinden alınan görüş sonrası hastaya timolole ek olarak lokalize radyoterapi tedavisi başlandı. Hasta sağ pretibial, sağ bacak lateral, sağ bacak mediali olmak üzere 3 volüm olarak 300X10 radyoterapi almıştır. Topikal timolol ve radyoterapi kullanımına rağmen lezyonları düzelmeyen aksine artan hasta tekrar değerlendirildi. Steroid ve metotreksat tedavisi kesilen sadece tofacitinib tedavisi devam edilen hasta tofacitinib kullanımının neden olduğu

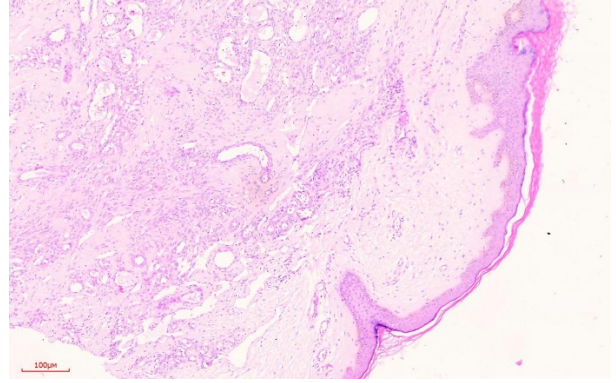
iatrojenik kaposi sarkomu olduğu düşünülerek tofacitinib tedavisi kesildi. Tofacitinib tedavisi kesildikten 1,5 ay sonra lezyon yayılımı belirgin şekilde yavaşlayan hastamızın takibi hala devam etmektedir. Sonraki takibinde romatoid artriti oldukça şiddetli seyreden hastaya yeniden 4 mg/gün prednol tedavisi yeniden başlandı. Belli aralıklarla romatoloji ve dermatolojide takibi yapılmaktadır.



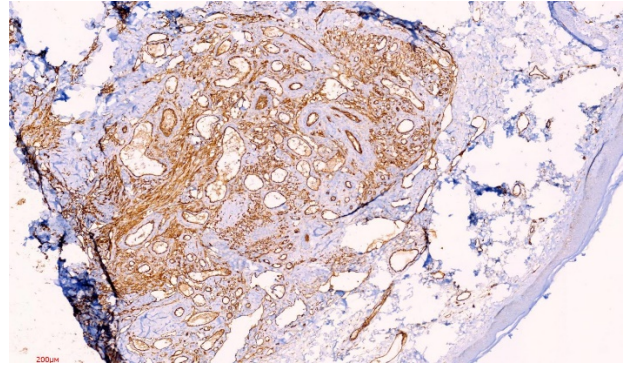
Resim 1. Sağ bacak ön yüzde diffüz yerleşim gösteren morumsu renkte plak ve dağınık yerleşimli nodüller



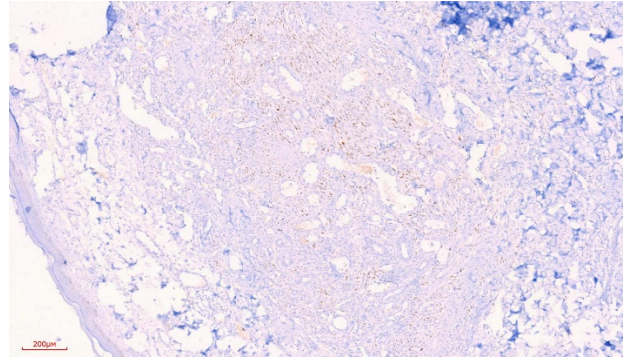
Resim 2. Sağ üst bacak lateralinde 10 cm çapında yuvarlak, kenarları daha belirgin plak



Resim 3. 100x, H&E boyama, dermiste tümör



Resim 4. 100x, İmmünohistokimya CD31, endotel hücrelerinde ve tümörde pozitif



Resim 5. 100x, İmmünohistokimya HHv8, tümör hücre çekirdeklerinde pozitif

TARTIŞMA

Kaposi sarkomu iç organ tutulumu ile seyredabilen, deri lezyonları ile prezente olan sistemik tutulumu olabilen, malign ve multifaktöriyel kökenli bir hastalıktır. Çoğunlukla lezyonlar asemptomatiktir ve lezyonların rengi değişik tonlarda karşımıza çıkabilmektedir. Lezyonlar kahverengi kırmızı olabileceği gibi

morumsu siyah renkli yama, plak ve nodüller şeklinde izlenebilmektedir².

Literatürde sistemik steroid, siklosporin ve oral immunsupresif ile bildirilen çok sayıda vaka bildirimleri mevcuttur³. Romatoid artritli hastada immunsupresyon, steroid ve anti-TNF tedavinin kombinasyonuna bağlı vaka bildirimi de mevcuttur². Sunduğumuz olgu steroid, metotreksat ve tofacitinib kullanımı sonucu gelişen ancak steroid ve metotreksat kesilmesine rağmen gerilemeyen, sadece tofacitinib kullanımı sonucu iatrojenik Kaposi sarkomu gelişen yurtiçinden bildirilen ilk olgudur. İnfliksımab kullanımı sonrası beş olgu, adalimumab üç, golimumab bir, vedolizumab iki, sertolizumaba bağlı bir adet olgu bildirilmiştir⁶⁻⁸. Ayrıca diabetes mellitus, immunsupresyon ve steroid kullanımı sonucu dermatofit enfeksiyonlarının daha yaygın ve şiddetli seyretmesine neden olmaktadır⁹. Dermatofit prevalansı, bağışıklığı baskılanmış bireylerde yüksektir¹⁰. Mikrosirkülasyon üzerindeki etkileri nedeniyle diyabet, onikomikotik dermatofit riskini artırır¹¹. Hastamızda da hem diabetes hem de immunsupresyona bağlı mikotik enfeksiyon tablosu mevcuttu. Hastamıza uygulanan antimikotik tedavi sonrasında lezyonları geriledi.

Kaposi sarkomunda tedavinin amacı semptomların şiddetini azaltmaktır, tümörlerin küçülmesini sağlamaktır ve hastalığın ilerlemesini önlemektir. Bununla birlikte bu amaçları tek başına sağlayabilmek çok zordur. Klasik Kaposi sarkomunda lokal ve sistemik tedaviler tek başına veya birlikte kullanılabilir¹². Kaposi sarkomunun tedavisinde cerrahi, radyoterapi, elektron demet tedavisi, kemoterapi ve intralezyoner interferon alfa veya vinblastin kullanılmaktadır¹³. Hastalığın tedavisinde uygulanan lokal tedavi yöntemleri şunlardır. Cerrahi, radyoterapi, intralezyoner tedaviler, kriyoterapi ve lazer şeklindedir. Bununla birlikte topikal olarak alitretinoin, imiquimod, rapamisin, timolol, propranolol, gümüş nitrat

uygulanabilir¹⁴. KS tedavisinde topikal tedavi ajanları da tercih edilebilir, ancak bu tedaviler hakkındaki yayınlar kısıtlıdır. Topikal yöntemler için ideal hastalar, az sayıda lezyonu olan ya da küçük alana sınırlı olduğu hastalardır. Ayrıca kemoterapi/radyoterapinin yan etkilerinin istenmediği veya yan etkileri tolere edemeyecek olan hastalara uygulanabilir¹⁵.

İmmunsupresiflerin indüklediği Kaposi sarkomunun prognozu öngörülemezdir. Vakaların yarısında tedavi kesilince lezyonlar gerilerken, yarısında progresse olabilmektedir^{2,3}. Bazen immunsupresifin azaltılması ya da kesilmesi lezyonların gerilemesine yardımcı olmamaktadır. Bu durumda topikal timolol etkili, ağrısız, basit ve ucuz bir seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır. Literatürde şimdiye kadar on vakaya denenmiş olup remisyon süreleri 4-24 ay arasında değişmekteydi. Hastalar 45-75 yaş aralığındaydı. Lezyonlar hastalarda vücudun farklı bölgelerinde plak veya nodül şeklinde izlenmekteydi³. Biz de hastamızda immunsupresyon olması ve sınırlı lezyonları olması nedeniyle ilk planda yan etkisi az olan timolol tedavisi başladık. Romatoloji konsültasyonu önerisiyle sistemik steroid ve metotreksat tedavini kesilen hastanın, romatoid artrit kontrolü için tek başına tofacitinib tedavisi ile devam edilirken lezyonları gittikçe artınca, tofacitinibe bağlı Kaposi sarkomu düşündük ve tofacitinib kesilerek takip ettik. Hastada belirgin düzelme saptadık.

Tofasitinib oral Janus kinaz inhibitörüdür. Orta ya da şiddetli romatoid artrit hastalarında kullanılmaktadır. Günde iki kez 5 mg/gün şeklinde, biyolojik konvansiyonel hastalık modifiye edici ilaç ile birlikte ya da tekli olarak kullanıldığında etkili ve güvenli olduğu birçok randomize kontrollü çalışmalarda ispatlanmıştır. Mayıs 2015 tarihinden itibaren ülkemizde itibaren romatoid artrit tedavisinde endikasyon almıştır¹⁶.

Hedefe yönelik sentetik hastalığı modifiye eden bu etkili ajan ile malignitenin potansiyel riskinin

olduğu bilincine varılarak hastalar takip edilmelidir. Bu sarkomun nadir fakat ciddi olduğu bilinerek hastalar yakın izlenmelidir. Son yıllarda dermatoloji ve romatoloji alanında sık kullanıma giren ve her geçen gün de sayısı artan bu biyolojik ve biyolojik dışı hastalık modifiye edici ajanları alan hastaların malignite yönünden takibinin daha sık yapılmasını önermekteyiz.

Onam Formu: Hastanın klinik bilgilerinin alınması ve yayınlanması için hastadan bilgilendirilmiş onam formu imzalı olarak alınmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma herhangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Declaration of Conflict of Interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: No financial support was received.

KAYNAKLAR

1. Gümüştay Ö, Arslan Şen T, Alıcı Ö, et al. HIV Negatif Olguda Skrotal Kaposi Sarkomu. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2015;7(3):241-5.
2. Czop BB, Wcisto LB, Kolanko M. İatrojenik Kaposi's sarcoma following therapy for rheumatoid arthritis. *Adc Dermatol Allergol*. 2016; XXXIII(2):149-51.
3. Lopez BE, Barrales CC, Rodriguez LS, Villaverde RR. İatrojenik Kaposi's Sarcoma succesfully treated with topical timolol. *Actas Dermosifiliorg*. 2020;111:176-8.
4. Baykal C, Atci T, Buyukbabani N, Kutlay A. The Spectrum of Underlying Causes of İatrojenik Kaposi's Sarcoma in a Large Series: A Retrospective Study. *Indian J Dermatol*. 2019;64(5):392-9.
5. Wetwittayakhlang P, Golovics AP, Afif W, Bessissow T, Lakatos PL. Tofacitinib-Associated İatrojenik Kaposi Sarcoma in a Patient With Ulcerative Colitis. *ACG Case Rep J*. 2021;8(11):e00678.
6. Mariappan A, Desai S, Locante A, et al. İatrojenik Kaposi Sarcoma Precipitated by Anti-Tumor Necrosis Factor-Alpha (Anti- TNF- α) Therapy. *Cureus*. 2021;13(2):e13384.
7. Papa V, Giustiniani MC, Lopetuso LR, Papa A, Human herpesvirus 8-associated colonic Kaposi's sarcoma during vedolizumab treatment in ulcerative colitis: a case report and review of the literature. *BMC Gastroenterol*. 2020;20:76.
8. Ajao SO, Jayasingam R, Shaaban H. İatrojenik Kaposi's sarcoma unmasked by Vedolizumab in a patient with ulcerative colitis and well-controlled human immunodeficiency virus: A case report. *Int J Crit Illn Inj Sci*. 2021;11:177-80.
9. Başak PY, Çetin ES, Yılmaz S, Akkaya VB. Diabetes Mellitus ve Psoriasisli Bir Olguda Microsporum audouinii'ye Bağlı Gelişen Tinea Korporis. *Türk Dermatoloji Dergisi*. 2009;3:47-9.
10. Gupta AK, Taborda P, Taborda V, et al. Epidemiology and prevalence of onychomycosis in HIV-positive individuals. *Int J Dermatol*. 2000;39:746-53.
11. Gupta AK, Konnikov N, MacDonald P, et al. Prevalence and epidemiology of toenail onychomycosis in diabetic subjects: a multicentre survey. *Br J Dermatol*. 1998;139:665-71.
12. Atalay C, Yılmaz KB, Karaman N, Altınok M. Klasik Kaposi Sarkomunda Tedavi. *Erciyes Tıp Dergisi*. 2007;29(2):128-31.
13. Ersoy Evans S, Şahin S. Kaposi Sarkomu. *Türkiye klinikleri J Int Med Sci*. 2007;3:22.
14. Brenner B, Rakowsky E, Katz A, et al. Tailoring treatment for classical Kaposi's sarcoma: comprehensive clinical guidelines. *Int J Oncol*. 1999;14:1097-02.
15. Özkoca D, Aşkın Ö, Serdaroğlu S. Kaposi sarcoma. *Dermatoz*. 2019;10(4):103-6.
16. Yayla ME, Şahin D, Torgutalp M, et al. Romatoid Artritli Hastalarda Tofacitinib: Tek Merkez Deneyimi Romatoid Artrit ve Tofacitinib. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*. 2020;73(1):20-5.



Granümatöz Polianjitis ve İnflamatuvar Miyozit Birlikteliği: Bir Olgu Sunumu

Derya Yıldırım¹, Fatma Sıla Eroğlu¹, Hamit Küçük¹, Hazan Karadeniz¹

1 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

Geliş: 05.12.2022; Revizyon: 17.05.2023; Kabul Tarihi: 25.05.2023

Öz

Granümatöz polianjitis (GPA, eski adıyla Wegener granümatozisi), en sık üst ve alt solunum yolları ile böbrekleri etkileyen bir hastalıktır. Orta ve küçük çaplı damarlarda nekrotizan vaskülit ve granümatöz inflamasyon ile karakterizedir. GPA seyri esnasında birçok organda granülomlar veya vaskülit görülebilir, hastalığın tuttuğu organa özgü semptomlar ortaya çıkar.

İdiyopatik inflamatuvar miyopatiler (IIM) tanısı geleneksel olarak iskelet kası zayıflığı kliniği ile elektromiyografide spesifik bulgular (spontan fibrilasyonlar, keskin pozitif dalgalar, düşük güçlü/kısa süreli polifazik motor üniteler), kas enzimlerinin yüksek serum seviyeleri ve kas biyopsisinde karakteristik histopatolojik değişikliklerle konulan inflamatuvar hastalıklardır. Miyozit ile ilişkili ve miyozite spesifik otoantikolar ve manyetik rezonans görüntülemesi (MRI), tanıyı desteklemek için giderek daha fazla kullanılmaktadır. IIM'nin alt türleri şunları kapsar: polimiyozit (PM), dermatomiyozit (DM), inklüzyon cisimciği miyoziti (IBM) ve immün aracılı nekrotizanmiyopati (IMNM).

Romatolojik hastalıklarda ortak otoimmün yolakların bulunması sebebiyle ko-insidansa sık rastlanılmaktadır. Ancak küçük damar vaskülit ile inflamatuvar miyozit birlikteliği sık rastlanan bir durum değildir. Bu yazıda, kliniğimizde takip edilen granümatöz polianjitis ve sonradan gelişen inflamatuvar miyozit birlikteliği olgusu sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Granümatöz Polianjitis, İdiyopatik İnflamatuvar Miyozit, koinsidans

Granulomatosis with Polyangiitis and Inflammatory Myositis: A Case Report

Abstract

Granulomatosis with polyangiitis (GPA, formerly known Wegener's granulomatosis) is a disease that mostly affects the upper and lower respiratory tract and kidneys. It is characterized by small to medium vessel necrotizing vasculitis with granulomatous inflammation. Granulomas or vasculitis can be seen in many organs during the course of GPA, and symptoms may occur specific to affected organs.

Idiopathic inflammatory myopathies (IIM) are inflammatory diseases that are traditionally diagnosed by the clinic with skeletal muscle weakness, specific findings in electromyography (spontaneous fibrillations, positive sharp waves, low-amplitude/short-duration polyphasic motor potentials), elevated muscle enzymes, and characteristic histopathological findings in skeletal muscle specimens. Myositis-specific and myositis-associated autoantibodies, and magnetic resonance imaging (MRI) are also increasingly being used to support the diagnosis. IIM includes these subtypes: polymyositis (PM), dermatomyositis (DM), inclusion body myositis (IBM), and immune-mediated necrotizing myopathy (IMNM).

Collaboration of autoimmune diseases is an expected clinical condition due to similar immunologic pathways. However, the coexistence of the small vessel vasculitis and inflammatory myositis is rare. Here, we present a case report of a patient with granulomatous polyangiitis who subsequently developed inflammatory myositis.

Keyword: Granulomatosis with Polyangiitis, Idiopathic Inflammatory Myositis, coincidence.

DOI: 10.5798/dicletip.1313436

Correspondence / Yazışma Adresi: Fatma Sıla Eroğlu, Emniyet, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı Ankara, Türkiye e-mail: fatmasilaeroglu.md@gmail.com

GİRİŞ

Granülamatöz polianjitis (GPA), ya da önceki adıyla Wegener granüloatozisi (WG), nadir görülen, farklı organ sistemlerini etkileyerek nekroz, granülamatöz inflamasyon ve vaskülit ile sonuçlanan bir multi-sistem hastalığıdır. Uluslararası Chapel Hill Konsensus Konferansı (CHCC) vaskülit sınıflandırmasına göre antinötrofil sitoplazmik antikor (ANCA) ilişkili küçük ve orta çaplı damar vaskülitini kabul edilen GPA, en sık üst ve alt solunum yolları ile böbrekleri etkilemektedir¹.

GPA'nın prevalansı, Amerika Birleşik Devletleri için her 100.000 kişide 3.1 ile 9.1 olgu arası şeklinde bildirilmiş olmakla beraber, daha güncel bir çalışmada prevalansın (100.000'de 21.8 olgu) ve yıllık insidansın (100.000'de 1.3 olgu) daha önceye göre arttığı gösterilmiştir².

İdiopatik inflamatuvar miyopatiler (IIM), bir diğer ismiyle miyozitler, otoimmün hastalıkların heterojen bir grubu olup klinik prezentasyonları, tedaviye olan yanıtları ve prognozları çeşitlilik gösterir³. Miyozitler; sistemik lupus eritematozus (SLE), sistemik skleroz (SSc; skleroderma), mikst konnektif doku hastalığı (MCTD), ve daha az sıklıkla romatoid artrit (RA) ve Sjögren sendromu (SS) gibi başka bir romatolojik hastalığa eşlik edebilirler^{4,5}. Kas tutulumu, subklinik ya da hafif seyirli olabilir. Kas tutulumlarında kreatin kinaz (CK) düzeylerinde hafif yükselme görülebilir ve bazen bu durum, kas tutulumunun tek göstergesi de olabilir.

Sonuçta, otoimmün hastalıklara inflamatuvar miyozit eşlik etmesi beklenen bir durumken vaskülitlere eşlik etmesi pek olağan değildir. Burada, üst ve alt solunum sistemi semptomları ile inflamatuvar miyoziti bulunan bir GPA olgusu sunulmaktadır.

OLGU

Hastanın klinik bilgilerinin alınması ve yayınlanması için hastadan bilgilendirilmiş onam formu imzalı olarak alınmıştır.

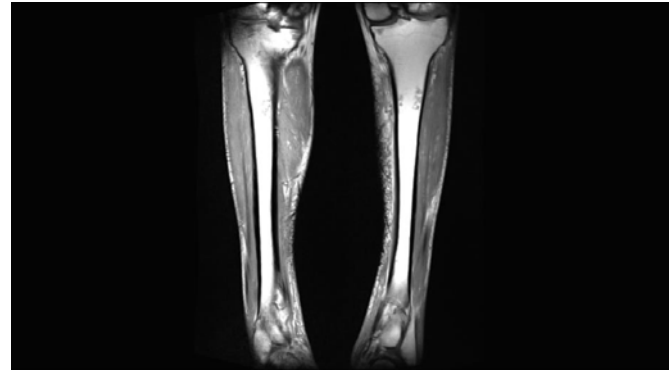
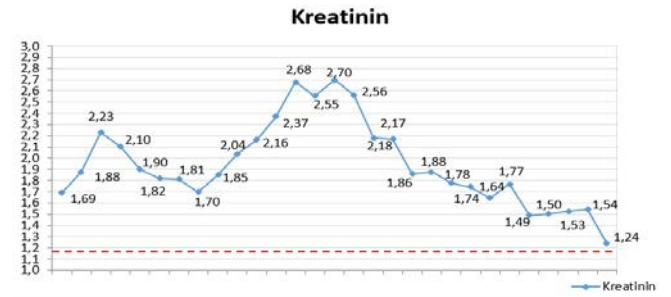
53 yaşında erkek hasta, klinik olarak pretibial ödem, hematüri ve proksimal kas güçsüzlüğü şikayetleri ile kliniğimize başvurdu. 3 yıl önce fokal nekrotizan glomerülo nefrit ve trakeobronşial tutulum ile Uluslararası Chapel Hill Konsensus Konferansı (CHCC) vaskülit sınıflamasına göre GPA tanısı alan hasta, mikofenolat mofetil 2 gram/gün tedavisi ile takip edilmekteydi. Femur başında gelişen aseptik nekroz sebebiyle prednizolon kullanımına devam etmiyordu. Başvurusu esnasında idrar renginde koyulaşma, bacaklarda ödem, ateş, halsizlik gibi konstitusyonel semptomları ve bacaklarda güçsüzlük şikayeti mevcuttu. Fizik muayenesinde alt ekstremitelerde 3/5 motor güç kaybı ile bilateral gastroknemius ve tibialis anterior kaslarında hassasiyet mevcuttu. Ateşi 39,5 o C, tansiyon arteriyel: 160-80, nabız: 96, solunum sayısı 24'tü. Solunum sesleri doğal olan hastanın pretibial ödemi 4+ ve Homans bulgusu pozitif. Laboratuvar değerlendirmelerinde glomerüler filtrasyon oranı düşük, proteinüri artmış ve kas enzimleri belirgin yüksekti (Tablo 1). İdrar sedimentinde akantositler ve fragmanite eritrositler mevcuttu. Doppler ultrason değerlendirmede alt ekstremitelerde herhangi bir düzeyde venöz obstrüksiyon izlenmedi. Krural manyetik rezonans görüntüleme (MRI), her iki krural kaslarda da tüm fasiyal planlarda yaygın ödematöz görüntü ve efüzyon raporlandı (Resim 1). Ayrıca, subkutanöz adipoz doku ile yumuşak dokuda miyozit ile uyumlu ödem gösterildi. Sekonder olarak miyozite sebep olabilecek nedenler detaylıca değerlendirildi.

Hastanın, toksik sebeplerden miyozit yapan ilaçlar ve maddelerin hiçbirini (statin, kolşisin, hidrosiklorokin, alfa interferon, kokain, penisilin, propiltiourasil) kullanmadığı görüldü. Geçirmiş viral enfeksiyonu yoktu, HIV panelleri negatifti. Hastadan inflamatuvar miyozit için miyozit antikorları, miyozit spesifik otoantikor testleri, antinükleer antikor panelleri istendi. MR ile tutulumun en yoğun olduğu kas olan tibialis anterior kasından biyopsi alınması planlandı. Yapılan elektromiyografik incelemede (EMG), etkilenen kas grubunda motor nöropati rapor edildi. Antinükleer antikor pozitif; antisentetaz antikorları, anti-SRP antikorları, anti-Mi-2 antikorları, anti-MDA5 antikorları, anti-NXP-2 antikorları, anti-TIF-1 gama antikorları, anti-SAE antikorları, anti-HMGCR antikorları, anti-SM antikorları ve anti-Scl-70 antikorları ise negatifti. Patolojik incelemede, CD45 (LCA) immünohistokimyasal boyaması ile perimisyal dokudaki venüllerin etrafında inflamatuvar hücreler, perimisyal boşlukta ve kasların arasında ise lenfositler saptandı. Elektromiyografide miyopatik patern miyopatik motor ünite potansiyelleri ve fibrilasyon, spontan keskin dalgalar saptanan hastaya inflamatuvar miyozit tanısı konularak 20 mg/gün dozunda metil prednizolon başlandı. Hastanın kas güçsüzlüğü ve yürüme güçlüğü şikayetleri azaldı ancak semptomlarında tamamen kesilme olmadı. CK seviyesinde steroid kullanımına bağlı düşüş görüldü. Hastaya akut renal tutulum nedeniyle 4 günlük plazmaferez rejimini planlandı. Plazmaferezin ardından, renal fonksiyonlarda düzelme ile beraber kas semptomları da belirgin iyileşti. Plazmaferez sonrası kreatinin seviyeleri bazal seviyeye geriledi, idrar sedimenti takiplerde normalleşti ve proteinürisi 1 gram gün civarı stabil hale geldi. (Grafik 1) Hasta, 2 gram/ gün dozunda siklofosamid tedavisi 3 gram verilme planı ile taburcu edildi.

Tablo I: Hastanın laboratuvar değerleri

	Tanı dönemi	Atak zamanı	Tedavi sonrası
Kreatinin (mg/dL)	3,78	4,95	1,48
Kan üre azotu (BUN, mg/dL)	50	62	31
Proteinüri (24 saat, mg/gün)	2500	3000	1500
CRP (mg/L)	78	144	11
Sedimentasyon (mm/saat)	100	90	12
Kreatin kinaz (U/L)	23	720	62
ANA(IFA, titre, tip)	1+, nukleolar	1+, nukleolar	yapılmadı
ENA profili	negatif	negatif	negatif
ANCA (IFA,tip)	2+, PR-3	3+PR-3	yapılmadı
Antids DNA	negatif	negatif	negatif
AFAS antikorları	negatif	negatif	negatif
C3(mg/dL)	62	60	110
C4(mg/dL)	11,2	10	38,2

C: kompleman, ANA: antinükleer antikor, ANCA: anti nötrofil sitoplazmik antikor, CRP: C reaktif protein, ENA: ekstraktabl nukleer antijen, IFA: immunfloresan antikor testi

**Resim 1:** Krural kasların Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI) ile oluşturulmuş lateral kesiti, inflamasyon ile uyumlu görünüm**Grafik 1:** Hastanın kreatinin düzeyleri

TARTIŞMA

GPA, küçük ve orta çaplı damar duvarlarında nekrotizan inflamasyon ve fibrinoid nekroz ile seyreden, bulunduğu dokuda nekrotizan granülomların da eşlik edebildiği bir vaskülitir. Hastalarda tipik olarak ateş, halsizlik, kilo kaybı

gibi spesifik olmayan genel semptomlar görülmektedir. Hastanın klinik bulguları etkilenen damar yatağına göre değişiklik göstermekle beraber, akciğerler ve böbrekler en sık tutulan yapılardır. Daha az yaygın olan komplikasyonlar içerisinde GPA enteriti/koliti, myokardit, perikardit; alt genitoüriner sistem, parotis bezi, tiroid, karaciğer ya da meme tutulumları sayılabilir^{6,7}.

Hastalıkta birlikte immunsupresif kullanımı, özellikle de steroid kullanımı ile beraber dokümanite kas güçsüzlüğü yaygın olarak görülmüş ve raporlanmıştır⁸. Ancak inflamatuvar miyozit birlikteliği aynı sıklıkta değildir. Bu hastalıkta görülen inflamasyon, damarların yanı sıra kas gibi çeşitli bağ doku komponentlerini de etkileyebilmektedir. Bunun bir örneği, hastaların yaklaşık yüzde 50'sinde oküler tutulumun bir parçası olan ekstraoküler kas miyozitidir^{9,10}. Her ne kadar inklüzyon cisimcikli miyozit gibi miyozitlerde distal tutulum da görülebilse de, tipik inflamatuvar miyozitler daha çok proksimal gövde kaslarını tutma eğilimindedir^{3,11}. Ancak, özellikle GPA gibi sistemik inflamatuvar hastalıklar ile birlikte olduklarında ekstraoküler kas miyoziti gibi atipik prezentasyonlar görülmektedir¹⁰. Bu vakada da distal kasların daha çok tutulmuş olması bu prezentasyonlara bir örnek olarak gösterilebilir. Daha önce vaka bildirim düzeyinde ANCA ile ilişkili vaskülit (AAV) ve inflamatuvar miyozit birliktelikleri gösterilmiştir. MPO antikor pozitif AAV ile ilişkilendirilen 4 vakadan 3'ünde MRI kas ödemi lehine pozitif bulgu göstermiştir¹²⁻¹⁴.

Bu vakalardan sadece Kim ve arkadaşlarının sunduğu vakada renal ve pulmoner tutulum olmakla beraber birinde kas dışında tutulum olmamış, diğer ikisinde ise sadece pulmoner fibrozis ile prezante olmuştur¹⁴. Kas biyopsi bulguları fibrinoid nekroz, perimisyal vaskülit ve nekrozitan granümatöz vaskülit olarak raporlanmıştır. Bizim biyopsi bulgularımız perimisyal vaskülit olarak gelişmiştir. 2 vakada

CK değerleri hiç yükselmemiş, diğer ikisinde 4-5 kat civarı seyretmiştir^{13,14}. Bizim hastamızın CK değerleri de maksimum 4 katına kadar çıkıp sonra gerilemiştir.

PR-3 ANCA pozitif olan iki vaka bildirimini daha mevcuttur^{15,16}. Bu vakalardan Akagi ve arkadaşlarının raporladığı vaka incelendiğinde renal tutulumu olan hastada MRI'da kas ödemi bulguları, CK değerlerinde 4-5 kata kadar yükselme ve biyopside arteriolde fibrinoid nekroz mevcuttu¹⁶. Vaka seyir ve yaş grubu olarak bizim hastamızla benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak, inflamatuvar miyozitlerin çeşitli otoimmün hastalıklarla birlikteliği beklenen bir durum olsa da, vaskülitlerle olan ilişkisi hakkında veriler oldukça sınırlıdır. Olgumuzda gözlemlediğimiz granümatöz polianjitise eşlik eden inflamatuvar miyozit, beklenmeyen bir bağ doku tutulumu olup, bu yönüyle literatüre katkısı önem taşımaktadır. Dolayısıyla vaskülit ve inflamatuvar miyozit ilişkisi ile ilgili ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Onam Formu: Hastanın klinik bilgilerinin alınması ve yayınlanması için hastadan bilgilendirilmiş onam formu imzalı olarak alınmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma herhangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Declaration of Conflicting Interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: No financial support was received.

KAYNAKLAR

1. Puéchal X. Granulomatosis with polyangiitis (Wegener's). Joint Bone Spine. 2020 Dec;87(6):572-578.
2. Berti A, Cornec D, Crowson CS, Specks U, Matteson EL. The Epidemiology of Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibody-Associated Vasculitis in Olmsted County, Minnesota: A Twenty-Year US Population-

- Based Study. *Arthritis Rheumatol.* 2017 Dec;69(12):2338–50.
3. Lundberg IE, Fujimoto M, Vencovsky J, et al. Idiopathic inflammatory myopathies. *Nat Rev Dis Primers.* 2021 Dec 2;7(1):86.
 4. Mahler M, Miller FW, Fritzler MJ. Idiopathic inflammatory myopathies and the anti-synthetase syndrome: A comprehensive review. *Autoimmunity Reviews.* 2014 Apr;13(4–5):367–71.
 5. Ozturk E, Kiter G, Cobankara V, Senel S, Yuncu G. Wegener Granulomatosis Accompanying Rheumatoid Arthritis: A Case Report. *Tur Toraks Der.* 2011 Jun 1;12(2):72–5.
 6. Comarmond C, Cacoub P. Granulomatosis with polyangiitis (Wegener): Clinical aspects and treatment. *Autoimmunity Reviews.* 2014 Nov;13(11):1121–5.
 7. Department of Imaging and Pathology, KU Leuven, Leuven, Belgium, Gadeyne L, Department of Pathology, University Hospitals Leuven, Leuven, Belgium, Henckaerts L, Department of Microbiology and Immunology, KU Leuven, Leuven, Belgium, Department of General Internal Medicine, University Hospitals Leuven, Leuven, Belgium, et al. Granulomatosis with polyangiitis with breast involvement mimicking metastatic cancer: Case report and literature review. *Eur J Rheumatol.* 2020 Jan 14;7(1):41–3.
 8. Dutcher JS, Bui A, Ibe TA, et al. ANCA-associated vasculitis and severe proximal muscle weakness. *Baylor University Medical Center Proceedings.* 2021 May 4;34(3):384–6.
 9. Almouhawis HA, Leao JC, Fedele S, Porter SR. Wegener's granulomatosis: a review of clinical features and an update in diagnosis and treatment. *J Oral Pathol Med.* 2013 Aug;42(7):507–16.
 10. Ismailova DS, Abramova JV, Novikov PI, Grusha YO. Clinical features of different orbital manifestations of granulomatosis with polyangiitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2018 Sep;256(9):1751–6.
 11. Dimachkie M, Barohn R. Inclusion Body Myositis. *Semin Neurol.* 2012 Nov 1;32(03):237–45.
 12. Department of Rheumatology, Hiroshima City Hiroshima Citizens Hospital, Hiroshima, Japan, Oiwa H, Kurashige T, Department of Neurology, National Hospital Organization Kure Medical Center/Chugoku Cancer Center, Japan. Muscle weakness as a presenting symptom in ANCA-associated vasculitis. *Eur J Rheumatol [Internet].* 2018 Jun 1 [cited 2023 Apr 17];5(2). Available from: <https://eurjrheumatol.org//en/muscle-weakness-as-a-presenting-symptom-in-anca-associated-vasculitis-133086>.
 13. Kim MY, Bae SY, Lee M, et al. A case of ANCA-associated vasculitis presenting with calf claudication. *Rheumatol Int.* 2012 Sep;32(9):2909–12.
 14. Nagiah S, Saranapala DMM. Severe proximal muscle weakness with normal CK as a presenting feature of ANCA-associated vasculitis. *BMJ Case Rep.* 2020 Jan;13(1):e232854.
 15. Ojima Y, Sawada K, Fujii H, et al. Anti-neutrophil Cytoplasmic Antibody-associated Vasculitis (AAV) Restricted to the Limbs. *Intern Med.* 2018 May 1;57(9):1301–8.
 16. Akagi T, Nishimura H, Mukai T, Morita Y. Necrosis of the gastrocnemius muscle in microscopic polyangiitis. *BMJ Case Reports.* 2018 Jan 26;bcr-2017-223585.