

# Trombosit-lökosit fonksiyonel etkileşiminin in-vitro koşullarda incelenmesi

*In-vitro evaluation of platelet-leucocyte functional interaction*

Ali Yakaryılmaz

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı  
Ankara

**Amaç:** Trombositler ve nötrofiller hemostatik ve inflamatuvar cevapların önemli hücreleridir. Nötrofillerin serbest oksijen radikalleri aracılığı ile doku faktörü üretimi ve trombosit aktivasyonunu düzenleyerek ateroskleroz ve tromboz patogeneğinde önemli rol oynayabileceği vurgulanmaktadır. Diğer yandan trombositlerin de inflamasyonda rolü olabileceği düşünülmektedir. Sunulan çalışmada sağlıklı genç erişkinlerden alınan kan örneklerinde trombosit-nötrofil fonksiyonel etkileşiminin in-vitro koşullarda araştırılması planlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** 19 ile 26 yaşları arasında, sağlıklı 14 erkek gönüllü çalışmaya alındı. Çalışmanın ilk aşamasında trombositten zengin plazmaya eklenen nötrofil süspansiyonunun impedans tekniği ile ölçülen hücreler arası agregasyona etkisi araştırıldı. İkinci aşamada trombinle inkübe edilen trombositlerden elde edilen süpernatantın nötrofil süspansiyonunda agregasyona ve kemiluminesansa etkisi araştırıldı. İmpedans tekniği kullanılarak değerlendirilen nötrofil agregasyonu ve lumi-agregometre kullanılarak nötrofil kemiluminesansı ölçüldü. Üçüncü aşamada N-formyl-L-methionyl-L-Leucyl-L-Phenylalanine (FMLP) ile uyarılan nötrofillerden elde edilen süpernatantın trombosit süspansiyonunda agregasyon ve ATP sekresyonu üzerine etkisi araştırıldı.

**Bulgular:** Çalışmanın ilk aşamasında yüzeye (elektrodlara) tutunmuş trombositlere nötrofil eklenmesinin agregasyon şiddeti üzerine etki göstermediği gözlemlendi. İkinci aşamada trombinle inkübe edilen trombositlerin sekretuar ürünlerinin nötrofil agregasyonunu azalttığı ( $p<0.05$ ), oysa nötrofil kemiluminesansını artırdığı ( $p<0.05$ ) saptandı. Çalışmanın üçüncü aşamasında FMLP ile uyarılan nötrofillerden elde edilen süpernatantın trombosit agregasyonu ve ATP sekresyonu üzerine etkisinin olmadığı saptandı.

**Sonuç:** Sunulan çalışma trombosit kökenli ürünlerin nötrofil fonksiyonlarını etkilediğini gösterdi. Çok basamaklı ve karmaşık bir süreç olan nötrofil aktivasyonunda bu ürünlerin rollerinin ayrı ayrı incelenmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: **Trombosit agregasyonu, trombosit sekresyonu, nötrofil agregasyonu, nötrofil kemiluminesansı.**

**Aim:** Platelets and neutrophils are effector cells of inflammation and hemostasis. It is emphasized that neutrophils regulate platelet activation in atherosclerosis and thrombosis pathogenesis by tissue factor and free oxygen radicals. On the other hand, platelets can play a role in inflammatory responses. In this study, we aimed to investigate the functional interaction between platelet and neutrophil.

**Materials and Methods:** 19 and 26 years old volunteer healthy men joined to the study. Platelet aggregation was measured by impedance technique and ATP secretion was measured by bioluminescence technique. In the first stage, the effect of neutrophil suspension added to platelet rich plasma on aggregation measured by impedance technique was investigated. In the second stage, neutrophil aggregation and chemiluminescence with the supernatant of thrombin pretreated-platelets are investigated. In third stage, platelet aggregation and ATP secretion with the supernatant of N-formyl-L-methionyl-L-Leucyl-L-Phenylalanine FMLP pretreated-neutrophils were investigated.

**Results:** No alteration in intensity of aggregation was observed in the first stage. Platelet supernatant increased neutrophil chemiluminescence ( $p<0.05$ ), but decreased neutrophil aggregation in the second stage ( $p<0.05$ ). Neutrophil supernatant had no effect on platelet aggregation and secretion in the third stage.

**Conclusion:** The present study demonstrated that platelet supernatant decreases neutrophil aggregation and increases chemiluminescence. The individual effect of all platelet products on neutrophil activation, which is a multi-step and complicated process, must be examined to understand the mechanisms.

Key words: **platelet, aggregation, secretion, neutrophil, chemiluminescence**

\*Dr. Ali Yakaryılmaz'ın uzmanlık tez çalışmasının özetidir. AÜ Araştırma Fonu 2001.08.09.064 kod nolu proje ile desteklenmiştir.

Geliş tarihi: 21.03.2005 • Kabul tarihi: 11.05.2005

Yazışma adresi

Ali Yakaryılmaz

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Tel : 0 533 6229884

E-mail : aliyakaryilmaz@yahoo.com

Trombositler ve nötrofiller doku yaralanmasındaki hemostatik ve inflamatuvar cevapların önemli hücreleridir. Miyokard infarktüsü, “stroke” ve Akut Respiratuvar Distres Sendromu (ARDS) gibi damar bozukluklarını içeren hemostatik ve inflamatuvar süreçlerde birlikte yer alırlar (1). Nötrofillerin serbest oksijen radikalleri aracılığı ile doku faktörü üretimi ve trombosit aktivasyonunu düzenleyerek ateroskleroz ve tromboz patogeneğinde önemli rol oynayabileceği vurgulanmaktadır (2,3). Diğer yandan trombositler inflamatuvar yanıtta rol alan araçlarından biri olarak kabul edilir. Trombosit kökenli çeşitli mediatörlerin (PF4, (TG) nötrofil kemotaksis ve fagositozunu indüklediği veya regüle ettiği öne sürülmektedir (4,5). Nötrofil-trombosit etkileşiminde çeşitli kimyasal araçların yanısıra kontakt faktörlerin de rol oynayabileceği öne sürülmektedir (6,7, 8,9). Sunulan araştırmanın amacı trombosit ve nötrofillerin fonksiyonel ilişkisi, buna aracılık eden mekanizmaların ve maddelerin aydınlatılmasına katkıda bulunmaktır. Bu amaçla aktif trombosit ve trombosit sekresyon ürünlerinin nötrofil agregasyonu ve kemiluminesansına etkileri ile aktif nötrofiller ve nötrofil ürünlerinin trombosit agregasyonu ve sekresyonu üzerine etkilerinin araştırılması planlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

**Denekler:** Çalışmaya 19 ile 26 (22,35±3,35yıl) yaşları arasında, sağlıklı 14 erkek gönüllü alındı. Deneklerin son 10 gün içinde trombosit fonksiyonlarını etkilediği bilinen bir ajana maruz kalmamış olmasına özen gösterildi. Gönüllülerin bilgilendirildiği ve onayının alındığını gösteren belge gönüllüler tarafından okunup imzalandı. Kan örnekleri: Hafif bir kahvaltıdan yaklaşık 2 saat sonra, saat 9-9:30 arası, deneklerin antekübital venlerinden 21G kelebek setiyle girilerek 50 cc kan 1:9 (antikoagülan:kan) oranında %3.8 Na sitrat içeren silikonize tüplere alındı. Deneklerin, lökosit, eritrosit, trombosit ve lenfosit sayıları ile hemoglobin ve hematokrit değerleri, Coulter T 890 tam kan sayımı cihazı ile değerlendirildi. Bu değerler ve tam kanda ADP ile indüklenen trombosit agregasyon değerleri normal sınırlarda olan kanla çalışıldı. Trombosit İzolasyonu: Trombositten zengin plazma (PRP) elde etmek için, kan 24 °C, 300xg hızda 15 dk santrifüje edildi. Elde edilen PRP, ADP (10µM, Chronolog Reagent) ile indüklenerek trombosit agregasyonu değerlendirildi. Normal agregasyonu olan deneklerde 1000µl PRP ayrılarak 5µl asetilsalisilik asit (ASA) eklenip oda sıcaklığında bekletilmeye alındı. Kalan PRP 1000xg hızda 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen trombosit pelleti modifiye “Hank’s Balanced Salt Solution” (mHBSS) (NaCl 137 mM, KCl 5.4 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.34 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.44 mM, Glukuz 5.5 mM, NaHCO<sub>3</sub> 4.2

mM, Albümin 20 mg/ml, pH 7.4) ile yıkanarak trombosit sayısı fizyolojik şartlara uygun olarak nötrofillerin 40 katı olacak şekilde resuspanse edildi (10).

**Nötrofil İzolasyonu:** PRP alındıktan sonra kalan kan 50 ml’lik tüplere konup üzerine, her 8 cc kan için 1 ml “Varihes” (Hidroksietil nişasta (HES) 450/0.7, %6’lık çözelti) eklendi. +4 °C’de 1 saat sedimentasyona bırakıldı. 1 saatin sonunda üstteki plazma toplandı. Her 8 cc plazmaya karşılık 3 cc Ficoll histopaque-1077 olacak şekilde, tüpün dibine Ficoll ve üstüne 4 cc soğuk mHBSS eklendi. Üstüne plazma yayılarak, +4 °C 1600 rpm’de 20 dk. santrifüj edildi. İşlem sonucunda kan hücreleri dansite gradiyentine göre tabakalandı. En altta nötrofiller ve az miktarda eritrosit (eritrositlerin büyük çoğunluğu “Varihes” sedimentasyonu ile ekarte edildi), üstünde Ficoll, bunun üstünde beyaz bir tabaka şeklinde lenfositler ve en üstte ise hücreden fakir plazma tabakası yer aldı. PNL pelleti üstündeki kısım atıldı. Nötrofillerle birlikte bulunan eritrositlerin hemolizi için 3 cc distile soğuk su eklendi, 30 sn. karıştırılıp bekletildikten sonra üstüne 3 cc %3’lük NaCl eklendi ve karıştırıldı. 4ml mHBSS eklenip +4 °C’de 1600 rpm’de 20 dk. santrifüj edildi. PNL pelleti üstündeki kısım atılarak 500 µl soğuk mHBSS ile resüspanse edilip nötrofil sayıldı. Eğer PNL pelletinde trombosit fazla bulaş varsa, pellet yine 5 cc mHBSS eklenerek +4 °C’de 500 rpm’de santrifüj edildi. Nötrofillerin sayısı trombositlerin sayısının 40’da biri olacak şekilde mHBSS ile resüspansiyonu yapıldı (7,11). Nötrofillerin canlılığının testi için, trypan blue kullanıldı. 0.1 g trypan blue 10 ml distile suda hazırlandı. 100 µl nötrofil pelleti, 200 µl mHBSS ve 100 µl tyrpan blue ile karıştırıldı. Nötrofillerin tyrpan blue’yu fagosite etmesi için 1-3 dk. beklendikten sonra, lam üzerine yayıp kurumaya bırakıldı. Nötrofilleri daha net değerlendirebilmek için zemin Giemsa ile boyandı. Mikroskopta x1-00’lük büyütmede değerlendirildi (12).

**Trombosit agregasyonu:** Agregometre cihazında (Whole-Blood Aggro-Meter Model 560 Chrono-Log Corporation, PA, USA) impedans tekniği ile bakıldı. Teknik örneğe daldırılan iki platin elektrod direncin ölçümüne dayanır. Önce iki elektrot üstüne trombositler bir tabaka halinde yapışır. Agonist madde ile aktive olan trombositler elektrodlar üzerinde tabakalaşarak kümelenir. Artan trombosit sayısı elektrodlar arasında direnci artırır (13). 900 µl PRP ya da trombosit süspansiyonu 1000 µl’lik silikonize küvetlere alındı. Örnekler konulan teflon kaplı karıştırıcılar (stir bar) 1000 rpm hızda döndürüldü. Cihaz, grafik üzerinde 8 cm 20 ohm’luk dirence karşılık gelecek şekilde ayarlandı. Elde edilen eğri üzerinde maksimum ve minimum dirençler arasındaki fark ohm cinsinden agregasyonun şiddeti olarak değerlendirildi. Trombosit agregasyonu trombin (0,8U/ml, Chronolog Reagent) ile indükledi.

**Trombosit ATP Sekresyonu:** Trombosit yoğun cisimlerinden sekrete edilen ATP miktarı WB agregometre kullanılarak biyoluminesans tekniği ile ölçüldü. Bu teknik ile ATP miktarı, PRP veya tam kana eklenen, bir tampon fosfor bileşiği olan lusiferinin ATP varlığında verdiği ışık şiddeti ölçülerek saptanır (Lusiferin+ATP+O<sub>2</sub> lusiferaz+Mg AM-P+PP+CO<sub>2</sub>+oksilusiferin+ışık). Ortaya çıkan ışığın şiddeti ile orantılı olarak cihaz tarafından üretilen voltaj kaydedilir (14). Trombin ile indüklenen trombosit agregasyonunu takiben örnekler 100µl lusiferin eklendi. Aktif trombositlerden sekrete edilen ATP ile kaydedilen voltaj, örneğe (900µl PRP ya da trombosit süspansiyonu) bilinen miktar ATP (2nM) eklenerek elde edilen standart ile karşılaştırılarak hesaplandı.

**Nötrofil agregasyonu:** N-formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanine (FMLP) (5x10<sup>-7</sup>M final konsantrasyonda) ile uyarılan nötrofillerde agregasyon Whole-Blood Aggro-Meter (Model 560WB, Chrono-Log Corporation, PA, USA) kullanılarak impedans tekniği ile değerlendirildi. Cihaz, grafik üzerinde 16cm 20 ohm'luk dirence karşılık gelecek şekilde ayarlandı. 1000µl örnek içine 400 rpm hızla dönen manyetik karıştırıcı eklendi. Elde edilen eğri üzerinde maksimum ve minimum dirençler arasındaki fark ohm cinsinden agregasyonun şiddeti olarak değerlendirildi (15).

**Nötrofil kemiluminesansı:** FMLP ile uyarılan nötrofil agregasyonu ile eş zamanlı kemiluminesans ölçümü amacı ile örnekler 500µM/ml final konsantrasyonunda luminol eklendi. Cihazın biyoluminesan kanalı kullanılarak nötrofil kaynaklı kemiluminesan kaydedildi (15,16).

#### Deney protokolü

Çalışmanın ilk aşamasında trombosit ve nötrofilin kontakt etkileşimini değerlendirmek için:

1. 900 µl PRP üzerine 100 µl mHBSS eklenerek hazırlanan örnekler 0,25 U/ml trombin eklenerek agregasyon şiddeti değerlendirildi.

2. 100 µl nötrofil resüspansiyonu 0.25 U/ml trombinle 10 dk. inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, 900 µl PRP eklenip agregasyon şiddeti kaydedildi. Çalışmanın ikinci aşamasında aktif trombositlerden elde edilen süpernatantın

nötrofil agregasyon ve kemiluminesansına etkisi araştırıldı. Trombin ile 10 dakika inkübe edilen trombosit süspansiyonu Eppendorf mikrosantrifüj ile 10.000rpm'de 3 dakika süre ile santrifüj edilerek trombosit süpernatantı elde edildikten sonra:

1. 500µl Nötrofil süspansiyonu + 500µl mHBSS ile dilüe edilerek, 16µl luminol ve 5µl FMLP (5x10<sup>-7</sup> M) eklendi. 20 dakika beklenerek nötrofil agregasyonu ve kemiluminesansı değerlendirildi.

2. 500µl Nötrofil süspansiyonuna + 500µl trombosit süpernatantı eklendi. 16µl luminol ve 5µl FMLP eklenerek nötrofil agregasyon ve kemiluminesansı değerlendirildi. Çalışmanın üçüncü aşamasında aktif nötrofillerden elde edilen süpernatantın trombosit agregasyonu ve ATP sekresyonuna etkisi araştırıldı. FMLP ile 10 dakika inkübe edilen nötrofil süspansiyonu Eppendorf mikrosantrifüj ile 10000rpm'de 3 dakika süre ile santrifüj edilerek nötrofil süpernatantı elde edildikten sonra: 1-500µl Trombosit süspansiyonu + 500µl mHBSS ile dilüe edilerek, trombin eklendi. Trombosit agregasyonunu takiben 25µl lusiferin eklenerek ATP sekresyonu değerlendirildi. 2-500µl Trombosit süspansiyonuna + 500µl nötrofil süpernatantı eklendi. Trombin ile indüklenen trombosit agregasyonunu takiben lusiferin eklenerek ATP ve sekresyonu değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirme: Gruplar arası farklar non-parametrik Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Değerler ortalama (X) ± standart sapma (SD) olarak verildi.

#### Bulgular

Deney grubunun trombosit sayısı ortalama 184900±34100/mm<sup>3</sup>, nötrofil sayısı 6200±1290/mm<sup>3</sup> olarak saptandı. Çalışmanın ilk aşamasında, trombin ile aktive edilen PRP'da agregasyon şiddeti ile trombinle inkübe edilen nötrofil süspansiyonu+PRP'da ölçülen agregasyon şiddeti arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı (p>0.05). Agregasyon şiddeti değerleri Tablo-1'de verilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında değerlendirilen; FMLP ile indüklenen nötrofiller ile aktif trombosit süpernatantı eklenen ve FMLP ile indüklenen nötrofillerde agregasyon

**Tablo 1.** Trombinle indüklenen PRP ve trombinle inkübe edilen nötrofil süspansiyonu eklenen PRP'da kaydedilen agregasyon şiddeti (ohm) (n=11).

	PRP (X±SD)	Nötrofil+PRP (X±SD)	
Agregasyon Şiddeti (Ohm)	19.5455 ±12.3079	20.9318 ± 11.2656	p>0.05

**Tablo 2.** FMLP ile indüklenen nötrofiller (nötrofil süspansiyonu) ile aktif trombosit süpernatantı eklenmiş ve FMLP ile indüklenen nötrofillerde (nötrofil süspansiyonu + trombosit süpernatantı) agregasyon şiddeti ve kemiluminesan değerleri (n=7).

	Agregasyon Şiddeti (Ohm) ( $X \pm SD$ )	Kemiluminesan (Ünite) ( $X \pm SD$ )
Nötrofil süsp.	4.95 ± 0.599	87.88 ± 32.07
Nötr. süsp. + Tromb. Süpernatantı	1.23 ± 0.976	379.56 ± 187.04
	p=0.046	p=0.048

**Tablo 3.** Trombinle indüklenen trombositlerde (trombosit süspansiyonu) ve aktif nötrofil süpernatantı eklenen ve trombinle indüklenen trombositlerde (trombosit süspansiyonu + nötrofil süpernatantı) agregasyon şiddeti ve ATP sekresyonu (n=7).

	Agregasyon Şiddeti (Ohm) ( $X \pm SD$ )	ATP Sekresyonu (nM) ( $X \pm SD$ )
Trombosit süsp.	3.47 ± 1.36	1.06 ± 0.51
Tromb. süsp. + Nötr. Süpernatantı	3.53 ± 2.03	0.90 ± 0.54
	p=0.866	p=0.7

şiddeti ve kemiluminesan değerleri Tablo 2'de verilmiştir. Trombosit süpernatantının eklenmesi ile nötrofil agregasyonunun istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı (p=0.046), nötrofil kemiluminesansının ise arttığı (p=0.048) saptanmıştır. Çalışmanın üçüncü aşamasında kaydedilen trombinle indüklenen trombositlerde ve aktif nötrofil süpernatantı eklenen ve trombinle indüklenen trombositlerde agregasyon şiddetleri ve ATP sekresyon miktarlarına ait değerler Tablo 3'de verilmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark olmadığı gözlenmiştir (p=0.86, p=0.7).

### Tartışma

Sunulan çalışmada trombositler ve nötrofiller arasındaki fonksiyonel etkileşiminin in-vitro koşullarda ortaya konması amaçlanmıştır. Trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesinde impedans tekniği kullanılarak PRP'da trombosit agregasyonu, biyoluminesan tekniği kullanılarak ATP sekresyonu değerlendirilmiştir. Trombosit agregasyonunun değerlendirilmesinde partikül sayma, optik ya da impedans tekniği kullanılabilir (17). İlk iki yöntem oluşan agregatın boyutları ile ilgili bilgi vermediğinden, tam kanda da değerlendirme yapılabilen impedans yöntemi tercih edilmektedir. PRP hazırlanması sırasında daha aktif olan büyük çaplı trombositlerin kaybına bağlı farklı sonuçlar alınabileceği vurgulandığından çalışmada tam kanda ve tam kandan elde edilen PRP'da ADP ile indüklenen trombosit agregasyonu değerlendirilmiş ve

normal yanıt alınan deneklerle çalışılmıştır. Trombosit aktivasyonu ile tüm granül içeriklerinin eş zamanlı salındığı bilinmektedir (18). Trombosit sekresyon fonksiyonu çeşitli yöntemlerle değerlendirilebilir. Trombosit kökenli proteinlerin (PF4, (TG) RIA veya ELİSA ile ölçümü yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyoluminesan tekniği ile ATP salınımı agregasyonla eş zamanlı değerlendirilebilmekte ve agregasyon-sekresyon ilişkisi konusunda bilgi vermesi nedeni ile tercih edilmektedir (19). Fagositoz sırasında nötrofillerde belirgin oksidatif metabolizma değişiklikleri olmaktadır ve nötrofil kemiluminesansı artmaktadır. Nötrofil kemiluminesansı, membran bağımlı NADPH oksidaz ve granül kökenli miyeloperoksidaz aktivitesi ile süperoksit anyonu oluşumuna bağımlıdır. Kemiluminesan yanıtını ampfilie eden luminolün tanımlanması ile, nötrofil fonksiyonlarının incelenmesinde, luminol bağımlı kemiluminesan önemli bir yöntem haline gelmiştir (9,20). İmpedans tekniği ile nötrofil agregasyonunun incelenmesi ise, nötrofil aktivasyonu ve adezyon fonksiyonlarının in vitro değerlendirilmesi bakımından duyarlı bir yöntemdir (21). Sunulan çalışmanın ilk aşamasında trombinle inkübe edilen PRP'da ve trombinle inkübe edilen nötrofil süspansiyonu eklenen PRP'da agregasyon şiddeti karşılaştırıldı. Çalışma koşullarında, yüzeye (elektrotlara) tutunan aktif trombositlere nötrofil eklenmesinin agregasyon şiddetinde önemli değişiklik oluşturmadığı saptandı. Dolaşımda aktif trombositler tarafından eksprese edilen (dışa vurulan) P-

selektinin nötrofillerin adezyonuna aracılık ettiği gösterilmiştir. P-selektin bağımlı basamağın CD11b/CD18( Mac) aracılığı ile gerçekleşen sıkı adezyon bağlantısı ile devam ettiği ve çok basamaklı olduğu gösterilmiştir (8,22). Ancak bazı araştırmacılar tarafından trombosit ile indüklenen nötrofil adezyonunun yüksek makaslama koşullarında etkin olduğu ve P-selektin aracılı adezyonun hızlı ve geçici olduğu vurgulanmaktadır (22,23). Çalışmada kullanılan agregometre ile hücreler makaslama kuvvetine maruz kalmamaktadır. Nötrofil süspansiyonunun eklenmesiyle agregasyon şiddetinin değişmemesi in vitro koşullarda nötrofil-trombosit hücre temasının nötrofil adezyonu üzerine etkili olmadığı gibi trombosit adezyonu ve agregasyonu üzerine de etkili olmadığını göstermiştir. Trombositlerin ya da ürünlerinin nötrofil fonksiyonları üzerine etkileri konusunda çelişkili araştırma sonuçlarına rastlanmaktadır. İn vitro koşullarda gerçekleştirilen çalışmalarda nötrofil: trombosit oranı önem kazanmaktadır. Sunulan çalışmada fizyolojik koşullara uyacak şekilde 1:40 nötrofil:trombosit oranı kullanılmıştır. Maschio ve arkadaşları (24) aktif trombositlerin nötrofil lizozomal enzim salınımını artırdığını ancak trombosit süpernatantlarının degranülasyona etkisi olmadığını göstermiştir. Drabikova ve arkadaşları (25) trombositlerin lüminol bağımlı nötrofil kemiluminesansını azalttığını ileri sürerken, birçok araştırmacı trombosit ürünleri ile nötrofil kemiluminesansının arttığını belirtmektedir (8,9,26). Trombositten salınan Trombosit faktör 4 (PF4) ve ATP'nin, nötrofil içi kalsiyum düzeyini artırarak trombosit ile tetiklenen nötrofil kemiluminesansına aracılık ettiği öne sürülmektedir (7,27,28). Sunulan çalışmanın ikinci aşamasında trombosit sekretuar ürünlerinin nötrofil agregasyonu ve kemiluminesansına etkisi araştırıldı. Trombositler 10 dakika trombinle inkübe edildikten sonra santrifüj edilerek süpernatant alındı. Trombosit süpernatantı eklenen nötrofillerde birçok araştırma sonucu ile de uyumlu olarak kemiluminesansın arttığı ancak, agregasyonun azaldığı gözlemlendi. Nötrofil aktivasyonu çok basamaklı ve karmaşık bir süreçtir. Trombositler ve ürünlerinin sürecin farklı basamaklarında farklı etkiler oluşturması olasıdır. Aktif trombositlerin kendileri de nötrofillere adhere olmaktadır. Ancak çalışmada trombosit süpernatantının nötrofil adezyonu ve agregasyonunu baskıladığı gözlenmiştir.

Nitekim Iwabuchi ve Yamashita (29) trombinle aktive olan insan trombositlerinden salınan ve tip IV kollajen reseptörleri aracılığıyla nötrofil adezyonunu engelleyen bir faktör (AIF) tanımlamışlardır. Literatürde FMLP ile uyarılan nötrofillerin trombosit aktivasyonuna yol açtığını belirten çalışmalara rastlanmaktadır (1,30). Aktif nötrofillerden salınan katepsin G ve serbest radikallerin trombositleri aktive ettiği öne sürülmektedir (31,32). Ancak serbest oksijen radikallerinin trombosit aktivasyonundaki rolü açık değildir ve doz bağımlıdır (33). Bu çalışmada nötrofil süpernatantının trombosit agregasyonu ve sekresyonunu etkilemediği gözlemlendi. Evangelista ve arkadaşları (30) trombosit aktivasyonu için nötrofil-trombosit temasının ön koşul olduğunu, salınan katepsin G'nin yüksek konsantrasyonlarda ve inhibitörlerden korunmuş olması gerektiğini vurgulamaktadır. Sunulan çalışmanın ilk basamağında trombinle indüklenen nötrofil süspansiyonunun PRP'a eklenmesi ile agregasyon şiddetinin değişmediği gösterilmiştir. Ancak bu basamakta nötrofiller FMLP ile aktive edilmemiştir. Literatür bulguları ve sunulan çalışmanın sonuçları nötrofillerle indüklenen trombosit agregasyonunun değerlendirilmesi için aktif nötrofil ve trombositlerin doğrudan temasını sağlayan koşullarda incelenmesi gerektiğini düşündürmektedir. Diğer yandan Aziz ve arkadaşları (34) nötrofiller tarafından salınan elastazın trombositlerde GPIb kaybına yol açtığını göstermiş ve bunun fizyolojik önemi olabileceğini öne sürmüştür. Trombosit aktivasyonu da karmaşık ve hala çok bilinmeyenli bir süreçtir. Gerek trombosit aktivasyonu ve gerek nötrofillerin trombosit aktivasyonuna etkileri konusunda ileri düzeyde çalışmalara gereksinim vardır. Bu çalışma aktif trombosit ürünlerinin nötrofil kemiluminesansını artırıp agregasyonu azaltarak nötrofil fonksiyonlarını etkilediğini göstermiştir. Bu sonuç, süreçte rol oynayan araçlar ve mekanizmalar konusunda ileri düzeyde gerçekleştirilecek sonuçlarla birlikte trombosit ve nötrofillerin birlikte yer aldığı hemostaz ve inflamasyon gibi fizyolojik mekanizmaların yanısıra, miyokard infarktüsü, stroke ve ARDS gibi patolojik süreçlerin aydınlanmasına katkıda bulunacaktır. Nötrofillerin trombositler üzerine etkisi konusunda ise hücre-hücre temasını sağlayan ve dolaşım sisteminin özelliklerine uyan koşullarda çalışmalara gereksinim olduğu sonucuna varılmıştır.

**Kaynaklar**

1. Maschio D, Dejena E, Bazzoni G. Bidirectional modulation of platelet and polymorphonuclear leukocyte activities. *Ann Hematol* 1993; 67:23-31.
2. Cadrey Y, Dupovy D, Boneu B et al. Polymorphonuclear leukocytes modulate tissue factor production by mononuclear cells: role of reactive oxygen species. *J Immunol* 2000; 164:3822-3828.
3. Klebanoffs CRA. Neutrophil-platelet interaction mediated by myeloperoxidase and hydrogen peroxidase. *J Immunol* 1980; 124:399.
4. Brandt E et al. The (TG and PF4; blood platelet-derived CXC chemokines with divergent roles in early neutrophil regulation. *Leukoc Biol* 2000; 67:471-478.
5. Ehlert JE et al. Down-regulation of neutrophil functions by the ELR(+) CXC chemokine platelet basic protein. *Blood* 2000; 96:2965-2972.
6. Napota K et al. Activated platelets induce superoxide anion release by monocytes and neutrophils P-selectin. *J Immunol* 1993; 151:3267-3273.
7. Ruf A. et al. Contact-induced neutrophil activation by platelets in human cell suspensions and whole blood. *The American Society of Hematology* 1992; 80:1238-46.
8. Ruf A. et al. Platelet-induced neutrophil activation: platelet-expressed fibrinogen induces the oxidative burst in neutrophils by an interaction with CD11c/CD18. *Br J Haematol*, 1995; 90:791-96.
9. Aziz KA, Cawley JC, Zuzel M. Platelets prime PNL via released PF4. mechanism of priming and synergy with GM-CSF. *British Journal of Haematology* 1995; 91:846-853.
10. Packham MA, Kinlough-Rathbone RL, Mustard JF. Thromboxane A2 Causes Feedback Amplification Involving Extensive Thromboxane A2 Formation on Close Contact of Human Platelets in Media With a Low Concentration of Ionized Calcium. *Blood* 1987; 70:647-51.
11. Boyum A. Separation of lymphocytes, granulocytes, and monocytes from human blood using iodinated density gradient media. *Methods In Enzymology* . 1984; 108:88-102.
12. Krajian A. In: Frankel S, Reitman S. Editors. *Tissue Staining Methods In Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*. Eds Sixth Edition Volum 2. London: The C. V. Mosby Company; 1963; pp1691.
13. Cardinal DC, Flower RJ. The electronic aggregometer: A novel device for assesing platelet behaviour in blood. *J Pharmacol Met* 1980; 3:135-158.
14. Phillips DR, Jennings LK, Edwards HH. Identification of membran proteins mediating the interaction of human platelets. *J Cell Biol* 1980; 86:77-86.
15. Bednar, MM, Gross CE. Simple Whole Blood Procedure for Neutrophil Aggregation & Chemiluminescence with the Chrono-Log Whole Blood Lumi-Aggregometer. *Chrono-Log Corporation News*, 2001; 2-5.
16. Allen R. Phagocytic Leukocyte Oxygenation Activities and Chemiluminescence: A Kinetic Approach to Analysis. *Methods In Enzymology* 1986; 133:449-93.
17. Sweeney JD, Labuzetta JW, Michielson CE et al. Whole Blood Aggregation Using Impedance and Particle Counter Methods. *Am J Clin Pathol* 1989; 92:794-7.
18. Williams W, Beutler E, Erslew A, et al. Platelet morphology and function. In *Heamatology*, 4th Edition. USA McGraw-Hill Book Company; 1991; 1172.
19. Wojenski C, Silver MJ. A Quick Method for screening platelet Dysfunctions Using the Whole Blood Lumi- aggregometer. *Thromb Haemostas* 1984; 5:154-156.
20. DeChalet LR, Long GD, Shirly PS et al. Mechanism of the luminol-dependent chemiluminescence of human neutrophils. *J Immunol* 1982; 129:1589-1593.
21. Simon SI, Rochon YP, Lynam EB et al. (2-Integrin and L-Selectin are Obligatory Receptors In Neutrophil Aggregation. *Blood* 1993; 82:1097-1106.
22. Ostrovsky L, King AJ, Bond S et al. Juxtacrine Mechanism for Neutrophil Adhesion on Platelets InvolvesPlatelet-Activating Factor and a Selectin-Dependent Activation Process. *The American Society of Hematology* 1998; 91:3028-36.
23. Kuijper PHM, Torres HI, Van der Linden J AM et al. Platelet-Dependent Primary Hemostasis Promotes Selectin-and Integrin-Mediated Neutrophil Adhesion to Damaged Endothelium Under Flow Conditions. *Blood* 1996; 87:3271-81.
24. Maschio AD, Corvazier E, Mailliet F et al. Platelet-dependent Induction and Amplification of Polymorphonuclear Leucocyte Lysosomal Enzyme Release. *Br J Haematol* 1989; 72:329-35.
25. Drabikova K, Jancinova V, Nosal R, et al. Human Blood Platelets, PNL Leukocytes and Their Interaction In Vitro. Responses to Selective and Non-selective Stimuli. *Gen Physiol Biophys* 2000; 19:393-404.
26. Nagata K, Tsuji T, Todoroki N et al. Activated Platelets Induce Superoxide Anion Release by Monocytes Neutrophils Through P-Selectin (CD62). *J Immunol* 1993; 151:3267-73.
27. Peterson F, Bock L, Flad HD et al. Platelet Factor 4-Induced Neutrophil-Endothelial Cell Interaction: Involvement of Mechanims and Functional Consequences Different From Those Elicited by Interleukin-8. *Blood* 1999; 94:4020-28.
28. Petersen F, Ludwing A, Flad HD et al. TNF-(Renders Human Neutrophils Responsive to Platelet Factor 4 (Comparison of PF-4 and IL-8 Reveals Different Activity Profiles of the Two Chemokines). *J of Immunol* 1996; 156:1954-62.
29. Iwabuchi K, Yamashita T. Platelet-Derived Neutrophil Adherence-Inhibiting Factor In Humans. *Blood* 1990; 76:2368-73.
30. Evangelista V, Rajtar G, Gaetano G et al. Platelet Activation by FMLP-Stimulated Polymorphonuclear Leukocytes: The Activity of Catepsin G is not Prevented by Antiproteinases. *Blood* 1991; 77:2379-88.
31. Yan Z, Zhang J, Holt JC, et al. Structural Requirements of Platelet Chemokines for Neutrophil Activation. *Blood* 1994; 84:2329-39.
32. Renesto P, Tahar MS, Chignard M. Modulation by superoxide anions of neutrophil-mediated platelet activation. *Biochem Pharmacol* 1994; 47:1401-1404.
33. Ersöz G, Ocakçioğlu B, Baştuğ M et al. Platelet Agregation and Release Function in Hyperbaric Oxygenation. *Undersea and Hyperbaric Medical Society* 1998; 229-32.
34. Aziz KA, Cawley JC, Kamiguti AS et al. Degradation of Platelet Glycoprotein Ib by Elastase Released from Primed Neutrophils. *Br J Haematol* 1995; 91:46-54.

# Kronik obstrüktif akciğer hastalığının akut alevlenmesinde *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* sıklığı

The incidence of *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease

Kemal Osman Memikoğlu<sup>1</sup>, Alpay Azap<sup>1</sup>, Özlem Kurt<sup>2</sup>, Tuncay Hasip Sözen<sup>1</sup>, Mehmet Emin Tekeli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara  
<sup>2</sup>Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara

**Amaç:** Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) sık görülmesi, genellikle solunum yetmezliği ile sonlanması ve sosyoekonomik yükü nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu çalışmada KOAH akut alevlenmesi düşünülen hastalarda en sık etken olan *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, *H. influenzae* sıklığı araştırılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 100 hasta alındı ancak bunların 85'inin balgam örneği Murray ve Washington değerlendirmesine göre grup 5 ve 4 olduğundan mikrobiyolojik inceleme için kültürleri yapıldı.

**Bulgular:** Seksen beş örneğin 35'inde patojen olduğunu düşündüğümüz bakteri üredi. Ondört *S. pneumoniae* (%16.5), 8 *M. catarrhalis* (%9.4), 5 *H. influenzae* (%5.8), 4 *E. coli* (%4.7), 2 *K. pneumoniae* (%2.4), 1 *P. aeruginosa* (%1.2) ve 1 *S. aureus* (%1.2) izole edildi. Kan kültürü alınan hastaların 2'sinde (% 2.4) *S. pneumoniae* üredi.

**Sonuç:** Bakteriyel etkenlere bağlı KOAH akut alevlenmesi düşünülen hastalarda *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *M. catarrhalis* en sık görülen etkenler olduğundan tedavi de seçilecek antibiyotiklerin bu etkenlere yönelik olmalıdır.

Anahtar kelimeler: **Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, *H. influenzae***

**Aim:** Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is an important public health problem because of causing respiratory failure and socioeconomic burden. In this study the incidence of *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, *H. influenzae* in acute exacerbation of COPD has been investigated.

**Materials and Methods:** Sputum samples obtained from one hundred patients have been studied but only 85 were in group 4 and 5 according to Murray and Washington classification and these samples were cultured for microbiologic evaluation.

**Results:** The pathogen bacteria were isolated in 35 of 85 specimens; 14 *S. pneumoniae* (16.5%), 8 *M. catarrhalis* (9.4%), 5 *H. influenzae* (5.8%), 4 *E. coli* (4.7%), 2 *K. pneumoniae* (2.4%), 1 *P. aeruginosa* (1.2%) and 1 *S. aureus* (1.2%). *S. pneumoniae* was identified in blood cultures of two patients (2.4%).

**Conclusion:** As *S. pneumoniae*, *H. influenzae* and *M. catarrhalis* are most common pathogens seen in acute exacerbation of COPD, antibiotics which are using in the treatment must be against these organism.

Key words: **COPD, *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, *H. influenzae***

**K**ronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) önemli bir morbitide ve mortalite nedeni olmasının yanı sıra yaşam kalitesinde azalmaya ve ayrıca üretim kaybına neden olmaktadır. Hastalığıdaki akut alevlenmeler ve solunum yetmezliği gelişimi hastaneye başvuruları artırmakta ve sağlık harcamalarını da yükseltmektedir (1,2).

KOAH, progresif, kronik seyirli ve akut alevlenmelerle seyreden bir hastalıktır. Yılda 1-4 kez görülen akut alevlenme; dispnede artış, öksürük ve balgamın pürülan hale gelmesi ve miktarının artması ile karakterizedir. Akut alevlenmesi olan olguların yarısından çoğunda neden, trakeobronşiyal ağacın enfeksiyonudur (3).

Bu çalışmada; KOAH'ın tanısı, tedavisi ve takibinin önem taşıması nedeniyle hastanelere başvuran ve KOAH akut alevlenmesi düşünülen hastalarda en sık etken

Geliş tarihi: 08.03.2005 • Kabul tarihi: 28.03.2005

Yazışma adresi

Kemal Osman Memikoğlu

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara

Tel : 310 33 33 / 32 92

E-mail : osmanmemik@yahoo.com

olan *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis* ve *H. influenzae* sıklığı araştırılmıştır.

## Gereç ve yöntem

Çalışmamıza Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Kliniği ve Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahi Merkezi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde ayaktan veya yatırılarak tetkik ve tedavi edilen, klinik olarak KOAH akut alevlenmeyi düşündüren ve bir hafta öncesine kadar antibiyotik tedavisi almamış 100 hasta alındı. KOAH akut alevlenmesinin değerlendirilmesi için tam kan sayımı, arteriyal kan gazı, solunum fonksiyon testleri, eritrosit sedimentasyon hızı, posteroanterior akciğer grafisini içeren tetkikler yapıldı. KOAH akut alevlenmesine neden olan mikrobiyolojik ajanın izolasyonu için balgam ve kan kültürleri alındı. Gram boyamasında Murray ve Washington değerlendirmesine göre 100 büyütmede her alanda polimorfonükleer lökosit sayısı >25 ve ağız epitel hücresi <10 (grup 5) veya 10-25 epitel ve >25 lökosit (grup 4) olması; balgamın kabul edilebilirlik kriteriydi (Tablo 1) (4). Balgamın kalitesi saptandıktan sonra %5 koyun kanlı jeloz, *Haemophilus* için selektif besiyeri olan basitrasinli çikolata jeloz, *Moraxella catarrhalis* için selektif besiyeri olarak %5 insan kanlı brusella agar, enterik bakterilerin tespiti için eozin metilen blue agara (EMB) ekim yapıldı. İlk üç besiyeri % 5-7 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübe edildi. İlk değerlendirme 18-24 saatte yapıldı, üreme olmadıysa ilk üç besiyeri 48. saatte tekrar değerlendirildi. Ayrıca hastalardan bir adet kan kültürü alındı ve Becton Dickinson (Bactec 9120) otomatik kan kültür aygıtında 5 gün süreyle izlendi.

## Bulgular

Çalışmaya alınan yaşları 33-75 arasında değişen (ortalama yaş 57.6) 100 hastanın 39'u kadın, 61'i erkekti.

Yüz hastanın hepsinde balgam miktarında artma ve renginde değişiklik (%100) görülürken, nefes darlığı %45'inde, öksürük %93'ünde ve ateş %30'unda mevcuttu.

Hastaların 57'si (%57) sigara kullanırken, 34'ü (%34) kullanmıyordu. Dokuz hasta (%9) ise pasif içiciydi.

Yüz hastanın 23'ünde hipertansiyon (11), diabetes mellitus (4), geçirilmiş akciğer tüberkülozu (2), aterosklerotik kalp hastalığı (2), larenks kanseri (1), nefrektomi (1), epilepsi (1), konjestif kalp yetmezliği (1) gibi KOAH'a eşlik eden başka bir hastalık bulunuyordu.

Murray ve Washington değerlendirilmesine göre grup 4 ve 5 deki 85 balgam örneğinin yapılan kültürleri sonucunda, 35'inde patojen olması muhtemel bakteri üredi (Tablo-2).

Kan kültürü alınan 85 hastanın yalnız ikisinde (%2.4) üreme oldu. Her iki kültürde de üreyen bakteri *S. pneumo-*

**Tablo 1.** KOAH akut alevlenmesi düşünülen 100 hastanın balgam örneklerinin kabul edilebilirlik değerleri

Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
>25 epitel	>25 epitel	>25 epitel	10-25 epitel	<10 epitel
<10 lökosit n= 2	10-25 lökosit n= 4	>25 lökosit n= 9	>25 lökosit n= 20	>25 lökosit n= 65

**Tablo 2.** Seksen beş balgam örneğinde izole edilen bakterilerin dağılımı

Bakteri	Sayı	Yüzde
<i>S.pneumoniae</i>	14	16.5
<i>M. catarrhalis</i>	8	9.4
<i>H. influenzae</i>	5	5.8
<i>E. coli</i>	4	4.7
<i>K. pneumoniae</i>	2	2.4
<i>P. aeruginosae</i>	1	1.2
<i>S. aureus</i>	1	1.2
Normal Boğaz Florası Elemanları	50	58.8
Toplam	85	100

*niae* idi. Balgam örneğinde *S. pneumoniae* üreyen hastalar arasında % 14.3'lük bakteriyemi oranı oluşturmaktaydı.

## Tartışma

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, sık görülmesi, solunum ve kalp yetersizliğine yol açması ve sosyoekonomik yönü nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre tüm dünyada yaklaşık 600 milyon KOAH'lı hasta bulunmaktadır ve her yıl 2.3 milyon kişi KOAH nedeniyle kaybedilmektedir. Tüm dünyada KOAH bugün ölüm nedenleri arasında altıncı sırada iken 2020 yılında üçüncü sırada olması beklenmektedir. Sağlık Bakanlığı verilerine göre Türkiye'de 2.5-3 milyon KOAH'lı hasta bulunduğu tahmin edilmekte ve hastanelerde gerçekleşen ölüm nedenleri arasında on birinci sırada yer almaktadır. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı gelişimindeki rolü çok iyi bilinen risk faktörleri, sigara içmek, mesleki/çevresel toz ve dumanlarla karşılaşmak ve kalıtsal alfa-1 antitripsin eksikliğidir. Bunlara ek olarak hava kirliliği, pasif sigara içimi, sosyoekonomik faktörler ve enfeksiyonlar olası risk faktörleridir (1,2).

Stabil dönemdeki bir KOAH hastasında akut alevlenmeye neden olabilecek faktörlerin başında viral ve bakteriyel enfeksiyöz ajanlar gelmektedir. Bakteriyel enfeksiyona bağlı akut alevlenme tanısı ile izlenen hastaların yalnızca küçük bir bölümünde ateş saptanması ve akciğer grafilerinin-



**Tablo 3.** Kronik obstrüktif akciğer hastalığının etkenlerin dağılımı ile ilgili çalışmalar

Çalışma	<i>S.pneumoniae</i> %	<i>H. influenzae</i> %	<i>M.catarrhalis</i> %
1986 Davis ve ark. (8)	16.5	58.5	15
1990 Vergehese ve ark. (9)	7	33.7	31.4
1990 Fagon ve ark. (10)	16	14	7
1992 Chodosh ve ark. (8)	22.4	37.9	22.4
1994 Ball ve ark. (8)	16.5	52	13
Gump ve ark. (8)	37.2	57	-
1994 Güvener ve ark. (11)	-	23.4	-
1994 Mehr ve ark. (12)	13.8	-	31
1996 Özkan ve ark. (13)	20	35	13

de genellikle radyolojik bulgu gözlenmemesi enfeksiyona bağlı alevlenme tanısını güçleştirmektedir. Kronik bronşit-teki bakteriyel enfeksiyonlara predispozisyon yaratan fizyopatolojik bozukluklar tam olarak anlaşılmasına rağmen, mukosilyer aktivitenin azalması, bronşların obstrüksiyonu ve bronşiyal epitelde kronik bakteri kolonizasyonu muhtemel mekanizmalar olarak düşünülmektedir. Yaşla birlikte azalan konak savunma mekanizmalarının azalması da (polimorfonükleer lökositlerin fagositoz yeteneğinde azalma, bakterisidal aktivitede azalma, makrofaj sayısının azalması ve immunglobulin A miktarında azalma) patojenlerin kolonizasyonun erken safhasında eliminasyonunu engellemektedir (5,6).

Kronik obstrüktif akciğer hastalığının tüm dünyada enfeksiyöz alevlenmesinde, alevlenmelerin %30'undan viral ajanların %1-10'undan, *M. pneumoniae* ve *C. pneumoniae* gibi atipik bakteriyel etkenlerin sorumlu olduğu bilinmektedir. Olguların %40-60'ından ise gram negatif ve gram pozitif bakteriler sorumludur. Bunlar arasında da en sık rastlanan ajanlar *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis* ve *H. influenzae*'dir. Kronik bronşitte seyrek olarak *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. pyogenes*; *E. coli* ve diğer gram negatif basiller rol oynamaktadır (2,5,7). Kronik obstrüktif akciğer hastalığının akut alevlenmesinde etkenlerin dağılımını belirlemek için ülkemizde ve yurt dışında bir çok çalışma yapılmıştır (Tablo-3).

Bizim çalışmamızda ise kültürü yapılan 85 balgam örneğinin 14'ünde (%16.5) *S. pneumoniae*, 8'inde (%9.4) *M. catarrhalis* ve 5'inde (%5.8) *H. influenzae* izole edildi. Literatürdeki diğer araştırmalarla karşılaştırdığımızda *M. catarrhalis* ve *S. pneumoniae* izolasyon oranları diğer çalışmalarla uyumlu iken, *H. influenzae* izolasyon oranımız diğer çalışmalardan düşük bulunmuştur. Bu farklılık yöntem değişikliği, mevsimsel özelliklerden, epideminin olup olmamasından kaynaklanabileceği gibi, akut alevlenmenin

diğer enfeksiyöz ajanları olan viruslar, *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* ve *L. pneumophila* gibi atipik etkenlerin artmış sıklığına bağlı olabilir. Enfeksiyon dışı akut alevlenmelerin fazlalığı da bu durumu açıklayabilir.

*S. pneumoniae* izole edilen 14 hastanın 2'sinde (%14.3) aynı zamanda kan kültürlerinde de üreme oldu. Bu hastalardan birinde KOAH'ın yanı sıra diabetes mellitus bulunmaktaydı. Kan kültürleri pnömonilerin tanısında değerli bir yöntemdir. Pnömonokok pnömonisi olan hastalarda, %20-25 oranında kan kültürlerinde etken tespit edilmektedir. Bakterinin kana geçmesi konusundaki mekanizma tam olarak anlaşılammış olmasına rağmen muhtemel mekanizmanın lenf nodları aracılığıyla olduğu düşünülmektedir (14,15). Çalışmamızda *H. influenzae* ve *M. catarrhalis* izole edilen hiçbir hastanın kan kültürlerinde üreme olmadı. Bu durum bu hastalarda bakteriyemi olmamasına bağlı olabileceği gibi kan kültürünün sadece bir kez alınmasına ve uygun zamanda alınmamış olmasına da bağlı olabilir.

Sonuç olarak; KOAH'ı olanlar özellikle kış aylarında olmak üzere, yılda ortalama 1-4 kez akut alevlenme geçirirler. Bakteriyel enfeksiyona bağlı akut alevlenme tanısı ile izlenen hastaların yalnızca küçük bir bölümünde ateş saptanması ve akciğer grafilerinde genellikle radyolojik bulgu gözlenmemesi, enfektif alevlenme tanısını güçleştirmektedir. Viral enfeksiyon ya da hava kirliliğinin önceden var olan kronik enflamasyonu alevlendirmesi sonucu sekonder bakteriyel enfeksiyonlar gelişebilir. Viruslar akut alevlenmede enfeksiyöz ajanların 1/3'ünden sorumlu iken, *M. pneumoniae* ve *C. pneumoniae* gibi atipik etkenler %1-10'undan sorumludur. (16). Bakteriyel etkenlere bağlı KOAH akut alevlenmesi düşünülen hastalarda *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *M. catarrhalis* en önemli etkenler olduğundan tedavi de seçilecek antibiyotiklerin bu etkenlere yönelik olmasına dikkat edilmelidir.

**Kaynaklar**

1. Sullivan SD, Ramsey SD, Lee TA. The economic burden of COPD. Chest. 2000; 117:5-8.
2. Kocabaş A. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı epidemiyoloji ve doğal gelişim. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı. Toraks Derneği. Ankara 2000; 2:8-25.
3. Sullivan SD, Ramsey SD, Lee TA. The economic burden of COPD. Chest. 2000; 117:5-8.
4. Öztürk R. Toplumda edinilmiş pnömoni: Tanı yöntemleri. Eraksoy H, Yenen Ş.(Ed) İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevleri. 2000; 51-70.
5. Sethi S. Bacterial infection and the pathogenesis of COPD. Chest. 2000; 117:268-291.
6. Nishimura K, Koyama H, Ikeda A, et al. Is oral theophylline effective in combination with both inhaled anticholinergic agent and inhaled  $\beta$ -2 agonist in the treatment of stable COPD. Chest. 1993;104:179-184.
7. Reynolds H. Chronic bronchitis and acute infectious exacerbations. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Ed). Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone. 2000; 706-710.
8. Aydın BS. Sivas Bölgesinde kronik obstrüktif akciğer hastalığının akut alevlenmelerinde *Streptococcus pneumoniae*'nin yeri ve antibiyotik duyarlılık durumu. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakterioloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi. 1996.
9. Vergese A, Roberson D, Kalbfleisher JH, et al. Randomized comparative study of cefixime versus cephalexin in acute bacterial exacerbations of chronic bronchitis. Antimicrob Agents and Chemother. 1990; 34:1041-1044.
10. Fagon JY, Chastre J, Trouillet JL, et al. Characterization of distal bronchial microflora during acute exacerbation of chronic bronchitis. Am Rev Respir Dis. 1990; 100:1004-1008.
11. Güvener Z, Erkan F, Aydın MD ve ark. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) olgularında izole edilen *Haemophilus influenzae* suşları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1994; 24:161-163.
12. Mehr MA, Yüce A, Yuluğ N. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) olanların balgamlarında *Moraxella catarrhalis*'in sıklığı. Mikrobiyol Bült. 1994; 28:357-364.
13. Özkan F, Saydam C, Büke Ç ve ark. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) alevlenmelerinde etken mikro-organizmalar ve in vitro antibiyotik duyarlılıkları. İnfeksiyon Dergisi. 1996;10: 163-163.
14. Öztürk R. Toplumda edinilmiş pnömoni: Tanı yöntemleri. Eraksoy H, Yenen Ş (Ed). İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevleri. 2000; 51-70.
15. Musher DM. Streptococcus pneumoniae. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Ed). Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone. 2000; 2128-2147.
16. Sethi S. Infectious etiology of acute exacerbations of chronic bronchitis. Chest. 2000; 117:380-385.

# Clinical importance of neonatal autopsies

Yenidoğan otopsilerinin klinik önemi

Halil Özdemir<sup>1</sup>, Begüm Atasay<sup>2</sup>, Ayla Günlemez<sup>2</sup>, Aylın Heper<sup>3</sup>, Sevim Ünal<sup>2</sup>, Saadet Arsan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara University School of Medicine, Department of Pediatrics

<sup>2</sup>Ankara University School of Medicine, Department of Pediatrics, Division of Neonatology

<sup>3</sup>Ankara University School of Medicine, Department of Pathology

**Aim:** To assess the neonatal autopsy rate at a tertiary referral center and to investigate any discordance between the diagnosis before death and at autopsy.

**Materials and Methods:** This retrospective study was performed at neonatal intensive care unit (NICU) of Ankara University Hospital between January 1997 and June 2003. Written parental consent was obtained prior to autopsy. Each examination was performed by a pathologist using standard techniques including bacterial cultures, macroscopic and histological examination, post-mortem radiography and chromosomal analysis if necessary. Clinico-pathologic concordance was divided into four categories: (1) change in diagnosis, (2) additional findings, (3) complete confirmation and (4) inconclusive.

**Results:** In this period 87/1876 (4.6%) neonates died and autopsy was performed in 34/87 (39%) of the cases. The studied population had a median gestational age, birth weight and a median age of 35 weeks, 1990 g. and 5 days respectively. After autopsy, diagnosis changed in 4/34 (11.7%), additional findings were found in 4/34 (11.7%), diagnosis was confirmed in 25/34 (73.5%) and diagnosis was inconclusive in 1/34 (2.9%).

**Conclusion:** Neonatal autopsies can be suggested when the cause of death is not evident or additional information is needed. Important information can be obtained from neonatal autopsies. Clinicians can confidently advise parents of the usefulness of the neonatal autopsy in ascertaining the cause of death or for counseling their future pregnancy.

Key words: **Autopsy, Mortality, Neonate**

**Amaç:** Üçüncü basamak referans merkezi olan ünitemizdeki yenidoğan otopsi oranını ortaya koymak ve hastaların klinik tanısı ile otopsi yapıldıktan sonra tanıda ortaya çıkan uyumsuzlukları belirlemek.

**Gereç Yöntem:** Bu çalışma Ankara Üniversitesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde Ocak 1997-Haziran 2003 arasındaki dönemi kapsayan retrospektif bir çalışma olarak düzenlendi. Otopsi yapılmadan önce ailelerin yazılı izinleri alındı. Her inceleme bakteriyel kültür, makroskopik ve histolojik incelemeyi içeren standart teknikler ile gerektiğinde postmortem radyografi ve kromozomal analizi incelemelerle patoloğlar tarafından yapıldı. Klinikopatolojik uygunluk 4 grup altında incelendi: Tanıda değişme, ek bulgular, tam uyum ve tamamen uyumsuz.

**Bulgular:** Bu dönemde yenidoğanların %4.6'sı (87/1876) öldü ve ölenlerden 34'üne (%39) otopsi yapıldı. Çalışmaya alınan olguların median gestasyonel yaş, doğum ağırlığı ve postnatal yaşı sırası ile 35 hafta, 1990 g. ve 5 gün olarak tespit edildi. Otopsi sonrasında 25 olgunun (%73.5) tanısında bir değişiklik olmadığı, 4 olguda (%11.7) ek bulgular olduğu, 4 olguda (%11.7) tanının değiştiği ve 1 olguda (%2.9) ise tanının tamamen uyumsuz olduğu saptandı.

**Sonuç:** Ölüm nedeni tam olarak belirlenemeyen veya ek bilgilerin elde edilmesi gereken durumlarda otopsi gerekebilir. Yenidoğan otopsileri sonrasında önemli bilgilere ulaşılabilir. Hekimler, ölüm nedeninin tam olarak belirlenmesi veya gelecekte planlanacak gebeliklerin risklerinin önceden belirlenebilmesi amacıyla yenidoğan döneminde kaybedilen olgulara otopsi yapılmasını önermelidirler.

Anahtar kelimeler: **Mortalite, Otopsi, Yenidoğan**

Received: 11.24.2004 • Accepted: 3.21.2005

Corresponding author

Halil Özdemir, MD.

Ankara University School of Medicine Department of Paediatrics,  
Ankara

Tel : (312) 3623030

Fax : (312) 3620581

E-mail : doktorhalil@superonline.com

**A**utopsy has been important in medicine since the 15<sup>th</sup> century and has contributed to clinical knowledge (1,2). An unsuccessful outcome of pregnancy is a major catastrophe for parents (3). Seeking consent for performing an autopsy from the grieving parents can be difficult (4). However,

**Table 1.** Mortality and autopsy rates at NICU

	Total number of neonates n (%)	Total number of deaths n (%)	Total number of autopsies n (%)
Term	1352 (72.0)	29 (33.4)	10 (29.5)
Premature	524 (28.0)	58 (66.6)	24 (70.5)
< 1500 g	316 (16.8)	40 (45.9)	15 (44.1)
> 1500 g	208 (11.2)	18 (20.7)	9 (26.4)
Total	1876 (100.0)	87 (100.0)	34 (100.0)

**Table 2.** Clinico-pathologic concordance

Autopsies n (%)	Change in diagnosis n (%)	Additional findings n (%)	Complete confirmation n (%)	Inconclusive n (%)
34 (100.0)	4 (11.7)	4 (11.7)	25 (73.5)	1 (2.9)

neonatal autopsy has a particularly valuable role in the counseling of families after the loss of an infant as it can improve parental understanding, alleviate concerns over prenatal events and provide knowledge for research and teaching. Genetic conditions or obstetric factors of relevance to future pregnancies may also be identified (5).

The purpose of this study was to measure the neonatal autopsy rate at a tertiary referral center and to examine any discordance between the diagnosis before death and at autopsy.

## Materials and Methods

This retrospective study was performed at neonatal intensive care unit (NICU) of Ankara University School of Medicine between January 1997 and June 2003. Written parental consent was obtained prior to autopsy. Each examination was performed by a pathologist using standard techniques including bacterial cultures, macroscopic and histological examination, postmortem radiography and chromosomal analysis if necessary. We recorded the cause of death from the original death certificate, which was normally completed by the attending neonatologist. We obtained information from the original medical records and abstracted autopsy findings from the concluding summary of the pathologist's report.

Clinico-pathologic concordance was divided into four categories: (1) change in diagnosis, (2) additional findings, (3) complete confirmation and (4) inconclusive (4).

## Results

In this period 87 of 1876 (4.6%) neonates died and autopsy was performed in 34 of 87 (39%) cases. The population that had been performed autopsy had a median gestational age, birth weight and a median age of death,

35 weeks, 1990 g. and 5 days respectively. In Table-1 we showed the mortality and autopsy rates at NICU of Ankara University School of Medicine.

After autopsy diagnosis changed in 4 of 34 (11.7%), additional findings were found in 4 of 34 (11.7%), diagnosis was confirmed in 25 of 34 (73.5%) and diagnosis was inconclusive in 1 of 34 (2.9%) neonates (Table-2). In Table-3 we summarized the clinical characteristics and the results of autopsies of the cases which is classified in category 1, category 2 and category 4.

## Discussion

According to the last two decades' literature the mortality rate of neonates from different NICU's ranged between 2.1% to 20.9% (6) and the mortality rate of our NICU was 4.6%. However, for neonatal deaths the percentage of autopsies ranged from 33% to 100% though classification criteria and procedures varied between studies (4,7). In our NICU it was 39%. The median gestational age and the median age of death were similar to the other NICUs (5,6), but there were no differences between the maturity of the cases and the autopsy rates.

For neonatal deaths the percentage of autopsies for which there were additional findings, whether these findings changed the main diagnosis or not, and which may have led to change in management or counseling ranged from 22% to 81% (4,8). In our study, after autopsies 4 of 34 (11.4%) cases diagnosis changed, 4 of 34 (11.4%) cases had additional findings.

The proportion of neonatal deaths attributed to major genetic or congenital abnormalities has increased. So, in such cases accurate diagnosis is very important for future counseling (5).

**Table 3.** Clinical characteristics and result of autopsies of the cases

CASES		*BW (g)	*GA (week)	APGAR 1 and 5	Clinical findings	Treatment	Length of stay	Autopsy findings
Change in diagnosis	Case 1	720	28	4-8	immaturity sepsis *DIC renal failure apnea	antibiotics plasma pentaglobulin inotropic agents *MV	5 days	*CN
	Case 2	2200	34	7-9	sepsis *NS cerebral odema *PHT	antibiotics pentaglobulin albumine diuretics steroid *MV	16 days	*SCID
	Case 3	1990	35.3	4-7	sepsis *PHT	antibiotics *MV	8 hours	*RA *RDS
	Case 4	1330	32	3-6	*RDS pneumothorax	antibiotics surfactane *MV	5 hours	*RA
Additional findings	Case 1	1135	27	7-3	*RDS sepsis	antibiotics surfactane *MV	4 days	*RDS *IVH
	Case 2	900	25.3	4-6	*RDS sepsis	antibiotics surfactane *MV	3 days	sepsis *ASD
	Case 3	1420	34	2-4	perinatal asphyxia	antibiotics antiepileptic *MV	10 days	pneumonia
	Case 4	3000	38	4-8	*CHD	*MV inotropic agents PGE1	7 days	*CHD *DGS
Inconclusive	Case 1	2180	35	3-7	Sepsis renal failure	antibiotics inotropic agents	2 days	*RDS

\*BW : Birth weight, GA: Gestational age, DIC: Disseminated intravascular coagulation, CN: Congenital nephroblastoma, NS: Nephrotic syndrome, PHT: Pulmonary hypertension, SCID: Severe common immuno deficiency, RA: Unilateral renal agenesis, RDS: Respiratory distress syndrome, IVH: Intraventricular hemorrhage, ASD: Atrial septal defect, CHD: Congenital heart disease, DGS: Di George syndrome

In nearly a quarter of our cases new information was obtained at autopsy. In 2 cases important diagnosis identified with implications for genetic advice-namely, Di-George syndrome and severe common immune deficiency after autopsy. In addition to the future genetic advice, by the treatment of the immune deficiency before death these cases might have been alive for many months or years. In another 2 cases after autopsy unilateral renal agenesis were diagnosed that had an impact on the renal failure.

A premature neonate with gestational age of 28 weeks followed by diagnosis of immaturity and renal failure. After autopsy his diagnosis was identified as congenital nephroblastoma. It was a very important diagnosis that, had it been detected before death, would probably have

led to change in management that might have resulted in cure or prolonged survival by the treatments of surgery, chemotherapy and radiation therapy.

If an autopsy includes detailed techniques like bacterial cultures, postmortem radiography, metabolic studies and chromosomal analysis, the usefulness of autopsies' increases (9).

We suggest that (1) neonatal autopsies can be offered when the cause of death is not evident or additional information is needed and important information can be obtained from neonatal autopsies, and (2) clinicians can confidently advise parents of the usefulness of the neonatal autopsy in ascertaining the cause of death or for counseling their future pregnancy.

**References**

1. Dorsey DB. A perspective on the autopsy. *Am J Clin Pathol* 1977;69:217-9.
2. Maniscalco WM, Clarke TA. Factors influencing neonatal autopsy rate. *Am J Dis Child* 1982; 136:781-4.
3. Rushton DI. Prognostic role of the perinatal postmortem. *Br J Hosp Med* 1994; 52:450-4.
4. Gordijn SJ, Erwich JJHM, Khong TY. Value of the perinatal autopsy: Critique. *Pediatr and Develop Pathol* 2002; 5:480-8.
5. Brodli M, Laing JA, Keeling JW. Ten years of neonatal autopsies in tertiary referral centre: retrospective study. *BMJ* 2002; 324:761-3.
6. Kaiser CF, Furuya MEY, Vargas MH. Main diagnosis and cause of death in a neonatal intensive care unit: do clinicians and pathologists agree? *Acta Pediatr* 2002; 91:453-8.
7. Rajashekar S, Bhat BV, Veliath AJ et al. Perinatal autopsy-a seven-year study. *Indian J Pediatr* 1996; 63:663-5.
8. Dhar V, Perlman M, Vilela MI. Autopsy in a neonatal intensive care unit: utilization patterns and associations of clinicopathologic discordances. *J Pediatr* 1998; 132:75-9.
9. McGraw EP, Pless JE, Pennington DJ et al. Postmortem radiography after unexpected death in neonates, infants, and children: Should imaging be routine? *AJR* 2002; 178:1517-21.

# In vitro activity of colistin against nonfermentative gram-negative bacilli

Kolistinin non-fermentatif gram-negatif bakterilere in-vitro etkinliğinin değerlendirilmesi

Özlem Kurt Azap, Hande Arslan, Funda Ergin, Emine Kuru İnci, Göknur Yapar

Baskent University Medical Faculty, Department of Clinical Microbiology and Infectious Disease

**Aim:** Multidrug-resistant gram-negative isolates have become a problem in everyday clinical practice in intensive care units. Colistin was once used for treatment of gram-negative bacteria, but its systemic use has been completely abandoned due to nephrotoxicity. It was aimed to assess the in-vitro susceptibility of several gram-negative isolates to determine a standardized breakpoint for colistin.

**Methods:** One hundred thirty-two multidrug-resistant nonfermentative gram-negative isolates were tested. Minimum inhibitory concentrations were determined using an agar dilution technique.

**Results:** Fifty-two of 55 *P. aeruginosa* isolates (94.1%), 46 of 48 *A. baumannii* isolates (95.8%), 15 of 21 *S. maltophilia* isolates (71.4%), and 1 of 8 *B. cepacia* isolates (8.4%) were susceptible to colistin at a breakpoint of  $\leq 4$  mg/L. The number of susceptible strains dropped at a susceptibility breakpoint of  $\leq 2$  mg/L: 33 of 55 *P. aeruginosa* isolates (60%), and 41 of 48 *A. baumannii* isolates (85.4%) were susceptible; none of the *S. maltophilia* or *B. cepacia* isolates was susceptible at this breakpoint.

**Conclusion:** Colistin maintains effective in vitro activity against *P. aeruginosa* and *A. baumannii* when used at a breakpoint of  $\leq 4$  mg/L. Further clinical trials are needed to determine which susceptibility criterion is more suitable for clinical practice ( $\leq 4$  mg/L or  $\leq 2$  mg/L), and to determine a standard breakpoint for all gram-negative bacteria.

Key words: **Colistin, Susceptibility Breakpoint, Nonfermentative Bacteria**

**Giriş:** Çoklu ilaç direnci olan gram-negatif bakterilerdeki direnç problemi, yoğun bakım ünitelerinde hemen her gün karşılaşılan önemli bir sorundur. Kolistin, gram-negatif bakterilerin tedavisinde kullanılmış ancak nefrotoksisite nedeniyle kullanımdan kaldırılmıştır. Gram-negatif basillerde kolistin duyarlılığı saptanarak, kolistin duyarlılığı için bir sınır değer belirlenmesi amaçlandı.

**Gereç ve yöntem:** Yüz otuz iki çoklu ilaç direnci olan gram negatif bakteri test edildi. Minimum inhibitör konsantrasyon değerleri agar dilüsyon yöntemi ile belirlendi.

**Bulgular:** Duyarlılık sınırı  $\leq 4$  mg/L olarak kabul edildiğinde 55 *P. aeruginosa* suşunun 52'si (%94.1), 48 *A. baumannii* suşunun 46'sı (%95.8), 21 *S. maltophilia* suşunun 15'i (%71.4) ve 8 *B. cepacia* suşunun 1'i (%8.4) kolistine duyarlı bulundu. Duyarlılık sınırı  $\leq 2$  mg/L olarak alındığında ise 55 *P. aeruginosa* suşunun 33'ü (%60), 48 *A. baumannii* suşunun 41'i (%85.4) kolistine duyarlı bulunurken, *S. maltophilia* ve *B. cepacia* suşlarında duyarlılık saptanmadı.

**Sonuç:** Duyarlılık sınırı  $\leq 4$  mg/L olarak kabul edildiğinde kolistin in vitro koşullarda *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* suşlarına etkilidir. Kolistinin gram-negatif bakteriler için duyarlılık sınır değerinin belirlenebilmesi, daha çok sayıda klinik çalışma ile sağlanabilecektir.

Anahtar kelimeler: **Kolistin, Duyarlılık sınırı, Nonfermentatif bakteri**

## Introduction

Multidrug resistance of gram-negative nosocomial isolates has become a problem in everyday clinical practice in the intensive care units (1). Because no fundamentally new anti-infective drugs are currently available, it appears that older drugs need to be evaluated (2). Colistin, a polymyxin (polymyxin E), was used from the 1960s to the early 1980s; however, owing to toxicity considerations (mainly nephrotoxicity, neuromuscular blockage, and neurotoxicity), its systemic use has been completely abandoned (3). As with other polymyxins, co-

Received: 02.10.2005 • Accepted: 03.28.2005

Corresponding Author

Özlem Kurt Azap

Baskent University Medical Faculty, Department of Clinical Microbiology and Infectious Disease, Ankara

E-mail : okurtazap@baskent-ank.edu.tr

Tel : (312) 212 29 12/149

Faks : (312) 2153723

**Table 1.** Minimum inhibitory concentrations (MICs) (mg/L) of colistin against the nonfermentative gram-negative bacteria tested

	MIC Range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	Susceptibility % (n)*	Susceptibility % (n)**
<i>P. aeruginosa</i> (55)	2 - ≥ 32	2	4	94.5 (52)	60 (33)
<i>A. baumannii</i> (48)	≤ 0.5 - ≥ 32	2	4	95.8 (46)	85.4 (41)
<i>S. maltophilia</i> (21)	4 - ≥ 32	4	≥ 32	71.4 (15)	0 (0)
<i>B. cepacia</i> (8)	4 - ≥ 32	≥ 32	≥ 32	12.5 (1)	0 (0)

\* According to the susceptibility breakpoint of ≤ 4 mg/L based on BSAC criteria (4).

\*\* According to the susceptibility breakpoint of ≤ 2 mg/L (7).

n: number of susceptible strains

listin is rapidly bactericidal and exerts its effects by acting as a cationic detergent, causing disruption of the integrity of the bacterial cell membrane, with leakage of intracellular contents and cell death. This process is not dependent on bacterial metabolic activity and may be a significant contributing factor to the lack of development of bacterial resistance to colistin (4). Resistance to beta-lactams, quinolones, and aminoglycosides in nonfermentative bacteria continues to increase. As no novel agents have been introduced to combat these multiple-antibiotic-resistant organisms, clinicians may become forced to rediscover colistin (5).

This study sought to evaluate the in vitro activity of colistin against non-fermentative gram-negative bacilli that are difficult-to-treat nosocomial pathogens.

## Materials and Methods

One hundred thirty-two multidrug-resistant nonfermentative gram-negative isolates (55 *Pseudomonas aeruginosa*, 48 *Acinetobacter baumannii*, 21 *Stenotrophomonas maltophilia*, and 8 *Burkholderia cepacia*) were tested. Forty-seven of the strains were isolated from wound infections, 39 of them were isolated from urine, 22 of them were isolated from blood cultures, 13 were isolated from body fluids, and 11 were isolated from catheters.

Colistin was obtained from Sigma Chemicals (Sigma-Aldrich Corp, St. Louis, Mo, USA). Isolates were considered to be multidrug-resistant if they are resistant to two or more classes of the following anti-pseudomonal broad-spectrum agents: cefepime, amikacin, ciprofloxacin, piperacillin-tazobactam, and/or meropenem, by using the Kirby-Bauer method of disk diffusion. The susceptibilities of the isolates were studied before during the routine microbiological procedures. Multidrug resistance was confirmed by E-test® (AB Biodisk, Solna, Sweden) for the agents.

## Susceptibility testing

Minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined using an agar dilution technique according to NCCLS criteria (6). After incubation for 18-24 hours at 35-37°C, the plates were examined for growth. The MIC of the antibiotic was defined as the concentration at which growth was inhibited. MIC values were evaluated for both of the susceptibility breakpoints: ≤2mg/L and ≤4mg/L (4,7).

The quality-control strain used was *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, and it was assessed at the same time as the test strains.

## Results

The antimicrobial activity of colistin against the multidrug-resistant gram-negative nosocomial isolates is summarized in Table 1. Fifty-two of 55 *P. aeruginosa* isolates (94.1%), and 46 of 48 *A. baumannii* isolates (95.8%) were susceptible to colistin. Fifteen of 21 *S. maltophilia* isolates (71.4%) were susceptible, although the MIC<sub>90</sub> is ≥32 mg/L at the breakpoint of ≤4 mg/L. The number of susceptible strains dropped when ≤2 mg/L was accepted as the susceptibility breakpoint: 33 of 55 *P. aeruginosa* isolates (60%) and 41 of 48 *A. baumannii* isolates (85.4%) were susceptible; none of the *S. maltophilia* or *B. cepacia* isolates was susceptible at this breakpoint. Only one (8.4%) of the 8 *B.cepacia* strains were found to be susceptible at the breakpoint of 4mg/L.

## Discussion

The emergence of multidrug-resistant nonfermentative gram-negative bacteria causing nosocomial infections possesses a very serious therapeutic problem. Colistin is a cationic polypeptide antibiotic of the polymyxin type that is rapidly bactericidal against gram-negative bacteria (8). Physicians hesitate to use colistin owing to its increased risk of toxicity (mainly nephrotoxicity) and because of its



restricted spectrum. However this reputation has recently been reconsidered in light of the fact that there are no commercially available alternatives for treatment of resistant strains (9).

According to published reports, colistin is bactericidal against *P. aeruginosa* and *A. baumannii* but has no activity against *B. cepacia*, *Proteus* spp., *Serratia* spp., *Providencia* spp., or *Edwardsiella* spp. (10). The results of this study are in broad agreement with other published data and confirm that colistin maintains useful in vitro activity against *P. aeruginosa* and *A. baumannii*, and for some strains of *S. maltophilia*, and has no activity against *B. cepacia* when  $\leq 4$  mg/L is accepted as the susceptibility breakpoint (4,7, 10). The Working Party on Antibiotic Sensitivity Testing of the British Society of Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) has recommended this breakpoint concentration ( $\leq 4$ mg/L) for colistin (4). The susceptibility breakpoint for colistin as measured by broth dilution methods has not been established by current National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) guidelines. It was last available in the 1981 NCCLS Approved Standard M2-A2-S2; however, with the very restricted use of polymyxins, the published information was later withdrawn.

Disc diffusion methods are not recommended because of technical difficulties with the agar diffusion of colistin. Broth dilution titers of  $\leq 2$ mg/L have been accepted as a provisional susceptibility breakpoint by Gales and coworkers (7). In this study, results were interpreted according to the BSAC criteria (4), and 95.8% of *A. baumannii* strains, 94.1% of *P. aeruginosa* strains, and 71.4% of *S. maltophilia* strains were susceptible, whereas the majority of *B. cepacia* strains were resistant. According to these results, colistin may be a good therapeutic option in the treatment of severe infections caused by multidrug-resistant *P. aeruginosa* and *A. baumannii*. However, when the breakpoint concentration of  $\leq 2$ mg/L is applied, the susceptibility rate of *P. aeruginosa* drops from 94.1% to 60%, and for *A. baumannii* from 95.8% to 85.4%. None of the *S. maltophilia* and *B. cepacia* strains is susceptible. This makes the treatment decision difficult, especially for the very common nosocomial pathogen, multidrug-resistant *P. aeruginosa*. Additionally, colistin is no longer an option in the treatment of another difficult-to-treat pathogen, *S. maltophilia*. Determining which breakpoint correlates with better clinical success is important because there are few published studies evaluating the value of colistin in nosocomial infections caused by gram-negative bacteria (3,8,10,11). Colistin also has been used successfully against *Klebsiella pneumoniae*-associated sepsis (9). A reference value is needed to guide antimicrobial therapy.

Besides colistin alone, antibiotic combinations including colistin will be a new therapeutic option for the treatment of multidrug-resistant strains, if in-vitro data correlate well with clinical studies (1,5,12). Again, determining a standardized breakpoint is important for interpretation of these synergy studies.

Further investigations evaluating which breakpoint correlates with the clinical success of colistin are warranted for improved outcomes in laboratory-assisted treatment of nosocomial infections caused by multidrug-resistant non-fermentative gram-negative bacilli.

## References

1. Giamarellos-Bourboulis EJ, Karnesis L, Giamarellou H. Synergy of colistin with rifampin and trimethoprim/sulfamethoxazole on multidrug-resistant *Stenotrophomonas maltophilia*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 44: 259-63.
2. Stein A, Raoult D. Colistin: An antimicrobial for the 21st century? *Clin Infect Dis* 2002; 35:901-2.
3. Levin AS, Barone AA, Penco J et al. Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis* 1999; 28:1008-11.
4. Cathpole CR, Andrews JM, Brenwald N et al. A reassessment of the in-vitro activity of colistin sulphomethate sodium. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39:255-60.
5. Gunderson BW, Ibrahim H, Hovde LB, et al. Synergistic activity of colistin and ceftazidime against multi-antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:905-9.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically - Sixth Edition: Approved Standard M7-A6. NCCLS, PA, USA, 2003.
7. Gales AC, Reis AO, Jobes RN. Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: *Rev Clin Microbiol* 2001; 39:183-90.
8. Markou N, Apostolakis H, Koumoudiou C et al. Intravenous colistin in the treatment of sepsis from multiresistant gram-negative bacilli in critically ill patients. *Crit Care* 2003; 7:R78-83.
9. Karabinis A, Paramythiotou E, Petropoulou DM et al. Colistin for *Klebsiella*-associated sepsis. *Clin Infect Dis* 2004; 38:e7-9.
10. Linden PK, Kusne S, Coley K et al. Use of parenteral colistin for the treatment of serious infection due to antimicrobial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2003; 37:e154-60.
11. Montero JG, Ortiz-Leyla C, Jimenez-Jimenez FJ et al. Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP). *Clin Infect Dis* 2003; 36:1111-8.
12. Giamarellos-Bourboulis EJ, Xirouchaki E, Giamarellou H. Interactions of colistin and rifampin on multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001; 40:117-20.

# Safra oluşumunda rol oynayan transport proteinleri

*Transport proteins in bile production*

Bilge Ceydilek, Ali Reşit Beyler

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Son yıllarda safra oluşumuyla ilgili yeni görüşler ortaya çıkmış ve yeni bilgiler ışığında hastalıkların oluşum mekanizmaları aydınlanmaya başlamıştır. Bu derlemede, safra oluşumunda rol oynayan taşıyıcı proteinleri tanımlamak ve bugüne kadar bu konuda elde edilmiş olan bilgi birikimini sunmak amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: **safra oluşumu, transport proteinler, kolestaz**

New opinions in the production of bile have been reporting today. In the light of these opinions, the mechanism of development of bile ducts diseases has gradually become clear. In this review, it was aimed to determine the transport proteins in bile production and present the recent literature about them.

Key words: **bile production, transport proteins, cholestasis**

## Safra asitleri

Safra, karaciğerde safra kanaliküllerinde oluşan, plazmayla izo-ozmotik, sarımsı yeşil renkte bir sıvıdır. Günde ortalama 600-1200 mL salgılanır, pH'sı 7.8'dir (1). Safra tuzları safranın en önemli organik bileşimidir. Safra asitleri hepatositte taurin ve glisin ile konjuge edilir. Oluşan primer safra asitleri kolik asit ve kenodeoksikolik asittir; safrada 2:1 oranında bulunurlar. Safra asitleri çok basamaklı bir yolla kolesterolden sentezlenirler ve 24 karbon atomu içerirler. Yapısında 2 veya 3 adet hidroksil ve 1 adet karboksil grubu bulunur. Karboksil grubunun pKa'sı 6 civarında olduğu için, fizyolojik pH'da tam olarak iyonize olmazlar. Safra asitlerinin yapısına taurin ve glisin eklenmesiyle pKa düşer ve fizyolojik pH'da tam iyonize olurlar; safrada bulunan form da safra tuzlarıdır. Glisin formunun taurin formuna oranı 3:1'dir. Kolonda bulunan bakteriler, 7 $\alpha$ -hidroksilaz enzimi ile primer safra asitlerinden bir hidroksil grubu çıkararak sekonder safra asitlerini (deoksikolik asit ve litokolik asit) oluşturur veya glisin ve taurini safra tuzlarından ayırabilirler. Safra tuzlarının yaklaşık % 90'ı terminal ince barsaktan reabsorbe olur. Bunun yaklaşık 1/3'ü proksimal ince barsaktan difüzyonla, geri kalanı da distal ileumdan aktif transportla gerçekleşir. Portal sisteme geçen safra tuzları, sinüzoidlerden tekrar hepatosite alınır (2). Enterohepatik sirkülasyon günde 6-12 kez tekrarlanır ve böylece 3-4 g'lık bir safra asiti havuzu oluşur. Dışkıyla günde sadece 0.5 g. safra tuzu atılır. İdrarla kaybedilen 0.5 g.'la birlikte günlük toplam safra asiti kaybı 1 gramı bulmaktadır. Bu kayıp, karaciğerde kolesterolden "de novo" safra asiti sentezi ile kompanse edilir. Yeni sentezlenen safra asitleri safranın sadece % 3' ünü oluşturmaktadır. Safra tuzlarından ursodeoksikolik asit kolehepatik şant yoluna katılabilmektedir (Safra kanalı hücrelerine tekrar emilir ve periduktular kapiller pleksusa geri dönerek hepatosite alınır ve yeniden safraya karışır).

Geliş tarihi: 09.11.2004 • Kabul tarihi: 14.02.2005

Yazışma adresi

Bilge Ceydilek

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı,

Ankara

Tel : 0505 263 5853

Faks : (312) 3103446

E-mail : bilge\_neydilek@myinet.com

**Tablo 1.** Hepatik taşıyıcı proteinler

Taşıyıcı protein	Lokalizasyonu	Substratı	Genin ismi
NTCP-insan	Bazolateral	Safra asitleri(SA)	SLC10A1
Ntcp-sıçan	Bazolateral	SA	Slc10a1
OATPB-insan	Bazolateral	Organik anyonlar(OA)	SLC21A9
OATPC-insan	Bazolateral	SA, bilirubin, diğer OA	SLC21A6
OATP8-insan	Bazolateral	SA,OA	SLC21A8
Oatp1-sıçan	Bazolateral	SA,OA	Slc21a1
Oatp2-sıçan	Bazolateral	SA,OA	Slc21a5
Oatp4-sıçan	Bazolateral	SA,OA	Slc21a10
MRP3-insan	Bazolateral	OA, SA, bilirubin	ABCC3
Mrp3-sıçan	Bazolateral	SA,OA	Abcc3
MRP2-insan	Kanaliküler	OA, bilirubin	ABCC2
Mrp2-sıçan	Kanaliküler	OA, bilirubin	Abcc2
BSEP-insan	Kanaliküler	SA	ABCB11
Bsep-sıçan	Kanaliküler	SA	Abcb11

### Safra tuzları ve bilirubin transport aşamaları

1. Hepatosit içine alınma
1. Hepatosit içinde transport
2. Hepatositten safra kanalikülüne atılma

#### Hepatosit içine alınma

Karaciğer sinüzoidlerinin spesifik yapısı, endotelial pencerelerden proteine bağlı maddelerin “Disse” aralığına geçişine izin verir. Hepatositin bazolateral “uptake” sistemi albuminden safra tuzlarını ve bilirubini ayırıp alabilir (3).

Enterohepatik sirkülasyondan gelen safra tuzlarının sinüzoidal kandan ilk geçişte alımı, safra tuzunun yapısına bağlı olarak, sistemik safra tuzu konsantrasyonundan bağımsız %75-90 arasında değişir (4-5). Fizyolojik koşullarda, safra tuzlarının hepatosit içine alınımı periportal hepatositlerde daha belirgin olarak gerçekleşir. Bunun sonucunda, zon 1 (periportal) ve zon 3 (perivenöz) hepatositler arasında bir gradiyent farkı ortaya çıkar (6).

Safra tuzları ve organik anyonların hepatosite alınımında 2 önemli taşıyıcı sistem bulunmaktadır. Birincisi Na-taurokolat kotransport proteini (NTCP) tarafından gerçekleştirilen Na bağımlı transporttur. Na/K ATPase’in oluşturduğu elektrokimyasal gradiyent sayesinde, 2 Na ve bir safra asiti hücre içine alınır. İkinci sistem Na’dan bağımsız çalışmaktadır ve organik anyon taşıyıcı polipeptid ailesi (OATP) ismiyle adlandırılmaktadır.

#### Na-taurokolat kotransport protein (NTCP)

Bu protein sıçanlarda (Ntcp→Slc10a1) (7), farelerde (Ntcp1/2→Slc10a1) (8), tavşanlarda (9) ve insanlarda (10) (NTCP→SLC10A1) karaciğer dokusundan izole edilmiş

tir. Sıçanlarda Ntcp 362 aa, insanlarda NTCP ise 349 aa içermekte ve aminoasitler arasında %77 oranında benzerlik bulunmaktadır (11). Bu taşıyıcı protein hepatositin bazolateral (sinüzoidal) membranında yerleşmiştir. Proteinin N terminali hücre dışında, C terminali ise sitoplazmada yerleşmiştir, NTCP hücre membranını 7-9 kez katetmektedir (7,10). Her seferinde 2 Na ve bir safra tuzu molekülü taşınır. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, gestasyonun 18-20. günlerinde Ntcp ekspresyonu ve Na bağımlı safra tuzu alımı birbirine paralel olarak bulunmuş (12,13), başka bir çalışmada ise, in situ sıçan karaciğerinde rejenerasyon sırasında ve sıçan hepatosit primer kültürlerinde Ntcp ekspresyonu ile Na- taurokolat transportunda paralel düşüşler görülmüştür (14). *Xenopus laevis* oositlerinde, Ntcp ekspresyonunun spesifik inhibisyonu sonrasında Na- taurokolat kotransportunun %95 azaldığı belirlenmiştir (15). NTCP proteininin geni insanlarda 14, farelerde 12, sıçanlarda 6q24 üzerinde yerleşmiştir. Gen ekspresyonu ile protein sentezi üzerinden regülasyon sağlanır. Ntcp promoteri Hex geni üzerinde gösterilmiş, Hex proteininin, hepatosit oluşum ve diferansiyasyonunda önemli bir transkripsiyonel faktör olduğu bildirilmiştir (16). Sıçanlarda endotoksinle indüklenmiş kolestazda HNF1 $\alpha$  (hepatosit nükleer faktör 1 $\alpha$ ) aktivitesinde düşüklük, buna paralel olarak da Ntcp gen ekspresyonunda azalma görülmüştür (17). HNF1 $\alpha$  ve HNF4 $\alpha$  bulundurmayan farelerde de Ntcp gen ekspresyonunun düşük olduğu saptanmıştır (18,19). HNF3 $\beta$ ’nin artışı ise Ntcp’yi baskılamaktadır (20). Kolestazda artan safra asitleri Farnesoid X reseptör ya da safra asit reseptörünü (FXR/BAR) indükler, indüklenen FXR/BAR SHP-1’i

aktive eder ve sonuçta Ntcp geni down regüle olur (21). Ayrıca FXR/BAR, Ntcp gen aktivasyonunda transaktivatör olan RXR:RAR'ı (retinoid X reseptör ve retinoik asit reseptör heterodimeri) inhibe eder ve sonuçta yine Ntcp baskılanır. Bu olay, kolestazda tekrarlayan hepatoselüler safra asiti hasarından koruyan negatif "feedback" bir etki oluşturur.

Sıçanlardaki bulgulara benzer şekilde, ekstrahepatik biliyer atrezili çocuklarda NTCP mRNA düzeyleri düşük bulunmuş ve başarılı bir portoenterostomi ile biliyer drenaj yeniden sağlandığında mRNA artışı gözlenmiştir (23).

Ntcp regülasyonunun gen transkripsiyonu ile düzenlenmesi, uzun süren bir olaydır. Hızlı bir regülasyon istendiğinde hücre içi cAMP artışı gereklidir. Hücre içinde cAMP arttığında, önceden varolan Ntcp veziküller havuzundan plazma membranındaki aktin sitoskeletonlara hızlı bir Ntcp transportu olmaktadır (22). Böylece, fizyolojik uyarılara cevapta hepatosite bazolateral safra tuzu alımının kısa süreli regülasyonu sağlanmış olmaktadır.

### Organik anyon taşıyıcı polipeptidler (OATPs)

Multispesifik proteinlerdir. Safra tuzları, bromosülfotalein, bilirubin, steroidler, tiroid hormonları, peptidler, çok sayıda ilaç OATP'lerin substratı arasındadır. NTCP'nin tersine sadece karaciğer dokusunda değil, beyin, böbrek, akciğer ve barsaklarda da gösterilmişlerdir.

Sıçanlarda, substrat olarak safra tuzlarını kullanan karaciğer yerleşimli 3 adet Oatp tanımlanmıştır: 1. Oatp1 (Slc21a1), 2. Oatp2 (Slc21a5), 3. Oatp4 (Slc21a10). Oatp1 670 aa içeren, membranı 12 kez kateden, 80 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. Sadece karaciğer bazolateral membranında bulunmaktadır. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, postnatal ilk 15 günde karaciğerde Oatp1 ekspresyonu gösterilememiştir. Bu da Oatp1'nin ekstrahepatik sirkülasyon oluşumunun erken dönemlerinde bir rolü olmadığını düşündürmektedir. Ntcp gen regülasyonunda olduğu gibi, HNF1 $\alpha$  ve HNF4 $\alpha$  inhibe edilince Oatp gen ekspresyonu da inhibe olmaktadır (18,19). Ekstraselüler matrikste bulunan ATP ile Oatp1 molekülünün serin grubunun fosforillenmesi, membranda Oatp1 bulunmasına rağmen fonksiyonel "down regülasyon"a neden olmaktadır ki patolojik durumlarda bu da göz önünde bulundurulmalıdır (24). Oatp2, Oatp1 ile %77 aa benzerliği göstermektedir ve substrat spesifiteleri aynıdır. Sıçanların beyinde ve karaciğer bazolateral membranında izole edilmiştir. Oatp1 lobülde homojen dağılırken Oatp2 perivenöz hepatositlerde daha yoğun olarak bulunmaktadır (santral veni çevreleyen 1. ve 2. sıra hücreler hariç). Sıçanlarda östrojenle oluşturulan kolestaz modelinde Ntcp ve Oatp1 down regüle olurken, perivenöz hepatositlerde safra tuzu trans-

portunun devam ettiği görülmüştür (25). HNF1 $\alpha$  blokajı Oatp2'de de down regülasyona yol açmaktadır (18). Oatp4 hepatosit bazolateral membranında bulunmakta ve Oatp1 ve 2 ile % 43-44 benzerlik göstermektedir. Afiniteleri farklı olsa da substratları benzerdir. Oatp4'ün gen ekspresyonu konusunda yeterli veri yoktur.

İnsan karaciğerinde bulunan organik anyon taşıyıcı polipeptidler OATPA, OATPB, OATPC ve OATP8'dir. OATPC en önemlisidir (SLC21A6); bugüne kadar OATP2-OATP6-LST-1 gibi değişik isimlendirmeler yapılmıştır. OATPC sadece insan hepatositlerinin bazolateral membranında izole edilmiştir. Diğer OATP'lerden farklı olarak, substratları arasında bilirubin de bulunmaktadır (26). OATP8 hepatosit bazolateral membranında bulunmaktadır; digoksin gibi çok sayıda substratı olmasına rağmen safra tuzu ve bilirubin taşınmasında rolü yoktur. OATP8 ve OATPC'nin genleri 12p12'de yerleşmiştir ve %80 identiftirler. Ekspresyonları HNF1 $\alpha$  ile kontrol altındadır. Beyin dokusunda gösterilen OATPA (SLC21A3), ilaç ve opioidlerin kan beyin bariyerinden geçişinde önemli rolü bulunmaktadır. Ancak, hepatosit bazolateral membranında da gösterilmiştir ve safra tuzu transportunda küçük bir rolü vardır. OATPB (SLC21A9) hepatosit bazolateral membranında bulunur, ancak substratları içinde safra tuzları ya da bilirubin yoktur. OATPA, OATPC, OATP8 ile Oatp2 ve Oatp4 benzer genomik organizasyona sahiptir.

Klinik çalışmalar, primer sklerozan kolanjitli hastalarda OATPA mRNA ekspresyonunun arttığını göstermiştir. Kolestazda OATPA ters bir etkiyle kolestatik hepatositlerden organik anyonları dışarı atıyor olabilir (27). Alkol ve inflamasyonun indüklediği kolestatik hepatositte, primer sklerozan kolanjitte, primer biliyer sirozda OATPC molekülü azalmaktadır.

Bazolateral yerleşimde bir taşıyıcı protein daha bulunmaktadır. MRP3 (ABC-C3) olarak isimlendirilen bu protein, hepatositte portal kana safra tuzu akışına neden olmaktadır. Fizyolojik şartlarda bu durum ihmal edilebilir düzeydedir. Ancak, kolestatik durumlarda MRP3 ekspresyonu artmakta ve kesintiye uğrayan safra kanalikülüne safra akışını kompanse etmektedir. İnsanlarda "Dubin Johnson sendromu"nda bu olay görülmektedir (28).

### Hepatosit içinde bilirubin ve safra tuzu transportu

Fizyolojik koşullarda safra tuzları hepatosit içindeki sitozolik proteinlere bağlanmaktadır. Bazolateral ve kanaliküler membranlar arasındaki konsantrasyon farkından dolayı, safra tuzları kanaliküler membran boyunca yayılmaktadır. Sıçanlarda 3 $\alpha$ -hidroksisteroid dehidrogenaz (3 $\alpha$ -HSD), glutatyon S-transferaz (ligandin-Yprotein), "liver-fatty acid binding protein" (L-FABP, Zprotein) ve in-

sanlarda 36-kDa ağırlığında bir safra asiti bağlayan protein tanımlanmıştır. İnsanlarda tanımlanan protein diğerlerine göre safra tuzlarına daha yüksek afiniteyle bağlanmaktadır, ancak bu proteinin fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Sıçanlarda HNF1 $\alpha$  kaybı, L-FABP ve 3 $\alpha$ -HSD'de azalma ile sonuçlanmaktadır. Yine FXR/BAR'dan yoksun farelerde L-FABP ekspresyonu tamamen kaybolmaktadır.

Hepatosit içinde safra tuzu yükünün arttığı durumlarda hidrofobik safra tuzları membranla çevrili veziküller içinde birikmekte ve veziküller yardımıyla taşınmaktadır. Bir mikrotübül inhibitörü olan kolşisin, litokolat ve ursodeoksikolatın vezikül içinde birikimini azaltmaktadır, ancak kolat ve kenodeoksikolat üzerinde çok az bir etkisi bulunmaktadır (29, 30).

Bilirubin hepatosit içinde ligandin ve Z proteine bağlanmaktadır. Ligandin (GST izomeri) bilirubine en yüksek afiniteyle bağlanmaktadır. Ligandinle birlikte bilirubin endoplazmik retikuluma taşınmakta, burada UDP-glukronil transferaz enzimi ile konjuge edilmektedir. Crigler-Najjar Sendromu tip1'de bu enzimin komplet yokluğu, tip2'de ise enzimin %10 aktivitesi bulunmaktadır. Gilbert's Sendromunda da enzim %30 aktivite ile çalışmaktadır. Safra tuzu ve bilirubin hepatosit içindeki transport mekanizmaları hakkındaki bilgilerimiz bugün hala yetersiz kalmaktadır.

#### *Kanaliküler safra tuzu ve bilirubin sekresyonu*

Kanaliküler membranda 2 önemli taşıyıcı bulunmaktadır: 1. "Bile salt export pump" (BSEP), 2. "Multidrug rezistans protein 2" (MRP2). BSEP safra asitlerinin taşınmasında, MRP2 ise bilirubin taşınmasında önemli role sahiptir. Progresif intrahepatik kolestazda BSEP'de çok sayıda mutasyon tarif edilmiştir (31). Progresif intrahepatik kolestaz serum GGT düzeyi düşüklüğü, serum safra tuzu düzeyi artışı olan kalıtsal, progresif bir karaciğer hastalığıdır. Kanaliküler BSEP ekspresyon yokluğu, safrada normal safra tuzu miktarının %1'i kadar safra tuzu ile sonuçlanmaktadır. Farelerde Bsep bloke edildiğinde büyüme geriliği, hepatosteatoz ve ılımlı bir kolestaz tablosu oluşmaktadır (32). Bsep'den yoksun farelerde taurokolatın kanaliküler sekresyonu tamamen durmaktadır. Kanaliküler sekresyon kandan aşırı safra tuzu transportu olan durumlarda hız kısıtlayıcı bir basamaktır. Metabolik ihtiyaca göre, transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel regülasyonla adaptasyon sağlanmaktadır. Safra akışına neden olan bir yemekten sonra, FXR/BAR bağımlı mekanizmayla kanaliküler Bsep gen ekspresyonu artmaktadır. HNF1 $\alpha$ 'nın Bsep

ekspresyonu üzerinde bir etkisi bulunmamaktadır. Kolestatik ilaçlarla (siklosporinA, rifampisin, glibenklamid) kanaliküler Bsep fonksiyonu inhibe edildiğinde serumda safra tuzu konsantrasyonu, tıpkı kolestatik karaciğer hasarında olduğu gibi artmaktadır (33).

MRP2 ilk olarak kanaliküler multispesifik organik anyon transporter (CMOAT) olarak adlandırılmıştır. 1996 yılında sıçan karaciğerinde insan MRP1 proteini ile %47.6 benzerlik gösteren bir protein izole edilmiş ve bunun cmoat ile aynı protein olduğu görülmüştür. Daha sonra insan cMOAT (MRP2) 'si tanımlanmıştır. 1545 aa içeren, 190 kDa ağırlığında, MRP1 ile %46 benzerlik gösteren bir moleküldür. MRP2'nin substratları bilirubin monoglukronat ve bilirubin diglukronattır. Dubin Johnson sendromlu hastalarda, MRP2 kanaliküler membranda gösterilememiştir (34). Yine Dubin Johnson sendromlu hastalarda MRP2'de 13 adet gen mutasyonu rapor edilmiştir. İnsanlarda 6 adet MRP tanımlanmıştır. Rotor Sendromu'nda ise, membranda taşıyıcı protein olmasına rağmen bilirubin bu proteine bağlanamamaktadır.

Kanaliküler membranda MDR3 denilen bir protein taşıyıcı daha bulunmaktadır. MDR3/Mdr2 fosfolipidlerin kanaliküle geçişini sağlamaktadır. MDR3 ekspresyon defekti insanlarda görülen progresif familial intrahepatik kolestaz tip3 ile ilişkilidir (35). Progresif familial intrahepatik kolestaz tip3 serum safra tuzu ve GGT yüksekliği ile giden kalıtsal bir karaciğer hastalığıdır. Heterozigot MDR3 mutasyonunun gebelerde görülen intrahepatik kolestaz ile ilişkili olabileceği öne sürülmektedir (23). Obstrüktif kolestazda MRP3 artışı olduğu gibi kanaliküler MDR3 de artmaktadır; bu olay kolestatik karaciğer hasarını sınırlandırmaya yardımcı olabilir.

#### **Sonuç**

Safra oluşumunda rol oynayan transport proteinleri hakkındaki bilgilerimiz arttıkça, enterohepatik fizyoloji ve patofizyolojiyi anlamamız da kolaylaşmaktadır. Kolestazda taşıyıcı proteinlerde meydana gelen değişikliklerin moleküler düzeyde tanımlanması, spesifik tedavi olanakları için potansiyel hedef noktalar ortaya koymaktadır. Bu sayede, gelecekte herediter transport defektlerinin gen tedavisi ile çözüme ulaşması umut edilmektedir. Transport proteinlere yönelik çalışmalar devam ettikçe kolestatik karaciğer hastalıklarında yeni tedavi seçeneklerinin de ortaya çıkması kaçınılmaz bir durum gibi görünmektedir.

**Kaynaklar**

1. Saunders WB. editor. Guyton & Hall Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1996; p.886.
2. Champe PC, Harvey RA. editors. Lippincott's Biyokimya. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1997; p. 210-213.
3. Reichen J. The role of the sinusoidal endothelium in liver function. *News Physiol. Sci.* 1999; 14:117-21.
4. Feldman M, Schorschmidt BF, Sleiseger MH. editors. *Gastrointestinal and Liver Disease*. Philadelphia/London:Saunders, 1998; p.937-48.
5. Meier PJ. Molecular mechanisms of hepatic bile salt transport from sinusoidal blood into bile. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1995; 269:G801-G12.
6. Groothuis GM, Hardonk MJ, Keulemans KP et al. Autoradiographic and kinetic demonstration of acine heterogeneity of taurocholate transport. *Am.J.Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1982; 243:G455-G62.
7. Hagenbuch B, Steiger B, Foguet M et al. Functional expression cloning and characterization of the hepatocyte Na/bile acid co-transport system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*1991; 88:10629-33.
8. Cattori V, Eckhardt U, Hagenbuch B. Molecular cloning and fonctional characterization of two alternatively sliced Ntcp isoforms from Mouse liver. *Biocim. Biophys. Acta.* 1999; 1445:154-59.
9. Kramer W, Stengelin S, Baringhaus KH et al. Substrate specificity of the ileal and the hepatic Na/bile acid cotransporters of the rabbit 1. transport studies with membrane vesicles and cell lines expressing the cloned transporters. *J. Lipid Res.* 1999; 40:1604-17.
10. Hagenbuch B, Meier PJ. Molecular cloning chromosomal localization and function characterization of human liver Na/bile acid cotransporter. *J. Clin. Invest.* 1994; 93:1326-31.
11. Meier PJ, Eckhardt U, Schroder A, et al. Substrate specificity of sinusoidal bile acid and organic anion uptake systems in rat and human liver. *Hepatology.* 1997; 26:1667-77.
12. Hardikar W, Anonthanarayanan M, Suchy FJ. Differential oncogenic regulation of basolateral and canalicular bile acid transport proteins in rat liver. *J. Biol. Chem.* 1995; 270:20841-46.
13. Suchy FJ, Bucuvalas JC, Goodrich AL et al. Taurocholate transport and Na-K-ATP ase activity in fetal and liver plasma membrane vesicles. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1986; 251:G665-73.
14. Gren RM, Gollon JL, Hagenbuch B, et al. Regulation of hepatocyte bile salt transporters during hepatic regeneration. *Am.J.Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1997; 273:G621-G27.
15. Hagenbuch B, Scharshmidt BF, Meier PJ. Effect of antisense oligonucleotides on the expression of hepatocellular bile acid and organic anion uptake systems in *Xenopus laevis* oocytes. *Biochem.J.* 1996; 316:901-4
16. Keng VW, Yagi H, Ikkva M, et al. Homeobox gene Hex is essential for onset of Mouse embrionic liver development and differentiation of the monocyte lineage. *Biochem. Biophys. Res. Common.* 2000; 276:1155-61
17. Traziner M, Arrese M, Lee YH et al. Endotoxin downregulates rat hepatic Ntcp gene expression via decreased activity of critical transcription factors. *J.Clin.Invest.* 1998; 101:2092-100.
18. Shih DQ, Busen M, Sehayek E et al. Hepatocyte nuclear factor-1x is an essential regulator of bile acid and plasma cholesterol metabolism. *Nat.Genet.* 2001; 27:375-82
19. Hayhurst GP, Lee YH, Lambert G et al. Hepatocyte nuclear factor 4 x (nuclear factor 2 A1) is essential for maintenance of hepatic gene expression and lipid homeostasis. *Mol.Cell.Biol.* 2001; 21:1393-403.
20. Rausa FM, Tan Y, Zhou H et al. Elevated levels of hepatocyte nuclear factor 3B in mouse hepatocytes influence expression of genes involved in bile acid and glucose homeostasis. *Mol. Cell. Biol.* 2000; 20:8264-82.
21. Sinal CJ, Tohkin M, Miyata M et al. Targeted disruption of the nuclear receptor FXR / BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell.* 2000; 102:731-44.
22. Dranoff JA, Mc Clure M, Burgstahler AD et al. Short term regulation of bile acid uptake by microfilament – dependent translocation of rat Ntcp to the plasma membrane. *Hepatology.* 1999; 30:223-29.
23. M. Trauner. Genetic disorders and molecular mechanism in cholestatic liver disease. *Semin. Gastrointest. Dis.* 2001; 12:66-88.
24. Glavy JS, Wu SM, Wang PJ et al. Down-regulation by extracellular ATP of rat hepatocyte organic anion transport is mediated by serine phosphorylation of Oatp1. *J.Biol.Chem.* 2000;275:1479-84.
25. Lee JL, Boyer JL. Molecular alterations in hepatocyte transport mechanism in acquired cholestatic liver disorders. *Semin.Liver Dis.* 2000;20:373-84.
26. CuimY, König J, Leier I et al. Hepatic uptake of bilirubin and its conjugates by the human organic anion transporting polipeptide SLC 21A6. *J.Biol.Chem.* 2001;276:9626-30.
27. Kullack-Ublick GA, Beuers U, Fahney C et al. Identification and functional characterization of the promoter region of the human organic anion transporting polypeptide gene. *Hepatology.* 1997;26: 991- 997.
28. König J, Rost D, Cui Y et al. Characterization of the human multidrug resistance protein isoform MRP-3 localized to the basolateral hepatocyte membrane. *Hepatology.* 1999;29:1156-63.
29. Wilton JC, Mattheus GM, Burgoyre RD et al. Flourescent choleretic and bile salt take different paths across the hepatocyte: transcytosis of glycolithocholate leads to on extensive redistribution of annexin II. *J.Cell Biol.* 1994; 127:401-10.
30. El Seaidy AZ, Mills CO, Elias E et al. Lack of evidence for vesicle trafficking of flourescent bile salts in rat hepatocyte couplets. *Am.J.Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1997;272:G298-G309.
31. Strautnikes SS, Bull LN, Knisely AS et al. A gene encoding a liver-specific ABC transporter is mutated in progressive familial intrahepatic cholestasis. *Nat.Genet.* 1998;20:233-38.
32. Wang R, Salem M, Yousef IM et al. Targeted inactivation of sister of P-glycoprotein gene (spgp) in mice results in nonprogressive but persistent intrahepatic cholestasis. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* 2001;98:2011-16.
33. Stieger B, Fattinger K, Madon J et al. Drug and estrogen-induced cholestasis through inhibition of the hepatocellular bile salt export pump of rat liver. *Gastroenterology.* 2000;118:422-30.
34. Kartenbeck J, Leuschner U, Mayer R et al. Absence of the canalicular isoform of the MRP gene-encoded conjugate export pump from the hepatocytes in Dubin-Johnson Syndrome. *Hepatology.* 1996; 23:1061-6.
35. De Vree JM, Jacquemin E, Sturm E et al. Matation in the MDR 3 gene cause progressive familial intrahepatic cholestasis. *Proc.Natl. Acad.Sci.USA.* 1998;95:282-87.
36. Kamisako T, Kobayashi Y, Takeuchi K et al. Recent advances in bilirubin metabolism research: the molecular mechanism of hepatocyte bilirubin transport and its clinical relevance. *J. Gastroenterol.* 2000; 35:659-664.
37. Meier PJ, Stieger B. Bile salt transporter. *Annu. Rev. Physiol.* 2002; 64:635-61.
38. Takikawa H. Hepatobiliary transport of bile acids and organic anions. *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.* 2002; 9:443-447.
39. Trauner M, Boyner JL. Bile salt transporters: molecular characterization, function, and regulation. *Physiological Reviews.* 2003,83(2).633-71.

# Hepatic artery aneurysm: Imaging findings

Hepatik arter anevrizması: görüntüleme bulguları

Aysel Türkvtan, R. Sarper Ökten, Esra Kelahmet, Ensar Özdemir, Tülay Ölçer

Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi, Radyoloji Bölümü

Hepatic artery aneurysm is uncommon with an estimated incidence of less than 0.25%. Because most patients are asymptomatic, the diagnosis is usually made as an incidental finding on imaging studies performed for other reasons. Because of their propensity to rupture with potential catastrophic intraperitoneal hemorrhage, early diagnosis is important. Herein, relatively asymptomatic two aneurysms of the hepatic artery of atherosclerotic etiology is presented. The importance of imaging findings in the diagnosis of this condition is discussed and relevant literature is reviewed.

Key words: **Hepatic artery aneurysm, computed tomography, angiography**

Hepatik arter anevrizmaları ender olup, insidansı % 0.25'den daha azdır. Hastaların çoğu asemptomatik olduğu için tanı genellikle başka nedenlerle yapılan görüntüleme tetkikleri sırasında tesadüfen konulur. Hepatik arter anevrizmaları, potansiyel katastrofik intraperitoneal kanamayla rüptüre olmaya eğilimli oldukları için erken tanı önemlidir.

Burada, etyolojisinde aterosklerozun rol oynadığı iki adet HAA'sı bulunan bir olgu sunulmaktadır. Tanıda görüntüleme bulgularının önemi tartışılmış ve ilgili literatür gözden geçirilmiştir.

Anahtar kelimeler: **Hepatik arter anevrizması, bilgisayarlı tomografi, anjiyografi**

The hepatic artery is the fourth common site of intraabdominal aneurysm from any cause following infrarenal aorta, iliac artery and splenic artery (1,2). Hepatic artery aneurysm (HAA) represent approximately 20% of all visceral aneurysms (3). 80% HAAs are extrahepatic and 20% are intrahepatic. 63% of HAAs involve the common hepatic artery, 28% involve the right hepatic artery, 5% involve the left hepatic artery, and 4% both the left and right hepatic arteries (1,2).

## Case report

A 53 year-old female patient presented with 6-month history of right upper abdominal pain. The physical examination was unremarkable. Routine hematological and biochemical profiles were normal.

Gray scale abdominal ultrasonography revealed two well-defined, rounded cystic masses measuring 20 mm and 10 mm in diameter in the region of the porta hepatis.

Doppler sonography, performed to evaluate the vascularity associated with the lesions revealed pulsatile flow within the lesions with a vascular origin. The findings suggested HAA and helical computed tomography (CT) was subsequently performed. Unenhanced CT scan showed two well-circumscribed lesions at the porta hepatis (Figure 1a, 1b). After intravenous administration of 100 ml. of bolus of contrast medium and scanning in early arterial phase (15-

Received: 02.06.2003 • Accepted: 10.11.2004

Corresponding Author

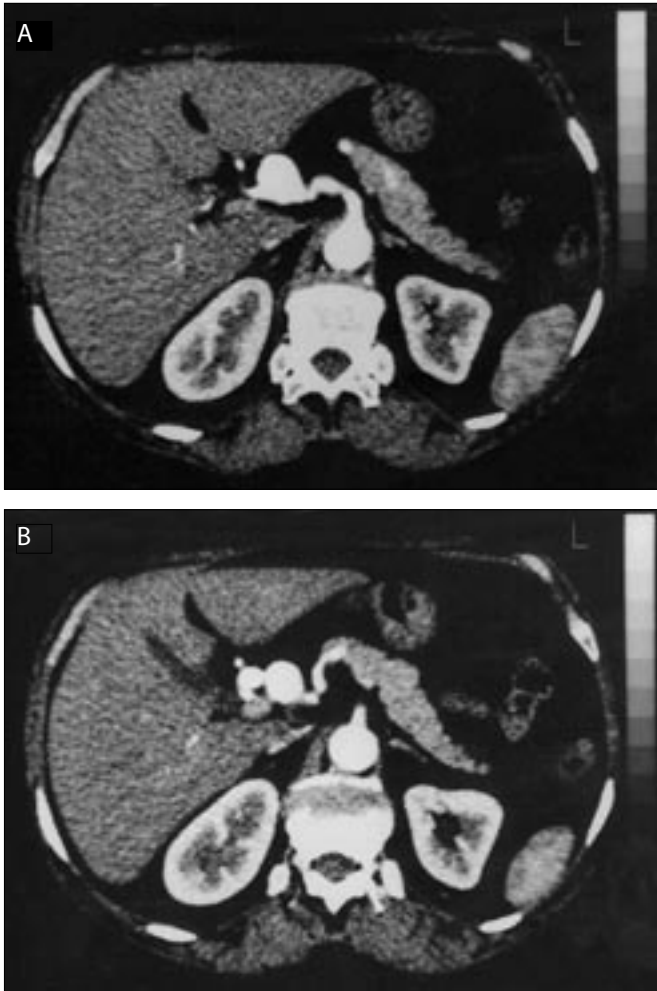
Aysel Türkvtan

Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Radyoloji Bölümü, Ankara

Tel : (312) 306 16 37

Faks : (312) 312 4120

E-mail : ayselturk1@yahoo.com



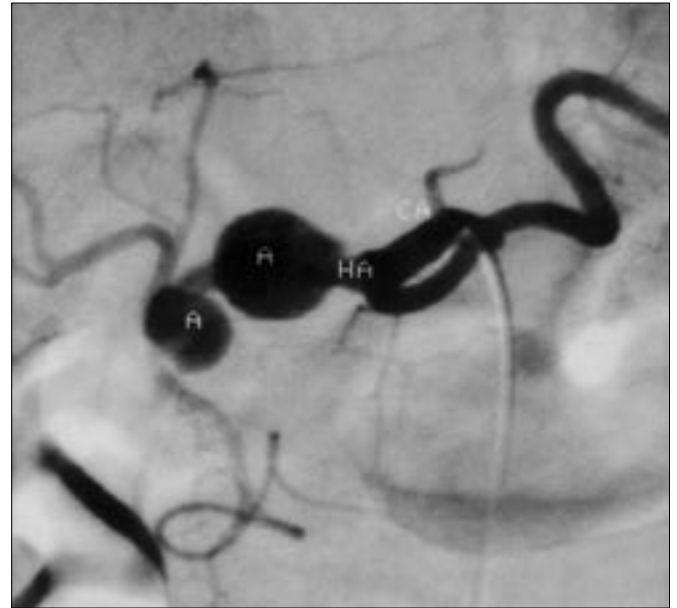
**Figure 1 a,b.** CT scan at the level of the porta hepatis demonstrates two aneurysms of the common hepatic artery

40 seconds) marked enhancement of the lumen of the lesions was noted along the course of the hepatic artery from its origin from the coeliac artery. The diagnosis was confirmed by angiography. An angiogram of the coeliac artery showed two hepatic arterial aneurysms, the one aneurysm was situated at the common hepatic artery and the other one was situated at the bifurcation of the gastroduodenal and proper hepatic artery (Figure 2).

The patient underwent surgical correction of the aneurysms. Histopathology of the specimen was suggestive of atheromatous affection. At follow-up 6 months later the patient was asymptomatic.

### Discussion

There are various etiologies for HAAs. Mycotic aneurysms historically accounted for most HAAs but accounted for only 4% in a recent review (3). HAAs are most frequently caused by atherosclerosis, which is present in as many as 30% of affected patients, and by medial degenera-



**Figure 2.** Selective coeliac axis arteriogram showing two saccular aneurysms of the common hepatic artery (CA: coeliac axis, HA: common hepatic artery, A:aneurysm)

tion, which is present in 24% (1,4). Less common causes are polyarteritis nodosa, tuberculosis, periarterial inflammation (caused by cholecystitis or pancreatitis), fibromuscular dysplasia, trauma, surgery (orthotopic liver transplantation or hepatic tumor embolization) and diagnostic instrumentation (1-4).

HAAs is not initially diagnosed in many cases because the majority of patients with HAAs are asymptomatic prior to rupture (3). In 80 % of the cases rupture of the aneurysms is the first clinical manifestation (5,6). The aneurysms can rupture with equal frequency into the biliary tree or abdominal cavity (3). Of the patients who present with clinical symptoms, abdominal pain is found in 55% and gastrointestinal haemorrhage occurred in up to 46% of symptomatic patients (4). The classic triad of epigastric pain, haemobilia and obstructive jaundice is only present in up to 33% of cases (1-4).

Physical examination is usually normal, although large aneurysms may be associated with a pulsatile mass or an abdominal bruit (1,2,7).

Combining the appropriate imaging techniques makes the definitive of HAAs.

Plain film of the abdomen may occasionally show a curvilinear calcification represently the wall of aneurysm in the right upper quadrant of the abdomen (4,8-10). Contrast studies of the upper gastrointestinal tract may show a deformity of the duodenal curve from external compression (4,8,9).



Endoscopic retrograde cholangiopancreatography or percutaneous transhepatic cholangiography may show biliary dilatation and filling defects, especially in patients with melena (4,8,9).

Ultrasound is an excellent noninvasive method in the evaluation of the liver and porta hepatis for the presence of these lesions. The aneurysm can appear as a mixed echogenic mass with varying proportions of cystic and solid components, depending on the extent of thrombosis. Calcifications can occasionally be seen in the wall (11-13). Doppler ultrasound can aid in differentiating vascular from other types of masses. Color Doppler shows arterial or turbulent flow in the lesion suggestive of it being a mass of vascular origin (1-3). Furthermore, color Doppler ultrasound can differentiate aneurysms from other vascular abnormalities, such as arteriovenous fistulas or malformations. Doppler sonography plays a significant role in the follow-up patients who undergo embolization, allowing unnecessary follow-up angiography to be avoided (1-3,14).

Abdominal CT is often requested in trauma patients. Vessel wall calcification on unenhanced scans usually indicates arteriosclerotic change. Thrombotic deposits in the vessel lumen can be seen as ring-shaped or semilunar internal areas of hypodensity. Images after intravenous contrast medium clearly demonstrate the vessel lumen. An attenuation of 70 HU in the tissues surrounding the aneurysm is a sign of the fresh hemorrhage. While conventional CT can demonstrate an aneurysm, the artery of origin is not always clear. Three dimensional spiral CT may allow a definitive diagnosis to be made prior to angiography in some cases (4,14-17).

Appropriate management of HAA requires detailed angiography. This can confirm the diagnosis, identify any other aneurysms (%20 are multiple), delineate feeding vessel, demonstrate any arterioportal fistula and provide the anatomical information needed for surgery or embolization (1,3,5,17).

Treatment of HAAs is usually in the form of ligation and surgical correction for the extrahepatic aneurysms and transcatheter embolization for the intrahepatic ones (2,4,18).

In conclusion, hepatic artery aneurysms are uncommon lesions that have varied clinical presentations. Early diagnosis is essential because the natural tendency of the lesion is to rupture into peritoneal cavity or surrounding organs. Our case is notable, because two atherosclerotic aneurysms of the hepatic artery are extremely rare with very few cases reported so far and to diagnose a hepatic artery aneurysm before rupture is also unusual.

## References

1. Bachar GN, Belenky A, Lubovsky L et al. Sonographic diagnosis of a giant aneurysm of the common hepatic artery. *J Clin Ultrasound* 2002; 30:300-2.
2. Parmar H, Shah J, Shah B et al. Imaging findings in a giant hepatic artery aneurysm. *J Postgrad Med* 2000; 46:104-5.
3. Chandramohan C, Khan AN, Fitzgerald S et al. Sonographic diagnosis and follow-up of idiopathic hepatic artery aneurysm, an unusual cause of obstructive jaundice. *J Clin Ultrasound* 2001; 29: 466-71.
4. O'Driscoll D, Olliff SP, Olliff JF. Hepatic artery aneurysm. *Br J Radiol* 1999; 72: 1018-25.
5. Komori K, Sonoda T, Ikeda Y et al. Demonstration of hepatic artery aneurysm by subtraction angiography. *Am J Gastroenterol* 1991; 86:1650-3.
6. Sunthornlekha B, Chandaragga S, Sundusadee K et al. Hepatic artery aneurysm: a case report. *J Med Assoc Thai* 1996; 79: 60-4.
7. Hubleue I, Keymeulen B, Delvaux G et al. Hepatic artery aneurysm. Case Report with review of the literature. *Acta Clin Belg* 1993; 48: 246-52.
8. Psathakis D, Muller G, Noah M et al. Present management of hepatic artery aneurysms. *Vasa* 1992; 21: 210-5.
9. Countryman D, Norwood S, Register S et al. Hepatic artery aneurysm. Report of an unusual case and review of the literature. *Am Surg* 1983; 49:51-4.
10. Ibach EG, O'Halloran MJ, Prendergast FJ. Hepatic artery aneurysm: Two case reports and review of the literature. *Aust N Z J Surg* 1997; 67: 143-7.
11. Paoletta LP, Scola FH, Cronan JJ. Hepatic artery aneurysm:an ultrasound diagnosis. *J Clin Ultrasound* 1985; 13:360-2.
12. Rigaux A, Vossen P, Van Baarle A et al. A. Hepatic artery aneurysm: ultrasonic diagnosis. *J Clin Ultrasound* 1986; 14:401-3.
13. Stokland E, Wihed A, Ceder S et al. Ultrasonic diagnosis of an aneurysm of the common hepatic artery. *J Clin Ultrasound* 1985; 13:360-2.
14. Warshauer DM, Keefe B, Maura MA. Intrahepatic hepatic artery aneurysm: computed tomography and color-flow Doppler ultrasound findings. *Gastrointest Radiol* 1991; 16:175-7.
15. Howling SJ, Gordon H, McArthur T et al. Hepatic artery aneurysms: Evaluation using three dimensional spiral CT angiography. *Clin Radiol* 1997; 52:227-30.
16. Zalcman M, Matos C, Van Gansbeke D et al. Hepatic artery aneurysm: CT and MR features. *Gastrointest Radiol* 1987; 12:203-5.
17. Barkin JS, Potash JB, Hernandez M et al. Hepatic artery aneurysm simulating a cystic mass of the pancreas. *Dig Dis Sci* 1987; 32:1196-200.
18. Cooper SG, Richman AH. Spontaneous rupture of a congenital hepatic artery aneurysm. *J Clin Gastroenterol* 1988; 10:104-7.

# Hypertension and cardiac failure aggravated by dehydration in a case of coarctation of the aorta

*Aort koarktasyonlu bir hastada dehidratasyonun neden olduğu hipertansiyon*

Tanıl Kendirli, Ercan Tutar, Nazire Naçar, Filiz Ekici, Semra Atalay, Fatoş Yalçinkaya

*Department of Pediatrics, Ankara University School of Medicine, Ankara, Turkey.*

The coarctation of the aorta is characterized by systemic arterial hypertension above the lesion and normal or decreased blood pressure below it. However we know that severe dehydration is characterized by normo or hypotension. We report a 2-month-old boy with coarctation of the aorta; whose renin-induced hypertension is aggravated by dehydration and controlled by intravenous fluid therapy.

**Key words:** *Coarctation of aorta, dehydration, renin, systemic hypertension.*

Aort koarktasyonu lezyonun yukarisinda sistemik hipertansiyonu ve lezyonun altinda normal veya düşük kan basincıyla karakterizedir. Bununla birlikte ağır dehidratasyonun normo veya hipotansiyonla karakterize olduğunu bilinmektedir. İki aylık aort koarktasyonlu erkek çocukta; reninin uyardığı hipertansiyonun dehidratasyonla belirginleşmesi ve intravenöz sıvıyla tedavisini sunulmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** *Aort koarktasyonu, dehidratasyon, renin, sistemik hipertansiyon.*

**C**oarctation of the aorta (CoA) is congenital narrowing of the aorta, most commonly located just distal to the left subclavian artery at the level of the ductus arteriosus insertion (1). Its morphological features include a posterior indentation of the aorta that may be associated with isthmus or transverse aortic arch hypoplasia, along with various forms of intracardiac lesions (1,2). The coarctation is characterized by systemic arterial hypertension above the lesion and normal or decreased blood pressure below it. Systemic hypertension, found both before and after coarctation repair, has been intensively studied for many years and a variety of theories developed to explain its occurrence (1-3).

We reported a 2-month-old boy with coarctation of the aorta. He was admitted to emergency room with aggravation of hypertension and heart failure, which were stimulated by dehydration. We easily controlled his hypertension and associated heart failure with intravenous fluid therapy.

## Case report

A 2-month-old boy had been followed-up with the echocardiographic diagnosis of postductal coarctation of the aorta, small perimembranous ventricular septal defect (VSD), and bicuspid aorta from postnatal 2nd day.

Two weeks ago when he was seen, he was asymptomatic, well-grown baby. Mild systemic hypertension, and pressure difference between upper and lower extremities (right arm blood pressure (BP): 106/58 mmHg, right leg BP: 68/42 mmHg) were found. An electrocardiogram (ECG) showed sinus tachycardia (150/minute), and increased R voltages in left precordial leads. Cardiothoracic index (CTI) was 0.60 at chest X-ray. His cardiac catheterization and angiog-

Received: 04.20.2004 • Accepted: 10.11.2004

*Corresponding Author*  
Tanıl Kendirli, MD.  
Ankara University School of Medicine  
Department of Pediatrics, Ankara, Turkey  
Tel : (312) 3623030  
Fax : (312) 3620581  
e-mail : tanilkendirli@hotmail.com

raphy demonstrated postductal coarctation of aorta with 30mmHg systolic gradient and perimembranous VSD. Elective surgical repair was planned and he was discharged without therapy.

He was brought to the emergency room, with a generalized tonic-clonic seizure. He was suffering from fever up to 39 °C, diarrhea -5 times a day-, and vomiting -8 times a day-. At the time of his emergency room visit, he was severely dehydrated and, peripheral circulation was poor, he had tachypnea (respiratory rate was 76/minute), dyspnea, and tachycardia (heart rate was 210/minute) with gallop rhythm. He had a harsh pansystolic murmur at the lower left sternal border. Hepatomegaly was found (4 cm below costal margin at midclavicular line). His hypertension was found to be aggravated (right arm blood pressure: 135/105 mmHg). His ECG showed sinus tachycardia (214/minute), and prominent left ventricular hypertrophy. Chest X-ray showed increased dimensions of cardiac shadow (CTI:0.68) and congestion of the lung fields.

His laboratory examinations at admission revealed leukocytosis (21 500/mm<sup>3</sup>), severe metabolic acidosis (pH 7.25, pCO<sub>2</sub> 23.3 mmHg, HCO<sub>3</sub> 10.0 mmol/L, and base deficit -15.5 mmol/L), and normal electrolytes. Renal and hepatic functions were normal. Bacteriologic cultures including blood, urine, stool, and cerebrospinal fluid were all negative. Plasma renin level was 12 ng/dl (0.5-1.9 ng/dl) and plasma aldosterone level was 145 ng/dl (3-35.5 ng/dl). His convulsion was controlled by rectal diazepam. Intravenous fluid resuscitation was immediately started by isotonic saline infusion. Acidosis was controlled by NaHCO<sub>3</sub> infusion.

After the reestablishment of the circulatory volume in the first hospital day, his blood pressure was regressed to the previous levels without any intervention. Tachycardia, tachypnea, dyspnea were all resolved. Increased CTI was returned to original size at 5th day of admission and pulmonary congestion was disappeared. His plasma renin and aldosterone levels re-measured after two weeks and found to be 5.2 ng/dl and 53.9 ng/dl, respectively.

## Discussion

Coarctation of the aorta of varying degrees may occur at any point from the transverse arch to the iliac bifurcation, but 98% occur just below the origin of the left subclavian artery. Patients with coarctation usually present with heart

failure during the first few weeks of life or they are diagnosed during investigation of murmur or hypertension after the neonatal period (1,3,4-6). Although, our patient had no symptoms of heart failure, he was diagnosed too early by echocardiography during the investigation of murmur of small VSD.

Hypertension associated with coarctation is not due to the mechanical obstruction alone, but also involved activated renin-angiotensin-aldosterone system (RAS) (1,2,5-8). An elevated pre-coarctation blood pressure is necessary for the adequate perfusion of kidneys. Thus, increased activation of RAS as a result of severe dehydration to maintain adequate renal blood flow is not an unexpected finding. However, acute additional increment of afterload due to aggravated hypertension led to development of decompensated heart failure in our patient. High levels of renin and aldosterone in this acute setting and decrease of both levels demonstrated the activation of RAS after dehydration therapy. This finding support to the role of RAS in systemic hypertension of the patients with CoA.

In conclusion, we suggest that dehydration may be detrimental in a patient with asymptomatic CoA, causing aggravation of systemic hypertension and decompensated heart failure. It should be remembered that effective intravenous fluid therapy should be encountered a life saving intervention in such a situation.

## References

1. Leandra J, Balfe JW, Smallhorn JF et al. Coarctation of the aorta and hypertension. *Child Nephrol Urol* 1992; 12:124-7.
2. Buchi KF, Seigler RL. Hypertension in the first month of life. *J Hypertens* 1986; 4:525-8.
3. Santos CM, Pontieri V, Neto ML et al. Losartan improves baroreflex control of heart rate of coarcted hypertensive rats. *Am J Physiol* 1995; 269:H812-H8.
4. Salgado HC, Fazan R, Salgado MCO. Vasopressor mechanism in the acute aortic coarctation hypertension. *Braz J Med Biol Res* 1997; 30:447-52.
5. Simsoló R, Grunfeld B, Gimenez M et al. Long-term systemic hypertension in children after successful repair of coarctation of the aorta. *Am Heart J* 1988; 115:1268-73.
6. Choy M, Rocchini AP, Beekman RH et al. Paradoxical hypertension after repair of coarctation of the aorta in children. Balloon angioplasty versus surgical repair. *Circulation* 1987; 75:1186-91.
7. Vincent PA, Vito ED. Rat renal prorenin concentration in experimental hypertension. *Clin Exp Hypertens* 2000; 22:675-86.
8. Buchi KF, Seigler RL. Rapid communication hypertension in the first month of life. *J Hypertens* 1986; 4:525-28.

# Acute viral acalculous cholecystitis due to viral hepatitis A

Hepatit A'ya bağlı akut taşsız kolesistit

Nazan Dalgıç<sup>1</sup>, Erdal İnce<sup>1</sup>, Ergin Çiftçi<sup>1</sup>, Selim Öncel<sup>1</sup>, Meltem Güneş<sup>1</sup>, Suat Fitöz<sup>2</sup>, Ülker Doğru<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara University, School of Medicine, Department of Pediatric Infectious Diseases

<sup>2</sup>Ankara University, School of Medicine, Department of Radiology Ankara, Turkey.

Hepatitis A virus (HAV) is a self-limiting, usually asymptomatic infection that occurs predominantly among children. Although some gallbladder abnormalities such as increased thickness of the gallbladder wall and sludge formation were defined during HAV infection, acute cholecystitis has very rarely been reported. We here report an eleven-year old female patient with acute viral acalculous cholecystitis due to hepatitis A virus infection.

Key words: **Acute viral acalculous cholecystitis, hepatitis A infection**

Hepatit A sıklıkla çocukluk çağında oluşan, genellikle asemptomatik geçirilen, kendi kendini sınırlayan bir enfeksiyon tablosudur. Hepatit A enfeksiyonu süresince safra kesesi duvarında kalınlaşma ve safra çamuru gibi safra kesesi anormallikleri bildirilmesine rağmen akut kolesistit nadir olarak rapor edilmiştir. Hepatit A enfeksiyonuna bağlı akut taşsız kolesistiti olan onbir yaşında bir kız hasta sunulmaktadır.

Anahtar kelimeler: **Acute viral taşsız kolesistit, hepatit A enfeksiyonu**

**A**cute hepatitis A virus (HAV) infection is frequently encountered in developing countries especially in children (1). Extra-hepatic manifestations of hepatitis A include arthralgias, cutaneous vasculitis, cryoglobulinemia, and hemophagocytic syndrome. These manifestations are rare; when they do occur, they resolve with the resolution of hepatitis (2).

During HAV infection, the gallbladder may undergo changes that include decreased fasting volume, increased wall thickening and appearance of biliary sludge (3). Gallbladder involvement has been described in 50 to 98% of adults with acute viral hepatitis, mild gallbladder wall thickening (GBWT) being the most common sonographic finding (4). However this feature, especially acute viral cholecystitis due to viral hepatitis A, has rarely been described in children (5, 6).

Here we report an eleven-year old girl with acute viral acalculous cholecystitis due to hepatitis A virus infection.

## Case report

An eleven-year old girl was admitted to the emergency department with the complaints of fever, fatigue, nausea, vomiting, abdominal pain and loss of appetite. Her complaints had begun one week ago. In the last four days, she was having dark urine and pale stool. Her medical history was unremarkable except for an episode of urinary system infection in the past year. There was no history of medication or drug abuse.

Received: 04.30.2004 • Accepted: 10.11.2004

Corresponding author

Nazan Dalgıç

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Enfeksiyon Bilim Dalı, Ankara

Tel : (312) 362 3030/ 6589

Faks : (312) 362 0581

E-mail : nazandalgic@ttnet.net.tr

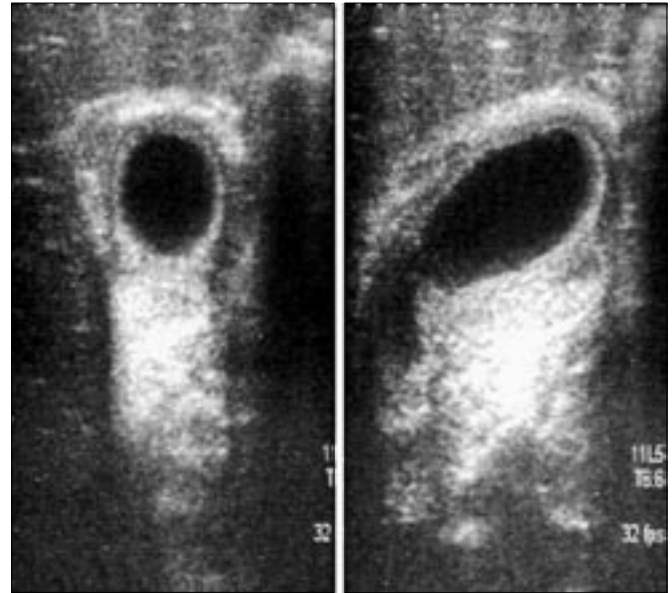
Physical examination showed body temperature of 37,5°C, heart rate of 78/minute, breath rate of 20/minute and blood pressure of 100/60 mmHg. She appeared fatigued and mild skin and scleral icterus was present. Her liver was painful and palpable 4 cm under right costal margin. Laboratory studies revealed the following: hemoglobin, 12.7 mg/dL; white blood cell (WBC), 5200/mm<sup>3</sup>; platelets, 165 000/mm<sup>3</sup>; alanine aminotransferase (ALT), 2915 U/L (7-40 U/L); aspartate aminotransferase (AST), 3830 U/L (7-40 U/L); total serum bilirubin, 4.38 mg/dL (0.3 mg/dL); with a direct fraction of 2.62 mg/dL, alkaline phosphates 574 U/L (38-155 U/L); gamma-glutamyltranspeptidase (GGT), 194 U/L (15-60 U/L), albumin 3.3 g/dl, prothrombin time 18.7 seconds, erythrocyte sedimentation rate 30 mm/h, C-reactive protein 0.74 mg/dL (0-5 mg/dL), HBsAg (-), anti-HBcIgM (-), anti-HCV (-), anti-HAV IgM (+) and anti-HAV IgG (+).

Within two days of admission to the hospital, her jaundice, abdominal pain, vomiting frequency, temperature, skin icterus and abdominal tenderness increased. The right side of the abdomen was tender with painful fullness in the right hypochondrium (a positive Murphy's sign). Repeated biochemical study showed total bilirubin 12.9 mg/dL, with a direct fraction of 7,8 mg/dL, ALT: 5025 U/L and AST: 4233 U/L. Abdominal ultrasound revealed hepatomegaly, hydropic gallbladder without calculus, thickened gallbladder wall (12 mm) and pericholecystic fluid (Figure 1A and 1B). During follow-up, she remained febrile for three days. On follow up with in four days, her tenderness regressed, five days after the onset of her symptoms, serum total bilirubin and its direct fraction levels decreased to 10.7 mg/dL and 6 mg/dL, respectively; there was also a marked decrease in serum AST and ALT levels.

She was discharged on the 10th day of admission in good clinical condition and with considerable improvement in biochemical tests. During a follow-up of 6 months, she was in good condition without any complaint.

## Discussion

Hepatitis A virus is a self-limiting, usually asymptomatic infection that occurs predominantly among children. In some patients, gallbladder abnormalities such as increased thickness of the gallbladder wall and sludge formation were described (1). Hermier et al. (6) described three children with acute cholecystitis due to HAV infection. These children presenting with acute hepatitis had an initial clinical onset suggestive of acute cholecystitis (pain and guarding in the right hypochondrium, fever and delayed jaundice) associated with important ultrasonographic findings including: gallbladder wall thickness greater than 10 mm [3



**Figure 1 a,b.** Axial (a) and sagittal (b) images of abdominal ultrasonography demonstrate abnormally thickened and multilayered gall-bladder wall (arrows).

cases], the presence of 2 or 3 layers of different echogenicities [3 cases], presence of an ultrasonographic Murphy's sign [one case], echogenic contents of the gallbladder [one case]. In another study of thirty-nine children hospitalized for hepatitis A virus infection were evaluated by ultrasound and pseudo surgical gallbladder wall of 10 mm or more with striation was found in 10 patients. In all of them the abnormalities had normalized within 4 weeks (7).

The presented case had acute HAV infection documented by biochemical, serologic, and clinical features. Viral acalculous cholecystitis developed during the course of the disease. Ultrasonographic examination revealed the diagnosis of acalculous cholecystitis. Surgical intervention did not require in our patient. A repeated imaging with ultrasonography after 4 days revealed regression, such as thickening and edema of gallbladder wall and complete resolution of the pericholecystic fluid.

The pathophysiology of the GBWT during acute viral hepatitis is not clear: hypoalbuminemia, local extension of the hepatic inflammatory process, and elevated portal pressure all could be reflected as the edema of the gallbladder wall (7). A direct invasion of the gallbladder by the hepatitis virus has been documented by Mourani et al (8); in a 68-year-old man with HAV in whom sonography showed marked GBWT, and HAV IgM was eventually found, and the viral antigen was demonstrated in most epithelial cells of the gallbladder wall of the patient. They suggested that acute cholecystitis may be a part of the spectrum of HAV infection. The sonographic finding of striation in the gall-

bladder reflects the distribution of fluid throughout all layers of the wall.

Early studies have shown that during viral hepatitis A, the gallbladder may undergo changes that include decreased fasting volume, increased wall thickening and appearance of biliary sludge. These morpho-functional events are transient and gradually disappear when viremia becomes low. Gallbladder wall thickness returns to normal in these patients within few days. These patients do not require surgical intervention (3).

Only few cases of gallbladder involvement during HAV infection were reported in medical literature. It should be kept in mind that although rare, like adults acute viral cholecystitis can develop during the course of acute HAV infection in children. We suggest that the right upper quadrant pain, high temperature, severe vomiting, severe jaundice during acute hepatitis A is, at least in part, may be caused by gallbladder involvement. Paediatricians and paediatric surgeons must be familiar with the possibility of gallbladder and pancreatic involvement during HAV infection to avoid unnecessary invasive procedures.

## References

1. Ozaras R, Mert A, Yılmaz MH, et al. Acute viral cholecystitis due to hepatitis A virus infection. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 79-81.
2. Bell BP, Shapiro CN. Hepatitis A Virus. In: *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*, Long SS, Plickering LK, Prober CG (eds), 2nd ed, Churchill-Livingstone, New York, 2003; 1118-1194.
3. Portincasa P, Moschetta A, Di Ciaula A, et al. Changes of gallbladder and gastric dynamics in patients with acute hepatitis A. *Eur J Clin Invest* 2001; 31: 617-622.
4. Sharma MP, Dasarathy S. Gallbladder abnormalities in acute viral hepatitis: a prospective ultrasound evaluation. *J Clin Gastroenterol* 1991; 13: 697-700.
5. Black MM, Mann NP. Gangrenous cholecystitis due to hepatitis A infection. *J Trop Med Hyg* 1992; 95: 73-74.
6. Hermier M, Descos B, Collet JP, et al. Acute cholecystitis disclosing virus hepatitis. *Arch Fr Pediatr* 1985; 42: 525-529.
7. Klar A, Branski D, Nadjari M, et al. Gallbladder and pancreatic involvement in hepatitis A. *J Clin Gastroenterol* 1998; 27: 143-145.
8. Mourani S, Dobbs SM, Genta RM, et al. Hepatitis A virus associated cholecystitis. *Ann Intern Med* 1994; 120: 398-400.

# Psödoeksfolyasyonlu Türk hastalarda HLA Class I antijenleri

HLA Class I antigens in Turkish patients with pseudoexfoliation

M. Erol Turaçlı<sup>1</sup>, Oya Tekeli<sup>1</sup>, Filiz A. Özdemir<sup>1</sup>, Hüseyin Tutkak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik İmmünoloji ve Romatoloji Bilim Dalı

**Amaç:** Türk popülasyonunda psödoeksfolyasyon ile human leucocyte antigens (HLA) class I antijenleri arasındaki korelasyonu saptamak.

**Gereç ve Yöntem:** En az bir gözünde psödoeksfolyasyonu olan 76 hasta ile psödoeksfolyasyonu olmayan 100 olguda HLA class I antijenleri incelendi.

**Bulgular:** Psödoeksfolyasyon grubunda HLA A68, B39, CW4 istatistiksel olarak daha sık saptanırken HLA A1, B7 istatistiksel olarak daha az sıklıkta bulundu. Psödoeksfolyasyon ve kontrol grubunda haplotip frekansı açısından istatistiksel olarak belirgin bir fark saptanmadı.

**Sonuç:** Farklı popülasyonlar ve hasta akrabalarında yapılacak yeni çalışmalar psödoeksfolyasyon ile HLA arasındaki ilişkinin belirlenmesinde yardımcı olacaktır.

Anahtar kelimeler: **Psödoeksfolyasyon, glokom, HLA Class I antijenleri**

**Aim:** To assess whether a correlation exists between Human Leucocyte Antigens (HLA) class I antigens and pseudoexfoliation in Turkish population.

**Materials and Methods:** The HLA class I antigens were analyzed in 76 patients with pseudoexfoliation at least at one eye and in 100 subjects without pseudoexfoliation.

**Results:** HLA A68, B39, CW4 were significantly more common in pseudoexfoliation than control group, while HLA A1, B7 were significantly less common. No statistically significant difference was noted in antigen frequencies of pseudoexfoliation and control group.

**Conclusion:** Further studies on more diverse ethnic populations and patient's relatives will be helpful in determining the significance of the association between certain HLA and disease susceptibility.

Key words: **Pseudoexfoliation, glaucoma, HLA class I antigens**

Psödoeksfolyasyon sendromu (PEXS), genellikle yaşlı insanlarda lens üzerinde, pupil kenarında veya gözün diğer ön segment yapılarında beyaz, kepek benzeri bir oluşum ile karakterizedir. Son zamanlarda psödoeksfolyatif sendromun göz içi ve göz dışı yapılarda anormal elastik fibriller materyalin aşırı sentezlenmesi ve depolanması ile fibrozisin bir formu olduğu öne sürülmüştür (1,2). İndirekt histokimyasal ve immünohistokimyasal bulgular fibriller materyalin elastik fibril elemanları (elastin, tropoelastin, amiloid P, vitronektin, fibrillin-1) içeren kompleks bir glikoprotein/proteoglikan yapısından oluştuğunu göstermiştir (3,4). Yine son yıllarda, psödoeksfolyatif materyalin göz dışı dokuların hücre dışı matriksinde ve bazal membranında bulunması nedeniyle, psödoeksfolyasyonun sistemik bir hastalık olduğu düşünülmüştür (3). Kardiyovasküler hastalık insidansı da bu hastalarda daha yüksek görülmektedir (5).

PEXS, tüm ırk ve iklimlerde görülse de İskandinav ırkında daha sık rastlanmaktadır. İskandinavya'da 60 yaş üzerindeki popülasyonda yapılmış çalışmalarda en yüksek oran İzlandalı'larda (%25) ve sonra da Finlandiyalı'larda (%20) bildirilmiştir (3). Glokom olsun veya olmasın psödoeksfolyasyonun gelişiminde gene-

Geliş tarihi: 27.12.2004 • Kabul tarihi: 06.04.2005

Yazışma adresi

Prof.Dr. M. Erol Turaçlı,

Atatürk Bulvarı 177/10 Kavaklıdere, Ankara

Tel : (312) 4253515

Faks : (312) 4252829

E-mail : eturacli@hotmail.com

**Tablo 1.** Psödoeksfolyasyonlu hastalarda sık görülen HLA Class I antijenleri

HLA	Hasta (%)	Kontrol (%)	P değeri	Odd's oranı	%95 güven aralığı
A68	%11,8	%1	0.023*	13,299	1,646-107,42
B39	%5,2	%0	0.034*	1,056	1,001-1,113
CW4	%38,1	%22	0.014*	2,188	1,129-4,240

**Tablo 2.** Psödoeksfolyasyonlu hastalarda daha az sıklıkta görülen HLA Class I antijenleri

HLA	Hasta (%)	Kontrol (%)	P değeri	Odd's oranı	%95 güven aralığı
A1	%12	%27	0.023*	0,369	0,162-0,841
B7	%6,57	%18	0.049*	0,321	0,113-0,908

tik ve çevresel faktörlerin önemli rolü olduğu düşünülmektedir, ve çevresel faktörlerden de güneş ışığı en önemlisidir (6). Genetik olarak net bir kalıtsal model bulunamamıştır. Aasved ve arkadaşları, 40 yaş üzerinde 25 ailede, birinci dereceden akrabaları araştırdığında %9.4'nün etkilendiğini göstermiş ve otozomal dominant kalıtım bildirmiştir (7). İnsan doku antijenleri de kalıtsal hastalıkların geçişinden sorumlu tutulmuştur. Değişik çalışmalarda, psödoeksfolyasyonlu hastalar ile HLA class I antijenleri arasında bir ilişki bildirilmiştir.

Hastalıklar ile spesifik doku antijenleri arasında ilişkinin araştırılması birçok çalışmaya konu olmuştur. Bu çalışmada amacımız, Türk populasyonunda psödoeksfolyatif sendrom veya glokom ile HLA class I antijenleri arasındaki korelasyonu belirlemektir.

## Gereç ve Yöntem

Kasım 2002- Ağustos 2003 tarihleri arasında kliniğimizin glokom servisinde takip edilen hastalar çalışmaya alındı. Tüm hastalara görme keskinliği, biomikroskopi, aplanasyon tonometrisi, gonyoskopi ile açılı muayenesi, pupil dilatasyonu, optik sinir muayenesi, ve Humphrey görme alanını içeren detaylı bir oftalmolojik muayene yapıldı. PEXS, fibriller materyalin ön kamara açısında veya pupil dilate edildikten sonra lens yüzeyinde bulunduğu durumlarda kabul edildi. Psödoeksfolyatif glokom ise bunlara ek olarak göz içi basıncının arttığı (>21 mmHg), optik sinir değişikliklerinin ve görme alanı defektlerinin olduğu durumlarda kabul edildi. Psödoeksfolyasyonlu hastaların hipertansiyon ve diabetes mellitus haricinde sistemik hastalıkları yoktu. Kontrol grubu, refraksiyon kusuru, meibomit, blefarit gibi nedenlerle polikliniğe başvuran, hipertansiyon ve diabetes mellitus haricinde sistemik hastalığı olmayan olgulardan

oluşmaktaydı. Tüm olgularda psödoeksfolyasyon muayenesi için pupil dilate edildi.

Kontrol grubu ve çalışma grubu bölgesel, çevresel, ve etnik olarak benzer gruplardan oluşmaktaydı. Tüm hastalardan HLA analizinde kullanılmak üzere kan örneği alınması için onay alındı.

HLA class I antijenleri mikrositotoksisite yöntemi ile Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Laboratuvarında çalışıldı (8). İstatistiksel farklılığın belirlenmesinde Ki kare testi kullanıldı ve P değeri 0.05 olarak kabul edildi. Odd's oranı ve %95 güvenilirlik aralığı hesaplandı. Kontrol grubundaki HLA A, B, C lokuslarındaki sıklık dağılımları Hardy-Weinberg dengesinden sapma göstermemiştir.

## Bulgular

En az bir gözünde psödoeksfolyasyonu olan 76 hastada HLA class I antijenleri incelendi. Hastaların 26'sı bayan, 50'si erkek idi. Kontrol grubu gözünde psödoeksfolyasyonu veya glokomu olmayan 60 bayan ve 40 erkek olmak üzere toplam 100 hastadan oluştu. Psödoeksfolyasyon grubunun yaş ortalaması 44.4 ve kontrol grubunun ise 64.1 idi. Toplam 70 histokompatibilite antijeni çalışıldı. Test edilmiş HLA class I antijenleri şöyle idi; HLA A1, A2, A3, A9, A11, A19, A23, A24, A25, A26, A28, A29, A30, A31, A32, A33, A34, A36, A43, A66, A68, A69, A74, B7, B8, B13, B14, B18, B27, B35, B37, B38, B39, B41, B44, B49, B50, B51, B52, B53, B54, B55, B56, B57, B58, B60, B61, B62, B63, B64, B65, B70, B71, B72, B73, B76, B77, B78, Bw4, Bw6, Cw1, Cw2, Cw3, Cw4, Cw5, Cw6, Cw7, Cw8, Cw9, Cw10. Psödoeksfolyasyon grubunda 5 antijen (HLA A1, A68, B7, B39, Cw4 ) kontrol grubuna göre belirgin olarak farklı bulundu. Üç antijen (HLA A68, B39, Cw4) psödoeksfolyasyon grubunda istatistiksel



**Tablo 3.** Psödoeksfolyasyonlu hastalarda ve kontrol grubunda haplotip frekansları

	Haplotip frekansları	Delta değeri
PEX	A33-B14	0,0122
Kontrol	A33-B14	0,0032
	A33-B57	0,0032

olarak daha sık görülürken, iki antijen de (HLA A1, B7) istatistiksel olarak daha nadir görülmekteydi. Odd's oranları ve %95 güvenirlilik oranları belirtilmiştir (Tablo 1-2).

Haplotip frekanslarını ve delta değerlerini incelediğimizde, psödoeksfolyasyonlu grupta (A33-B14) haplotipi, kontrol grubunda ise (A33-B14) ve (A33-B57) haplotipleri daha sık görülmüştür (Tablo 3). Psödoeksfolyasyon ve kontrol grubunda haplotip frekansı açısından istatistiksel olarak belirgin bir fark saptanmamıştır.

### Tartışma

Psödoeksfolyasyon, bazı bölgelerde daha sık görülmekle beraber dünya genelinde görülebilen bir hastalıktır. Bu hastalık en çok İskandinav ülkelerinde, İrlanda'da ve Güney Afrika'daki Bantu halkında görülmektedir (9). Psödoeksfolyasyon için ailesel geçiş bildirilmiş olsa da, şimdiye kadar herhangi bir kesin herediter pattern bildirilmemiştir. En sık otozomal dominant geçiş öne sürülmüştür (3). Bazı yayınlarda erkeklerde daha sık görüldüğü bildirilirken bazıları da her iki cinsiyette eşit görüldüğünü bildirmiştir (3). Hastalığın asemptomatik oluşu ve ileri yaşlarda ortaya çıkması psödoeksfolyasyondan sorumlu genin belirlenmesini zorlaştıran 2 önemli sebeptir. Yinede 2 ayrı geçici genetik lokus tanımlanmıştır; 2p35-q37 ve 2p13-p11 bölgeleri (10). Psödoeksfolyasyonlu ailelerde maternal geçişin yaygınlığı mitokondrial kalıtım olasılığını da arttırmıştır (3).

Farklı toplumlar üzerinde yapılmış değişik çalışmalarda, psödoeksfolyasyonlu hastalarda değişik HLA class I antijenleri bildirilmiştir. Olivius ve Polland, İsveç'li psödoeksfolyasyon hastalarında HLA-Bw35 insidansını kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulmasına rağmen, Slagsvold ve Nordhagen herhangi bir ilişki saptamamıştır (11). Eustace (12) ve arkadaşları İrlandalı bireylerde HLA B8 ile belirgin bir birliktelik saptamıştır. Başka bir çalışmada Fitzmon ve arkadaşları HLA ile psödoeksfolyasyon arasında ilişki bulmuşlardır. HLA A1, A33, B8, B47, B51, B53, B57, B62, DR3, DR12, DR13 antijenleri psödoeksfolyasyonlu grupta genel populusyona göre belirgin olarak yüksek bulunurken, HLA B12, B17, ve DR2 antijen sıklığı belirgin olarak daha düşük bulunmuştur (13).

Türk toplumunda HLA allellerinin ve haplotiplerinin sıklığını tayin etmek amacıyla 1980-1998 yılları arasında Ankara Üniversitesi İmmünoloji Laboratuvarında çalışılan vakalarda organ alıcılarının canlı akraba donörleri esas alınarak toplam 1095 bireyde HLA A, B, C sonuçları değerlendirilmiştir. En sık bulunan alleller; HLA A1, A2, A3, A9, HLA B5, B12, B35, HLA Cw4 ve en sık bulunan haplotipler ise HLA2-B5, A1-B35, B35-Cw4 olarak saptanmıştır (14).

Biz çalışmamızda HLA A1, A68, B7, B39, ve Cw4 frekanslarını psödoeksfolyasyon ve kontrol grubunda farklı bulduk. HLA A68, B39 ve Cw4 psödoeksfolyasyon grubunda belirgin olarak daha sık görülürken, HLA A1 ve B7 daha az sıklıkta görüldü. HLA A1 allelinin 1095 kişilik kontrol grubunda yüksek bulunması ve bizim çalışmamızda da hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük saptanması, HLA A1'in korucuyucu bir faktör olabileceğini düşündürmektedir.

HLA bölgesinin, insanda şu ana kadar bilinen en polimorfik genetik sistem olduğu gösterilmiştir (15). HLA allelleri arasındaki linkage disequilibrium her populusyonda değişiklik gösterir (16). Bu nedenle her populusyon değişik HLA gen frekanslarına ve karakteristik haplotip düzenine sahiptir. Kontrol grubunun daha geniş tutulduğu farklı populusyonlar ve hasta akrabalarında yapılacak yeni çalışmalar psödoeksfolyasyon ile HLA arasındaki ilişkinin belirlenmesinde yardımcı olacaktır.

### Kaynaklar

1. Streeten BW. Aberrant synthesis and aggregation of elastic tissue components in pseudoexfoliation fibrillopathy: a unifying concept. *New Trends Ophthalmol* 1993; 8:187-196.
2. Schlötzer-Schrehardt U, von der Mark K, Sakai LY et al. Increased extracellular deposition of fibrillin-containing fibrils in pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38:970-984.
3. Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U. Exfoliation syndrome. *Surv Ophthalmol* 2001; 45:265-315.
4. Schlötzer-Schrehardt U, Körtje KH, Erb C. Energy-filtering transmission electron microscopy (EFTEM) in the elemental analysis of pseudoexfoliative material. *Current Eye Research* 2001; 22:154-162.
5. Mitchell P, Wang JJ, Smith W. Association of pseudoexfoliation syndrome with increased vascular risk. *Am J Ophthalmol* 1997; 124:685-687.
6. Taylor HR. Pseudoexfoliation, an environmental disease? *Trans Ophthal Soc UK* 1979; 99:302.
7. Aasved H: Study of relatives of persons with fibrillopathia epitheliocapsularis (pseudoexfoliation of the lens capsule). *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1975; 53:879-86.
8. Terasaki PI, McClelland JD, Park MS et al. Microdroplet lymphocyte cytotoxicity test. In: *Publications DHEW (NIH). Manual of Tissue Typing Techniques*. Washington DC. US

- Government Printing Office 1973; 54:74-545.
9. Forsius H. Exfoliation syndrome in various ethnic populations. *Acta Ophthalmol (Suppl)* 1988; 184:71-85.
  10. Sarfarazi M, Stoilov I. Genetics in glaucoma. In: Joseph W. Sassani, editor. *Ophthalmic Fundamentals Glaucoma*. 1999; Chapter 2: 15-31
  11. Olivius E, Polland W: Histocompatibility (HLA) antigens in capsular glaucoma and simplex glaucoma, *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1980; 58:406.
  12. Eustace P, Dwyer –Joyce P, McAuliffe-Curtin et al. HLA antigens in the pseudoexfoliation syndrome. *Trans Ophthal Soc UK* 1980; 100:510.
  13. FitzSimon JS, Mulvihill A, Kennedy S et al. Association of HLA type with pseudoexfoliation of the lens capsule. *Br J Ophthalmol* 1996; 80:402-404.
  14. Tokgöz G, Düzgün N, Turgay M et al. The distribution of HLA-A, B and C antigens in Turkish population. *Turk J Med Res* 1993; 11(1): 32-36.
  15. Joint Reports. In: Albert ED, et al, eds. *Histocompatibility testing*. Munksgaard: Copenhagen, 1984; 118-209.
  16. Bodmer W, Thomson G. Population genetics and evaluation of the HLA system. In: Dausset J, Svejgaard A, eds. *HLA and disease*. Munksgaard: Copenhagen, 1977; 280-92.

# Devamlı kombine hormon replasman tedavisinin uterin perfüzyon ve endometrial kalınlık üzerine etkisinin uterin arter Doppler bulguları ile değerlendirilmesi

*The effect of continuous hormone replacement therapy on endometrial thickness and uterine perfusion with Doppler sonography of the uterine arteries*

Pınar Dünder Erenoğlu<sup>1</sup>, Murat Ekin<sup>1</sup>, Rana Karayalçın<sup>1</sup>, Selda Karadeniz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği

<sup>2</sup>Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyoloji Kliniği

**Amaç:** Devamlı kombine hormon replasman tedavisinin (HRT) uterin perfüzyon ve endometrial kalınlık üzerine etkisinin Doppler sonografi ile değerlendirilmesi.

**Materyal ve metod:** Menapoz Kliniğine hormon replasman tedavisi almak için başvuran veya hormon replasman tedavisi almakta olan toplam 100 hasta çalışmaya dahil edildi. Hormon replasman tedavisi alan hastalarda yirmişer kişilik 4 gruba ayrıldı: Grup 1: 2 mg estradiol + 1 mg norethisteron asetat; Grup 2: konjuge östrojen 0.625 mg + medroksiprogesteron asetat 2.5 mg; Grup 3: konjuge östrojen 0.625 mg + medroksiprogesteron asetat 5 mg; Grup 4: transdermal matriks sistemi 3.9 mg östradiol 12.5 cm<sup>2</sup> + doğal mikronize progesteron 100mg. Kontrol grubuna (Grup 5) hormon replasman tedavisi almak için başvuran en az altı aylık amenoreesi olup hormonal değerlendirilmesinde menopoz tespit edilen yirmi hasta dahil edildi. Hastalar kan östradiol seviyeleri, endometrial kalınlık ve uterin arter Doppler rezistivite indeksleri (RI) açısından değerlendirildiler.

**Bulgular:** Kan östradiol seviyeleri açısından değerlendirildiğinde hormon replasman tedavisi alan gruplar arasında anlamlı farklılık olmamakla beraber kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında anlamlı oranda yükseklik tespit edildi. Endometriyal kalınlık kontrol grubuna değerlendirildiğinde HRT alan olgularda endometriyal kalınlık kontrol grubuna oranla anlamlı olarak yüksek olmakla birlikte HRT alan gruplar arasında ortalama endometriyal kalınlıklar arasında istatistiksel fark tespit edilmedi. Benzer olarak, uterin arter Doppler RI ölçümleri, HRT alan gruplar arasında anlamlı farklılık oluşturmazken kontrol grubuna kıyaslandığında anlamlı olarak düşük bulundu.

**Sonuç:** Devamlı kombine hormon replasman tedavileri ile endometrial kalınlıkta patolojik değişiklikler olmadan uterin arter kan akımında anlamlı olumlu değişiklikler sağlanmaktadır. Tedavinin transdermal veya oral olması kan östrojen seviyesi yeterli olduğu sürece uterin arter kan akımı açısından anlamlı fark oluşturmamaktadır. Tedaviye eklenecek progestagenik ajan açısından sentetik veya doğal progestinler arasında uterin arter kan akımı açısından anlamlı fark tespit edilmemiştir.

Anahtar kelimeler: *uterin arter, Doppler, endometrium, hormon replasman tedavisi*

**Aim:** To investigate the effect of different continuous combined hormone replacement therapy modalities on endometrial thickness and uterine perfusion by Doppler sonography of the uterine arteries.

**Material and methods:** One hundred patients who were willing to have hormone replacement therapy and or still under different continuous combined hormone replacement therapy modalities were included. Patients that were under hormone replacement therapy were divided into four subgroups having 20 patients in each according to the type of hormone replacement therapy modalities. Group 1: 2mg estradiol + 1mg norethisterone acetate; Group 2: conjugated estrogen 0.625 mg + medroxyprogesterone acetate 2.5 mg; Group 3: conjugated estrogen 0.625 mg + medroxyprogesterone acetate 5 mg; Group 4: transdermal matrix system 3.9 mg estradiol 12.5 cm<sup>2</sup> + natural micronized progesterone 100mg. Control group was consisted of women who were not under hormone replacement therapy, and suffering from amenorrhea duration of at least six months and diagnosed as menopause according to their hormonal status. Blood estradiol levels, endometrial thickness and resistivity index of uterine arteries with Doppler ultrasonography were investigated.

**Results:** There was no significant difference in blood estradiol levels among study groups but a significant difference existed with the study groups compared to the controls. Endometrial thickness and resistivity index of the uterine arteries were also similar within the study groups but was found to be higher when compared with the controls.

**Conclusion:** Continuous combined hormone replacement therapies improve uterine perfusion without deleterious effect on endometrial thickness. There is no difference between transdermal and per oral administration of the hormone replacement therapy on uterine perfusion correlated to blood estradiol levels. Also there is no difference in the type of progestins added to the therapy on the uterine perfusion

Key words: *Doppler of the uterine arteries, endometrium, hormone replacement therapy*

Geliş tarihi: 01.07.2004 • Kabul tarihi: 14.02.2005

Yazışma adresi

Dr. Murat Ekin

Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Ankara

Tel : (312) 4196560

Faks : (312) 4684133

E-posta : muratekin@hotmail.com

**Tablo 1.** Bulguların gruplara göre değerlendirilmesi.

Grup	Yaş (yıl)	Menapoz süresi (ay)	Kan östrojen	Endometriyal kalınlık (mm)	Uterin arter RI
Grup 1	54.1±2.1	27.9±12.3	46.2±5.1	5.00 ±0.86	0.77±0.18
Grup 2	53.5±2.8	28.1±12.4	45.8±4.6	4.90±0.97	0.77±0.25
Grup 3	54.1±2.0	28.2 ±10.2	47.6±4.2	5.05±1.05	0.76±0.15
Grup 4	54.3±1.9	29.9 ±10.5	47.5±4.1	5.00±1.10	0.76 ±0.15
Grup 5	53.7±2.1	28.0±11.9	23.6±2.3	2.35±0.49	0.86±0.16

Postmenopozal dönemde endojen östrojen yapımının azalması; erken dönemde çeşitli psikiyatrik, vazomotor instabilite ve genitouriner sistem bulgularına, geç dönemde ise osteoporoz insidansında artışa neden olmaktadır. Özellikle kombine östrojen + progestin kullanımı ile ilgili yakın zamanda derin ven trombozu, pulmoner emboli meme kanseri açısından küçük ama kesin bir risk artışı ortaya konulmuştur. Aynı çalışmalar kemik erimesi ve kolorektal kanserler için mutlak riskte azalma tespit etmiştir (1-3).

Postmenopozal dönemde uygulanacak hormon replasman tedavisi (HRT) ile endojen sentezi azalmış olan östrojen yerine konularak vazomotor semptomlar ve osteoporoz riski azaltılabilmektedir.

Postmenopozal dönemde hormon replasman tedavisi alan hastalarda; noninvasiv bir yöntem olan Doppler ultrasonografi ile uterin arter direnç değişikliklerini belirleyerek değişik hormon replasman tedavilerinin direkt ve indirekt olarak endometrium üzerine olan etkilerinin gösterilmesi amaçlandı.

## Gereç ve Yöntem

Hastanemiz menopoz kliniğine hormon replasman tedavisi almak için başvuran veya hormon replasman tedavisi almakta olan toplam 100 hasta prospektif olarak değerlendirildi. Çalışmaya dahil edilme kriteri olarak en az bir yıldır devamlı HRT belirlendi. Hormon replasman tedavisi alan hastalarda yirmişer kişilik 4 gruba ayrıldı:

Grup 1: 2mg estradiol + 1mg norethisteron asetat, Grup 2: konjuge östrojen 0.625 mg + medroksiprogesteron asetat 2.5 mg, Grup 3: konjuge östrojen 0.625 mg + medroksiprogesteron asetat 5 mg, Grup 4: transdermal matris sistemi 3.9 mg östradiol 12.5 cm<sup>2</sup> + doğal mikronize progesteron 100mg. Kontrol grubuna hormon replasman tedavisi almak için başvuran en az altı aylık amenoreesi olup hormonal değerlendirilmesinde menopoz tespit edilen yirmi hasta dahil edildi.

Hastalarda kan estradiol seviyelerinin tespiti için aç olarak antekübital venden alınan kan Hastanemiz hormon laboratuvarında "Imulite 2000 RIA kit" ile ölçüldü. Tüm hastalarda transvajinal ultrasonografi ile pelvik patolojiler (myoma uteri, adeksiyel kitle vb.) ekarte edildikten sonra endometrial kalınlık ve uterin kan akımı açısından Doppler ultrasonografi ile değerlendirildiler. Ölçümlerde transvajinal 6.5 MHz probu olan Toshiba Povervision 6000 ultrasonografi cihazı kullanıldı. Probun hareketleri ve cihazın tarama planı değiştirilerek uterus, damarlar, endometriyum, adneksiyel alanlar, "Douglas" boşluğu ve diğer pelvik yapılar sistematik olarak değerlendirildi. Endometriyum kalınlığı longitudinal planda her iki endometriyal duvarın dıştan dışa ölçümüyle değerlendirildi. Uterin arter renkli Doppler ile uterusun lateral servikal bölgesinde vizüalize edildikten sonra ortalama 0° açıyla ard arda gelen üç doğru değerlendirmiş Doppler dalga görüntüsü elde edilerek rezistivite indeksi (Sistol - diastol sonu/sistol) sağ ve sol uterin arterler için değerlendirildi. Bulguların istatistiksel analizi "SSPS 10.0 for Windows release" paket programı kullanılarak One -Way ANOVA yöntemi ile yapıldı.

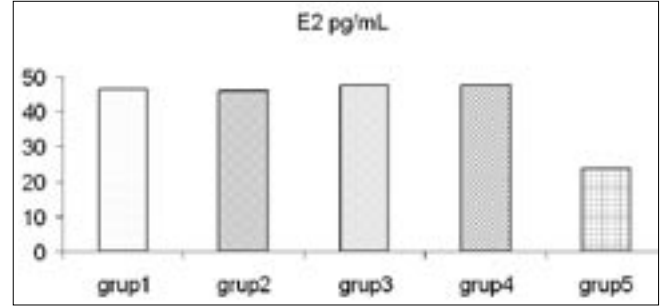
## Bulgular

Çalışmaya dahil edilen gruplarda hastaların yaşları 49-58 arasında değişmekteydi. Hastaların yaş ortalamaları, ortalama menopoz süreleri (ay) ve HRT alan gruplar için HRT aldıkları süreler (ay) açısından değerlendirildiklerinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi (p>0.05). Gruplar, kan estradiol seviyeleri açısından değerlendirildiğinde HRT alan gruplar arasında anlamlı farklılık olmamakla beraber kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında anlamlı oranda yüksek tespit edildi (p<0.05). Endometriyal kalınlık açısından değerlendirilme yapıldığında HRT alan olgularda endometriyal kalınlık kontrol grubuna oranla anlamlı olarak yüksek olmakla birlikte HRT alan gruplar arasında ortalama endometriyal

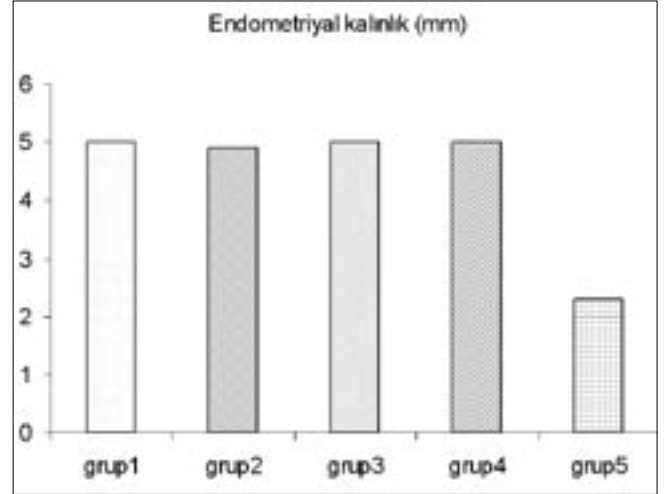
kalınlıklar arasında istatistiksel fark tespit edilmedi. Benzer olarak uterin arter Doppler RI ölçümleri HRT alan gruplar arasında anlamlı farklılık oluşturmadan kontrol grubuna kıyaslandığında anlamlı olarak düşük tespit edildi. (Tablo 1), (Şekil 1,2,3).

### Tartışma

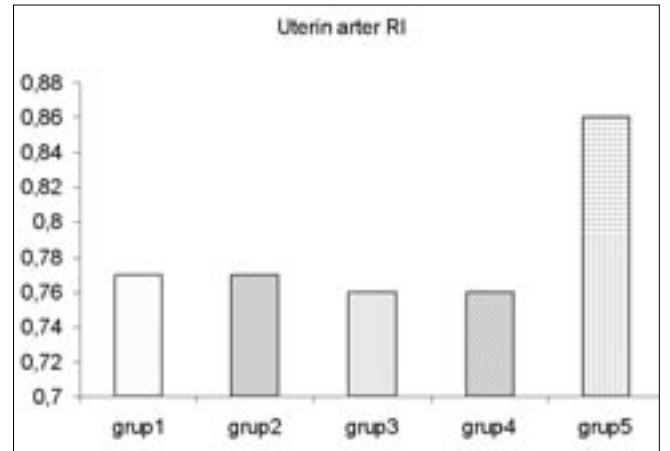
Hormon replasman tedavisinin uygulanması, günümüzde menapozu takip eden dolaşımdaki azalan östrojen seviyesine bağlı gelişen vazomotor yakınmaların giderilmesi için tavsiye edilmektedir. Östrojenin arterler üzerinde direkt vazodilatör etkisi vardır (4). Vasodilatör etkinin vasküler düz kas üzerinde kalsiyum kanal bloku ile olduğu düşünülmektedir (5). Bu vazodilatör etki özellikle östrojen reseptörlerinin yoğunlaştığı serebral, karotid ve uterin arterler üzerinde gözlenmektedir (5-7). Yapılan çalışmalarda menapoz süresinin uzunluğu ile doğru orantılı olarak uterin kan akımındaki direncin arttığı gösterilmiştir (8). Menapozda endometrium ve vasküler yatak açısından hormon replasman tedavisinin güvenliği, östrojen ve progesteronun optimal dengesine bağlıdır. Siklik hormon replasman tedavilerinde sıklıkla gözlenen çekilme kanaması uzun süre endometriyumun kötü etkilenmediğinin bir göstergesi olarak düşünülmekle birlikte Sturdee ve ark. (9) tarafından yapılan çalışma bu tezin aksine çekilme kanamasının endometrial hiperplaziye ekarte etmediğini bildirmektedir. Yine Exacoustos ve ark. (10) göre siklik hormon replasman tedavisinin belirli evrelerinde uterin kan akımı değişmemektedir. Bu sebeple siklik tedaviye nazaran devamlı kombine tedavinin daha güvenli olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda devamlı hormon replasman tedavisi alan hasta gruplarında tedavi almayan kontrol grubuna oranla uterin arter perfüzyonunda anlamlı derece artış olduğunu tespit ettik. Yine hormon replasman tedavisi alan grupta endometrial kalınlık kontrol grubuna oranla anlamlı olarak kalın tespit edilmekle birlikte patolojik düzeyde endometrial kalınlık gözlenmedi. Bunu hastaların devamlı hormon replasman tedavisi protokolüne uyumlarına bağlamak mümkündür; zira hastaların hormon replasman tedavisi alan kısmında beklenenden yüksek kan E2 seviyelerine rastlanılmamaktadır. Endometrial kanser riski nedeniyle histerektomi olmamış kadınlarda östrojenin proliferatif uyarısını dengelemek amacıyla tedaviye progesteron eklenmektedir (11-13). Ancak eklenen progestojenlerin östrojenin kardiyovasküler sistem üzerine olan faydalı etkisini azalttığı ileri sürülmüştür (11,12). Progesteronun bu etkisini renin sekresyonunda artış prostosiklin/ tromboksan oranında azalma veya östrojene bağlı nitroz oksit oluşumunu engelleyerek gösterdiği bazı araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür (14). Ancak fertil kadınlarda ya-



Şekil 1. Gruplar arası kan E2 seviyelerinin karşılaştırılması



Şekil 2. Gruplar arası endometrial kalınlık ölçümlerinin karşılaştırılması



Şekil 3. Gruplar arası uterin arter RI seviyelerinin karşılaştırılması

pılan çalışmalar uterin arterlerde en düşük direncin luteal fazın pik yaptığı dönemlere rastlandığı gösterilmiştir (11). Buda doğal progesteronların östrojen etkisini bozmadığını düşündürmektedir. Başlangıçta yapılan bazı çalışmalarda ardışık olarak (11,13) ve devamlı intrauterin uygulanan (14,15) sentetik progestojenlerle uterin arter kan akımında direnç artışı bildirilmekle birlikte yakın zamanda yapılan çalışmalar vajinal yolla uygulanan doğal progestinler ve didrogesteron için siklik tedavilerde minör kan akımı de-

ğişiklikleri bildirilmektedir. Exacoustos ve ark. (10) diğer yapılan çalışmaları göz önüne alarak hem sentetik hem de doğal progestinlerin östrojenin uterin arterler üzerine olan vazodilatör etkisine anlamlı bir azalma oluşturmadıklarını bildirmişlerdir (16,17). Yine de anti-östrojenik etki progesteronun tipi yanında etki süresi ve dozu ile de etkili olabilir (18). Çalışmamızda hormon replasman tedavisi alan gruplar içerisinde progesteron olarak norethisteron asetat, medroksiprogesteron asetat ve mikronize progesteron mevcut olup sentetik ve doğal progestinler arasında uterin kan akımı açısından anlamlı fark tespit edilmemiştir. Yine medroksi progesteron asetatın 2.5 mg ve 5 mg tedavi seçenekleri arasındada anlamlı fark tespit edemedik. Penotti ve ark. (19) benzer olarak medroksi progesteron asetat içeren hormon replasman tedavisi protokollerinde uterin arter kan akımında değişiklik tespit edememişlerdir. Östrojen tedavisine eklenecek progestin sentetik veya doğal olsun endometriyal kalınlık üzerine anlamlı ölçüde koruyucu etki yapmaktadır ve bulgularımıza göre hormon replasman tedavisi almayan gruba kıyasla uterin kan akımında anlamlı artış gözlenmiştir. Grupların sayısal olarak kısıtlı olması nedeniyle bu konu üzerinde daha geniş sayıda hasta içeren kontrollü çalışmalara gerek olduğuna inanıyoruz. Çalışmamızda oral ve transdermal hormon replasman tedavileri ile uterin arter perfüzyonunda anlamlı bir farkın olmadığını gördük. Cacciatore ve ark. (17) çalışmamızla benzer olarak 27 oral 31 transdermal hormon replasman tedavisi alan iki grubu karşılaştırmışlar ve bir yıllık tedavi sonrası iki grupta da uterin arter kan akımında eşit oranda anlamlı artış tespit etmişlerdir. Bu çalışmada hormon rep-

lasman tedavileri siklik olmakla birlikte daha önce yapılan çalışmalarda siklik tedavilerde uterin arter kan akımının değişik fazlarda etkilenmediği gösterilmiştir. Çalışmamızda iki grup arasında ortalama östradiol seviyeleri benzer olup kan östradiol seviyeleri ile uterin kan akımı arasındaki pozitif korelasyon olduğu gözlenmektedir. Predanic ve ark. (20) 106 hormon replasmanı alan hasta grubunda kompliansı iyi ve kötü olan hastaları kan östradiol seviyeleri ve uterin arter kan akımı açısından değerlendirmiş ve kompliansın bozuk olduğu grupta kan östradiol seviyeleri ile doğru orantılı olarak uterin kan akımını kompliansı yüksek guruba nazaran anlamlı olarak düşük tespit etmişleridir.

Transvajinal sonografi ile birlikte renkli Doppler uterin arter kan akımı değerlendirmesi değişik tedavi protokollerinin etkinliğini ve hastaların hormon replasman tedavisine uyumunun değerlendirilmesinde uygun bir metod olarak kullanılabilir. Özellikle değişik hormon replasman tedavisi protokollerinde hepatik metabolizmanın arttığı, sigara ve alkol veya psikotropik ilaç alan hasta gruplarında hormon replasman tedavisine cevabın değerlendirilmesinde kullanılabilir.

Devamlı kombine hormon replasman tedavileri ile endometrial kalınlıkta patolojik değişiklikler olmadan uterin arter kan akımında anlamlı olumlu değişiklik sağlanmaktadır. Tedavinin transdermal veya oral olması kan östrojen seviyesi yeterli olduğu sürece uterin arter kan akımı açısından anlamlı fark oluşturmamaktadır. Tedaviye eklenecek progesteron ajanı açısından sentetik veya doğal progestinler arasında uterin arter kan akımı açısından anlamlı fark tespit edilmemiştir.

#### Kaynaklar

- Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *J Am Med Assoc* 2002; 288:321-33.
- Chlebowski RT, Hendrix SL, Langer RD, et al. Influence of estrogen plus progestin on breast cancer and mammography in healthy postmenopausal women. The Women's Health Initiative Randomized Trial. *J Am Med Assoc* 2003; 289:3243-53.
- Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003; 362:419-27.
- Vyas S, Gangar K. Postmenopausal oestrogens and arteries. *Br.J.Obstet.Gynecol.* 1995; 102:942-6.
- Bergqvist A, Bergqvist D, Ferno M. Estrogen and progesterone receptors in vessel walls. *Biochemical and immunochemical assays. Acta Obstet.Gynecol Scand.* 1993; 72:10-6.
- Bourne TH, Hillard T, Whitehead M et al. Oestrogen, arterial status and postmenopausal women. *Lancet.* 1990; 335:1470-1.
- Gangar KF, Vyas S, Whitehead MI. Pulsatility index in internal carotid artery in relation to transdermal oestradiol and time since menopause. *Lancet.* 1991; 338:839-42.
- Bekavac I, Kupesic S, Mihaljevic D et al. Vascular impedance of uterine, inferior vesicle and ophthalmic arteries in postmenopausal women receiving hormone replacement therapy. *Comparative doppler study. Croat med. J.* 2000; 41:3:235-9.
- Sturdee DW, Barlow DH, Ulrich LG et al. Is the timing of withdrawal bleeding a guide to endometrial safety during sequential oestrogen progesterone replacement therapy? *Lancet* 1994; 343:979-82.
- Exacoustos C, Lello S, Caporale E, et al. Monitoring of hormone replacement therapy in postmenopausal women by transvaginal sonography. And color flow doppler: Study in different phases of sequential therapy. *Fertil. Steril* 1999; 71:536-43.
- Bourne TH, Hillard T, Whitehead M, et al. Transvaginal ultrasonography with color flow imaging to monitor hormone replacement therapy in postmenopausal women. *Br.J. Radiol* 1991; 64:657-61.
- Hillard TC, Bourne TH, Whitehead MI et al. Differential effects of transdermal oestradiol and sequential progestogens on impedance to flow with in the uterine arteries of postmenopausal women. *Fertil. Steril.* 1992; 58:959-63.
- Persson I, Adami HO, Lindberg BS et al. Characteristics of oestrogen treated women. *Acta Obstet.Gynecol. Scand.* 1983; 62:297-302.

14. Ylikorkala O, Puolakkala J, Viinikka L. Vasoconstrictory tromboxane a2 and vasodilatatory prostacyclin in climacteric woman. Effect of oestrogen progesterone therapy. *Maturitas* 1984; 5:201-5.
15. Jarvella I, Raudaskoski T, Tekay A et al. Effect of the levonorgestrel releasing intrauterine system on the uterine artery Pulsatility index in postmenopausal hormone replacement therapy. *Ultrasound. Obstet. Gynecology.* 1997; 10:350-5.
16. Bonilla-musoles F, Marty MC. Effect of hormone replacement therapy on uterine blood flow and endometrial status in postmenopausal women. In:Fleicher Kurjak A, Granberg S, editors *Ultrasound and the endometrium* Newyork:Partenon 1997; 97-108.
17. Cacciatore B, Paakkari I, Toivonen J, et al. Randomized comparison of oral and transdermal hormon replacement on carotid and uterin artery resistance to blood flow. *Obstet. Gynecol.* 1998; 92:563-8.
18. Zalud I, Conway C, Schulman H et al. Endometrial and myometrial thicknes and uterine blood flow in postmenopausal women. The influence of hormone replacement therapy and age. *J.Ultrasound med.* 1993; 12:737-41.
19. Penooti M, Farina M, Sironi L, et al. Long term effects of postmenopausal hormone replacement therapy on pulsatility index of internal carotid and middle cerebral arteries. *Menopause* 1997; 4:101-4.
20. Predanic M, Ujevic B, Aleem F et al. Correlation serum oestrogen levels with uterine and carotid arteries flow in post menopausal women on hormone replacement therapy. *Croat Med. J.* 1998; 39:2:181-4.

# Nöroşirürji hastalarında antikoagülan tedavi

*Anticoagulan therapy for neurosurgical patients*

Zafer Aydın<sup>1</sup>, Tolga Oğuz<sup>1</sup>, Erdal Reşit Yılmaz<sup>1</sup>, Meltem Kurt Yüksel<sup>2</sup>, Habibullah Dolgun<sup>3</sup>, Nihat Egemen<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı

<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı

<sup>3</sup> Etilik S.S.K. Hastanesi, Nöroşirürji Kliniği

Antikoagülan tedavi nöroşirürji disiplininde uzun süreden beri önemini koruyan bir tartışmadır. Nöroşirürji pratiğinde tromboembolik problemler sık görülmesine karşılık tedavi konusunda bilgiler halen tartışmalıdır. Nöroşirürji hastaları açısından antikoagülan tedavi; kanama komplikasyonları, non hemorajik fakat hayatı tehdit eden nörolojik problemlerde veya sadece elektif cerrahi uygulanan hastalarda önem taşımaktadır. Antikoagülan tedavinin erken dönemde başlatılması; hemorajik komplikasyonlara, geç başlanması ise tromboembolik olaylara yol açarak nöroşirürji hastalarına yaklaşımda ciddi problemlere neden olabilmektedir. Nöroşirürjide antikoagülan tedaviye ne zaman başlanılacağı ve ne zaman güvenli olarak sonlandırılacağı iki önemli sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Mortalite ve morbiditenin azaltılmasında; tromboembolizme neden olan hiperkoagülabilité durumlarının bilinmesi, risk faktörü taşıyan hastaların belirlenmesi ve uygun tedavi rejimlerinin başlanması önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada nöroşirürji yoğun bakım ünitelerinde antikoagülan tedavi uygulaması gözden geçirilmiştir.

Anahtar kelimeler: **Antikoagülan tedavi, Nöroşirürji, yoğun bakım, Pulmoner emboli, Tromboemboli.**

Anticoagulant therapy is a very important subject in neurosurgery. Although thromboembolic complications are frequently seen in neurosurgical practice, there is not an exact opinion about the treatment. The significance of anticoagulant therapy is known in nonhemorrhagical neurological problems, bleeding complications and in elective operations. Early administration of anticoagulant therapy can lead to hemorrhagical and late administration of anticoagulant therapy can lead to thromboembolic complications and these situations cause serious problems in neurosurgical patients. Two major problems are the confident and safe administration and ceasing time of the anticoagulant therapy. It's imperative to know hypercoagulability states and to identify patients having risks and to decide appropriate medical treatment systems. In this study, we reviewed the anticoagulant therapy in neurosurgery intensive care units.

Key words: **Indication of anticoagulant therapy, Neurosurgery care unit, pulmonary embolus, thromboemboly.**

1934 yılında Hamoni, derin ven trombozu ile pulmoner emboli arasındaki ilişkiyi tanımlamıştır ve bu tarihten sonra tromboembolinin ciddi bir sorun olduğu daha iyi anlaşılmıştır.

Tromboemboli ile ilgili problemler (derin ven trombozu, pulmoner emboli) nöroşirürji yoğun bakımını da ilgilendirmesine rağmen bu konuda yapılan yayınlar ve araştırmalar oldukça kısıtlıdır (1,2,3,4).

Venöz tromboembolizm (VTE) majör sağlık problemlerinden birisidir, ABDde yılda 201.000 yeni olgu görülmektedir (1). Bu hastaların %25'i venöz tromboembolizm saptanmasından sonraki bir haftada kaybedilirken, %21'inde ölüm tanıya zaman bırakmayacak şekilde hızlı olmaktadır (2). Artmış profilaksi rejimlerine rağmen venöz tromboembolizm insidansı 1979 yılından bu yana 1/1000 olacak şekilde sabittir (1). Derin ven trombozu profilaksisi verilmeyen ve nöroşirürjikal operasyon yapılan hastalarda DVT prevalansı %24'dür (3).

Geliş tarihi: 06.09.2004 • Kabul tarihi: 25.01.2005

Yazışma adresi

Zafer Aydın

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı, Ankara

Tel : (312) 3103333 /2934

Faks : (312) 309 4340

E-mail :zaydin70@yahoo.com



Venöz tromboembolizm etyolojisinde 1869 yılında Virchow'un tanımladığı teori halen geçerlidir. Buna göre VTE oluşmasında üç temel faktör mevcuttur: staz, damar duvarı hasarı ve hiperkoagülabilité. Bunlardan birinin bulunması VTE riskini arttırmaya yeterlidir.

Pıhtılaşma mekanizmasına bakacak olursak; trombositler normal hemostaz mekanizmasında ilk basamağı oluştururlar. Endotel hasarının bulunduğu durumlarda aktive olurlar; adezyon ve agregasyon yetenekleri hemostaza yardımcı olmaktadır (5,6,7,8).

Beyin, normalde vücudun en fazla doku tromboplastini içeren organıdır. İntrakranial cerrahi veya travma sırasında tromboplastin salınımı en üst seviyededir. Bu nedenle nöroşirürjide postoperatif dönemde venöz tromboz gelişimi nöroşirürjiyenler için günümüzde giderek önemli bir konu haline gelmektedir (9).

### Yoğun bakım ünitesinde hemostazın laboratuvar olarak değerlendirilmesi

Nöroşirürji yoğun bakımı ünitelerinde yatan hastaların kanama problemi olsun ya da olmasın sık aralıklarla koagülasyon profilinin izlenmesi esastır.

Hemostaza ait patolojilerin değerlendirilmesinde laboratuvar tetkikleri ön plandadır. Bunlar;

- Trombositler ve fonksiyonlarına ait,
- Koagülasyona ait, olmak üzere iki grupta ele alınmaktadır.

*Trombositlere ait testler:* kalitatif ve kantitatif değerlendirmeye yöneliktir.

Kantitatif değerlendirme de trombosit sayısı değerlendirilir.

Kalitatif değerlendirme kanama zamanı, pıhtılaşma zamanı, trombosit agregasyonu ile değerlendirilir.

Trombosit fonksiyonları ile ilgili olarak ayrıca ADP nükleotidleri, serotonin salınımı, PF3 ve prostaglandin kaskadının değerlendirilmesine ait ayrıntılı testler de mevcuttur.

#### *Koagülasyona ait testler:*

Koagülasyon Zamanı, PT (Quick), aPTT (active), trombin zamanı (TT)

FDP (Fibrinojenin proteolitik fragmanları) ile değerlendirilir.

Bugün koagülasyon faktörlerinin (I, II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII) ve plazmin düzeyinin RIA yöntemleriyle tayini laboratuvar şartlarında mümkün olmaktadır.

### Tromboembolide risk faktörleri

Klinik araştırmalar ve otopsi çalışmalarında hastanın yaşı ile trombüs oluşum riskinin arttığı gösterilmiştir. Kalp hastalıklarında derin ven trombozu riski 2-3 kat daha fazla

**Tablo 1.** Venöz tromboembolizme yol açan hiperkoagülabilité durumları (10).

#### *Primer*

- Faktör V Leiden gen mutasyonu
- Protrombin gen 202101 mutasyonu
- Protein C eksikliği
- Protein S eksikliği
- Antitrombin III eksikliği

#### *Sekonder*

- Staz (Postoperatif dönem, immobilizasyon)
- Malignite
- Nefrotik Sendrom
- Östrojen kullanımı ya da gebelik

#### *Primer ya da sekonder*

- Antifosfolipid antikor sendromu
- Hiperhomosisteinemi

olarak bulunmuştur. Bu hastalarda trombüs alt ekstremité venlerinden kaynaklanmaktadır.

Daha önce tromboemboli geçirmiş olan hastalarda tromboemboli riskinin yine 2-3 kat fazla olduğu bildirilmektedir (8,9,11,12).

### Derin ven trombozu ve pulmoner emboliye yaklaşım

Derin ven trombozu (DVT)'nin tanısında; ekstremitéde ödem, gerginlik, ısı artışı ve karşılaştırmalı ekstremité çevresinin ölçümlerinde artış gibi bulguların tespit edilmesinden sonra tanı için ek tetkikler yapılmalıdır.

Venöz tromboemboli tanısında D-dimer, Doppler USG ve Tc99m apsitidin kullanıldığı nükleer görüntüleme yöntemleri kullanılır(10).

*Ultrasonografi:* Klinik bulgular her zaman güvenilir olmayacağından mutlaka objektif değerlendirme yapılmalıdır. Doppler USG ile venöz kan akımındaki değişiklikler ve komprese edilemeyen ven segmenti saptanır.

*D-Dimer:* Akut DVT da yükselmekle birlikte postoperatif dönemde, yaygın damar içi pıhtılaşmada travma ve malignitelere de yükselir. D-Dimer düzeyinin düşük olması, tanı konulma aşamasında yüksek olmasından daha değerlidir. D-Dimer seviyesinin ölçülmesinde ELISA yöntemi, latex agglutinasyon yönteminden daha sensitiftir.

*Tc99m apsitid:* Trombositlerin yüzeyinde bulunan glikoprotein 11b/111a reseptörüne bağlanan 13 aminoasit içeren küçük sentetik bir peptiddir. Bu reseptör sadece trombositlerin yüzeyinde bulunur ve pıhtı oluşumu sırasında aktifleşen trombositlerin fibrinojene bağlanmasında anahtar rol oynar. Akut DVT durumunda nükleer görüntüleme yöntemiyle Tc99m apsitidin bu reseptörlere bağ-

**Tablo 2.** Postoperatif venöz tromboembolizm prevalansına göre risk seviyesinin sınıflandırılması (4):

	<i>Tromboembolizm risk (Prevelans)</i>			
	<i>Düşük</i>	<i>Orta</i>	<i>Yüksek</i>	<i>Çok yüksek</i>
Baldır ven trombozu	2	10-20	20-40	40-80
Proximal bacak ven trombozu	0,4	2-4	4-8	10-20
Semptomatik pulmoner embolizm	0,2	1-2	2-4	4-10
Fatal Pulmonar embolizm	0,002	0,1-0,4	0,4-1	1-5

landığı gösterilir. Bu yöntem akut DVT'ü akut olmayanlardan ayırmada, obez hastalarda kullanılabilir.

Ayırıcı tanıda Tablo 1'de tanımlanmış primer ve sekonder risk faktörleri irdelenmelidir.

### Nöroşirürjide preoperatif antikoagülan tedavi

Buradaki ilk problem antikoagülan tedavinin nöroşirürjikal hastalarda hangi dönemde güvenli olacağıdır. Bu; halen üzerinde yeterince çalışılmamış bir konudur. Bu konuda iki deneysel, iki de geriye dönük çalışma bulunmaktadır.

1985'de sıçanlar üzerinde yapılan deneysel bir çalışmada kraniyotomi sonrasında 10 ve 14. günlerde antikoagülan tedaviye başlamanın güvenli olacağı bulunmuştur (13). 1993 yılında yapılan deneysel bir başka çalışmada ise eğer koagülasyon profili iyi monitörize edilebilirse antikoagülan tedaviye postoperatif 2. günde güvenli bir şekilde başlanabileceği ortaya konulmuştur.

Perioperatif dönemde kanama diğer branşlara göre nöroşirürjiyi daha fazla ilgilendirmektedir. Çünkü postoperatif dönemde kanayan hastaların hemen hemen hepsinde ameliyat sahasında kanama olmaktadır. Diğer cerrahi prosedürlerde operasyon sahasında oluşan hematoma morbidite potansiyeli; kraniyotomi sonrası intraserebral, subdural veya epidural hematoma kadar önemli ve ciddi değildir (8, 11, 14, 15).

Daha önce yayınlanan randomize deneyimler ve perioperatif çalışmalar dikkate alınarak çeşitli risk gruplarındaki hastalarda preoperatif antikoagülan ilaç kullanımının tahmini yararları ve zararları göz önüne alınarak aşağıdaki önerilerde bulunulmuştur.

Bütün hastalarda cerrahiden 2-3 gün önce oral antikoagülan tedavinin kesilmesi gerekir.

Cerrahiye aday venöz tromboemboli bulunan hastalarda, operasyonun rekürrens derin ven trombozu ve pulmoner emboli riskini en aza indirecek süre kadar (yaklaşık 3 ay) ertelenmesi gerekir.

Eğer cerrahi ertelenemiyorsa, cerrahiden 6 saat önceye kadar IV heparin uygulanır ve postoperatif 2. saatte tekrar

başlanır. Bu süreçte parsiyel protromboplastin zamanı dikkatle monitörize edilmelidir (16).

Eğer kanama riski bu uygulamayı yasaklıyor ise bu gruba vena cava filtresi takılması tavsiye edilmektedir.

### Arteriyel tromboembolilerde;

Nöroşirürji hastalarında derin ven trombozu ve pulmoner emboli gelişim riski yüksektir. Antikoagülan tedavinin amacı tromboembolik olayların oluşmasını, oluşmuşsa rekürresini ve progresyonunu önlemektir.

Perioperatif kanama riskini azaltmak için koagülasyon anomalilerini preoperatif dönemde düzeltmek gereklidir. Deneysel çalışmalardan alınan sonuçlara göre kanama komplikasyonları; yetersiz düzeltmeler ve terapötik seviyenin üzerindeki antikoagülan ajan uygulaması ile beraberdir. Kanama riskini azaltma; elektif cerrahi öncesi 2-3. günde oral antikoagülan kesip INR'nin 1,5 katı düzeyine gelmesine izin vermekle meydana getirilebilir veya acil vakalarda vitamin K ile taze donmuş plazma verilerek normale yakın koagülasyon profili oluşturulur (8, 11, 14).

### Antikoagülan ajanların postoperatif kullanımı

Yapılan prospektif çalışmalarda non-nöroşirürjikal hastalarda erken postop dönemde IV heparin başlananlarda postop hemorajinin arttığı ve operasyon bölgesinde kanama olduğu gösterilmiştir. İlk 48 saatte yara iyileşmesinin erken fazı olan inflamatuvar faz özellikle trombüs oluşumu ve gelişimi üzerine dayanmaktadır ve antikoagülan pıhtı oluşması için başlayan pıhtılaşma kaskadını engellemektedir. 48 saatten sonra fibroblastların olay yerine migrasyonu ile fibroblastik faz başlar. Yara yerinde kontraksiyon ve anjiogenezis yara yeri stabilizasyonu için işe başlar ve koagülasyonun burada pek rolü olmaz. Beyin dokusunda operasyondan 3-4 gün sonra pik yapacak şekilde yara iyileşmesinin temel kurallarına uyan astrosit proliferasyonu ve glial fibriller asidik protein yapımı ile olan gliosis başlar. Pıhtı formasyonu ve lizis arasındaki ilişkinin beyin ve çevre dokularda erken postoperatif dönemde antikoagülan tedavi tarafından bozulması ile hemoraji riski artar.

**Tablo 3.** Venöz tromboembolizm profilaksi rejimleri(4):

Modalite	Rejim
Unfraksiyone heparin*	Cerrahiden 2 saat sonra 3500U 8 saatte bir, aPTT normalin üst sınırında olacak şekilde ayarlanır
Düşük molekül ağırlıklı heparin ve heparinoidler	
Ardeparin (Normiflo®)	50antiXa IU/kg (2x1)operasyondan 12-24 saat sonra başlanır
Dalteparin (Fragmin®)*	5000 anti Xa IU (1x1) operasyondan 12 saat önce başlanır
Danaparoid (Orgaran®)	750U (2x1)operasyondan 2 saat önce başlanır
Enoxaparin(Lovenox®)*	30 mg (2x1) operasyondan 12-24 saat sonra başlanır ya da 40mg (1x1) operasyondan 10-12 saat önce başlanır
Nadroparin sodyum	40 antiXa IU/kg (1x1) 3 gün (Operasyondan 2 saat önce başlanır) sonrasında 60IU/kg 1x1
Tinzaparin sodyum	50 anti-Xa U/kg (1x1) operasyondan 2 saat önce ya da 75 anti-Xa IU/kg (1x1) operasyondan 12-24 saat sonra başlanır
Rekombinant Hirudin (desirudin, Refludan®)	15mg (2x1) operasyonun ilk 30 dakikasında ya da reyonel anesteziden hemen sonra başlanır

\*Türkiyede bulunan preparatlar

İkinci bir sorun da hangi hasta grubunda antikoagülan tedaviyi keserek yüksek riskle tromboembolik komplikasyonlarla karşılaşılacağıdır. Bu hastalar tromboembolik tedavi için rölatif riskler göz önüne alınarak değerlendirilmelidir.

#### Örnekler

Düşük risk: Komplikasyonsuz cerrahi, yaş  $\leq 40$ , diğer klinik risk faktörlerin olmaması

Orta risk: Major cerrahi, yaş  $>40$ , diğer klinik risk faktörlerin olmaması

Yüksek risk: Major cerrahi, yaş  $>40$  ek risk faktörleri ya da myokard infarktüsü

Çok yüksek risk: Majör cerrahi, yaş  $>40$ , geçirilmiş venöz tromboembolizm, malignite, alt extremitte oropedik cerrahisi, travma, kalça kırığı, inme ya da spinal kord hasarı

### Nöroşirürjikal yoğun bakımda tromboemboli için profilaksi (Tablo 3,4)

Derin ven trombozu, cerrahi hastalarının yaklaşık %25'inde görülmektedir. Pulmoner emboli ise %1,8 dolaylarındadır. Venöz tromboemboli profilaksisinde farmakolojik yöntemler (heparin,DMAH, oral antikoagulan), mekanik yöntemler, (özelleştirilmiş elastik çoraplama (GES), sıralı pnömatik kompresyon çoraplaması (SPCS) ve filtreler kullanılır.

Mekanik metodlar daha popülerdir. Bunlarda arasında venöz dönüşüme ait mekanik metodlar ve ayrıca vena cava ligasyonu veya filtresi bulunmaktadır. Mekanik metodlarda kullanılan araçlar hemorajik komplikasyonlara yol açmaz, bu araçlar öncelikle vena kan dönüşünü ekstremitelerden daha

etkili hale getirerek bu yolla da venöz stazın derin ven trombozu oluşturma etkisini elimine etmede kullanılmaktadır.

Özelleştirilmiş elastik çoraplama (GES) ve sıralı pnömatik kompresyon çoraplaması (SPCS) yönteminin en son popüler mekanik profilaksi metodları olarak daha verimli olduğu gösterilmiştir. Özelleştirilmiş elastik çoraplamasının proksimal femoral damarlarda kan akımını arttırdığı ve bunun sonucunda da derin ven trombozu riskinde azalma ve bu uygulama ile derin ven trombozu oranının %25'den 9'a düştüğü sonucuna varılmıştır.

Sıralı pnömatik kompresyon çoraplamasında en önemli faktör, başlama zamanıdır. En iyi zamanlama operasyondan 1-2 saat önce kullanımıdır (8,17).

Proflakside kullanılan farmakolojik ajanlardan birisi olan heparinin düşük dozda kullanıldığında derin ven trombozunu % 65 ve pulmoner emboliyi % 50 oranında azalttığı bildirilmektedir. Bu arada heparine bağlı kanama riski de düşük olmaktadır. Yine de heparin tedavisine bağlı kanama komplikasyonlarının bulunması bu tedavi seçeneğinin alternatiflerinin araştırılmasına neden olmuştur. Bunlar ultra düşük doz heparin tedavisi ve düşük molekül ağırlıklı heparin tedavileridir. Diğer bir profilaktik tromboemboli tedavisi ise dekstran denilen polisakkarit türevleridir. Dekstran trombosit adezyonu ve faktör 8'in azaltılması ile etki gösterir ve hemorajik komplikasyonları yoktur (8,9, 11,14,15,16).

Aspirin ve kumadinin de proflakside etkili bulunmuş ancak bu konuda nöroşirürji hastalarında yapılmış çalışma bulunmamaktadır (16,18).

**Tablo 4.** Endikasyona göre önerilen profilaksi(4):

Endikasyon	Profilaksi Önerisi
Nörocerrahi	SPCS ya da DMAH
Multipl travma	SPCS ya da DMAH
Akut spinal kord hasarı beraberinde paralizisi	Ayarlanmış doz heparin, SPCS ya da DMAH
Stroke beraberinde alt ekstermite paralizisi	SPCS, düşük doz heparin ya da DMAH ile kombine

**SPCS:** Sıralı pnömotik kompresyon çoraplaması  
**DMAH:** Düşük moleküler ağırlıklı heparin

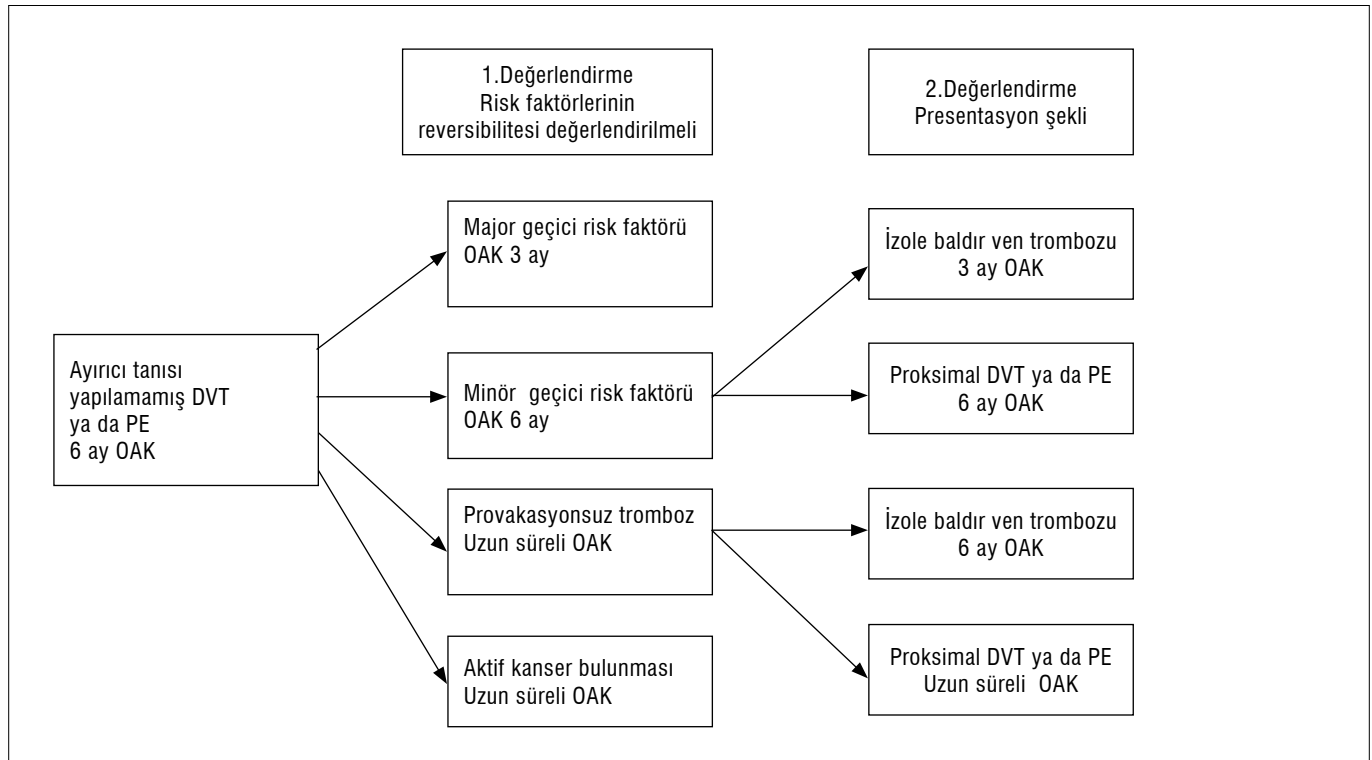
Hastaların karşılaştığı tromboembolik komplikasyonlarda esas endişe; pulmoner embolinin gelişmesidir ki, neredeyse geri çevrilemez bir durumdur. Profilaktik tedavileri çeşitli varyasyonlar gösterir. Beyin cerrahisi hastalarının da dahil edildiği bazı çalışmalarda düşük doz heparin tedavisinin derin ven trombozu ve pulmoner emboli riskini güvenli şekilde azalttığı gösterilmiştir.

Mekanik modellerin derin ven trombozunda heparin tedavisi kadar etkili olduğu görülmüştür. Fakat mekanik tedavilerin pulmoner emboliye karşı profilaktik etkisi yoktur. Beyin cerrahisi hastalarında GES ve SPCS standart olarak kullanılabilir, yüksek risk taşıyan hastalarda mekanik metotlara ilave olarak heparinde tedaviye eklenebilir.

### Derin ven trombozu'nda tedavi

Derin ven trombozunun tedavisinde en temel amaç pulmoner emboliye önlemektir. Her seviyedeki trombüs pulmoner emboliye neden olabilir. Eğer trombüs femoral venlerle sınırlı ise yatak istirahati, ekstremitenin elevasyonu, ısı uygulanması gibi konservatif tedaviler uygulanabilir. Venin üst segmentlerinde trombüsün proksimal yayılımı takip edilmelidir.

Standart tedavi heparin ve warfarin gibi antikoagülan uygulanmasını içerir. Profilaktik olarak düşük doz heparin kullanımı önerilmektedir ama antikoagülan kullanımının güvenliği hakkında yeterli bilgi yoktur. Özellikle yaşlı kadınlarda dikkatli monitörizasyona rağmen heparine bağlı kanamalar kaydedilmiştir (5,8,15,16).

**Şekil 1.** Risk faktörlerine göre antikoagulan tedavinin süresinin belirlenmesi (6) (OAK: oral antikoagulan tedavi)

Eğer intrakranial hemoraji veya vasküler tümörler gibi antikoagülan yaklaşımın kontrendike olduğu durumlar varsa vena cava inferiora müdahale ile ilgili metodlar kullanılabilir.

#### Pulmoner embolide tanı

Pulmoner embolide göğüs ağrısı ve dispne en sık görülen semptom olmakla beraber %40 olguda bulunmazlar. EKG'nin faydası kardiak patolojileri ekarte etmek açısından önemli, pulmoner emboli açısından non spesifiktir. Ventriküler ektopi, QRS kompleksi anomalileri, sol aks deviasyonu gibi belirtiler olabilir.

PA akciğer grafisinde kama şeklindeki infiltrasyon, infarktüs, plevral efüzyon, ateletazi, pulmoner emboliye bağlı olabilir. Ancak normal bir akciğer grafisi pulmoner emboli tanısını ekarte ettiremez. Ventilasyon-perfüzyon sintigrafisi ile % 85 oranında pulmoner emboli tanısı konulabilir. Eğer bu tetkikler ile şüphe kalınıyorsa hastaya toraks BT anjiyografi ve pulmoner anjiyografi gibi daha ileri tetkikler yapılabilir (5,6,8,11).

#### Pulmoner embolide tedavi (Şekil 1)

İlk önce yapılacak tedavi yaklaşımı; hipoksi için oksijen, intravenöz sıvı ve kan basıncı kontrolünü sağlamak için verilen vazopressörleri içerir.

Bolus olarak (5000-10000 İÜ-IV) ve devamlı infüzyon olarak (25 İÜ/kg /saat) heparin 7 ile 10 gün kullanılır. Daha sonra uzun etkili antikoagülan (warfarin) ile tedaviye devam edilir. Zamanında doz regülasyonu için heparinden 48 saat sonra oral antikoagülan tedavi başlanabilir. Erken postoperatif dönem gibi bazı durumlarda antikoagülanlar beyin cerrahisi pratiğinde kontrendike olup başka tedavi yaklaşımları gerekli olabilir.

Ürokinaz ve streptokinaz hızlı pıhtı eriterek pulmoner embolide özellikle hayatı tehdit eden tablo varsa kullanılabilir.

Tekrarlayan pulmoner embolide vena cava filtreleri profilaktik olarak kullanılabilir.

#### Tartışma

Nöroşirürji hastalarında derin ven trombozu ve pulmoner emboliden şüphelenmek ve erken tanı koymak önemlidir. Tromboemboli riskini yükselten faktörler çok iyi bilinmelidir. Düşük doz heparin ve eksternal pnömotik kompresyon gibi profilaktik uygulamaların nöroşirürji hastalarında derin ven trombozu riskini azalttığı gösterilmiştir. Risk faktörüne sahip hastalar tromboemboli gelişimi açısından değerlendirilmeli ve profilaktik tedavi başlanmalıdır (5,6,8,11,16).

#### Kaynaklar

1. Silverstein MD, Heit JA, Mohr DN et al. Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a 25 year population based study. Arch Intern Med 1998; 158:585
2. Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN et al. Predictors of survival after deep venous thrombosis and pulmonary embolism Arch Intern Med 1999; 159:445.
3. Clagett GP, Anderson FA Jr, Geers W et al. Prevention of venous thromboembolism Chest 1998; 114:531S.
4. John Heit Venous thromboembolism prophylaxis ASH Education Book 1999; 223-230.
5. Agnelli G. Prevention of venous thromboembolism after neurosurgery, Thromb Haemost 1999; 82:925-30.
6. Clagett GP, Anderson FA Jr, Geerts W. Prevention of venous thromboembolism, Chest 1998; 114:531S-560S.
7. Flinn WR, Sandager GP, Silva MB Jr et al. Prospective surveillance for perioperative venous thrombosis. Experience in 2643 patients, Arch Surg 1996; 131:472-80.
8. Haas S. European consensus statement on the prevention of venous thromboembolism, European Consensus Conference, Windsor, U.K., 1991, Blood Coagul Fibrinolysis 1991; 5:5-8; discussion S9-10
9. Cupitt JM. Prophylaxis against thromboembolism in patients with traumatic brain injury: a survey of UK practice, Anaesthesia 2001; 56:780-85.
10. David Cohen Deep Venous thrombosis: An overview. Hospital Physician 2003; 18-22.
11. Guidry U, Mc Laren Black P, Goldhaber SZ. Venous thromboembolism prophylaxis in the craniotomy patient: an editorial, Surg Neurol 1998; 50:182-3.
12. Agnelli G, Sonaglia F. Prevention of venous thromboembolism in high risk patients. Haematologica 1997; 82:496-502.
13. Schnaible KL, Smith LJ, Fessler RG et al. Evaluation of the risks of anticoagulation therapy following experimental craniotomy in the rat, J Neurosurg 1985; 63:959-62.
14. Boykett MH. Thromboembolism prophylaxis, Anaesth Intensive Care 1990; 18:275-6.
15. Wen DY, Hall WA. Complications of subcutaneous low-dose heparin therapy in neurosurgical patients. Surg Neurol 1998; 50:521-5.
16. Monreal M, Lafoz E, Olive A et al. Comparison of subcutaneous unfractionated heparin with a low molecular weight heparin (Fragmin) in patients with venous thromboembolism and contraindications to coumarin, Thromb Haemost 1994; 71:7-11.
17. Agnelli G, Piovello F, Bouncriani P. Enoxaparin plus compression stockings compared with compression stockings alone in the prevention of venous thromboembolism after elective neurosurgery, N Engl J Med 1998; 339:80-5.
18. Adams CB. Aspirin and emboli, Lancet 1971; 7731:982.

# Synchronous lung cancer cases

Senkron akciğer kanseri olguları

Arif Osman Tokat<sup>1</sup>, Ulaş Kumbasar<sup>2</sup>, Adem Güngör<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ministry of Health, Ankara Training and Research Hospital, Ankara

<sup>2</sup> Department of Thoracic Surgery, Ankara University School of Medicine, İbn-i Sina Hospital, Ankara

Synchronous tumor is described as two different tumors presenting at the same time in the same organ. Pulmonary tumors existing in different lobes or different sides of the lungs at the same time are defined as pulmonary synchronous tumors. We describe three different cases that were diagnosed by different methods and that had different clinical outcomes. Within the first case, the second tumor was determined while the patient was receiving chemotherapy. In the second case, the tumor was diagnosed by flow cytometric examination. And in the third case, the tumor was diagnosed intraoperatively by frozen section. Synchronous tumors are uncommon, they occur in 1-2 % of all bronchial carcinomas. Concerning the better survival rates of surgical treatment, the possibility of synchronous tumor should be remembered in the cases that have separate lesions.

Key words: **Lung cancer, pulmonary, synchronous tumor**

Senkron tümör tanımı, bir organda aynı anda iki farklı tümör saptanması olarak özetlenebilir. Akciğerlerde aynı anda farklı lokalizasyonlarda pulmoner tümör saptanması durumunda pulmoner senkron tümörden bahsedilir. Bronş karsinomu serisi içinde karşılaşılan üç pulmoner senkron tümör olgusunu, tanı aşamasındaki ve klinik seyirlerindeki farklılıklar nedeniyle sunulması amaçlandı. Birinci olgu; akciğer kanseri tanısı ile kemoterapi protokolünde iken ikinci tümör saptandı. İkinci olguda senkron tümör tanısı preoperatif "flow-sitometrik" inceleme ile ortaya konuldu. Üçüncü olguda ise senkron tümör tanısı ameliyat sırasında "frozen" biyopsi ile ispatlandı. Oldukça seyrek olarak görülen senkron tümörler tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık % 1-2'sini oluşturmaktadır. Birden fazla kitle ile başvuran olgularda senkron tümör olasılığı akılda tutularak, olgulara cerrahi tedavi şansı verilebilmekte ve cerrahi olmayan tedavi protokollerine göre daha uzun bir sağkalım şansı sağlanabilmektedir.

Anahtar kelimeler: **Akciğer kanseri, pulmoner, senkron tümör**

Lung cancer is one of the most common causes of death associated with cancer. Five year survival rate of surgical treatment is better than medical treatment (1,2). Synchronous tumors are described as two different tumors presenting at the same time in the same organ. Pulmonary tumors existing in different lobes or different sides of the lungs at the same time are defined as pulmonary synchronous tumors (3).

However surgical management of synchronous tumors is still controversial. Synchronous tumors are uncommon, occurring in 1-2 % of all lung cancers (2). In the literature 5-year survival rate of pulmonary synchronous tumors is reported between 0 % and 6 % (1, 2,4).

In this study we report three different non-small cell pulmonary synchronous tumors and try to argue the role of surgical management.

## Case 1

A 58-year-old man was admitted with dyspnea. Computed tomography (CT) of the chest demonstrated a peripherally located 6x4x2 cm mass in the left lower lobe.

Received: 02.18.2003 • Accepted: 10.11.2004

Corresponding author

Prof. Dr. Adem Güngör

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı,  
Ankara

Tel : (312) 310 33 33/2227

Faks : (312) 417 3474

E-mail : gungor@medicine.ankara.edu.tr

Transthoracic fine needle aspiration biopsy revealed adenocarcinoma. Brain CT revealed 1 cm. hypodense mass in the left posterior parietal region. Abdomen CT showed no abnormality. As the bone scan of the patient demonstrated a metastatic lesion in the seventh thoracic vertebrae chemotherapy was administered.

Control CT of the patient demonstrated another lesion in the right upper lobe, regression of the mediastinal lymph nodes and regression of the lesion located in the left lower lobe. The second control CT of the patient demonstrated regression of the lesion located in the left side but progression of the lesion located in the right upper lobe. Indeed a 3x2 cm pretracheal lymph node was detected. Transthoracic fine needle aspiration biopsy of the lesion located in the right upper lobe was reported as epidermoid carcinoma. In conclusion chemotherapy was administered with the diagnosis of synchronous lung cancer.

## Case 2

A 63-year-old man was presented to our hospital with dyspnea and chest pain. Physical examination revealed clubbing of the nails. Chest X ray demonstrated two different opacities in the left lung (Figure 1).

CT of the chest demonstrated a 5x4x4 cm soft tissue lesion in the left upper lobe and a 2x2x2 cm lesion in the left lower lobe (Figure 2, 3). Respiration function tests were FVC: 2.74 L (%65), FEV1: 1.99 L (%61), arterial blood gas analysis showed pO<sub>2</sub>: 69.2, pCO<sub>2</sub>: 37.3, SO<sub>2</sub>: 95.1 %. Two separate endobronchial lesions were detected one in the left lower lobe bronchus and one in the left upper anterior segment bronchus on bronchoscopy. Specimens



Figure 1. Chest X-Ray of the patient.

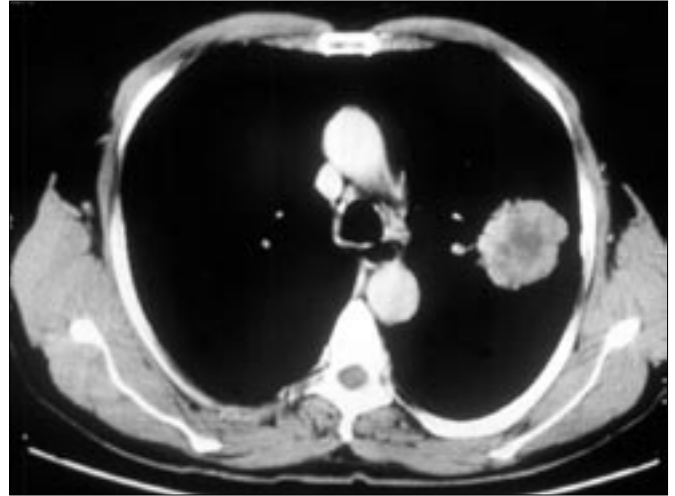


Figure 2. CT of the mass in the left upper lobe.

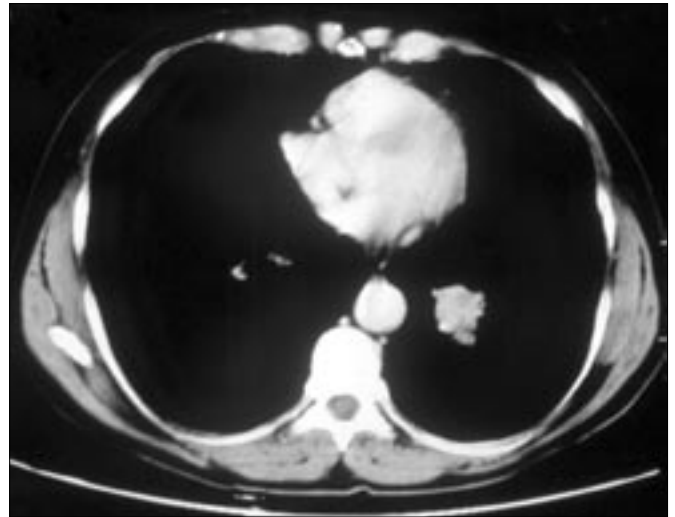


Figure 3. CT of the mass in the left lower lobe.

for histopathological examination were taken from each lesion. The histopathologic examination was reported as squamous cell carcinoma. Although these tumors have similar ploidy features, the proliferation of the left lower lobe tumor was found higher than the other tumor at the flow cytometric examination.

Brain-abdomen CT and bone scan revealed normal. Thoracotomy was performed with the diagnosis of pulmonary synchronous tumors. On exploration 4x4x5 cm lesion in the upper lobe and 3x3x3 cm lesion located peribronchially in the lower lobe were detected. Pneumonectomy and systematic nodal dissection were performed.

Histo-pathologic examination of the lesion located in upper lobe was reported as adenosquamous carcinoma and the other tumor was reported as moderately differentiated squamous cell carcinoma. As the pathologic examination showed no nodal involvement each tumor was evaluated as

stage I. However the tumor in the upper lobe was revealed to be T2, N0, M0 and the other was T1, N0, and M0.

During follow up, all control CT's were normal until the postoperative 21st month. The control abdominal CT revealed a hypodens lesion in the liver, bilaterally adrenal hyperplasia and multiple paraaortic lymphadenopathies. Biopsy of the lesion was reported as metastasis of adenocarcinoma, and it was thought as a primary tumor originated from the stomach. Furthermore primary gastric tumor was seen on endoscopy. Chemotherapy was planned for the patient. However the patient died because of the complications of gastric carcinoma on 28th month follow up.

### Case 3

A 59 year-old-man admitted with a 2 year history of cough. Chest X-Ray showed two different lesions in the right hemithorax (Figure 4).

Thorax CT revealed 3x3x3 cm. lesion located inferiorly in the right upper lobe and another 7-cm. lesion in the laterobasal segment of the right lower lobe (Figure 5,6). Brain-abdomen CT and bone scan showed no abnormality.

On preoperative bronchoscopic examination, an endobronchial lesion was detected in the anterior segment bronchus of the right upper lobe. Biopsy of the lesion was reported as squamous cell carcinoma. Respiration function tests of the patient were FVC: 85.2 %, FEV1: 86 % and



Figure 4. Chest X-Ray of the patient.

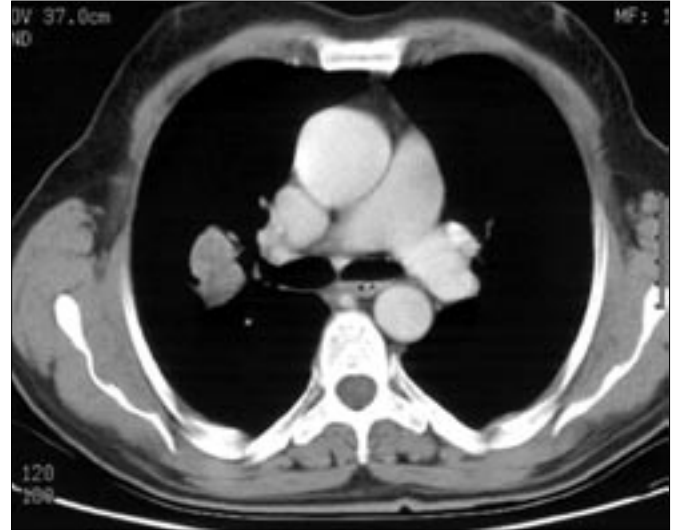


Figure 5. CT of the mass in the right upper lobe.

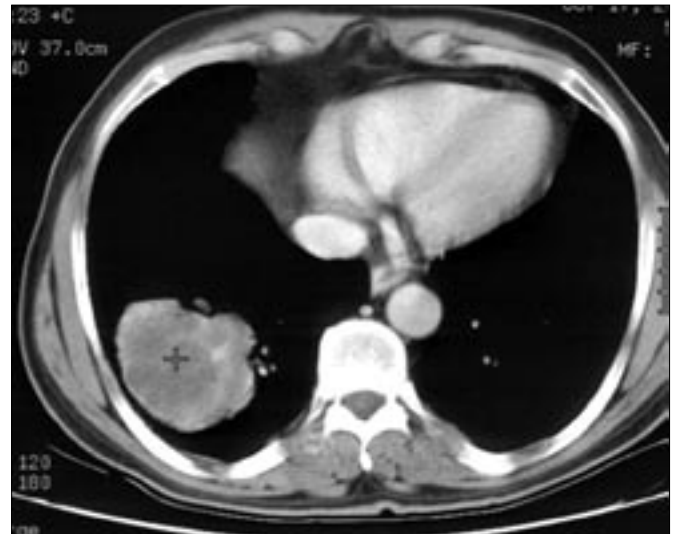


Figure 6. CT of the mass in the right lower lobe.

arterial blood gas analysis showed PO<sub>2</sub>: 77, PCO<sub>2</sub>: 38.6, SO<sub>2</sub>: 94.4.

Right thoracotomy was performed with the possibility of synchronous tumors. On exploration, a 5-cm. lesion in the left upper lobe and another 8x9x5 cm. lesion in the lower lobe were detected. As the frozen section of the lesion located in the lower lobe was reported as adenocarcinoma, right pneumonectomy and systematic nodal dissection were performed. Histopathological examination was reported as adenosquamous carcinoma for the lower lobe tumor, squamous cell carcinoma for the upper lobe tumor. Resection margins were negative, squamous tumor cells were detected on paraesophageal lymph node. He was asymptomatic on 18<sup>th</sup> month follow up.



## Discussion

Carcinoma of the lung is the leading cause of cancer death in countries whose statistical analyzes are reliable (3, 5). Synchronous tumors, which are described as multiple primary tumors, are very rare (1, 2, 4, and 6). The most common site for these tumors is breast. Advances in surgical managements and diagnostic methods for carcinoma of the lung lead to an increase in the rate of synchronous tumors (2, 6).

Tobacco smoking and asbestosis are the most common occupational causes of lung cancer (1, 7, and 8). Also it is obvious that similar exposures can cause similar effects on same tissues (8). By the way, detection of multiple lesions of the lungs at the same time should be considered (1, 2, 7, and 8). In some series, detection of a secondary primary tumor for the patients who survives more than 3 years was found to be 10 % (1, 4).

Metastatic disease increases the grade (Grade IV) and decreases overall lifetime in lung cancer. However, a second lung cancer with different histologic features should be considered as synchronous and should be staged separately. Differentiation of these clinical entities is important in terms of surgical vs. medical management and prognosis (3, 5).

When more than one lesion was detected in a patient and if there is enough evidence that the second lesion is not metastatic then the possibility of synchronous tumor should be kept in mind. In such cases, separate biopsies should be taken from both lesions. When it is impossible to reach the lesion with bronchoscopy, transthoracic biopsy might confirm the diagnosis. DNA flow cytometry can be used to differentiate between two synchronous cancers of the same histologic condition (8, 9).

Most authors suggested that after the diagnosis, the two tumors should be staged separately and surgery should not be performed for the tumors having larger grades than grade II (4, 10-12).

In bilaterally lesions wedge resection and segmentectomy are the preferred methods. However, for ipsilaterally

lesions surgical methods such as pneumonectomy were applied in some studies (1, 2, 10, 13).

Postoperative survival in synchronous lung cancer having complete resection has a wide range in different studies. Five year survival was 6 % in Carey (14)'s study and 44 % in Rosengart (7)'s study. However, all cases in every stage were evaluated in these studies. In Pompier (6)'s series, grade I and II cases were evaluated and 5 year survival was found 38 % after complete resection. In this study, 5-year survival was 33 % for the tumors with same histologic types while it was 17 % for the tumors with different histologic types (2).

The cases in which more than one tumor is detected radiologically, the possibility of a synchronous tumor or a metastasis of the primary tumor must always be kept in mind and histopathologic diagnosis should be done for both tumors (14). Complete resection should be performed if feasible. For synchronous tumors with lower grades, with early surgical intervention, the survival can be as long as solitary lung cancers especially in epidermoid carcinoma (15).

In recent years genetic investigations showed that environmental conditions have an influence on the development of cancer (16). Besides, smoking and asbestosis are the most common occupational causes of lung cancer. For patients who have similar genetic and environmental conditions, there is a possibility of developing tumor in multiple foci.

With the help of developments in treatment of cancer, for the patients who had long overall survival or had cure with the treatment of primary cancer, the possibility of finding a second tumor (metachronous tumor) increases. Simultaneous discovery of tumors, like larynx and bladder tumors which are related to tobacco, with the lung cancer is possible. Therefore, it is important to keep in mind that, especially for the cases T1-2 N0, the lesions that are accepted as pulmonary metastases may be synchronous tumors.

## References

1. Adebonojo SA, Moritz DM, Danby CA. The results of modern surgical therapy for multipl primary lung cancers. *Chest* 1997; 112: 693-701.
2. Pompier RE, Vetto JT, Lee JT et al. Synchronous non-small cell lung cancers. *Am J Surg.* 1996; 171:521-4.
3. Adebonojo SA, Mortiz DM, Danby CA. The results of Modern Surgical Therapy for Multiple Primary Lung Cancers. *Chest* 1997; 112: 693-701.
4. Rosengart TK, Martini N, Ghosn P et al. Multipl primary lung carcinomas: prognosis and treatment. *Ann Thorac Surg* 1991; 52:773-9.
5. Pairolero PC, Williams DE, Bergstrahl EJ et al. Postsurgical stage I bronchogenic carcinoma: morbid implications of recurrent disease. *Ann Thorac Surg* 1984; 38:331.
6. Kitamura K, Mitsudomi T, Ishida T et al. Adenocarcinoma and squamos cell carcinoma in the same lobe of the lung. *Respiration* 1991; 58: 226-8.
7. Aydiner A, Karadeniz A, Uygun K et al. Multipl primary neoplasms at single instution. *Am J Clin Oncol* 2000; 23: 364-70.
8. Deschamps C, Pairolero PC, Trastek VF et al. Multipl primary lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1990; 99:769-78.
9. Hida T, Ariyoshi Y, Sugiura T et al. Synchoronous lung cancer presenting with small cell carcinoma and adeno carcinoma. *Chest* 1993; 104:1602-4.

10. Martini N, Melamed MR. Multiple primary lung cancers. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 70:606-12.
11. Ferguson MK. Synchrononous primary lung cancers. *Chest* 1993; 103:398-400.
12. Ferguson MK, DeMeester TR, DesLauriers J et al. Diagnosis and management of Synchrononous lung cancers. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1985; 89:378-85.
13. Carey FA, Donnelly SC, Walker WS et al. Synchrononous primary lung cancers: Prevalance in surgical material and clinical implications. *Thorax* 1993; 48:344-6.
14. Pierard P, Vermylen P, Bosschaerts T et al. Synchrononous roentgenographically occult lung carcinoma in patients with resectabl primary lung cancer. *Chest* 2000; 117:779-85.
15. Colomer EJ, Molina JC, Aguilar X, et al. Synchrononous multiple primary cancer of the lung: A rare association of small cell carcinoma as the main tumor plus epidermoid carcinoma. *Arch Bronconeumol* 1999; 35:245-7.
16. Hiroshima K, Toyozaki T, Kohno H et al. Synchrononous and metachronous lung carcinomas: molecular evidence for multicentricity. *Pathol Int* 1998; 48:869-76.