



# Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi mecmuası

Cilt-Volume: 75 Sayı-Issue: 1 Mart-March 2022

## Davetli Derleme / Invited Paper

- Ultrasonography Use in Emergency Health Services

## Özgün Makaleler / Research Articles

- Koagülaz Negatif Stafilokoklarda Biyofilm Oluşumunun Çeşitli Kongo Kırmızısı Besiyerlerinde Değerlendirmesi
- Modifiye Ketojenik Diyet Uygulayan Glioblastomalı Hastaların Kan Parametrelerinin Retrospektif Olarak İncelenmesi
- Magnolia Officinalis Ekstraktının Kardiyak Yaşlanmada Gözlenen Mitokondri Fonksiyon Bozukluğu Üzerindeki Düzenleyici Etkileri
- Evaluation of the Effects of Different Antibiotic Combinations on Multi-Drug Resistant Gram-Negative Bacteria
- Musculoskeletal System Pain and Related Factors During Online Education in the COVID-19 Pandemic among Ankara University Faculty of Medicine Students, Turkey
- Sol Atriyal Uzunlamasına Deformasyon Değerinin Kardiyak Amiloidoz Hastalarında Prognoz Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi
- Diyastolik Disfonksiyonu Olan Hastalarda Kalp Yetmezliği Gelişimini Öngörmeye Sağ Ventrikül Deformasyon Değerinin Önemi
- Çocuklarda Karaciğer Hastalıklarının Tanısında Karaciğer Biyopsisinin Yeri
- The Impact of Prodromal Stage Non-Motor Symptoms on Clinical Progression in Parkinson's Disease
- Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem 3 Öğrencilerinin COVID-19 Aşılarına Karşı Tutumları ve İlişkili Faktörler
- Evaluation of Health Status and Quality of Life in Patients Using Intravenous and Subcutaneous Forms of Immunoglobulin Replacement
- Evaluation of HLA Class II Alleles in Cases with Chronic Spontaneous Urticaria
- Is it Possible to Differentiate Community-Acquired Pneumonia from COVID-19 Pneumonia?
- Ultrason Kılavuzluğunda Karaciğer Biyopsisi: Tek Merkez Deneyimleri
- Sorafenib in Radioactive Iodine Refractory Differentiated Thyroid Cancer: A Real-life Data with Long-term Experience
- Kronik Perineal Ağrı Yönetiminde İmpar Ganglion Blok Etkinliğinin Değerlendirilmesi
- Relationship Between Serum CA 19-9 Levels and Lymphovascular and Perineural Invasion of the Tumor and Lymph Node Metastasis in Patients Operated due to Pancreatic Carcinoma
- Fournier Gangreni Deneyimimiz: Otuz Beş Olguluk Retrospektif Analiz
- Yüksek Homosistein Seviyelerinin Eretil Disfonksiyon Süresi ve Şiddeti Üzerine Etkileri

## Olgu Sunumları / Case Reports

- A Patient with Local Hypersensitivity Reactions to Three TNF- $\alpha$  Inhibitors and Local/Systemic Hypersensitivity Reactions to Tocilizumab: Desensitization to Tocilizumab
- A Cleft Lip and Palate Case With Fraser Syndrome: Case Report and Literature Review
- An Intracranial Foreign Body That Encountered Incidentally After Years
- Cervical Paravertebral Osteolipoma: Case Report and Literature Review
- Two Newborns Presenting with Intraabdominal Cystic Mass and Obstructive Uropathy: Hydrometrocolpos due to Vaginal Atresia

**Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Adına İmtiyaz Sahibi ve Sorumlu Müdür**  
**Prof. Dr. Zehra Aycan**  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-4584-2976  
E-mail: zaycan@ankara.edu.tr

**Yazı İşleri Müdürü**  
**Prof. Dr. K. Osman Memikoğlu**  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

**Baş Editör**  
**Prof. Dr. K. Osman Memikoğlu**  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-7206-3552  
E-mail: memikoglu@ankara.edu.tr

**Yardımcı Editörler**  
**Prof. Dr. Zeynep Ceren Karahan**  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-7727-3363  
E-mail: ckarahan@medicine.ankara.edu.tr

**Prof. Dr. Elif İnce**  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematolojisi ve Onkolojisi Bilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-6846-6048  
E-mail: Eince@ankara.edu.tr

**Prof. Dr. Ayhan Cömert**  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-9309-838X  
E-mail: comertayhan@yahoo.com comert@medicine.ankara.edu.tr

**Prof. Dr. Volkan Genç**  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-3883-4791  
E-mail: volkan@medicine.ankara.edu.tr

**Prof. Dr. Mustafa Şahin**  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-4718-0083  
E-mail: mustafasahin@ankara.edu.tr - drsahinmustafa@yahoo.com

**Önceki Editörler**  
**Prof. Dr. Yücel Kanpolat - Merhum**  
**Prof. Dr. Çetin Erol**  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Bilimleri Anabilim Dalı, Kardiyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-7396-3818  
E-mail: cerol@medicine.ankara.edu.tr

**Prof. Dr. Aydın Yağmurlu**  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Cerrahi Tıp Bilimleri Anabilim Dalı, Çocuk Cerrahisi Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-3294-4482  
E-mail: eayagmur@medicine.ankara.edu.tr

## DANIŞMA KURULU/SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

**George Feigl**  
Gottfried Schatz Araştırma Merkezi, Makroskopik ve Klinik Anatomi Anabilim Dalı, Graz, Avusturya  
ORCID ID: 0000-0001-6984-5413  
E-mail: Georg.Feigl@uni-wh.de

**David Kachlik**  
2. Tıp Fakültesi, Charles Üniversitesi, Prag, Çek Cumhuriyeti  
ORCID ID: 0000-0002-8150-9663  
E-mail: david.kachlik@ifmotol.cuni.cz

**Mustafa Sargon**  
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-6360-6008  
E-mail: mustafa.sargon@lokmanhekim.edu.tr

**Belma Turan**  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-2583-9294  
E-mail: belma.turan@medicine.ankara.edu.tr

**Derya Gökmen**  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-6266-3035  
E-mail: oztuna@ankara.edu.tr

**Deniz Billur**  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-8541-8251  
E-mail: billur@medicine.ankara.edu.tr

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin resmi yayın organıdır.  
Journal of Ankara University school of medicine is an official journal of the Ankara University Faculty of Medicine.



**Galenos Yayınevi Kurucusu ve Sahibi/  
Galenos Publishing House Owner and Publisher**  
Derya Mor  
Erkan Mor  
**Genel Yayın Koordinatörü/Publication Coordinator**  
Burak Sever  
**Web Koordinatörleri/Web Coordinators**  
Fuat Hocalar  
Turgay Akpınar  
**Grafik Departmanı/Graphics Department**  
Ayda Alaca  
Çiğdem Birinci  
Gülşah Özgül  
**Finans Koordinatörleri/Finance Coordinators**  
Emre Kurtulmuş  
Sevinç Çakmak

**Proje Koordinatörleri/Project Coordinators**  
Aysel Balta  
Duygu Yıldırım  
Gamze Aksoy  
Gülay Akın  
Hatice Sever  
Melike Eren  
Özlem Çelik Çekil  
Pınar Akpınar  
Rabia Palazoğlu  
Sümeyye Karadağ  
**Araştırma&Geliştirme/Research&Development**  
Melisa Yiğitoğlu  
Nihan Karamanlı  
**Dijital Pazarlama Uzmanı/  
Digital Marketing Specialist**  
Ümit Topluoğlu

**Yayınevi İletişim/Publisher Contact**  
Adres/Address: Molla Gürani Mah. Kaçamak Sk. No: 21/1  
34093 İstanbul, Türkiye  
Telefon/Phone: +90 (212) 621 99 25  
Faks/Fax: +90 (212) 621 99 27  
E-posta/E-mail: info@galenos.com.tr/yayin@galenos.com.tr  
**Yayıncı Sertifika No: 14521**  
Web: www.galenos.com.tr  
**Yayın Tarihi/Publishing Date: Mart 2022 / March 2022**  
ISSN: 0365-8104 E-ISSN: 1307-5608  
Üç ayda bir yayımlanan süreli yayındır.  
International scientific journal published quarterly.



## DANIŞMA KURULU/SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

### Sinan Özkavukcu

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-4525-9027  
E-mail: ozkavukcu@ankara.edu.tr

### Ali Doğan Dursun

Atılım Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000 E-mail: -0001-9056-0025  
E-mail: ali.dursun@atilim.edu.tr

### Aydın Karaaslan

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-1256-1051  
E-mail: karaars@medicine.ankara.edu.tr

### Gülşay Aral Akarsu

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-0007-9006  
E-mail: gakarsu@ankara.edu.tr

### Erdinç Devrim

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-7326-5104  
E-mail: devrim@ankara.edu.tr

### Meral Demirören

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıp Eğitimi ve Bilişimi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-7415-9602  
E-mail: meraldemiroren@hacettepe.edu.tr

### Berna Arda

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıp Eğitimi ve Bilişimi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-2043-2444  
E-mail: arda@medicine.ankara.edu.tr

### Gürol Cantürk

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-3720-3963  
E-mail: canturk@medicine.ankara.edu.tr

### Onur Polat

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-4850-8052  
E-mail: opolat@medicine.ankara.edu.tr

### Ayşe Gülsen Ceyhan Peker

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-0856-9790  
E-mail: ceyhan@medicine.ankara.edu.tr

### Ergin Çiftçi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-4955-160X  
E-mail: Ergin.Ciftci@ankara.edu.tr

### Filiz Şimşek Orhon

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Sosyal Pediatri Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-5949-2298  
E-mail: simsek@ankara.edu.tr

### Önder Ergönül

Koç Üniversitesi Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-1935-9235  
E-mail: ondere@amerikanhastanesi.org

### Şebnem Ataman

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-3570-3825  
E-mail: atamans@ankara.edu.tr

### Birkan Sonel Tur

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-0798-4554  
E-mail: sonelb@medicine.ankara.edu.tr

### Zeynep Pınar Önen

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-9778-9882  
E-mail: zponen@ankara.edu.tr

### Ömür Aydın

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Anabilim Dalı, Göğüs Hastalıkları Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-3670-1728  
E-mail: omuraydin@ankara.edu.tr

### Deniz Çalışkan

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-4877-0122  
E-mail: dodabas@ankara.edu.tr

### Mustafa Şahin

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolik Hastalıklar Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-4718-0083  
E-mail: mustafasahin@ankara.edu.tr

### Özgür Demir

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolik Hastalıklar Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-6555-3579  
E-mail: ozgdemir@ankara.edu.tr

### Betül Hatipoğlu

Case Western Reserve Üniversitesi, Cleveland Clinic Ana Kampüsü, Endokrinoloji, Diyabet ve Metabolizma Anabilim Dalı, Cleveland, ABD  
ORCID ID: 0000-00025285-5858  
E-mail: hatipob@ccf.org

### Nuray Yazihan

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Patofizyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-1237-8468  
E-mail: nurayyazihan@yahoo.com

### Mehmet Bektaş

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-7644-4466  
E-mail: info@drmehtembektas.com

### Murat Varlı

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Geriatri Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-1176-5255  
E-mail: mvarli@ankara.edu.tr

### Meltem Yüksel

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-0369-299X  
E-mail: mkyuksel@ankara.edu.tr

### Göksal Keskin

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmünoloji ve Allerji Tıbbi Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-8553-5378  
E-mail: goksalkeskin@ankara.edu.tr

### Mark E. Rosenberg

Amerikan Nefroloji Derneği, Washington, ABD  
ORCID ID:  
E-mail: rosen0001@umn.edu

### Şule Şengül

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-2831-2682  
E-mail: sengul@medicine.ankara.edu.tr

### Aşkın Ateş

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahiliye Anabilim Dalı, Romatoloji Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-1966-33  
E-mail: askinates@ankara.edu.tr

## DANIŞMA KURULU/SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

### Hakan Akbulut

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-1631-5739  
E-mail: akbulut@medicine.ankara.edu.tr

### Defne Altıntaş

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Yoğun Bakım Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-7885-8942  
E-mail: ndaltintas@ankara.edu.tr

### Cansın Tulunay Kaya

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-1168-9005  
E-mail: kayac@ankara.edu.tr

### Çağdaş Özdöl

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Anabilim Dalı, Kardiyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-3605-9365  
E-mail: ozdol@ankara.edu.tr

### Serdar Aksöyek

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-9118-6338  
E-mail: serdar.aksöyek@hacettepe.edu.tr

### Mine Hayriye Sorgun

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-2370-7319  
E-mail: mhsorgun@ankara.edu.tr

### Çağlar Uzun

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-8441-2912  
E-mail: cuzun@ankara.edu.tr

### Evren Üstüner

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-0932-1508  
E-mail: eustuner@ankara.edu.tr

### Ebru Düşünceli Atman

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-8515-281X  
E-mail: eatman@ankara.edu.tr

### Nurdan Çay

Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-7022-514X  
E-mail: nurdancay@ybu.edu.tr

### Serap Akyürek

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-8840-0233  
E-mail: akyurek@medicine.ankara.edu.tr

### Vesile Şentürk Cankorur

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-2911-8323  
E-mail: senturk@ankara.edu.tr

### Ayşe Boyvat

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-7897-8349  
E-mail: boyvat@medicine.ankara.edu.tr

### Seray Çakmak

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Şehir Hastanesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Kliniği, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-8536-5946  
E-mail: seray.kulcucakmak@sbu.edu.tr

### Rüştü Güner

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Spor Hekimliği Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-3473-346X  
E-mail: guner@medicine.ankara.edu.tr

### Kemal Sayar

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-6807-4741  
E-mail: ksayar@ankara.edu.tr

### Nüket Kutlay

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-2999-4745  
E-mail: nykutlay@medicine.ankara.edu.tr

### Menekşe Özçelik

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-5893-8577  
E-mail: mozcelik@ankara.edu.tr

### Ömer Taylan Akkaya

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-4559-1209  
E-mail: dr.taylanakkaya@gmail.com

### Gökmen Kahiloğulları

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-8137-0510  
E-mail: kahilogullari@ankara.edu.tr

### Necmettin Tanrıöver

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Beyin Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-7628-9443  
E-mail: nyazihan@ankara.edu.tr

### Gülnur Göllü Bahadır

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-8163-2226  
E-mail: ggollu@ankara.edu.tr

### Eren Berber

Endokrin Cerrahi Merkezi Cleveland Klinik Ana Kampüsü, Cleveland, ABD  
ORCID ID: 0000-0002-1964-9286  
E-mail: BERBERE@ccf.org

### Ayhan Kuzu

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-1561-9060  
E-mail: kuzu@ankara.edu.tr

### Cüneyt Köksoy

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Periferik Damar Cerrahisi Bölümü, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-2767-2830  
E-mail: cuneyt.koksoy@bcm.edu

### Ayten Kayı Cangır

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-2052-1642  
E-mail: cangir@medicine.ankara.edu.tr

### Nilüfer Yalçındağ

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-8963-5146  
E-mail: nil.yalcindag@gmail.com

### Ş. Esra Çetinkaya

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-2415-1236  
E-mail: ecetinkaya@ankara.edu.tr

### Şevki Çelen

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Etlük Zübeyde Hanım Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-7033-3474  
E-mail: sevki.celen@sbu.edu.tr

### Süha Beton

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-8195-4380  
E-mail: sbeton@ankara.edu.tr



## DANIŞMA KURULU/SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

### Ela Cömert

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz  
Anabilim Dalı, Kırıkkale, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-7739-2717  
E-mail: elacomert@kku.edu.tr

### Gökhan Çakmak

Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve  
Travmatoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-7230-2871  
E-mail: gokhancakmak@yiu.edu.tr

### Bülent Özkurt

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Bilkent Şehir Eğitim  
ve Araştırma Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği,  
Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-6135-1870  
E-mail: drbulentozkurt@yahoo.com

### Mehmet Armançil

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve  
Travmatoloji Anabilim Dalı, El Cerrahisi Bölümü, Ankara,  
Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-0433-0253  
E-mail: armançil@ankara.edu.tr

### Burak Kaya

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif  
ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-8516-3658  
E-mail: burakkaya@ankara.edu.tr

### Aylin Okçu Heper

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı,  
Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-7807-0717  
E-mail: heper@medicine.ankara.edu.tr

### Koray Ceyhan

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı,  
Sitopatoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-6835-8709  
E-mail: ckoray@ankara.edu.tr

### Evren Süer

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı,  
Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-4093-5436  
E-mail: esuer@ankara.edu.tr

### Ömer Gülpınar

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı,  
Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-0869-708X  
E-mail: ogulpinar@ankara.edu.tr

### Berk Burgu

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı,  
Çocuk Ürolojisi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0003-1546-1179  
E-mail: bburgu@ankara.edu.tr

### Ferdi Tanır

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı  
Anabilim Dalı, Adana, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0001-7408-8533  
E-mail: ftanir@cu.edu.tr

### Şehsuvar Ertürk

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nefroloji Anabilim  
Dalı, Ankara, Türkiye  
ORCID ID: 0000-0002-7437-318X  
E-mail: erturk@medicine.ankara.edu.tr

## AMAÇ VE KAPSAM

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin resmi yayınıdır. Bağımsız, çift-kör hakemli ve açık erişimli bir dergidir. Yılda 4 sayı olmak üzere Mart, Haziran, Eylül, Aralık aylarında yayınlanır. Mecmua; Temel, Dahili ve Cerrahi alanlarda araştırma makaleleri, davetli derleme ve olgu sunumları yayınlar.

Derginin hedefi, güncel konular üzerine yüksek kaliteli ve değeri olan yazıları tüm araştırmacılar, doktorlar, uzmanlar ve öğrenciler için yayınlamaktır.

**Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, makale başvuru, işlem veya yayınlama ücreti uygulamamaktadır.**

Derginin editöryal ve yayın süreçleri ile etik kuralları the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), Committee on Publication Ethics (COPE), European Association of Science Editors (EASE), ve National Information Standards Organization (NISO) gibi uluslararası kuruluşların kurallarına uygun olarak şekillenmektedir. Dergimiz, şeffaf olma ilkeleri ve "akademik yayıncılıkta en iyi uygulamalar ilkeleri" ile uyum içindedir.

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, **Tübitak/Ulakbim, Ebsco, Index Copernicus, Gale, ProQuest, CABI, Idealonline, J-GATE, Hinari, GOALI, ARDI, OARE, AGORA, Türk Medline ve Türkiye Atıf Dizini** tarafından indekslenir.

**Dergi Adı (İngilizce):** Journal of Ankara University Faculty of Medicine

**Dergi Adı (Türkçe):** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası

**Resmi Kısaltma:** J Ankara Univ Fac Med

**E-ISSN:** 1307-5608

### Açık Erişim Politikası

Bu dergi, araştırmaları kamuya ücretsiz olarak sunmanın daha büyük bir küresel bilgi alışverişini desteklediği ilkesine dayanarak içeriğine anında açık erişim sağlar.

Yazarlar ve telif hakkı sahipleri, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası'nda yayınlanan makaleler için tüm kullanıcılara ücretsiz olarak erişim sağlar. Makaleler kaynak gösterilmek şartıyla kullanıma açıktır.

Açık Erişim Politikası, Budapeşte Açık Erişim Girişimi'nin (BOAI) kurallarına dayanmaktadır. "Açık erişim" ile, onun ücretsiz erişilebilirliğini kastedilmektedir. Herhangi bir kullanıcının bu makalelerin tam metinlerini okumasına, indirmesine, kopyalamasına, dağıtmasına, yazdırmasına, aramasına veya bağlantı vermesine, indeksleme için taramasına, yazılıma veri olarak iletmesine veya başka herhangi bir yasal amaç için internetin kendisine erişim elde etmekten ayrılmaz olanlar dışında finansal, yasal veya teknik engeller olmadan kullanılmasına izin verir. Çoğaltma ve dağıtım üzerindeki tek kısıtlama ve bu alandaki telif hakkının tek rolü, yazarlara

çalışmalarının bütünlüğü üzerinde kontrol ve uygun şekilde tanınma ve alıntılanma hakkı vermek olmalıdır.

**Gönderim, değerlendirme ve yayın sürecinde yazarlardan herhangi bir ücret talep edilmez.**

### Creative Commons

Creative Commons lisansı, telif hakkıyla korunan çalışmaların veya çalışmaların ücretsiz dağıtımını sağlayan bir kamu telif hakkı lisansıdır. Yazarlar, çalışmalarını kullanma, paylaşma veya değiştirme hakkını üçüncü şahıslara devretmek için CC lisansını kullanır. Bu dergi, Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) altında lisanslanmıştır ve bu, üçüncü tarafların bu bilgileri orijinal çalışmaya uygun şekilde referans vererek paylaşmasına ve uyarlamasına ticari olmayan amaçlar için izin verir.

### Reklam Politikası

Potansiyel reklam verenler, Yazı İşleri ile iletişime geçmelidir. Reklam görselleri sadece Genel Yayın Yönetmeni'nin onayı ile yayınlanır.

### Materyal Sorumluluk Reddi

Dergide yayınlanan makalelerde yer alan ifadeler veya görüşler editörlerin, yayın kurulunun ve/veya yayıncının görüşlerini yansıtmaz. Editörler, yayın kurulu ve yayıncı bu tür materyaller için herhangi bir sorumluluk veya yükümlülük kabul etmez. Dergide yayınlanan tüm görüşler, makalelerin yazarlarına aittir.

### Yazışma Adresi

#### Editorial Office:

**Prof. Dr. K.Osman MEMİKOĞLU**

**Adres:** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayın Komisyonu Başkanlığı, 06100 Sıhhiye, Ankara/Türkiye

**Phone:** +90 312 595 82 07

**Fax:** +90 312 310 63 70

**E-mail:** tipdergi@medicine.ankara.edu.tr

### Yayınevi Yazışma Adresi

**Galenos Yayınevi Tic. Ltd. Şti.**

**Adres:** Molla Gürani Mah. Kaçamak Sk. No: 21, 34093 Fındıkzade-İstanbul/Türkiye

**Tel.:** +90 212 621 99 25 Faks: +90 212 621 99 27

**E-posta:** info@galenos.com.tr



## AIMS AND SCOPE

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is the official journal of Ankara University. The journal is an independent, double-blind peer-reviewed, open access publication and is published four times a year (March, June, September, December). The journal publishes original articles, invited reviews and case reports in Basic, Medical and Surgical Sciences.

The aim of the journal is to publish articles at the highest scientific and clinical value on current topics in medicine for all researchers, physicians, specialists and students.

**Journal of Ankara University Faculty of Medicine does not charge any fees for submission, processing or publication of articles.**

The editorial and publication process of the Journal of Ankara University Faculty of Medicine are shaped in accordance with the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), Committee on Publication Ethics (COPE), European Association of Science Editors (EASE), and National Information Standards Organization (NISO). The journal is in conformity with the Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing.

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is indexed in **Tübitak/Ülkbim TR Dizin, Ebsco, Index Copernicus, Gale, ProQuest, CABI, Ideonline, J-GATE, Hinari, GOALI, ARDI, OARE, AGORA, Türk Medline and Türkiye Atf Dizini.**

**English Title:** Journal of Ankara University Faculty of Medicine

**Turkish title:** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası

**Official abbreviation:** J Ankara Univ Fac Med

**E-ISSN:** 1307-5608

### Open Access Policy

This journal provides immediate open access to its content on the principle that making research freely available to the public supports a greater global exchange of knowledge.

Author (s) and copyright owner (s) grant access to all users for the articles published in the Journal of Ankara University Faculty of Medicine as free of charge. Articles may be used provided that they are cited.

Open Access Policy is based on rules of Budapest Open Access Initiative (BOAI). By "open access" to [peer-reviewed research literature], we mean its free availability on the public internet, permitting any users to read, download, copy, distribute, print, search, or link to the full texts of these articles, crawl them for indexing, pass them as data to software, or use them for any other lawful purpose, without financial, legal, or technical barriers other than those inseparable from gaining access to the internet itself. The only constraint on reproduction and distribution, and the only role for copyright in this domain, should be to give authors control over the integrity of their work and the right to be properly acknowledged and cited.

**Journal of Ankara University Faculty of Medicine does not demand any subscription fee, publication fee or similar payment for access to electronic resources.**

### Creative Commons

A Creative Commons license is a public copyright license that provides free distribution of copyrighted works or studies. Authors use the CC license to transfer the right to use, share or modify their work to third parties. This journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) which permits third parties to share and adapt the content for non-commercial purposes by giving the appropriate credit to the original work.

Open access is an approach that supports interdisciplinary development and encourages collaboration between different disciplines. Therefore, Journal of Ankara University Faculty of Medicine contributes to the scientific publishing literature by providing more access to its articles and a more transparent review process.

### Advertisement Policy

Potential advertisers should contact the Editorial Office. Advertisement images are published only upon the Editor-in-Chief's approval.

### Material Disclaimer

Statements or opinions stated in articles published in the journal do not reflect the views of the editors, editorial board and/or publisher; The editors, editorial board and publisher do not accept any responsibility or liability for such materials. All opinions published in the journal belong to the authors.

### Contact

#### Editorial Office:

**Prof. Dr. K.Osman MEMİKOĞLU**

**Address:** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yayın Komisyonu Başkanlığı, 06100 Sıhhiye, Ankara/Turkey

**Phone:** +90 312 595 82 07

**Fax:** +90 312 310 63 70

**E-mail:** tipdergi@medicine.ankara.edu.tr

### Publisher Info

#### Galenos Publishing House

**Address:** Molla Gürani Mahallesi Kaçamak Sokak No: 21 34093 Fındıkzade - İstanbul/Turkey

**Phone:** +90 (212) 621 99 25

**Fax:** +90 (212) 621 99 27

**E-mail:** info@galenos.com.tr

## YAZARLARA BİLGİ

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi tarafından üç ayda bir (Mart, Haziran, Eylül, Aralık) yayınlanır. Temel, Dahili, ve Cerrahi Tıp Bilimleri konusunda araştırma, davetli derleme ve olgu sunumları yayınlamayı amaçlar.

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası bağımsız, önyargısız ve çift-kör hakemlik ilkeleri çerçevesinde yayın yapan süreli bir yayın organıdır. Makale baş editöre ulaştığında bilimsel kalitesi değerlendirilir ve ön değerlendirmeyi geçen yazılar yardımcı editöre gönderilir. Bölüm editörü makaleyi 2 hakeme gönderir. Hakemler 21 gün içinde kararlarını belirtmelidirler. Yardımcı editör hakem kararlarına kendi değerlendirme ve önerisini ekleyerek baş editöre gönderir ve son kararı baş editör verir. Hakemlerin kararları çatışırsa dergi editörü yeni hakem atayabilir.

Derginin editöryal ve yayın süreçleri ile etik kuralları the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), Committee on Publication Ethics (COPE), European Association of Science Editors (EASE), ve National Information Standards Organization (NISO) gibi uluslararası kuruluşların kurallarına uygun olarak şekillenmektedir. Dergimiz, şeffaf olma ilkeleri ve "akademik yayıncılıkta en iyi uygulamalar ilkeleri" ile uyum içindedir.

Dergiye yayınlanmak amacıyla gönderilen ve etik kurul onayı alınması zorunluluğu olan deneysel, klinik ve ilaç araştırmaları için uluslararası anlaşmalar ve Helsinki Bildirisine uygun etik kurul onay raporu gereklidir. Etik kurul onayı ve "bilgilendirilmiş gönüllü onam formu" alındığı araştırmanın "Hasta ve Yöntem" bölümünde belirtilmelidir. Deneysel hayvan çalışmalarında ise yazarlar Guide for the Care and Use of Laboratory Animals doğrultusunda hayvan haklarını koruduklarını belirtmeli ve kurumlarından etik kurul onay raporu almalıdır.

Makale türlerinin gönderimi, araştırma raporlama kılavuzlarına uygun olarak tasarlanmalıdır:

**İnsan araştırmaları:** Helsinki Declaration as revised in 2013

**Sistemik incelemeler ve meta-analizler:** PRISMA guidelines

**Vaka raporları:** Cthe CARE case report guidelines

**Klinik denemeler:** CONSORT

**Hayvan çalışmaları:** ARRIVE ve Guide for the Care and Use of Laboratory Animals

Araştırmalara yapılan her türlü yardım ve diğer desteklerin alındığı kişi ve kuruluşlar beyan edilmeli ve çıkar çatışmasıyla ilgili durumları açıklamak amacıyla Çıkar Çatışmaları Bildirim Formu doldurulmalıdır.

Yayın, direkt ya da indirekt ticari bağlantı içeriyorsa veya çalışmaya materyal desteği veren bir kuruluş varsa, yazarlar kullanılan ticari ürün, ilaç, firma vs. ile ticari hiçbir ilişkisinin olmadığını ya da var ise nasıl bir ilişkisinin olduğunu (konsültan, diğer anlaşmalar), editöre sunum sayfasında belirtmek zorundadır.

İncelemeye sunulan araştırmada olası bir bilimsel hata, etik ihlal şüphesi veya iddiasıyla karşılaşırsa, bu dergi verilen yazıyı destek kuruluşların veya diğer yetkililerin soruşturmasına sunma hakkını saklı tutar. Bu dergi sorunun düzgün biçimde takip edilmesi sorumluluğunu kabul eder ancak gerçek soruşturmayı veya hatalar hakkında karar verme yetkisini üstlenmez.

### Genel Kurallar

Yazılar sadece çevrim-içi olarak kabul edilmektedir. Yazarların makale gönderebilmesi için Journal Agent web sayfasına kayıt olup, şifre almaları gerekmektedir.

Türkçe yazılarda Türk Dil Kurumu'nun Türkçe Sözlüğü ve Yazım Kılavuzu temel alınmalıdır.

Sayfa düzeni: Makaleler, A4 sayfasının iki yanında 2.5 cm boşluk bırakacak şekilde, Arial yazı stilinde, 12 font büyüklüğünde, 1.5 satır aralığıyla, Microsoft Word programında yazılmalıdır.

Kısaltmalar: Kelimenin ilk geçtiği yerde parantez içinde ve tüm metin boyunca kullanılır. Uluslararası kullanılan kısaltmalar için "Bilimsel Yazım Kuralları" kaynağına başvurulabilir.

Editöre sunum sayfası: Gönderilen makalenin kategorisi, daha önce başka bir dergiye gönderilmemiş olduğu, var ise çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi ve kuruluşlar ve bu kuruluşların yazarlarla ilişkileri, makale İngilizce ise; İngilizce yönünden kontrolünün ve araştırma makalesi ise biyoistatistiksel kontrolünün yapıldığı belirtilmelidir.

### Yazı Çeşitleri

Sisteme yüklenen tüm makaleler aşağıdaki kurallara uygun olmalıdır:

Başlık sayfası: Makalenin başlığı, kısa başlık, yazar isimleri ve yazar bilgilerini kapsayan sayfadır. Sırasıyla şu tanımlar yapılmalıdır:

1. Makalenin başlığı (Türkçe ve İngilizce) mümkün olduğunca kısa ve açıklayıcı olmalı, kısaltma içermemeli ve 12 kelimeyi aşmamalıdır.
2. Kısa başlık (Türkçe ve İngilizce) en fazla 60 karakterden oluşmalıdır.
3. Yazar isimleri (yazarların isimleri tam olarak kısaltılmadan yazılmalıdır, yazarın akademik görevi yazılmamalıdır) ve bağlı bulunduğu kurumlar.
4. İletişim kurulacak yazarın ismi, adresi, telefon ve faks numarası ile e-posta bilgileri.
5. Bilimsel toplantılarda sunulan ve özeti kongre kitabında yer almış eserlerin toplantı yeri ve tarihi.

Özet: Makalenin özeti Türkçe ve İngilizce yazılmalıdır. Özet 250 kelimeyi aşmamalıdır. Kaynaklara atıf yapılmamalıdır. Mümkün olduğunca kısaltmalar kullanılmamalıdır; kullanıldığı halde ana metinden bağımsız olarak ele alınmalıdır.

Araştırma makalelerinde, özet aşağıdaki başlıklardan oluşmalıdır:

Amaç: Çalışmanın amacı açıkça belirtilmelidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışma tanımlanmalı, standart kriterleri, randomize olup olmadığı, retrospektif veya prospektif olduğu ve varsa istatistiksel yöntem belirtilmelidir.

Bulgular: Çalışmanın detaylı sonucu verilmeli, istatistik anlamlılık derecesi belirtilmelidir.

Sonuç: Çalışmanın sonuçlarını yansıtmalı, klinik uygulanabilirliği tanımlamalı, olumlu ve olumsuz yönleri gösterilmelidir.

Anahtar Kelimeler: En az 3, en çok 5 anahtar kelime özeten sonunda yer almalıdır. İngilizce anahtar kelimeler "Medical Subject Headings'e (MESH)" uygun olarak verilmelidir. Türkçe anahtar kelimeler ise MESH terimlerinin aynen çevirisi olmalıdır.

### Özgün Araştırmalar

Klinik araştırma, klinik gözlem, yeni teknikler, deneysel ve laboratuvar çalışmalarını kapsar. Özgün araştırmalar; başlık, öz, yazının ana konusu ile ilgili anahtar kelimeler, giriş, hasta/gereç ve yöntem, bulgular, tartışma, kaynaklar, tablolar/şekiller ve teşekkür bölümlerini içermelidir. Başlık, öz ve anahtar kelimeler hem Türkçe hem İngilizce yazılmalıdır. Yazı yukarıdaki kurallara uygun olarak düzenlenmeli ve 3000 kelimeyi aşmamalıdır.

Giriş: Konu hakkında kısa ve öz bilgi verilmeli, çalışmanın amacı belirtilmeli, bunlar literatür bilgisi ile desteklenmelidir.





## YAZARLARA BİLGİ

**Gereç ve Yöntem:** Çalışma planı verilmeli, randomize olup olmadığı, retrospektif veya prospektif olduğu, denek sayısı, özellikleri, çalışmaya dahil edilme ve dışlanma kriterleri, kullanılan istatistiksel yöntem belirtilmelidir.

**Bulgular:** Elde edilen sonuçlar belirtilmeli, tablolar ve şekiller numara sırasıyla verilmeli, sonuçlar uygulanan istatistiksel analiz yöntemine göre değerlendirilmelidir.

**Tartışma:** Elde edilen değerler olumlu ve olumsuz yönleriyle tartışılmalı, literatür ile karşılaştırılmalı, çalışmadan elde edilen sonuç vurgulanmalıdır.

**Teşekkür:** Her türlü çıkar çatışması, finansal destek, bağış ve diğer editöryal (istatistik analiz, İngilizce/Türkçe değerlendirme) ve/veya teknik yardım var ise metnin sonunda sunulmalıdır.

**Kaynaklar:** Kaynak sayısı 40'ı aşmamalıdır. Kaynakların gerçekliğinden yazarlar sorumludur. Kaynakların yazım kuralları hakkında gerekli bilgi "Kaynaklar" bölümünde bulunmaktadır.

### Olgu Sunumları

Nadir görülen, tanı ve tedavide farklılık gösteren, mevcut bilgilerimize yenilerini ekleyip, katkı sağlayan olguları içermelidir. Türkçe ve İngilizce başlık, 250 kelimeyi aşmayan, yapılandırılmamış öz ve anahtar kelimeler ilk sayfada yer almalıdır. Ana metin 1500 kelimeyi aşmamalı ve giriş, olgu sunumu, tartışma ve 20'yi aşmayan kaynaklardan oluşmalıdır.

### Derleme

Dergi sadece davetli derleme yayınlar. Bir bilgi ya da konunun klinikte kullanılması için vardığı son düzeyi anlatan, tartışan, değerlendiren ve gelecekte yapılacak olan çalışmalara yön veren bir formatta hazırlanmalıdır ve güncel bir konuyu, bağımsız, hiçbir farklı görüşü öne çıkarmadan derinlemesine incelemelidir. Yazının ilk sayfasında Türkçe ve İngilizce başlık, yapılandırılmamış öz, anahtar kelimeler bulunmalıdır. Konuda geçen her alıntının kaynağı mutlak gösterilmeli ve 100'ü geçmemelidir. Ana metin 5000 kelimeyi aşmamalıdır.

### Kaynaklar

Yazarlar kaynakların gerçekliğinden ve metin içindeki doğru kullanımından sorumludur. Tüm kaynaklar aşağıdaki kurallara göre düzenlenmelidir:

**Metin içinde:** Kullanılan kaynaklar, ilgili cümlenin sonunda noktadan önce parantez içinde belirtilmelidir. Eğer, kullanılan kaynağın yazar/yazarları cümle başında belirtiliyorsa, kaynak isimden hemen sonra gelecek şekilde parantez içinde yazılmalıdır. Türkçe kaynak var ise, belirtilmesine özen gösterilmelidir.

**Kaynaklar bölümünde:** Kaynaklar metin içerisinde geçiş sırasına göre numaralandırılmalıdır. Üçten fazla yazar ismi olduğu durumlarda, üç yazardan sonra Türkçe yayınlarda "ve ark.", yabancı dildeki yayınlarda "et al." kullanılmalıdır. Dergilerin isimleri Index Medicus'ta kullanılan stillere kısaltılmalıdır.

### Kaynak yazımı için örnekler

Dergi: Vargün R, Özkan-Ulu H. Nörolojik problemlerli çocuklarda beslenme problemleri ve tedavisi. J Ankara Univ Fac Med. 2004;4:181-185.

Kitap: Çakmak M. Ortopedik muayene. 2nd ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 1991.

Editörlü kitap: Kurt N, editör. Yetişkinlerde ve Çocuklarda Ameliyat Öncesi Değerlendirme. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2002.

Kitap içinden bir bölüm: Rowe JS. Liver. In: Skandalakis JE, Gray SW, Rowe JS, editörler. Anatomical Complications in General Surgery. 1st ed. New York: McGraw-Hill Book Co.; 1986. s. 103-124.

Bilimsel toplantıda yapılan sunumlar: Seyhan F. Kalça eklemine yüzey değiştirme artroplastisinin (Wagner protezi) geç sonuçları. In: Ege R, editör. X. Milli Türk Ortopedi ve Travmatoloji Kongre Kitabı; 17-20 Mayıs, 1987; Mersin, Türkiye. Ankara: Emel; 1989. s. 494-6 (Yayımlanmamış toplantı sunumlarının kaynak gösterilmemesi gerekir)

Bilgisayar programları: StatView SE+Graphics [computer program]. Version 1.03. Berkeley: Abacus Concepts Inc.; 1988.

### Şekil ve Tablolar

Tüm görsel materyaller (resim, grafik ve çizilmiş şekiller) "Şekil" olarak adlandırılmalıdır. Kullanılan tüm şekillere metnin içinde atıf yapılmalıdır. Tüm şekillerin alt yazıları ayrı bir sayfada metne eklenmelidir. Her şekil ayrı bir dosya olarak ve "jpeg" formatında yüklenmelidir. Tüm şekiller mümkün olan en yüksek kalitede ve çözünürlükleri en az 300 dpi olmalıdır. Tüm şekiller orijinal olmalıdır. Daha önce başka kaynaklarda yayınlanan şekiller, sahibinin yazılı izni ile birlikte yüklenmelidir. Gerekli izinler makale başvuru işleminden önce yazarlar tarafından alınmalıdır. Hastanın kimliğinin anlaşılabilirliği resimlerde, hastanın ya da kanuni temsilcisinin imzalı onayı gönderilen yazıya eklenmeli; aksi halde söz konusu kişi ya da kişilerin isimleri ya da gözleri bantla kapatılmalıdır. Mikroskopik resimlerde büyüme oranı ve kullanılan boyama tekniği belirtilmelidir.

Tablolar yazının sonuna eklenebilir veya bütünleyici dosya olarak gönderilebilir. Ana metne eklenen tabloların herbiri ayrı sayfaya yerleştirmeli ve açıklayıcı başlıkları tablonun üstünde bulunmalıdır. Tablolar her biri ayrı dosya olarak yüklendiyse, başlıkları ana metinde ayrı bir sayfada belirtilmelidir.

### Bilgilendirerek Onay Alma ve Etik Kurallar

İnsanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmaların sonuçlarını bildiren yazılarda, bu çalışmanın yapıldığı gönüllü ya da hastalara uygulanacak prosedür(lerin) özelliği tümüyle anlatıldıktan sonra, kendilerinin bilgilendirilip onaylarının alındığını gösterir bir cümle bulunmalıdır. Yazarlar, bu tür bir çalışma sözkonusu olduğunda, uluslararası alanda kabul edilen kılavuzlara ve T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından getirilen ve 29 Ocak 1993 tarih ve 21480 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan "İlaç Araştırmaları Hakkında Yönetmelik" ve daha sonra yayınlanan diğer yönetmelik ve yazılarda belirtilen hükümlere uyulduğunu belirtmeli ve kurumdan aldıkları Etik Komitesi onayını göndermelidir. Aynı şekilde, hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar için de gereken izin alınmalı; yazıda deneklere ağrı, acı ve rahatsızlık verilmemesi için neler yapıldığı açık bir şekilde belirtilmelidir.

### Yazışma Adresi:

**Prof. Dr. K. Osman MEMİKOĞLU**

**Adres:** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yayın Komisyonluğu Başkanlığı 06100 Sıhhiye, Ankara/Türkiye

**Tel:** +90 312 595 82 07

**Faks:** +90 312 310 69 39

**E-posta:** tipdergi@medicine.ankara.edu.tr

### Yayınevi Yazışma Adresi

**Galenos Yayınevi Tic. Ltd. Şti.**

**Adres:** Molla Gürani Mah. Kaçamak Sk. No: 21, 34093 Fındıkzade, İstanbul/Türkiye

**Tel.:** +90 212 621 99 25

**Faks:** +90 212 621 99 27

**E-posta:** info@galenos.com.tr

## INSTRUCTIONS TO AUTHORS

The Journal of Ankara University Faculty Medicine is published quarterly (March, June, September, December). It aims to publish research articles, invited reviews and case reports on Basic, Medical and Surgical sciences.

The abbreviation of the Journal of Ankara University Faculty Medicine is J Ankara Univ Fac Med.

The Journal of Ankara University Faculty Medicine does not charge any article submission, processing or publication charges.

Authors are responsible for the contents of the manuscript and the accuracy of the references. All manuscripts submitted for publication must be accompanied by the Copyright Transfer Form. Once this form, signed by all the authors, is submitted, it is understood that neither the manuscript nor the data it contains have been submitted elsewhere or previously published, and authors declare the statement of scientific contributions and responsibilities of all authors. Abstracts presented at congresses are eligible for evaluation.

The editorial and publication process of the Journal of the Turkish Academy of Dermatology are shaped in accordance with the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), Committee on Publication Ethics (COPE), European Association of Science Editors (EASE), and National Information Standards Organization (NISO). The journal is in conformity with the Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing

The Journal of Ankara University Faculty Medicine is an independent journal based on double-blind peer-review principles. The manuscript is assigned to the Editor-in-Chief, who reviews the manuscript and makes an initial decision based on manuscript quality and editorial priorities. Manuscripts that pass initial evaluation are sent to an Associate Editor. The Associate Editor assigns the manuscript to two reviewers (internal and/or external reviewers). The reviewers must review the manuscript within 21 days. The Associate Editor recommends a decision based on the reviewers' recommendations and sends the manuscript to the Editor-in-Chief. The Editor-in-Chief makes a final decision based on editorial priorities, manuscript quality, and Associate Editor's and reviewers' recommendations. If there are any conflicting recommendations from reviewers, the Editor-in-Chief can assign a new reviewer.

All manuscripts submitted are screened for plagiarism using Crossref Similarity Check powered by "iThenticate" software. Results indicating plagiarism may cause manuscripts being to be returned or rejected.

Experimental, clinical and drug studies requiring approval by an ethics committee must be submitted to the Journal of Ankara University Faculty Medicine with an ethics committee approval report confirming that the study was conducted in accordance with international agreements and the Declaration of Helsinki. The approval of the ethics committee and the fact that informed consent was given by the patients should be indicated in the Patients and Methods section. In experimental animal studies, the authors should indicate that the procedures followed were in accordance with animal rights as per the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, and they should obtain animal ethics committee approval.

The presentation of the article types must be designed in accordance with trial reporting guidelines:

**Human research:** Helsinki Declaration as revised in 2013

**Systematic reviews and meta-analyses:** PRISMA guidelines

**Case reports:** the CARE case report guidelines

**Clinical trials:** CONSORT

**Animal studies:** ARRIVE and Guide for the Care and Use of Laboratory Animals

Authors must provide disclosure/acknowledgement of financial or material support, if any was received, for the current study.

If the article includes any direct or indirect commercial links or if any institution provided material support to the study, authors must state in the cover letter that they have no relationship with the commercial product, drug, pharmaceutical company, etc. concerned; or specify the type of relationship (consultant, other agreements), if any.

Authors must provide a statement on the absence of conflicts of interest among the authors and provide authorship contributions.

In case of any suspicion or claim regarding scientific shortcomings or ethical infringement, the journal reserves the right to submit the manuscript to the supporting institutions or other authorities for investigation. The journal accepts the responsibility of initiating action but does not undertake any responsibility for an actual investigation or any power of decision.

### Guidelines

Manuscripts can only be submitted electronically through the Journal Agent website after creating an account.

Manuscripts written in Turkish should be in accordance with the Turkish Dictionary and Writing Guide ("Türkçe Sözlüğü ve Yazım Kılavuzu") of the Turkish Language Association.

Format: Manuscripts should be prepared using Microsoft Word, size A4 with 2.5 cm margins on all sides, 12 pt Arial font and 1.5 line spacing.

Abbreviations: Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter. Internationally accepted abbreviations should be used; refer to scientific writing guides as necessary.

Cover letter: The cover letter should include statements about the manuscript type, single-journal submission affirmation, conflict of interest statement, sources of outside funding, equipment (if applicable), approval of language for articles in English and approval of statistical analysis for original research articles.

### Manuscript Types

All submitted articles must be accompanied by the following files:

Title Page: This page should include the title of the manuscript, short title, name(s) of the authors and author information. The following descriptions should be stated in the given order:

1. Title of the manuscript (Turkish and English), as concise and explanatory as possible, including no abbreviations, up to 12 words
2. Short title (Turkish and English), up to 60 characters
3. Name(s) and surname(s) of the author(s) (without abbreviations and academic titles) and affiliations
4. Name, address, e-mail, phone and fax number of the corresponding author
5. The place and date of the scientific meeting in which the manuscript was presented and its abstract published in the abstract book, if applicable

Abstract: A summary of the manuscript should be written in both Turkish and English. The abstract should not exceed 250 words. References should not be cited in the abstract. The use of abbreviations should be avoided as much as possible; if any abbreviations are used, they must be taken into consideration independently of the abbreviations used in the text.



## INSTRUCTIONS TO AUTHORS

For original articles, the structured abstract should include the following sub-headings:

**Objectives:** The aim of the study should be clearly stated.

**Materials and Methods:** The study and standard criteria used should be defined; it should also be indicated whether the study is randomized or not, whether it is retrospective or prospective, and the statistical methods applied should be indicated, if applicable.

**Results:** The detailed results of the study should be given, and the statistical significance level should be indicated.

**Conclusion:** Should summarize the results of the study, the clinical applicability of the results should be defined, and the favorable and unfavorable aspects should be declared.

**Keywords:** A list of minimum 3, but no more than 5 keywords must follow the abstract. Keywords in English should be consistent with "Medical Subject Headings" (MESH). Turkish keywords should be direct translations of the terms in MESH.

### Original Articles

Clinical research should comprise clinical observation, new techniques or laboratory studies. Original research articles should include title, structured abstract, keywords relevant to the content of the article, introduction, patients/materials and methods, results, discussion, references, tables/figures and acknowledgement sections. Title, abstract and keywords should be written in both Turkish and English. The manuscript should be formatted in accordance with the above-mentioned guidelines and should not exceed 3000 words.

**Introduction:** Should consist of a brief explanation of the topic and indicate the objective of the study, supported by information from the literature.

**Materials and Methods:** The study plan should be clearly described, indicating whether the study is randomized or not, whether it is retrospective or prospective, the number of trials, the characteristics, and the statistical methods used.

**Results:** The results of the study should be stated, with tables/figures given in numerical order; the results should be evaluated according to the statistical analysis methods applied.

**Discussion:** The study results should be discussed in terms of their favorable and unfavorable aspects, and they should be compared with the literature. The conclusion of the study should be highlighted.

**Acknowledgements:** Any technical or financial support or editorial contributions (statistical analysis, English/Turkish evaluation) towards the study should appear at the end of the article.

**References:** The number of references should not exceed 40. Authors are responsible for the accuracy of the references. See References Section for details about the usage and formatting required.

### Case Reports

Case reports should present cases which are rarely seen, feature novelty in diagnosis and treatment, and contribute to our current knowledge. The first page should include the title in Turkish and English, an unstructured abstract not exceeding 250 words, and keywords. The main text should not exceed 1500 words and consist of introduction, case presentation, discussion and references not exceeding 20.

### Review Articles

The journal publishes invited reviews only. Review articles must provide critical analyses of contemporary evidence and provide directions of current or future

research. Reviews articles analyze topics in depth, independently and objectively. The first page should include the title in Turkish and English, an unstructured abstract and keywords. Source of all citations should be indicated and references amount should not exceed 100. The main text should not exceed 5000 words.

### References

Authors are responsible for the accuracy and completeness of their references and for correct in-text citation. All references should be in accordance with following rules:

**In-text citations:** References should be indicated in the parentheses before the full stop of the relevant sentence. If the author(s) of a reference is/are indicated at the beginning of the sentence, this reference should be written in the parentheses immediately after the author's name. If relevant research has been conducted in Turkey or by Turkish researchers, these studies should be given priority while citing the literature.

**References section:** References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. If there are more than 3 authors, first 3 authors must be listed followed by "et al". The titles of journals should be abbreviated according to the style used in the Index Medicus.

### Reference Format

**Journal:** Schwarz DS, Blower MD. The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signalling. *Cell Mol Life Sci.* 2016;73:79-94.

**Book:** Tos M. Cartilage tympanoplasty. 1st ed. Stuttgart-New York: Georg Thieme Verlag; 2009.

**Editor(s) compiler as author:** Kurt N, editor. Yetişkinlerde ve Çocuklarda Ameliyat Öncesi Değerlendirme. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2002.

**Book Chapter:** Rowe JS. Liver. In: Skandalakis JE, Gray SW, Rowe JS, editors. *Anatomical Complications in General Surgery.* 1st ed. New York: McGraw-Hill Book Co; 1986. p. 103-124.

**Conference Paper:** Seyhan F. Kalça eklemine yüzey değiştirme artroplastisinin (Wagner protezi) geç sonuçları. In: Ege R, editor. *X. Milli Türk Ortopedi ve Travmatoloji Kongre Kitabı; 17-20 Mayıs, 1987; Mersin, Türkiye.* Ankara: Emel; 1989. p. 494-6. (Unpublished conference paper should not be used as a reference).

**Computer Software:** StatView SE+Graphics [computer program] Version 1.03. Berkley: Abacus Concepts Inc.; 1988.

### Figures and Tables

All visual materials (pictures, graphs and drawn figures) must be named as "Figure". All figures and tables must be cited within the main text consecutively. Legends of all figures must be submitted as a separate page of main document. Each figure must be submitted as a separate file and in "jpeg" format. All figures should be of the possible highest quality and at a minimum resolution of 300 dpi. All figures must be original. Figures previously published by other sources, must be submitted with a copy of written permission of the owner of figure. All permissions must be obtained by authors prior to submission. For figures involved human studies, written informed consent must be taken from patient or his/her parent and uploaded during submission. Otherwise, patient's names must not be indicated and their eyes must be hidden with black lines to prevent any exposure of identity. Used stain and zoom rate must be indicated in microscopic figures.

All tables should be added to the main document or to the separate file. Tables added within the main document must be placed as each in a separate page after the reference list with descriptive title above the table. Titles of tables added to the separate file must be indicated within the main text on a separate page.

## INSTRUCTIONS TO AUTHORS

### Informed Consent and Ethics

Manuscript reporting the results of experimental investigations on human subjects must include a statement in the Patients and Methods section that the institutional review board has approved the study and the informed consent were obtained from patient or parents. The author(s) should state the accordance to the Declaration of Helsinki and "Regulations in drug research Ministry of Health, Government of Turkey, January 29, 1993". Also, the experimental studies must be approved by the ethics committee for animal use and proper ethics.

### Correspondence

#### Prof. Dr. K. Osman Memikoğlu

**Address:** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yayın Komisyonluğu Başkanlığı, 06100 Sıhhiye, Ankara/Turkey

**Phone:** + 90 312 595 82 07

**Fax:** + 90 312 310 69 40

**E-mail:** [tipdergi@medicine.ankara.edu.tr](mailto:tipdergi@medicine.ankara.edu.tr)

### Publisher Info

#### Galenos Publishing House

**Address:** Molla Gürani Mahallesi Kaçamak Sokak No: 21 34093 Fındıkzade - İstanbul/Turkey

**Phone:** +90 (212) 621 99 25

**Fax:** +90 (212) 621 99 27

**E-mail:** [info@galenos.com.tr](mailto:info@galenos.com.tr)

## İÇİNDEKİLER / CONTENTS

### Davetli Derleme / Invited Paper

#### 1 Ultrasonography Use in Emergency Health Services

Acil Sağlık Hizmetlerinde Ultrason Kullanımı  
Behnan Gülünay, Ertuğ Günsoy; Sivas, Van, Turkey

### Özgün Makaleler / Research Articles

#### 8 Koagülaz Negatif Stafilokoklarda Biyofilm Oluşumunun Çeşitli Kongo Kırmızısı Besiyerlerinde Değerlendirmesi

Evaluation of Biofilm Formation in Coagulase Negative Staphylococci on Various Congo Red Agar Medium  
Duygu Öcal, Alper Tekeli, İştah Dolapçı; Ankara, Türkiye

#### 16 Modifiye Ketojenik Diyet Uygulayan Glioblastomalı Hastaların Kan Parametrelerinin Retrospektif Olarak İncelenmesi

The Effects of Modified Ketogenic Diet on Blood Parameters of Patients with Glioblastoma: A Retrospective Study  
Serhat Dinç, Osman Nuri Kılıç, Ezgisu Kınap, İpek Mavcıoğlu, Nuri Saraç, Sinan Sefer, Malhun Azra Şenyuva, Eyyub SM Al-Beyati, Özlem Doğan, Serhat Hayme, Hasan Çağlar Uğur, Aslıhan Gürbüz; Ankara, Türkiye

#### 22 Magnolia Officinalis Ekstraktının Kardiyak Yaşlanmada Gözlenen Mitokondri Fonksiyon Bozukluğu Üzerindeki Düzenleyici Etkileri

The Regulatory Effects of Magnolia Officinalis Extract on Aging-induced Mitochondrial Dysfunction in Cardiomyocytes  
Ceylan Verda Bitirim; Ankara, Türkiye

#### 28 Evaluation of the Effects of Different Antibiotic Combinations on Multi-Drug Resistant Gram-Negative Bacteria

Farklı Antibiyotik Kombinasyonlarının Çoklu İlaça Dirençli Gram-Negatif Bakteriler Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi  
Güle Çınar, Zeynep Bayındır, İrem Akdemir Kalkan, Aysun Yalçı, Hüseyin Kutlu, Devran Gerçeker, Haluk Güriz, İsmail Balık; Ankara, Muğla, Uşak, Turkey

#### 36 Musculoskeletal System Pain and Related Factors During Online Education in the COVID-19 Pandemic among Ankara University Faculty of Medicine Students, Turkey

COVID-19 Pandemisinde Uzaktan Eğitim Alan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğrencilerinde, Kas-İskelet Sistemi Ağrısı ve İlişkili Faktörler  
Seçilay Güneş, Bahar Halenur Ulusoy, Elif Aygen, Emirhan Murat, Beyza Köklüoğlu, Buse Arzum Kuzyaka, Şevval Aydın, Müjgan Necioğlu, İrem Kar, Şehim Kutlay; Ankara, Turkey

#### 42 Sol Atriyal Uzunlmasına Deformasyon Değerinin Kardiyak Amiloidoz Hastalarında Prognoz Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

Evaluation of Prognostic Impact of Left Atrial Longitudinal Strain on Patients with Cardiac Amyloidosis  
Türkan Seda Tan, Kübra Korkmaz, Cemre Gül Tekin, Hüseyin Nazman, İrem Dinçer; Ankara, Sivas, Türkiye

#### 48 Diyastolik Disfonksiyonu Olan Hastalarda Kalp Yetmezliği Gelişimini Öngörmeye Sağ Ventrikül Deformasyon Değerinin Önemi

Significance of the Right Ventricle Strain Value for Prediction of Heart Failure Development in Patients with Diastolic Dysfunction  
Türkan Seda Tan, İrem Dinçer; Ankara, Türkiye

#### 55 Çocuklarda Karaciğer Hastalıklarının Tanısında Karaciğer Biyopsisinin Yeri

Role of Liver Biopsy in the Diagnosis of Liver Diseases in Children  
Halit Bay, Aydan Kansu, Zariye Kuloğlu, Ceyda Tuna Kırsaçlıoğlu, Aytaç Yaman; Ankara, Türkiye

#### 63 The Impact of Prodromal Stage Non-Motor Symptoms on Clinical Progression in Parkinson's Disease

Parkinson Hastalığında Prodromal Dönem Non-Motor Semptomların Hastalık Klinik Progresyonu Üzerine Etkisi  
Bahar Say, Yasemin Ünal, Zerrin Özaydın Aksun, Rezzak Yılmaz, Muhittin Cenk Akbostancı, Kırıkkale, Balıkesir, Ankara, Turkey

#### 69 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem 3 Öğrencilerinin COVID-19 Aşılarına Karşı Tutumları ve İlişkili Faktörler

Attitudes of Ankara University Medical Faculty Term 3 Students Towards COVID-19 Vaccines and Related Factors  
Halit Emin Alicılar, Muhammed Taha Türk, Ömer Naci Toprak, Duygu Şahin, Atalay Üsküdar, Dilem Dalkıran, Meltem Çöl; Ankara, Türkiye

#### 77 Evaluation of Health Status and Quality of Life in Patients Using Intravenous and Subcutaneous Forms of Immunoglobulin Replacement

İntravenöz ve Subkütan İmmünoglobulin Replasman Tedavisi Kullanan Hastalarda Sağlık Durumu ve Yaşam Kalitesinin Değerlendirilmesi  
Saliha Esenboğa, Ayşegül Akarsu, Hacer Neslihan Bildik, Deniz Çağdaş, İlhan Tezcan; Ankara, Turkey

## İÇİNDEKİLER / CONTENTS

- 84 Evaluation of HLA Class II Alleles in Cases with Chronic Spontaneous Urticaria**  
Kronik Spontan Ürtikerli Olgularda HLA Klas II Alellerinin Değerlendirilmesi  
Elif Demirci Saadet, Ayşe Boyvat; Ankara, Turkey
- 91 Is it Possible to Differentiate Community-Acquired Pneumonia from COVID-19 Pneumonia?**  
Toplum Kökenli Pnömoniye COVID-19 Pnömonisinden Ayırmak Mümkün Mü?  
Arif Doğan Habiloğlu, Serkan Demircan, Özlem Ataoğlu, Filiz Mercan Sarıdaş, Can Çolakoğlu, Mehmet Yasir Pektezel; Ankara, Düzce, Turkey
- 97 Ultrason Kılavuzluğunda Karaciğer Biyopsisi: Tek Merkez Deneyimleri**  
Ultrasound-Guided Liver Biopsy: Single Center Experiences  
Mehmet Onay, Çetin Murat Altay, Ali Burak Binboğa; Gaziantep, Türkiye
- 103 Sorafenib in Radioactive Iodine Refractory Differentiated Thyroid Cancer: A Real-life Data with Long-term Experience**  
Radyoaktif İyot Dirençli Diferansiyeli Tiroid Kanseri Sorafenib: Uzun Dönem Tecrübe ile Gerçek Yaşam Verisi  
Emre Yekedüz, Elif Berna Köksoy, Filiz Çay Şenler, Hakan Akbulut, Ahmet Demirkazık, Yüksel Ürün, Güngör Utkan; Ankara, Turkey
- 107 Kronik Perineal Ağrı Yönetiminde İmpar Ganglion Blok Etkinliğinin Değerlendirilmesi**  
Evaluation of Impar Ganglion Block Effectivity in the Management of Chronic Perineal Pain  
Dostali Aliyev, Ümit Akkemik, Güngör Enver Özgencil, İbrahim Aşık; Ankara, Konya, Türkiye
- 113 Relationship Between Serum CA 19-9 Levels and Lymphovascular and Perineural Invasion of the Tumor and Lymph Node Metastasis in Patients Operated due to Pancreatic Carcinoma**  
Pankreas Karsinomu Nedeniyle Ameliyat Edilen Hastalarda Serum CA 19-9 Düzeyleri ile Tümörün Lenfovasküler ve Perinöral İnvazyonu ve Lenf Nodu Metastazi Arasındaki İlişki  
Meriç Emre Bostancı, Murat Can Mollaoğlu, Kürşat Karadayı; Sivas, Turkey
- 119 Fournier Gangreni Deneyimimiz: Otuz Beş Olguluk Retrospektif Analiz**  
Fournier's Gangrene Experience: Retrospective Analysis of Thirty-five Cases  
Emre Uzun, Muhammed Emin Polat, Mustafa Karaaslan, Yusuf Kasap, Samet Şenel, Sedat Taştumur, Öner Odabaş; Ankara, Türkiye
- 124 Yüksek Homosistein Seviyelerinin Eretil Disfonksiyon Süresi ve Şiddeti Üzerine Etkileri**  
The Effects of High Homocystein Levels on Duration and Severity of Erectile Dysfunction  
Murat Topcuoğlu, Murat Çakan; Antalya, Ankara, Türkiye
- Olgu Sunumları / Case Reports**
- 130 A Patient with Local Hypersensitivity Reactions to Three TNF-α Inhibitors and Local/Systemic Hypersensitivity Reactions to Tocilizumab: Desensitization to Tocilizumab**  
Üç TNF-α İnhibitörü ile Lokal ve Tosilizumab ile Lokal/Sistemik Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu Gelişen Bir Hasta: Tosilizumab ile Desensitizasyon  
Betül Özdel Öztürk, Nilay Orak Akbay, Elif Er Gülbezer, Francesca Nencini, Alessandra Vultaggio, Sevim Bavbek; Ankara, İstanbul, Turkey, Florence, Italy
- 134 A Cleft Lip and Palate Case With Fraser Syndrome: Case Report and Literature Review**  
Yarık Damak ve Yarık Dudak İçeren Fraser Sendromu Olgusu: Olgu Sunumu ve Literatürün Gözden Geçirilmesi  
Necip Sefa Özden, Arda Özdemir, Nijat Babayev, Savaş Serel; Ankara, Turkey
- 139 An Intracranial Foreign Body That Encountered Incidentally After Years**  
Yıllar Sonra Tesadüfen Karşılaşılan İntrakraniyal Bir Yabancı Cisim  
Koral Erdoğan, Anıl Eray, İhsan Doğan; Ankara, Turkey
- 142 Cervical Paravertebral Osteolipoma: Case Report and Literature Review**  
Servikal Paravertebral Osteolipoma: Olgu Sunumu ve Literatür Taraması  
Mohammad Ahmad Altarawneh, Yasmeen Alabdallat, Khaled Albakri, Mahmoud Ahmad, Hossam Al-Anaswh; Amman, Zarqa, Jordan
- 149 Two Newborns Presenting with Intraabdominal Cystic Mass and Obstructive Uropathy: Hydrometrocolpos due to Vaginal Atresia**  
Karın İçi Kistik Kitle ve Obstrüktif Üropati ile Başvuran İki Yenidoğan: Vajinal Atreziye Bağlı Hidrometrokolpos  
Ali İhsan Anadoluğlu; Şanlıurfa, Turkey

# Ultrasonography Use in Emergency Health Services

## Acil Sağlık Hizmetlerinde Ultrason Kullanımı

© Behnan Gülünay<sup>1</sup>, © Ertuğ Günsoy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sivas Numune Hospital, Clinic of Emergency Medicine, Sivas, Turkey

<sup>2</sup>Van Training and Research Hospital, Clinic of Emergency Medicine, Van, Turkey

### Abstract

Ultrasonography (US) technology, which is currently used to facilitate the diagnosis and treatment of myriad conditions, was introduced into the field of medicine in 1940s. US has been increasingly spreading to nearly all branches of medicine in proportion to the developments in US technology. Therefore, pre-hospital emergency healthcare providers routinely use small size portable devices, even in ambulances, during the transfer of patients from the field to the hospital, which reduces the diagnosis and triage time of the patients and increases the survival rates relatively. However, due to the lack of necessary training activities, proper use of US devices constitutes a professional challenge for pre-hospital emergency healthcare providers. Although there are some in-service training programs targeting the use of US, a more functional and ideal approach should be to integrate both the theoretical and practical knowledge pertaining to US into the educational curricula of the related departments in the universities. A possible program should be mainly pragmatic by focusing on the life-threatening conditions in the pre-hospital area.

**Key Words:** Emergency Health Care, Pre-hospital, Ultrasonography

### Öz

Halen sayısız durumun teşhis ve tedavisini kolaylaştırmak için kullanılan ultrasonografi (US) teknolojisi, 1940'larda tıp alanına girmiştir. US teknolojisindeki gelişmelerle orantılı olarak tıbbın neredeyse tüm branşlarında giderek yaygınlaşmaktadır. Bu nedenle, hastane öncesi acil sağlık hizmeti sağlayıcıları, hastaların alandan hastaneye nakledilmesi sırasında ambulanslarda bile çoğunlukla küçük boyutlu taşınabilir cihazları rutin olarak kullanmakta, bu da hastaların teşhis ve triyaj süresini azaltıp, hayatta kalma oranlarını nispeten artırmaktadır. Bununla birlikte, gerekli eğitim faaliyetlerinin eksikliğinden dolayı, US cihazlarının uygun şekilde kullanılması, hastane öncesi acil sağlık hizmeti sağlayıcıları için profesyonel bir zorluk teşkil etmektedir. US kullanımını hedefleyen bazı hizmet içi eğitim programları olmasına rağmen, daha işlevsel ve ideal bir yaklaşım, US alanında hem teorik hem de pratik bilgilerin üniversitelerdeki ilgili bölümlerin eğitim müfredatlarına entegre edilmesi olmalıdır. Hastane öncesi alandaki yaşamı tehdit eden koşullara odaklanması beklenen bu türde hazırlanacak olası bir program esas olarak pragmatik olmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Acil Sağlık Bakımı, Hastane Öncesi, Ultrasonografi

### Introduction

Ultrasound technology is one of the most important reflections of engineering science in the medical field and was initially used for a device developed to detect submarines. It was Pierre Curie in 1880, who first demonstrated the use of sound reverberation (1). Then, the data obtained by the propagation, refraction, reflection, and absorption of sound in an environment were used in Sound Navigation and Ranging (SONAR) devices.

SONARs are devices used to locate other marine vehicles and creatures underwater.

### Ultrasonography in Medicine

Since the 1940s, ultrasonography (US) has been used in medicine. The medical US device used for diagnosis and treatment uses US waves that are beyond the sensitivity of the human ear. In 1942, Austrian Karl Theodore Dussik first used a medical US device for displaying brain ventricles and

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Behnan Gülünay

Sivas Numune Hospital, Clinic of Emergency Medicine, Sivas, Turkey

Phone: +90 545 310 18 69 E-mail: drbehnandrglnay@yahoo.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-8201-6924

Received/Geliş Tarihi: 21.01.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 16.09.2021

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.

All content are under CC BY-NC-ND license.



brain tumors for diagnostic purposes (2). In 1948, the first US congress (Congress of Ultrasound in Medicine) was held in Germany (3,4). Douglas Howry developed a new technique and found Brightness-Mod (B-Mod) imaging. The first studies on the heart were carried out in 1953 by Wolf Dieter Keidel. In 1960 and 1970, great advances were made in the field of US and the Doppler imaging mode, aimed at sensing the blood flow of the heart at a different depth, was developed by Don Baker, Dennis Watkins and John Reid. The World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology was established in 1967 (2).

## US in Emergency Medicine

The US device, which entered in the medical field during 1940s, began to be used in emergency in the 1980s, when emergency medicine (EM) was not yet defined as a separate branch of medicine in Turkey (2). First of all, EM specialization training was defined in the United States of America (USA) as an independent one from other branches in 1960 (5). In 1961, the first emergency medical specialist was trained. In 1979, EM Specialization was accepted as a separate branch specialty by the American Specialization Board (5). Emergency Medical Specialties was added to the Regulation of Specialties in Medicine in Turkey for the first time with the title of "First and Emergency Aid" in 1993. The first Department of EM in Turkey was established in 1993 at İzmir Dokuz Eylül University (6).

In 1970, Goldberg et al. (7) revealed that intraperitoneal fluid can be recognized by US device in their study after giving fluid into the peritoneum on the cadaver. In 1980s, the use of US in trauma patients in Germany began to replace Deep Peritoneal Lavage and gained widespread popularity (8). In the early 1990s, the use of US became more widespread among trauma surgeons in the USA, and US training to evaluate trauma patients accelerated.

The first review on the principles of US use in EM was published by Dave Plummer in 1989 (9). In the same year, Jehle et al. (10) published their positive experiences in their own emergency room (ER) related to bedside US (cardiac, biliary, vascular, and gynecological). James Mateer is the father of bedside US training for EM professionals in America (11). Publications about the use of US in blunt trauma patients began to emerge in some other countries including Turkey in the 1990s (12). In 1990, American College of Emergency Physicians (ACEP), published a statement supporting the use of US by trained emergency physicians (EP) and started a 2-day bedside US course for a total of 16 hours (13). In 1994, the first Emergency Ultrasound Education Curriculum was published (14). In 1995, Focused Abdominal Sonography in Trauma (FAST) protocol was included into the algorithm of evaluation of the patient with abdominal trauma by the American College of Surgeons (11). After a short time, extended FAST (e-FAST) was

formed with the addition of lungs to the FAST administration protocol (15). The book "Ultrasound in EM" for EM was first published in 1995 by Michael Heller and Dietrich Jehle. In 2002, the more comprehensive "Emergency Ultrasound" book, also defining Point of Care US (POCUS) was published by O. John Ma and James Mateer (11). In 1992, French intensive care specialist Daniel Lichtenstein published his book "L'echographie generale en reanimation" about the use of US in critical patient care (11). The second edition of the book was translated into English and published in 2004 under the name "General US in the Critically ill" (11). Lichtenstein became one of the organizers of the "the First World Congress on Ultrasound in Emergency and Intensive Care", hosted in Italy in 2005 by World Interactive Network Focused on Critical Ultrasound (WINFOCUS) (11).

The first bedside US course in Turkey (15 hours, 2 days) was held in İzmir in 2003 (11). After this date, POCUS courses were started to be given to intensive care, and a large number of physicians in dealing other branches by Turkey EM Association (EMAT) and EP Association of Turkey (EPAT), and these courses are still given. In light of the developments, practical use of bedside US of EM specialists in the emergency departments (EDs) in Turkey has started and spread over time. Today, interest in this issue is increasing and the use of US continues to become widespread in EDs. In 2016, a website was established by EMAT, where US training and case videos, guides and articles about the use of US in EM were published, and training courses were announced (16). Also, in 2016, a website containing online US courses was established by EPAT (17).

In this way, US, whose importance and use continue to increase rapidly, has started to be used in emergency health services, hospital emergency services, and even in the pre-hospital area, in an ambulance, and its use in these areas is gaining speed (18).

There is a close relationship between the prevalence of the use of the US device in patient imaging in EM and the features of the device. US is a safe and fast imaging technique. With the development of technology day by day, the production of cheaper, smaller, more portable devices has increased the use of these devices for bedside imaging in emergency services. While the patients were directed to the radiology units where the US device was previously used for US imaging, with the advancement of the technology, the US device can now be brought to the patient and bedside imaging can be performed without patients having to leave the emergency critical care room. Especially in critical patients, the use of US is of great importance in reaching the correct diagnosis and providing effective treatment in a short time. In addition, as not containing ionizing radiation and only using sound waves, it does not require contrast agent for imaging and is reproducible; US device, which has become an indispensable tool for most ED in the differential diagnosis of



both traumatic and hypotensive, unstable patients, provides early diagnosis and early treatment. Since the 1980s, EPs have been performing bedside US and increasing their experience and knowledge in this field (2).

### US in Pre-hospital Area

US devices have been used in the evaluation of critical patients in the pre-hospital area as they have become portable even fit in a pocket and connectable to mobile phones. These technological developments have enabled the use of them for pre-hospital cases such as disasters and multiple injuries. Physicians, military and emergency medical staff use the US to diagnose pathologies such as pleural, peritoneal and pericardial effusion and deep vein thrombosis in patients on the field (18,19). In 1998, French intensive care specialists first reported that portable US units can be installed in helicopters for patient examination (20). In 2000, the interaction of US within air electronic equipment was examined, and the investigation in usability of it in helicopters revealed no technical obstacle (21). Physicians, flight nurses and US technicians were able to perform FAST in the helicopter. Thus, FAST application was the first usage in the pre-hospital emergency health services (pre-hos EHS), as in the EDs. The US was first used in ambulances in pre-hos EHS in Odessa, Texas, in 2000. Later, pre-hos EHS in Keller (Texas), Littleton (Colorado), Temple Terrace (Florida), San Antonio (Texas), San Antonio Airline (Texas), Starflite Austin (Texas), Lifelink III (Minnesota) and many more centers used US. In Germany, the German Air Rescue Organization (Deutsche Rettungsflugwacht) and many land-based ambulance services (Darmstadt and Frankfurt/Main) have included US in patient management algorithms in the field since 2002-2003. In these centers, teams consist of EPs and paramedics. In Italy, it has been comprised in pre-hos EHS since 2005 (22).

In America (Portland, Ohio and Minnesota), the use of US has been recognized and applied in many helicopter emergency health services. In the USA, Germany, France, Italy and some other countries, it has been accepted in ambulance services. In the USA, pre-hos EHS are frequently provided with non-physician teams and the patient is targeted to transfer from the field (on-scene) to the ER as soon as possible. However, in some other countries (Germany, France, Italy), more time is spent in the field by pre-hos EHS, as patient management initiates and continues on-scene, and physicians are mostly part of the team. Therefore, the widespread use of US in a country is closely related to the pre-hospital organization model (scoop and run-cap take/stay and play-stay) that the country chooses. In Germany, in the field US has focused on FAST administration and cardiac US imaging, even in patients without trauma. There are portable US devices in both helicopter ambulances and land ambulances in Milan to

evaluate three serious clinical conditions: cardiac arrest, torso (bodily) trauma and acute dyspnea. Pre-hospital US (PHUS) is decisive in the diagnosis of reversible causes of pulseless electrical activity (PEA), in the evaluation of the presence of intraperitoneal, pericardial and pleural fluid in trauma and in the differential diagnosis of pulmonary edema and emphysema in a patient with respiratory distress (22). When multiple B-lines ( $\geq 3$ ) on lung ultrasound are visualized on multiple locations in the anterior and lateral chest, it is diagnostic of the interstitial syndrome (23,24).

### Pre-hospital Emergency Services in Turkey

When we review the pre-hos EHS in Turkey, ambulance service commenced in 1986 named as in original "Hızır Acil Servis" (Hızır Emergency Service). The patients were transported by ambulance in İstanbul, Ankara and İzmir. In 1994, "Hızır Emergency Service" gained a new identity and became "112 Acil Yardım ve Kurtarma" (112 Emergency Assistance and Rescue). On November 5, 1995, 112 was accepted as the formal emergency call number for health of Turkey. First Aid and Emergency Health Services Department was established in 1997, and in 2008, it was combined with Department of Health Services for Emergency and Disasters and became Department of Health Services for Emergency and Disasters. With the Legislative Decree issued in 2011, a management plan was created at the level of the General Directorate of Emergency Health Services (6).

Regarding the US in pre-hospital in Turkey, although there are publications researching the achievement of US paramedics in the field in literature, US has not yet started to be used in pre-hos EHS. However, US trainings are sometimes provided for personnel working in pre-hos EHS. A US course for nurses working in the ED was conducted in Ege University in 2018 (16). Moreover, at North Cyprus Emergency Medical Services (EMS) and First Aid Symposium conducted on 28 May 2019, trainers of Emergency Medical Association Ultrasound Working Group (EMATUS) held the first US course for paramedics (16). For the 112 emergency medical personnel working in the Ministry of Health of Turkey, the first formal US training in the pre-hospital US use in the field was organized at Sivas Numune Hospital under the guidance of the Sivas Provincial Health Directorate on December 14-15, 2019 in Sivas by 2 EM specialists who are the members of EMATUS and the authors of the present review, and by a radiologist (8 hours theoretical, 8 hours practical, 2 days) (16,25). In 2020, a US study group was first established by these authors within the Paramedic and Pre-hospital EM Association about the use of US in the pre-hospital field and on January 25-26, 2020, this group conducted its first training in Ankara (26). In addition, in 2019, about a master thesis about pre-hospital US use titled "Measurement of the Skill Level of Paramedics on Evaluation of Inferior Vena Cava by Ultrasound

in Pre-hospital Area and Ambulance" was written by Çatak (6), who is also a paramedic.

### Use of US in Pre-hospital Area

There are many clinical applications of mobile US use in the pre-hospital area to reduce mortality and morbidity, and to improve the outcomes of critically ill patients. The number of studies supporting the use of the US in the pre-hospital area and ambulance is increasing day by day. It provides important information in the diagnosis or exclusion of life-threatening reasons, the evaluation of patients with impaired conscious or unconscious, hypotensive shock, and the decision to transfer these patients to the most appropriate hospital, and in the light of this information, it changes the direction of the emergency intervention and increases its effectiveness. Pre-hospital FAST (PFAST) has several advantages, such as shortening the time of operation to the patient, improving patient results and the triage of critical patients to trauma centers, and redirecting stable patients to another center from over-intensive trauma centers. PHUS is used to diagnose patients with trauma and without trauma in pre-hospital care to start treatment, decide the target hospital and determine the first treatment in the hospital (19).

Studies on the use of US devices for non-physician health personnel are common. Many academic studies on the use of PHUS have revealed that after a short training period, ambulance personnel can easily and successfully use this device (27-29). In a study conducted with 50 team leaders at the Siena Ambulance Service in Italy, even a short training of 8 hours of theoretical and practical training has been shown to yield successful results (82%) (30). In the evaluation made after Pre-hospital Assessment with Ultrasound for Emergencies (PAUSE) protocol training (2 hours) used in the United States for 20 paramedic workers working in integrated ED who have not previously received US training, it was seen that they were able to successfully recognize pneumothorax, pericardial effusion, and cardiac arrest. Moreover, it has been noted that the PAUSE protocol can potentially be useful in quickly detecting certain life-threatening pathologies in the pre-hospital area (31).

In a study with 33 paramedics and air nurses providing pre-hospital air ambulance emergency health services in Texas in 2010, participants took part in theoretical lessons about US physics and e-FAST application, practical application on live and inanimate models, US information cards, module courses accompanied by videos via the website, and finally the use of US devices on real patients in level-1 trauma center ED. They were taken on a 6-week training program. After this training program, it was seen that the participants' overall success scores increased from 43% to 78% (32).

In a retrospective study (between January 2009 and March 2014) of patient US records by physician and non-physician assistant healthcare professionals working in helicopter emergency health services in Canada (Canadian Critical Care Helicopter Emergency Medical Service,) it has been demonstrated the improvement in the pre-hospital interventions for patients in both groups (27). In the investigation of the accuracy of pre-hospital focused assessment with sonography for trauma (PFAST) applied by paramedics in patients exposed to trauma and applying to the ED; paramedics working in hospital EDs have been shown to perform FAST with high accuracy (with a sensitivity rate of 84.62% and a specificity rate of 97.37) (28).

In recent years, incorporating bedside US into standard advanced cardiac life support (ACLS) algorithms has been widely recommended (33). EMS providers in Germany and Italy have already started to use this model in the pre-hospital cardiac interpretation as standard protocol (22).

According to the policy statement published by ACEP in 2016, there has been accumulating evidence pertaining to use US in pre-hospital emergency care (30,34). However, there are several challenges impeding the use of pre-hospital US such as significant requirement for training and equipment, and for careful physician monitoring to ensure the quality (29).

In many practice environments mainly in the USA and Germany, clinical US training is often provided to non-physician staff including Advanced Practice Professionals, Nurses, Paramedics, Military Medics and Disaster Response Team members in the faculty curriculum. To better accommodate the trainees to the courses, such training topics as introductory US physics, knobology, and relevant anatomy and pathophysiology are necessary (35).

There are several training tools currently in use; however, the list of most commonly recommended methods are small group Observed Structured Clinical Examinations, real time supervision during clinical emergency US, one-on-one standardized direct observation tools, weakly question answer (QA) teaching sessions and image review, ongoing QA exam feedback, standardized knowledge assessments, simulation assessments and several intense educational tools (36). Benefits of assessment measures include obtaining reliable data about current trainee competency level and future learning needs, as well as identifying possible ways to provide better local emergency US education (36).

Several protocols were developed for pre-hos US. By using these protocols, it has been aimed to reach the target diagnosis. While performing a clinical US examination, the criteria in Table 1 should be interpreted, and so the possible responses to these questions should be elaborated.

## P-FAST Exam

The FAST exam, which aims to effectively use the invaluable time needed for operative procedures and also have the potential to reduce cost of treatment, and hospital admission process (19), has constituted to be a well-researched topic of interest in related literature in EM, demonstrating the possibility of death in traumatic patients, non-radiologists can also accurately diagnose hemoperitoneum, hemopericardium, hemothorax and pneumothorax (37).

## Chest, Abdomen, Inferior Vena Cava, and Extremities in Acute Triage Protocol

This protocol stands for the current application of US in disaster medicine including a comprehensive sonographic examination to evaluate the chest, abdomen, inferior vena cava, and extremities in acute triage (CAVEAT) (38).

The simple triage and rapid treatment (START) is standard protocol used mass casualty triage system categorizing the patients to ambulatory (green), delayed (yellow), immediate (red), and expectant (black) based on clinical criteria such as vital signs and the Glasgow Coma Scale (38). Integrating US into START protocol might provide better classification of patients for whom START protocol alone indicates false positive or negative. Complementary use of US may alter triage color of a given patient to red, for whom START protocol assigned yellow.

## Focused Echocardiographic Evaluation in Life Support Protocol (Cardiac Evaluation and Resuscitation)

The Focused Echocardiographic Evaluation in Life Support Protocol aims to determine the reversible causes of cardiac arrest such as pulmonary embolism, pericardial tamponade, global left ventricular failure, and hypovolemia, all of which might also be evaluated in pre-resuscitation for the critical patients. For

circulation assessment, the US use has been examined and incorporated into standard ACLS algorithms (39). EMS providers in Germany and Italy have also used the US in the pre-hospital cardiac evaluations (22).

PEA states might occur with or without cardiac wall motion, constituting a challenge in recognition of subclinical return of spontaneous circulation, which, according to the new evidence, can only be differentiated by means of echocardiography (39,40).

## Medical Illness

Despite the fact that among research fields appealing the researcher, the most common studied EMS ultrasound indication falls in the category of traumatic injuries, the effectiveness of the ultrasound in such non-traumatic illness as normal full-terms gestation, and fetal distress, for both of which it is revealed that the ultrasound use enhanced patients management, have also been studied by limited number of research (34).

## Conclusion

Numerous clinical applications have become a possibility with the utilization of pre-hospital emergency ultrasound for patients with life-threatening emergency conditions, all of which have the potential not only to decrease morbidity but also improve outcomes of any therapeutic intervention. Though this imagining device, it is highly possible for pre-hospital providers to enhance accuracy of the diagnosis and obtain vital information resulting in much better management and helping providers to classify patients to appropriate destinations in triage. As for the major obstacles of efficiently using pre-hospital ultrasound, such requirements as training and time are the leading ones. For the acquisition and maintenance of efficient skills in ultrasound by non-physician pre-hospital providers, regular formal training schemes are certainly a necessity. Although it is possible to hypostasize that the efficient pre-hospital utilization of US offers great advantages, establishing its clinical implications on

**Table 1: Prehospital fields using US as a diagnostic tool**

### Protocols for pre-hospital emergency US

Targets	Clinical US examinations	Protocols
Arrest rhythm	Cardiac motion	2001 UHP - Undifferentiated hypotensive patient US protocol
Myocardial dysfunction or failure	Left ventricle contractility	2005 P-FAST - Pre-hospital FAST
Aorta Dissection, aorta aneurism	Right ventricle size dilated	2007 FEER - Focused Echocardiographic Evaluation in resuscitation
Significant Valve Failure or Stenosis	Pericardial fluid	2008 C.A.U.S.E. - Cardiac arrest ultrasound exam
Pericardial tamponade	Confirmation of endotracheal tube	2009 RUSH - Rapid Ultrasound for shock and Hypotension
Tension pneumothorax	B-lines on lung ultrasound ( $\geq 3$ )	2010 FEEL - Focused echocardiographic Evaluation in Life Support
Pulmonary embolism	Uncompressibility on veins	2010 FOCUS - Focused cardiac ultrasound in emergent setting
Acute Dyspnea (e.g., COPD vs. CHF)	Volume evaluation on vena cava inferior	2010 RUSH - Rapid ultrasound in shock
Identification of shock	Fluid in the pleura and peritoneum	2010 The CAVEAT examination
Hypovolemia		2011 EGLS - Echo-guided life support
		2014 CORE - Concentrated overview of resuscitative efforts

COPD: Chronic obstructive pulmonary disease, CHF: Congestive heart failure, US: Ultrasonography

wellbeing of the patients certainly requires an accumulation of evidence.

In line with the continuing trend towards bedside ultrasound use by the non-radiologist, ultrasound use by non-physicians have also witnessed a dramatic increase. With the progressive development in the ultrasound with regard to cost, size, and practicality, field ultrasound applications may also continue to develop. As for providing additional information aiding the diagnosis, ultrasound may cast significant light on the supervision of the treatment. Not only the training level of the US provider present in the transportation vehicle mainly ambulance or helicopter, but also the transport time will have a vital impact on the utility of this information. In the related literature, the number of studies evaluating the pre-hospital use of ultrasound is limited; as a result, in order to reach a conclusion considering the necessity of widespread deployment of PHUS, further prospective, outcome-based studies should be conducted.

#### Main points:

- In critical patient care, mainly hypotensive, shock and trauma patients, US has been actively utilized.
- In EDs, apart from radiologists, EP also make use of bedside US.
- In some countries, life-threatening conditions are diagnosed by EP and even paramedics with mobile US in the field, unlike Turkey.
- Pre-hospital use of US decreases both mortality and morbidity.
- Paramedics should be provided with effective ultrasonography courses in the curriculum in order to enable them utilize US in the pre-hospital field in Turkey.

#### Ethics

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

#### Authorship Contributions

Concept: B.G., E.G., Design: B.G., E.G., Data Collection or Processing: B.G., E.G., Analysis or Interpretation: B.G., E.G., Literature Search: B.G., E.G., Writing: B.G., E.G.

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

#### References

1. Ayar O, Gülsoy U. Ultrasonografi Fiziği. 1st ed. Ankara: Rekmay Basimevi; 2003.
2. Newman PG, Rozycki GS. The history of ultrasound. *Surg Clin North Am.* 1998;78:179-195.
3. Nixdorff U. The inaugurator of transmitted echocardiography: Prof. Dr Wolf-Dieter Keidel. *Eur J Echocardiogr.* 2009;10:48-49.
4. Ludwig GD, Struthers FW. Considerations underlying the use of ultrasound to detect gallstones and foreign bodies in tissue. *Naval Medical Research Institute.* 1949;4:1-6.
5. Francis M, Neha P. Historical Timeline of International Events. In: Tintinalli JE, Cameron P, Holliman CJ, editors. *EMS a Practical Global Guidebook.* 1st ed. USA: People's Medical Publishing House; 2010. s. 19-38.
6. Çatak İ. Hastane öncesi alanda ve ambulans paramediklerin inferior vena kavayı ultrasonla değerlendirme beceri düzeyinin ölçülmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2019.
7. Goldberg BB, Goodman GA, Clearfield HR. Evaluation of ascites by ultrasound. *Radiology.* 1970;96:15-22.
8. Aufschneider M, Kofler H. Sonographische Akutdiagnostik beim Polytrauma [Sonographic acute diagnosis in polytrauma]. *Aktuelle Traumatol.* 1983;13:55-57.
9. Plummer D. Principles of emergency ultrasound and echocardiography. *Ann Emerg Med.* 1989;18:1291-1297.
10. Jehle D, Davis E, Evans T, et al. Emergency department sonography by emergency physicians. *Am J Emerg Med.* 1989;7:605-611.
11. Fowler JR. A history of point-of-care ultrasound in emergency medicine. *Türkiye Klin Emerg Med-Spec Top.* 2018;4:1-4.
12. Akgür FM, Aktuğ T, Kovanhkaya A, et al. Initial evaluation of children sustaining blunt abdominal trauma: ultrasonography vs. diagnostic peritoneal lavage. *Eur J Pediatr Surg.* 1993;3:278-280.
13. American College of Emergency Physicians. Council resolution on ultrasound. *ACEP News.* 1990;9:11.
14. Mateer J, Plummer D, Heller M, et al. Model curriculum for physician training in emergency ultrasonography. *Ann Emerg Med.* 1994;23:95-102.
15. Rozycki GS. Surgeon-performed ultrasound: its use in clinical practice. *Ann Surg.* 1998;228:16-28.
16. Temel Ultrasonografi Kursu <https://www.tatdus.org/haber/sivas-7-8-ekim-temel-ultrasonografikursu-adresinden-21.11.2020-tarihinde-edinilmistir>.
17. Sonoschool <https://www.atuder.org.tr/en/menu/31/sono-school-adresinden-17.10.2020-tarihinde-edinilmistir>.
18. Lapostolle F, Petrovic T, Lenoir G, et al. Usefulness of hand-held ultrasound devices in out-of-hospital diagnosis performed by emergency physicians. *Am J Emerg Med.* 2006;24:237-242.
19. Walcher F, Weinlich M, Conrad G, et al. Prehospital ultrasound imaging improves management of abdominal trauma. *Br J Surg.* 2006;93:238-242.
20. Lichtenstein D, Courret JP. Feasibility of ultrasound in the helicopter. *Intensive Care Med.* 1998;24:1119.
21. Price DD, Wilson SR, Murphy TG. Trauma ultrasound feasibility during helicopter transport. *Air Med J.* 2000;19:144-146.
22. Price WG, Heegaard FW, Franziska B. Ultrasound in Prehospital and Austere Environments. In: Ma O, Mateer J, Blaivas M, editors. *Ma and Mateer's Emergency Ultrasound.* 3rd ed. New York: McGraw-Hill Education; 2014. s. 47-60.
23. Cardinale L, Priola AM, Moretti F, et al. Effectiveness of chest radiography, lung ultrasound and thoracic computed tomography in the diagnosis of congestive heart failure. *World J Radiol.* 2014;6:230-237.
24. Volpicelli G, Mussa A, Garofalo G, et al. Bedside lung ultrasound in the assessment of alveolar-interstitial syndrome. *Am J Emerg Med.* 2006;24:689-696.
25. Hastane Öncesi Ultrasonografi Eğitimi <https://sivasnumunedh.saglik.gov.tr/TR,408635/temel-ultrasonografi-egitimi.html>. adresinden 9.9.2020 tarihinde edinilmiştir.
26. Hastane Öncesi Ultrasonografi Eğitimi <http://usg.parhad.org/ankara-ultrason-egitimi.php> adresinden 12.9.2020 tarihinde edinilmiştir.
27. O'Dochartaigh D, Douma M, MacKenzie M. Five-year Retrospective Review of Physician and Non-physician Performed Ultrasound in a Canadian Critical Care Helicopter Emergency Medical Service. *Prehosp Emerg Care.* 2017;21:24-31.
28. Unlüer EE, Yavaş O, Kara PH, et al. Paramedic-performed Focused Assessment with Sonography in Trauma (FAST) in the emergency department. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2011;17:113-116.

29. Taylor J, McLaughlin K, McRae A, et al. Use of prehospital ultrasound in North America: a survey of emergency medical services medical directors. *BMC Emerg Med.* 2014;14:6.
30. Mura D, Montomoli M, Masellis D, et al. Implementation of prehospital emergency ultrasound: the Sassari prehospital emergency ultrasound project. *Crit Ultrasound J.* 2014;6:1.
31. Chin EJ, Chan CH, Mortazavi R, et al. A pilot study examining the viability of a Prehospital Assessment with UltraSound for Emergencies (PAUSE) protocol. *J Emerg Med.* 2013;44:142-149.
32. Press GM, Miller SK, Hassan IA, et al. Evaluation of a training curriculum for prehospital trauma ultrasound. *J Emerg Med.* 2013;45:856-864.
33. Blanco P, Martínez Buendía C. Point-of-care ultrasound in cardiopulmonary resuscitation: a concise review. *J Ultrasound.* 2017;20:193-198.
34. Nelson BP, Chason K. Use of ultrasound by emergency medical services: a review. *Int J Emerg Med.* 2008;1:253-259.
35. Nelson BP, Sanghvi A. Out of hospital point of care ultrasound: current use models and future directions. *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2016;42:139-150.
36. Lewiss RE, Hoffmann B, Beaulieu Y, et al. Point-of-care ultrasound education: the increasing role of simulation and multimedia resources. *J Ultrasound Med.* 2014;33:27-32.
37. Ketelaars R, Reijnders G, van Geffen GJ, et al. ABCDE of prehospital ultrasonography: a narrative review. *Crit Ultrasound J.* 2018;10:17.
38. Stawicki SP, Howard JM, Pryor JP, et al. Portable ultrasonography in mass casualty incidents: The CAVEAT examination. *World J Orthop.* 2010;1:10-19.
39. Breitreutz R, Price S, Steiger HV, et al. Focused echocardiographic evaluation in life support and peri-resuscitation of emergency patients: a prospective trial. *Resuscitation.* 2010;81:1527-1533.
40. Price S, Ilper H, Uddin S, et al. Peri-resuscitation echocardiography: training the novice practitioner. *Resuscitation.* 2010;81:1534-1539.

# Koagülaz Negatif Stafilokoklarda Biyofilm Oluşumunun Çeşitli Kongo Kırmızısı Besiyerlerinde Değerlendirmesi

## Evaluation of Biofilm Formation in Coagulase Negative Staphylococci on Various Congo Red Agar Medium

© Duygu Öcal, © Alper Tekeli, © İştah Dolapçı

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Bu çalışmada koagülaz negatif stafilokok (KNS) izolatlarının biyofilm oluşturma özelliklerinin saptanmasında kullanılan Kongo kırmızısı agar (KKA) besiyeri ve modifikasyonlarının performanslarının mikropak yöntemi ile karşılaştırılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada 24'ü (%30) kateter kolonizanı, 13'ü (%16,25) kan dolaşım enfeksiyonu (KDE) etkeni, 20'si (%25) kateter ilişkili kan dolaşım enfeksiyonu (KİKDE) etkeni ve 23'ü (%28,75) hastane çalışanlarının burun boşluklarından elde edilen olmak üzere toplam 80 KNS izolatı değerlendirilmiştir. Biyofilm özelliklerinin incelenmesinde KKA besiyerleri [KKA G (%2 glukoz ilaveli), KKA GN (%2 glukoz ve %1,5 NaCl ilaveli), KKA GNV (%2 glukoz, %1,5 NaCl 0,5 µg/mL vankomisin ilaveli)] ve mikropak yöntemi kullanılmıştır. Mikropak yöntemi ile kıyaslanarak KKA besiyerleri için duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri hesaplanmıştır.

**Bulgular:** İzolatların %36,25'i *Staphylococcus hominis*, %35'i *Staphylococcus epidermidis*, %13,75'i *Staphylococcus haemolyticus*, %11,25'i *Staphylococcus capitis*, %2,5'i *Staphylococcus saprophyticus* ve %1,25'i *Staphylococcus warnerii* olarak tiplendirilmiştir. KKA yöntemi ile 34'ü (%42,5), mikropak yöntemi ile 57'si (%71,25) [18'i (%22,5) zayıf, 24'ü (%30) orta kuvvette ve 15'i (%18,75) kuvvetli], biyofilm pozitif olarak saptanmıştır. KDE etkeni olan KNS'lerin 6'sı (%7,5), KİKDE etkeni olan KNS'lerin 20'si (%25), kateter kolonizanı olanların 18'i (%22,5), burun boşluklarından izole edilenlerin 13'ü (%16,25) çeşitli kuvvetlerde biyofilm oluşturmuştur. KKA, KKA G ve KKA GN ve KKA GNV yöntemlerinin duyarlılıkları sırasıyla %59,6, %59,6, %59,6 ve %58,2, özgüllükleri ise %100'dür.

**Sonuç:** Stafilokok türlerinde biyofilm oluşumu çeşitli çevresel koşullardan ve besiyeri içeriğinden etkilenmektedir. Çalışmamızda stafilokok izolatlarında biyofilm oluşumunu değerlendirmek için, modifiye KKA besiyerlerinin orijinal KKA besiyerine göre üstünlüğü saptanmamıştır. Biyofilm üreten bakterilerin saptanmasında KKA ve modifiye formlarına kıyasla, mikropak yönteminin kullanılması daha uygundur.

**Anahtar Kelimeler:** Biyofilm, Koagülaz Negatif Stafilokok, Kongo Kırmızısı Agar ve Modifikasyonları, Mikropak Yöntemi

### Abstract

**Objectives:** In this study, it was aimed to evaluate the performance of different Congo red agar (CRA) media and its modifications in comparison with the microplate method in the demonstration of biofilm formation in coagulase negative staphylococcus (CoNS) isolates.

**Materials and Methods:** A total of 80 CoNS isolates, including 24 (30%) catheter colonizers, 13 (16.3%) bloodstream infection (BSI) agents, 20 (25%) catheter-related bloodstream infection (CR-BSI) agents and 23 (28.8%) obtained from the nasal cavities of hospital staff, were evaluated in the study. In the determination of biofilm formation, CRA mediums (CRA G (2% glucose added), CRA GN (2% glucose and 1.5% NaCl added), CRA GNV (2% glucose, 1.5% NaCl 0.5 µg/mL vancomycin added) and microplate method were used. Sensitivity, specificity, positive predictive and negative predictive values were calculated by comparing with the microplate method.

**Results:** *Staphylococcus hominis* was the most frequently detected species (36.25%), followed by *Staphylococcus epidermidis* (35%), *Staphylococcus haemolyticus* (13.75%), *Staphylococcus capitis* (11.25%), *Staphylococcus saprophyticus* (2.5%), and *Staphylococcus warnerii* (1.25%). Thirty-four (42.5%) isolates were detected by CRA method, 57 (71.25%) [18 (22.5%) weak, 24 (30%) medium strength, 15 (18.75%) strong biofilm] isolates

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Duygu Öcal

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Tel.: +90 506 621 48 51 E-posta: drduygunil@hotmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-9929-267X

Geliş Tarihi/Received: 26.09.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 27.10.2021

©Telif Hakkı 2022 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



were detected by microplate method. Six (7.5%) of CoNS agents of BSI, 20 (25%) of CoNS agents of CRBSI, 18 (22.5%) of those with catheter colonization, 13 (16.3%) of those isolated from nasal cavities formed a biofilm of varying strengths. The sensitivities of the CRA, CRA G, CRA GN and CRA GNV methods were 59.6%, 59.6%, 59.6% and 58.2%, and their specificities were 100%, respectively.

**Conclusion:** Biofilm formation in staphylococcal species is affected by various environmental conditions and media content. To assess biofilm formation in all staphylococcal isolates, no superiority of modified CRA media was found over the original CRA. Microplate method can be recommended as a general screening method for the detection of biofilm-producing bacteria, compared to CRA and its modified forms.

**Key Words:** Biofilm, Coagulase Negative Staphylococci, Congo Red Agar and Modified Forms, Microplate Method

## Giriş

Stafilokoklar doğada çok yaygın olarak bulunan Micrococcaceae familyası içinde yer alan gram pozitif koklardır. Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) deri ve mukoz membranların normal florasında bulunan, hareketsiz, sporsuz bakterilerdir (1).

Vücut savunma mekanizmalarının bozulması, deri bütünlüğünün hasara uğraması, iç ve dış stres faktörleri KNS'lerin hastalık oluşturmalarını artırıcı faktörlerdir. KNS'ler kan dolaşım enfeksiyonu (KDE), endokardit, menenjit, perikardit, artrit, cerrahi yara enfeksiyonu ve kateter ilişkili enfeksiyonlara neden olabilmektedir (2). Stafilokokların, *in vivo*, katı yüzeylere yapışarak biyofilm oluşturma özelliklerinin olduğu bilinmektedir. Bu özelliğe sahip stafilokoklar protez ya da kateter gibi yabancı cisimler üzerine tutunduktan sonra salgıladıkları hücre dışı polisakarit yapıda madde içerisinde çoğalırlar. "Slime tabakası" adı da verilen bu yapı içerisinde kendilerini konağın bağışıklık yanıtından korurlar, antibiyotiklere dirençli hale gelirler ve bu nedenlerle oluşturdukları enfeksiyonlar daha zor tedavi edilir (2-4).

Biyofilm, genel olarak bir yüzey üzerinde çeşitli türde bakterilerin oluşturduğu mikrokoloniler ve bu kolonilerin ürettikleri ekstrasellüler polisakaritler (EPS), proteinler, çevreden aldıkları organik ve inorganik maddelerden oluşan polimerik yapıda jelse bir tabaka olarak tanımlanmaktadır (2,5).

Biyofilm oluşumunun gösterilmesinde Christensen yöntemi (kalitatif tüp testi), Kongo kırmızısı agar (KKA) besiyerine ekim yöntemi, kantitatif mikropalak yöntemi, standart cam tüp deneyi gibi fenotipik yöntemlerin yanı sıra, elektron mikroskopu, konfokal lazer taramalı mikroskopun kullanıldığı çeşitli görüntüleme yöntemleri ve moleküler yöntemler de kullanılabilir. Biyofilm ilişkili protein (*bap*), kemik sialoproteinini bağlayıcı protein (*bbp*), elastin bağlayıcı protein (*ebpS*), laminin bağlayıcı protein (*eno*), fibrinojen bağlayıcı protein (*fib*), fibronektin bağlayıcı protein A ve B (*fnbA* ve *fnbB*), hücreler arası adezin protein A ve D'yi (*icaA* ve *icaD*) kodlayan biyofilm oluşumu ile ilişkili genler, polimeraz zincir reaksiyonu ile gösterilebilmektedir (6-12).

Potansiyel olarak patojenik stafilokokların erken tespiti ve yönetimi, invaziv araç ilişkili hastane enfeksiyonlarının önlenmesi ve yönetimine yönelik temel adımlardan biri olabilir.

Bu süreçte biyofilm üreten mikroorganizmaların tespiti için basit bir yöntem de ihtiyaç vardır. Bu çalışmanın amacı KNS izolatlarında biyofilm oluşumunu saptamak amacıyla kullanılan tüm yöntemler arasında ucuzluğu ve kolaylığı ile ön plana çıkan KKA yönteminin geçerliliğini besiyerinin çeşitli modifikasyonlarını da kullanarak değerlendirmektir. Bu amaçla KKA besiyerinin içeriğinde değişiklikler yapılarak, modifiye KKA besiyerleri [KKA G (%2 glukoz ilaveli)], KKA GN (%2 glukoz ve %1,5 NaCl ilaveli), KKA GNV (%2 glukoz, %1,5 NaCl 0,5 µg/mL vankomisin ilaveli) oluşturulmuş ve KKA yönteminin duyarlılığının artırılması amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlar mikropalak yöntemi ile karşılaştırılarak, stafilokok izolatlarında biyofilm oluşumunun ucuz ve kolay bir yöntem ile saptanması hedeflenmiştir.

## Gereç ve Yöntem

### Örneklerin Toplanması

Araştırma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Ocak-Aralık 2014 tarihlerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya kateter kolonizasyonu (n=24), hastane çalışanlarının burunlarından elde edilen (n=23), kateter ilişkili KDE (KİKDE) etkeni (n=20) ve KDE etkeni (n=13) olmak üzere toplam 80 KNS dahil edilmiştir.

### Bakterilerin Tanımlanması

İzolatlar, konvansiyonel yöntemlerin yanı sıra BD Phoenix (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) ve Bruker Microflex MS (Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) otomatize sistemleri kullanılarak tanımlanmıştır. %16'lık gliserollü buyyon besiyerine alınarak çalışma gününe kadar -20 °C'de saklanan izolatların %5 koyun kanlı agara ekimi yapılmış, 37 °C'de 18-24 saat inkübe edilerek, saf kültürleri elde edilmiştir.

### Mikropalak Yöntemi ile Biyofilm Oluşumunun Kantitatif Olarak Değerlendirilmesi

İzolatlardan 0,5 McFarland (10<sup>8</sup>kob/mL) standartında bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan bu bakteri süspansiyonunun 20 µl'si steril 96 kuyucuklu düz tabanlı mikropalak kuyucuklarına aktarılmıştır. Üzerlerine %1 glukoz içeren 180 µl triptik soy buyyon eklenerek 24 saat süre ile 37 °C'de inkübe edilmiştir. Ertesi gün mikropalak boşaltılıp, 3 kez 200 µl fosfat tamponlu tuz çözeltisi ile yıkanarak tutunmayan bakteriler

uzaklaştırılmıştır. Plaklar ters çevrilerek havada kurumaya bırakılmış, sonrasında kuyucuklara 200 µl metanol konularak 20 dakika süre ile biyofilm oluşturan bakterilerin fiksasyonu sağlanmıştır. Fiksasyonu takiben metanol boşaltılmış ve plaklar oda ısısında bir gece süre ile ters çevrilerek havada kurumaya bırakılmıştır. Ertesi gün kuyucuklara tutunan bakteriler %0,5'lik kristal viyole ile boyanmış, sonrasında pipetle üzerlerindeki boya çekilerek, steril fizyolojik tuzlu su ile 3 kez yıkanmıştır. Havada kurutulan plakların üzerine %95'lik etanol konularak, oda ısısında 30 dakika, çalkalama olmaksızın inkübe edilmiş ve son olarak kuyucukların absorbanası spektrofotometrede (BioTek, ABD) 570 nm'de okutulmuştur (13).

Pozitif kontrol olarak *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 kullanılmıştır, sterilite kontrolü için sadece besiyeri içeren, mikroorganizma ilave edilmemiş kuyucuklar hazırlanmıştır. Deney üç kez tekrarlanmış, sonuçlar üç deneyin ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Sadece besiyeri içeren kuyucukların optik dansitometrelerinin ortalaması alınmış ve üç standart derivasyonu hesaplanarak OD<sub>c</sub> değeri belirlenmiştir. Elde edilen cut-off değerine göre biyofilm pozitiflikleri (OD<OD<sub>c</sub>: negatif, OD<sub>c</sub><OD<2xOD<sub>c</sub>: +, 2xOD<sub>c</sub><OD<4xOD<sub>c</sub>: ++, 4xOD<sub>c</sub><OD: +++) yorumlanmıştır (13).

### Biyofilm Oluşumunun KKA ve Modifiye Edilmiş KKA Besiyerlerinde Fenotipik Olarak Gösterilmesi

İzolatlardan biyofilm özelliklerinin fenotipik olarak değerlendirilmesi amacıyla KKA besiyeri ve bu besiyerinin vankomisin, NaCl ve %2 glukoz ilave edilerek oluşturulmuş modifikasyonları kullanılmıştır.

KKA besiyeri; beyin kalp infüzyon buyyonu (37 gr/L), sükröz (50 g/L), agar (10 g/L) ve Kongo kırmızısı boyası (0,8 g/L) içerecek şekilde hazırlanmıştır. KKA besiyerinin modifikasyonu için glukoz, NaCl ve vankomisin filtre ile süzülerek steril edilmiş ve otoklavdan çıkartılan besiyeri 55 °C'ye kadar soğuduktan sonra eklenmiştir (14). Modifiye edilmiş KKA besiyerleri; KKA G (%2 glukoz ilaveli), KKA GN (%2 glukoz ve %1,5 NaCl ilaveli), KKA GNV (%2 glukoz, %1,5 NaCl ve 0.5 µg/mL vankomisin ilaveli) besiyerleri olarak adlandırılmıştır (15).

Pozitif kontrol olarak *S. epidermidis* ATCC 35984 kullanılmıştır. Her plak besiyerine en az bir pozitif, bir negatif kontrol ekimi yapılmıştır. KKA besiyerine ekim için iki yöntem kullanılmıştır. Birinci yöntemde izolatların besiyerine tek koloni ekimleri yapılmış, ikinci yöntemde seçilen koloniler 5 mL FTS içinde süspanse edilmiş ve 20 µl'si damlatma yöntemi ile plak üzerine aktarılmıştır. Ekim işlemini takiben plaklar 37 °C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. Yirmi dört saat sonunda etüvden çıkarılan plaklar değerlendirildikten sonra, oda sıcaklığında 24 saat daha bekletilmiş ve 48. saatte yeniden değerlendirilmiştir. Değerlendirme işlemleri iki ayrı araştırmacı tarafından, birbirinden bağımsız olarak yapılmıştır. Kuru kristal

kıvamında koyu kırmızı-siyah renkli koloni oluşturan izolatlar biyofilm pozitif; açık pembe-kırmızı ya da bordo renkte koloni oluşturanlar biyofilm negatif olarak yorumlanmıştır (14).

### İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi ki-kare ve Fisher's exact testleri kullanılarak yapılmıştır. İki yöntemin sınıflanmış değerleri arasındaki uyumun araştırılmasında Kappa uyum katsayısı ve anlamlılığı hesaplanmıştır. P<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### Etik Kurul Onayı

Çalışma için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar ve Etik Kurulu'ndan onay (karar no: 03-98-13) ve sağlıklı gönüllülerden "bilgilendirilmiş gönüllü olur formu" alınmıştır.

## Bulgular

### Bakteri İzolatlarının Tanımlanması

KNS olarak izole edilen izolatların %36,25'i *Staphylococcus hominis* (n=29), %35'i *S. epidermidis* (n=28), %13,75'i *Staphylococcus haemolyticus* (n=11), %11,25'i *Staphylococcus capitis* (n=9), %2,5'i *Staphylococcus saprophyticus* (n=2) ve %1,25'i *Staphylococcus warnerii* (n=1) olarak tiplendirilmiştir. Stafilocok izolatlarının tür düzeyinde bilgileri ve izole edildikleri yerlere göre dağılımları Tablo 1'de verilmiştir.

### Biyofilm Özelliklerinin Belirlenmesi

Mikroplak yönteminde OD<sub>c</sub> değeri 0,28'in altında değer veren kuyucuklarda biyofilm oluşmadığı; 0,28-0,56 değerleri arasındaki kuyucuklarda zayıf (+); 0,57-1,12 değerleri arasındaki kuyucuklarda orta (++) ve 1,13 ve üzerinde değer veren kuyucuklarda kuvvetli (+++) biyofilm oluştuğu kabul edilmiştir. Buna göre mikroplak yönteminde KNS'lerin 23'ü (%28,75) biyofilm oluşturmamış, 18'i (%22,5) zayıf, 24'ü (%30) orta kuvvette ve 15'i (%18,75) kuvvetli olmak üzere izolatların 57'sinin (%71,25) biyofilm oluşturduğu saptanmıştır.

İzolatların biyofilm oluşturma özelliklerinin fenotipik olarak belirlenmesinde kullanılan KKA besiyerleri 24. ve 48. saatte değerlendirilmiş, 48. saat sonunda dört izolatın biyofilm oluşturmadığı gözlenmiştir (bir adet *S. haemolyticus*, üç *S. hominis*). Sonuçların yorumlanması için 24 saatlik sürenin daha uygun olduğuna karar verilmiştir. KKA besiyerlerine ekim yapılmasında uygulanan tek koloni ekimi ve damlatma yöntemleri arasında biyofilm oluşumunu saptama açısından fark bulunamamakla birlikte, sonuçları değerlendirirken damlatma yöntemi ile yapılan ekimlerin daha kolay yorumlandığı görülmüştür. On iki *S. epidermidis*, 12 *S. hominis*, 5 *S. haemolyticus*, 4 *S. capitis* ve bir *S. saprophyticus* izolatı olmak



üzere çalışılan toplam 80 KNS izolatin 34'ü (34/80; %42,5) KKA besiyerinde biyofilm pozitif olarak saptanmıştır. Bu verilere dayanarak mikrop plak yönteminin biyofilm oluşumunu KKA yöntemine göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha fazla saptadığı belirlenmiştir ( $p < 0,001$ ).

KNS izolatlarının türlere göre mikrop plak yönteminde ve KKA'da saptanan biyofilm oluşturma oranları Tablo 2'de gösterilmiştir.

KKA besiyerinde toplam 34 izolatta biyofilm oluşumu saptanırken modifiye KKA besiyerlerinden, KKA G ve KKA GN besiyerlerinde yine 34 (%42,5), KKA GNV besiyerinde ise 32 (%40) KNS'de biyofilm oluşumu gösterilmiştir. Rakam olarak bakıldığında biyofilm oluşumu saptama açısından besiyerleri arasında az farklılık görülmekle birlikte, modifiye KKA besiyerlerinde üremeleri ve biyofilm oluşturmaları ile ilgili izolat bazında farklılıklar bulunmuştur. İki kateter kolonizasyonu (*S.*

*epidermidis*), ikisi KİKDE etkeni (*S. hominis*) olan 4 adet KNS izolatu KKA GNV besiyerinde üretilmemiştir. İki KDE etkeni (*S. hominis* ve *S. epidermidis*) KKA'da biyofilm oluşturmazken, modifiye besiyerlerinde (KKA G, KKA GN ve KKA GNV) biyofilm oluşturmuştur. İki kateter kolonizasyonu (*S. epidermidis*) KKA'da biyofilm oluştururken, modifiye besiyerlerinde (KKA G, KKA GN ve KKA GNV) biyofilm oluşturmamıştır (Tablo 3). KKA besiyeri ve modifikasyonlu besiyerlerinin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD) ve negatif prediktif değerleri (NPD) Tablo 4'te görülmektedir.

KNS izolatlarının elde edildikleri bölgelere göre KKA ve mikrop plak yönteminde oluşturdukları biyofilm oranları Tablo 5'te verilmiştir. İzolatlar elde edildikleri bölgelere göre tek tek ele alınarak yöntemler arası fark değerlendirilmek istendiğinde, sayılarının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı fark vermeye uygun bulunmamıştır. Ancak rakamlar incelendiğinde, burun boşluğundan izole edilenler dışında tüm KNS'lerde

**Tablo 1: KNS türlerinin izole edildikleri yerlere göre dağılımı**

Tür	Burun n (%)	Kateter kolonizasyonu n (%)	KDE* n (%)	KİKDE** n (%)	Toplam n (%)
<i>Staphylococcus hominis</i>	11 (13,8)	10 (12,5)	4 (5)	4 (5)	29 (36,25)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 (1,25)	9 (11,3)	8 (10)	10 (12,5)	28 (35)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-	4 (5)	1 (1,25)	6 (7,5)	11 (13,75)
<i>Staphylococcus capitis</i>	8 (10)	1 (1,25)	-	-	9 (11,25)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2 (2,5)	-	-	-	2 (2,5)
<i>Staphylococcus warnerii</i>	1 (1,25)	-	-	-	1 (1,25)
<b>Toplam</b>	<b>23 (28,75)</b>	<b>24 (30)</b>	<b>13 (16,3)</b>	<b>20 (25)</b>	<b>80 (100)</b>

\*KDE: Kan dolaşım enfeksiyonu

\*\*KİKDE: Kateter ilişkili kan dolaşım enfeksiyonu

KNS: Koagülaz negatif stafilocoklar

**Tablo 2: KNS izolatlarının KKA besiyeri ve mikrop plak yöntemi ile saptanan biyofilm oluşturma oranlarının karşılaştırılması**

Türler	KKA	Mikrop plak Yöntemi			
		Biyofilm yok n (%)	Zayıf (+) biyofilm n (%)	Orta (++) biyofilm n (%)	Kuvvetli (+++) biyofilm n (%)
<i>Staphylococcus hominis</i> (n=29)	KKA (+)	-	5 (17,24)	6 (20,68)	1 (3,44)
	KKA (-)	8 (27,58)	1 (3,44)	6 (20,68)	2 (6,89)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n=28)	KKA (+)	-	1 (3,57)	7 (25)	4 (14,28)
	KKA (-)	6 (21,42)	5 (17,85)	-	5 (17,85)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (n=11)	KKA (+)	-	-	3 (27,27)	2 (18,18)
	KKA (-)	3 (27,27)	2 (18,18)	1 (9,09)	-
<i>Staphylococcus capitis</i> (n=9)	KKA (+)	-	3 (3,3)	-	1 (1,1)
	KKA (-)	4 (4,4)	-	1 (1,1)	-
Diğerleri* (n=3)	KKA (+)	-	1 (33,3)	-	-
	KKA (-)	2 (66,6)	-	-	-
<b>Toplam (n=80)</b>		<b>23 (28,75)</b>	<b>18 (22,5)</b>	<b>24 (30)</b>	<b>15 (18,75)</b>

Yüzde oranları tür üzerinden verilmiştir.

KKA (+): Kongo kırmızısı agar besiyerinde biyofilm oluşturan

KKA (-): Kongo kırmızısı agar besiyerinde biyofilm oluşturmayan

\*Diğerleri: *S. warnerii* (n=1) ve *S. saprophyticus* (n=2)

KNS: Koagülaz negatif stafilocoklar

mikroplak yönteminin biyofilm oluşumunu ortaya koymadaki üstünlüğü dikkat çekmektedir.

Mikroplak yöntemi temel alınarak izolatların izole edildikleri bölgelere göre biyofilm oluşturma oranları incelendiğindeyse, KİKDE etkenlerinin, diğer izolatlara göre daha yüksek oranda biyofilm oluşturmaları anlamlı olarak kabul edilmiştir ( $p<0,001$ ). Kuvvetli biyofilm oluşturan 20 izolatın büyük çoğunluğunun KİKDE etkenlerinden oluşması da (8/20) istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ( $p<0,001$ ). KKA'da biyofilm oluşturmayan ama modifiye besiyerlerinde biyofilm oluşturan iki KDE etkeninden *S. hominis* orta kuvvette biyofilm, *S. epidermidis* ise zayıf biyofilm oluşturmuştur. KKA'da biyofilm oluşturan ama modifiye besiyerlerinde biyofilm oluşturmayan iki kateter kolonizanı *S. epidermidis*'in biri orta kuvvette biyofilm, diğeri ise zayıf biyofilm oluşturmuştur.

## Tartışma

Micrococcaceae familyası üyesi olan stafilocoklar, toprakta, suda, havada yaygın olarak saptanan ayrıca insan ve hayvanların

derileri üzerinde doğal flora elemanı olarak bulunabilen mikroorganizmalardır (1).

Stafilocoklar, özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda tıbbi cihazlarla ilişkili enfeksiyonların en yaygın nedenlerinden biridir. Stafilocokların virülans faktörlerinden birisi olan biyofilm tabakası oluşturmaları, bu mikroorganizmaların hastalık oluşturma yeteneklerini artırmaktadır (2).

Tek veya farklı türlerde bakteriler, canlı veya cansız yüzeylerde adezyon sonrası çoğalarak mikroorganizma toplulukları oluşturabilir. Bu bakteriler, polisakkaritler, protein, ekstrasellüler DNA, su ve iyonlar gibi farklı bileşenleri içeren EPS ile birlikte biyofilm yapısını oluştururlar. Bir biyofilm içinde olmak bakteriye, konakçı bağışıklık sisteminden ve antimikrobialardan korunma, su tutma ve kuruma toleransı, besin emilimi ve depolama, yüksek hücre dışı enzimatik aktivite, enfeksiyon bölgesine yapışma ve quorum sensing yoluyla iletişim gibi bir dizi avantaj sağlar (16,17).

Çalışmamızda en sık izole edilen stafilocoklar *S. hominis* (n=29) ve *S. epidermidis*'tir (n=28). Adaptasyon yeteneği ve insan derisi ve mukozası üzerindeki yüksek hakimiyeti nedeniyle (18),

**Tablo 3: KKA ve modifiye KKA besiyerleri ve mikroplak yöntemi ile biyofilm oluşumu oranları**

	KKA	KKA G	KKA GN	KA GNV	Mikroplak yöntemi
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n=28)	16	15	15	15	22
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (n=11)	3	3	3	3	8
<i>Staphylococcus hominis</i> (n=29)	11	12	12	10	21
Diğerleri (n=12)	4	4	4	4	6
<b>Toplam</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>32</b>	<b>57</b>

KKA: Kongo kırmızısı agar, KKA G: KKA glukoz, KKA GN: KKA glukoz NaCl, KKA GNV: KKA glukoz NaCl vankomisin

**Tablo 4: KKA besiyerlerinin mikroplak yöntemi ile karşılaştırılarak belirlenen duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri**

	KKA besiyeri	KKA G besiyeri	KKA GN besiyeri	KKA GNV besiyeri
<b>Duyarlılık</b>	%59,6	%59,6	%59,6	%58,2
<b>Özgüllük</b>	%100	%100	%100	%100
<b>Pozitif prediktif değer</b>	%100	%100	%100	%100
<b>Negatif prediktif değer</b>	%50	%50	%50	%47,7

KKA: Kongo kırmızısı agar, KKA G: KKA glukoz, KKA GN: KKA glukoz NaCl, KKA GNV: KKA glukoz NaCl vankomisin

**Tablo 5: KNS'lerin izole edildikleri bölgelere göre KKA ve mikroplak yöntemi ile biyofilm oluşturma özelliklerinin incelenmesi**

KKA (+) n (%)	İzolasyon bölgesi	Mikroplak yöntemi n (%)	Mikroplak Yöntemi		
			Zayıf (+) biyofilm n	Orta (++) biyofilm n	Kuvvetli (+++) biyofilm n
<b>3 (23,07)</b>	KDE (n=13)	6 (46,15)	3	3	-
<b>13 (65)</b>	KİKDE (n=20)	20 (100)	4	8	8
<b>6 (25)</b>	Kateter kolonizanı (n=24)	18 (75)	3	10	5
<b>12 (52,17)</b>	Burun boşluğu (n=23)	13 (56,52)	8	3	2
<b>34 (42,5)</b>	Toplam (n=80)	57 (71,25)	18	24	15

KKA: Kongo kırmızısı agar, KNS: Koagülaz negatif stafilocoklar, KDE: Kan dolaşım enfeksiyonu, KİKDE: Kateter ilişkili kan dolaşım enfeksiyonu

biyofilm oluşumu ile ilgili birçok çalışmada da *S. epidermidis*'in en sık izole edilen stafilocok türü olduğu bildirilmiştir (19-21).

Kongo kırmızısı, benzidin ve naftionik asit kombinasyonundan oluşan boyar bir maddedir ve KKA besiyerine ekim yöntemi ile biyofilm oluşumu saptanma yönteminin temeli; sentezlenen EPS'nin Kongo kırmızısı tarafından boyanmasına bağlıdır. Yöntem çeşitli ortam koşullarından etkilenmektedir ve değerlendirimi subjektiftir. Çalışmamızda mikroplak yöntemiyle biyofilm pozitif olduğu saptanan 4 izolatın, KKA besiyerlerinin 24. saat değerlendirmesinde pozitif iken, 48. saatte negatife dönmesi nedeniyle, plakların 24. saatte değerlendirmenin uygun olduğuna karar verilmiştir. Yirmi dördüncü saatte 39 (%51,3) olan biyofilm pozitif izolat sayısının 48. saatte değerlendirildiğinde 20'ye (%26,3) düştüğünü gösteren çalışmalar da vardır (15). Kateter ve kan izolatu olan KNS'lerin biyofilm oluşturma özelliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada 3 ile 5 nesil sonrasında KKA üzerinde kolonilerin siyahtan bordo ve pembe renklere doğru değişim gösterdiği ve bu durumun biyofilm oluşumu değerlendirmelerini etkilediği belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda da bu bulguları destekler nitelikte veriler elde edilmiştir. Koloni rengindeki bu değişimin açıklanmasına yönelik iki hipotez öne sürülmektedir. Bunlardan ilki biyofilm oluşumu için *in vivo* ve *in vitro* koşullar arasındaki besin bileşenleri, pH, oksijen radikalleri ve antibiyotikler gibi farklı çevresel koşulların yarattığı pozitif seçici ortam varlığı; ikincisi ise biyofilm oluşumu ile ilişkili olduğu kesin bilinen *icaA* ve *icaD* genlerinin kaybı ya da mutasyona uğramasıdır (22).

KKA besiyerlerine ekim yapılmasında tek koloni pasajı ve damlatma yöntemi olmak üzere iki farklı yöntem uygulanmıştır. Aynı besiyerinde bazen iki farklı plakta oluşan kolonilerin zaman zaman farklı renkte röfleler vermesinden dolayı tek koloni ekiminin değerlendirmesinde zorluk yaşanmıştır. Bu nedenle damlatma ekimi yapılmasının uygun olacağı düşünülmüş, çeşitli yayınlarda da uygulama ve değerlendirim kolaylığı nedeniyle önerildiği görülmüştür (15,23).

Biyofilm oluşumunun gösterilmesinde kullanılan fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması ile ilgili çok çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Çalışmamızda toplam 80 KNS izolatının KKA besiyeri ile 34'ünde (%42,5), mikroplak yöntemi ile de 57'sinde (%71,25) biyofilm oluşumu gösterilmiş ve biyofilm oluşumunu saptama açısından iki yöntem arasında anlamlı fark olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,001$ ). Kitti ve ark. (24) metisilin dirençli 55 KNS izolatında KKA yöntemi (%87,3) ve mikroplak yöntemi (%61,7) ile biyofilm oluşumunu incelemiş ve KKA yöntemi ile daha yüksek oranda biyofilm oluşumu tespit edildiğini göstermiştir. Kırmusaoğlu (25) çalışmasında 121 stafilocokun (%54 *S. epidermidis* ve %46 *Staphylococcus aureus*) biyofilm özelliklerini incelemiş ve KKA ile 48'inde (%40), mikroplak yöntemi ile 62'sinde (%51) biyofilm oluşumu saptamıştır.

Manandhar ve ark. (19) 375 *stafilocokun* [214 (%57) KNS ve 161 (%43) *S. aureus*] biyofilm özelliklerini araştırmış ve izolatların %5,3'ünde ( $n=20$ ) KKA ile, %22,1'inde ( $n=83$ ) mikroplak yöntemi ile biyofilm oluşumunu göstermiştir. Mathur ve ark.'nın (26) 152 KNS izolatının biyofilm özelliklerini tüp metodu, KKA ve mikroplak yöntemlerini kullanarak araştırdıkları çalışmalarında; KKA ile 8'inde (%5,2), mikroplak yöntemi ile 82'sinde (%53,9) biyofilm oluşumu gösterilmiş ve mikroplak yönteminin daha duyarlı olduğu belirtilmiştir. Mikroplak yöntemi ve KKA arasında zayıf bir uyum olduğunu, KKA duyarlılığının az olduğunu gösteren başka çalışmalar da bulunmaktadır (27,28). Kord ve ark. (27) 41 *S. epidermidis* izolatının %53,6'sında tüp ve mikroplak metodu ile, %24,4'ünde KKA yöntemi ile biyofilm oluşumunu göstermiştir. Manandhar ve ark.'da (28) çalışmalarında mikroplak yöntemi (%42,1) ile tüp metodu (%31,8) ve KKA yöntemine (%20,1) göre daha yüksek oranda biyofilm oluşumu saptamıştır. Bizim çalışmamızda da KKA yönteminde mikroplak yöntemine göre daha az oranda biyofilm oluşumu gösterilmiştir.

Çalışmamızda mikroplak yöntemi ile 18'i (%22,5) zayıf, 24'ü (%30) orta, ve 15'i (%18,8) kuvvetli olmak üzere toplam 57 KNS'de biyofilm oluşumu saptanmıştır. Mathur ve ark. (26) modifiye mikroplak yöntemi kullandıkları çalışmalarında biyofilm oluşturmayan/zayıf biyofilm oluşturan 70 (%46,0), orta kuvvette biyofilm oluşturan 60 (%39,4), güçlü biyofilm oluşturan 22 (%14,4) izolat saptamıştır. Hassan ve ark.'nın (20) çalışmalarında kullanılan izolatlar üriner kateter, intravenöz kateter ucu gibi örneklerden elde edilmiş, invaziv araç ilişkili enfeksiyon etkenleridir, orta ve kuvvetli biyofilm oranı yüksektir. Mathur ve ark.'nın (26) çalışmalarında kullandıkları stafilocoklar kandan, enfekte araç ve deri yüzeylerinden elde edilmiştir ve biyofilm oluşum oranı yüksektir. Çalışmamızda da değerlendirilen izolatlar arasında KİKDE etkeni izolatlar olması nedeniyle, orta ve kuvvetli biyofilm oluşturma oranı yüksek olarak saptanmıştır ( $p < 0,001$ ).

KKA besiyerininin duyarlılık, özgüllük, PPD, NPD değerlendirildiği çalışmalarda; Manandhar ve ark. (19) sırasıyla bu değerleri %14, %88,2, %26,1, %77,5; Kırmusaoğlu (25) %77, %100, %100, %81; Hassan ve ark. (20) %11, %92, %73, %37 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise duyarlılık, özgüllük, PPD, NPD sırasıyla, %59,6, %100, %100 ve %50 olarak bulunmuştur. Modifiye KKA besiyerlerinde KKA besiyerine oranla elde edilen değerlerde çok farklılık görülmemiş, besiyerine yapılan ilavelerin duyarlılık ve özgüllüğü artırmadığı saptanmıştır. Gerek KKA gerekse modifiye KKA besiyerlerine ekim yöntemine göre her ne kadar uygulama zorluğu içerse de, bireysel olmayan, görsel koloni morfolojisinden etkilenmeyen, kantitatif sonuç vermesi açısından değerli olan mikroplak yönteminin biyofilm oluşumunu değerlendirmek açısından kullanımının daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Mathur ve ark. (26) biyofilm oluşumu için kullandıkları tüp metodunda besiyerine çeşitli şeker (glukoz ve sukroz) takviyeleri eklendiğinde biyofilm pozitif izolat sayısında artış olduğunu belirtmişlerdir. Mikroplak yönteminde de %1 glukoz ve/veya %2 sukroz eklenmesinin biyofilm oluşumunu %18'den %34'e kadar artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (19,27,29). *S. epidermidis* izolatlarının biyofilm özelliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada en iyi sonucun daha yüksek NaCl (%4 ve %5) ve glukoz konsantrasyonlarında (%1,5 ve %2) alındığı belirtilmiştir (30). Kaiser ve ark. (15) çalışmalarında %1,5 NaCl eklenmesi sonucunda *S. epidermidis* ATCC 35984'ün boyanma yoğunluğunda artış olduğunu, %2'nin üzerindeki NaCl konsantrasyonlarının eklenmesinin ise biyofilm oluşumu üzerinde hiçbir etkiye sahip olmadığını göstermiştir (15). Çalışmamızda KKA besiyerinde biyofilm oluşturmayan iki izolat [*S. hominis* ve *S. epidermidis* (KDE etkenleri)] KKA besiyerine glukoz ve NaCl eklendiğinde (KKA G ve KKA GN besiyerlerinde) biyofilm oluşturmuştur. KKA'da biyofilm oluşturan iki kateter kolonizanı *S. epidermidis* izolatı ise fazla glukoz ve NaCl varlığında biyofilm oluşturmamıştır. Bir çalışmada *S. epidermidis* izolatlarının faz varyasyonuna gidebildiği ve biyofilm oluşturan bir koloninin pasajından sonra EPS üretiminin kaybına bağlı olarak biyofilm oluşturmadığı gözlenmiştir (31). Çalışmamızda glukoz ve NaCl içeren KKA besiyerlerinde biyofilm oluşmaması, pasajlardan sonra EPS üretiminde kayıp olabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda KKA GNV besiyerinde 32 (%40) KNS'de biyofilm oluşumu gösterilmiştir, iki *S. epidermidis* (kateter kolonizanı), iki *S. hominis* (KİKDE etkeni) diğer besiyerlerinde biyofilm oluştururken KKA GNV besiyerinde ürememiştir. Bu durum KNS'lerde vankomisin MİK değerlerinin çok yüksek olmaması nedeniyle besiyerine eklenen dozdaki vankomisinde üreme olmayabileceğinin düşündürmüştür (23). Biyofilm formasyonuna eklenen vankomisinin inhibitör etkisini gösteren çalışmalar ile birlikte, subinhibitör düzeylerde biyofilm oluşumunu indüklediğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (15,30,32,33). Bu gözlemler, stafilocok türlerinde biyofilm oluşumunun çeşitli çevresel koşullardan ve besiyeri içeriğinden etkilendiğini göstermektedir.

Çalışmamızda KİKDE etkenlerinin mikroplakta biyofilm oluşturma oranlarının, diğer izole edilen yerlere göre daha yüksek bulunması istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Çeşitli çalışmalarda da araç ilişkili enfeksiyonlardan izole edile etkenlerin biyofilm oluşturma oranları yüksek olarak bulunmuştur (34,35). Jain ve Agarwal (34) 100 invaziv izolatın 74'ünde (%74), kolonizanların 34'ünde (%68), kommensal izolatların 16'sında (%32) biyofilm oluşumu saptamışlardır. İzolatların biyofilm oluşturma kapasiteleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Cafiso ve ark. (35) da kateter ilişkili enfeksiyonlardan izole ettikleri KNS'lerin KKA yöntemi ile %83 gibi yüksek bir oranda biyofilm oluşturduğunu göstermiştir.

## Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamıza kateter kolonizanı, KDE ve KİKDE etkeni tanımları net olarak belirlenmiştir ve sadece etken olarak değerlendirilen stafilocok çalışmamıza dahil edilmiştir. Dolayısıyla, stafilocok sayısının azlığı çalışmamızın kısıtlılığıdır.

## Sonuç

Stafilocoklarda biyofilm oluşumunu saptamada KKA ve modifiye formlarının duyarlılıklarının düşük saptanması nedeniyle, biyofilm oluşumunun değerlendirilmesi için mikroplak yönteminin seçilmesi daha uygun olacaktır. Bu çalışmanın sınırlaması az sayıda KDE ve KİKDE etkeni stafilocok içermesidir. Daha çok sayıda izolat içeren, biyofilm oluşumunda rol alan genlerin moleküler yöntemler ile de araştırıldığı çalışmaların gerekli olduğunu düşünmekteyiz.

## Etik

**Etik Kurul Onayı:** Çalışma için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar ve Etik Kurulu'ndan onay (karar no: 03-98-13) alınmıştır.

**Hasta Onayı:** Sağlıklı gönüllülerden "bilgilendirilmiş gönüllü olur formu" alınmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunun dışından olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

## Yazarlık Katkıları

Bakteri İzolatlarının Toplanması: D.Ö., Konsept: D.Ö., A.T., İ.D., Dizayn: D.Ö., A.T., İ.D., Veri Toplama veya İşleme: D.Ö., A.T., İ.D., Analiz veya Yorumlama: D.Ö., A.T., İ.D., Literatür Arama: D.Ö., Yazan: D.Ö., A.T., İ.D.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

## Kaynaklar

- Bannerman TL, Peacock SJ *Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci*. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, and Pfaller MA (Eds.), Manual of clinical microbiology 9th ed. Vol. 1. ASM Press. Washington, DC.; 2007. s.390-411.
- Götz F. *Staphylococcus* and biofilms. Mol Microbiol. 2002;43(6):1367-1378.
- Halton KA, Cook DA, Whitby M, et al. Cost effectiveness of antimicrobial catheters in the intensive care unit: Addressing uncertainty in the decision. Crit Care. 2009;13:R35.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. Science. 1999;284:5427-5433.
- Watnick P, Kolter R. Biyofilm city of microbes. Minireview. J Bacteriol 2000; 182:2675-2679.
- Christeen GD, Simpson WA, Bisno AL, et al. Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. Infect Immun. 1982; 37:318-326.

7. Christeen GD, Simpson WA, Younger JJ, et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol.* 1985;22:996-1006.
8. Vasudevan P, Nair MK, Annamalai T, et al. Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. *Vet Microbiol.* 2003;92:179-85.
9. Seo YS, Lee DY, Rayamahji N, et al. Biofilm-forming associated genotypic and phenotypic characteristic of *Staphylococcus* spp. isolated from animals and air. *Res Vet Sci.* 2008;85:433-438.
10. Montanaro L, Campoccia D, Pirini V. Antibiotic multiresistance strictly associated with IS256 and *ica* genes in *Staphylococcus epidermidis* strains from implant orthopedic infections. *J Biomed Mater Res A.* 2007;83:813-818.
11. Temel A, Eraç B. Bakteriyel biyofilmler: Saptama yöntemleri ve antibiyotik direncindeki rolü. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2018;48:1-13.
12. Idrees M, Sawant S, Karodia N, Rahman A. *Staphylococcus aureus* biofilm: Morphology, genetics, pathogenesis and treatment strategies. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18:7602.
13. Zmantar T, Kouidhi B, Miladi H, et al. A microtiter plate assay for *Staphylococcus aureus* biofilm quantification at various pH levels and hydrogen peroxide supplementation. *New Microbiol.* 2010;33:137-145.
14. Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol.* 1989;42:872-874
15. Kaiser TD, Pereira EM, Dos santos KR, et al. Modification of the Congo red agar method to detect biofilm production by *Staphylococcus epidermidis*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;75:235-239.
16. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8:623-633.
17. Fleming D, Rumbaugh KP. Approaches to dispersing medical biofilms *Microorganisms.* 2017;5:15.
18. Molnar C, Hevessy Z, Rozgonyi F, et al. Pathogenicity and virulence of coagulase negative staphylococci in relation to adherence, hydrophobicity, and toxin production in vitro. *J Clin Pathol.* 1994;47:743-748.
19. Manandhar S, Singh A, Varma A, et al. Evaluation of methods to detect in vitro biofilm formation by staphylococcal clinical isolates. *BMC Res Notes.* 2018;11:714.
20. Hassan A, Usman J, Kaleem F, et al. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Braz J Infect Dis.* 2011;15:305-311.
21. Shrestha LB, Bhattarai NR, Khanal B. Antibiotic resistance and biofilm formation among coagulase-negative staphylococci isolated from clinical samples at a tertiary care hospital of eastern Nepal. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2017;6:89.
22. Zhou S, Chao X, Fei M, et al. Analysis of *S.epidermidis icaA* and *icaD* genes by polymerase chain reaction and slime production: A case control study, *BMC Infections Diseases.* 2013;13:242.
23. Öcal DN, Dolapçı İ, Karahan ZC, Tekeli A. Stafilocok izolatlarının biyofilm oluşturma özelliklerinin araştırılması. *Mikrobiyol Bul.* 2017;51:10-19.
24. Kitti T, Seng R, Thummeepak R, et al. Biofilm formation of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci isolated from clinical samples in Northern Thailand. *J Glob Infect Dis.* 2019;11:112-117.
25. Kırmusaoglu S. *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus* antibiyotik direncine sebep olan biyofilm oluşumunun belirlenmesi için kullanılan metotların kıyaslanması. *Ortadoğu Tıp Dergisi.* 2017;9:28-33.
26. Mathur T, Singhal S, Khan S, et al. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: An evaluation of three different screening methods. *Indian J. Med. Microbiol.* 2006;24:25-29.
27. Kord M, Ardebili A, Jamalan M, et al. Evaluation of biofilm formation and presence of *ica* genes in *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates. *Osong Public Health Res Perspect.* 2018;9:160-166.
28. Manandhar S, Singh A, Varma A, et al. Phenotypic and genotypic characterization of biofilm producing clinical coagulase negative staphylococci from Nepal and their antibiotic susceptibility pattern. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2021;20:41.
29. Terki IK, Hassaine H, Oufrid S, et al. Detection of *icaA* and *icaD* genes and biofilm formation in *Staphylococcus* spp. isolated from urinary catheters at the University Hospital of Tlemcen (Algeria) *African Journal of Microbiology Research.* 2013;7:5350-5357.
30. Rachid S, Ohlsen K, Witte W, et al. Effect of subinhibitory antibiotic concentrations on polysaccharide intercellular adhesin expression in biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:3357-3363.
31. Ziebuhr W, Krimmer V, Rachid S, et al. A novel mechanism of phase variation of virulence in *Staphylococcus epidermidis*: Evidence for control of the polysaccharide intercellular adhesion synthesis by alternating insertion and excision of the insertion sequence element IS256. *Mol Microbiol.* 1999;32:345-356.
32. Mönzon M, Oteiza C, Leiva J, et al. Biofilm testing of *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates: Low performance of vancomycin in relation to others antibiotics. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2002;44:319-324.
33. Cargill JS, Upton M. Low concentrations of vancomycin stimulates biofilm formation in some clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis*. *J Clin Pathol.* 2009;62:1112-1116.
34. Jain A, Agarwal A. Biofilm production, a marker of pathogenic potential of colonizing and commensal staphylococci. *J Microbiol Methods.* 2009;76:88-92.
35. Cafiso V, Bertuccio T, Santagati M, et al. Presence of the *ica* operon in clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* and its role in biofilm production. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10:1081-1088.

# Modifiye Ketojenik Diyet Uygulayan Glioblastomalı Hastaların Kan Parametrelerinin Retrospektif Olarak İncelenmesi

## The Effects of Modified Ketogenic Diet on Blood Parameters of Patients with Glioblastoma: A Retrospective Study

© Serhat Dinç<sup>1</sup>, © Osman Nuri Kılıç<sup>1</sup>, © Ezgisu Kırap<sup>1</sup>, © İpek Mavcioğlu<sup>1</sup>, © Nuri Saraç<sup>1</sup>, © Sinan Sefer<sup>1</sup>, © Malhun Azra Şenyuva<sup>1</sup>, © Eyyub SM Al-Beyati<sup>2</sup>, © Özlem Doğan<sup>3</sup>, © Serhat Hayme<sup>4</sup>, © Hasan Çağlar Uğur<sup>2</sup>, © Aslıhan Gürbüz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dönem 3, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>4</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Glioblastoma multiforme (GBM) bütün beyin tümörleri içinde sık rastlanan primer malign beyin tümörlerindedir. Çoğu tümörde gözlemediği üzere GBM'de de Warburg etkisi vardır. GBM tedavisinde kemoterapi, radyoterapi, cerrahi gibi yaklaşımlarda bulunmaktadır. Ne yazık ki bu tedavi seçenekleri beklenildiği derecede etkili olmamaktadır. Bu sebeple GBM tedavisi için yeni arayışlar içerisine girilmiştir. Modifiye ketojenik diyet (MKD) (düşük glisemik indeksli diyet) de bu yeni yaklaşımlardan biridir. Bu diyetteki temel amaç yağ tüketiminin artırılması, karbonhidrat alımının azaltılmasıdır. Bu sayede standart kemoterapi ve radyoterapinin yanında Warburg etkisinin ara basamaklarına da etki edilerek, kanser gelişiminin yavaşlatılması veya durdurulması amaçlanmaktadır.

**Gereç ve Yöntem:** Ankara Üniversitesi İbn-i Sina Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda takip edilen GBM hastalarının kendi istekleri ile uyguladıkları MKD'nin genel sağlık durumlarına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bunun için rutin kan parametreleri retrospektif olarak izlenmiştir. Literatürde her ne kadar ılımlı rejeneratif etkisi olduğu belirtilse de özellikle karaciğer ve böbrek fonksiyon testleriyle kan elektrolitlerinin diyet sırasında değişime uğrayıp uğramadığı merak edilen bir konudur. Projede, kendi istekleri ile MKD uygulayan tedavi altındaki GBM'li hastalarda bu diyetin rutin kan parametrelerine (Hb, Htc, MCH, MCV, PLT, WBC, RBC, Na, K, ALT, AST, GGT, B12 vitamini, folat, kreatinin, BUN, total kolesterol, HDL ve LDL) etkisi incelenmiştir. Veriler Microsoft Office Excel programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Wilcoxon ikili karşılaştırma testiyle hastaların verileri 0., 1. ve 6. aylar olmak üzere karşılaştırılmıştır. Çalışma için etik kurul onayı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mezuniyet Öncesi Öğrenci Araştırmaları Etik Değerlendirme Kurulu'ndan alınmıştır. Çalışma retrospektif veri analizi olarak düzenlendiğinden ve herhangi bir girişim içermediğinden hastalardan onam alınmamıştır.

**Bulgular:** Sodyum değerlerinde klinik olarak anlamlı olmayan düşüş saptanmıştır. Başlangıçta yüksek olan GGT değerinin normale gelmesi pozitif bir sonuçtur. Folik asidin ilk ay yükselmesi hasta için olumlu yorumlanmıştır. Total kolesterol ve LDL'deki ilk ayda olan yükselme yağlı beslenmeden dolaydır.

**Sonuç:** Modifiye ketojenik beslenme GBM hastalarının karaciğer, böbrek fonksiyonlarında ve kan parametrelerinde olumsuz etki oluşturmamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Modifiye Ketojenik Diyet (Düşük Glisemik İndeks), Warburg Etkisi, Glioblastoma Multiforme, Kan Parametreleri

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Aslıhan Gürbüz

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Tel.: +90 541 661 96 40 E-posta: aslihanavci@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-5089-3965

Geliş Tarihi/Received: 04.05.2020 Kabul Tarihi/Accepted: 20.09.2021

©Telif Hakkı 2022 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



## Abstract

**Objectives:** Glioblastoma multiforme (GBM) is the most common primary malignant brain tumor among all brain tumors. As observed in most tumors, Warburg effect is also seen in GBM. Approaches such as chemotherapy, radiotherapy and surgery are used in the treatment of GBM. Unfortunately, these treatment options are not as effective as expected. For this reason, new searches for GBM treatment are being sought. Modified ketogenic diet (MKD) (low glycemic index diet) is one of these novel approaches. The primary purpose of this diet is to increase fat consumption and reduce carbohydrate intake. In this way, in addition to standard chemotherapy and radiotherapy, it is intended to hinder or cease the development of cancer by affecting the intermediate steps of the Warburg effect.

**Materials and Methods:** It was aimed to evaluate the effects of MKD on the general health status of GBM patients who were on this diet voluntarily and were followed in the Clinic of Neurosurgery of İbn-i Sina Hospital, Ankara University. For this, their blood parameters were retrospectively analyzed. Although it is reported to be moderate and regenerative in the literature, it is a question of whether especially liver & kidney functions and blood electrolytes undergo any changes during diet. In this retrospective study, the effect of MKD on routine blood parameters (Hb, Htc, MCH, MCV, PLT, WBC, RBC, Na, K, ALT, AST, GGT, vitamin B12, folate, creatinine, BUN, total cholesterol, HDL and LDL) was investigated in patients with GBM under treatment, who voluntarily followed MKD. Data were analyzed using Microsoft Office Excel. The Wilcoxon paired comparison test was used to compare patient data in 0., 1. and 6. months. Ethics committee approval and institutional permission were obtained for the study. The patients' written consent could not be taken due to the retrospective design of the study and the anonymity of data.

**Results:** A clinically insignificant decrease in sodium levels were detected. Normalization of the initially high GGT values was considered as a favorable outcome. Folic acid elevation in the first month was interpreted positively for the patient. The increase in total cholesterol and LDL in the first month was expected because of the high fat content of the diet.

**Conclusion:** Modified ketogenic nutrition did not have a negative effect on liver, kidney functions and blood parameters in patients with GBM.

**Key Words:** Modified Ketogenic Diet (Low Glycemic Index), Warburg Effect, Glioblastoma Multiforme, Blood Parameters

## Giriş

Ankara Üniversitesi İbn-i Sina Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda takip edilen glioblastoma multiforme (GBM) hastalarının kendi istekleri ile uyguladıkları modifiye ketojenik diyetin (MKD) genel sağlık durumlarına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bunun için rutin kan parametreleri [Hb, Htc, MCH, MCV, PLT, WBC, RBC, Na, K, AST, ALT, gama-glutamilttransferaz (GGT), B12, kreatinin, folat, BUN, total kolesterol, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)] retrospektif olarak izlenmiştir.

GBM sık görülen ve en kötü prognozlu primer beyin tümörüdür. Amerika'da yapılan bir çalışmada GBM'nin 5 yıllık sağkalım oranı %5 bulunmuştur. Bu tümör yaklaşık 100.000'de 3,2 kişide görülür. GBM bütün primer beyin tümörlerinin yaklaşık olarak %20-30'unu oluşturmaktadır. Genellikle 40-60 yaş arasında ve erkeklerde kadınlara oranla biraz daha fazla görülmektedir (1,2).

Bilgisayarlı tomografi ve/veya manyetik rezonans görüntüleme ile tümörün yeri, büyüklüğü ve tipi saptanır. Tanının kesinleşmesi biyopsi ile mümkündür (1).

Rutinde glioblastoma tedavisinde radyoterapi, kemoterapi ve cerrahinin farklı kombinasyonları kullanılır (2). Bu kombinasyonların kullanılmasındaki amaç uzun dönem tümör kontrolünü sağlamaktır. Ayrıca immünoterapi, toksin kullanımı, anti-anjiyogenez tedavisi, gen tedavisi, aşı gibi uygulamalar da denenmektedir. Fakat hala önemli bir ilerleme kaydedilememiştir. Bu sebeple hastalar MKD gibi tedavilerine destek olacak uygulamalara yönelmişlerdir.

Ketojenik diyet; yeterli protein, az oranda karbonhidrat ve yüksek oranda yağ içerikli bir diyettir. Bizim takip edeceğimiz glioblastomalı hasta grubunda uygulanan diyet ise probiyotik eklenmiş MKD'dir. Probiyotik eklenmiş diyet değişikliklerinin barsak mikrobiyotasının dağılımını ve fonksiyonunu etkilediği bilinmektedir. Sağlıklı mikrobiyotanın kanseri önlemek veya tümör büyümesini sınırlandırmak için antitümör cevabını kontrol ettiği düşünülmektedir (3).

1920'lerde Otto Warburg, kanser hücrelerinin normal hücrelerden daha fazla glikoz aldığını ve bunu glikoliz yoluyla laktik aside dönüştürdüğünü gözlemiştir (4,5). Kanser hücrelerinin bu özelliği Warburg etkisi veya aerobik glikoliz olarak adlandırılmıştır. Oksidatif fosforilasyon ATP üretimi bakımından aerobik glikolizden daha verimlidir. Buna rağmen glikolizin tümör hücreleri tarafından tercih edilmesinin sebebinin açığa çıkan metabolitlerden faydalanılması olduğu düşünülmektedir. Kanser hücreleri normal hücrelerden daha fazla glikoza ihtiyaç duyduğundan, kandaki glikozu artıran karbonhidrat alımındaki bir azalmanın kanseri önlemeye veya tedavi etmeye yardımcı olabileceği varsayılabilir. Bu sebeple düşük karbonhidrat içeren ketojenik diyetin prognozu olumlu etkileyeceği öngörülmektedir. Ancak bu yüksek lipid içeren diyetin hastaların genel durumuna ve özellikle karaciğer metabolizmasına etkisi tartışma konusudur. Hastaların rutin kan parametrelerinin takibi bu sebeple önemlidir.

## Gereç ve Yöntem

Projede, kendi istekleri ile MKD uygulayan tedavi altındaki GBM'li 20 hastada bu diyetin rutin kan parametrelerine

(Hb, Htc, MCH, MCV, PLT, WBC, RBC, Na, K, ALT, AST, GGT, B12 vitamini, folat, kreatinin, BUN, total kolesterol, HDL ve LDL) etkisi incelenmiştir. Kanlar 10 saatlik açlık periyodunun ardından sabah saat 09:00-10:00 arasında alınmıştır. Çalışma retrospektif tipte olup, çalışmada Ankara Üniversitesi İbn-i Sina Hastanesi'nde Kasım 2016 - Kasım 2018 arasında diyetleri takip edilen 9 erkek, 11 kadın; evre 4 glioma hastasının diyetten önce ve 6 aylık diyet uygulaması sonrası alınan kan örneklerinin rutin parametreleri pre-post şeklinde karşılaştırılmıştır. Verilerin analizinde SPSS for Windows 15 paket programı kullanılmıştır. Hastaların takibinde kullanılan rutin parametreler Wilcoxon testiyle 0., 1. ve 6. aylar olmak üzere ikili ikili (0. - 1. ay, 0. - 6. ay, 1. - 6. ay) karşılaştırılmıştır ve Friedman testiyle verilerin aylara göre trendi incelenmiştir. Veriler Microsoft Office Excel programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışma için etik kurul onayı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mezuniyet Öncesi Öğrenci Araştırmaları Etik Değerlendirme Kurulu'ndan alınmıştır (tarih: 25.12.2018, karar no: 9559). Çalışma retrospektif veri analizi olarak düzenlendiğinden ve herhangi bir girişim içermediğinden hastalardan onam alınmamıştır.

## Bulgular

Wilcoxon testi ile yapılan ikili karşılaştırmaların sonucu 5 testte anlamlı fark bulunmuştur. Bunlar:

- Na 0. ay (med. 142) ve 1. ay (med. 139,5) arasında azalmıştır ( $p=0,043$ ).
- GGT 0. ay (med. 65) ve 6. ay (med. 23) arasında azalmıştır ( $p=0,042$ ).
- Folik asit 0. ay (med. 6,73) ve 1. ay (med. 11,32) arası artmıştır ( $p=0,013$ ).
- Total kolesterol 0. ay (med. 209) ve 1. ay (med. 228) arası artmıştır ( $p=0,033$ ).
- LDL 0. ay (med. 115) ve 1. ay (med. 157) arası artmıştır ( $p=0,019$ ).

Wilcoxon testiyle anlamlı fark bulunan 5 değerinin zaman ile değişimini (trendini) değerlendirmek amacıyla Friedman testi uygulanmıştır ve hiçbir değerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ) (Şekil 1-5).

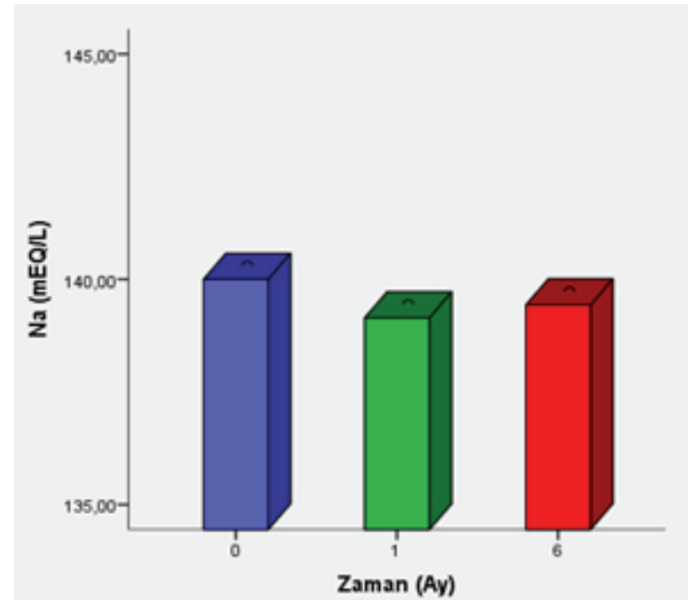
## Tartışma

Kanser hücre metabolizmasında yaygın gözlenen fenomen artmış glikoz alımı ve glikozun laktata kadar parçalanmasıdır. Bu fenomen düzgün çalışan mitokondri varlığında bile gözlenmektedir. Bunu Warburg ve ark. (6) gözlemlemiştir ve bu fenomene Warburg etkisi adı verilmiştir (7).

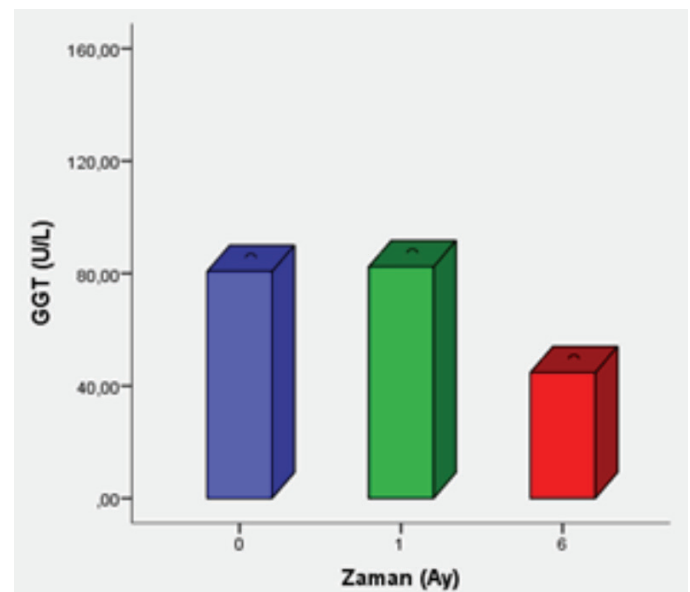
Yapılan çalışmalar onkogen ve tümör supressör genlerin kanserli hücrelerde oluşan yüksek enerji ihtiyacını karşılamaya

yönelik metabolizmayı değiştirmede rolleri olduğunu göstermiştir. Bu metabolizma değişiminde rol alan önemli metabolik enzimler piruvat kinaz, heksokinaz ve laktat dehidrojenazdır. Bu enzimlerin farklı izoformlarının kanser hücrelerinde normal hücrelere göre daha fazla eksprese olduğu gözlenmiştir (8).

Başka bir çalışmada; retrospektif verilere göre düşük kan glikozu seviyesinin GBM tedavi sürecindeki hastaların klinik sonuçları üzerinde iyileştirici etkisi olabileceği düşünülmektedir (9). Pek çok hasta GBM tedavi sürecinde kan glikozu seviyesini



Şekil 1: Na düzeyinin zamana göre değişiminde anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p=0,756$ )



Şekil 2: GGT düzeyinin zamana göre değişiminde anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p=0,483$ )

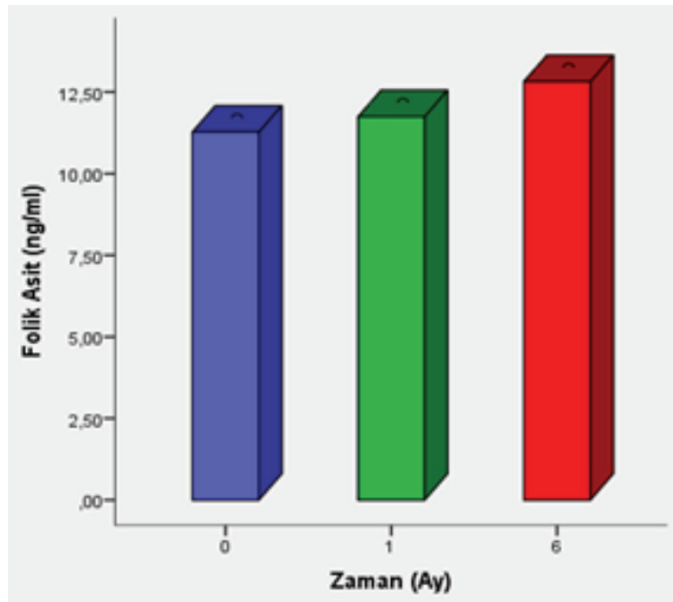
GGT: Gama-glutamilttransferaz



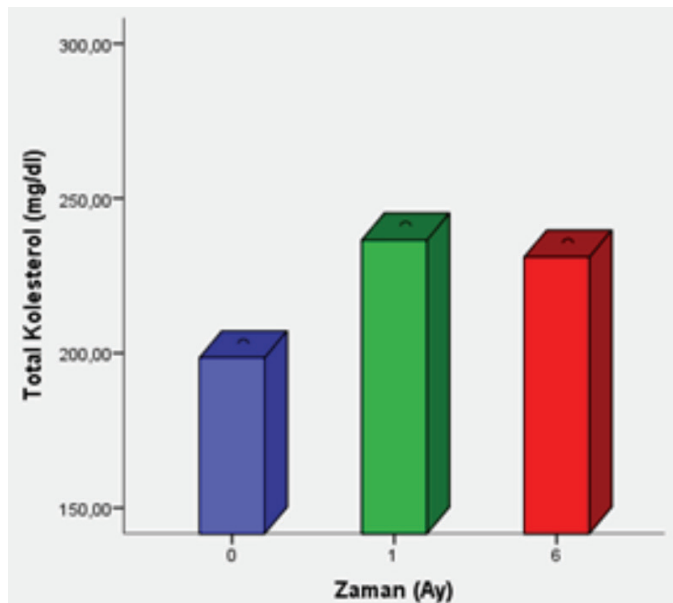
düşürüp keton seviyesini artırmak için ketojenik diyeti günlük yaşamlarına entegre etmektedir (9).

Yapılan bir çalışmada hastaların diyeti ne kadar tolere edebildiği incelenmiştir. Diyete tolerans vücut kitle indeksi takibiyle yapılmıştır. Tüm hastalar vücut kitle indeksinde düşme yaşamıştır. Bununla beraber fiziksel hareketlilik, ruhsal durum ve kognitif fonksiyonlarda artma deneyimlemiştir (10).

Ketojenik diyet uygulayan 6 hastanın ortalama kan glikozlarının 122 mg/dL'den 84 mg/dL'ye düştüğü görülmüştür. Üstelik bu hastalara steroid tedavisi de uygulanmıştır. Ketojenik diyeti uygulayan 6 hastanın hiçbirinde grade 2'den yüksek



Şekil 3: Folik asit düzeyinin zamana göre değişiminde anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0,913)



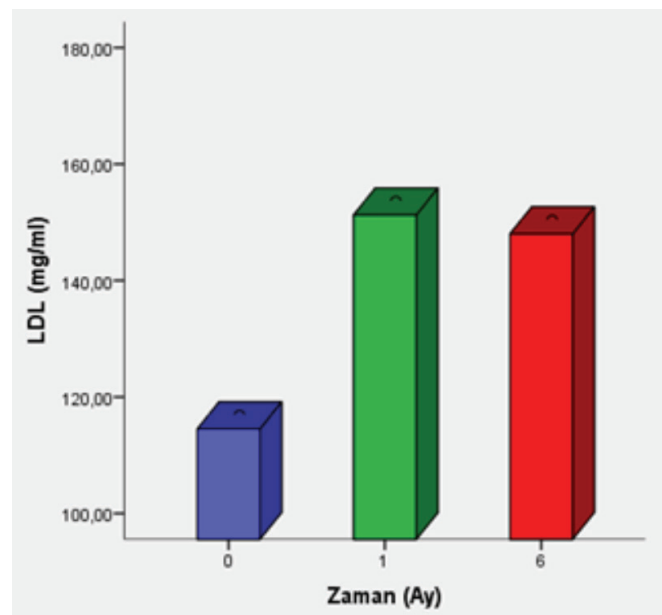
Şekil 4: Total kolesterol düzeyinin zamana göre değişiminde anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0,247)

toksiste görülmemiştir. Dört hasta evre 1 yorgunluk, bir hasta evre 2 yorgunluk deneyimlemiştir. Serum glikoz seviyelerinin tüm hastalarda fizyolojik aralıklarda kaldığı tespit edilmiştir. Bu hastalar 14 ay takip edilmiş ve dört hastanın yaşamına devam ettiği gözlenmiştir. Bu çalışma GBM tedavisi gören hasta serilerinde uygulanan ilk çalışma olarak literatürde yer almaktadır ve sonuçlardan bazıları şöyle özetlenebilir (9):

1. Diyet tolere edilmiş ve hiçbir hastada evre 3 toksite görülmemiştir.
2. Evre 1 konstipasyon ve yorgunluk görülmüştür. Fakat yorgunluğun diyet kaynaklı değil, yapılan radyoterapi kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.
3. Bir hasta enerjisi kısıtlanmış ketojenik diyet uygulamış ve kilo kaybetmiştir.
4. Ortalama kan glikozu 122 mg/dL'den 84 mg/dL'ye düşmüştür.

Bu retrospektif çalışmaya dayanarak 6 hastada radyoterapi ve temozolomid tedavisi süresince uygulanan ketojenik diyetin güvenli olduğunu ve tolere edilebileceğini söyleyebilirsek de hasta sayısının daha fazla olduğu çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır (9).

Malign beyin tümörlü farelere, KetoCal (epileptik pediatri hastaları için düzenlenmiş ketojenik diyet) uygulanan bir çalışmada CT-2A adlı fare tümörü ve U-87 adlı insan beyni tümörü incelenmiştir. Bu çalışmada KetoCal diyetinin, enerji kısıtlı uygulandığı zaman, antitümör ve antianjiyogenik etkilerinin olduğu, güvenli olduğu ve malign beyin kanserlerinde alternatif bir tedavi seçeneği olabileceği belirtilmiştir (11).



Şekil 5: LDL düzeyinin zamana göre değişiminde anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0,247)

LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein

Farelerde yapılan bir çalışmada, glioma modelinde ketojenik diyetin ortalama yaşam süresine bir etkisi olmadığı ancak bevacizumab tedavisi alan farelerde bu süreyi 52 günden 58 güne ( $p<0,05$ ) çıkardığı görülmüştür. Bu çalışmada tekrarlayan glioblastomalı hastalarda ketojenik diyetin uygulanabilir ve güvenli olduğu; ancak tek başına kullanıldığında önemli bir klinik etkisinin olmadığı belirtilmiştir (12).

Enerji kısıtlı ketojenik diyet yapan gliomalı hastaların sağlık durumlarının izlendiği çalışmalar sonucu ketojenik diyetin majör yan etkilerinin bulunmadığı ve glioblastomanın progresyonunu kontrol etmede etkili olabileceği tespit edilmiştir (11,13).

Beyin tümörlerinin metabolik esneklikten yoksun oldukları ve enerji üretimlerini büyük oranda glikolize dayadıkları bilinmektedir (14-17). Yapılan bir hayvan deneyinde kalori kısıtlanmamış standart diyet (UR-SD), kalori kısıtlanmamış ketojenik diyet (KD-UR), %40 kontrol standart diyet, %40 kalori kısıtlanmamış standart diyet uygulanan farelerin beyin tümörlerinde; tümör implantasyonundan 13 gün sonra KD-UR, UR-SD gruplarında tümör büyümeleri hızlı bir şekilde devam ederken, kalori kısıtlı ketojenik diyet ve kısıtlanmamış standart diyet uygulanan deneklerin tümörlerinde önemli bir düşüş olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar kan glikozunun kaynağından (standart diyet ya da ketojenik diyet) ziyade miktarının önemli olduğunu belirtir. Keton cisimlerinin ayrıca normal beyin hücrelerine enerji kaynağı olmasının yanında enflamatuvar aktiviteyi yatıştırdığı gösterilmiştir (16,17). Diyetinde %40 kalori kısıtlaması uygulanan farelerin sağlıklı olduğu hatta fiziksel olarak daha aktif oldukları gözlemlenmiştir (17).

Günümüzde glioma biyolojisini daha iyi anlıyor olmamız bizi prelinik ve klinik araştırmalara yönlendirmektedir. Fakat tümördeki heterojen hücre yapısı; hedeflenen parametrenin ne olduğunun bilinmesini engellemekte ve tedavinin etkinliğini azaltmaktadır. Halbuki tüm tümörlerde ortak olarak gözlemlediğimiz bir özellik vardır: değiştirilmiş (disregüle edilmiş) metabolizma. Aslında metabolizma; kanser araştırmalarında son birkaç yıldır önemli bir konu. Yapılan çalışmalarda pek çok metabolik yolun tümör büyümesini etkilediği gösterilmiştir. Ketojenik diyet, kalori kısıtlaması ve perhiz uygulaması; kan glikoz seviyesini azaltıp keton seviyesini artırmada kullanılabilecek yöntemlerin başında gelir. Bu metabolik değişikliklerin deneklerin hayatta kalım süresini uzattığı ek olarak kemoterapi ve radyoterapinin anti-tümör etkisini potansiye ettiği gösterilmiştir. Bugün kanser metabolizmasının sadece glikoz seviyesine bağlı olmadığı, ayrıca mitokondri metabolizmasının değiştiği ve reaktif oksijen türleri (ROS) aktivitesi modülasyonu yapıldığı bilinmektedir. ROS moleküllerinin anjiyogenezi artırdığı ve peritümöral ödeme sebep olduğu gözlemlenmiştir. Hipoksi, hipoksiyle indüklenen faktör-1 seviyesini regüle ederek glikoz alımını ve bununla ilişkili

genlerin ekspresyonunu ayarlar (18,19). Keton cisimlerinin hipoksi ve ROS seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir. Ketojenik diyet, kalori kısıtlaması, aralıklı perhiz ve diğer metabolik terapilerin etkisi tam olarak anlaşılammış olsa da; elde edilen hayvan deneyi verileri metabolik değişimin malign beyin kanserlerinin tedavisinde etkili olabileceğini düşündürmektedir (19). Wilcoxon testiyle istatistiksel olarak anlamlı bulduğumuz sonuçlardan (Tablo 1);

1. Na'daki düşüş istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen klinik açıdan anlamsızdır.
2. Rutin tedavide kemoterapi sebebiyle GGT artışı beklenir. Buna rağmen GGT seviyesinin 0. ve 6. aylar arasında istatistiksel olarak anlamlı azalışı uygulanan diyetin karaciğer metabolizması üzerine olumsuz bir etkisi olmadığı şeklinde yorumlanmıştır.
3. Folik asitin ilk ay istatistiksel olarak anlamlı yükselmesi hastalar için olumlu yorumlanmıştır.
4. Ketojenik diyetteki yüksek yağ oranı nedeniyle LDL ve toplam kolesterolün 0. ve 1. ayları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme saptanmıştır fakat Friedman testi ile yaptığımız trend incelemesinde istatistiksel olarak anlamlı bir sonuca ulaşılammıştır.
5. Diğer yapılan test sonuçlarının istatistiksel anlamı olmaması modifiye edilmiş ketojenik diyetin kan parametrelerine olumsuz etkisi olmadığı şeklinde yorumlanmıştır.

**Tablo 1: 0., 1. ve 6. aylardaki kan parametrelerinin medyan değerleri**

Kan Parametreleri	0. ay	1. ay	6. ay
Hb (g/dL)	14,36	14,19	14,62
HTC (%)	42,3	41,7	42,7
MCH (pg/hücre)	28,8	28,9	30,62
MCV (fL)	87,9	86,9	88,4
PLT ( $\times 10^9/L$ )	264,5	253	241
WBC ( $\times 10^9/L$ )	7,16	5,9	5,83
RBC ( $\times 10^{12}/L$ )	7,78	4,99	4,63
Glukoz (mg/dL)	87	89	87
GGT (U/L)	65	27	23
B12 (pg/mL)	239	356	376
Folik asit (ng/mL)	6,73	11,32	14,91
Kreatinin (mg/dL)	0,73	0,8	0,8
BUN (mg/dL)	13	14	15
Kolesterol (mg/dL)	209	228	216
HDL (mg/dL)	57	59,5	59
LDL (mg/dL)	115	157	139

Hb: Hemoglobin, HTC: Hemotokrit, MCH: Ortalama eritrosit hemoglobin, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, PLT: Trombosit, WBC: Lökosit, RBC: Eritrosit, GGT: Gama-glutamilttransferaz, BUN: Kan üre azotu, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein

### Çalışmanın Kısıtlılıkları

1. Çalışmamız glioblastomlu olgularda bu ölçekte yapılmış ilk çalışma olmasının yanı sıra olgu sayısının 20'de kalması,
  2. Her ne kadar hastalara 24 saat telefonla ulaşılabılır olmamıza rağmen, onları 24 saat gözlemleyememiş olmamız,
  3. Hastaların farklı şehirlerde olup beslenme alışkanlıklarının birbiriyle tam olarak aynı olmaması,
- şeklinde sıralanabilir. Ancak 200 hastaya ulaşma hedefimiz bu eksiklikleri giderecektir.

### Sonuç

Araştırmamız sonucunda "modifiye edilmiş ketojenik beslenmenin" (=kalori olarak ılımlı kısıtlanmış, mineral, protein ve sağlıklı yağ destekli) glioblastomalı hastaların karaciğer ve böbrek fonksiyonlarına, genel sağlık durumlarına olumsuz bir etkisi görülmemiştir. Burada yaptığımız çalışmamızda GBM tedavisi gören hasta serilerinde uygulanan modifiye edilmiş ketojenik diyetin güvenli olduğunu ve hastalar tarafından tolere edilebileceğini söyleyebilirsek de hasta sayısının daha fazla olduğu çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Çünkü literatürde oldukça kısıtlı çalışma bulunmaktadır ve bu alan araştırma yapılacak yeni bir alandır.

### Etik

**Etik Kurul Onayı:** Çalışma için etik kurul onayı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mezuniyet Öncesi Öğrenci Araştırmaları Etik Değerlendirme Kurulu'ndan alınmıştır (tarih: 25.12.2018, karar no: 9559).

**Hasta Onayı:** Çalışma retrospektif veri analizi olarak düzenlendiğinden ve herhangi bir girişim içermediğinden hastalardan onam alınmamıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunun içinden ve dışından olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

### Yazarlık Katkıları

Konsept: S.D., O.N.K., E.K., İ.M., N.S., S.S., M.A.Ş., E.S.A.B., Ö.D., S.H., H.Ç.U., A.G., Dizayn: S.D., O.N.K., E.K., İ.M., N.S., S.S., M.A.Ş., E.S.A.B., Ö.D., S.H., H.Ç.U., A.G., Veri Toplama veya İşleme: S.D., O.N.K., E.K., İ.M., N.S., S.S., M.A.Ş., E.S.A.B., Ö.D., S.H., H.Ç.U., A.G., Analiz veya Yorumlama: S.D., O.N.K., E.K., İ.M., N.S., S.S., M.A.Ş., E.S.A.B., Ö.D., S.H., H.Ç.U., A.G., Literatür Arama: S.D., O.N.K., E.K., İ.M., N.S., S.S., M.A.Ş., E.S.A.B., Ö.D., S.H., H.Ç.U., A.G., Yazan: S.D., O.N.K., E.K., İ.M., N.S., S.S., M.A.Ş., E.S.A.B., Ö.D., S.H., H.Ç.U., A.G.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmektedir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma herhangi bir kurum, kuruluş ya da kişi tarafından finanse edilmemiştir.

### Kaynaklar

1. Alexander BM, Cloughesy TF. Adult Glioblastoma. *J Clin Oncol.* 2017;35:2402-2409.
2. Hanif F, Muzaffar K, Perveen K, et al. Glioblastoma Multiforme: A Review of its Epidemiology and Pathogenesis through Clinical Presentation and Treatment. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2017;18:3-9.
3. Jacqueline C, Brazier L, Faugère D, et al. Can intestinal microbiota be associated with non-intestinal cancers? *Sci Rep.* 2017;7:12722.
4. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science.* 2009;324:1029-1033.
5. Otto AM. Warburg effect(s)-a biographical sketch of Otto Warburg and his impacts on tumor metabolism. *Cancer Metab.* 2016;4:5.
6. Warburg O, Wind F, Negelein E. The Metabolism of Tumors in the Body. *J Gen Physiol.* 1927;8:519-530.
7. Liberti MV, Locasale JW. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends Biochem Sci.* 2016;41:211-218.
8. Bayley JP, Devilee P. The Warburg effect in 2012. *Curr Opin Oncol.* 2012;24:62-67.
9. Champ CE, Palmer JD, Volek JS, et al. Targeting metabolism with a ketogenic diet during the treatment of glioblastoma multiforme. *J Neurooncol.* 2014;117:125-131.
10. Panhans CM, Gresham G, Amaral LJ, et al. Exploring the Feasibility and Effects of a Ketogenic Diet in Patients With CNS Malignancies: A Retrospective Case Series. *Front Neurosci.* 2020;14:390.
11. Zhou W, Mukherjee P, Kiebish MA, et al. The calorically restricted ketogenic diet, an effective alternative therapy for malignant brain cancer. *Nutr Metab (Lond).* 2007;4:5.
12. Rieger J, Bähr O, Maurer GD, et al. ERGO: a pilot study of ketogenic diet in recurrent glioblastoma. *Int J Oncol.* 2014;44:1843-1852.
13. Schwartz K, Chang HT, Nikolai M, et al. Treatment of glioma patients with ketogenic diets: report of two cases treated with an IRB-approved energy-restricted ketogenic diet protocol and review of the literature. *Cancer Metab.* 2015;3:3.
14. Oudard S, Boitier E, Miccoli L, et al. Gliomas are driven by glycolysis: putative roles of hexokinase, oxidative phosphorylation and mitochondrial ultrastructure. *Anticancer Res.* 1997;17:1903-1911.
15. Roslin M, Henriksson R, Bergström P, et al. Baseline levels of glucose metabolites, glutamate and glycerol in malignant glioma assessed by stereotactic microdialysis. *J Neurooncol.* 2003;61:151-160.
16. Veech RL, Chance B, Kashiwaya Y, et al. Ketone bodies, potential therapeutic uses. *IUBMB Life.* 2001;51:241-247.
17. Seyfried TN, Sanderson TM, El-Abbadi MM, et al. Role of glucose and ketone bodies in the metabolic control of experimental brain cancer. *Br J Cancer.* 2003;89:1375-1382.
18. Semenza GL. Regulation of cancer cell metabolism by hypoxia-inducible factor 1. *Semin Cancer Biol.* 2009;19:12-16.
19. Woolf EC, Scheck AC. The ketogenic diet for the treatment of malignant glioma. *J Lipid Res.* 2015;56:5-10.

# Magnolia Officinalis Ekstraktının Kardiyak Yaşlanmada Gözlenen Mitokondri Fonksiyon Bozukluğu Üzerindeki Düzenleyici Etkileri

## The Regulatory Effects of Magnolia Officinalis Extract on Aging-induced Mitochondrial Dysfunction in Cardiomyocytes

© Ceylan Verda Bitirim

Ankara Üniversitesi Kök Hücre Enstitüsü, Ankara, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Bu çalışmada Magnolia Officinalis'ten elde edilen bitkisel bir materyal olan ve anti-enflamasyon, antioksidatif stres ve antiapoptozda önemli rollere sahip olduğu ileri sürülen magnolia ekstraktının (ME), kardiyomiyositlerde yaşlanmaya bağlı artan reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ve mitokondri membran potansiyelinin (MMP) depolarize olması ile koruyucu etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, yaşlı kardiyomiyositlerde bu maddenin apoptoz ve endoplazmik retikulum (ER) stresi üzerindeki baskılayıcı etkisinin hangi biyobelirteçler üzerinden olduğunun moleküler düzeyde incelenmesi hedeflenmiştir.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada sıçan sol ventrikül hücre hattı H9c2'ler kullanılarak *in vitro* yaşlanma modeli oluşturulmuştur. D-galaktoz (D-Gal; 50 mg/mL) ile 48-saat muamele edilen H9c2 hücreleri, 18 saat boyunca 5 µM ME ile inkübe edilmiş ve yaşlı kardiyomiyositlerdeki ROS üretimi ve MMP depolarizasyonuna etkileri incelenmiştir. ROS ve MMP ölçümleri floresans boyalar olan dichlorofluorescein diacetate (DCFDA) ve carbonyl cyanide-p-trifluoromethoxyphenylhydrazine (FCCP) kullanılarak konfokal mikroskopunda gerçekleştirilmiştir. ER-stresi belirteçleri Calregulin ve glucose-regulated protein 78 ve apoptoz belirteci olarak ise dengeleyici nükleosit taşıyıcı 1 ifadesindeki ME muamelesi sonrasındaki değişim qRT-PCR ölçümleri ile analiz edilmiştir.

**Bulgular:** Yaşlanma modeli oluşturulmuş kardiyomiyositlerin, ME ile inkübasyonu yaşlanmaya bağlı artan ROS üretiminin belirgin şekilde baskılanmasına, depolarize olan MMP'nin normal değerlere dönmesine neden olmuştur. Ayrıca, mitokondri fonksiyon bozukluğu ile gelişen ER-stres ve apoptozun ME muamelesi ile baskılandığı ve bu etkinin altında yatan nedenler arasında oksidatif stres ve apoptoz belirteç genlerinin ifadelerinin normal değerlere doğru iyileştiği gözlenmiştir.

**Sonuç:** Çalışma bulguları, kalp koruyucu etkileri bilinen magnolia officinalis ekstraktının kalp yaşlanması ile kontrolsüz olarak gelişen mitokondri fonksiyon bozukluğunu fonksiyonel ve moleküler düzeyde düzenleyerek yaşlanmaya bağlı artan kalp yetmezliğinde yeni bir tedavi yaklaşımı olarak uygulanabileceğini işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Yaşlanma, Magnolia Officinalis, Kardiyomiyosit, ROS, Mitokondri, ER Stres, Apoptozis

### Abstract

**Objectives:** In this study, it is aimed to examine the protective effect of magnolia extract (ME), a herbal material obtained from Magnolia Officinalis, which is claimed to have an important role in anti-inflammation, antioxidative stress and antiapoptosis, with increased reactive oxygen species (ROS) production due to aging and depolarized mitochondrial membrane potential (MMP) in cardiomyocytes and its suppressive effect on apoptosis and endoplasmic reticulum (ER) stress at the molecular level.

**Materials and Methods:** In the study, an *in vitro* aging model was created using rat left ventricular cell line H9c2. H9c2 cells treated with D-galactose (D-Gal; 50 mg/mL) for 48 hours were incubated with 5 µM ME for 24 hours and their effects on ROS production and MMP depolarization in aged cardiomyocytes were examined. ROS and MMP measurements were performed under confocal microscopy using fluorescent dyes dichlorofluorescein diacetate (DCFDA) and carbonyl cyanide-p-trifluoromethoxyphenylhydrazine (FCCP). With the ER- stress markers Calregulin and glucose-regulated protein 78, qRT-PCR measurements of the change in expression of the apoptosis marker equilibrative nucleoside transporter 1 after ME treatment were analyzed.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Ceylan Verda Bitirim

Ankara Üniversitesi Kök Hücre Enstitüsü, Ankara, Türkiye

Tel.: +90 535 612 67 96 E-posta: bitirim@ankara.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0002-7979-0679

Geliş Tarihi/Received: 26.10.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 24.12.2021

©Telif Hakkı 2022 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



**Results:** Incubation of aging-modeled cardiomyocytes with ME provides significant suppression of aging-related ROS production and regulation of depolarized MMP. In addition, we observed that ER-stress and apoptosis developed by mitochondrial dysfunction were suppressed by ME treatment, by examining the expressions of stress and apoptosis marker genes.

**Conclusion:** Our findings show that Magnolia officinalis extract, known for its cardioprotective effects, can be applied as a new treatment approach in aging-related heart failure by regulating mitochondrion dysfunction that develops uncontrollably with cardiac aging at the functional and molecular level.

**Key Words:** Aging, Magnolia Officinalis, Cardiomyocytes, ROS, Mitochondria, ER Stress, Apoptosis

## Giriş

Kardiyovasküler hastalık (KVH) prevalansı, ilerleyen yaşla birlikte çarpıcı biçimde artmakta ve bu artış büyük ölçüde hipertansiyon, diyabet, fiziksel hastalık gibi kardiyovasküler risk faktörlerine uzun süreli maruz kalmaya bağlanmaktadır. Yaşlanma sırasında kardiyomiyositlerde yapısal ve işlevsel değişikliklerin gelişmesi olarak tanımlanan kalp yaşlanması, kalbi çeşitli stres faktörlerine karşı daha savunmasız hale getirmekte ve KVH gelişimini desteklemektedir (1). Kalpte yaşlanmaya dahil olan moleküler mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamış olsa da, yaşın ilerlemesi ile birlikte artan makromoleküler oksidatif hasarın ana faktör olduğu düşünülmektedir (2). Reaktif oksijen türleri (ROS), çeşitli enzimatik reaksiyonlar tarafından mitokondri tarafından üretilmektedir. Deneysel bulgular, yaşlanma süreci boyunca mitokondri fonksiyonunun azaldığını ve bunun ROS oluşumunun artması, serbest radikallerin neden olduğu hasarın artması ve daha fazla (pozitif geri-besleme) mitokondri fonksiyonunun bozulma ile sonuçlandığını göstermektedir. Aşırı ROS üretimi ve/veya kusurlu oksidan süpürme, yaşlanma sürecinde ve aynı zamanda KVH da dahil olmak üzere çeşitli kronik dejeneratif hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır (3).

Yaşlı kemirgenlerin miyokardında mitokondri proteinleri, lipidleri ve nükleik asitlerinde yüksek seviyelerde oksidatif hasar tespit edilmiştir (4). Bu durum mtDNA'sında mutasyonların birikmesine yol açabilmektedir. mtDNA mutasyonları elektron transport sistemi bileşenlerinin hatalı sentezine yol açarak adenosin trifosfat (ATP) üretiminin azalmasına ve daha fazla ROS oluşumuna yol açabilmektedir (5). Mitokondri fonksiyon bozukluğunun kalp yetmezliği, sol ventrikül hipertrofisi ve diyabetik kardiyomiyopati gibi yaşa bağlı dejeneratif hastalıkların patogeneğinde merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir (4,5).

ROS üretimiyle birlikte, ATP düzeyinde önemli seviyede azalma ve mitokondri membran potansiyelinde depolarizasyon gerçekleşmektedir. Mitokondri fonksiyon bozukluğunun apoptoz indüksiyonuna katıldığı gösterilmiş ve hatta apoptotik yolun merkezinde olduğu öne sürülmüştür (5,6). Önceki çalışmalarda, mitokondride geçirgenlik geçiş gözeneklerinin açılmasının, transmembran potansiyelinin ( $\Delta\psi_m$ ) depolarizasyonunu, apoptoz ile ilgili faktörlerin salınarak sitozole geçtiği ve oksidatif fosforilasyon kaybını indüklediği gösterilmiştir (6). Özetle, artan ROS üretimine

bağlı olarak hücrelerde otofaji, apoptoz, kronik inflamasyon ve mitokondri-DNA instabilitesi mitokondri fonksiyon bozukluğu ile birlikte kalpte yaşlanma ile ilişkili patofizyolojik olaylardır (7,8). İlerleyen yaşla birlikte ROS artışına neden olduğu mutasyonların birikmesi ve oksidatif hasar nedeniyle mitokondri DNA hacmi, bütünlüğü ve işlevselliği azalmaktadır (9). Hasarlı mitokondri, çünkü, sadece daha az ATP üretmekle kalmaz, aynı zamanda artan miktarlarda ROS üretir ve apoptozu tetiklemek için daha büyük bir eğilim gösterir (10). Kardiyomiyosit mitokondri fonksiyon bozukluğu ve mitokondri otofajisinin optimal düzenlenmesi özellikle yaşlanmada sık görülen belirli kalp hastalıklarında rol oynadığı için kritik öneme sahiptir (1).

Magnolia officinalis bitkisinden izole edilen aktif bir bileşen olan Magnolol'un 1994 yılından beri kardiyovasküler koruyucu olduğu bilinmektedir (11). Manolol ve honokiol içeren oldukça aromatik ve polifenolik bileşenler olan manolya kabuğundan manololün saflaştırılarak hazırlanan sentetik manolol/honokiol, analogları ve türevleri antioksidan, anti-depresan, anti-alerjik, anti-kanser ve anti-mikrobiyal ajan olarak karakterize edilmiştir ve klinikte kullanılmaktadır (11,12). Düşük ve orta dozda Magnolol, kalbi iskemik/reperfüzyon hasarından koruma, aterosklerotik değişikliği azaltma, endotel hücrelerini apoptozu karşı koruma ve nötrofil-endotelial yapışmayı engelleme yeteneğine sahiptir (12). Bu çalışmalarda, magnololun, orta konsantrasyonda vasküler düz kas hücrelerinde apoptozu indükleyebildiği ve orta/yüksek konsantrasyonlarda proliferasyonu inhibe edebildiği ileri sürülmüştür. Tüm bu etkiler, magnololün yüksek riskli hastalarda KVH'leri önlemek için potansiyel bir ilaç olarak uygulanabilirliğini düşündürmektedir (13). Bir dizi hayvan çalışmasında, Hong ve ark. (14), koroner arter ligasyonundan önce 6-10 mg/kg'nin üzerindeki dozlarda intravenöz magnolol enjeksiyonunun hem iskemi hem de reperfüzyona bağlı ventriküler taşikardi ve ventriküler fibrilasyonu başarılı bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir. Ayrıca, kalp fibroblastlarından elde edilen *in vitro* sonuçlar, magnololün enfarktüs sonrası rejeneratif evre sırasında kardiyak fibrotik değişikliği azaltma potansiyeline sahip olabileceğini göstermektedir (15). Diğer yandan, ME'nin farelerdeki oral tümörde ROS üretimini baskılayarak kanser hücrelerinin büyümesinin ve çoğalmasının inhibe ettiği de gözlenmiştir (16). Ancak ME'nin kalp yaşlanmasına bağlı fonksiyonel ve

moleküler mekanizmalar üzerinedeki etkisi bilinmemektedir. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda bir antioksidan ve kardiyoprotektif ajan olan magnoliya ekstraktın *in vitro* koşullarda yaşlı sıçan ventrikül hücresi fonksiyonu ile ilişkisinin incelenmesi hedeflenmiştir. Çalışma sonuçları, magnoliya ekstrakt muamelesinin yaşlı kardiyomiyositlerdeki aşırı ROS üretimi ve buna paralel olarak bozulan mitokondri membran potansiyelini düzelterek, mitokondri fonksiyon bozuklukları ve yetersizliklerini geri döndürebildiğini, yaşlanma ile kardiyomiyositlerde artan apoptoz ve endoplazmik retikulum (ER) stresini baskılayabildiğini göstermiştir.

## Gereç ve Yöntem

### Hücre Kültürü ile İşlemler

Çalışmada kullanılan sıçan sol ventrikül hücre hattı H9c2, %1 penisilin-streptomisin ve %10 fetal sıçır serumu içeren Dulbecco tarafından modifiye edilen Eagle besiyeri-düşük-glukoz besiyeri içerisinde büyütülmüştür. Yaşlanma modeli, daha H9c2 hücrelerinde 50 mg/mL D-Gal ile 48 saat boyunca inkübe edilerek gerçekleştirilmiştir. Bunu takiben hücreler 5 µM magnolia ekstraktı (ME) ile 18 saat muamele edilmiştir (17).

### Magnolia Ekstraktının Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin İncelenmesi

Yüksek dozlarda toksik etkileri olduğu bilinen ME'nin, deneylerde kullanılacak dozunu kararlaştırmak amacı ile genç kontrol ve yaşlı H9c2'lerin canlılığı üzerine etkileri hücre çoğalma testi (MTT) ile karar verildi. 96 kuyucuklu hücre tabaklarına 10.000 hücre/kuyucuk olacak şekilde ekilen kontrol ve yaşlı H9c2 hücreleri literatürde belirtilen doz olan 5 µM (17) ve 10 µM ME ile 18 saat boyunca inkübe edildi. 18 saat sonunda MTT testi (Merck), üretici firmanın protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. 630 nm dalga boyunca okuma alındıktan sonra değerler kontrol (ME ile inkübe edilmemiş) grubu değerlerine oranlanarak normalize edildi.

### H9c2 Hücrelerinde ROS Seviyesinin Ölçülmesi

H9c2 hücrelerinde ROS ölçümü, ROS oluşumuna spesifik floresans boya (DCDFA 10 µM) kullanılarak konfokal mikroskopunda (Leica TCS SP5), floresans şiddetinde değişim olarak görüntülenmiştir (10). Kontrol grubu hücreleri, yaşlı (D-Gal) hücreler ve bunların 48 saat boyunca 5 µM magnolia ekstraktı ile muamele edilmiş grupları (Kontrol + ME ve D-Gal + ME) ROS oluşumuna spesifik floresans boya olan DCFDA ile yüklenerek bazal floresans ölçümleri (F0) alınmıştır. Yüksek doz (100 µM) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması ile hücrelerde maksimum floresans (F) ölçümü yapılmıştır. Her hücre için floresans yoğunluğu değişiklikleri  $\Delta F/F_0$  ile hesaplanmıştır ( $\Delta F = F - F_0$ ). ROS oluşumu için eksitasyon ve emisyon dalga boyları Eex: 490 nm ve Eem: 530 nm kullanılmıştır.

### Mitokondri Membran Potansiyeli (MMP) Ölçümü

Mitokondriyal membran potansiyeli, önceki çalışmalarda tarif edildiği gibi floresans bazlı olarak ölçüldü (10). Kontrol, yaşlı ve ME ile inkübe edilen H9c2 hücreleri 3 µM JC-1 floresans boya ile 45 dakika oda sıcaklığında boyandı. Hücrelerin ışımaya değerleri 585/535 oranına göre değerlendirildi. Bazal ölçüm alındıktan sonra (F0) MMP ölçümlerini kalibre etmek için 5 µM FCCP [karbonil siyanür 4-(triflorometoksi)feylhidrazon] kullanıldı ve tekrar ölçüm alındı (F). Floresans sinyali şiddet değişiminden arka plan sinyali çıkarıldıktan sonra  $\Delta\Psi_m = F - F_0 / F_0$  (F0 = bazal sinyal, F=maksimum floresans değeri) formülü kullanılarak membran potansiyel değişimleri hesaplandı. Görüntülemeler Leica TCS SP5 konfokal mikroskopu ile gerçekleştirilmiştir.

### H9c2 hücrelerinden mRNA izolasyonu ve qRT-PCR ile mRNA ifadesinin ölçülmesi

Hücrelerden total RNA izolasyonu trizol kullanılarak gerçekleştirilmiştir. RNA izolasyonunu takiben cDNA sentez kiti (EntiLink, ELK Biotechnology) ile reverse transkriptaz enzimi yardımı ile cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Normalizasyon için *Beta-actin* geninin ifadesi kullanılmıştır. Sonuçlar bağıl CT metodu (2<sup>-deltaCt</sup>) ile analiz edilmiştir.

## BULGULAR

### Magnolia Ekstraktının Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi

Deneylerde H9c2 hücrelerinin muamelesinde kullanılacak ME konsantrasyonuna karar vermek için MTT (hücre çoğalma) testi uygulandı. Literatürde H9c2 hücreleri üzerine toksik etkisi gözlenmemiş en yüksek doz olan 5-µM (17) ile 10-µM ME çalışmamızda test edildi. Sonuçlarımıza göre özellikle yaşlı (D-Gal) grupta 10-µM ME'nin 5-µM'ye oranla düşüş göstermesi sebebi ile çalışmamızda, literatüre de dayanarak, 5-µM konsantrasyonda ME kullanılmasına karar verilmiştir (Şekil 1).

### Magnolia Ekstraktı Yaşlı Kardiyomiyositlerde Artan Hücre İçi ROS Üretimi Baskılar

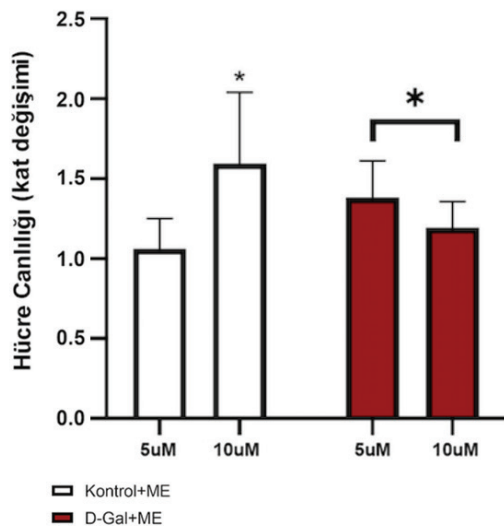
Yaşlı sıçan kardiyomiyositler ile yapılan önceki çalışmamızda yaşlı hücrelerdeki ROS artışının genç kontrole hücrelerine göre yaklaşık 1,4 kat olduğu gözlenmiştir (17). Bu çalışmada, D-Gal muamelesi ile yaşlandırılmış H9c2 hücre grubundaki (D-Gal) ROS üretimi, magnoliya ekstrakt ile inkübe edilen yaşlı grup (D-Gal + ME) ile konfokal mikroskop kullanılarak karşılaştırılmıştır. Önceki çalışmalar ile uyumlu olarak, yaşlı kardiyomiyositlerde bazal ROS miktarının kontrole göre 2 kattan fazla artış gösterdiği, 18 saat ME inkübasyonunun bu yaşlı kardiyomiyositlerdeki ROS üretimini belirgin şekilde baskıladığı gözlenmiştir (Şekil 2A). Bu sonuç, ME'nin aşırı ROS üretimini baskılayarak yaşlı kalpte koruyucu etkisi olabileceği hipotezini desteklemektedir.

## Magnolia Ekstraktı Yaşlı Kardiyomiyosit Mitokondri Fonksiyon Bozukluğunu MMP Depolarizasyonu Etkileyerek Düzenler

Mitokondri ROS üretiminin, mitokondri membran potansiyeli ( $\Delta\psi$ ) seviyesi ile paralel olarak ilerlediği bilinmektedir (18). Çalışmamızda ME'nin kalp yaşlanmasındaki ROS homeostazındaki rolüne ek olarak, yaşlanmaya bağlı değişen MMP üzerinde önemli bir düzenleyici etkisi olduğunu da gözlenmiştir. Kontrol grubu kardiyomiyositlerde ME muamelesi MMP üzerinde anlamlı bir değişime neden olmaz iken, yaşlı hücrelerde önemli ölçüde depolarize olan MMP'yi, ME ile inkübasyon sonrası düzeltilmekte ve kontrol grubu seviyesine yaklaşılmaktadır (Şekil 2B).

## Magnolia Ekstrakt Muamelesi Yaşlı Kardiyomiyositlerde Artan ER-Stres ve Apoptoz Baskılar

ER ve mitokondri, protein homeostazının düzenlenmesinde ve normal hücre fonksiyonunun korunmasında kritik rol oynamaktadır. Önceki yıllarda, ER ve mitokondri arasında yoğun bir şekilde etkileşime olduğu (cross-talk) ve etkileşimin sağlıklı kalp fonksiyonu için bir ön koşul olduğu gözlenmiştir. Fiziksel olarak, mitokondri ve ER yakın temas halindedir ve bu durum ER tarafından salınan  $Ca^{2+}$ 'nin mitokondri tarafından alınımını kolaylaştırır ve mitokondri tarafından ATP üretimine katkıda bulunur (19). Yaşlanmaya bağlı olarak kardiyomiyositlerde artan ER-stres belirteçleri olan Calregulin (Şekil 3A) ve GRP78'in (Şekil 3B) mRNA ifadeleri, ME ile inkübasyon sonrasında anlamlı olarak



**Şekil 1:** MTT ile hücre canlılığı testi A) Kontrol grubu H9c2 ve 50 mg/mL D-Gal ile 48 saat boyunca inkübe edilen H9c2'ler ile oluşturulmuş yaşlı grubu 5 µM ve 10 µM ME ile 18 saat boyunca inkübe edilen hücrelerde canlılık, 18 saat sonunda MTT testi ile analiz edilmiştir. Yaşlı hücrelerde 10 µM ME'nin canlılıkta neden olduğu düşüş nedeni ile deneylerde 5 µM konsantrasyonda ME kullanılmasına karar verilmiştir.

Veriler ortalama ( $\pm$ SD) olarak verilmiştir. n=3 ve istatistiksel anlamlılık \* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$

SD: Standart sapma, ME: Manolya ekstraktı, MTT: Hücre çoğalma testi

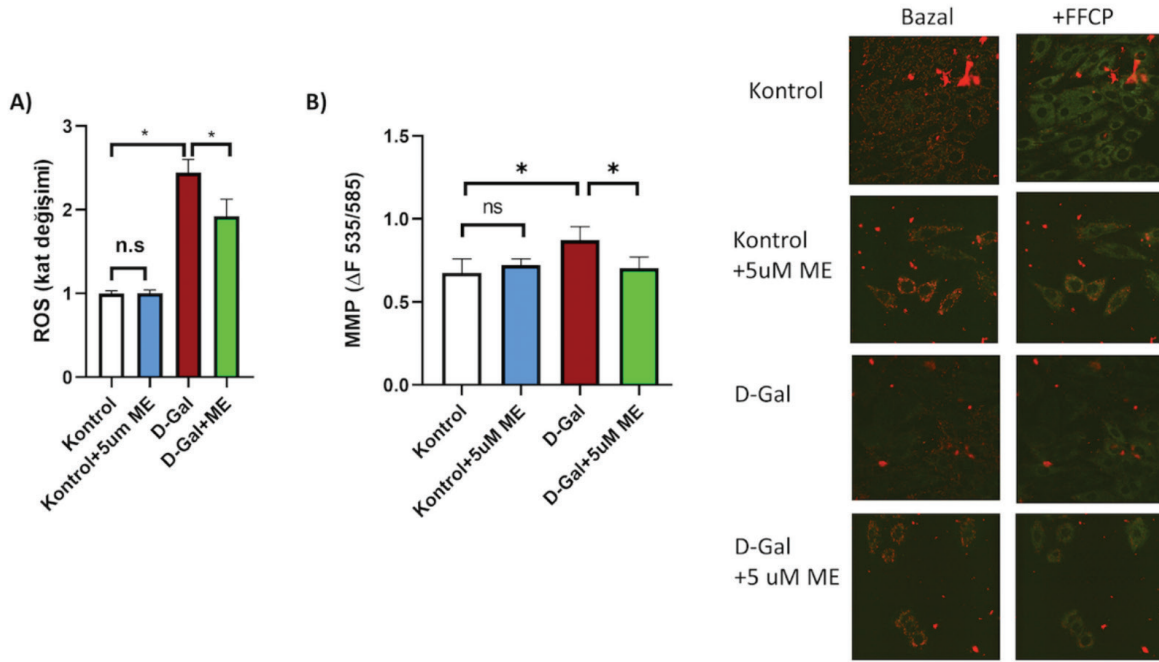
azalmaktadır. ER ve mitokondri arasındaki etkileşimler fizyolojik koşullar altında apoptozu düzenlemektedir. ME muamelesi yaşlı H9c2'lerde artan apoptoz için önemli bir belirteç olan Dengeleyici nükleosit taşıyıcı 1'in ifadesini de baskılamaktadır (Şekil 3C).

## Tartışma

Metabolik olarak, kalp oldukça aktiftir ve mitokondrileri önemli bir oksidatif stres yükü ile karşı karşıyadır (18). Ayrıca, kardiyomiyositler, birkaç on yıllık bir ömre sahip, terminal olarak farklılaşmış, post-mitotik hücrelerdir. Bu nedenle, sağlıklı bir mitokondri havuzunun korunması ve hasarlı ve potansiyel olarak zararlı organellerin etkin bir şekilde uzaklaştırılması, kardiyomiyosit homeostazının korunması için hayati önem taşır (1). Daha önce tartışıldığı gibi, hayvan modellerinden elde edilen kanıtlar, mitokondriyal disfonksiyonun yaşlılıkta oldukça yaygın olan kalp yetmezliği, sol ventrikül hipertrofisi ve diyabetik kardiyomiyopati gibi bir dizi kalp hastalığının patogeneğinde de rol oynadığını göstermiştir (5,20). Gerçekten de, yaşlı kemirgenlerden miyokardın ultrastrüktürel analizi, mitokondrielerde şişme, krista kaybı ve matris düzensizliği ile karakterize edilen genişlemiş mitokondri varlığını göstermiştir (21). Biyokimyasal olarak, bu yaşlanmış ve biyoenerjetik olarak verimsiz mitokondriler azaltılmış ATP üretimi ve artan ROS üretimi sergiler (22).

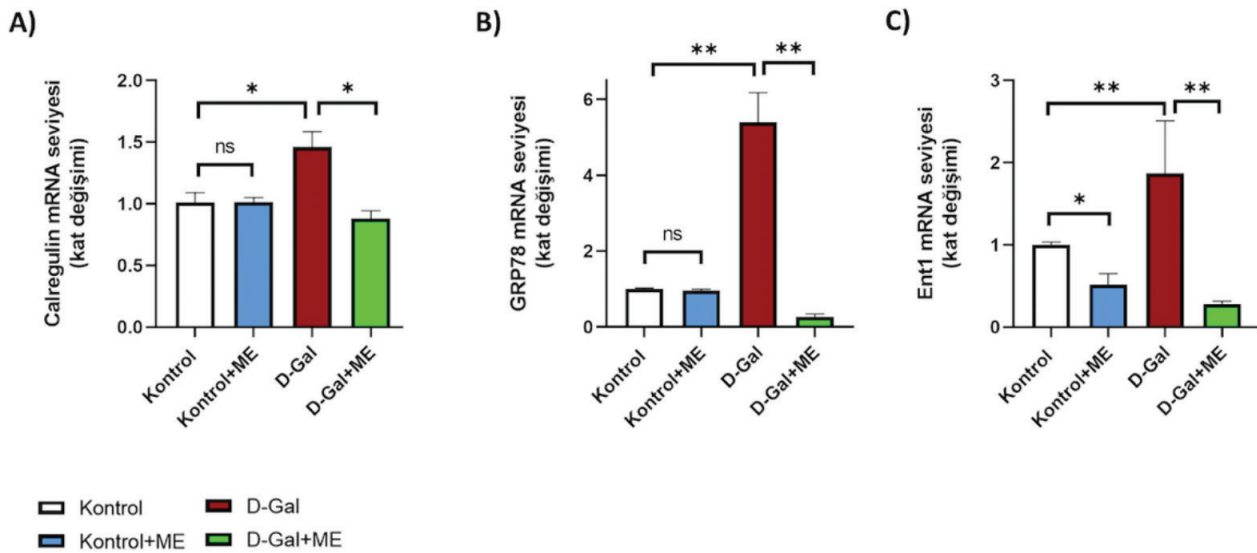
Son 20 yılda, magnololün bir antioksidan ve anti-tümorojenik etkilerinin yanı sıra kardiyovasküler sistemin farklı hücrelerinde farklı fonksiyonlara sahip olduğu bulunmuştur. Bu etkiler doza bağlıdır ve magnolol tarafından düzenlenen farklı moleküler mekanizmaların sonucudur. Koroner arter ligasyonundan önce 6-10 mg/kg'nin üzerindeki dozlarda intravenöz magnolol enjeksiyonunun hem iskemi hem de reperfüzyona bağlı ventriküler taşikardi ve ventriküler fibrilasyonu başarılı bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir. Beş mg/kg magnolol ve üzeri, enfarktüs boyutunu önemli ölçüde azaltmıştır (16). Tüm bu bulgular, magnololün yaşlanmaya bağlı gelişen kardiyak yaşlanmanın beraberinde getirdiği KVH hastalıklarda koruyucu ve tedavi edici bir, alternatif ve etkili bir ajan olabileceğini düşündürmüştür. Çalışmamızda *in vitro* yaşlanma modeli olarak kullandığımız H9c2 kardiyomiyosit hücre hattında ME'nin öncelikle ROS ve MMP üzerindeki etkilerini inceledik. Sıçan kardiyak fibroblastlarında ERK1/2 sinyal yolu aktivasyonunun magnolol (10 µM) tarafından inhibe edildiği ve ROS üretimini baskılandığı önceki çalışmalarda gösterilmiştir (22). Bulgularımız, bu sonuç ile uyumlu olarak yaşlı kardiyomiyositlerde 5 µM ME muamelesinin mitokondriyal disfonksiyonu tersine düzenleyerek artan ROS üretimi ve MMP üzerinde olumlu etkilerini gözlemledik.

Mitokondriyal fonksiyon üzerine etkisi dışında, intraperitoneal enjeksiyon yoluyla 10 mg/kg'den yüksek



**Şekil 2:** ME ile inkübe edilmiş H9c2'lerde yaşlanmaya bağlı artan ROS üretimi ve mitokondri membran potansiyelinin (MMP) ölçülmesi. A) Konfokal mikroskopi kullanılarak hücre içi ROS seviyesi Floresans şiddet seviyelerindeki değişimler olarak kantite edilmiştir. Kontrol ve yaşlı (D-gal) grubu 18 saat 5  $\mu$ M ME ile inkübe edilmiş, bunu takiben konfokal görüntülemesi için ROS göstergesi klorometil-2',7'-diklorodihidroflorosein diasetat (DCFDA) ile 1 saat muameleye maruz bırakılmıştır. ME inkübasyonunun yaşlı (D-Gal) kardiyomiyositlerde ROS üretimini anlamlı olarak azalttığı gözlenmiştir. Veriler ortalama ( $\pm$  SS) olarak verilmiştir. Hücre sayısı her grup için n=20-30 hücredir. İstatistiksel anlamlılık \*p<0,05, \*\*p<0,01. B) ME ile inkübe edilen yaşlı kardiyomiyositlerde MMP değişimi JC-1 Floresans boyası ile yüklenen hücrelerde konfokal mikroskobunda ölçüldü. Kontrol ve yaşlı (D-gal) grubu hücreleri 3  $\mu$ M JC-1 ile 45 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. MMP yanıtı için hücrelere 1  $\mu$ M FCCP verilmiş ve mitokondri depolarizasyonu sağlanmıştır. Veriler ortalama ( $\pm$  SS) olarak verilmiştir. Hücre sayısı her grup için n=20-35 hücredir. İstatistiksel anlamlılık \*p<0,05, \*\*p<0,01. Not: Yeşil renk, mitokondriyal membran potansiyelinin kaybını göstermektedir

ROS: Reaktif oksijen türleri, n.s: Anlamlı değil, SS: Standart sapma, ME: Magnolia ekstraktı



**Şekil 3:** ME ile inkübe edilmiş H9c2'lerde ER-stres ve apoptozis belirteç gen ifadesinin değişiminin qRT-PCR ile incelenmesi. ME ile inkübasyon yaşlı (D-Gal) kardiyomiyositlerde anlamlı olarak artan ER-stres belirteçleri olan A) Calregulin ve B) GRP78 ile apoptotik gen olan C) ENT1'in ifadesini inhibe etmektedir. *Beta-actin* gen ifadesi normalizasyon için kullanılmıştır. Sonuçlar relative CT metodu (2-deltaCt) ile analiz edilmiştir. n=3 ve veriler ortalama  $\pm$  SS olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık \*p<0,05, \*\*p<0,01

ME: Magnolia ekstraktı, n.s: Anlamlı değil, ER: Endoplazmik retikulum, SS: Standart sapma



magnolol konsantrasyonunun anti-apoptotik Bcl-xl proteinlerinin modülasyonunu artırarak miyokard iskemisini ve reperfüzyon hasarı ile ilişkili kardiyomiyosit apoptozunu ve vasküler endotel hücre ölümünü önlediği gösterilmiştir (22). Ancak yaşlı kardiyomiyositlerde mitokondriyal disfonksiyon ve anormal ROS üretiminin neden olduğu kusurlu mitokondriyal otofaji/apoptozis ve ER-stres üzerindeki geri döndürücü etkileri literatürde çalışılmamıştır ve önceki bulgular, kalp hasarı ile ilgili tedavilerde kullanılan ME'nin mitokondriyal dinamikleri, apoptozis ve ER-stresi birbirine bağlayan sinyal yollarını düzenleyen fonksiyone bir terapötik ajan olarak geliştirilebileceğini düşündürmektedir. ME'nin yaşlı kardiyomiyositlerde apoptotik ve ER-stres belirteçlerini inhibe etmesi, bu hipotezimizi destekler niteliktedir.

### Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmanın en büyük sınırlaması in vitro deneylerin eksikliğidir. Yaşlı sıçan (veya fare) modellerinde ME'nin farklı doz konsantrasyonlarında gavaş yöntemi ile verilerek kardiyak yaşlanmadaki iyileşmenin hem elektrofizyolojik hem kalp dokusunda moleküler düzeyde incelenmesi mevcut sonuçları destekleyebilir. Böyle bir çalışma ayrıca ME'nin potansiyel diğer moleküler veya patofizyolojik hedeflerini de açığa çıkarabilir.

### Sonuç

Bulgularımız ile klinik olarak özellikle anti-enflamatuvar ve anti-tümörögenез ajanı olarak kullanılan Magnolia officinalis ekstraktının kardiyak yaşlanma üzerindeki etkisini literatürde ilk kez göstermekteyiz. Çalışmamızda, Magnolia Officinalis'in kardiyomiyosit yaşlanmasına bağlı artan ve KHV'lerin merkezinde rol alan oksidatif stres ve apoptozis üzerinde inhibitör bir ajan olarak rol alabileceğini önermekteyiz. Mitokondriyal fonksiyonun kardiyomiyosit fizyolojisindeki kritik rolü bilindiği için, özellikle mitokondriyal homeostazisin dengelenmesinde yararlanılacak yeni terapötik ajanların moleküler ve fonksiyonel olarak incelenmesi ve geliştirilmesi, geriatric kardiyoloji alanında da çok değerli olacaktır.

### Etik

**Etik Kurul Onayı:** Çalışma hücre hattı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İnsan ve hayvan deneyi içermemektedir. Bu nedenle etik kurul iznine gerek yoktur.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunun dışından olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma herhangi bir kurum, kuruluş ya da kişi tarafından finanse edilmemiştir.

### Kaynaklar

- Dutta D, Calvani R, Bernabei R, et al. Contribution of impaired mitochondrial autophagy to cardiac aging: mechanisms and therapeutic opportunities. *Circ Res.* 2012;110:1125-1138.

- Marzetti E, Wohlgemuth SE, Anton SD, et al. Cellular mechanisms of cardioprotection by calorie restriction: state of the science and future perspectives. *Clin Geriatr Med.* 2009;25:715-732.
- Balaban RS, Nemoto S, Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell.* 2005;120:483-495.
- Judge S, Jang YM, Smith A, et al. Age-associated increases in oxidative stress and antioxidant enzyme activities in cardiac interfibrillar mitochondria: implications for the mitochondrial theory of aging. *FASEB J.* 2005;19:419-421.
- Wei YH, Lee HC. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and impairment of antioxidant enzymes in aging. *Exp Biol Med (Maywood).* 2002;227:671-682.
- Ly JD, Grubb DR, Lawen A. The mitochondrial membrane potential (deltapsi(m)) in apoptosis; an update. *Apoptosis.* 2003;8:115-128.
- Durak A, Bitirim CV, Turan B. Titin and CK2 $\alpha$  are New Intracellular Targets in Acute Insulin Application-Associated Benefits on Electrophysiological Parameters of Left Ventricular Cardiomyocytes From Insulin-Resistant Metabolic Syndrome Rats. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2020;34:487-501.
- Essick EE, Sam F. Oxidative stress and autophagy in cardiac disease, neurological disorders, aging and cancer. *Oxid Med Cell Longev.* 2010;3:168-177.
- Olgar Y, Tuncay E, Degirmenci S, et al. Ageing-associated increase in SGLT2 disrupts mitochondrial/sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> homeostasis and promotes cardiac dysfunction. *J Cell Mol Med.* 2020;24:8567-8578.
- Olgar Y, Degirmenci S, Durak A, et al. Aging related functional and structural changes in the heart and aorta: MitoTEMPO improves aged-cardiovascular performance. *Exp Gerontol.* 2018;110:172-181.
- Poivre M, Duez P. Biological activity and toxicity of the Chinese herb Magnolia officinalis Rehder & E. Wilson (Houpo) and its constituents. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2017;18:194-214.
- Ho JH, Hong CY. Cardiovascular protection of magnolol: cell-type specificity and dose-related effects. *J Biomed Sci.* 2012;19:70.
- Sun W, Zhang Z, Chen Q, et al. Magnolia extract (BL153) protection of heart from lipid accumulation caused cardiac oxidative damage, inflammation, and cell death in high-fat diet fed mice. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:205849.
- Hong CY, Huang SS, Tsai SK. Magnolol reduces infarct size and suppresses ventricular arrhythmia in rats subjected to coronary ligation. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1996;23:660-664.
- Yuan Y, Zhou X, Wang Y, et al. Cardiovascular Modulating Effects of Magnolol and Honokiol, Two Polyphenolic Compounds from Traditional Chinese Medicine-Magnolia Officinalis. *Curr Drug Targets.* 2020;21:559-572.
- Zhang Z, Chen J, Zhou S, et al. Magnolia bioactive constituent 4-O-methylhonokiol prevents the impairment of cardiac insulin signaling and the cardiac pathogenesis in high-fat diet-induced obese mice. *Int J Biol Sci.* 2015;11:879-891.
- Zhang B, Zhai M, Li B, et al. Honokiol Ameliorates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury in Type 1 Diabetic Rats by Reducing Oxidative Stress and Apoptosis through Activating the SIRT1-Nrf2 Signaling Pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:3159801.
- Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiol Rev.* 2014;94:909-950.
- Li J, Zhang D, Brundel BJM, et al. Imbalance of ER and Mitochondria Interactions: Prelude to Cardiac Ageing and Disease? *Cells.* 2019;8:1617.
- Lesnefsky EJ, Moghaddas S, Tandler B, et al. Mitochondrial dysfunction in cardiac disease: ischemia--reperfusion, aging, and heart failure. *J Mol Cell Cardiol.* 2001;33:1065-1089.
- Karbowski M, Kurono C, Wozniak M, et al. Free radical-induced megamitochondria formation and apoptosis. *Free Radic Biol Med.* 1999;26:396-409.
- Terman A, Kurz T, Navratil M, et al. Mitochondrial turnover and aging of long-lived postmitotic cells: the mitochondrial-lysosomal axis theory of aging. *Antioxid Redox Signal.* 2010;12:503-535.

# Evaluation of the Effects of Different Antibiotic Combinations on Multi-Drug Resistant Gram-Negative Bacteria

## Farklı Antibiyotik Kombinasyonlarının Çoklu İlaça Dirençli Gram-Negatif Bakteriler Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi

© Güle Çınar<sup>1</sup>, © Zeynep Bayındır<sup>2</sup>, © İrem Akdemir Kalkan<sup>1</sup>, © Aysun Yalçı<sup>3</sup>, © Hüseyin Kutlu<sup>4</sup>, © Devran Gerçeker<sup>5</sup>, © Haluk Gürüz<sup>6</sup>, © İsmail Balık<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Ankara, Turkey

<sup>2</sup>Acıbadem Bodrum Hospital, Clinic of Infectious Diseases, Muğla, Turkey

<sup>3</sup>University of Health Sciences Turkey, Gülhane Training and Research Hospital, Clinic of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Ankara, Turkey

<sup>4</sup>Uşak University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Uşak, Turkey

<sup>5</sup>Ankara University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey

<sup>6</sup>Ankara University Faculty of Medicine, Department of Pediatrics Microbiology Laboratory, Ankara, Turkey

### Abstract

**Objectives:** Increasing resistance to antibacterial drugs in gram-negative bacteria isolated from the community and especially from the hospital has become one of the most important health problems both in the world and in our country. *Acinetobacter* genus and *Enterobacteriaceae* family have an important place among gram-negative bacteria with increased antibacterial drug resistance. In this study, we aimed to evaluate the *in vitro* effects of various antibiotic combinations with E-test method and determine synergistic effective combinations that could be used in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections and ESBL and carbapenemase secreting gram-negative enteric bacterial infections.

**Materials and Methods:** It was evaluated whether the combinations of colistin with trimethoprim-sulfamethoxazole, rifampicin, doxycycline, sulbactam, imipenem, tigecycline and chloramphenicol were synergistic effective *in vitro* in 20 colistin-susceptible but multidrug-resistant, 20 colistin- and multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains and 20 both extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from various and different clinical samples (sputum, urine, tracheal aspirate, blood, etc.), sent from patients hospitalized in various clinics.

**Results:** The synergistic effect was most common in the colistin-tigecycline combination in all multi-drug resistant bacterial groups, 80% in the colistin-sensitive *Acinetobacter baumannii* group, 45% in the colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* group, and 80% in the *Klebsiella pneumoniae* group.

**Conclusion:** Although further studies with more strains and different antibiotic combinations are needed for the appropriate treatment of infections due to multi-drug-resistant gram-negative bacteria, we found that colistin-tigecycline, colistin-sulbactam, colistin-rifampicin combinations are so effective for these strains *in vitro* and these results can help clinicians in treatment process.

**Key Words:** Multidrug Resistance, *Acinetobacter*, *Klebsiella*, Antibiotic Combination

### Öz

**Amaç:** Toplumdan ve özellikle hastaneden izole edilen gram-negatif bakterilerde antibakteriyel ilaçlara direncin artması hem dünyada hem de ülkemizde en önemli sağlık sorunlarından biri haline gelmiştir. Artan antibakteriyel ilaç direnci açısından *Acinetobacter* cinsi ve *Enterobacteriaceae* ailesi gram-negatif bakteriler arasında önemli bir yere sahiptir. Bu çalışmada, çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının *in vitro* etkilerini E-test yöntemi ile değerlendirmeyi ve çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarında ve GSBL ve karbapenemaz salgılayan gram negatif enterik bakteri enfeksiyonlarında kullanılabilecek sinerjik etkili kombinasyonları belirlemeyi amaçladık.

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Güle Çınar

Ankara University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Ankara, Turkey

Phone: +90 506 593 78 51 E-mail: gbinjune@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-7635-8848

Received/Geliş Tarihi: 16.07.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 05.12.2021

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.

All content are under CC BY-NC-ND license.



**Gereç ve Yöntem:** Kolistinin trimetoprim-sülfametoksazol, rifampisin, doksisisiklin, sulbaktam, imipenem, tigesiklin ve kloramfenikol ile kombinasyonlarının *in vitro* olarak sinerjistik etkili olup olmadığı, kolistine duyarlı ancak çoklu ilaca dirençli, kolistine ve çoklu ilaca dirençli 20'şer *Acinetobacter baumannii* ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve karbapenemaz üreten 20 *Klebsiella pneumoniae* suşunda değerlendirildi.

**Bulgular:** Sinerjistik etki, kolistin-tigesiklin kombinasyonunda tüm çoklu ilaca dirençli bakteri gruplarında en yaygın etki olarak bulundu. Kolistine duyarlı *A. baumannii* grubunda %80, kolistine dirençli *Acinetobacter baumannii* grubunda %45 ve *Klebsiella pneumoniae* grubunda %80 oranında görüldü.

**Sonuç:** Çoklu ilaca dirençli gram-negatif bakterilere bağlı enfeksiyonların uygun tedavisi için daha fazla suş ve farklı antibiyotik kombinasyonları ile daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulsa da, kolistin-tigesiklin, kolistin-sulbaktam, kolistin-rifampisin kombinasyonlarının bu suşlar için *in vitro* olarak için çok etkili olduğu görüldü ve klinik uygulamalarda yol gösterici olabileceğini düşündük.

**Anahtar Kelimeler:** Çoklu İlaça Direnç, *Acineobacter*, *Klebsiella*, Antibiyotik Kombinasyonu

## Introduction

Increasing resistance to antibacterial drugs in gram-negative bacteria isolated from the community and especially from the hospital has become one of the most important health problems both in the world and our country (1,2). The increase in nosocomial infections caused by these bacteria increases patient morbidity and mortality, as well as prolongs the hospitalization period and causes economic losses with increased costs. The increase in multi-drug resistance in gram-negative bacteria is not parallel to the increase in the development of new antibacterials. As a result, it becomes increasingly difficult to find appropriate treatment options for infections caused by these bacteria (3). Again, the problems that these bacteria cause to clinicians by creating nosocomial epidemics and developing resistance to antibiotics used during treatment have brought both the use of old antibiotics such as colistin and the combined use of antibiotics (3,4). Combined use of antibiotics can have positive results, especially in the treatment of polymicrobial infections, in the presence of two separate infections that cannot be treated with a single antibiotic, in the treatment of infections of unknown origin, in providing a synergistic effect against antibiotic-resistant isolates, in the treatment of serious infections that may progress with high mortality, and in reducing the dose-related side effects of drugs (5).

*Acinetobacter* genus and *Enterobacteriaceae* family have an important place among gram-negative bacteria with increased antibacterial drug resistance. Both bacterial groups are frequently encountered as agents of health-care associated infections (6).

Among the genus *Acinetobacter*, *Acinetobacter baumannii* emerges as the most resistant to antibiotics and the most frequently isolated species from hospital infections (7). Among the *Enterobacteriaceae* family, *Klebsiella pneumoniae* strains, which secrete extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and/or are resistant to carbapenems, are the prominent species in hospital infections and the development of antibacterial resistance. It is also known that both species also cause hospital epidemics, prolong the length of hospital stay, and cause serious

increases in morbidity and mortality (6). The transferability and rapid spread of resistance mechanisms between different species in these bacteria, as well as the diversity by undergoing changes, cause problems in treatment and new treatment options should be evaluated and clinical applications should be facilitated. Studies on antimicrobial treatment of these infections are based on a limited number of patient cases, therefore, appropriate treatment could not be determined. This situation necessitated the investigation of different treatment options.

In this study, we aimed to evaluate the *in vitro* effects of various antibiotic combinations with E-test method and determine synergistic effective combinations that can be used in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections and ESBL and carbapenemase secreting gram-negative enteric bacteria infections.

## Materials and Methods

It was evaluated whether the combinations of colistin with trimethoprim-sulfamethoxazole, rifampicin, doxycycline, sulbactam, imipenem, tigecycline and chloramphenicol were synergistic effective *in vitro* in 20 colistin-susceptible but multidrug-resistant, 20 colistin- and multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains and 20 both ESBL and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from various and different clinical samples (sputum, urine, tracheal aspirate, blood, etc.).

Along with the classical identification systems, 20 *Acinetobacter baumannii* isolates resistant to at least three antibiotic groups, not including colistin, identified at the species level with the Phoenix™ automated identifier system, and 20 more *Acinetobacter baumannii* isolates resistant to at least three antibiotic groups, including colistin, and 20 *Klebsiella pneumoniae* isolates, which were determined to produce ESBL by the Phoenix™ automated system, were determined to be resistant to carbapenems and were found to be carbapenemase positive by the modified Hodge test, were included in the study. The isolates were passaged into eppendorfs containing brain heart infusion broth and stored in a deep freezer (-80 °C) until the study day. *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella*

*pneumoniae* isolates removed from the deep freeze were passaged into shed eosin methylene blue agar (EMB) and sheep blood agar media before the study. Bacterial colonies obtained purely from fresh culture passages after 18-20 hours incubation at 37°C in aerobic environment, in normal atmosphere, were used in the study. *Pseudomonas aeruginosa* American Type Culture Collection (ATCC) 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922 were used as control strains.

Minimum inhibitory concentration (MIC) values of colistin, trimethoprim-sulfamethoxazole, rifampicin, sulbactam, imipenem, tigecycline and chloramphenicol against *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* isolates were determined by E-test method (Liofilchem MIC Test Strip®, Italy). In line with the manufacturer's recommendations for the E-test; Suspensions equivalent to 0.5 McFarland Standard turbidity were obtained in Mueller Hinton broth of the pure bacterial colonies obtained. The prepared co-suspensions were inoculated on the surface of the pre-prepared and dried Mueller Hinton agar-containing medium plates with the help of a sterile cotton swab. It was waited for 15-20 minutes before placing the E-test strips. E-test strips of antibiotics were placed on the medium plates with the help of forceps. The point where the elliptical inhibition zone intersects with the strip was accepted as the numerical MIC value after 16-20 hours of incubation at 35±2°C in aerobic environment, in normal atmosphere. The MIC values of each antibiotic were measured in accordance with the manufacturer's and the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recommendations, and the results were evaluated based on the breakpoints of CLSI.

In order to determine the fractional inhibitory concentration (FIC) index with the E-test, first the MIC values of the A and B antibiotics in the combination were recorded. To determine the combination MIC value, first strip B was placed in the medium and after one hour of incubation at 37 °C, strip A was placed in place of B so that the concentration lines were exactly coincident. After incubating the media at 35±2 °C for 16-20 hours, the MIC value of A was recorded in the presence of B at the point where the inhibition zone diameter cuts the edge of the E-test strip. The same procedure was repeated with A and then B antibiotics. FIC index was calculated according to the formula below to determine the effectiveness of the combination.

$$\text{FIC A} = \frac{\text{MIC of A in the presence of B}}{\text{MIC of A alone}}$$

$$\text{FIC B} = \frac{\text{MIC of B in the presence of A}}{\text{MIC of B alone}}$$

$$\text{FIC index} = \text{FIC A} + \text{FIC B}$$

If the FIC index value is 0.5 and below ( $\leq 0.5$ ), the effect of combination is synergistic, if it is between 0.5 and one (0.5-1), it is additive, if it is greater than one but less than two ( $>1 < 2$ ), the combination is ineffective, two or more [ $\geq 0.5$ ] 2] was evaluated as antagonistic.

A total of 420 FIC values were calculated for seven antibiotic combinations evaluated in 40 multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and 20 *Klebsiella pneumoniae* isolates included in the study. Not only synergistic effects but also additive, ineffective and antagonistic interactions were noted.

### Statistical Analysis

Statistical analysis of the data obtained from the *in vitro* interactions of colistin-rifampicin, colistin-trimethoprim/sulfamethoxazole, colistin-doxycycline, colistin-sulbactam, colistin-imipenem, colistin-tigecycline, colistin-chloramphenicol combinations was performed using Fisher's chi-square test in SPSS (SPSS Incorporated, Chicago).

## Results

While 100% of the colistin-susceptible *Acinetobacter baumannii* isolates were resistant to trimethoprim-sulfamethoxazole, 50% to rifampicin, 80% to doxycycline, 65% to sulbactam, they were 100% resistant to imipenem and chloramphenicol. All isolates were found to be susceptible to tigecycline (Table 1). It was determined that *Acinetobacter baumannii* isolates that were resistant to colistin were 5% resistant to trimethoprim-sulfamethoxazole, 70% to rifampicin, 75% to doxycycline, 35% to sulbactam, 80% to imipenem and 100% to chloramphenicol. Again, all of these isolates were found to be susceptible to tigecycline (Table 2). 15% of *Klebsiella pneumoniae* strains were found to be resistant to colistin, 85% to trimethoprim-sulfamethoxazole, 65% to rifampicin, 80% to doxycycline, 100% to sulbactam, 100% to imipenem, meropenem and ertapenem, and 75% to chloramphenicol. Again, all of these strains were found to be susceptible to tigecycline (Table 3).

Totally 420 FIC values were calculated for 60 multidrug resistant bacteria included in the study, and 28.8% (121/420) of the combinations were found synergistic, 56.2% (236/420) additive, 15% (63/420) were indifferent. There was 35% (50/140) synergistic, 50% (70/140) additive, 14.3% (20/140) indifferential interaction in colistin-sensitive *Acinetobacter baumannii* strains, and a synergistic effect of 21.4% (30/140), additive effect of 64.3% (90/140) and indifferent effect of 14.3% (20/140) in colistin-resistant strains. It was determined that the synergistic effect was 29.3% (41/140), the additive effect was 54.3% (76/140), and the indifferential effect was 16.4% (23/140) in *Klebsiella pneumoniae* strains. The additive effect was the most obtained result in all bacterial groups.

The most common effect in antibiotic combinations other than colistin-tigecycline and colistin-chloramphenicol combinations in colistin susceptible *Acinetobacter baumannii* isolates and colistin-chloramphenicol combination in colistin resistant *Acinetobacter baumannii* isolates, and colistin-sulbactam and colistin-tigecycline combinations in ESBL and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* was additive effect. An antagonistic effect was not observed with any antibiotic combination (Tables 4-6).

The synergistic effect was most common in the colistin-tigecycline combination in all multi-drug resistant bacterial groups, 80% in the colistin-sensitive *Acinetobacter baumannii* group, 45% in the colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* group, and 80% in the *K. pneumoniae* group (Tables 4-6).

When colistin-sensitive and resistant *Acinetobacter baumannii* isolates were compared in terms of the effects of all antibiotic combinations; 35.7% of the susceptible ones were synergistic and 50% of them were additive, while 21.4% of the resistant ones were synergistic and 64.3% of them were additive. It was determined that the additive effect was more. These differences were also found to be statistically significant ( $p < 0.05$ ) (Table 7).

When it is examined whether there is a statistical relationship between being sensitive or resistant to any antibiotic and being synergistic or additive effect of antibiotic combinations in multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae*, it was determined that antibiotic combinations showed a synergistic effect in 0.3% of them, and a synergistic effect was observed in 8% of those resistant to any antibiotic. This

difference was found to be statistically significant ( $p < 0.05$ ) (Table 8).

Antibiotic combinations showed a synergistic effect in 83.3% of those who were sensitive to any antibiotic, while a synergistic effect was observed in 8% of those who were resistant to any antibiotic in ESBL and carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae*. This difference was found to be statistically significant ( $p < 0.05$ ) (Table 8).

## Discussion

Colistin resistant *Acinetobacter baumannii* strains can be seen in different rates in varied countries and regions worldwide (8). In a recent publication, the data of Organization for Economic Cooperation and Development countries between 2000 and 2016 were compiled and it was determined that carbapenem resistance increased 3 times in *Enterobacteriaceae* family and non-fermentatives in 16 years period (9). During this period, colistin was considered the treatment of last resort for *Acinetobacter baumannii* infections.

In various studies conducted in our country, resistance rates for *Acinetobacter baumannii* are 77-86% for imipenem, 78-93% for ciprofloxacin, 50-63% for amikacin, 53-69% for gentamicin, 88% for trimethoprim-sulfamethoxazole, 6-8% tigecycline (10,11).

Clinical reflection of multidrug-resistant bacteria is in the form of prolonged hospital stay, nosocomial outbreaks, treatment failure, and increased mortality (6,9).

**Table 1: Antibiotic susceptibility of *A. baumannii* isolates sensitive to colistin according to E-test method (n=20)**

	CT	SXT	RIF	DX	SB	IMP	TIG	CL
<b>Sensitive (%)</b>	100	0	25	0	0	0	100	0
<b>Intermediate (%)</b>	0	0	25	20	35	0	0	0
<b>Resistant (%)</b>	0	100	50	80	65	100	0	100

CT: Colistin, SXT: Trimetoprim-sulfametoksazol, RIF: Rifampicin, DX: Doxycycline, SB: Sulbactam, IMP: Imipenem, TIG: Tigecycline, CL: Chloramphenicol

**Table 2: Antibiotic susceptibility of *A. baumannii* isolates resistant to colistin according to E-test method (n=20)**

	CT	SXT	RIF	DX	SB	IMP	TIG	CL
<b>Sensitive (%)</b>	0	95	30	0	30	0	100	0
<b>Intermediate (%)</b>	0	0	0	25	35	20	0	0
<b>Resistant (%)</b>	100	5	70	75	35	80	0	100

CT: Colistin, SXT: Trimetoprim-sulfametoksazol, RIF: Rifampicin, DX: Doxycycline, SB: Sulbactam, IMP: Imipenem, TIG: Tigecycline, CL: Chloramphenicol

**Table 3: Antibiotic susceptibility of *K. pneumoniae* isolates according to E-test method (n=20)**

	CT	SXT	RIF	DX	SB	IMP	TIG	CL
<b>Sensitive (%)</b>	85	15	0	20	0	0	100	25
<b>Intermediate (%)</b>	0	0	35	0	0	0	0	0
<b>Resistant (%)</b>	15	85	65	80	100	100	0	75

CT: Colistin, SXT: Trimetoprim-sulfametoksazol, RIF: Rifampicin, DX: Doxycycline, SB: Sulbactam, IMP: Imipenem, TIG: Tigecycline, CL: Chloramphenicol

Despite the escalating threat of multidrug-resistant gram-negative bacteria, there is so few new drugs has recently emerged

**Table 4: Effects of antibiotic combinations on multidrug-resistant *A. baumannii* isolates susceptible to colistin (n=20)**

	FIC					
	Synergistic		Additive		Indifferent	
	n	%	n	%	n	%
CT-SXT	7	35	13	65	0	0
CT-RIF	9	45	11	55	0	0
CT-DX	9	45	11	55	0	0
CT-SB	3	15	17	85	0	0
CT-IMP	6	30	14	70	0	0
CT-TIG	16	80	4	20	0	0
CT-CL	0	0	0	0	20	100
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>35</b>	<b>70</b>	<b>50</b>	<b>20</b>	<b>14.3</b>

CT: Colistin, SXT: Trimetoprim-sulfametoksazol, RIF: Rifampicin, DX: Doxycycline, SB: Sulbactam, IMP: Imipenem, TIG: Tigecycline, CL: Chloramphenicol

**Table 5: Effects of antibiotic combinations on colistin-resistant multidrug-resistant *A. baumannii* isolates (n=20)**

	FIC					
	Synergistic		Additive		Indifferent	
	n	%	n	%	n	%
CT-SXT	4	20	16	80	0	0
CT-RIF	6	30	14	70	0	0
CT-DX	5	25	15	75	0	0
CT-SB	2	10	18	90	0	0
CT-IMP	4	20	16	80	0	0
CT-TIG	9	45	11	55	0	0
CT-CL	0	0	0	0	20	100
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>21.4</b>	<b>90</b>	<b>64.3</b>	<b>20</b>	<b>14,3</b>

CT: Colistin, SXT: Trimetoprim-sulfametoksazol, RIF: Rifampicin, DX: Doxycycline, SB: Sulbactam, IMP: Imipenem, TIG: Tigecycline, CL: Chloramphenicol

**Table 6: Effects of antibiotic combinations on multidrug-resistant *K. pneumoniae* isolates (n=20)**

	FIC					
	Synergistic		Additive		Indifferent	
	n	%	n	%	n	%
CT-SXT	3	15	17	85	0	0
CT-RIF	7	35	13	65	0	0
CT-DX	6	30	14	70	0	0
CT-SB	0	0	0	0	20	100
CT-IMP	4	20	16	80	0	0
CT-TIG	16	80	4	20	0	0
CT-CL	5	25	12	60	3	15
<b>Total</b>	<b>41</b>	<b>29.3</b>	<b>76</b>	<b>54.3</b>	<b>23</b>	<b>16.4</b>

CT: Colistin, SXT: Trimetoprim-sulfametoksazol, RIF: Rifampicin, DX: Doxycycline, SB: Sulbactam, IMP: Imipenem, TIG: Tigecycline, CL: Chloramphenicol

that can be used to treat infections with these bacteria (3). The problems experienced by clinicians under current conditions have brought both the reuse of old antibiotics such as colistin and the combined use of antibiotics.

Although combination therapy is mainly used to prevent the development of resistance to antibiotics, it can have positive results especially in the treatment of multibacterial infections, in providing a synergistic effect against resistant isolates, in the treatment of serious infections with high mortality and in reducing the dose-related side effects of drugs. There are no randomized studies supporting monotherapy in severe infections, and combination therapy is recommended because of severe morbidity and mortality.

Combination of antimicrobial agents acting by different mechanisms may result in a better pharmacodynamic effect or synergy as well as cause antagonism. The absence of antagonistic interactions between antibiotics is of great clinical importance. For this reason, it has been emphasized in many studies that determining the *in vitro* effects of antibiotic combinations that can be used in the treatment of multi-drug-resistant microorganisms, especially the synergistic effects, may be guiding (12).

The E-test method is a method that requires less effort than other synergy tests, but shows a high correlation with the checkerboard method. In a study by Manno et al. (13), the combination of different antimicrobials in 131 *Burkholderia cepacia* isolates was compared with these two methods, and it was determined that there was a 90% correlation between

**Table 7: Comparison of the effects of being susceptible or resistant to colistin and the effects of antibiotic combinations in multidrug resistant *A. baumannii* isolates**

	FIC						Total	n	%
	Synergistic		Additive		Indifferent				
	n	%	n	%	n	%			
<b>Sensitive</b>	50	35.7	70	50.0	20	14.3	140	100	
<b>Resistant</b>	30	21.4	90	64.3	20	14.3	140	100	
<b>Total</b>	80	28.6	160	57.1	40	14.3	280	100	

Chi-square=7.56; SD=2; p=0.023

**Table 8: Comparison of antibiotic susceptibilities and the effects of antibiotic combinations in *K. pneumoniae* isolates that are resistant to multiple drugs (n=20)**

	FIC					
	Synergistic		Additive		Total	
	n	%	n	%	n	%
<b>MIC Sensitive</b>	35	83.3	7	16.7	42	100
<b>MIC Resistant</b>	6	8.0	69	92.0	75	100
<b>MIC Total</b>	41	29.3	76	54.3	140	100

Chi-square=63.8; SD=1; p=0.0001

E-test and checkerboard methods. On the other hand, it has been shown by Bonapace et al. (14) that using an irregular methodology that does not comply with the manufacturer's recommendations while applying the E-test method may increase the difference.

Colistin was out of use after the 1970s due to its significant side effects and the discovery of less toxic antibiotics. However, with the emergence of multi-drug resistant gram-negative strains and reporting that these strains are susceptible to colistin, its use has come to the fore again (15). However, with the widespread use of colistin, which is thought to be very effective in the treatment of infections caused by bacteria with multiple antibiotic resistance, resistance has been reported in *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* strains (15). The highest resistance rates are reported from Asia, followed by Europe. However, it is observed that colistin heteroresistant *Acinetobacter baumannii* strains are more numerous than colistin resistant strains (16). In the development of this resistance, it is very important to use colistin alone in the treatment of infections caused by resistant bacteria. In order to prevent the development of resistance, it is recommended to avoid the use of colistin alone in such infections and to prefer combination therapy (17).

Meropenem colistin combination is one of the most commonly used combinations in the clinical setting. While decreased susceptibility to imipenem is observed in some strains, resistance to meropenem can be detected at high MIC levels at the same time. Using imipenem E-tests may give an idea about meropenem combination effects but doesn't reflect the exact result of combinations. Using only imipenem is a limitation of our study (18).

In a study comparing the use of colistin alone and in combination in a group of 18 patients infected with *Klebsiella pneumoniae* that produces KPC, treatment success was found to be 14% when used alone, while 73% success was achieved with combination therapy (19).

Colistin contributes to the activity of carbapenems by increasing the outer membrane permeability of bacteria. Montero et al. (20) state that the combination of imipenem, colistin, rifampicin or tobramycin may be effective in high levels of imipenem resistance.

In our study, although most of the strains were resistant to imipenem (only four strains were moderately susceptible), 30% in the colistin-susceptible and multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* group, 20% in the colistin- and multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* group. In the ESBL and carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* group, 20% synergistic effect was observed, but the additive effect was the highest. No indifferent and antagonistic effects were encountered.

Although the efficacy of rifampicin against multidrug-resistant strains is not fully known, synergistic activity of rifampicin with colistin or sulbactam has been demonstrated against these strains in *in vitro* studies. It has been reported that the combination may be beneficial in severe infections (20). Li et al. (21) found that the combination of colistin and rifampicin had a synergistic effect on colistin-sensitive *Acinetobacter baumannii* strains.

In our study, with the combination of colistin and rifampicin, a synergy rate of 45% in the colistin-susceptible *Acinetobacter baumannii* group, 30% in the colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* group, and 35% in the *Klebsiella pneumoniae* group was detected. There was no differential or antagonistic effect as in imipenem.

Again, *in vitro* studies have shown that tigecycline increases the effect of colistin against *Acinetobacter* (22). In a recent study, tigecycline was found to be effective in eight KPC-producing *Enterobacteriaceae* family members (four *Klebsiella pneumoniae*, two *Escherichia coli*, one *Enterobacter cloacae* and one *Serratia marcescens*). The combination of colistin and meropenem was examined *in vitro* with the time-dependent killing method, and no effective bactericidal activity was detected with the use of tigecycline, colistin and meropenem alone, while the combination of tigecycline and colistin created a bactericidal effect in all strains and the synergistic effect was found to be quite high. In *Klebsiella pneumoniae* strains producing KPC, clinical success rates were found to be 14%, 60%, and 71% with colistin monotherapy, tigecycline monotherapy, and colistin-tigecycline combination (23). In another study, early death rates (within the first 7 days of treatment) in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia were found to be 22% with colistin, 40% with tigecycline, and 8% with the combination of both drugs (24).

The combination of colistin-tigecycline was the combination with the most synergistic effect in our study, and it was found to show synergy at a rate of 80% in the colistin-sensitive *Acinetobacter baumannii* group and *Klebsiella pneumoniae* group, and 45% in the colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* group. In addition, none of the bacteria used in our study were resistant to tigecycline.

Sulbactam is bactericidal to *Acinetobacter baumannii*, but its use alone should be avoided due to increased resistance. There are successful combinations of sulbactam with colistin and meropenem (25).

In our study, colistin sulbactam combination was found to be 100% ineffective in the *Klebsiella pneumoniae* group, 15% in the colistin-sensitive *Acinetobacter baumannii* group, and 10% synergistically in the colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* group. None of these two groups were found to be ineffective.

*In vitro* synergistic effects have been found against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in combinations of colistin with rifampicin, minocycline, ceftazidime, imipenem or azithromycin. There are also suggestions that doxycycline or minocycline can be added to the combination of polymyxin and sulbactam in the treatment of multidrug-resistant infections (26).

In a study conducted in Turkey, the activities of antibiotic combinations that are not used routinely against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* strains were evaluated, and the combination of colistin and rifampicin against the four *Acinetobacter baumannii* strains used in the study showed 100% synergy. It has been determined that the combinations of colistin with meropenem and azithromycin have synergistic effects against three *Acinetobacter baumannii* strains, while the combination of colistin and doxycycline generally has a synergistic and additive effect (27).

In our study, it was determined that the colistin-doxycycline combination showed the most additive effect in all groups, 45% synergistic in the colistin-sensitive *Acinetobacter baumannii* group, 25% in the colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* group, and 30% in the *Klebsiella pneumoniae* group, and no indifference or antagonism was encountered.

In a study evaluating the *in vitro* effect of colistin and trimethoprim-sulfamethoxazole combination against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* strains, it was found that the combination showed a synergistic effect against all strains and was bactericidal (28).

The combination of colistin and trimethoprim-sulfamethoxazole was found to have a synergistic effect of 35% against colistin-susceptible *Acinetobacter baumannii* strains, 20% against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* strains, and 15% against *Klebsiella pneumoniae* strains. The most detected effect against all bacteria was additive effect with the combination of colistin and trimethoprim-sulfamethoxazole.

Although there is no study in the literature about the combination of colistin and chloramphenicol, a combination of colistin and chloramphenicol was evaluated in our study, and it was determined that this combination, which was considered ineffective against both *Acinetobacter baumannii* groups, showed a 25% synergistic effect and 60% an additive effect in the *Klebsiella pneumoniae* group.

## Conclusion

Dominant clones were not investigated in the isolates evaluated in our study. It does not seem possible at the moment to say how many of the multi-resistant bacteria in our center

are covered by the combinations with synergistic effects due to the fact that they have a synergistic effect. However, since the effect to be achieved with combinations is more strain-specific, it would be an appropriate approach to evaluate the effect by *in vitro* research, if possible, in each patient to whom the combination will be administered.

Although further studies with more strains and different antibiotic combinations are needed for the appropriate treatment of infections due to multi-drug-resistant gram-negative bacteria, it should be known that not all *in vitro* studies reflect the *in vivo* environment, as in this study, most of the studies on combination therapies are *in vitro*. Since *in vitro* studies are based on animal experiments or case observations, the data obtained in these studies should be supported by controlled clinical studies.

## Ethics

**Ethics Committee Approval:** No ethics committee approval is required for this study.

**Informed Consent:** There isn't any patient information used in this study.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

## Authorship Contributions

Concept: G.Ç., Z.B., İ.A.K., A.Y., H.K., D.G., H.G., İ.B., Design: G.Ç., Z.B., İ.A.K., A.Y., H.K., D.G., H.G., İ.B., Data Collection or Processing: G.Ç., Z.B., İ.A.K., A.Y., H.K., D.G., H.G., İ.B., Analysis or Interpretation: G.Ç., Z.B., İ.A.K., A.Y., H.K., D.G., H.G., İ.B., Literature Search: G.Ç., Z.B., İ.A.K., A.Y., H.K., D.G., H.G., İ.B., Writing: G.Ç., Z.B., İ.A.K., A.Y., H.K., D.G., H.G., İ.B.

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

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

## References

1. Sievert DM, Ricks P, Edwards JR, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013;34:1-14.
2. de Kraker ME, Jarlier V, Monen JC, et al. The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19:860-868.
3. Jeannot K, Bolard A, Plésiat P. Resistance to polymyxins in Gram-negative organisms. *Int J Antimicrob Agents.* 2017;49:526-535.
4. Srinivas P, Rivard K. Polymyxin Resistance in Gram-negative Pathogens. *Curr Infect Dis Rep.* 2017;19:38.
5. Kumar A, Zarychanski R, Light B, et al. Early combination antibiotic therapy yields improved survival compared with monotherapy in septic shock: a propensity-matched analysis. *Crit Care Med.* 2010;38:1773-1785.
6. Morris S, Cerceo E. Trends, Epidemiology, and Management of Multi-Drug Resistant Gram-Negative Bacterial Infections in the Hospitalized Setting. *Antibiotics (Basel).* 2020;9:196.



7. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, et al. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*. 2012;3:243-250.
8. Dandachi I, Azar E, Hamouch R, et al. *Acinetobacter* spp in a Third World Country with Socio-economic and Immigrants Challenges. *J Infect Dev Ctries*. 2019;13:948-955.
9. Xie R, Zhang XD, Zhao Q, et al. Analysis of global prevalence of antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* infections disclosed a faster increase in OECD countries. *Emerg Microbes Infect*. 2018;7:31.
10. Şafak B, Kılınç O, Tunç N. Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılık oranlarının incelenmesi (2010-2016). *FLORA*. 2016;21:77-81.
11. Eroğlu C, Ünal N, Karadağ A, et al. Çeşitli klinik örneklerden 2006-2011 yılları arasında izole edilen *Acinetobacter* türleri ve antibiyotik duyarlılıkları. *Türk Hij Den Biyol Derg*. 2016;73:25-32.
12. Haddad FA, Van Horn K, Carbonaro C, et al. Evaluation of antibiotic combinations against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* using the E-test. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005;24:577-579.
13. Manno G, Ugolotti E, Belli ML, Fenu ML, Romano L, Cruciani M. Use of the E test to assess synergy of antibiotic combinations against isolates of *Burkholderia cepacia* complex from patients with cystic fibrosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2003;22:28-34.
14. Bonapace CR, White RL, Friedrich LV, et al. Evaluation of antibiotic synergy against *Acinetobacter baumannii*: a comparison with Etest, time-kill, and checkerboard methods. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2000;38:43-50.
15. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:3430-3436.
16. Qureshi ZA, Hittle LE, O'Hara JA, et al. Colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*: beyond carbapenem resistance. *Clin Infect Dis*. 2015;60:1295-1303.
17. Pachón-Ibáñez ME, Jiménez-Mejías ME, Pichardo C, et al. Activity of tigecycline (GAR-936) against *Acinetobacter baumannii* strains, including those resistant to imipenem. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:4479-4481.
18. Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65:1119-1125.
19. Lee J, Patel G, Huprikar S, et al. Decreased susceptibility to polymyxin B during treatment for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection. *J Clin Microbiol*. 2009;47:1611-1612.
20. Montero A, Ariza J, Corbella X, et al. Efficacy of colistin versus beta-lactams, aminoglycosides, and rifampin as monotherapy in a mouse model of pneumonia caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:1946-1952.
21. Li J, Nation RL, Owen RJ, et al. Antibigrams of multidrug-resistant clinical *Acinetobacter baumannii*: promising therapeutic options for treatment of infection with colistin-resistant strains. *Clin Infect Dis*. 2007;45:594-598.
22. Pantopoulou A, Giamarellos-Bourboulis EJ, Raftogannis M, et al. Colistin offers prolonged survival in experimental infection by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: the significance of co-administration of rifampicin. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;29:51-55.
23. Principe L, D'Arezzo S, Capone A, et al. In vitro activity of tigecycline in combination with various antimicrobials against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2009;8:18.
24. Pournaras S, Vrioni G, Neou E, et al. Activity of tigecycline alone and in combination with colistin and meropenem against *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing Enterobacteriaceae strains by time-kill assay. *Int J Antimicrob Agents*. 2011;37:244-247.
25. Kontopidou F, Giamarellou H, Katerelos P, et al. Infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* among patients in intensive care units in Greece: a multi-centre study on clinical outcome and therapeutic options. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20:O117-O123.
26. Timurkaynak F, Can F, Azap OK, et al. In vitro activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units. *Int J Antimicrob Agents*. 2006;27:224-228.
27. Lee CS, Doi Y. Therapy of Infections due to Carbapenem-Resistant Gram-Negative Pathogens. *Infect Chemother*. 2014;46:149-164.
28. Vidailac C, Benichou L, Duval RE. In vitro synergy of colistin combinations against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:4856-4861.

# Musculoskeletal System Pain and Related Factors During Online Education in the COVID-19 Pandemic among Ankara University Faculty of Medicine Students, Turkey

COVID-19 Pandemisinde Uzaktan Eğitim Alan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğrencilerinde, Kas-İskelet Sistemi Ağrısı ve İlişkili Faktörler

Seçilay Güneş<sup>1</sup>, Bahar Halenur Ulusoy<sup>2</sup>, Elif Aygen<sup>2</sup>, Emirhan Murat<sup>2</sup>, Beyza Köklüoğlu<sup>2</sup>, Buse Arzum Kuzyaka<sup>2</sup>, Şevval Aydın<sup>2</sup>, Müjgan Necioğlu<sup>2</sup>, İrem Kar<sup>3</sup>, Şehim Kutlay<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara University Faculty of Medicine, Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Ankara, Turkey

<sup>2</sup>Ankara University Faculty of Medicine 4<sup>th</sup> Year Student, Ankara, Turkey

<sup>3</sup>Ankara University Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, Ankara, Turkey

## Abstract

**Objectives:** This study aims to determine the prevalence of musculoskeletal pain (MSP) and its related factors among Ankara University Faculty of Medicine students during online education in the coronavirus disease-2019 (COVID-19) pandemic and to investigate the effects of the MSP on students' quality of life.

**Materials and Methods:** This cross-sectional study was conducted among medical students who responded online questionnaire between April and July 2021. The frequency of MSP (Nordic Musculoskeletal Questionnaire), level of physical activity (International Physical Activity Questionnaire-Short Form), and depressive symptoms [Beck Depression Inventory (BDI)], and the health status [Short Form-36 Health Survey Questionnaire (SF-36)] of the students were evaluated.

**Results:** A total of 233 students (65.7% female) with a mean age of 20.1±1.5 years responded to our survey. By individual body side, the most commonly affected body regions within one year were upper back (79.4%), neck (71.7%), lower back (69.5%), and shoulders (60.1%), respectively. Twelve-month MSP prevalence was higher in female students at the neck (p=0.01) and upper back (p=0.001). Body mass index, smoking, and time spent on technology-based devices were not related to MSP prevalence. Physical activity level was significantly lower in those with upper back and low back pain. BDI scores were found to be significantly higher in those with neck, upper back, lower back, and shoulder pain in the 7-day-period, compared to those without. The SF-36 scores of those with MSP was found to be significantly lower than those without.

**Conclusion:** The prevalence of MSP was very high among medical students receiving online education during the COVID-19 pandemic. Depressive symptoms were more pronounced in students with MSP and it was evident that the MSP affected the quality of life negatively. Preventive measures should be considered to reduce MSP in this population.

**Key Words:** Musculoskeletal Pain, Physical Activity, Depression, Medical Students, Online Education, Quality of Life, COVID-19

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Seçilay Güneş

Ankara University Faculty of Medicine, Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Ankara, Turkey

Phone: +90 532 556 20 57 E-mail: secilaygunes@ankara.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0002-1231-7094

Received/Geliş Tarihi: 27.09.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 05.11.2021

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.

All content are under CC BY-NC-ND license.



## Öz

**Amaç:** Bu çalışma, koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19) pandemisi sürecinde online eğitim alan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi öğrencilerinde kas-iskelet sistemi ağrı prevalansını, ağrı ile ilişkili faktörleri belirlemeyi ve kas-iskelet sistemi ağrılarının öğrencilerin yaşam kalitesi üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

**Gereç ve Yöntem:** Kesitsel olarak yürütülen bu çalışma, Nisan-Temmuz 2021 tarihleri arasında çevrimiçi olarak uygulanan anketi yanıtlayan tıp öğrencileri arasında yapıldı. Kas-iskelet sistemi ağrısı, Nordic Kas İskelet Sistemi anketiyle, fiziksel aktivite düzeyi Uluslararası Fiziksel Aktivite Anketi-Kısa Form ile, depresif belirtiler Beck Depresyon Envanteri (BDI) ile, yaşam kaliteleri Kısa Form-36 Sağlık Anketi Anketi (SF-36) ile değerlendirildi.

**Bulgular:** Araştırma anketimize yaş ortalamaları 20,1±1,5 yıl olan toplam 233 öğrenci (%65,7 kadın) yanıt verdi. Son bir yıl içinde en sık ağrı görülen vücut bölgeleri sırt (%79,4), boyun (%71,7), bel (%69,5) ve omuzlardı (%60,1). Son bir yıl içinde görülen boyun (p=0,01) ve sırt (p=0,001) ağrısı kadınlarda anlamlı derecede yüksekti. Vücut kitle indeksi, sigara kullanımı ve teknolojik cihazlarda geçirilen süre kas-iskelet sistemi ağrısı ile ilişkili değildi. Sırt ve bel ağrısı olanlarda fiziksel aktivite düzeyi anlamlı olarak daha düşüktü. Son 7 günde boyun, sırt, bel ve omuz ağrısı olanlarda BDI puanları olmayanlara göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Kas-iskelet sisteminde ağrısı olanların SF-36 puanları olmayanlara göre anlamlı derecede düşük bulundu.

**Sonuç:** COVID-19 pandemisi sürecinde çevrimiçi eğitim alan tıp öğrencileri arasında kas-iskelet sisteminde ağrı prevalansı çok yüksekti. Ağrısı olan öğrencilerde depresif belirtiler daha belirgindi ve ağrının yaşam kalitesini olumsuz etkilediği görüldü. Bu popülasyonda kas-iskelet sistemi ağrısını azaltmak için önleyici tedbirler dikkate alınmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Kas İskelet Sistemi Ağrısı, Fiziksel Aktivite, Depresyon, Tıp Öğrencileri, Uzaktan Eğitim, Yaşam Kalitesi, COVID-19

## Introduction

The coronavirus disease-2019 (COVID-19), which emerged in Wuhan, China in December 2019, was declared as a pandemic by the World Health Organization on March 11, 2020. The governments began to take various quarantine preventions in order to slow the spread of the virus. Among the preventive measures taken in Turkey, along with the curfews, education on online platforms was at the forefront. In March 2020, face-to-face education was suspended and online education has become an important part of the lives of all students, including university. This major change in the learning environment brought about a significant increase in the time that students spent with technological devices in various forms such as laptops, computers, mobile phones, or tablets. The uncertainty in the education system, whether each student has his/her own study room or computer, and the conditions of the home environment during online education increased anxiety and depressive symptoms (1). In addition to all these, curfews also caused students to remain inactive.

It is known that certain positions like prolonged standing or sitting (2), long hours of computer use (3), lack of physical activity (4), and depression (5) are triggers for musculoskeletal pain (MSP). In studies evaluating MSP among medical school students before the pandemic has reported that at least 65.1% of medical students complained of pain in at least one body region within a year (6). To the best of our knowledge, there is no study evaluating MSP and related factors during online education among medical students. The primary aim of this study is to determine the prevalence of MSP and to explore associated factors among Ankara University Faculty of Medicine students during online education in the COVID-19 pandemic.

The secondary aim is to determine the impact of MSP on the students' quality of life.

## Materials and Methods

This cross-sectional study was conducted between April-July 2021 in line with the principles of the Declaration of Helsinki. It was approved by the Ankara University Faculty of Medicine Students Ethics Committee (date: 25/03/2021, number: 79366). It was carried out as a web-based assessment via an online form. Ankara University Faculty of Medicine students aged 18 and over who volunteered to participate were involved in the study. Those with a history of musculoskeletal operation, a disease affecting the musculoskeletal system, with a diagnosis of depressive disorder, and who were 6<sup>th</sup> year of medical school were excluded.

Demographic and clinical characteristics of participants such as age, sex, body mass index (BMI), residence status before and after the pandemic, time spent on technology-based activities for education, was recorded.

Alterations of MSP among students were assessed with the standardized Turkish version of the Nordic Musculoskeletal Questionnaire (NMQ) (7). The NMQ is designed to assess the presence of musculoskeletal alterations covering nine different parts of the body: neck, shoulders, upper back, elbows, wrists/hands, lower back, hips/thighs, knees, and ankles/feet. All items are dichotomous and answered as "yes/no".

Physical activity was evaluated using the Turkish version of the International Physical Activity Questionnaire-Short Form (IPAQ-SF), which contains 7 questions (8). The questionnaire referred to the last 7 days and asked about walking, moderate-intensity activities, vigorous-intensity activities, and sitting time.

Physical activity was estimated by multiplying the metabolic equivalent (MET) score of each activity by the total amount of minutes spent per week. It was reported as a continuous measure and expressed as MET minutes per week (MET-min/week). Classified as physically inactive (<600 MET-min/week), low physical activity level (600-3000 MET-min/week), and adequate physical activity level (>3000 MET-min/week).

The rates of self-reported depression were assessed using the Beck Depression Inventory (BDI) (9). This questionnaire consists of 21 items, and each assesses a symptom related to depression during the past 2 weeks. Each item is scored on a 4-point scale from 0 to 3, with higher scores indicating severe symptoms. The total score is the sum of scores of all items and is calculated from 63 (10). A total score of 0 to 9 indicates minimum, 10 to 16 mild, 17 to 29 moderate, and 30 to 63 severe depression.

The health status of the students was evaluated with the Short Form-36 Health Survey Questionnaire (SF-36) consisting of eight scales: physical functioning, role physical, bodily pain, general health, vitality, social functioning, role emotional, and mental health (10,11). Higher scores were related to good health status.

### Statistical Analysis

Data were summarized as the mean  $\pm$  standard deviation and median (minimum-maximum) for continuous variables and frequencies (percentiles) for the categorical variables. The Student's t-test or Mann-Whitney U test was used for two group comparisons, depending on the distributional properties of the data. Categorical variables were compared using the chi-square or Fisher's exact test as appropriate. The data was analyzed using the SPSS 11.5 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## Results

A total of 233 students with an average age of  $20.1 \pm 1.5$  years responded to our survey. There were 153 (65.7%) females and most of the participants were year 2 students. Seventy-four percent of the participants stated that they attended more than half of the online training. The time spent on technology-based devices was found to be  $3.8 \pm 2.3$  hours. The participants rate the comfort level of the environment in which they participated in online education  $5.7 \pm 2.07$  out of 10 and 49% of them stated that they preferred face-to-face education. 83% of students had severe depression according to BDI and 41% of them were physically inactive (Table 1).

By individual body side, the most commonly affected body regions within one year were upper back (79.4%), neck (71.7%), lower back (69.5%), and shoulders (60.1%) respectively. The 7-day period prevalence was also similar (Table 2). Statistically significant differences in 12-month MSP prevalence were noted in female students at the neck ( $p=0.01$ ) and upper back

**Table 1: Demographic characteristics of medical students (n=233)**

<b>Age (y)</b>	20.1 $\pm$ 1.5 20 (18-27)
<b>Sex n (%)</b>	
Female	153 (65.7)
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	22.1 $\pm$ 3.6 21.6 (16.1-45.7)
<b>Year of study n (%)</b>	
1 <sup>st</sup>	65 (27.9)
2 <sup>nd</sup>	68 (29.3)
3 <sup>rd</sup>	49 (21.2)
4 <sup>th</sup>	34 (14.7)
5 <sup>th</sup>	16 (6.9)
<b>State of being COVID n (%)</b>	
Yes	35 (15.0)
<b>Smoking n (%)</b>	18 (7.7)
<b>Weight-before pandemic</b>	64.5 $\pm$ 14.9 62 (40-140)
<b>Weight-during pandemic</b>	64.3 $\pm$ 14.1 62 (39-139)
<b>Residence status before pandemic n (%)</b>	
Dorm	76 (32.6)
Home-with family	127 (54.5)
Home-with relatives	3 (1.3)
Home-with friends	18 (7.7)
Home-alone	9 (3.9)
<b>Residence status after pandemic n (%)</b>	
Dorm	2 (0.9)
Home-with family	220 (94.4)
Home-with relatives	6 (2.6)
Home-with friends	5 (2.1)
Home-alone	0 (0)
<b>Education choice n (%)</b>	
Face to face	106 (45.5)
Online	36 (15.4)
Mixed	91 (39.1)
<b>Participation to online education n (%)</b>	
0-49%	60 (25.7)
50-100%	173 (74.3)
<b>Amount of online work per day (h)</b>	3.8 $\pm$ 2.3 4 (0-12)
<b>Amount of non-online work per day (h)</b>	1.9 $\pm$ 1.7 2 (0-10)
<b>The self-rate of the comfort level of the place attending online training</b>	5.7 $\pm$ 2.07 6 (0-10)
<b>IPAQ-SF</b>	
Active	57 (24.5)
Low physical activity	79 (33.9)
Inactive	97 (41.6)
<b>BDI scores</b>	
Minimum (0-13)	0
Mild	0
Moderate	39 (16.8)
Severe	194 (83.2)

Data was expressed as mean  $\pm$  standard deviation, median (min-max)  
BDI: Beck Depression Inventory, IPAQ-SF: International Physical Activity Questionnaire-Short Form, COVID: Coronavirus disease

( $p=0.001$ ). BMI, smoking, and time spent on technology-based devices were not related to MSP prevalence.

BDI scores were found to be significantly higher in those with neck, upper back, lower back, and shoulder pain in the 7-day-period, compared to those without (Table 3). While physical activity levels were similar in those with and without neck, and shoulder pain, physical activity level was significantly lower in those with upper back and low back pain ( $p=0.043$  and  $p=0.006$  respectively). The SF-36 scores of those with MSP were found to be significantly lower than those without (Table 3).

## Discussion

Our study showed that the MSP prevalence was common in the upper back, neck, lower back, and shoulder among

Ankara University Medical School students who received online education. While female gender and higher BDI scores were related to MSP prevalence, smoking, BMI, and time spent on technology-based devices were not related. Physical activity level was found to be associated only with lower back and upper back pain. It was found that the quality of life in students with MSP was more negatively affected.

There are different studies evaluating the prevalence of MSP among medical students in different countries. The prevalence of MSP among Australian medical students was high, most commonly involve the neck (52.8%) followed by the lower back (51.6%) and shoulders (46.5%) (12). Among Malaysian medical students, lower back pain was most common, with a 7-day and 12-month prevalence of 27.2% and 46.1%, respectively (6). In Chinese medical students, the 12-month MSP prevalence was

**Table 2: Prevalence of musculoskeletal pain within last 12 months and last 7 days (n=233)**

Area of body affected	Pain within last 12 months n (%)	Pain preventing daily activities n (%)	Pain within last 7 days n (%)
Upper back	185 (79.4)	62 (26.6)	124 (53.2)
Neck	167 (71.7)	53 (22.7)	118 (50.6)
Lower back	162 (69.5)	71 (30.5)	111 (47.6)
Shoulder	140 (60.1)	29 (12.4)	80 (34.3)
Wrist hand	100 (42.9)	17 (7.3)	35 (15.0)
Hip/Thigh	92 (39.5)	17 (7.3)	38 (16.3)
Knee	88 (37.8)	22(9.4)	38 (16.3)
Ankles/feet	50 (21.5)	12 (5.2)	18 (7.7)
Elbow	41 (17.6)	5 (2.1)	14 (5.0)

**Table 3: Comparison of SF-36, BDI and IPAQ-SF scores in patients with and without neck, upper back, lower back and shoulder pain**

MSP region	Physical functioning	Role physical	Bodily pain	General health	Vitality	Social functioning	Role emotional	Mental health	IPAQ-SF	BDI
<b>Neck</b>										
Yes	89.2±12.1	59.1±39.8	57.2±21.0	57.7±21.0	36.1±19.5	64.3±24.7	23.1±37.6	50.8±18.6	1244.7±1467.8	37.5±8.4
No	92.5±9.4	67.1±39.2	74.5±20.1	74.5±20.1	43.7±19.0	72.2±23.6	33.0±41.2	57.1±17.1	1193.7±1572.4	33.3±6.5
p-value	0.049	0.143	<0.001	0.005	0.003	0.012	0.054	0.016	0.851	<0.001
<b>Upper back</b>										
Yes	89.7±11.7	58.8±40.3	59.5±21.8	58.2±21.4	36.4±18.4	65.3±25.0	22.5±36.9	51.4±19.1	1126.1±1179.6	36.7±8.2
No	92.1±10.0	67.78±38.5	72.9±20.7	65.0±18.6	43.7±20.3	71.5±23.5	34.2±41.9	56.7±16.7	1323.3±1825.0	34.0±7.1
p-value	0.090	0.076	<0.001	0.029	0.006	0.068	0.021	0.040	0.043	0.015
<b>Lower back</b>										
Yes	88.8±12.4	54.7±38.3	60.8±20.7	57.6±19.8	35.4±17.6	64.6±24.4	23.7±38.7	50.1±19.1	1067.8±1205.1	37.0±8.1
No	92.7±9.1	70.6±39.4	77.1±21.7	64.8±20.2	43.9±20.5	71.5±24.2	31.9±40.2	57.3±16.6	1358.8±1752.1	34.0±7.2
p-value	0.009	0.001	<0.001	0.006	0.001	0.023	0.053	0.006	0.006	0.006
<b>Shoulder</b>										
Yes	87.9±12.3	54.6±37.7	55.9±22.3	57.9±21.1	36.7±19.5	62.9±24.9	28.7±40.9	51.1±21.0	1376.8±1795.7	36.7±8.1
No	92.4±9.9	67.4±40.0	70.9±20.6	63.2±19.6	41.5±19.5	70.9±23.8	27.6±39.1	55.4±16.3	1138.1±1353.3	33.4±6.9
p-value	0.002	0.011	<0.001	0.089	0.138	0.019	0.962	0.21	0.212	0.003

Data was expressed as mean ± standard deviation

SF-36: Short Form-36 Health Survey Questionnaire, BDI: Beck Depression Inventory, IPAQ-SF: International Physical Activity Questionnaire-Short Form, MSP: Musculoskeletal pain

found 40.1% in the lower back, followed by the neck and shoulders 33.8%, 21.7% respectively (13). While the prevalence of MSP may differ depending on the selection of different student samples (pre-clinical, clinical, or both), the prevalence of pain in all body regions was found to be higher than the literature in our study. Considering that physical inactivity and depression levels, which are factors contributing to the development of MSP, increase during the pandemic period, this may be attributed to the higher prevalence of depressed and sedentary students in the study population. Also, we detected the highest prevalence of MSP in the upper back and neck. To the best of our knowledge, there is no study evaluating the prevalence of MSP and related factors in distance education in medical students during the COVID-19 pandemic. It is known that computer use increased in this period compared to face-to-face education. Therefore, our results are not surprising considering that neck pain is the most common in computer users, followed by upper back, and shoulder pain (3,14). However, contrary to our expectations, we did not find a relationship between the time spent on technology-based devices and the prevalence of MSP. There are some studies in the literature that are consistent with our results (15,16) in which Rajagopal et al. (15) stated higher MSP prevalence in female than male students but they could not find any correlation with the prevalence of MSP and the hours of computer use per day among Malaysian college students. The authors stated that this may be due to the smaller sample size. In our study, there are possible explanations. Firstly, although 74.2% of the students stated that they attended more than half of the online lectures, the daily time spent in front of technology-based devices seems to be low. In addition, this time was found to be similar in students with and without MSP. Second, correct posture may be effective in the prevalence of MSP as well as time spent in front of the computer. Future studies are needed to evaluate the relationship between posture and MSP.

Many studies reported that outbreaks such as COVID-19 increase symptoms of psychological distress and depression (17,18). In a previous study conducted at Ankara University Faculty of Medicine, depressive symptoms were found in 41% of the students (19). In our study, 83.2% of the students were reported severe depression and 16.8% of them reported moderate depression according to the BDI score. The most important reason for these increased rates is probably due to the pandemic. Since any of the students describe minimal or moderate depression according to BDI scores, the parameters that might have an effect on depression couldn't be evaluated in this study. However, BDI scores were found to be higher in all students with neck, upper back, lower back, and shoulder pain in the last week compared to those without. Studies examining the relationship between MSP and depression in medical school students generally evaluated the presence or absence of mental stress (20,21). In this sense, our study is valuable in terms of

using a standardized scale to measure depression. Although the high BDI scores in patients with MSP are important in terms of showing the relationship between these two factors, it is impossible to know whether these symptoms occurred before or after the onset of pain.

In our study, while low physical activity was related to upper back and lower back pain, not related to neck and shoulder pain. In the literature, there are different results in studies evaluating the relationship between physical activity level and MSP. First of all, the definition of physical activity has varied among many researchers and is not derived from objective data (4,22). In studies in which physical activity levels were questioned by validated questionnaires such as ours, the results differ. In line with our results, Scarabottolo et al. (23) showed that lack of physical activity was associated with lower back and neck pain. Also, Wedderkopp et al. (24) stated that high-level physical activity in childhood seems to protect against lower back pain in early adolescence. However, Balagué et al. (25) reported that adolescents, who were involved in sports programs, had higher chances of the occurrence of lower back pain. In this context, the findings in the literature are not clear.

MSP is a major cause of chronic pain that may affect the quality of life. Our study showed that the quality of life of the students who experienced neck, upper back, lower back, and shoulder pain was significantly lower than the students who did not. In this context, it has been found that low back pain has a significant effect on all aspects of students' quality of life.

### Study Limitations

There are several limitations of this study. First, the number of participants responding to the survey was low and did not reflect the entire student population. While it was aimed to reach a student population of nearly 2000 in total, only 233 students responded to the survey. In addition, since only students who met the inclusion criteria could participate in the online survey, it could not be determined how many students were excluded because they did not meet the inclusion criteria.

### Conclusion

In conclusion, the prevalence of MSP was very high among medical students receiving online education during the COVID-19 pandemic. Depressive symptoms were more pronounced in students with MSP and it was evident that the MSP affected the quality of life negatively. Preventive measures should be considered to reduce MSP in this population.

### Ethics

**Ethics Committee Approval:** This study was approved by the Ankara University Faculty of Medicine Students Ethics Committee (date: 25/03/2021, number: 79366).

**Informed Consent:** All patients provided informed consent and the study was carried out in compliance with the principles of the Declaration of Helsinki.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

### Authorship Contributions

Concept: S.G., Ş.K., Design: S.G., Data Collection or Processing: B.H.U., E.A., E.M., B.K., B.A.K., Ş.A., M.N., Analysis or Interpretation: S.G., İ.K., Literature Search: S.G., Writing: S.G.

**Conflict of Interest:** We declare that there is no conflicts of interest associated with this publication.

**Financial Disclosure:** We declare that we have not received any financial support to perform this study.

### References

1. Cao W, Fang Z, Hou G, et al. The psychological impact of the COVID-19 epidemic on college students in China. *Psychiatry Res.* 2020;287:112934.
2. Baker R, Coenen P, Howie E, et al. The Short Term Musculoskeletal and Cognitive Effects of Prolonged Sitting During Office Computer Work. *Int J Environ Res Public Health.* 2018;15:1678.
3. Eltayeb S, Staal JB, Kennes J, et al. Prevalence of complaints of arm, neck and shoulder among computer office workers and psychometric evaluation of a risk factor questionnaire. *BMC Musculoskelet Disord.* 2007;8:68.
4. Morken T, Magerøy N, Moen BE. Physical activity is associated with a low prevalence of musculoskeletal disorders in the Royal Norwegian Navy: a cross sectional study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2007;8:56.
5. Gureje O, Von Korff M, Kola L, et al. The relation between multiple pains and mental disorders: results from the World Mental Health Surveys. *Pain.* 2008;135:82-91.
6. Alshagga MA, Nimer AR, Yan LP, et al. Prevalence and factors associated with neck, shoulder and low back pains among medical students in a Malaysian Medical College. *BMC Res Notes.* 2013;6:244.
7. Kahraman T, Genç A, Göz E. The Nordic Musculoskeletal Questionnaire: cross-cultural adaptation into Turkish assessing its psychometric properties. *Disabil Rehabil.* 2016;38:2153-60.
8. Sağlam M, Arikan H, Savci S, et al. International physical activity questionnaire: reliability and validity of the Turkish version. *Percept Mot Skills.* 2010;111:278-284.
9. BECK AT, WARD CH, MENDELSON M, et al. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry.* 1961;4:561-571.
10. Hisli N. Beck Depresyon Envanterinin Üniversite öğrencileri için geçerliliği güvenilirliği. *Psikoloji Dergisi.* 1989;7:3-13.
11. Koçyiğit H, Aydemir Ö, Fişek G, et al. Kısa form-36 (KF36)'nın Türkçe versiyonunun güvenilirliği ve geçerliliği. *İlaç ve Tedavi Dergisi.* 1999;12:102-106.
12. Smith DR, Leggat PA. Prevalence and distribution of musculoskeletal pain among Australian medical students. *J Musculoskeletal Pain.* 2007;15:39-46.
13. Smith DR, Wei N, Ishitake T, et al. Musculoskeletal disorders among Chinese medical students. *Kurume Med J.* 2005;52:139-146.
14. Oha K, Animägi L, Pääsuke M, et al. Individual and work-related risk factors for musculoskeletal pain: a cross-sectional study among Estonian computer users. *BMC Musculoskelet Disord.* 2014;15:181.
15. Rajagopal V, Rosli RM, Rintai P, et al. The prevalence of computer-related musculoskeletal pain among college students: a cross-sectional study. *Am Med J.* 2012;3:33-36.
16. Mehmood M, Yaqoob U, Ali SS, et al. Frequency of musculoskeletal pain and associated factors among undergraduate students. *Case Rep Clin Med.* 2018;7:131-145.
17. Brooks SK, Webster RK, Smith LE, et al. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. *Lancet.* 2020;395:912-920.
18. Venkatesh A, Edirappuli S. Social distancing in covid-19: what are the mental health implications? *BMJ.* 2020;369:m1379.
19. Öncü B, Şahin T, Özdemir S, et al. Tıp fakültesi öğrencilerinde depresyon, anksiyete ve stres düzeyleri ve ilişkili etmenler *Kriz Dergisi.* 2013;21:1-10.
20. Dighriri YH, Akkur MA, Alharbi SA, et al. Prevalence and associated factors of neck, shoulder, and low-back pains among medical students at Jazan University, Saudi Arabia: A cross-sectional study. *J Family Med Prim Care.* 2019;8:3826-3831.
21. Algarni AD, Al-Saran Y, Al-Moawi A, et al. The Prevalence of and Factors Associated with Neck, Shoulder, and Low-Back Pains among Medical Students at University Hospitals in Central Saudi Arabia. *Pain Res Treat.* 2017;2017:1235706.
22. Haroon H, Mehmood S, Imtiaz F, et al. Musculoskeletal pain and its associated risk factors among medical students of a public sector University in Karachi, Pakistan. *J Pak Med Assoc.* 2018;68:682-688.
23. Scarabottolo CC, Pinto RZ, Oliveira CB, et al. Back and neck pain prevalence and their association with physical inactivity domains in adolescents. *Eur Spine J.* 2017;26:2274-2280.
24. Wedderkopp N, Kjaer P, Hestbaek L, et al. High-level physical activity in childhood seems to protect against low back pain in early adolescence. *Spine J.* 2009;9:134-141.
25. Balagué F, Bibbo E, Mélot C, et al. The association between isoinertial trunk muscle performance and low back pain in male adolescents. *Eur Spine J.* 2010;19:624-632.

# Sol Atriyal Uzunlamasına Deformasyon Değerinin Kardiyak Amiloidoz Hastalarında Prognoz Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

## Evaluation of Prognostic Impact of Left Atrial Longitudinal Strain on Patients with Cardiac Amyloidosis

© Türkan Seda Tan<sup>1</sup>, © Kübra Korkmaz<sup>1</sup>, © Cemre Gül Tekin<sup>2</sup>, © Hüseyin Nazman<sup>2</sup>, © İrem Dinçer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Sivas Numune Hastanesi, Kardiyoloji Kliniği, Sivas, Türkiye

### Öz

**Amaç:** İmmüoglobulin hafif zincir amiloidoz (AL) en sık görülen amiloidozdur. Kardiyak tutulum varlığı kötü sağkalımla ilişkili olup prognostik sınıflamada biyobelirteçler kullanılmaktadır. Ekokardiyografik parametreler tanıda kullanılmakla birlikte hastalık ciddiyetini belirlemede kabul gören bir görüntüleme parametresi bulunmamaktadır. Biz çalışmamızda sol atriyal uzunlamasına deformasyon ölçümünün kardiyak AL amiloidoz hastalarında sağkalımı öngörmedeki yerini araştırmak istedik.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamıza kardiyak amiloidoz saptanan 37 hasta dahil edildi. Hastaların klinik ve demografik verilerine ve transtoraks ekokardiyografi (TTE) görüntülerine arşiv kayıtlarından ulaşıldı. Hastalar sağkalımlarına göre iki gruba ayrıldı.

**Bulgular:** Çalışmaya dahil edilen hastaların ortalama yaşı  $63,9 \pm 10,8$  yıldır. İki grubun demografik özellikleri ile laboratuvar verileri NT-proBNP değeri dışında benzer bulundu. NT-proBNP değeri ölüm olan grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış saptandı ( $p=0,02$ ). TTE parametrelerinden sol atriyal volüm indeksi değeri ölüm olan grupta belirgin olarak artmış ( $p=0,02$ ), pik atriyal uzunlamasına deformasyon (PALS) değeri ise ölüm olan grupta belirgin olarak azalmış olarak saptandı ( $p=0,004$ ). Cox regresyon analizinde PALS'nin NT-proBNP değerinden bağımsız, sağkalımın en önemli ön gördürücüsü olduğu saptandı [risk oranı (%95 güven aralığı): 0,92 (0,84-0,98);  $p=0,01$ ].

**Sonuç:** Çalışmamızda PALS'nin kardiyak AL amiloidoz hastalarında sağkalımla belirgin olarak ilişkili olduğunu saptadık. PALS'nin kardiyak AL amiloidoz hastalarında prognoza etkisinin daha büyük, prospektif çalışmalarla değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Amiloidoz, Amiloid Hafif Zincir, Sol Atriyal Boyuna Gerilme

### Abstract

**Objectives:** Immunoglobulin light chain cardiac amyloidosis (AL) is the most common systemic amyloidosis. Cardiac involvement associated with poor prognosis and biomarkers are used to determine the prognostic stages. Although echocardiographic parameters are used for the diagnosis of cardiac involvement, they are not established as the markers of disease severity. We sought to investigate whether left atrial longitudinal strain parameter predicts survival in patients with cardiac AL amyloidosis.

**Materials and Methods:** Thirty-seven patients with cardiac amyloidosis were included into our study. Clinical and demographic data and transthoracic echocardiographic views were obtained from medical records. All patients were divided into two groups according to their survival.

**Results:** The mean age of the study population was  $63.9 \pm 10.8$  years. Demographic characteristics and laboratory parameters except NT-proBNP were similar between two groups. NT-proBNP value was found as statistically higher in death caused group ( $p=0.02$ ). In TTE parameters, the left atrial volume index was higher ( $p=0.02$ ) however, peak atrial longitudinal strain (PALS) was reduced in death caused group ( $p=0.004$ ). In Cox proportional regression method, PALS was found the most important predictor of survival after adjustment for NT-proBNP [hazard ratio (95% confidence interval): 0.92 (0.84-0.98);  $p=0.01$ ].

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Türkan Seda Tan

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Tel.: +90 312 595 66 40 E-posta: tседatan@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-9349-3371

Geliş Tarihi/Received: 30.09.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 08.02.2022

©Telif Hakkı 2022 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.





**Conclusion:** In our study we determined that PALS was highly associated with survival in patients with cardiac AL amyloidosis. We thought that larger, prospective studies are necessary to evaluate the prognostic impact of PALS in patients with cardiac AL amyloidosis.

**Key Words:** Amyloidosis, Immunoglobulin Light Chain, Left Atrial Longitudinal Strain

## Giriş

Sistemik amiloidoz hatalı katlanmış endojen proteinlerin doku ve organlarda depolanması ile meydana gelen bir hastalıktır. Bu proteinler böbrek, kalp, gastrointestinal sistem ve yumuşak doku gibi birçok organ ve bölgede depolanabilmektedir (1). Otuzdan fazla öncü proteinin bu hastalığa yol açtığı belirlenmekle birlikte immünoglobulin hafif zincir (AL) ve transtretin amiloidin kardiyak amiloidozu sebep olduğu gösterilmiştir (2).

AL amiloidoz çoklu organ tutulumuyla giden sistemik bir hastalık olup patofizyolojik mekanizmasında kaynağını plazma hücre diskrazileri özellikle multipl miyelomun (MM) oluşturduğu yanlış dizilim gösteren immünoglobulin hafif zincirler yer almaktadır. İmmünoglobulin hafif zincirlerin hücreler organ ve dokularda birikimi böbrek, yumuşak doku, gastrointestinal sistem ve otonom sinir sisteminde harabiyete sebep olmaktadır (2,3). AL amiloidoz kardiyak tutulumun en çok görüldüğü kardiyak amiloidoz olup kardiyak tutulum mortalite ve morbiditenin ana hastalıktan bağımsız en önemli sebebi olarak gösterilmektedir (4).

Kardiyak AL amiloidozda her iki ventrikülde de tutulum meydana gelir. Hücreler arasında biriken hafif zincirler ventrikül duvarında sertleşme ve restriktif kardiyomyopatiye (KMP) yol açar. Kardiyak AL amiloidoz korunmuş ejeksiyon fraksiyonu (EF) kalp yetmezliğinin nadir olmayan sebepleri arasında yer almaktadır. Hücreler arası mesafede biriken hafif zincirler aynı zamanda miyokard harabiyetine neden olarak iletim sistemi bozukluklarına özellikle atriyal fibrilasyon ve flutter ile seyreden ritim bozukluklarına sebep olmaktadır. Kardiyak tutulum tespitinde non-invaziv değerlendirme yöntemleri olan transtorasik ekokardiyografi (TTE), kardiyak manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve sintigrafi genelde tanı koydurucu olmaktadır (5). Altın standart tanı ise biyopsi materyalinin polarize ışık altında Kongo kırmızı boyası ile lekelenmesinin gösterilmesidir (5).

Kardiyak AL amiloidozda prognozu tayin etmek için Mayo Kliniğinin geliştirmiş olduğu 4 evreli sınıflama sistemi kullanılmaktadır. Bu evrelemede serum serbest hafif zincir miktarı, N-terminal B tip natriüretik peptid (NT-proBNP), troponin-T değerleri esas alınmaktadır (6-8). Çalışmalarda MRG ya da TTE ile değerlendirilen sol ventrikül septum kalınlığında artış EF ve sol ventrikül fonksiyonu parametrelerindeki bozulma düşük sağkalımla ilişkili olarak gösterilse de sınıflama sistemi içinde yer almamaktadır. Aynı şekilde atriyal fibrilasyon gelişmesi de kötü sağkalım sebepleri arasında gösterilmektedir (9-11).

Sol atriyum fonksiyonu korunmuş EF kalp yetmezliğinde kötü prognoz ile ilişkili olarak gösterilmiştir. Aynı zamanda sol atriyum fonksiyonlarının diyastolik disfonksiyonu belirlemede ana parametre olduğunu savunan birçok araştırma yapılmıştır (12,13). Sol atriyal uzunlamasına deformasyon ölçümü günümüzde sol atriyum fonksiyonlarını belirlemek için kullanılan etkin bir yöntem olmaya başlamıştır. Açından bağımsız ve kolay tekrarlanabilirliği ile sol atriyal deformasyon değerlendirmesi sol atriyum fonksiyonları hakkında daha doğru bilgi verebilmektedir. Aynı zamanda sol atriyum mekaniğini oluşturan rezervuar ve kontraksiyon evrelerini daha net değerlendirmemize olanak sağlamaktadır. Sol atriyal deformasyon değeri henüz sol atriyal genişleme gelişmeden erken evrelerde dahi bozulmuş sol atriyum fonksiyonunu gösterebilmektedir. Bütün bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda restriktif KMP'nin önemli sebepleri arasında sayılan kardiyak AL amiloidozda sol atriyal boyuna deformasyonun sağkalım üzerine etkisini değerlendirmek istedik.

## Gereç ve Yöntem

### Hasta Alım ve Dışlanma Kriterleri

Retrospektif gözlemsel çalışmamızda Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Ocak 2017 ile Kasım 2018 tarihleri arasında sistemik AL amiloidoz tanısı alan ve kliniğimiz Cebeci Kalp Merkezi Ekokardiyografi Laboratuvarı'nda kardiyak AL amiloidoz tespit edilen hastalar geriye dönük olarak takip edildi. Kırk yedi hastanın TTE görüntüleri değerlendirildi. Kardiyak MRG ile kardiyak amiloidoz tanısı konfirme edilen 43 hasta çalışmaya dahil edildi. Cebeci Kalp Merkezi'nde Echo Pac sisteminde kayıtlı olan görüntülerden sol atriyal deformasyon ölçümü için uygun görüntüsü olmayan 4 hasta çalışmadan dışlandı. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Değerlendirme Kurulu'ndan Etik Kurul onayı (karar no: I6-461-21) alındıktan sonra hastalar arşiv kayıtlarından mortalite gelişimi açısından tarandı. İki hastanın arşiv kayıtlarına ulaşılamadı. Çalışma toplam 37 hasta ile tamamlandı.

### Genel Değerlendirme ve Ölçümler

Çalışmaya dahil edilen olguların klinik ve demografik özelliklerine hastanemiz arşiv kayıtlarından ulaşıldı. Hastaların TTE yapılmadan 24-48 saat içindeki laboratuvar değerleri alındı. Tam kan sayımı değişkenleri, serum kreatin, glomerular filtrasyon hızı, NT-proBNP ve troponin-T değerleri kaydedildi. Tanı için bakılan serum kappa ve lamda değerleri de hastane laboratuvar sisteminden elde edildi. Vücut kitle indeksi (VKİ) ağırlığın boyun metre cinsinden

karesine bölünmesi formülü ile belirlendi. VKİ  $\geq 25$  ise fazla kilolu, VKİ  $\geq 30$  ise obez olarak değerlendirildi. Kullandıkları kardiyovasküler ilaçlar belirlendi.

Hastaların hastane arşivi taranarak geriye dönük olarak takip edildi. Çalışmamıza alınan olgular takip boyunca sağ kalan ve ölen olmak üzere iki gruba ayrıldı. Bu iki grubun demografik ve laboratuvar verileri ile TTE verileri karşılaştırıldı.

### TTE Tetkiki

Olguların TTE Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'na bağlı Ekokardiyografi Laboratuvarı'nda General Elektrik marka ekokardiyografi cihazı (Vivid E9 imaging system GE Medical Systems, Chicago, USA) ile yapıldı. Amerikan Ekokardiyografi Cemiyeti'nin önerilerine uygun olarak sol lateral dekübit pozisyonda apikal dört boşluk, üç boşluk ve iki boşluk pencerelerinden sol ventrikülün segmenter duvar hareketleri değerlendirildi. Sol ventrikül diyastol sonu çapı ve sistol sonu çapı parasternal uzun aks görüntülerde M mode ile ölçüldü. Ortalama e' değeri doku Doppler ile belirlendi. Ortalama e' değeri septal ve lateral e' değerlerinin aritmetik ortalaması alınarak hesaplandı. Sol ventrikülün EF ölçümünde (EF yüzdesi = atım hacmi/SolV diyastol sonu hacmi x100) modifiye Simpson yöntemi kullanıldı. Trikuspit anüler planı sistolik gezisi M mode yöntemi ile ölçüldü. Sol atriyum volümü 4 boşluk görüntüde ölçüldü ve vücut yüzey alanına bölünerek sol atriyum volüm indeksi (LAVi) hesaplandı.

### Sol Atriyal Uzunlamasına Deformasyon Ölçümü

Echo Pack sisteminden dört boşluk görüntülerden frame hızı 50-70 frame/saniye hızında olan görüntüler seçildi. Görüntü kalitesi endokardiyal sınırı çizmek için uygun olmayan görüntüler ölçüme alınmadı. Atriyum duvar kalınlığına göre ilgi bölgesi ayarlandı. Sol atriyal deformasyon ölçümü Amerikan ve Avrupa Ekokardiyografi Cemiyetleri'nin 2018 konsensüs yazısı esas alınarak yapıldı (14). Sıfır referans noktası diyastol sonu olarak belirlendi. Sıfır noktasından rezervuar fazının sonu olan pik uzunlamasına deformasyon değeri ölçüldü ve pik atriyal uzunlamasına deformasyon (PALS) olarak belirlendi. Bu değer daime pozitifdir. Hastaların çoğunluğu atriyal fibrilasyonda olduğundan geç diyastolik kontraktıl gerilme ölçülemedi.

### İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada istatistiksel analizler JMP versiyon 14.0 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina) istatistik program ile yapıldı. Kategorik değişkenler yüzde olarak ifade edilirken, sayısal değişkenler aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak gösterildi. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra ikili grupların karşılaştırmasında bağımsız t-testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare testi Yates düzeltmesi kullanıldı. En küçük teorik frekans  $< 5$  durumunda Fisher's exact test kullanıldı. P-değerinin  $< 0,05$  olması durumunda sonuçlar

istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Cox regresyon modeli hastaların çalışma takibi boyunca sağkalım analizini yapmak için kullanıldı tek değişkenli analizde p-değeri sadece  $< 0,05$  olan değişkenler çoklu regresyon analizine dahil edildi.

## Bulgular

Çalışmamıza sistemik AL amiloidozu olup kardiyak tutulumu saptanan MM tanılı toplam 37 olgu dahil edildi. Hastalar çalışma takibi boyunca sağkalıma göre iki gruba ayrıldı. Ortalama takip süresi 3 yıl olup çalışma süresi boyunca hayatta kalan 21 ölen 16 hasta iki grupta değerlendirildi.

Çalışmaya alınan 37 hasta TTE yapıldıktan sonra günümüze kadar geriye dönük olarak araştırıldı. AL amiloidoz tanısı 10 hastaya yumuşak doku biyopsisi ile 19 hastaya rektal biyopsi ve 8 hastaya renal biyopsi ile konuldu. TTE'de kardiyak tutulum varlığı kardiyak MRG ile konfirme edildi. Takipte sonlanım noktası olarak ölüm belirlendi. Ölümlerin hepsi mevcut hastalığa bağlı olarak saptandı.

Çalışmaya dahil edilen hastaların ortalama yaşı  $63,9 \pm 10,8$  yıldı. Olguların 23'ü erkek (%62) olarak saptandı. Hasta gruplarının demografik özellikleri ile laboratuvar verileri sağkalıma göre iki grupta karşılaştırıldığında iki grup arasında NT-proBNP değerleri dışında fark saptanmadı. NT-proBNP değeri ölüm gerçekleşen grupta belirgin olarak daha fazla saptandı (NT-proBNP sağ kalan:  $2042,6 \pm 2432,4$ , NT-proBNP ölen:  $6112,5 \pm 5530,6$ ;  $p=0,02$ ). Olguların kardiyovasküler ilaç kullanımı benzer bulundu. Çalışma gruplarının demografik özellikleri ilaç kullanımları ve laboratuvar değerleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Takip boyunca sağ kalan ve takip sırasında ölen iki grubun TTE parametreleri karşılaştırıldı. Her iki grubun EF değerleri ve sol ventrikül boyutları benzer bulundu. Hastaların sol ventrikül global uzunlamasına deformasyon ve e' değerleri belirgin olarak azalmış olup her iki grup arasında fark saptanmadı. Ölüm meydana gelen grupta LAVi değeri istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış ( $p=0,02$ ) ve PALS değeri anlamlı olarak azalmış bulundu ( $p=0,004$ ) (Tablo 2). P-değeri  $< 0,05$  olan NT-proBNP, PALS ve LAVi tek değişkenli regresyon analizine dahil edildi. Tek değişkenli regresyon analizinde p-değeri 0,05'ten küçük olarak saptanan LAVi ve PALS çoklu regresyon analizine dahil edildi. PALS Cox regresyon analizinde en önemli prognostik belirleyici olarak saptandı [tehlike oranı (%95 güven aralığı): 0,92 (0,84-0,98);  $p=0,01$ ] (Tablo 3).

## Tartışma

Çalışmamızda PALS değerinin kardiyak AL amiloidoz hastalarında NT-proBNP değerinden bağımsız, sağkalımın en önemli öngördürücüsü olduğunu tespit ettik.

**Tablo 1: İki grup arasındaki klinik demografi ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması**

Değişkenler	Sağ kalan (n=21)	Ölen (n=16)	p-değeri
Yaş, yıl	63,1±7,6	64,7±13,5	0,67
Erkek, (%)	11 (48)	12 (52)	0,2
VKİ, kg/m <sup>2</sup>	25,7±5,9	26,3±4,7	0,76
Kalp hızı atım/dk	81,2±19,0	88,1±14,7	0,27
Sistolik KB	108,4±17,9	103,7±14,7	0,38
Distolik KB	71,4±10,3	68±11,3	0,35
Atriyal fibrilasyon %	16 (59)	11 (41)	0,61
<b>Laboratuvar değerleri</b>			
Hb mg/dL	13,1±1,86	12,8±2,3	0,67
Trombosit mg/dL	266,4±84,9	271,2±98,6	0,88
AST mg/dL	36,6±16,3	66,9±11,7	0,33
ALT mg/dL	41,6±5,6	78,2±4,7	0,35
D. bilirubin mg/dL	0,15±0,1	0,15±0,06	0,83
Kreatin mg/dL	1,36±1,04	1,51±0,89	0,66
GFR mL/dk	51,1±5,7	35,5±10,6	0,26
Troponin-T ng/mL	0,05±0,1	0,1±0,2	0,29
NT-proBNP pg/mL	2042,6±2432,4	6112,5±5530,6	0,02
Serum Kappa mg/L	30,4±95,7	47,1±131,1	0,68
Serum Lambda mg/L	11,9±15,9	23,2±27,9	0,09
<b>İlaçlar</b>			
Furosemid, (%)	9 (56)	7 (44)	0,95
Aldosteron antagonisti, (%)	5 (56)	4 (44)	0,93

VKİ: Vücut kitle indeksi, AST: Aspartat transaminaz, ALT: Alanin transaminaz, D. bilirubin: Direkt bilirubin, GFR: Glomerüler filtrasyon hızı, NT-proBNP: N-terminal B tip natriüretik peptid, KB: Kan basıncı, Hb: Hemoglobin

**Tablo 2: İki grubun ekokardiyografi parametrelerinin karşılaştırılması**

Değişkenler	Sağ kalan (n=21)	Ölen (n=16)	p-değeri
SVDSÇ mm	44,3±5,1	45,4±8,3	0,7
SVSSÇ mm	30±5,3	32±7,6	0,4
EF (%)	54,6±9,5	60,9±6,8	0,6
E'	7,23±3,2	5,68±2,35	0,1
LV GLS (%)	-10,9±3,89	-11,4±5,5	0,8
PALS (%)	9,85±8,3	21,2±12,5	0,004
LAVi mL/m <sup>2</sup>	30,9±6,7	39,1±11,2	0,02
Tapse	14,7±5,49	14,6±3,24	0,95
TY jet hızı m/sn	2,63±0,25	2,45±0,34	0,2

SVDSÇ: Sol ventrikül diyastol sonu çap, SVSSÇ: Sol ventrikül sistol sonu çap, EF: Ejeksiyon fraksiyonu, LV: Sol ventrikül, GLS: Global boyuna gerileme, PALS: Pik atriyal boyuna gerilme, LAVi: Sol atriyum volüm indeksi, Tapse: Trikuspid anüler planı sistolik gezisi, TY: Trikuspid yetersizliği, E': Doku Doppler E dalgası

AL amiloidoz diğer bir adıyla primer amiloidoz immünooglobulin hafif zincir proteinlerinin doku ve organlarda yerleşmesiyle oluşan sistemik bir hastalıktır. Kemik iliğinde üretilen plazma hücrelerindeki diskrazi sonucu monoklonal

lamda veya kappa serbest hafif zincirlerinin serum değerlerindeki artış bu hastalığın gelişmesinde ana etkidir. Doku veya organ biyopsi örneklerinin polarize ışık altında Kongo kırmızısı ile lekelenme göstermesi altın standart tanı yöntemidir (15).

AL amiloidozda amiloid fibrilleri MM gibi plazma hücrelerinin klonal olarak çoğaldığı ve immünooglobulin hafif zincirleri ürettiği bir süreçte oluşmaktadır. İnsidansı yaklaşık olarak yıllık 2,500-5,000 yeni olgu olarak belirlenmiştir. AL amiloidoz çoğunlukla MM hastalarında ortaya çıkmakla birlikte hangi hastada AL amiloidoz gelişeceği net bilinmemektedir. MM hastalarının sadece %10'ununda sistemik AL amiloidoz geliştiği gösterilmiştir. Bu AL amiloidoz hastalarının da yaklaşık %50-70'inde kardiyak tutulum gösterilmiştir (5). AL amiloidoz ortalama yaşı 65 olup erkeklerde daha sık rastlanmaktadır. Kardiyak tutulum prognozunu kötü seyredeceğini göstermektedir. Kardiyak tutulum sonrası ortanca sağkalım sadece 6 ay olarak tespit edilmiştir (8).

Kardiyak tutulum sonucu restriktif KMP gelişmektedir. Her iki ventrikülde de tutulum gelişmektedir. Sol ventrikül deformasyonu değerlendirilmesinde apikal korunmuş deformasyon paterni karakteristik olup tanıyı desteklemektedir (16).

**Tablo 3: Tüm hastaların sağkalım analizi (n=37)**

Değişkenler	Tek değişkenli analiz			Çok değişkenli analiz		
	HR	(%95 GA)	p	HR	(%95 GA)	p
PALS %	0,91	(0,83-0,97)	0,002	0,92	(0,84-0,98)	0,01
NT-proBNP (100 pg/mL artış)	1,0	(1,0-1,01)	0,05			
LAVi mL/m <sup>2</sup>	1,05	(1,0-1,10)	0,04	1,02	(0,96-1,07)	0,37

HR: Tehlike oranı, GA: Güven aralığı, PALS: Pik atriyal boyuna gerilme, LAVi: Sol atriyum volüm indeksi, NT-proBNP: N-terminal B tip natriüretik peptid

Kardiyak AL amiloidozda prognostik evreleme için Mayo Klinik 2004'te 2012'de modifiye prognostik evreleme sistemi geliştirmiştir. 2012 modifiye evreleme sisteminde serum serbest hafif zincir değeri, NT-proBNP, ve troponin-T değerleri kullanılmaktadır. Bu parametrelerde eşik değerleri şu şekildedir: NT-proBNP  $\geq 800$  pg/mL, troponin-T  $\geq 0,025$  ng/mL, ve serum serbest hafif zincir  $\geq 18$  mg/dL. Bütün değerler eşik altındaysa sınıf 1 herhangi bir değer eşik üstündeyse sınıf 2 herhangi iki değer eşik üzerindeyse sınıf 3 ve tüm değerler eşik üzerindeyse sınıf 4 olarak sınıflandırılmıştır (8). Sınıf 4 en kötü prognoza sahip grubu temsil etmektedir (8).

Çalışmalar ekokardiyografi veya kardiyak MRG ile belirlenen septum kalınlığı ve sol ventrikül fonksiyonlarının da prognostik önemini vurgulasa da prognostik sınıflama sisteminde günümüzde sadece laboratuvar parametreleri kullanılmaktadır (8,16,17).

Restriktif KMP'de sertleşmiş sol ventrikül miyokardı sonucunda sol ventrikül doluş basıncında artış meydana gelmektedir. Sol ventrikül doluş basıncındaki artış sonucu kalp yetmezliği gelişmektedir. Bu hastalarda sol atriyal genişleme en önemli prognostik belirleyiciler arasında sayılmaktadır. TTE'de sol atriyal genişleme restriktif KMP ile seyreden hasta grubunda en belirgin bulgu olmakla birlikte sol atriyal fonksiyonun bu hasta grubunda önemi hala yerini almamıştır. Artmış sol ventrikül basıncı ile direkt ilişkili olan sol atriyumda fonksiyon bozulması sol atriyal genişleme başlamadan gelişmektedir ve bu bozulma artmış basıncı direkt olarak pulmoner yatağa yansıtmakta ve sonuçta konjestif kalp yetmezliği gelişmektedir. Sol atriyum fonksiyonunu değerlendirmek için kullanılan LAVi sadece artmış sol atriyal volümü belirlemekle birlikte sol atriyumun fazik fonksiyonu olan rezervuar ve kontraksiyon evreleri hakkında bilgi verememektedir. Sol atriyal uzunlamasına deformasyon günümüzde sol atriyum fonksiyonlarını değerlendirmede kullanılan etkin bir ölçüm yöntemidir. Birçok çalışmada sol atriyum fonksiyonunun en iyi belirleyicisi olarak bulunmuş ve kolay tekrarlanabilirliği ve uygulanabilirliği sayesinde sol atriyum fonksiyonunu değerlendirmede kullanılan etkin bir yöntem olarak yerini almaya başlamıştır (13,18,19). Biz de bu çalışmamızda restriktif KMP'ye yol açan kardiyak AL amiloidoz hastalarında sol atriyal fonksiyonu değerlendirmek ve prognostik önemini belirlemek için sol atriyal uzunlamasına deformasyon yöntemini kullandık ve PALS değerini tüm değişkenlerden bağımsız kardiyak

AL amiloidozda prognozun en önemli belirleyicisi olduğunu belirledik. Çalışmamız kardiyak fonksiyonları görüntüleme yöntemi ile değerlendirmenin önemini göstermiştir. Sol atriyal fonksiyon kardiyak tutulum ve kardiyak fonksiyon bozukluğuna yol açan bu hastalıkta ana prognostik belirleyici olmuştur. Çalışmamızın verileri doğrultusunda kardiyak tutulum gelişen hastalarda prognostik evreleme sistemine biyobelirteçlere ek olarak sol atriyal deformasyon değerinin de dahil edilebileceğini düşünmekteyiz.

### Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamızın geriye dönük (retrospektif) oluşu önemli kısıtlılıklarıdır. Özellikle TTE verilerine geriye dönük ulaşıldığından yetersiz görüntüye sahip hastalar çalışma dışında bırakılmıştır. Çalışma aynı zamanda geriye dönük sağkalım takibi ve olay gelişimin belirlemede zayıf kalmıştır. Çalışmanın bir başka önemli kısıtlılığı da hasta sayısının az olmasıdır. Az hasta sayısı sağkalım analizlerinin gücünü azaltmıştır. PALS'nin kardiyak AL amiloidoz hastalarında prognostik önemini araştırarak büyük popülasyonlu ve ileriye dönük (prospektif), randomize çalışmalara ihtiyaç vardır.

### Sonuç

Kardiyak AL amiloidoz mortalitesi yüksek hayatı tehdit eden önemli bir hastalıktır. Prognozu belirlemek için kullanılan biyokimyasal belirteçlerin yanı sıra kardiyak görüntülemenin bu hasta grubunda prognozu belirlemede yerini alması gerektiğini düşünmekteyiz. Sol atriyum fonksiyonu kardiyak AL amiloidoz gibi restriktif KMP ile giden hastalıklarda belirgin şekilde bozulmakta ve mortalite ve morbiditeyi belirgin şekilde artırmaktadır. Sol atriyal gerilme ölçümü sol atriyum fonksiyonlarını geleneksel değerlendirme metodlarına göre daha etkin şekilde değerlendirmektedir. Kardiyak AL amiloidoz hastalarında PALS biyokimyasal belirteçlere ek olarak sınıflama sisteminde kullanılabilir. Aynı zamanda hastalarda aralıklı PALS ölçümleri ile disfonksiyon erken belirlenebilir ve hastalar erken ve etkin tedaviden fayda görebilirler.

### Etik

**Etik Kurul Onayı:** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Değerlendirme Kurulu'ndan Etik Kurul onayı (karar no: I6-461-21, tarih: 03.08.2021) alınmıştır.

**Hasta Onayı:** Retrospektif çalışma.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

### Yazarlık Katkıları

Konsept: T.S.T., C.G.T., Dizayn: T.S.T., C.G.T., H.N., K.K., Veri Toplama veya İşleme: H.N., K.K., Analiz veya Yorumlama: T.S.T., C.G.T., Eleştirel İnceleme: İ.D., Yazan: T.S.T., C.G.T.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

### Kaynaklar

1. Yiğit Kaya S, Özsan GH. AL Amyloidosis. *Turkiye Klinikleri J Hematol-Special Topics*. 2018;11:140-146.
2. Martinez-Naharro A, Hawkins PN, Fontana M. Cardiac amyloidosis. *Clin Med (Lond)*. 2018;18(Suppl 2):s30-s35.
3. Desport E, Bridoux F, Sirac C, et al. AL amyloidosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7:54.
4. Kyle RA, Linos A, Beard CM, et al. Incidence and natural history of primary systemic amyloidosis in Olmsted County, Minnesota, 1950 through 1989. *Blood*. 1992;79:1817-1822.
5. Siddiqi OK, Ruberg FL. Cardiac amyloidosis: An update on pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Trends Cardiovasc Med*. 2018;28:10-21.
6. Kumar S, Dispenzieri A, Katzmann JA, et al. Serum immunoglobulin free light-chain measurement in primary amyloidosis: prognostic value and correlations with clinical features. *Blood*. 2010;116:5126-5129.
7. Çavuşoğlu Y, Özpelit E, Çelik A, et al. Cardiac amyloidosis: Recent advances in the diagnosis and therapy. *Turk Kardiyol Dern Ars*. 2019;47(Suppl 2):1-34.
8. Dittrich T, Kimmich C, Hegenbart U, et al. Prognosis and Staging of AL Amyloidosis. *Acta Haematol*. 2020;143:388-400.
9. Dispenzieri A, Lacy MQ, Katzmann JA, et al. Absolute values of immunoglobulin free light chains are prognostic in patients with primary systemic amyloidosis undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *Blood*. 2006;107:3378-3383.
10. Palladini G, Barassi A, Klersy C, et al. The combination of high-sensitivity cardiac troponin T (hs-cTnT) at presentation and changes in N-terminal natriuretic peptide type B (NT-proBNP) after chemotherapy best predicts survival in AL amyloidosis. *Blood*. 2010;116:3426-3430.
11. Biçer A, Taşcanov MB, Tanrıverdi Z. Günlük pratikte tanıdan tedaviye amiloid kardiyomyopati. *Cukurova Medical Journal*. 2020;45:1792-1802.
12. Singh A, Addetia K, Maffessanti F, et al. LA Strain for Categorization of LV Diastolic Dysfunction. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2017;10:735-743.
13. Tan TS, Akbulut IM, Demirtola AI, et al. LA reservoir strain: a sensitive parameter for estimating LV filling pressure in patients with preserved EF. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2021;37:2707-2716.
14. Badano LP, Koliaş TJ, Muraru D, et al. Standardization of left atrial, right ventricular, and right atrial deformation imaging using two-dimensional speckle tracking echocardiography: a consensus document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2018;19:591-600.
15. Gertz MA. Immunoglobulin light chain amyloidosis: 2020 update on diagnosis, prognosis, and treatment. *Am J Hematol*. 2020;95:848-860.
16. Barros-Gomes S, Williams B, Nhola LF, et al. Prognosis of Light Chain Amyloidosis With Preserved LVEF: Added Value of 2D Speckle-Tracking Echocardiography to the Current Prognostic Staging System. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2017;10:398-407.
17. Fontana M, Pica S, Reant P, et al. Prognostic Value of Late Gadolinium Enhancement Cardiovascular Magnetic Resonance in Cardiac Amyloidosis. *Circulation*. 2015;132:1570-1579.
18. Brecht A, Oertelt-Prigione S, Seeland U, et al. Left Atrial Function in Preclinical Diastolic Dysfunction: Two-Dimensional Speckle-Tracking Echocardiography-Derived Results from the BEFRI Trial. *J Am Soc Echocardiogr*. 2016;29:750-758.
19. Cameli M, Mandoli GE, Loiacono F, et al. Left atrial strain: a new parameter for assessment of left ventricular filling pressure. *Heart Fail Rev*. 2016;21:65-76.

# Diyastolik Disfonksiyonu Olan Hastalarda Kalp Yetmezliği Gelişimini Öngörmeye Sağ Ventrikül Deformasyon Değerinin Önemi

## Significance of the Right Ventricle Strain Value for Prediction of Heart Failure Development in Patients with Diastolic Dysfunction

© Türkan Seda Tan, © İrem Dinçer

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu (EF) kalp yetmezliği (KY) nedeniyle hastaneye başvuruların önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Bu sebeple günümüzde diyastolik disfonksiyonu olan hastalarda kalp yetmezliği gelişimini belirleyebilmek ve önleyebilmek için birçok çalışma yapılmaktadır. Çalışmalar öncelikle sol ventrikül ve sol atriyum fonksiyonlarını değerlendiren parametreler üzerine yoğunlaşmakla birlikte bu hasta grubunda sağ ventrikül fonksiyonlarının kalp yetmezliği gelişimi üzerine etkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Biz çalışmamızda diyastolik disfonksiyonu olan hastalarda sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon ölçüsü ile belirlenmiş sağ ventrikül sistolik fonksiyonunun kalp yetmezliğini öngörmedeki yerini araştırmak istedik.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamıza transtorasik ekokardiyografide (TTE) diyastolik disfonksiyon tespit edilen ve görüntüleri sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon ölçümü için uygun olan 51 hasta dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hastalar geriye dönük olarak tarandılar. Sonlanım noktası kalp yetmezliği gelişimi olarak belirlendi. Hastalar kalp yetmezliği gelişimine göre iki gruba ayrıldılar.

**Bulgular:** Çalışmaya dahil edilen hastaların ortalama yaşı  $63,1 \pm 9,5$  yıldır. İki grubun demografik özellikleri ile laboratuvar verileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. İki grubun TTE sonuçları değerlendirildiğinde sol atriyal rezervuar gerilme (LASr) ve sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon değerlerinin kalp yetmezliği grubunda belirgin olarak bozulduğu belirlendi. Çok değişkenli regresyon analizinde sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon değerinin diyastolik disfonksiyonda kalp yetmezliği gelişiminin bağımsız öngördürücüsü olduğu saptandı. ROC analizinde sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon cut-off değeri  $\approx 15,5$  olarak belirlendi.

**Sonuç:** Bu çalışmada sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon değerinin diyastolik disfonksiyonda kalp yetmezliği gelişiminin bağımsız öngördürücüsü olduğu belirlendi. Sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon ölçüsünün kalp yetmezliği gelişimini belirlemedeki gücünün daha büyük, prospektif çalışmalarla değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Kalp Yetmezliği, Sağ Ventrikül, Gerilme

### Abstract

**Objectives:** Heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) is the leading cause of the hospital admission due to heart failure. Therefore, several studies have investigated the development of heart failure and the prevention of heart failure in patients with diastolic dysfunction. Although studies primarily concentrate upon the left ventricle and left atrial functions, there have been no studies to evaluate right ventricle function on the effect of heart failure development in this patient group. In this study, we sought to investigate whether right ventricle systolic function measured by right ventricle free wall longitudinal strain could predict heart failure in patients with diastolic dysfunction.

**Materials and Methods:** Our study included 51 patients with diastolic dysfunction in transthoracic echocardiography (TTE) and whose images were suitable for right ventricular free wall longitudinal strain measurement. All study populations were observed retrospectively. Developing heart failure was determined as the end point. All patients were divided into two groups according to the presence of heart failure.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Türkan Seda Tan

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Tel.: +90 533 258 21 02 E-posta: tsedatan@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-9349-3371

Geliş Tarihi/Received: 11.10.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 09.02.2022

©Telif Hakkı 2022 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



**Results:** The mean age of the study population was 63.1±9.5 years. No statistical difference was determined between the groups' demographic and laboratory characteristics. When the echocardiographic parameters were evaluated. The left atrial reservoir strain (LASr) and the right ventricle free wall longitudinal strain (RV FWLS) were found as highly impaired in the heart failure group. In multivariate analysis, RV FWLS was an independent predictor of heart failure development in diastolic dysfunction. A cut-off value of RV FWLS was found as -15.5% using ROC analysis.

**Conclusion:** In this study RV FWLS was demonstrated as an independent predictor of heart failure in diastolic dysfunction. Larger, prospective studies are necessary to determine the impact of RV FWLS on predicting heart failure.

**Key Words:** Heart Failure, Right Ventricle, Strain

## Giriş

Korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği (EFKY) olarak semptomları ile hastaneye yatışların yarısından fazlasının nedenini oluşturan mortalitesi ve morbiditesi yüksek bir hastalıktır. Altmış yaş üstü popülasyonun %4,9'unda korunmuş EFKY tespit edilmektedir. Yaşlı popülasyonun artması, obezite ve diyabet bu hastalığın ileriki dönemlerde daha fazla artış göstereceğini düşündürmektedir (1,2).

Korunmuş EFKY patofizyolojisinde sertleşen sol ventrikül diyastolde genişleyememekte ve diyastol sonu artmış basınç sol atriyumda basınç artışına yol açmaktadır. Artmış sol atriyum basıncı ileri dönemlerde sol atriyum disfonksiyonuna yol açarak basıncın pulmoner venlere yansımaya ve bunun sonucunda pulmoner konjesyon ve KY gelişmesine sebep olmaktadır. Sol ventrikül sertleşmesine neden olan başlıca hastalıklar hipertansiyon (HT), diabetes mellitus (DM) ve obezitedir. Aynı zamanda yaşla birlikte sol ventrikül diyastolik kompliyansı azalmakta ve ventrikül diyastol sonu basıncı artmaktadır (3). Sol ventrikül doluş basıncının artışının invaziv olarak gösterilmesi KY semptomları olan hastalarda diyastolik disfonksiyon tanısı koyduran altın standart yöntemdir. 2016 Avrupa ve Amerika kardiyoloji cemiyetlerinin diyastolik disfonksiyon kılavuzunda sol ventrikül doluş basıncını tahmin etmek amaçlı ekokardiyografi parametrelerinin kullanıldığı bir algoritma geliştirilmiştir. Bu algoritmada E/e', triküspit yetmezlik (TY) pik hızı ve sol atriyal volüm indeksi (LAVI) gibi parametreler kullanılmaktadır.

Diyastolik disfonksiyonu olan hastalarda pulmoner kapiller yatakta basınç artışı beklenenin tersine sağ kalbi sol kalple eş zamanlı olarak etkilemektedir. Sağ ventrikül disfonksiyonu KY gelişen hastalarda kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. Fakat sağ ventrikül fonksiyonlarının KY gelişimini ön görmedeki yeri ve pulmoner kapiller kama basıncı ile ilişkisi henüz bilinmemektedir. Çalışmamızda sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon ölçüsünün diyastolik disfonksiyonu olan hastalarda KY gelişimini öngörmede etkisini araştırmak istedik.

## Gereç ve Yöntem

### Hasta Alım ve Dışlanma Kriterleri

Retrospektif gözlemsel çalışmamızda Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Nisan 2018 ile Haziran 2019 tarihleri arasında

transtorasik ekokardiyografi (TTE) yapıp sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu saptanan hastalar değerlendirildi. Çalışmadan dışlanma kriterleri daha önce konjestif KY (KKY) tanısı almış olmak, EF<%50 aterosklerotik kalp hastalığı, akut koroner sendrom, hipertrofik kardiyomyopati, infiltratif kardiyomyopatiler, orta-ciddi kapak hastalıkları, pulmoner HT'ye yol açan diyastolik disfonksiyon dışı hastalıklar (kronik akciğer hastalığı, kronik tromboembolik pulmoner HT, pulmoner arteriyel HT, endokrin ve bağ doku hastalıkları), perikart hastalıkları, konjenital kalp hastalıkları, anemi, geçirilmiş kardiyak cerrahi operasyon, böbrek yetmezliği (GFR<60 mL/dk) ve atriyal fibrilasyon olarak belirlendi. Çalışmaya dahil edilme kriterlerine uyan 78 hastanın görüntüleri değerlendirildi. Ankara Üniversitesi Cebeci Kalp Merkezi Ekokardiyografi laboratuvarı Echo Pac sisteminde kayıtlı olan görüntülerden sağ ventrikül deformasyon ölçümü için uygun görüntüsü olmayan 21 hasta çalışmadan dışlandı. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Değerlendirme Kurulu'ndan etik kurul onayı (karar no: 11-22-21) alındıktan sonra hastalar arşiv kayıtlarından KY gelişimi açısından tarandı. Altı hastanın arşiv kayıtlarına ulaşılamadı. Çalışma toplam 51 hasta ile tamamlandı.

### Genel Değerlendirme ve Ölçümler

Çalışmaya dahil edilen olguların klinik ve demografik özelliklerine hastanemiz arşiv kayıtlarından ulaşıldı. Hastaların TTE yapılmadan 24-48 saat içindeki laboratuvar değerleri alındı. Tam kan sayımı değişkenleri, serum kreatin ve, NT-proBNP değerleri kaydedildi. Hastaların kullandığı ilaçlar ve kardiyovasküler risk faktörlerine aynı şekilde arşiv kayıtları taranarak ulaşıldı.

Hastalar KY gelişimi açısından günümüzden geriye doğru değerlendirildi. Çalışmamıza alınan olgular takip boyunca KY gelişen ve gelişmeyen olmak üzere iki gruba ayrıldı. Bu iki grubun demografik ve laboratuvar verileri ile TTE verileri karşılaştırıldı. KY tanısı Avrupa Kardiyoloji Cemiyetinin 2021 akut ve kronik KY tanı ve tedavi kılavuzunda yer alan KY tanımı esas alınarak belirlendi (4). Nefes darlığı, ayak bileği şişliği, yorgunluk gibi semptomlara ek olarak tedavi edilmemiş hastalarda juguler venöz basınç artışı, akciğer muayenesinde raller ve periferik ödem saptanması aynı zamanda laboratuvar değerlerinde natriüretik peptid değerlerinde artış varlığı ile KY tanısı konuldu (NT-proBNP≥125 pg/mL ya da BNP≥35 pg/mL) (5). Verilere hastane arşiv kayıtlarından anamnez, klinik izlem ve kan tetkik sonuçları elde edilerek ulaşıldı.

## TTE Tetkiki

Olguların TTE'leri Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'na bağlı Ekokardiyografi laboratuvarında General Elektrik marka ekokardiyografi cihazı (Vivid E9 imaging system GE Medical Systems, Chicago, USA) ile yapıldı. Amerikan Ekokardiyografi Cemiyeti'nin önerilerine uygun olarak sol lateral dekübit pozisyonda apikal dört boşluk, üç boşluk ve iki boşluk pencerelerinden sol ventrikülün segmenter duvar hareketleri değerlendirildi (6). Sol ventrikül diyastol sonu çapı ve sistol sonu çapı parasternal uzun aks görüntülerde M mod ile ölçüldü. Ortalama e' değeri septal ve lateral e' değerlerinin aritmetik ortalaması alınarak hesaplandı ve bu değer E/e' ölçümü için kullanıldı. Sol ventrikülün EF ölçümünde (EF yüzdesi=Aım hacmi/sol ventrikül diyastol sonu hacmi x 100) modifiye Simpson yöntemi kullanıldı. Sol atriyum volümü 4 boşluk görüntüde ölçüldü ve vücut yüzey alanına bölünerek LAVi hesaplandı. Sol ventrikül global uzunlamasına deformasyonun otomatik fonksiyonel görüntüleme yöntemi ile ölçüldü ve  $\leq -\%20$  değerler normal olarak kabul edildi.

## Sol Atriyal Deformasyon Ölçümü

Echo Pack sisteminden dört boşluk görüntülerden frame hızı 50-70 frame/saniye hızında olan görüntüler seçildi. Görüntü kalitesi endokardiyal sınırı çizmek için uygun olmayan görüntüler ölçüme alınmadı. Atriyum duvar kalınlığına göre ilgi alanı (ROI) ayarlandı. Sol atriyal deformasyon ölçümü Amerikan ve Avrupa ekokardiyografi cemiyetlerinin 2018 konsensüs yazısı esas alınarak yapıldı (7). Sıfır referans noktası diyastol sonu olarak belirlendi. Sıfır noktasından rezervuar fazının sonu olan pik uzunlamasına deformasyon değeri ölçüldü ve sol atriyal rezervuar gerilme (LASr) olarak belirlendi.

## Sağ Ventrikül Serbest Duvar Boyuna Gerilme Ölçümü

Sağ ventrikül deformasyon ölçümü Amerikan ve Avrupa ekokardiyografi cemiyetlerinin 2018 konsensüs yazısı esas alınarak yapıldı (7). Sağ ventrikül serbest duvar deformasyon ölçümü için sağ ventrikül fokus görüntülerden ya da dört boşluk görüntüde sağ ventrikülün kısa kesilmediği görüntülerden ölçümler yapıldı. Endokard sınırı iyi değerlendirilemeyen görüntüler ölçülmedi. Sağ ventrikül miyokardı sol ventriküle kıyasla ince olduğundan ROI sağ ventrikül miyokardını kapsayacak şekilde ayarlandı.  $\leq -\%20$  sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon değeri normal olarak kabul edildi.

## İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada minimum örneklem genişliğini belirlemek için G\*power 3.1 programı kullanılmıştır. Çalışmanın gücü 0,80 ve tip 1 hata 0,05 olarak kabul edildiğinde minimum örneklem sayısı birinci grupta 4 ikinci grupta 14 olmak üzere toplam 18 olarak bulunmuştur. Bu sonuç doğrultusunda çalışma toplam 51 hasta ile tamamlanmıştır. Çalışma bitiminde

mevcut örneklem sayısı ile güç analizi yapılmıştır ve çalışmanın gücü (power)  $\%95$  olarak belirlenmiştir. İstatistiksel analizler JMP versiyon 14.0 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina) istatistik program ile yapıldı. Kategorik değişkenler yüzde olarak ifade edilirken, sayısal değişkenler aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak gösterildi. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra ikili grupların karşılaştırmasında bağımsız t-testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare testi Yates düzeltmesi kullanıldı. En küçük teorik frekans  $<5$  durumunda Fisher exact test kullanıldı. P-değerinin  $<0,05$  olması durumunda sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. KY gelişimini öngördüren parametreleri değerlendirmek için lojistik regresyon metodu kullanıldı. Ek değişkenli regresyon analizde p-değeri sadece  $<0,2$  olan değişkenler çok değişkenli regresyon analizine dahil edildi. Sağ ventrikül gerilme cut-off değeri ROC analizi kullanılarak belirlendi.

## Bulgular

Çalışmamıza TTE'de diyastolik disfonksiyon saptanan toplam 51 olgu dahil edildi. Hastalar çalışma takibi boyunca KY gelişimine göre iki gruba ayrıldı. Çalışma süresi boyunca KY gelişen 31 gelişmeyen 20 hasta iki grupta değerlendirildi.

Çalışmaya dahil edilen hastaların ortalama yaşı  $63,1 \pm 9,5$  yıldır. Olguların 37'si erkek ( $\%73$ ) olarak saptandı. Hasta gruplarının demografik özellikleri ile laboratuvar verileri sağkalıma göre iki grupta karşılaştırıldığında iki grup arasında fark saptanmadı. Olguların antihipertansif ve diüretik ilaç kullanımı benzer bulundu. Çalışma gruplarının demografik özellikleri ilaç kullanımları ve laboratuvar değerleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Çalışmaya alınan 51 hasta TTE yapıldıktan sonra günümüze kadar geriye dönük olarak araştırıldı. Hastalar 2016 Avrupa ve Amerika kardiyak görüntüleme cemiyetlerinin diyastolik disfonksiyon kılavuzunda belirttiği algoritma esas alınarak değerlendirildi (8). Otuz yedi hastada sol atriyal basınç artışı ve 3 hastada normal sol atriyal basınç saptandı. On bir hasta ise algoritma ile sol atriyal basıncı tahmin edilemeyen grupta yer aldı. Takip boyunca KY gelişen ve gelişmeyen iki grubun TTE parametreleri karşılaştırıldı. Her iki grubun EF değerleri ve sol ventrikül boyutları benzer bulundu. KY gelişen grupta LASr ve sağ ventrikül serbest duvar deformasyon değerleri belirgin olarak azalmış bulundu (Tablo 2). P-değeri  $<0,05$  olan LASr ve sağ ventrikül serbest duvar deformasyon parametreleri ile kreatin, alanin transaminaz, LAVi ve E/e' değerleri de tek değişkenli lojistik regresyon analizine dahil edildi. TY jet velositesi hastaların  $\%80$ 'inde ( $n=41$ ) ölçülebilmştir. Eksik veri nedeniyle tek ve çok değişkenli regresyon analizine dahil edilmemiştir. Tek değişkenli regresyon analizinde p-değeri 0,2'den küçük olarak saptanan LAVi, LASr ve sağ ventrikül serbest duvar gerilme



parametreleri çoklu regresyon analizine dahil edildi. Sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon değeri çoklu lojistik regresyon analizinde diyastolik disfonksiyonu olan hastalarda KY gelişiminin bağımsız öngördürücüsü olarak saptandı (Tablo 3).

### ROC Analizi

Sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon değerinin KY gelişiminde cut-off değerini bulmak için lojistik regresyon yöntemi olan ROC analizi kullanıldı ve sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyonun cut-off değeri %61 sensitivite ve %85 spesifite ile  $-15,5$  olarak saptandı [eğri altında kalan alan (%95 güven aralığı)=0,81 (0,68-0,94),  $p=0,0001$ ] (Şekil 1). Sol atriyal basıncı tahmin edilemeyen 11 hastanın 9'unda takip sırasında KY gelişmiş olup bu hastaların sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon değerleri belirlenen cut-off değerinden daha pozitif değerde bulunmuştur (sağ ventrikül serbest duvar boyuna gerilme  $>-15,5$ ). İki hastada ise bu değer  $<-15,5$  olarak tespit edilmiştir. Hasta grubu az ( $n=11$ ) olduğundan sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon ölçüsünün bu alt gruptaki KY'yi öngörmedeki değeri istatistiksel olarak analiz edilemedi.

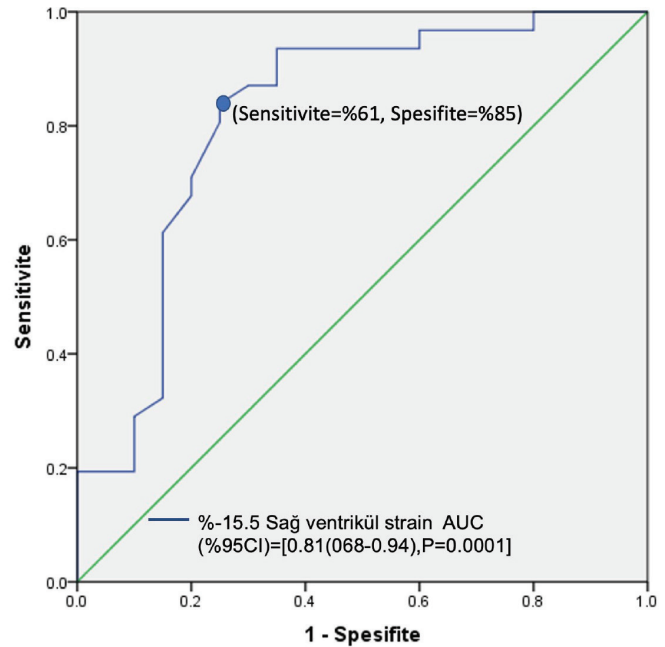
**Tablo 1: İki grup arasındaki klinik demografik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması**

Değişkenler	Kalp yetmezliği gelişen (n=31)	Kalp yetmezliği gelişmeyen (n=20)	p-değeri
Yaş, yıl	62,9±8,8	64,3±8,3	0,50
Erkek, (%)	24 (78)	13 (65)	0,35
VYA m <sup>2</sup>	1,88±0,1	1,9±0,16	0,62
HT (%)	25 (81)	15 (75)	0,72
DM (%)	10 (33)	10 (50)	0,24
HL (%)	11 (36)	7 (35)	0,6
<b>Laboratuvar değerleri</b>			
Hb mg/dL	14,2±2,2	13,8±2,2	0,60
Trombosit mg/dL	202,8±66,4	212,8±70	0,36
Kreatin mg/dL	0,82±0,13	0,86±0,14	0,16
AST mg/dL	20,1±2,7	19,6±4,4	0,63
ALT mg/dL	20,6±4,1	22,5±3,7	0,10
NT-proBNP pg/mL	69,29±19,5	65,2±21,3	0,48
<b>KVS ilaçları</b>			
Beta bloker (%)	15 (49)	8 (40)	0,44
ADE-İ (%)	13 (42)	5 (25)	0,17
ARB (%)	12 (39)	10 (50)	0,30
Diüretik (%)	9 (29)	10 (50)	0,11

p: Olasılık, VYA: Vücut yüzey alanı, HT: Hipertansiyon, DM: Diabetes mellitus, HL: Hiperlipidemi, AST: Aspartat transaminaz, ALT: Alanin transaminaz, D. bilirubin: Direkt bilirubin, NT-proBNP: N terminal-pro B tipi natriüretik peptid, KVS: Kardiyovasküler sistem, ADE-İ: Anjiyotensin dönüştürücü enzim-inhibitörü, ARB: Anjiyotensin reseptör blokeri, Hb: Hemoglobin

## Tartışma

Çalışmamızda sağ ventrikül serbest duvar boyuna gerilme değerinin LAVi ve LASr parametrelerinden bağımsız olarak, diyastolik disfonksiyonu olan hastalarda KY gelişimi ile yakından ilişkili olduğu saptandı.



**Şekil 1:** Sağ ventrikül serbest duvar boyuna gerilme ROC eğrisi

AUC: Eğri altındaki alan, CI: Güven aralığı

**Tablo 2: İki grup arasındaki ekokardiyografik parametrelerin karşılaştırılması**

Değişkenler	Kalp yetmezliği gelişen (n=31)	Kalp yetmezliği gelişmeyen (n=20)	p-değeri
SVSSÇ mm	27,9±3,7	28,5±4,9	0,66
SVDSÇ mm	48,9±4,4	49,05±6,05	0,95
EF%	57,9±4,1	57,1±2,5	0,45
TY velositesi m/sn	2,52±0,68	2,6±0,63	0,64
E	0,63±0,11	0,66±0,15	0,49
A	0,79±0,14	0,78±0,11	0,76
E/A	0,79±0,1	0,84±0,29	0,42
E/e'	10,2±3,9	9,0±2,2	0,19
LAVi mL/m <sup>2</sup>	30,2±5,3	32,9±7,06	0,13
Sol ventrikül GLS%	-17,2±3,4	-18,0±2,3	0,39
LASr %	25,1±8,2	32,0±6,3	0,002
Sağ ventrikül gerilme %	-15,3±2,5	-20,0±4,6	<0,0001

SVSSÇ: Sol ventrikül sistol sonu çap, SVDSÇ: Sol ventrikül diyastol sonu çap, EF: Ejeksiyon fraksiyonu, TY: Triküs pit yetmezlik, LAVi: Sol atriyal volüm indeksi, GLS: Global uzunlamasına deformasyon, LASr: Sol atriyal rezervuar deformasyon

**Tablo 3: Ekokardiyografik parametrelerin kalp yetmezliği gelişimini öngörmekteki tek değişkenli ve çok değişkenli regresyon analizi**

Değişken	Tek değişkenli regresyon			Çok değişkenli regresyon		
	Odds ratio	(%95 GA)	P-değeri	Odds ratio	(%95 GA)	P-değeri
LASr	0,88	(0,80-0,96)	0,006	1,04	(0,96-1,12)	0,32
Kreatin	1,56	(0,81-3,02)	0,20			
ALT	1,01	(0,99-1,04)	0,22			
E/e'	1,09	(0,91-1,31)	0,32			
LAVi	0,93	(0,84-1,02)	0,14	0,9	(0,79-1,04)	0,20
Sağ ventrikül gerilme	1,4	(1,1-1,8)	0,001	1,5	(1,18-1,91)	0,001

GA: Güven aralığı, LASr: Sol atriyal rezervuar deformasyon, p: Olasılık, LASr: Sol atriyal rezervuar deformasyon, ALT: Alanin transaminaz, LAVi: Sol atriyal volüm indeksi

Diyastolik disfonksiyonda beklenenin aksine sağ ventrikül pulmoner yataktaki basınç artışından erken dönemde etkilenmekte ve subklinik sağ ventrikül disfonksiyonu gelişmektedir (9). Nagueh ve ark. (10) yaptığı validasyon çalışmasında ekokardiyografi ile tahmin edilen ortalama sağ atriyum basıncının pulmoner kapiller kama basıncını yüksek spesifite ve sensitivite ile tahmin ettiği gösterilmiştir (%76 sensitivite, %86 spesifite). Aynı zamanda TTE ile belirlenen ortalama sağ atriyum basıncı ile pulmoner kapiller kama basıncının birbiriyle istatistiksel olarak anlamlı şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir ve ortalama sağ atriyum basıncının sol ventrikül doluş basıncını göstermede etkin bir parametre olduğu belirtilmiştir. Mele ve ark. (11) yaptığı bir başka çalışmada ise 2016 Avrupa ve Amerika kardiyak görüntüleme cemiyetlerinin diyastolik disfonksiyon kılavuzunda belirtilen algoritmaya göre sol atriyum basıncı net belirlenemeyen grup değerlendirilmiştir. Kılavuzun indeterminate olarak isimlendirdiği bu grupta pulmoner kapiller kama basıncı ile TTE ile belirlenen ortalama sağ atriyum basıncının birbiriyle oldukça korele olduğu gösterilmiştir. Çalışmada ortalama sağ atriyum basıncının artmış sol ventrikül doluş basıncını göstermede belirleyici olduğu ve prognostik öneme sahip olduğu saptanmıştır. Sağ atriyum basınç artışı sağ ventrikül doluş basıncının artmasına sebep olan sağ ventrikül diyastolik ve sistolik disfonksiyonuna bağlanmışır (11). Çalışmamızda da 11 indeterminate hastanın 9'unda sağ ventrikül disfonksiyonu ve KY gelişmiştir. Sağ ventrikül fonksiyonu bozulmamış grupta KY gelişmemiştir. Bu durum sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon değerinin sol atriyal basınç artışı ve buna bağlı KY gelişimini diğer parametrelerden daha etkin bir şekilde belirleyebileceği kanısına varabiliriz. Bu hipotezin hasta popülasyonu fazla çalışmalarla kanıtlanabileceğini düşünmekteyiz.

Korunmuş ve düşük EFKY'de sağ ventrikül disfonksiyonu mortalite ve morbiditenin aynı zamanda hastane yatışlarının bağımsız öngördürücüsü olarak gösterilmektedir. Korunmuş EFKY'de sağ ventrikül disfonksiyonu sanılanın aksine hastalığın erken dönemlerinde dahi gelişmeye başlamaktadır. Korunmuş EFKY'de sol ve sağ ventrikül doluş basınçlarında ortak artış olduğu belirtilmektedir. 2019 Avrupa Kardiyoloji Derneği konsensüs

dokümanında diyastolik disfonksiyon varlığında KY tanısı koymak için bir algoritma geliştirilmiştir (2). Bu algorithmada TY jet hızı >2,8 m/sn (sistolik pulmoner arter basıncı >35 mmHg) varlığı majör kriter olarak belirlenmiş ve artmış sistolik pulmoner arter basıncı ile sağ ventrikül disfonksiyonu artmış mortaliteyle ilişkili olarak gösterilmiştir (2,12). Korunmuş EFKY'de sağ ventrikül disfonksiyonu geliştiğinde prognozun kötü olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmekle birlikte (12,13) diyastolik disfonksiyonu olan hastalarda sağ ventrikül disfonksiyonunun KY gelişimi üzerindeki etkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Diyastolik disfonksiyon varlığında atriyal fibrilasyon geliştiğinde sağ ventrikül disfonksiyonu gelişimini hızlandığını gösteren çalışmalar bulunmakla birlikte bu çalışmalarda sağ ventrikülü değerlendirmek için geleneksel yöntemler kullanılmıştır. Sağ ventrikül miyokardı sol ventriküle göre daha incedir ve sistemik basınca kıyasla çok daha düşük pulmoner arter basıncına karşı çalışmaktadır. Pulmoner arter basıncında çok az bir artışı sağ ventrikülün kompanse etmesi sol ventriküde olduğu kadar kolay olmamakta ve disfonksiyon erken dönemde gelişebilmektedir (14). Sağ ventrikül disfonksiyonu ventrikül çaplarında artış olmadan ve EF düşmeden gelişmeye başlar (15,16). Aynı zamanda artmış sağ ventrikül basıncı interventriküler septumun sola deviyeye olmasına sebep olmaktadır. Bu durum sol ventrikül doluş basıncının daha fazla artmasına ve KY gelişiminin hızlanmasına sebebiyet vermektedir (2). Sağ ventrikül dilate olduğunda geriye dönüşsüz sağ KY başlamış olmaktadır. Parrinello ve ark. (12) yaptığı bir çalışmada korunmuş EFKY hastalarında sağ ventrikül bazal çapındaki artışın tüm nedenlere bağlı ölümlerin bağımsız öngördürücüsü olduğu saptanmıştır (12). Buna bağlı olarak sağ ventrikül volümetrik yeniden şekillenmesinin kötü prognoz göstergesi olduğu belirtilmiştir (3,12,17). Günümüzde sağ ventrikülün sistolik fonksiyonlarını daha iyi belirleyebilmek ve sağ ventrikül disfonksiyonunu volümetrik yeniden şekillenmesinin gelişmeden erken tespit edebilmek için sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon ölçümü kullanılmaya başlanmıştır. Sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon değerinin düşük EFKY'de prognozun bağımsız öngördürücüsü olduğu

belirtmiştir (15). Aynı zamanda sol ventrikül destek cihazı sonrası sağ KY'yi belirlemede birçok standart değerlendirmeden daha üstün olduğu tespit edilmiştir (18). Pulmoner emboli ve pulmoner arter HT'de sağ ventrikül fonksiyonunu belirlemek için de önerilmektedir (19). Bütün bu bilgilerin doğrultusunda biz de çalışmamızda diyastolik disfonksiyonu olan hastalarda sağ ventrikül disfonksiyonunu erken dönemde belirleyebilmek için sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon ölçümünü kullandık.

Sol atriyumda basınç artışı pulmoner yatağa ve buradan da sağ ventriküle yansımaktadır. Sağ ventrikülde hafif basınç artışları dahi sağ ventrikül disfonksiyonuna yol açabilmektedir. Sağ ventrikül disfonksiyonu sol atriyumdaki belirgin basınç artışını kanıtlar nitelikte olup bu hastalarda KY gelişimini öngörebilmektedir. Aynı şekilde trikuspid jet hızı >2,8 m/s (sistolik pulmoner arter basıncı >35 mmHg) sol atriyum basıncının yüksek olduğunu tahmin eden ana parametrelerdendir (4,8). Bu durum artmış sol atriyum basıncının (sol ventrikül doluş basıncı) artmış sistolik pulmoner arter basıncı ve buna bağlı sağ ventrikül disfonksiyonu ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir. Morris ve ark. (9) yaptığı bir çalışmada korunmuş EFKY olan hastaların sağ ve sol ventrikül subendokardiyal tabakalarında benzer bozulma saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda da sol ventrikül diyastolik disfonksiyona yol açan diabetes mellitus, HT, obezite gibi hastalıklarda fibrotik sürecin aynı şekilde sağ ventrikülde de geliştiği ve sağ ventrikülün sistolik ve diyastolik disfonksiyonuna sebep olduğu gösterilmiştir. Bu bozulma pulmoner arter basıncından bağımsız olarak gösterilmiştir (20,21). Bu bilgiler doğrultusunda sağ ventrikül disfonksiyonunun diyastolik disfonksiyonu olan hastalarda iki ana sebebi olduğu durumunu ortaya çıkarmaktadır. Birincisi pulmoner arterlerdeki basınç artışına bağlı gelişen bir diğeri ise sol ventrikül disfonksiyonuna sebep olan fibrotik sürecin aynı şekilde sağ ventrikülde de görülmesidir.

Bütün bu bilgiler sonucunda diyastolik disfonksiyon hastalarında sağ ventrikülde de aynı sol ventrikülde olduğu gibi diyastolik ve sistolik disfonksiyon geliştiğini söyleyebiliriz. Sağ ventrikül disfonksiyonu kötü prognozla ilişkili olduğu gibi KY'yi öngörmeye kullanılabilir. Bu sayede diyastolik disfonksiyon saptanan hastalarda KY gelişmeden önce erken ve etkin tedavi uygulanabilir ve KY gelişimi önenebilir.

### Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamızda birçok kısıtlılık mevcuttur. Öncelikle çalışma geriye dönük olduğundan hastaların KY gelişimini takip etmede yetersiz kalmış olabilir. Aynı şekilde sayıca az popülasyon varlığı çalışmanın gücünü azaltmaktadır. Sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon değerinin diyastolik disfonksiyonda KY gelişimini öngörmedeki yerini değerlendirecek yeterli hasta sayısına sahip, ileriye dönük (prospektif), randomize çalışmalara ihtiyaç vardır.

## Sonuç

Çalışmada sağ ventrikül serbest duvar uzunlamasına deformasyon ile belirlenen sağ ventrikül disfonksiyonunun diyastolik disfonksiyonda sol atriyal gerilme değerinden bağımsız olarak KY gelişiminin en önemli belirleyicisi olduğunu belirledik. Sonuç olarak; görece az sayıda hastanın değerlendirildiği, ancak konusunda ilk olan çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların daha büyük, ileriye dönük araştırmalarla test edilmesi gerekmektedir.

### Etik

**Etik Kurul Onayı:** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Değerlendirme Kurulu'ndan etik kurul onayı alınmıştır (karar no: İ1-22-21).

**Hasta Onayı:** Retrospektif gözlemsel çalışmadır, hasta onayı gerektirmemektedir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunun dışından olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

### Yazarlık Katkıları

**Konsept:** T.S.T., İ.D., **Dizayn:** T.S.T., İ.D., **Veri Toplama veya İşleme:** T.S.T., İ.D., **Analiz veya Yorumlama:** T.S.T., İ.D., **Literatür Arama:** T.S.T., İ.D., **Yazan:** T.S.T., İ.D.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

## Kaynaklar

1. van Riet EE, Hoes AW, Wagenaar KP, et al. Epidemiology of heart failure: the prevalence of heart failure and ventricular dysfunction in older adults over time. A systematic review. *Eur J Heart Fail.* 2016;18:242-252.
2. Pieske B, Tschöpe C, de Boer RA, et al. How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: the HFA-PEFF diagnostic algorithm: a consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2019;40:3297-3317.
3. Obokata M, Reddy YNV, Borlaug BA. Diastolic Dysfunction and Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: Understanding Mechanisms by Using Noninvasive Methods. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2020;13:245-257.
4. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2021;42:3599-3726.
5. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J.* 2016;37:2129-2200.
6. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2015;28:1-39.e14.
7. Badano LP, Kolias TJ, Muraru D, et al. Standardization of left atrial, right ventricular, and right atrial deformation imaging using two-dimensional speckle tracking echocardiography: a consensus document of the EACVI/

- ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2018 ;19:591-600.
8. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP, et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2016;17:1321-1360.
  9. Morris DA, Gailani M, Vaz Pérez A, et al. Right ventricular myocardial systolic and diastolic dysfunction in heart failure with normal left ventricular ejection fraction. *J Am Soc Echocardiogr*. 2011;24:886-897.
  10. Nagueh SF, Smiseth OA, Dokainish H, et al. Mean Right Atrial Pressure for Estimation of Left Ventricular Filling Pressure in Patients with Normal Left Ventricular Ejection Fraction: Invasive and Noninvasive Validation. *J Am Soc Echocardiogr*. 2018;31:799-806.
  11. Mele D, Pestelli G, Molin DD, et al. Right Atrial Pressure Is Associated with Outcomes in Patients with Heart Failure and Indeterminate Left Ventricular Filling Pressure. *J Am Soc Echocardiogr*. 2020;33:1345-1356.
  12. Parrinello G, Torres D, Buscemi S, et al. Right ventricular diameter predicts all-cause mortality in heart failure with preserved ejection fraction. *Intern Emerg Med*. 2019;14:1091-1100.
  13. Mukherjee M, Sharma K, Madrazo JA, et al. Right-Sided Cardiac Dysfunction in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction and Worsening Renal Function. *Am J Cardiol*. 2017;120:274-278.
  14. Mohammed SF, Hussain I, AbouEzzeddine OF, et al. Right ventricular function in heart failure with preserved ejection fraction: a community-based study. *Circulation*. 2014;130:2310-2320.
  15. Melenovsky V, Hwang SJ, Lin G, et al. Right heart dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction. *Eur Heart J*. 2014;35:3452-3462.
  16. Bernardo RJ, Haddad F, Couture EJ, et al. Mechanics of right ventricular dysfunction in pulmonary arterial hypertension and heart failure with preserved ejection fraction. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2020;10:1580-1603.
  17. Baruch G, Rothschild E, Kapusta L, et al. Impact of right ventricular dysfunction and end-diastolic pulmonary artery pressure estimated from analysis of tricuspid regurgitant velocity spectrum in patients with preserved ejection fraction. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2019;20:446-454.
  18. Beck DR, Foley L, Rowe JR, et al. Right Ventricular Longitudinal Strain In Left Ventricular Assist Device Surgery-A Retrospective Cohort Study. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2017;31:2096-2102.
  19. Mazur ES, Mazur VV, Rabinovich RM, et al. Right Ventricular Longitudinal Strain in Acute Pulmonary Embolism and Right Ventricular Myocardial Infarction in Patients with McConnell's Sign. *Kardiologija*. 2020;60:20-27.
  20. Wong CY, O'Moore-Sullivan T, Leano R, et al. Association of subclinical right ventricular dysfunction with obesity. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:611-616.
  21. Kosmala W, Wong C, Kuliczkowska J, et al. Use of body weight and insulin resistance to select obese patients for echocardiographic assessment of subclinical left ventricular dysfunction. *Am J Cardiol*. 2008;101:1334-1340.

# Çocuklarda Karaciğer Hastalıklarının Tanısında Karaciğer Biyopsisinin Yeri

## Role of Liver Biopsy in the Diagnosis of Liver Diseases in Children

Halit Bay<sup>1</sup>, Aydan Kansu<sup>2</sup>, Zarife Kuloğlu<sup>2</sup>, Ceyda Tuna Kırsaçlıoğlu<sup>2</sup>, Aytaç Yaman<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Gastroenteroloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Merkezimizde yapılmış olan karaciğer biyopsileri endikasyon, klinik ve laboratuvar veriler, ön tanı ve histopatolojik tanıları açısından analiz edilerek elde edilen klinik ve laboratuvar verileriyle, karaciğer biyopsisinin tanıdaki etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışma, 2008-2017 yılları arasında yenidoğan kolestazi, kronik karaciğer hastalığı, izole hipertransaminazemi, izole hepatomegali ve ultrasonografik parankimal bulgularla karaciğer biyopsisi yapılan 0-18 yaş grubundaki hastaların demografik, fizik inceleme, laboratuvar ve ultrasonografi bulguları, biyopsi endikasyonları ve histopatolojik tanı bilgilerinin geriye dönük incelenmesiyle yürütülmüştür. Hastalar, ön tanısı olan, ön tanının doğrulanması amacıyla karaciğer biyopsi yapılanlar (Grup 1) ve klinik ve laboratuvar olarak ön tanısı olmayan, tanı amacıyla biyopsi yapılanlar (Grup 2) olarak ikiye ayrılarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Yaş ortalaması 8,8±5,7 olan, 139'u (%53) erkek olan 262 hasta çalışmaya alınmıştır. Hastaların 183'ü (%69,8) Grup 1'de, 79'u (%30,2) Grup 2'de bulunmaktadır. Grup 1'de hastaların %87,4'ünde, Grup 2'de hastaların %26,6'sında kesin tanıya ulaşılmıştır. Biyopsiyle tanı elde edilebilmesinde ön tanı varlığı (p=0,001), fiziksel incelemede hepatomegali saptanması (p=0,001), splenomegali saptanması (p=0,001) ve ultrasonografide karaciğer parankiminde patoloji saptanması (p=0,008) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

**Sonuç:** Tüm hasta grubumuzda, hastaların %69,1'i kesin tanı almıştır. Ön tanı varlığının histopatolojik olarak kesin tanı elde edebilmede istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Ancak verilerimiz sonucunda klinik, laboratuvar ve görüntüleme yöntemleriyle ön tanıya gidilemeyen hastalarda da karaciğer biyopsisinin riskleri ve spesifik bir tanı elde etmedeki yararları göz önünde bulundurularak, hasta özelinde biyopsi kararı verilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Biyopsi, Karaciğer, Çocuk, Ön Tanı, Histopatolojik Tanı

### Abstract

**Objectives:** It was aimed to determine the diagnostic efficacy of liver biopsy with clinical and laboratory data by analyzing liver biopsies performed in our center in terms of indication, clinical and laboratory data, pre-diagnosis and histopathological diagnoses.

**Materials and Methods:** The study was conducted by retrospectively examining demographic, physical examination, laboratory, ultrasonography findings, biopsy indications and histopathological diagnosis information of patients aged 0-18 years, who underwent liver biopsy with neonatal cholestasis, chronic liver disease, isolated hypertransaminasemia, isolated hepatomegaly and ultrasonographic parenchymal findings between 2008 and 2017. The patients were evaluated by dividing into two groups: those who underwent liver biopsy to confirm the pre-diagnosis (Group 1), and those without pre-diagnosis and underwent biopsy for diagnostic purposes (Group 2).

**Results:** A total of 262 patients (mean age: 8.8±5.7 years, 53% male), including 183 (69.8%) in Group 1 and 79 (30.2%) in Group 2, were included. The definitive diagnosis was reached in 87.4% and 26.6% in two groups, respectively. Presence of pre-diagnosis (p=0.001), hepatomegaly (p=0.001), splenomegaly (p=0.001) on physical examination and detection of liver parenchymal pathology with ultrasonography (p=0.008) were found to be statistically significant in obtaining a definitive diagnosis with biopsy.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Halit Bay

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Tel.: +90 555 559 38 40 E-posta: halit.bay@live.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-2565-0953

Geliş Tarihi/Received: 02.08.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 21.09.2021

©Telif Hakkı 2022 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



**Conclusion:** In our entire patient group, 69.1% of the patients were definitively diagnosed. Presence of pre-diagnosis was found to be statistically significant in obtaining a histopathologically definitive diagnosis. However, based on our data, we thought that it would be appropriate to make a biopsy decision considering the risks and the benefits of liver biopsy in patients without pre-diagnosis.

**Key Words:** Biopsy, Liver, Child, Pre-diagnosis, Histopathological Diagnosis

## Giriş

Çocukluk çağı karaciğer hastalıkları; yenidoğan kolestazları, konjenital gelişimsel-yapısal anomaliler, akut karaciğer yetmezliği, enfeksiyöz, metabolik, otoimmün hastalıklar, sistemik hastalıkların karaciğer tutulumu, obezite ilişkili yağlı karaciğer hastalığı, toksik-ilaç ilişkili karaciğer hastalıklarını içine alan, karaciğer yetmezliği ve siroza kadar ilerleyebilen geniş bir yelpazede görülmektedir (1). Karaciğer biyopsisi ile karaciğer dokusunun histopatolojik ve gerektiğinde immünohistokimyasal olarak incelenmesi sağlanır. Klinik ve laboratuvar bulgularla birleştirildiğinde karaciğer hastalıklarının tanısı, evrelendirilmesi, tedavi seçimi ve prognozunun belirlenmesi açısından altın standarttır (1,2).

Çalışmamızda, merkezimizde yapılan karaciğer biyopsilerinin, endikasyonları, klinik, laboratuvar ve histopatolojik verileri analiz edilerek karaciğer biyopsisinin tanıdaki etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Çocuk gastroenteroloji bilim dalımızda 2008-2017'de karaciğer biyopsisi yapılan 0-18 yaşındaki hastalar geriye dönük olarak değerlendirilmiştir. Hastaların demografik, fizik inceleme, laboratuvar ve ultrasonografi bulguları, biyopsi endikasyonları, histopatolojik tanıları kaydedilmiştir. Hastaların ağırlık ve boyları, yaşa göre boy (YGB) ve boya göre ağırlık (BGA) z-skorumları hesaplanmış, Dünya Sağlık Örgütü standartları kullanılarak BGA z-skor <-2 akut malnütrisyon, YGB z-skor <-2 kronik malnütrisyon, BGA z-skor >+2 fazla kilolu ve obez olarak değerlendirilmiştir (3).

Serum alanin transaminaz (ALT) değerleri yükseklik derecesine göre; normal sınırlarda, normal sınırın üstü-5 kat arasında (hafif yükseklik), 5 kat sınırın üstü - 10 kat arası (orta derecede yükseklik) ve 10 kat sınırın üstü üzerinde (ciddi yükseklik) olarak gruplandırılmıştır (4). Etiyolojiye yönelik; yenidoğan kolestazi açısından toksoplazmozis, rubella, sitomegalovirüs ve herpes simpleks virüs, kan şekeri, idrar-kan aminoasitleri, idrar organik asitleri, tandem mass spektrometri, lipit profili, amonyak, laktat, piruvat, idrarda redükten madde, tiroid hormonları, ferritin, alfa fetoprotein, ter testi, alfa-1-antitripsin düzeyi; kronik karaciğer hastalıkları açısından hepatit B virüsü (HBV), hepatit C virüsü (HCV) serolojisi, immünooglobülin (Ig) G, otoantikörler, alfa-1-antitripsin seruloplazmin ve 24 saatlik idrar bakır düzeyi değerlendirilmiştir. En az 3 aydır olan izole ALT yüksekliğinde

Çölyak hastalığı (doku transglutaminaz IgA antikor) ve kas hastalığı (serum kreatin kinaz düzeyi) dışlanarak kronik karaciğer hastalığına yönelik testler yapılmıştır. Hepatobiliyer ultrasonografi, yenidoğan kolestazında biliyer atrezi (BA) ve diğer yapısal durumlar açısından ve tüm hastalarda karaciğer parankiminin değerlendirilmesi amacıyla yapılmıştır. İzole ALT yüksekliğinde biyopsi 6 ay - 1 yıl sonrasında yapılmıştır.

Hastalar, ön tanısı olan, ön tanının doğrulanması amacıyla karaciğer biyopsi yapılanlar (Grup 1) ve klinik ve laboratuvar olarak ön tanısı olmayan, tanı amacıyla biyopsi yapılanlar (Grup 2) olarak ikiye ayrılarak değerlendirilmiştir.

Çalışma Helsinki deklarasyon prensiplerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. 24.07.2017'de Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 12-740-17 karar numaralı onay alınmıştır.

## İstatistiksel Analiz

Hastalardan alınan ölçümler için sayı (n), yüzde, ki-kare ve Mann-Whitney U analizleri yapılmıştır. Her bir değişken için elde edilen sonuçlar ayrı başlıklar halinde sunulmuştur. Bütün analizler IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corp., Armonk, New York, ABD) istatistik paket programında yapılmıştır. Ki-kare analizlerine göre  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## Bulgular

Yaş ortalaması  $8,8 \pm 5,7$  yıl olan, 139'u (%53) erkek olmak üzere 262 hasta alınmıştır. Tablo 1'de hastaların demografik özellikleri, fizik inceleme bulguları, ALT değerleri ve ultrasonografi bulguları verilmiştir.

Karaciğer biyopsisi, 183 (%69,8) hastaya klinik, laboratuvar ve ultrasonografi bulgularıyla düşünülen ön tanının değerlendirilmesi için (Grup 1); klinik ve laboratuvar olarak ön tanısı olmayan 79 (%30,2) hastaya (Grup 2) ise tanısal amaçlı yapılmıştır. Grup 1'deki biyopsi endikasyonları ve histopatolojik bulgular Tablo 2'de verilmiştir.

Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN) planlanan 57 talasemi majör (TM) hastasına demir birikiminin derecelendirilmesi amacıyla biyopsi yapılmış; evre 1-4 demir birikimi saptanmıştır. Kronik viral hepatit (HBV, HCV) tanısıyla 30 hastaya tedavi planı oluşturmak üzere biyopsi yapılmıştır. HKHN sonrası graft-versus-host hastalığı (GVHH) düşünülen 21 hastanın 11'inde biyopsiyle tutulum saptanmıştır. Otoimmün hepatit (OIH) ön tanısıyla 19 hastaya biyopsi yapılmış, 13'ünde tanı doğrulanmış, 4'ü toksik hepatit (TH) tanısı almıştır.

Yenidoğan kolestazi nedeniyle biyopsi yapılan 14 hastanın 3'ü neonatal hepatit, ikişer hasta alfa-1 antiripsin eksikliği ve BA, biri intrahepatik safra kanal azlığı (IHSKA) tanılarını almıştır.

Wilson hastalığı (WH) tanısıyla 15 hastaya biyopsi yapılmış, 11'inde tanı doğrulanmıştır. Metabolik hastalık ön tanısıyla 12 hastaya biyopsi yapılmış, ikişer hasta glikojen depo ve Niemann-Pick hastalığı tanısını almıştır.

Şüpheli ilaç veya toksik madde maruziyetiyle TH düşünülerek biyopsi yapılan 6 hastanın dördü TH'yle uyumlu bulunmuştur. Karaciğer nakli sonrası rejeksiyon (4 hasta) ve sitomegalovirüs (CMV) hepatiti (1 hasta) ön tanılarını biyopsiyle dışlanmıştır. Sonuç olarak, ön tanının değerlendirilmesi için biyopsi yapılan 183 hastanın 160'unda (%87,4) histopatolojik olarak kesin tanı elde edilmiştir.

Spesifik ön tanısı olmayan 79 hastaya (Grup 2) tanısız amaçlı biyopsi yapılmıştır (Tablo 3). Bunlardan 59'unda nedeni açıklanamayan izole hipertransaminazemi mevcuttur; 6'sında TH, 5'inde steatohepatit saptanmıştır. Birer olgu WH, OIH ve otoimmün sklerozan kolanjit tanısını almıştır. Olguların 42'si histopatolojik olarak spesifik tanı alamamıştır.

Kronik karaciğer hastalığı bulguları olan sekiz hastada spesifik tanıya ulaşılamamıştır. İzole hepatomegaliyle biyopsi yapılan 6 hastadan biri (tip 1 diabetes mellitus hastası) glikojenik hepatopati, biri steatohepatit tanısını almıştır. Ultrasonografide

parankimal değişiklik olan 6 hastanın ikisi konjenital hepatik fibrozis (KHF) tanısını almıştır. Sonuç olarak, klinik ve laboratuvar verileri ön tanısı olmayan ve tanısız amaçlı biyopsi yapılan (Grup 2) 79 hastanın 21'inde (%26,6) kesin tanıya ulaşılmıştır.

Karaciğer biyopsisinin tanıya ulaşmadaki etkinliğinin belirlenmesi amacıyla hastalar (Grup 1 ve Grup 2), ALT düzeyleri, akut/kronik malnütrisyon, hepatomegali, splenomegali, sarılık ve ultrasonografik parankimal patolojiye göre karşılaştırılmıştır (Tablo 4). Biyopsiyle tanı koyulmasında ön tanı varlığı ( $p=0,001$ ), hepatomegali ( $p=0,001$ ), splenomegali ( $p=0,001$ ) ve ultrasonografik parankimal patoloji olması ( $p=0,008$ ) istatistiksel anlamlı bulunmuştur.

## Tartışma

Çocuklarda karaciğer biyopsisi, klinik ve laboratuvar bulgularla birlikte karaciğer hastalıklarının tanısı, evresi, prognozu ve tedavinin belirlenmesinde önemli bir araçtır (1,2). Çalışmamızda, yenidoğan kolestazi, kronik karaciğer hastalığı, izole hipertransaminazemi, izole hepatomegali ve ultrasonografik parankimal bulgularla tanısız amaçlı yapılan 262 biyopsinin değerlendirilmesiyle olguların %69,1'i kesin tanı almıştır. Klinik ve laboratuvarla ön tanısı olanlarda biyopsiyle kesin tanıya ulaşma oranı, ön tanısı olmayanlara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla; %87,4 ve %26,6,  $p=0,001$ ).

Ön tanısı olan ve tanıyı kesinleştirmek için karaciğer biyopsisi yapılan hastalar (Grup 1: 183 hasta) arasında en sık endikasyon, TM'de demir birikiminin değerlendirilmesidir (%31,2). Çalışmamızda TM yoğunluğunun nedeni, çocuk hematoloji bilim dalının referans merkezi olmasıdır. Düzenli eritrosit transfüzyonu uygulaması nedeniyle TM'de HKHN öncesinde karaciğerde demir birikiminin belirlenmesi önemlidir (5). TM'de %44-70 oranında 3-4. evre demir birikimi bildirilmiştir (6,7). Çalışmamızda olguların %54,4'ünde evre 1-2 demir birikimi saptanmıştır. İleri düzeyde demir birikimini daha az sıklıkta görmemiz, şelasyon tedavisinin erkenden ve etkili uygulanmasına bağlıdır.

Kronik viral hepatitler dünyada önemli sağlık problemidir. Türkiye, HBV açısından orta endemik (HBsAg seroprevalansı %2-8), HCV açısından düşük endemik (anti-HCV pozitifliği %1) bölgedir (8). Çocuklarda HBsAg seroprevalansı %1,88 - %5,45 arasında bildirilmiştir (9). Kronik HBV ve HCV enfeksiyonu olan hastalarımıza, tedavi planı için biyopsi yapılmıştır.

Çocuklarda HKHN sonrasında GVHH sıklığı, %20-50'dir; önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Farklı nedenler karaciğerde enflamasyon ve hasar geliştirebileceğinden karaciğer GVHH tanısı ve tedavisinin planlanması açısından biyopsi önemlidir (10). Çalışmamızda GVHH şüphesiyle 21 hastaya biyopsi yapılarak tedavileri düzenlenmiştir.

**Tablo 1. Hastaların demografik özellikleri, fizik inceleme, laboratuvar ve ultrasonografi bulguları**

Yaş, ort (±SD, dağılım)	8,8 (5,7, 2 ay-18 yaş)
Erkek, n (%)	139 (53)
YGB z-skor <-2, n (%)	39 (21,2)
BGA z-skor <-2, n (%)	16 (4,7)
BGA z-skor >2, n (%)	8 (3,2)
Fizik inceleme, n (%)	
Hepatomegali	101 (38,5)
Splenomegali	65 (24,8)
Sarılık	17 (6,5)
Asit	4 (1,5)
Ultrasonografi, n (%)	
Karaciğer parankimi	
Heterojen	31 (11,8)
Hiperekoik	47 (17,9)
Safra yolları	
Genişlemiş	6 (2,3)
Görülemedi	1 (0,4)
ALT, ort U/L (±SD, dağılım)	156,7 (244,1, 4-1890)
ALT, normal aralıkta, n (%)	77 (29,3)
ALT, normal sınırın üstü-5 kat, n (%)	128 (48,9)
ALT, 5 kat sınırın üstü-10 kat, n (%)	28 (10,7)
ALT, >10 kat sınırı, n (%)	29 (11,1)

YGB: Yaşa göre boy, BGA: Boya göre ağırlık, ALT: Alanin transaminaz, SD: Standart deviasyon

OIH tanısı, klinik öykü, bulgular, ALT yüksekliği, IgG yüksekliği, otoantikör pozitifliği, karaciğer histopatolojik bulgularının değerlendirilmesi ve toksik, enfeksiyöz ve metabolik nedenlerin dışlanmasıyla gerçekleşir (11). Grup 1'deki olgularımızın 19'una OIH ön tanısıyla biyopsi yapılmış, 13'ünde tanı doğrulanmıştır. Klinik bulguların heterojen olması, ayırıcı tanıda başka karaciğer hastalıklarının olması, histopatolojik patognomonik bir bulgunun olmaması, tanıyı zorlaştırabilmektedir (12).

Yenidoğan kolestazları, 2.500-5.000 canlı doğumda bir görülür; etiolojide en sık BA ve neonatal hepatit görülmele birlikte ayrıntılı genetik incelemelerle genetik hastalıkların sıklığı artmaktadır. Biyopsi, BA, alfa-1-antitripsin eksikliği ve IHSKA'nın tanısında diagnostiktir (13). Yenidoğan kolestazı olan

14 bebekten, klinik, laboratuvar, görüntüleme ve biyopsiyle en sık neonatal hepatit, BA, ve alfa-1-antitripsin eksikliği olarak 6'sı kesin tanı almış, 8'inde kolestaz nedeni açıklanamamıştır. Ülkemizden bir çalışmada da 25 yenidoğan kolestazında en sık neonatal hepatit, IHSKA ve BA raporlanmıştır (14).

WH ön tanısıyla biyopsi yapılan 15 hastanın (%8,2) 11'inde tanı doğrulanmıştır. WH'nin ön tanısı, klinik şüphe, seruloplazmin düşüklüğü ve idrar bakır yüksekliğiyle gerçekleşir. Çocukluk çağında Kayser-Fleischer halkasının çoğunlukla bulunmaması, seruloplazmin ve idrar bakır düzeyinin normal olabilmesi nedeniyle tanı zorlaşabilmektedir. Tanıda mutasyonların bakılması yardımcıdır. Histopatolojide bakır boyası değerlidir; karaciğer kuru bakır ağırlığının >250 mikrogram/g olması diagnostiktir (15).

**Tablo 2: Ön tanının değerlendirilmesi için biyopsi yapılan hastaların biyopsi endikasyonları ve histopatolojik tanıları (Grup 1)**

Biyopsi endikasyonları n (%)	Histopatolojik tanı n (%)	
Talasemi majör-demir birikimi 57 (31,2)	Evre 1 demir birikimi	15 (26,3)
	Evre 2 demir birikimi	16 (28,1)
	Evre 3 demir birikimi	17 (29,8)
	Evre 4 demir birikimi	9 (15,8)
Viral hepatit 30 (16,4)	Kronik HBV	27 (90)
	Kronik HCV	3 (10)
GVHH 21 (11,5)	GVHH (+)	11 (52,4)
	GVHH (-)	10
Otoimmün hepatit 19 (10,4)	Otoimmün hepatit	13 (68,4)
	Toksik hepatit	4 (21,1)
	Spesifik bulgu yok	2 (10,5)
Yenidoğan kolestazı 14 (7,7)	İdiyopatik neonatal hepatit	3 (21,4)
	$\alpha$ 1 antitripsin eksikliği	2 (14,3)
	Biliyer atrezi	2 (14,3)
	Non-sendromik intrahepatik safra kanalı azlığı	1 (7,1)
	Non-spesifik yenidoğan kolestazı	6 (42,9)
Wilson hastalığı 15 (8,2)	Wilson hastalığı	11 (73,3)
	Spesifik bulgu yok	4 (26,6)
Metabolik hastalık 12 (6,6)	Glikojen depo hastalığı	2 (16,7)
	Niemann-Pick hastalığı	2 (16,7)
	Non-spesifik bulgular	8 (66,7)
Toksik hepatit 6 (3,3)	Toksik hepatit	4 (66,7)
	Spesifik bulgu yok	2 (33,3)
Karaciğer nakli-rejeksiyon 4 (2,2)	Rejeksiyon yok	4 (100)
Karaciğer nakli-CMV hepatiti 1 (0,5)	CMV hepatiti saptanmadı	1 (100)
Karaciğerde kitle 2 (1)	Hepatoselüler karsinom	1 (50)
	Fokal nodüler hiperplazi	1 (50)
Konjenital hepatik fibrozis 1 (0,5)	Spesifik bulgu yok	1 (100)
Otoimmün sklerozan kolanjit 1 (0,5)	Otoimmün hepatit	1 (100)

HBV: Hepatit B virüsü, HCV: Hepatit C virüsü, GVHH: Graft-versus-host hastalığı, CMV: Sitomegalovirüs



Olgularımızın 12'sinde ön tanı (%6,6) metabolik hastalıklardır; iki hasta glikojen depo, iki hasta Niemann-Pick hastalığı tanısı almıştır. Metabolik hastalığı olan 51 hastanın %23,5'inde glikojen depo hastalığı, %19,6'sında galaktozemi bildirilmiştir (16).

İlaçlar ve toksik kimyasalların metabolizmasında anahtar rol oynayan karaciğerde, hepatosellüler veya kolestatik hasarlanmayla TH gelişebilmektedir. Öyküde ilaç, toksik kimyasal maruziyeti ve bitkisel ürün kullanımı sorgulanmalıdır (17).

**Tablo 3: Tanısal amaçlı biyopsi yapılan hastaların biyopsi endikasyonları ve histopatolojik tanıları (Grup 2)**

Endikasyon (n, %)	Histopatolojik tanı (n, %)	
ALT yüksekliği 59 (74,7)	Toksik hepatit	6 (7,6)
	Steatohepatit	5 (6,3)
	Nonspesifik metabolik hastalık	3 (3,8)
	Wilson hastalığı	1 (1,3)
	Otoimmün hepatit	1 (1,3)
	Otoimmün sklerozan kolanjit	1 (1,3)
	Spesifik bulgu yok	42 (53,1)
Kronik karaciğer hastalığı 8 (10,1)	Spesifik bulgu yok	8 (10,1)
Hepatomegali 6 (7,6)	Glikojenik hepatopati	1 (1,3)
	Steatohepatit	1 (1,3)
	Spesifik bulgu yok	4 (5)
Parankimde heterojenite 5 (6,3)	Konjenital hepatik fibrozis	2 (2,5)
	Spesifik bulgu yok	3 (3,8)
Parankimde ekojenite artışı 1 (1,3)	Spesifik bulgu yok	1 (1,3)

ALT: Alanin transaminaz

Grup 1'de TH ön tanısıyla karaciğer biyopsisi yapılan 6 olgunun dördü TH ile uyumlu değerlendirilmiştir.

Karaciğer nakli sonrasında immünoşüpresif tedaviye bağlı rejeksiyon veya seropozitif donöre bağlı CMV gibi enfeksiyonlar gelişebilmektedir. Akut hücrel rejeksiyon %60'ında, kronik rejeksiyon %10'unda görülebilmektedir; tedavi seçiminde biyopsi yol göstericidir (18). Çalışmamızda, rejeksiyon ve CMV hepatiti ön tanıları histopatolojik bulgularla dışlanmıştır.

Karaciğer tümörleri çocuklarda nadirdir; en sık hepatoblastom, ikinci sıklıkla hepatosellüler karsinom (HCC) görülür. Biyopsi, ekim riski taşıdığından görüntülemeyle tanı konulamadığında düşünülmelidir (13,19). Çalışmamızda karaciğerde kitleyle biyopsi yapılan 2 hastada HCC ve fokal nodüler hiperplazi saptanmıştır.

KHF, portal hipertansiyon ve böbrek kistleriyle karakterize otozomal resesif bir hastalıktır. Klinik benzerlikler nedeniyle, idiyopatik portal hipertansiyon ve erken karaciğer sirozundan ayırmada biyopsi gerekebilmektedir (20). KHF ön tanısıyla biyopsi yapılan hastamızda spesifik bulgu saptanamamıştır.

Otoimmün sklerozan kolanjit, etiyojisi bilinmeyen, safra kanallarının kronik enflamasyonu ve fibrozisiyle giden bir hastalıktır. Çocuklarda klinik OIH'ye benzer (21). Otoimmün sklerozan kolanjit ön tanısıyla biyopsi yapılan hastamız OIH tanısı almıştır.

Ön tanısı olmayan ve tanısal amaçlı karaciğer biyopsisi yapılan hastaların (Grup 2: 79 hasta) en büyük kısmını (%74,7) izole ALT yüksekliği olan olgular oluşturmuştur. Transaminazlar rutinde sıklıkla bakıldığından hipertransaminazemiyle karşılaşma artmaktadır. Transaminazlar karaciğere spesifik olmadıklarından yüksekliklerinde kas hastalıkları

**Tablo 4: Karaciğer biyopsisinin tanıya ulaşmadaki etkinliğinin değerlendirilmesi**

	Tanı alanlar	Tanı alamayanlar	p
Grup 1 (n, %)	160 (61,2)	23 (8,8)	0,001
Grup 2 (n, %)	21 (8)	58 (22,1)	
Yaş (ort ± SD)	7,72 ± 6,14	9,35 ± 5,45	0,049
BGA <-2 (n, %)	10 (3,8)	6 (2,3)	0,556
YGB <-2 (n, %)	28 (10,7)	11 (4,2)	0,691
ALT düzeyi			
Normal	50 (19,1)	21 (8)	0,954
Normal sınırın üstü-5 kat arası yüksek	91 (34,7)	41 (15,6)	0,909
Sınırın 5-10 kat üstü arasında yüksek	21 (8)	8 (3,1)	0,474
Sınırın >10 kat üstünde yüksek	19 (7,3)	11 (4,2)	0,659
Hepatomegali	87 (33,2)	14 (5,3)	0,001
Splenomegali	60 (22,9)	5 (1,9)	0,001
Sarılık	11 (4,2)	6 (2,3)	0,686
Karaciğer parankiminde patoloji	63 (24)	15 (5,7)	0,008

ALT: Alanin transaminaz, ort: Ortalama, SD: Standart deviasyon, YGB: Yaşa göre boy, BGA: Boya göre ağırlık

ve Çölyak hastalığı gibi diğer nedenler de taranmalıdır. Açıklanamayan hipertransaminazemide biyopsinin önemli olduğu kabul edilmekle birlikte, histopatolojik bulguların tanıya ulaşmadaki rolü hakkındaki bilgi birikimi kısıtlıdır. Erişkinlerde biyopsinin tanıdaki rolü hakkındaki bilgiler çelişkilidir. İzole hipertransaminazemisi olan, hepatotropik virüslerin dışlandığı 425 çocuğun altı aylık izleminde 259'unda transaminaz yüksekliğinin gerilediği, 166'sının en sık obezite ilişkili karaciğer hastalığı, WH, müküler distrofi, alfa-1-antitripsin eksikliği, herediter fruktoz intoleransı, glikojen depo hastalığı, OIH, kolelitiazis, koledok kisti ve Çölyak hastalığı tanısı aldığı raporlanmıştır. Hipertransaminazeminin nedeninin bulunamadığı 22 çocuğun 18'ine biyopsi yapıldığı, hiçbirinin spesifik tanı alamadığı bildirilmiştir (22). Transaminaz yüksekliğinin etiolojisinin açıklanamadığı 19 çocuğun değerlendirildiği diğer çalışmada 7'sine biyopsi yapıldığı ancak spesifik tanı koyulamadığı bildirilmiştir (23).

Çalışmamızda, olgularımızın 59'una hipertransaminazemi nedeniyle biyopsi yapılmıştır, bu olgulardan 17'sine biyopsiyle tanı koyulabilmiştir. Biyopsi yapılanların 6'sında (%7,6) TH saptanmıştır. Etkilenmenin derecesine ve tipine göre TH, belirtisiz enzim yüksekliğinden nekroza kadar bir spektrumda bulgu verebilir (17).

Dünyada obezitenin artmasıyla yağlı karaciğer hastalığı yaygınlaşmıştır. Prevalansı, görüntüleme veya biyopsi bulgusu gibi saptama yöntemine göre değişir (24,25). Steatohepatit, vücut ağırlığı normal olan çocukların %9,6'sında, obez çocukların %38'inde bildirilmiştir (26). Çalışmamızda fazla kilolu/obez çocuklar %3,1 oranındadır; steatohepatit, Grup 2'deki 79 hastamızın 6'sında (%7,6) saptanmıştır. Merkezimizde ultrasonografiyle steatoz saptanan obez çocukların genellikle biyopsisiz izlenmesi ve olgularımızda obezitenin nadir olması, bu oranın diğer çalışmalara göre düşük çıkmasında etken olabilir.

İzole ALT yüksekliğiyle biyopsi yaptığımız olgulardan birer (%1,3) hasta WH, OIH, otoimmün sklerozan kolanjit tanısı almıştır. WH ve OIH izole hipertransaminazemiyile tanı alabilmektedir (27). Ancak asemptomatik WH'de seruloplazmin ve idrar bakır düzeyinin normal olabilmesi, tanıyı güçleştirebilmektedir (15). Iorio ve ark. (22) ALT yüksekliği olan 166 olgunun 18'ine biyopsiyle WH tanısını koyduklarını, hastaların asemptomatik olduğunu bildirmekteyler.

Çalışmamızda kronik karaciğer hastalığı etiyojisiyle 8 hastaya biyopsi yapılmış, spesifik tanıya ulaşamamıştır. Etiyolojide viral hepatitler (HBV ve HCV), OIH, WH ve alfa-1-antitripsin eksikliği yer almakla birlikte önemli bir kısmında etiyoloji aydınlatılamamaktadır. Kronik karaciğer hastalığı siroza kadar ilerleyerek hayatı tehdit edebilmektedir (28). Sudan'dan, %58'i 1 yaş üstü olan 450 hastaya biyopsi yapılmış, %26'sının siroz, %8'inin kronik hepatit tanısı aldığı bildirilmiştir; ancak

kronik karaciğer hastalığı etiyojisi açısından spesifik bir tanıya ulaşamamıştır (29).

Hepatomegali, karaciğer hastalığının bulgusu olabilir, spesifik tedaviyle bazı hastalıkların progresyonu engellenebileceğinden erken tanı önemlidir (30). Çalışmamızda hepatomegali nedeniyle biyopsi yapılan 6 hastanın, tip 1 diyabeti olan birinde glikojenik hepatopati, birinde steatohepatit saptanmıştır.

Karaciğer ultrasonografisinde periportal-hiperekoik odaklar ve parankim heterojenitesi bulguları, abdominal enflamasyon oluşturan ya da karaciğer dolaşımının bozulduğu durumlarda ve kronik hepatitte saptanabilmektedir. Ultrasonografide parankim heterojenitesi ve hiperekoik odaklar olması nedeniyle 6 hastaya biyopsi yapılmıştır; ikisinde KHF saptanmıştır.

Kolestatik karaciğer hastalıklarında ve ileri evre kronik karaciğer hastalıklarında alım azlığı, metabolik gereksinimde artış ve sindirim-emilim bozuklukları nedeniyle malnütrisyon, sık görülen bir bulgudur (31). Çalışmamızda, olguların %25,9'unda akut veya kronik malnütrisyon vardı; ancak malnütrisyon varlığı, biyopsiyle spesifik tanı alma açısından anlamlı bulunmadı.

Fizik incelemede hepatomegali ya da portal hipertansiyon nedeniyle belirti vermeyen splenomegalinin farkedilmesi, kronik karaciğer hastalığının ilk bulguları olabilir. Sarılık, safra yolları hastalıklarında, kolestatik hastalıklarda ve ileri evre hepatosellüler hastalıklarda saptanır (32). Çalışmamızda hepatomegali ve splenomegali olan hastalarda histopatolojik tanıya anlamlı olarak daha sık ulaşılırken sarılıklı hastalarda spesifik tanıya ulaşmada anlamlı fark bulunamamıştır. Bu durum, sarılığın kronik karaciğer hastalığının etiyojisi açısından non-spesifik olması ve ileri evre karaciğer hastalığının bulgusu olmasına bağlanmıştır.

Ultrasonografiyle, karaciğer parankimi değerlendirilerek fibroz, siroz veya yağlanma varlığı konusunda bilgi edinilir; ayrıca ultrasonografi BA tanısı açısından çok değerlidir (32). Çalışmamızda ultrasonografiyle karaciğer parankiminde patoloji saptanan hastalarda, biyopsiyle daha yüksek oranda tanıya ulaşılabilmiştir.

Karaciğere daha spesifik olan ALT, hücre hasarını gösterir; karaciğer hastalığının evresine göre normal, hafif yüksek veya yüksek olabilir (32). Çalışmamızda ALT yükseklik derecesinin etiyojistik tanıya ulaşmada anlamlı olmadığı saptanmıştır.

### Çalışmanın Güçlü Yanları ve Kısıtlılıkları

Çalışmamızın güçlü yanları, karaciğer biyopsi endikasyonlarının geniş bir çeşitlilik gösterdiği tüm çocukluk yaş grubunu içeren gerçek yaşam verilerinden oluşmasıdır.

Çalışmamızın kısıtlılıkları ise tek merkeze ait, geniş bir zaman aralığını kapsayan retrospektif bir çalışma olmasıdır.

## Sonuç

Sonuç olarak, çalışmamız, merkezimizde yapılan karaciğer biyopsilerinin sonuçlarının tanımlanması açısından önem taşımaktadır. Karaciğer biyopsi endikasyonları ve histopatolojik tanı dağılımı açısından olgularımız literatürdeki verilerden farklılıklar taşımaktadır. Ülkelerin sosyo-ekonomik düzeylerindeki, genetik ve metabolik hastalıklara yatkınlıklarındaki farklılıkların, çalışmalarda hasta yaş gruplarının farklı olması gibi özelliklerin bu duruma neden olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda ön tanı varlığının histopatolojik tanı elde edebilmede istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Klinik ve laboratuvar incelemelerle ön tanı koyulamayan hastalarımızın %73,4'ünde biyopsiyle tanı elde edilememiştir; ancak diğer taraftan ön tanısı olmayan hastaların %26,6'sı biyopsi ile tanı almıştır. Klinik, laboratuvar ve görüntüleme yöntemleriyle spesifik ön tanısı olmayan çocuklarda biyopsiyle tanı elde etmenin düşük bir olasılık olduğu kısıtlı literatür bilgileri ile belirtirse de verilerimiz sonucunda klinik, laboratuvar ve görüntüleme yöntemleriyle ön tanıya gidilemeyen hastalarda, karaciğer biyopsisinin riskleri ve spesifik bir tanı elde etmedeki yararları göz önünde bulundurularak hasta özelinde biyopsi kararı verilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür.

## Etik

**Etik Kurul Onayı:** 24.07.2017'de Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 12-740-17 karar numaralı etik onay alınmıştır.

**Hasta Onayı:** Retrospektif çalışmadır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunun dışından olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

## Yazarlık Katkıları

Konsept: H.B., A.K., Z.K., C.T.K., A.Y., Dizayn: H.B., A.K., Z.K., C.T.K., A.Y., Veri Toplama veya İşleme: H.B., A.K., Z.K., C.T.K., A.Y., Analiz veya Yorumlama: H.B., A.K., Z.K., C.T.K., A.Y., Literatür Arama: H.B., A.K., Z.K., C.T.K., A.Y., Yazan: H.B., A.K., Z.K., C.T.K., A.Y.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

## Kaynaklar

1. Dezsöfi A, Baumann U, Dhawan A, et al. Liver biopsy in children: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015;60:408-420.
2. Pietrobattista A, Alterio A, Natali G, et al. Needle biopsy in children with liver diseases, in *Liver Biopsy in Modern Medicine.* 2011, InTech.
3. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr Suppl.* 2006;450:76-85.
4. England K, Thorne C, Pembrey L, et al. Age- and sex-related reference ranges of alanine aminotransferase levels in children: European paediatric HCV network. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009;49:71-77.
5. Mathews V. Allogeneic stem cell transplantation for thalassemia major, in *Regenerative Medicine: Laboratory to Clinic.* Springer; 2017. s. 343-357.
6. Li CK, Chik KW, Lam CW, et al. Liver disease in transfusion dependent thalassaemia major. *Arch Dis Child.* 2002;86:344-347.
7. Afzal S, Ahmad M, Roshan E, et al. Morphological study of liver biopsy in Thalassaemia major. *J Pak Med Assoc.* 2004;54:415-418.
8. Tozun N, Ozdogan O, Cakaloglu Y, et al. Seroprevalence of hepatitis B and C virus infections and risk factors in Turkey: a fieldwork TURHEP study. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21:1020-1026.
9. Toy M, Önder FO, Wörmann T, et al. Age- and region-specific hepatitis B prevalence in Turkey estimated using generalized linear mixed models: a systematic review. *BMC Infect Dis.* 2011;11:337.
10. Baird K, Cooke K, Schultz KR. Chronic graft-versus-host disease (GVHD) in children. *Pediatr Clin North Am.* 2010;57:297-322.
11. Maggiore G, Socie G, Sciveres M, et al. Seronegative autoimmune hepatitis in children: Spectrum of disorders. *Dig Liver Dis.* 2016;48:785-791.
12. Manns MP, Lohse AW, Vergani D. Autoimmune hepatitis--Update 2015. *J Hepatol.* 2015;62(1 Suppl):S100-S111.
13. Ovchinsky N, Moreira RK, Lefkowitz JH, et al. Liver biopsy in modern clinical practice: a pediatric point-of-view. *Adv Anat Pathol.* 2012;19:250-262.
14. Demir AM, Yaman A, Hızal G, et al. Kolestazlı Çocuklarda Klinik ve Laboratuvar Bulgularının Yaş Gruplarına Göre Değerlendirilmesi. *Turkish J Pediatr Dis.* 2020;14:385-390.
15. Socha P, Janczyk W, Dhawan A, et al. Wilson's Disease in Children: A Position Paper by the Hepatology Committee of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018;66:334-344.
16. Roy A, Samanta T, Purkait R, et al. Etiology, clinical spectrum and outcome of metabolic liver diseases in children. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2013;23:194-198.
17. Malaguarrera G, Cataudella E, Giordano M, et al. Toxic hepatitis in occupational exposure to solvents. *World J Gastroenterol.* 2012;18:2756-2766.
18. Cuenca AG, Kim HB, Vakili K. Pediatric liver transplantation. *Semin Pediatr Surg.* 2017;26:217-223.
19. Czauderna P, Mackinlay G, Perilongo G, et al. Hepatocellular carcinoma in children: results of the first prospective study of the International Society of Pediatric Oncology group. *J Clin Oncol.* 2002;20:2798-2804.
20. Shorbagi A, Bayraktar Y. Experience of a single center with congenital hepatic fibrosis: a review of the literature. *World J Gastroenterol.* 2010;16:683-690.
21. Terziroli Beretta-Piccoli B, Vergani D, Mieli-Vergani G. Autoimmune sclerosing cholangitis: Evidence and open questions. *J Autoimmun.* 2018;95:15-25.
22. Iorio R, Sepe A, Giannattasio A, et al. Hypertransaminasemia in childhood as a marker of genetic liver disorders. *J Gastroenterol.* 2005;40:820-826.
23. Bugeac N, Pacht A, Mandel H, et al. The significance of isolated elevation of serum aminotransferases in infants and young children. *Arch Dis Child.* 2007;92:1109-1112.
24. Mann JP, Goonetilleke R, McKiernan P. Paediatric non-alcoholic fatty liver disease: a practical overview for non-specialists. *Arch Dis Child.* 2015;100:673-677.
25. Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, et al. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;64:319-334.

26. Schwimmer JB, Behling C, Newbury R, et al. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;42:641-649.
27. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *Am J Gastroenterol*. 2003;98:960-967.
28. Hanif M, Raza J, Qureshi H, et al. Etiology of chronic liver disease in children. *J Pak Med Assoc*. 2004;54:119-122.
29. Sabir OM. Pathologic causes of liver disease in Sudanese children: Results of 450 liver needle biopsies at a single children hospital. *Sudan J Paediatr*. 2011;11:38-41.
30. Wolf AD, Lavine JE. Hepatomegaly in neonates and children. *Pediatr Rev*. 2000;21:303-310.
31. Mouzaki M, Bronsky J, Gupte G, et al. Nutrition Support of Children With Chronic Liver Diseases: A Joint Position Paper of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition and the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2019;69:498-511.
32. Kansu A. Çocuklarda kronik karaciğer hastalığı: Tanım, etiyoloji, klinik ve laboratuvar bulguları. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 2021:39-48.

# The Impact of Prodromal Stage Non-Motor Symptoms on Clinical Progression in Parkinson's Disease

## Parkinson Hastalığında Prodromal Dönem Non-Motor Semptomların Hastalık Klinik Progresyonu Üzerine Etkisi

© Bahar Say<sup>1</sup>, © Yasemin Ünal<sup>2</sup>, © Zerrin Özyayın Aksun<sup>3</sup>, © Rezzak Yılmaz<sup>3</sup>, © Muhittin Cenk Akbostancı<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kırıkkale University Faculty of Medicine, Department of Neurology, Kırıkkale, Turkey

<sup>2</sup>Bandırma Onyedi Eylül University Faculty of Medicine, Department of Neurology, Balıkesir, Turkey

<sup>3</sup>Ankara University Faculty of Medicine, Department of Neurology, Ankara, Turkey

### Abstract

**Objectives:** Several non-motor symptoms (NMSs) were described in the prodromal Parkinson's disease (PD). The aim of this study is to investigate the impact of the presence of prodromal NMSs on clinical progression of PD.

**Materials and Methods:** We questioned the presence of NMSs in the prediagnostic stage in patients with PD. Group 1 reported at least one prodromal NMS and Group 2 reported no prodromal NMSs. As recommended by the Movement Disorder Society Task Force, the total likelihood ratios (LRs) of NMSs were calculated and correlated with disease progression. Clinical progression was determined by dividing the Unified Parkinson's Disease Rating Scale Part III total score by the duration of the disease. Generalized linear model (GzLM) was used to determine associations between clinical progression rate and the predictor variables.

**Results:** Group 1 had 48 patients (24 male, 24 female), and Group 2 had 46 patients (32 male, 14 female). Both groups were similar in terms of demographic and disease characteristics. Depression and constipation (for each symptom, 18 patients and 37.5%) were common in Group 1. The rate of clinical progression was higher in Group 1 than in Group 2 ( $p=0.037$ ). There was no significant correlation between clinical progression rate and LRs of NMSs in Group 1 ( $r_s=0.10$ ,  $p=0.49$ ). However, age of the diagnosis was the only significant factor associated with the clinical progression ( $p=0.69$ ).

**Conclusion:** Prodromal NMSs do not seem to impact the rate of disease progression, which may be explained by the non-dopaminergic and extra nigro-striatal pathway that cause NMSs.

**Key Words:** Parkinson's Disease, Prodromal Stage, Constipation, Depression

### Öz

**Amaç:** Parkinson hastalığı (PH) prodromal dönemi için birçok non-motor semptom tanımlanmıştır. Non-motor semptomlar PH riskini belirlemede yardımcı olabilir. Bu çalışmanın amacı prodromal dönemde non-motor semptom varlığının PH'nin klinik progresyonuna etkisini araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışma için Parkinson hastalarında hastalık tanısından önceki dönemde non-motor semptom varlığını sorguladık ve iki grup oluşturuldu. En az bir prodromal non-motor semptom varlığı bildirenler Grup 1, non-motor semptom varlığı olmayanlar ise Grup 2 olarak sınıflandırıldı. Her bir hasta için PH olabirlik oranı, likelihood ratios (LRs), Uluslararası Hareket Bozuklukları komitesi önerisine göre hesaplandı ve hastalık progresyonu ile korelasyonu değerlendirildi. Klinik progresyon Birleşik PH Değerlendirme Ölçeği, bölüm 3 toplam puanı hastalık süresine bölünerek hesaplandı. Hastalık klinik progresyonu ve bunu etkileyen faktörler jeneralize lineer model ile analiz edildi.

**Bulgular:** Grup 1'de 48 hasta (24 erkek, 24 kadın), Grup 2'de 46 hasta (32 erkek, 14 kadın) vardı. Her iki grup demografik veriler ve hastalık özellikleri açısından benzerdi. Grup 1'de depresyon ve kabızlık (her bir semptom için oran ve sayı %37,5, n=18) yaygındı. Grup 1'in klinik progresyon oranı Grup

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Bahar Say

Kırıkkale University Faculty of Medicine, Department of Neurology, Kırıkkale, Turkey

Phone: 444 4 071/5031 E-mail: drbaharsay@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0003-2595-3804

Received/Geliş Tarihi: 23.02.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 05.10.2021

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.

All content are under CC BY-NC-ND license.



2'den anlamlı olarak yüksekti ( $p=0,037$ ). Grup 1'de hastalık progresyon oranı ile nonmotor semptomlara ait LRs arasında anlamlı korelasyon yoktu ( $r_s=0,10$ ,  $p=0,49$ ). Bununla birlikte sadece hastalık tanı yaşının, klinik progresyonu etkileyen anlamlı bir faktör olduğu saptandı ( $p=0,69$ ).

**Sonuç:** PH'de, prodromal dönemde non-motor semptom varlığının hastalık progresyonu üzerine etkisi görünmemektedir. Bu durum non-motor semptomların patogeneziindeki dopaminerjik olmayan, ekstra nigrostriatal yolak varlığı nedeniyle de olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Parkinson Hastalığı, Prodromal Evre, Kabızlık, Depresyon

## Introduction

Parkinson's disease (PD) is diagnosed on the basis of the cardinal motor findings according to the current criteria (1). However, it is known that the degenerative process leading to PD precedes the manifestation of motor symptoms by decades, indicating a long and relatively silent pre-diagnostic period. Within this period, two stages have been described: preclinical PD (PD-specific pathology without clinical signs or symptoms) and prodromal PD (emergence of PD-related symptoms insufficient for a clinical diagnosis) (2,3).

Prodromal PD is characterized by mainly non-motor symptoms (NMSs), also referred to as markers. NMSs such as olfactory dysfunction, mood disorders, gastrointestinal and urogenital disorders, rapid eye movement (REM) sleep behavior disorder (RBD) may be observed in prodromal period. These NMSs are expected to be more in motor stage of PD. When patients with PD diagnosis were followed up, it was observed that patients with motor progression reported more NMS as symptom specific. Furthermore, NMSs can affect quality of life of patients and treatment of disease like motor symptoms in PD (4-7).

Prodromal PD is a period that has attracted attention with regard to the potential use of neuroprotective/disease-modifying therapies. Studies on prodromal PD have been shown that the presence or absence of prodromal markers is contributed to future probability of disease (8,9). Presence of marker/markers in prodromal period may also affect clinical progression. Therefore, the aim of this study was to investigate the impact of prodromal NMSs on disease progression.

## Materials and Methods

### Patients

Ninety-six consecutive patients with idiopathic PD diagnosed according to the Movement Disorder Society (MDS) clinical diagnostic criteria for PD were selected from Movement Disorders Unit of the Department Neurology in Ankara University for this study (10). Patients with hydrocephalus, brain tumors, repetitive head trauma, prolonged use of neuroleptics that may be the cause of secondary parkinsonism, abrupt onset or gradual progression of disease symptoms, unresponsiveness to levodopa were excluded from the study. Cognitive impairment was also excluded with Mini-mental Status Examination (MMSE  $\leq 26$ ) to

examine self-reported prodromal NMSs (11). Ten patients did not accept to participate the study. Patients were questioned about the prodromal NMSs in a face-to-face interview. The clinical progression rate was compared between the patients with at least one prodromal NMS and those without any prodromal NMS.

### Clinical Assessments

The disease severity was rated by Hoehn and Yahr staging (HYS) and MDS-Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS) (12,13). The hospital anxiety and depression scale (HADS) and MMSE were used to evaluate the current symptoms of depression and anxiety, and the cognitive status, respectively. The rate of clinical progression was determined by dividing the UPDRS Part III (off period) score by the disease duration (14).

Demographic characteristics, education (year), age of diagnosis, disease duration since the diagnosis, treatment and comorbidities of patients, HYS, scores of UPDRS, MMSE and HADS were recorded.

### Detection of Prodromal NMSs

Patients were evaluated by a movement disorder specialist. Symptoms of the disease, such as constipation (difficulty in bowel emptying and/or less than three bowel movements per week), olfactory dysfunction (anosmia/hyposmia), urinary dysfunction (using the MDS-UPDRS Part I, Item 1.10), symptomatic hypotension (orthostatic dizziness), depression (according to Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV), RBD (by REM Sleep Behavior Disorder Screening Questionnaire), and excessive daytime sleepiness (using the MDS-UPDRS Part I, Item 1.8) were questioned in face-to-face interview for the time period before the diagnosis of PD (3,15-18). The presence of stress incontinence for more than 10 years in women was not included as a positive sign. Symptomatic hypotension resulting from intensive antihypertensive therapy was not taken into consideration (8).

Two groups were created and compared based on the reported prodromal NMSs; Group 1 consisted of patients who reported at least one prodromal NMS, and Group 2 included patients with no reported prodromal NMSs. For the prodromal NMSs that the patients reported, they were asked to report the time between the initial diagnosis of PD and the first recognition of the prodromal NMS. Clinical progression was further re-evaluated between patients with one prodromal symptom

(Group A) and two prodromal symptoms (Group B) and more than two prodromal symptoms (Group C) to demonstrate any additive effect of multiple symptoms.

### Calculation of Likelihood Ratio (LR) of Prodromal NMSs

NMSs were determined. Each symptom has two LR values as LR+ and LR-. The meaning of LR+ is that prodromal NMS exists and the likelihood for PD increases. LR-, on the other hand, has the opposite meaning. The LR of each symptom were multiplied as stated in the published criteria for risk of PD in prodromal stage (19). For example, in the presence of constipation (LR=2.5) and depression (LR=1.6), absence of olfactory dysfunction (LR=0.40), symptomatic hypotension (LR=0.80), urinary dysfunction (LR=0.90), RBD (LR=0.89), and excessive daytime sleepiness (LR=0.86) in a patient, total LR of NMSs is  $2.5 \times 1.6 \times 0.40 \times 0.80 \times 0.90 \times 0.89 \times 0.86=0.88$ .

### Data Analysis

Quantitative data were expressed as mean and standard deviation for parametric variables and median (minimum-maximum) for nonparametric variables. Data were evaluated according to its distribution; independent t-test was used for the data showing normal distribution, and Mann-Whitney U test was used for abnormally distributed data for the comparison of the two groups. For comparing data of more than two groups, ANOVA or Kruskal-Wallis test was used. Chi-squared test and Fisher's exact test were used to compare categorical data. The Spearman correlation test was applied to measure the direction and magnitude of the relationship between two continuous variables when the data were not normally distributed.

Generalized linear model (GzLM) was used to determine associations between clinical progression rate in the sampled population and the predictor variables group, LR of NMSs and age of diagnosis, sex. In our model fitting, we included the group as a fixed effect and LR of NMSs and age of diagnosis as covariates in GzLM. SPSS 21 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program was used for data analysis.  $P<0.05$  was regarded as significant. Power analyses were performed by G Power 3 to sample size.

## Results

The demographic and disease characteristics of the patients are presented in Table 1. Both groups were similar ( $p>0.05$ ).

### Prodromal NMSs, their duration before PD diagnosis, and total LR of groups

Depression (18 patients, 37.5%) and constipation (18 patients, 37.5%) were the most common prodromal NMSs. The duration of constipation (median: 9, minimum-maximum: 2-50)

and olfactory dysfunction (median: 10, minimum-maximum: 1-30) was longer than the other prodromal NMSs. The detailed information regarding prodromal NMSs are presented in Table 2.

In Group 1, LR of NMSs was median=0.09 (minimum-maximum: 0.2892-44.3843) and in Group 2 (no non-motor prodromal symptom), LR of NMSs of each patient was same (median=0.16) for each patient.

### Clinical progression rate of groups and correlation analysis between LRS and disease progression

The rate of clinical progression was significantly higher in Group 1 [ $6.63\pm 5.14$  (median: 5, minimum-maximum: 1.1-23)] than Group 2 [ $5.23\pm 5.52$  (median: 3.5, minimum-maximum: 0-24)] ( $p=0.037$ ).

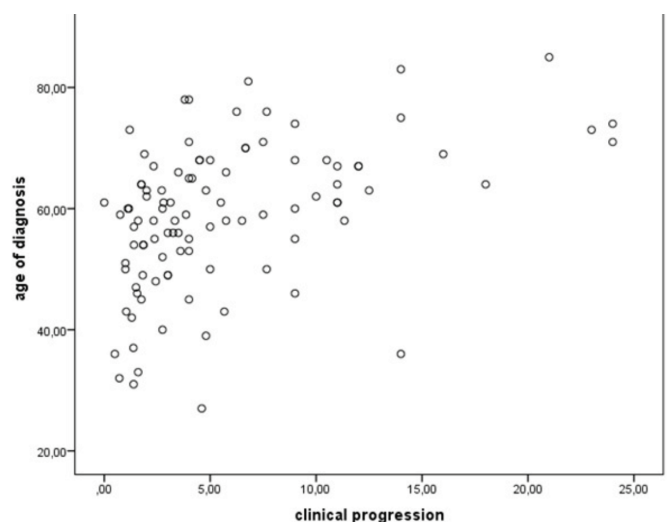
The clinical progression rate was further evaluated according to the number of prodromal symptoms. Group A had 27 patients (56.3%), Group B had 17 patients (35.4%), and Group C had 4 patients (8.3%).

There was no significant correlation between clinical progression rate and LR of NMSs in Group 1 ( $r_s=0.10$ ,  $p=0.49$ ).

The GzLM showed that the reason for the significant difference in clinical progression rate between the groups was not due to LRs of NMSs ( $p=0.69$ ). The effect of the age of diagnosis on clinical progression rate was statistically significant ( $p<0.001$ ), which explained 20.9% of the total variance (Table 3). Correlations between clinical progression (rate) and age of diagnosis are showed in Figure 1.

## Discussion

Although the reliability of this study based on the retrospective information of the patients was low, it was observed that the clinical progression of PD was higher in patients who reported



**Figure 1:** Scatter diagram of correlations between clinical progression (rate) and age of diagnosis

NMSs in the prodromal period than those who did not report symptoms. When the factors affecting clinical progression were examined, it was found that prodromal NMS is not a factor and the age of disease diagnosis is a factor. The mean age at diagnosis was greater in patients with prodromal symptoms than the other patients. According to the literature, the rate of progression and the age at time of the diagnosis are in a known positive correlation in clinical trials, and it is also described that elder patients are at higher risk for nonmotor symptoms (5,20).

The UPDRS is a widely accepted scale for the monitoring of disease progression and identification of disease severity in PD with a chronic and progressive disease course (14). Along with the disease course, the scale also allows the monitoring of additional NMSs, mental involvement, mood changes, and existing motor findings. In the follow-up of the patients, it was seen that the disease-related disability causes an approximately

8-10-point increase in the UPDRS score per year on average. Part III of MDS-UPDRS score increases average 2.4 points per-year but annual increase of MDS-UPDRS-Part III is 1.77 points for patients who are taking dopaminergic medications. Early dopaminergic therapy has a significant effect on motor findings and progression (21). However, *in vitro*, levodopa can induce degeneration of dopaminergic neurons, but it is not clear *in vivo* (22). The change in MDS-UPDRS is longitudinal in the first 5 years and it can be used in clinical monitoring (23-25). However, score of MDS-UPDRS-Part III may be quite low in patient with early PD because of substantial percentage of patients may rate as normal their motor signs (26). The present study, accordingly, displays the clinical disease progression as a ratio of the UPDRS-Part III total score to disease duration in years, and thus evaluates the relationship between disease progression and prodromal NMSs. Comparisons were made

**Table 1: Demographic and clinic characteristics of patients**

	Group 1 n=48	Group 2 n=46	p-value
<b>Age, mean ± SD</b>	64.01±11.08	63.00±9.6	0.481
<b>Gender, n (%)</b>			0.053
Male	24 (50)	32 (69.6)	
Female	24 (50)	14 (30.4)	
Education, year, median (min-max)	7.5 (1-18)	6 (1-16)	0.429
Age of diagnosis, year, mean ± SD	59.79±12.10	57.34±11.52	0.493
Disease duration, year, median (min-max)	3 (1-18)	5 (1-25)	0.429
HYS, mean ± SD	1.71±0.67	1.66±0.53	0.827
<b>UPDRS score, median (min-max)</b>			
Part I	6 (1-16)	6 (0-22)	0.360
Part II	8 (0-22)	9 (0-26)	0.603
Part III	16 (7-28)	21.5 (10-34)	0.829
Part IV	0 (0-10)	0 (0-9)	0.175
Total	35 (10-71)	32.5 (8-69)	0.531
<b>Treatment, n (%)</b>			
Levodopa	35 (72.9)	30 (65.2)	0.419
Dopamine agonist	23 (47.9)	27 (58.7)	0.295
Rasagiline	23 (47.9)	18 (39.1)	0.391
Amantadine	11 (22.9)	6 (13)	0.214
DBS	2 (4.2)	2 (4.3)	1
MMSE score, mean ± SD	28.3±1.9	29±1.41	0.394
<b>HADS score, median (min-max)</b>			
Anxiety	1.5 (0-14)	1 (0-8)	0.079
Depression	2.5 (0-15)	2 (0-16)	0.109
<b>Co-morbidities, n (%)</b>			
HT	15 (31.2)	12 (26.1)	0.580
DM	11 (22.9)	6 (13)	0.214
CVD	6 (12.5)	4 (8.7)	0.550

p<0.05 significant

SD: Standard deviation, min: Minimum, max: Maximum, HYS: Hoehn and Yahr Stage, UPDRS: Unified Parkinson disease scale, MMSE: Mini-mental status examination, HADS: Hospital anxiety and depression scale, HT: Hypertension, DM: Diabetes mellitus, CVD: Cardiovascular disease, DBS: Dried blood spot



between two similar groups in terms of dopaminergic treatment that may affect UPDRS-Part III and comorbid conditions that may contribute to clinical progression of the disease. It has been previously reported that cardiovascular risk factors, including hypertension, and diabetes affect motor feature severity in PD (23,27,28). However, baseline UPDRS scores of patients were not known. Furthermore UPDRS-Part III scores may be seen low because of early-stage patients with PD.

Prodromal NMSs have recently become the focus of attention. The studies, to investigate the presence of prodromal NMSs in patients with PD are limited in the literature and the reported symptom rate varies due to the variety and differences in symptoms. The rates were 88.4% in a study by Swallow et al. (29) that evaluated RBD, hyposmia, depression, and constipation; 69% in a study by Walter et al. (30) that evaluated hyposmia, parosmia, depression, anxiety, dysphoria/personality change, vivid dreams, RBD, constipation, bowel incontinence, bladder urgency, sexual dysfunction, and excessive sweating; 98% in a study by Gaenslen et al. (31) that evaluated 19 NMSs, including color vision disorders, sleep disturbances, anosmia, or hyposmia, autonomic dysfunction, psychiatric complaints, and cognitive changes; and 90.3% in a study by Durcan et al. (32) that made use of NMS Questionnaire. The present study investigated NMSs, and identified a higher number of patients who reported no such symptoms. This condition may be attributed subjective assessing method (retrospective clinical interview to detect of NMSs, even after a long disease history) In another study, in

a large study population, prodromal features were questioned retrospectively by survey, and the rate of symptom reporting was low and the patients reported more cardinal motor features in the diagnosis of the disease (33). In the present study, constipation was the most common prodromal NMS with the longest duration, and olfactory dysfunction was another long-standing symptom, consistent with the literature (23). However, it has been previously reported that hyposmia is the most common NMS among PD patients both before and after diagnosis followed by constipation in a meta-analyses study (34). Constipation is an early non-motor manifestation of PD to occur years ago (more than 20 years) before major cardinal motor findings (35). Depression is also a common symptom before and after diagnosis in patients with PD, and the second most common symptom in the present study (36). Patients reporting with a single symptom were recorded at a higher rate. According to published data, the co-occurrence of multiple symptoms in the prodromal period is more frequently encountered in individual patients rather than the occurrence of a single symptom (31).

Risk factors and prodromal markers have an important role in the diagnosis of PD in the prodromal period. Over time, there was an increase in the number of defined risk and prodromal markers for the prodromal period. Finally, the markers included diabetes mellitus (Type II), global cognitive deficit, physical activity and, low plasma urate level in men was added and predictive value (LR) for each was determined (19). However, in our knowledge and literature research, the effect of non-motor features, which many patients do not recognize, on the clinical progression is a subject that has not been studied sufficiently. Therefore, although there is no significant relationship, this study is thought to create a different perspective on prodromal NMSs. The reason for the lack of a relationship between NMSs and disease progression may be the presence of non-dopaminergic and extra nigrostriatal pathway pathology in the pathogenesis of NMS (37,38).

### Study Limitations

The main limitation of this study was the retrospective questioning and reporting of frequently observed, but limited number of prodromal NMSs. However, we aimed to provide objective data by giving the LR value determined by MDS to each prodromal marker reported by the patients. We also evaluated the disease progression rate with the last UPDRS part III score and disease duration.

### Conclusion

Prodromal NMSs do not seem to impact the rate of disease progression, which may be explained by the non-dopaminergic and extra nigro-striatal pathway that cause NMSs. However, age of the diagnosis may a significant factor associated with the clinical progression. Future studies with more robust and

**Table 2: Prevalence of prodromal NMSs and median duration before the diagnosis of disease**

Symptom	Total n (%)	Symptom duration*, year, median (min-max)
Constipation	18 (37.5)	9 (2-50)
Olfactory dysfunction	13 (27.1)	10 (1-30)
Urinary dysfunction	1 (2.1)	2 (1-7.8)
Symptomatic hypotension	9 (18.8)	2 (1-10)
Depression	18 (37.5)	4.5 (1-17)
RBD	12 (25)	2 (1-7.8)
Excessive daytime sleepiness	3 (6.2)	2 (1-2)

RBD: Rapid eye movement sleep behavior disorder, PD: Parkinson's disease  
\*in the prodromal period

**Table 3: Generalized linear model results**

Parameter	b	SE	p-value
Intercept	-6.744	2.4622	0.006
Group 1	1.373	1.0121	0.319
LR non-motor	1.009	0.0941	0.694
Age of diagnosis	0.209	0.0412	<0.001*
Sex	-0.274	0.997	0.784

\*p<0.05

LR: Likelihood ratio, b: Regression coefficient, SE: Standard errors, Group 1; reported prodromal NMS

longitudinal assessment methods should further clarify the effect of prodromal NMSs on the disease progression.

### Ethics

**Ethics Committee Approval:** The study was approved by the Ankara University Ethics Committee (03-160-18/2018).

**Informed Consent:** All participants provided a written informed consent.

### Authorship Contributions

Concept and Design: M.C.A., Y.Ü., B.S., R.Y., Data Collection; B.S., Z.Ö.A., Analysis of Data: R.Y., M.C.A., B.S., Literature Research: B.S., Z.Ö.A., Y.Ü., Writing: B.S., R.Y., Editing: M.C.A., Y.Ü.

**Conflict of Interest:** We declare that there is no conflicts of interest associated with this publication.

**Financial Disclosure:** We declare that we have not received any financial support to perform this study.

### References

- Parkinson J. An Essay on the Shaking Palsy. London: Sherwood, Neely and Jones (1817). *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2002;14:223-236. <https://neuro.psychiatryonline.org/doi/pdf/10.1176/jnp.14.2.223>
- Stern MB, Lang A, Poewe W. Toward a redefinition of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2012;27:54-60.
- Berg D, Postuma RB, Bloem B, et al. Time to redefine PD? Introductory statement of the MDS Task Force on the definition of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2014;29:454-462.
- Antonini A, Barone P, Marconi R, et al. The progression of non-motor symptoms in Parkinson's disease and their contribution to motor disability and quality of life. *J Neurol.* 2012;259:2621-2631.
- Kadastik-Eerme L, Muldmaa M, Lilles S, et al. Nonmotor Features in Parkinson's Disease: What Are the Most Important Associated Factors? *Parkinsons Dis.* 2016;2016:4370674.
- Martinez-Martin P, Rodriguez-Blazquez C, Kurtis MM, et al. The impact of non-motor symptoms on health-related quality of life of patients with Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2011;26:399-406.
- Lyons KE, Pahwa R. The impact and management of nonmotor symptoms of Parkinson's disease. *Am J Manag Care.* 2011;17(Suppl 12):S308-S314.
- Berg D, Postuma RB, Adler CH, et al. MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2015;30:1600-1611.
- Yilmaz R, Hopfner F, van Eimeren T, et al. Biomarkers of Parkinson's disease: 20 years later. *J Neural Transm (Vienna).* 2019;126:803-813.
- Postuma RB, Berg D, Stern M, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2015;30:1591-1601.
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.* 1975;12:189-198.
- Goetz CG, Tilley BC, Shaftman SR, et al. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): scale presentation and clinimetric testing results. *Mov Disord.* 2008;23:2129-2170.
- Akbostanci MC, Bayram E, Yilmaz V, et al. Turkish Standardization of Movement Disorders Society Unified Parkinson's Disease Rating Scale and Unified Dyskinesia Rating Scale. *Mov Disord Clin Pract.* 2017;5:54-59.
- Ramaker C, Marinus J, Stiggelbout AM, et al. Systematic evaluation of rating scales for impairment and disability in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2002;17:867-876.
- Gan-Or Z, Alcalay RN, Rouleau GA, et al. Sleep disorders and Parkinson disease; lessons from genetics. *Sleep Med Rev.* 2018;41:101-112.
- Plouvier AO, Hameleers RJ, van den Heuvel EA, et al. Prodromal symptoms and early detection of Parkinson's disease in general practice: a nested case-control study. *Fam Pract.* 2014;31:373-378.
- Postuma RB, Aarsland D, Barone P, et al. Identifying prodromal Parkinson's disease: pre-motor disorders in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2012;27:617-626.
- Stiasny-Kolster K, Mayer G, Schäfer S, et al. The REM sleep behavior disorder screening questionnaire--a new diagnostic instrument. *Mov Disord.* 2007;22:2386-2393.
- Heinzel S, Berg D, Gasser T, et al. Update of the MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2019;34:1464-1470.
- Jankovic J, Kapadia AS. Functional decline in Parkinson disease. *Arch Neurol.* 2001;58:1611-1615.
- Schrag A, Sampaio C, Counsell N, et al. Minimal clinically important change on the unified Parkinson's disease rating scale. *Mov Disord.* 2006;21:1200-1207.
- Olanow CW. Levodopa: effect on cell death and the natural history of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2015;30:37-44.
- Poewe W, Mahlknecht P. The clinical progression of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2009;15 Suppl 4:S28-S32.
- Holden SK, Finseth T, Sillau SH, et al. Progression of MDS-UPDRS Scores Over Five Years in De Novo Parkinson Disease from the Parkinson's Progression Markers Initiative Cohort. *Mov Disord Clin Pract.* 2018;5:47-53.
- Harrison MB, Wylie SA, Frysinger RC, et al. UPDRS activity of daily living score as a marker of Parkinson's disease progression. *Mov Disord.* 2009;24:224-230.
- Regnault A, Borojerdi B, Meunier J, et al. Does the MDS-UPDRS provide the precision to assess progression in early Parkinson's disease? Learnings from the Parkinson's progression marker initiative cohort. *J Neurol.* 2019;266:1927-1936.
- Kotagal V, Albin RL, Müller ML, et al. Diabetes is associated with postural instability and gait difficulty in Parkinson disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2013;19:522-526.
- Kotagal V, Albin RL, Müller ML, et al. Modifiable cardiovascular risk factors and axial motor impairments in Parkinson disease. *Neurology.* 2014;82:1514-1520.
- Swallow DM, Lawton MA, Grosset KA, et al. Variation in Recent Onset Parkinson's Disease: Implications for Prodromal Detection. *J Parkinsons Dis.* 2016;6:289-300.
- Walter U, Kleinschmidt S, Rimmele F, et al. Potential impact of self-perceived prodromal symptoms on the early diagnosis of Parkinson's disease. *J Neurol.* 2013;260:3077-3085.
- Gaenslen A, Swid I, Liepelt-Scarfone I, et al. The patients' perception of prodromal symptoms before the initial diagnosis of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2011;26:653-658.
- Durcan R, Wiblin L, Lawson RA, et al. Prevalence and duration of non-motor symptoms in prodromal Parkinson's disease. *Eur J Neurol.* 2019;26:979-985.
- Schrag A, Zhelev SS, Hotham S, et al. Heterogeneity in progression of prodromal features in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2019;64:275-279.
- Chen H, Zhao EJ, Zhang W, et al. Meta-analyses on prevalence of selected Parkinson's nonmotor symptoms before and after diagnosis. *Transl Neurodegener.* 2015;4:1.
- Savica R, Carlin JM, Grossardt BR, et al. Medical records documentation of constipation preceding Parkinson disease: A case-control study. *Neurology.* 2009;73:1752-1758.
- Elbaz A. Prodromal symptoms of Parkinson's disease: Implications for epidemiological studies of disease etiology. *Rev Neurol (Paris).* 2016;172:503-511.
- Tolosa E, Pont-Sunyer C. Progress in defining the premotor phase of Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 2011;310:4-8.
- Adler CH, Beach TG. Neuropathological basis of nonmotor manifestations of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2016;31:1114-1119.

# Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem 3 Öğrencilerinin COVID-19 Aşılarına Karşı Tutumları ve İlişkili Faktörler

## Attitudes of Ankara University Medical Faculty Term 3 Students Towards COVID-19 Vaccines and Related Factors

Halit Emin Alicılar<sup>1</sup>, Muhammed Taha Türk<sup>2</sup>, Ömer Naci Toprak<sup>2</sup>, Duygu Şahin<sup>2</sup>, Atalay Üsküdar<sup>2</sup>, Dilem Dalkıran<sup>2</sup>, Meltem Çöl<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19) pandemisinde en önemli adım aşıların geliştirilmesi olmuştur. Ancak aşı tereddütü ve aşı karşıtlığı, aşı uygulamaları açısından engellerden biridir. Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi (AÜTF) dönem 3 öğrencilerinin COVID-19 aşılarına karşı tutumlarını belirleyerek çeşitli faktörlerle ilişkilerini incelemek amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Kesitsel tipte olan bu çalışmada AÜTF'de öğrenim gören 394 dönem 3 öğrencisinden ulaşılabilen 336 öğrenci alınmıştır. Anket formunun yanı sıra COVID-19 Aşısına Yönelik Tutumlar Ölçeği kullanılmış olup Google Forms üzerinden Nisan 2021'de uygulanmıştır. Olumlu ve olumsuz tutum şeklinde iki alt boyutu olan ölçek 5'li Likert tipindedir. Etik kurul ve kurum onayları alınmıştır. Verilerin analizi SPSS 26.0 paket programında Mann-Whitney U ve Kruskal-Wallis testleri kullanılarak yapılmıştır.

**Bulgular:** Yaş ortalaması 21 olan öğrencilerin %51,8'i kadın, büyük bir çoğunluğunun ailesinin gelir durumu orta düzeyde idi. Öğrencilerde COVID-19 tanısı almış olma sıklığı %14,3'tü. COVID-19 aşısı yaptırma konusunda kararsız olduğunu veya aşı olmayacağını belirtenler de %14,3 oranında idi. Aşının güvenilirliğine ve koruyuculuğuna inanma oranı %80 civarında bulundu. %85 civarı yakınlarını aşı olma konusunda desteklemekte idi. %39,3'ü Sinovac uygulamasını doğru bulurken %54,2'si farklı seçenekler olması gerektiğini bildirmekteydi. Aşı hakkında yeterli bilgilendirme yapıldığını düşünmeyenlerin oranı %72,9 olarak bulundu. Ölçekten alınan olumlu tutum puanı ortalama 4,00, olumsuz tutum puanı ise 3,82 olup genel olarak tutumun olumlu yönde olduğu belirtilebilir. Tutum puanları sosyoekonomik özelliklere göre farklılık göstermemiştir. COVID-19 aşısı olmayı düşünenlerde, aşı ve üreten şirketlerle ilgili olumlu görüş bildirenlerde tutum puanları yüksekti.

**Sonuç:** Dönem 3 öğrencilerinde COVID-19 aşılarına karşı tutum olumlu olmakla birlikte aşı yaptırma konusunda tereddütü olanların oranı %14,3 idi. Buna göre, toplumdaki bilgilendirmenin yeterli şekilde yapılması ve aşı seçeneklerinin artırılması önerilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** COVID-19, Aşı Tutumu, Tıp Fakültesi Öğrencileri

### Abstract

**Objectives:** Although the most important step in the coronavirus disease-2019 (COVID-19) pandemic has been the development of vaccines, vaccine hesitancy and anti-vaccination hinder application. This study examines Ankara University Faculty of Medicine (AUTF) term-3 students' attitudes towards COVID-19 vaccines and its relationship with various factors.

**Materials and Methods:** Three hundred and thirty six term-3 students from 394 students studying at AUTF were recruited for this cross-sectional study. A questionnaire and 5-point Likert "Attitudes Towards COVID-19 Vaccine Scale" with positive and negative attitude sub-dimensions were applied in April 2021 via Google Forms. Ethics committee and institution approvals were obtained. The Mann-Whitney U and Kruskal-Wallis tests were performed with SPSS 26.0.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Halit Emin Alicılar

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Tel.: +90 534 511 22 08 E-posta: eminalicilar@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-6342-9707

Geliş Tarihi/Received: 02.07.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 22.11.2021

©Telif Hakkı 2022 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



**Results:** Out of the students whose average age was 21 years, 51.8% were female, and the majority had middle family income. Prevalance of COVID-19 diagnosis in students was 14.3% and 14.3% reported to be undecided or not planning to get a COVID-19 vaccine. Around 80% believed in the vaccine's safety and protection, and 85% supported their relatives getting vaccinated. While 39.3% supported Sinovac, 54.2% reported the need for different options and 72.9% found information provided about the vaccine inadequate. The average positive and negative attitude scores were 4.00 and 3.82, respectively, reflecting generally positive attitudes which did not differ across socioeconomic characteristics. Those considering to get a COVID-19 vaccine or thinking positively of the vaccine and production companies had higher attitude scores.

**Conclusion:** Although Term-3 students had positive attitudes towards COVID-19 vaccines, 14.3% were hesitant about getting vaccinated. It is recommended to provide adequate information and increase options for the vaccine.

**Key Words:** COVID-19, Vaccine Attitude, Medical School Students

## Giriş

Aşılama, insanlık tarihinin en önemli buluşlarından biri olup bulaşıcı hastalıklarla mücadelede en etkin yöntemlerden biridir. Aşılar hem bireyin kendisini, hem de toplumu korumaktadır. Toplumda belirli düzeyde aşılanmaya ulaşıldığında bulaşıcı hastalığın yayılımı azalarak aşı olmayan kişilerin de korunması sağlanır, buna toplum bağışıklığı (herd immunity) adı verilir (1). Toplum bağışıklığı her hastalık için farklı düzeylerde olup koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19) için henüz net olarak bilinmemekle birlikte en az %60-70'leri bulması gerektiği tahmin edilmektedir (2). COVID-19, 2019 yılının Aralık ayında başlamış ve halen devam etmekte olan bir pandemiye yol açmıştır. Pandeminin sonlandırılması için Dünya genelinde birçok önlem alınmış olup aşı çalışmaları da en önemli mücadele yöntemlerinden birini oluşturmaktadır. Aşılanmanın geliştirilmesiyle birlikte toplumda aşı tereddütü ve aşı karşıtlığı konuları tekrar gündeme gelmiştir. Aşılarla yönelik kararsızlık nedeniyle aşının kabulünde gecikmeye yol açan durum aşı tereddütü olarak adlandırılırken, aşıların tamamen reddedilmesi ise aşı karşıtlığı şeklinde ifade edilmektedir (3).

Salgının çok hızlı yayılması ve tüm dünyayı etkisi altına almasıyla aşı çalışmalarına hızla başlanmıştır; Ciddi Akut Solunum Yolu Sendromu (SARS) ve Orta Doğu Solunum Sendromu (MERS) koronavirüsü üzerine yapılan önceki çalışmalar, eski yöntemlerle beraber yeni teknolojilerin kullanılması gibi faktörlerle geleneksel aşı çalışmalarına kıyasla çok daha kısa sürelerde aşı geliştirilmiştir. Ayrıca aşı süreçleri hızlandırılarak, acil kullanım onayı ile aşılar kısa zamanda kullanıma sunulmuştur (4). Aşıların kullanılmaya başlanmasıyla birlikte aşının güvenliğine ve koruyuculuğuna yönelik endişelerin yanı sıra doğru bilgiye erişimde yaşanan güçlükler, toplumda tereddütlere yol açmıştır.

Salgınla mücadelede şeffaf bilgi paylaşımı iletişim açısından oldukça önem taşımaktadır. Eksik bilgilendirmeler ve belirsizlikler toplum katılımını olumsuz etkilemektedir. Günümüzde hızlı bilgi üretiminin sonucu olarak geleneksel ve sosyal medyada aşı karşıtlarının bilimsellikten uzak açıklamaları da kendine yer bulabilmiştir. Şeffaf ve sürekli bilgi paylaşımının sağlanması yanlış bilgilerin yayılmasını önleyecek, toplumda güven duygusu

oluşturarak önlemlere uyumu destekleyecek ve tereddütlerin önüne geçecektir.

Aşılanmanın gündeme geldiği erken dönemlerde ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda COVID-19 aşısı olmayı düşünmeyenlerin oranının %25-30 olduğu görülmektedir (5-7). Sağlık Bakanlığı Nisan 2021'de Türkiye'de 65 yaş üstü bireylerde aşılanmama oranını %25'e yakın olarak bildirilmiştir (8). Aşı olmayı düşünmeyenlerin yüzdesi de bununla benzerlik göstermekle birlikte aşılanmanın önünde engel oluşturan çeşitli faktörler bulunabilir.

Aşı tereddütü toplumda olduğu kadar sağlık çalışanları arasında da önemli oranlara ulaşabilmektedir (9). Aşı tereddütüyle mücadelede öncelikle sağlık çalışanlarının aşıya güven duyması gerekmektedir. Aynı zamanda yeterli bilgi sahibi olunması ve topluma güven duygusu aşılanması anahtar noktalar. Bu bağlamda geleceğin hekimleri olan tıp fakültesi öğrencilerinin aşı tereddütü durumlarının belirlenmesi önem taşımaktadır. Literatürde tıp fakültesi öğrencilerinde COVID-19 aşılarına yönelik tutumların incelendiği çalışmaların eksik olduğu görülmüştür.

Araştırmanın amacı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi (AÜTF) dönem 3 öğrencilerinin COVID-19 aşılarına karşı tutumlarını belirleyerek çeşitli faktörlerle ilişkilerini incelemektir.

## Gereç ve Yöntem

Araştırma kesitsel tipte olup evrenini AÜTF'de 2020-2021 eğitim-öğretim yılında öğrenim görmekte olan 394 Dönem 3 öğrencisi oluşturmuştur. Örneklem seçimi yapılmamış olup evrenin tamamına ulaşılması hedeflenmiştir. Çalışmada kullanılan anket formu katılımcılara Google Forms üzerinden çevrimiçi yolla 30 Nisan 2021'de ulaştırılmıştır. Araştırma sonucunda 336 öğrenciye ulaşılmıştır (%85,3).

Çalışmada sosyo-demografik bilgilerin yanı sıra aşılarla yönelik tutum, özgeçmiş, soygeçmiş ve COVID-19 aşılması ile ilgili sorulardan oluşan bilgi formu ve COVID-19 Aşısına Yönelik Tutumlar Ölçeği kullanılmıştır. COVID-19 Aşısına Yönelik Tutumlar Ölçeği, Geniş ve ark. (10) tarafından 2020 yılında geliştirilmiştir. Ölçek 5'li likert tipinde 9 maddeden oluşmakta olup olumlu ve olumsuz tutum olmak üzere iki alt

boyuta sahiptir. Cronbach's alfa katsayıları olumlu tutum alt boyutu için 0,96 ve olumsuz tutum için 0,78'dir. Maddeler 1-5 arasında puanlanmaktadır (Kesinlikle katılmıyorum - Kesinlikle katılıyorum). Ölçek alt boyutunda yer alan sorulardan alınan puanlar toplanıp soru sayısına bölünerek 1-5 arası tutum puanı elde edilmektedir. Olumlu tutum alt boyutundan alınan yüksek puanlar, aşıya yönelik tutumun olumlu olduğunu göstermektedir. Olumsuz tutum alt boyutundaki maddeler ise ters puanlamalı olup alınan puandaki yükseklik, aşıya karşı olumsuz tutumun daha az olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla her iki alt ölçekte de yüksek puanların olumlu yönü gösterdiği söylenebilir. Bağımlı değişkenler COVID-19 Aşısına Yönelik Tutumlar Ölçeği'nin olumlu tutum ve olumsuz tutum alt boyutlarından alınan puanlar olup, bağımsız değişkenler sosyo-demografik, sağlıkla ilgili özellikler ve aşıya bakış ile ilgili özellikler olmuştur. Tutum puanlarının karşılaştırılmasında sorulara verilen yanıtlarda kararsız ve olumsuz görüşler birleştirilmiştir.

### İstatistiksel Analiz

Anket uygulamasının başında öğrencilerin onamları alınmış olup çalışma gönüllülük esasına dayalı olarak yürütülmüştür. Araştırma için T.C. Sağlık Bakanlığı'ndan, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan ve Tıp Fakültesi Dekanlığı'ndan onay alınmıştır (tarih: 23.02.2021, karar no: 12270). Verilerin analizinde SPSS 26.0 paket programı kullanılmış olup tanımlayıcı istatistikler yüzde, ortalama, standart sapma, ortanca ve çeyrekler aralığı olarak verilmiştir. Analizlerde Mann-Whitney U ve Kruskal-Wallis testleri kullanılmıştır.

### Bulgular

Araştırmaya katılan 336 dönem 3 öğrencisinin yaş ortalaması  $21,12 \pm 2,06$ , ortancası 21'dir. Öğrencilerin sosyo-demografik özellikleri Tablo 1'de verilmiştir. Buna göre %51,8'i kadın, %93,8'i T.C. uyruklu olup büyük bir kısmı (%82,7) ailesinin gelir durumunu orta olarak belirtmiştir. %48,5'inin annesinin ve %68,2'sinin babasının üniversite mezunu olduğu görülmüştür.

Öğrencilerin %8,3'ünün psikolojik bir hastalığı bulunurken, %4,8'inin kronik hastalığı bulunmaktadır (Tablo 2). Öğrenciler arasında 48 kişi COVID-19 tanısı almış olup bu grupta prevalans %14,3'tür. Öğrencilerin %21,1'inin hanesinde COVID-19 tanısı alan kişi bulunurken, hanelerinde yaşayan toplam 1366 kişi içerisinde ise 210 olgu ortaya çıkmıştır (%15,4). Neredeyse her 2 kişiden 1'i, yakın çevresinde COVID-19'a bağlı olarak ağır hastalanan veya yaşamını kaybeden biri olduğunu belirtmiştir.

Tablo 3'te öğrencilerin aşı ile ilgili sorulara verdiği yanıtlar incelendiğinde %8,9'u aşılarla ilgili tereddütleri olduğunu, %0,6'sı ise aşı karşıtı olduğunu bildirmiştir. COVID-19 aşısı olmayı düşünenler ise %85,7 oranında olup %14,3'ü kararsız olduğunu veya aşı olmayacağını belirtmiştir. Öğrencilerin %62,8'i aşılanmanın pandemi için çözüm olacağını düşünmektedir.

%40,2'si COVID-19 aşısını güvenilir bulurken, %41'i aşıya göre fikrinin değişeceğini belirtmiştir. Yaklaşık yarısı aşının koruyucu olduğunu düşünürken %31,5'i aşıya göre görüşünün değişeceğini bildirmiştir. COVID-19 aşısı üreten şirketlere güvendiğini belirtenler yalnızca %22,9 oranındadır. Aşı olma

**Tablo 1: Sosyo-demografik özellikler**

Özellikler	n (%)
<b>Cinsiyet</b>	
Kadın	174 (%51,8)
Erkek	162 (%48,2)
<b>Uyruk</b>	
T.C.	315 (%93,8)
Diğer	21 (%6,2)
<b>Ailenin gelir durumu</b>	
Yüksek	44 (%13,1)
Orta	278 (%82,7)
Düşük	14 (%4,2)
<b>Annenin öğrenim durumu</b>	
Ortaokul ve altı	91 (%27,1)
Lise mezunu	82 (%24,4)
Üniversite mezunu	163 (%48,5)
<b>Babanın öğrenim durumu</b>	
Ortaokul ve altı	52 (%15,4)
Lise mezunu	55 (%16,4)
Üniversite mezunu	229 (%68,2)
<b>Toplam</b>	336 (%100,0)

**Tablo 2: Sağlıkla ilgili özellikler**

Özellikler	n (%)
<b>Kronik hastalık</b>	
Var	16 (%4,8)
Yok	320 (%95,2)
<b>Psikolojik hastalık</b>	
Var	28 (%8,3)
Yok	308 (%91,7)
<b>COVID-19 tanısı alma</b>	
Evet	48 (%14,3)
Hayır	288 (%85,7)
<b>Hanede COVID-19 tanısı alan birey</b>	
Var	71 (%21,1)
Yok	265 (%78,9)
<b>Yakın çevrede ağır hastalanan/yaşamını kaybeden</b>	
Yok	177 (%52,6)
Ağır hastalanan var	61 (%18,2)
Yaşamını kaybeden var	98 (%29,2)
<b>Toplam</b>	336 (%100,0)

COVID-19: Koronavirüs hastalığı-2019

**Tablo 3: Aşı ile ilgili sorulara verilen yanıtlar**

Özellikler	n (%)
<b>Aşılarla bakışınız nasıldır?</b>	
Aşılarımı yaptırırım	304 (%90,5)
Aşılarla ilgili tereddütlerim var	30 (%8,9)
Aşı karşıtıyım	2 (%0,6)
<b>COVID-19 aşısı olmayı düşünüyor musunuz?</b>	
Evet	288 (%85,7)
Kararsızım	39 (%11,6)
Hayır	9 (%2,7)
<b>Aşılamanın COVID-19 pandemisi için çözüm olacağını düşünüyor musunuz?</b>	
Evet	211 (%62,8)
Kararsızım	104 (%31,0)
Hayır	21 (%6,2)
<b>COVID-19 aşısının güvenilir olduğuna inanıyor musunuz?</b>	
Evet	135 (%40,2)
Aşıya göre fikrim değişir	138 (%41,0)
Kararsızım	57 (%17,0)
Hayır	6 (%1,8)
<b>COVID-19 aşısının koruyuculuğuna inanıyor musunuz?</b>	
Evet	167 (%49,7)
Aşıya göre fikrim değişir	106 (%31,5)
Kararsızım	51 (%15,2)
Hayır	12 (%3,6)
<b>COVID-19 aşısı üreten şirketlere güveniyor musunuz?</b>	
Evet	77 (%22,9)
Aşıya göre fikrim değişir	106 (%31,5)
Kararsızım	121 (%36,0)
Hayır	32 (%9,6)
<b>Yakınlarınızı aşı olmaları konusunda destekliyor musunuz?</b>	
Evet	285 (%84,8)
Kararsızım	38 (%11,3)
Hayır	13 (%3,9)
<b>Sinovac aşısının (CoronaVac) uygulanmasını doğru buluyor musunuz?</b>	
Evet	132 (%39,3)
Farklı seçenekler de olmalı	182 (%54,2)
Hayır	22 (%6,5)
<b>Ülkemizde Sinovac aşısı hakkında yeterince bilgilendirme yapıldığını düşünüyor musunuz?</b>	
Evet	29 (%8,6)
Kararsızım	62 (%18,5)
Hayır	245 (%72,9)
<b>Toplam</b>	<b>336 (%100,0)</b>

COVID-19: Koronavirüs hastalığı-2019

konusunda ise %84,8'i yakınlarını desteklediğini belirtmiştir. Öğrencilerin %54,2'si aşı için farklı seçenekler olması gerektiğini belirtmiştir. %72,9'u Sinovac aşısı hakkında ülkemizde yeterli bilgilendirme yapılmadığını düşünmektedir.

Öğrencilerin salgın ve aşılarla ilgili yararlandıkları bilgi kaynakları Tablo 4'te verilmiştir. Buna göre salgın konusunda en sık internet ve sosyal medyadan yararlandığı görülmektedir. Aşı olma konusunda ise büyük çoğunluğu hekimlere ve bilimsel kaynaklara güvendiğini bildirmiştir.

Öğrencilerin COVID-19 Aşısına Yönelik Tutumlar Ölçeği'nden aldıkları puanlar incelendiğinde olumlu tutum puanı ortalama  $4,00 \pm 0,87$  ve ortanca 4,00 (1,00); olumsuz tutum puanı ise ortalama  $3,82 \pm 0,64$  ve ortanca 3,80 (0,80) olarak belirlenmiştir (Tablo 5).

Cinsiyet, uyruk, gelir durumu, anne ve baba öğrenim durumu gibi sosyo-demografik özelliklere göre tutum puanları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Kronik hastalık durumuna göre tutum puanları arasında fark saptanmazken psikolojik hastalığı olanların hastalığı olmayanlara göre olumlu tutum puanı daha yüksek bulunmuştur ( $p=0,02$ ) (Tablo 6). COVID-19 tanısı alanların ve yakın çevresinde COVID-19 nedeniyle kayıp yaşayanların puanlarında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

**Tablo 4: Bilgi kaynaklarının dağılımı**

Bilgi kaynakları	n (%)
<b>Salgın konusunda bilgi kaynakları*</b>	
İnternet	295 (%87,8)
Sosyal medya	256 (%76,2)
Televizyon	195 (%58,0)
Gazete/dergi	77 (%22,9)
Diğer	78 (%23,2)
<b>Aşı olma konusunda en çok etkilenen ve güvenilen kaynaklar*</b>	
Hekim/bilim insanları	318 (%94,6)
Bilimsel kaynaklar	282 (%83,9)
İnternet	69 (%20,5)
Yakın çevre	60 (%17,9)
Arkadaşlar	29 (%8,6)
Sosyal medya	28 (%8,3)
Televizyon haberleri	21 (%6,3)
<b>Toplam</b>	<b>336 (%100,0)</b>

\*Birden çok seçenek işaretlenebilir

**Tablo 5: COVID-19 aşısına yönelik tutumlar ölçeğinden alınan puanlara göre olumlu ve olumsuz tutum puanları**

COVID-19 aşısına yönelik tutumlar ölçeği	Ortalama $\pm$ SS	Ortanca (ÇA)
Olumlu tutum puanı	$4,00 \pm 0,87$	4,00 (1,00)
Olumsuz tutum puanı	$3,82 \pm 0,64$	3,80 (0,80)

SS: Standart sapma, ÇA: Çeyrekler aralığı, COVID-19: Koronavirüs hastalığı-2019

Tablo 7'de aşı ile ilgili sorulara verilen yanıtlara göre olumlu ve olumsuz tutum puanlarının karşılaştırması verilmiştir. Buna göre aşılarını yaptıran öğrencilerin olumlu tutum puanı aşı tereddütü ya da karşıtlığı olanlara göre daha yüksek bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Olumsuz tutum puanı da yüksek olup bu da olumsuz tutumun aşılarını yaptıranlarda daha düşük olduğunu göstermektedir ( $p<0,001$ ). COVID-19 aşısı olmayı düşünenlerin, aşının pandemiye çözüm olacağını düşünenlerin, aşı üreten şirketlere güvenenlerin ve yakınlarını aşı olma konusunda destekleyenlerin puanları da bu yönde olup istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu durum ilgili gruplarda olumlu tutumun daha yüksek, olumsuz tutumun ise daha düşük olduğunu göstermektedir. Aşıya güvenen ve koruyuculuğuna inananlara göre aşıya güvenmeyen ve koruyuculuğuna inananların her iki tutum puanı daha düşük bulunmuştur. Görüşlerini aşıya göre değişir şeklinde belirtenlerde ise puanlar güvenilir ve koruyucu bulanlara yakın yüksekliktedir. Sinovac aşısının uygulanmasını doğru bulmayanların, doğru bulan ya da farklı seçenek olmalı diyenlere göre tutum puanları daha düşük bulunmuştur.

## Tartışma

Çalışma grubumuz cinsiyet açısından eşit dağılımda, büyük çoğunluğu benzer yaş aralığında ve orta gelir düzeyinde yer alan, yaklaşık yarısının anne ve babasının üniversite mezunu olduğu, sosyo-ekonomik düzeyleri benzerlik gösteren tıp fakültesi öğrencilerinden oluşmuştur. Öğrencilerin %14,3'ü, hanelerinde yaşayan kişilerin ise %15,4'ü COVID-19 tanısı almıştır. Ülkemizde çalışmanın yapıldığı tarih olan 30 Nisan 2021'de toplam 4.820.591 olgu tespit edilmiş olup toplam nüfusta (83.614.362) sıklık %5,8'dir. Çalışmamızda bulunan %15,4 değeri bu sıklığın yaklaşık 2,65 katıdır. Ayrıca toplumda asemptomatik olgular nedeniyle bilinenden daha da çok olgu

olduğu tahmin edilebilir. Doğru sayıların elde edilmesi için sağlıklı verilere ihtiyaç duyulmaktadır.

Öğrencilerin %9,5'inde aşı tereddütü veya karşıtlığı bulunurken COVID-19 aşıları için bu oran %14,3'tür. Aşıların yeni olması, yan etkilerinin tam olarak bilinmemesi, güven eksikliği gibi nedenlerle COVID-19 aşılarına karşı normalden daha fazla tereddüt yaşandığı bilinmektedir (11,12). Hindistan'da aynı dönemde yapılmış bir çalışmada tıp fakültesi öğrencilerinde aşı tereddütünün %10,6 olduğu belirlenmiştir (13). İtalya'da üniversite öğrencilerinde COVID-19 aşılarına karşı tereddüt ve karşıtlık %13,9 olarak bildirilmiştir (14). Buna karşılık Mısır'da tıp fakültesi öğrencilerinde yapılan bir çalışmada aşı tereddütü oldukça yüksek düzeydedir (15). 21 ülkede toplum geneli için yapılan bir çalışmada COVID-19 aşısına yönelik tereddütler %3 ile %44 arasında değişmekte olup, Türkiye de %44'le en yüksek değeri göstermiştir (12). Türkiye'de aşılama öncesi erken dönemde sağlık çalışanlarında yapılan bir çalışmada COVID-19 aşısı olmayı düşünmeyenlerin ve kararsızların oranı %30'un üzerinde bulunmuştur (9). Aynı çalışmada öğrencilerin ve genç yaştakilerin aşı yaptırmaya daha yatkın olduğu belirlenmiştir. Beklendiği gibi, gençlerde risk algısının düşük olmasına karşılık yine de diğer gruplara göre özellikle tıp fakültesi öğrencilerinde genel olarak aşı tereddütünde daha düşük oranlar ortaya çıkmıştır. Tıp eğitimi almış olmaları, henüz klinikte olmasalar bile daha sonra hastanede çalışacak olmaları da bu sonuçlarda etkili olabilir.

Öğrencilerin yaklaşık %40'ı aşıya güvenirken %41'i de fikrinin aşıya göre değişeceğini belirtmiştir. Aşının koruyuculuğuna yönelik görüşler de benzer şekildedir. Çalışmanın yapıldığı dönemde ülkemizde ağırlıklı olarak Sinovac firmasının aşısı uygulanmaktaydı. Buna karşılık dünyada farklı aşıların da kullanımda olması nedeniyle aşıya göre fikrinin değişeceğini belirtenler de olmuştur. Türkiye'de Sinovac aşısına yönelik yeterince bilgilendirme yapıldığını düşünenlerin oranı %10'un

**Tablo 6: Sağlıkla ilgili özelliklere göre olumlu ve olumsuz tutum puanlarının karşılaştırılması**

Özellikler	Olumlu tutum puanı		p	Olumsuz tutum puanı		p
	Ortalama ± SS	Ortanca (ÇA)		Ortalama ± SS	Ortanca (ÇA)	
<b>Kronik hastalık</b>			0,13			0,15
Var	4,19±1,06	4,63 (0,75)		4,10±0,63	3,90 (1,35)	
Yok	4,00±0,86	4,00 (1,00)		3,81±0,64	3,80 (0,80)	
<b>Psikolojik hastalık</b>			<b>0,02</b>			0,20
Var	4,36±0,62	4,50 (0,94)		3,94±0,66	4,00 (0,95)	
Yok	3,98±0,88	4,00 (1,25)		3,81±0,64	3,80 (0,80)	
<b>COVID-19 tanısı</b>			0,12			0,93
Var	3,84±0,93	4,00 (0,94)		3,81±0,62	4,00 (0,80)	
Yok	4,04±0,86	4,25 (1,00)		3,82±0,65	3,80 (0,80)	
<b>Yakınlarında yaşam kaybı</b>			0,21			0,29
Var	4,09±0,84	4,00 (1,00)		3,88±0,62	3,80 (0,80)	
Yok	3,97±0,88	4,00 (1,25)		3,80±0,66	3,80 (0,80)	

SS: Standart sapma, ÇA: Çeyrekler aralığı, COVID-19: Koronavirüs hastalığı-2019

altında kalmıştır. Bu durum kişileri aşı hakkında güvensizliklere ya da farklı aşı seçeneklerine yöneltebilir.

Salgın konusunda en sık yararlanılan kaynakların internet, sosyal medya ve televizyon olduğu dikkat çekmektedir. Twitter üzerinde yapılan geniş çaplı bir çalışmada aşya yönelik olumsuz tutum, yanlış bilgi ve komplo teorilerini paylaşan hesapların daha çok takip edildiği ve etkileşim aldığı tespit edilmiştir (16). Bu dönemde insanların sosyal medyada çok uzun süre geçirdiği ve pek çok uygulamayı aynı anda kullandığı, gündemi takip etmek için de büyük ölçüde tercih ettiği görülmektedir. Bu bağlamda sosyal medya kullanımının göz önünde bulundurulması, salgın konusunda yanlış bilgilerin ve olumsuz tutumun önüne geçilmesi gerekmektedir. Çalışmamızda öğrencilerin aşı olma konusunda hekimlere ve bilimsel kaynaklara güvendiğinin görülmesi olumlu bir sonuçtur.

COVID-19 aşısına yönelik tutumlar ölçeği yeni geliştirilmiş bir ölçek olup sınırlı sayıda çalışmada kullanılmıştır. Öğrencilerin bu ölçekten aldıkları puanların ortalaması olumlu tutum için 4,00 ve olumsuz tutum için 3,82'dir. Bu puanların her ikisinin de yüksek olması olumlu tutum lehinedir. Ülkemizde aynı ölçeği kullanan diğer çalışmalar incelendiğinde sağlık çalışanlarında ve hemşirelerde yapılan çalışmalarda bizim çalışmamıza göre kısmen daha düşük puanlar olduğu görülmüştür (17,18). Genel popülasyondaki ölçek sonuçları ise en düşük puanları ortaya koymuştur (19).

Öğrencilerin cinsiyet, uyruk, gelir durumu, anne ve baba öğrenim durumu gibi sosyo-demografik özelliklerine göre tutum puanları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Zaten çalışma grubumuzun sosyo-ekonomik düzeyleri birbirine benzer niteliktedir ve öğrencilerin tutum puanları arasında da çok

**Tablo 7: Aşı ile ilgili sorulara verilen yanıtlara göre olumlu ve olumsuz tutum puanlarının karşılaştırılması**

Özellikler	Olumlu tutum puanı		p	Olumsuz tutum puanı		p
	Ortalama ± SS	Ortanca (ÇA)		Ortalama ± SS	Ortanca (ÇA)	
<b>Aşıya bakış</b>			<b>&lt;0,001</b>			<b>&lt;0,001</b>
Aşı yaptırıyor	4,10±0,83	4,25 (1,00)		3,87±0,63	3,80 (0,80)	
Tereddütlü/karşıt	3,17±0,80	3,00 (1,00)		3,34±0,58	3,30 (0,80)	
<b>COVID-19 aşısı olmayı düşünüyor</b>			<b>&lt;0,001</b>			<b>&lt;0,001</b>
Evet	4,19±0,75	4,25 (1,00)		3,91±0,60	4,00 (0,90)	
Hayır/Kararsız	2,91±0,69	3,00 (0,50)		3,27±0,63	3,10 (0,60)	
<b>Aşı pandemiyeye çözüm</b>			<b>&lt;0,001</b>			<b>&lt;0,001</b>
Evet	4,21±0,80	4,25 (0,75)		4,00±0,61	4,00 (0,80)	
Hayır/Kararsız	3,67±0,88	3,75 (1,50)		3,52±0,60	3,60 (0,60)	
<b>Aşı güvenilir</b>			<b>&lt;0,001</b>			<b>&lt;0,001</b>
Evet	4,38±0,79	4,50 (1,00)		4,08±0,62	4,00 (0,80)	
Aşıya göre değişir	3,97±0,75	4,00 (0,75)		3,74±0,57	3,80 (0,65)	
Hayır/Kararsız	3,29±0,80	3,25 (0,75)		3,44±0,62	3,40 (0,80)	
<b>Aşı koruyucu</b>			<b>&lt;0,001</b>			<b>&lt;0,001</b>
Evet	4,28±0,78	4,50 (0,75)		4,05±0,62	4,00 (1,00)	
Aşıya göre değişir	3,94±0,76	4,00 (1,00)		3,70±0,54	3,60 (0,60)	
Hayır/Kararsız	3,39±0,94	3,50 (1,00)		3,42±0,63	3,40 (0,80)	
<b>Aşiyi üreten şirketler güvenilir</b>			<b>&lt;0,001</b>			<b>&lt;0,001</b>
Evet	4,46±0,77	4,75 (0,88)		4,18±0,62	4,20 (0,90)	
Aşıya göre değişir	4,02±0,76	4,00 (1,00)		3,76±0,65	3,60 (0,80)	
Hayır/Kararsız	3,77±0,90	4,00 (1,25)		3,68±0,59	3,60 (0,80)	
<b>Yakınlarını aşı için destekliyor</b>			<b>&lt;0,001</b>			<b>&lt;0,001</b>
Evet	4,21±0,74	4,25 (1,00)		3,92±0,61	4,00 (0,80)	
Hayır/Kararsız	2,89±0,64	3,00 (0,50)		3,24±0,52	3,20 (0,60)	
<b>Sinovac aşısının uygulanması doğru</b>			<b>&lt;0,001</b>			<b>0,001</b>
Evet	4,28±0,84	4,50 (1,00)		3,95±0,66	4,00 (0,80)	
Farklı seçenek olmalı	3,90±0,77	4,00 (1,00)		3,77±0,60	3,80 (0,80)	
Hayır	3,27±1,18	3,25 (2,19)		3,48±0,73	3,40 (0,90)	

SS: Standart sapma, ÇA: Çeyrekler aralığı, COVID-19: Koronavirüs hastalığı-2019



büyük farklar bulunmayıp genel olarak olumlu yöndedir. Yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar bulunmakla birlikte bazı çalışmalar erkeklerin daha olumlu tutum gösterdiği yönündedir (17,18,20).

Kronik hastalığı olanlarda anlamlı bir fark saptanmazken, psikolojik hastalığı olanlarda olumlu tutum daha yüksek bulunmuştur. Hastalıkla ilgili endişe duyanların aşıya daha olumlu yaklaştıkları bilinmektedir (19,21). Psikolojik hastalığı olanların daha çok endişe yaşamaları ve risk algısının yükselmesi beklenebilir. Fransa'da yapılan bir çalışmada kronik hastalığı olanların COVID-19 aşısına yönelik tutumlarının daha olumlu olduğu saptanmıştır (22). Mısır'da yapılan bir çalışmada da ileri yaşta olanların ve kronik hastalığı bulunanların aşıya daha olumlu baktığı belirlenmiştir (23). Çalışma grubumuzun genç yaştakilerden oluşması ve kronik hastalığı olanların az sayıda olması nedeniyle tutumla ilgili önemli bir fark oluşmamıştır. COVID-19 tanısı alanlarda ve yakın çevresinde COVID-19 nedeniyle kayıp yaşayanlarda tutumlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. İtalya'da yapılan bir çalışmada önlemlerin sıklaşmasıyla birlikte toplumda risk algısının arttığı ve aşı tereddütünün azaldığı gözlenmiştir (24). Bu bağlamda toplumsal önlemlerde tutarlılığın ve şeffaflığın sağlanması toplum katılımını olumlu etkileyecektir.

Beklendiği şekilde aşı olmayı düşünenlerde, aşığı pandemiye çözüm olarak görenlerde, aşı üreten şirketlere güvenenlerde ve yakınlarını aşı olma konusunda destekleyenlerde aşı tutumunun olumlu olduğu; aşıya güvenmeyen, koruyuculuğuna inanmayanlarda ve Sinovac aşısının uygulanmasını doğru bulmayanlarda tutumun olumsuz yönde olduğu görülmüştür. Buna karşılık görüşlerinin aşı çeşidine göre değişeceğini bildirenlerin tutum puanları olumlu düşünenlere daha yakındır. COVID-19 aşılamaında aşı seçeneği sunulmasının aşı yaptırmaya düşüncesini olumlu etkilediğini gösteren bulgular mevcuttur (20). Bu nedenle aşı çeşitliliğinin sağlanması olumlu yönde etki edebilir. Türkiye'de sağlık çalışanlarında yapılan bir çalışmada aşılarda daha fazla bilgiye sahip olanların aşıya yönelik tutumlarının daha olumlu olduğu belirlenmiştir (20). Aşı tereddütleriyle mücadelede toplumun şeffaf bir şekilde bilgilendirilmesi ve güven ortamı oluşturulması büyük önem taşımaktadır.

## Sonuç

Çalışmamızda dönem 3 tıp fakültesi öğrencilerinin sosyo-demografik özelliklerinin birbirine benzer olduğu, %14,3'ünün COVID-19 tanısı aldığı, aşı tereddütü veya aşı karşıtı olanların %9,5 olduğu, COVID-19 aşısı olma konusunda kararsız olanlar ve yaptırmayacak olanların toplam %14,3 oranında bulunduğu görülmüştür. %20'ye yakını COVID-19 aşılarının güvenilir ya da koruyucu olduğuna inanmamakta ya da kararsızdır. Yarısından fazlası aşı üreten şirketlere kısmen güvenmektedir.

Tutum ölçeği puanları genel olarak yüksek ve olumlu yöndedir. Tutum puanı aşı yaptırmayı düşünenlerde, aşının güvenilir ya da koruyucu olduğunu düşünenlerde, aşı üreten şirketlere güvenenlerde, yakınlarını aşı için destekleyenlerde daha yüksektir. Bu bulgulara dayanarak, AÜTF dönem 3 öğrencilerinde aşıya yönelik tutumun, Dünya genelinde de karşılaştırıldığında genel olarak olumlu yönde olduğu görülmüştür. Aşıyla ilgili tereddütleri ve karşıtlıkları azaltmak için yeterli bilgilendirmelerin yapılması, yanlış bilgilerin önüne geçilmesi, güven duygusunun oluşturulması ve aşı seçeneklerinin artırılması uygun görülmektedir.

## Etik

**Etik Kurul Onayı:** Araştırma için T.C. Sağlık Bakanlığı'ndan, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan ve Tıp Fakültesi Dekanlığı'ndan onay alınmıştır (tarih: 23.02.2021, karar no: 12270).

**Katılımcı Onayı:** Anket uygulamasının başında öğrencilerin onamları alınmış olup çalışma gönüllülük esasına dayalı olarak yürütülmüştür.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunun dışından olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

## Yazarlık Katkıları

**Konsept:** M.T.T., D.Ş., D.D., **Dizayn:** H.E.A., M.Ç., **Veri Toplama veya İşleme:** M.T.T., Ö.N.T., D.Ş., A.Ü., **Analiz veya Yorumlama:** H.E.A., M.Ç., **Literatür Arama:** Ö.N.T., A.Ü., D.D., **Yazan:** H.E.A., M.Ç.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmektedir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma herhangi bir kurum, kuruluş ya da kişi tarafından finanse edilmemiştir.

## Kaynaklar

1. Milli Pediatri Derneği. Ülkemizde Güncel Aşılama. [Erişim Tarihi: 28 Haziran 2021]. Erişim: <https://www.millipediatri.org.tr/Custom/Upload/files/asilama.pdf>
2. Aschwanden C. Five reasons why COVID herd immunity is probably impossible. 18 Mart 2021. Nature Briefing. [Erişim Tarihi: 01 Temmuz 2021]. Erişim: <https://www.nature.com/articles/d41586-021-00728-2>
3. World Health Organization. SAGE, Working Group. "Report of the SAGE working group on vaccine hesitancy". 1 Ekim 2014. [Erişim Tarihi: 01 Temmuz 2021]. Erişim: [https://www.who.int/immunization/sage/meetings/2014/october/1\\_Report\\_WORKING\\_GROUP\\_vaccine\\_hesitancy\\_final.pdf](https://www.who.int/immunization/sage/meetings/2014/october/1_Report_WORKING_GROUP_vaccine_hesitancy_final.pdf)
4. World Health Organization. Update on COVID-19 vaccine development. [Erişim Tarihi: 01 Temmuz 2021]. Erişim: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/risk-comms-updates/update45-vaccines-development.pdf?sfvrsn=13098bfc\\_5](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/risk-comms-updates/update45-vaccines-development.pdf?sfvrsn=13098bfc_5)
5. İstanbul İstatistik Ofisi. İstanbul'da Koronavirüs Algı, Beklenti ve Tutum Araştırması. 2020 [Erişim Tarihi: 01 Temmuz 2021]. Erişim: <https://mediabox.ibb.gov.tr/wp-content/uploads/2020/11/Istanbulda-Koronavirus-Algi-Beklenti-ve-Tutum-Arastirmasi-Kasim-2020.pdf>
6. Toplumsal Yapı Araştırmaları Programı. Pandemiin Sosyal Etkileri ve Toplumun Aşı ile İlgili Yaklaşımları. 2021 [Erişim Tarihi: 01 Temmuz 2021]. Erişim: [https://tyap.net/media/f/Pandeminin\\_Sosyal\\_Etkileri\\_Detayli\\_Sunum.pdf](https://tyap.net/media/f/Pandeminin_Sosyal_Etkileri_Detayli_Sunum.pdf)

7. Türkiye Raporu. Koronavirüs Aşısı Olmayı Düşünüyor Musunuz? 30 Nisan 2021. [Erişim Tarihi: 01 Temmuz 2021]. Erişim: <https://www.turkiyeraporu.com/arastirma/koronavirus-asisi-olmayi-dusunuyor-musunuz-2-4230/>
8. Sağlık Bakanı F. Koca: Kabine Toplantısı'nda kapsayıcı, alternatifli önerileri sunacağız. 12 Nisan 2021. [Erişim Tarihi: 01 Temmuz 2021]. Erişim: <https://www.aa.com.tr/tr/turkiye/saglik-bakani-koca-kabine-toplantisinde-kapsayici-alternatifli-onerileri-sunacagiz/2206637>
9. Kose S, Mandiracioglu A, Sahin S, Kaynar T, Karbus O, Ozbel Y. Vaccine hesitancy of the COVID-19 by health care personnel. *Int J Clin Pract.* 01 Mayıs 2021;75(5):e13917. Erişim: <https://doi.org/10.1111/ijcp.13917>
10. Geniş B, Gürhan N, Koç M, Geniş Ç, Şirin B, Çirakoğlu OC. Covid-19 Pandemisine İlişkin Algı ve Tutum Ölçeklerinin Geliştirilmesi. *Pearson J Soc Sci - Humanit.* 2020;7:306-28.
11. Razai MS, Chaudhry UAR, Doerholt K, Bauld L, Majeed A. Covid-19 vaccination hesitancy. *BMJ.* 20 Mayıs 2021;373:n1138. Erişim: <http://www.bmj.com/content/373/bmj.n1138.abstract>
12. Feleszko W, Lewulis P, Czarnecki A, Waszkiewicz P. Flattening the Curve of COVID-19 Vaccine Rejection—An International Overview. *C. 9, Vaccines.* 2021.
13. Jain J, Saurabh S, Goel AD, Gupta MK, Bhardwaj P, Raghav PR. COVID-19 vaccine hesitancy among undergraduate medical students: results from a nationwide survey in India. *medRxiv.* 01 Ocak 2021;2021.03.12.21253444. Erişim: <http://medrxiv.org/content/early/2021/03/12/2021.03.12.21253444.abstract>
14. Barello S, Nania T, Dellafiore F, Graffigna G, Caruso R. "Vaccine hesitancy" among university students in Italy during the COVID-19 pandemic. *C. 35, European journal of epidemiology.* 2020. s. 781-3.
15. Saied SM, Saied EM, Kabbash IA, Abdo SAE-F. Vaccine hesitancy: Beliefs and barriers associated with COVID-19 vaccination among Egyptian medical students. *J Med Virol.* 01 Temmuz 2021;93:4280-91. Erişim: <https://doi.org/10.1002/jmv.26910>
16. Hou Z, Tong Y, Du F, Lu L, Zhao S, Yu K, vd. Assessing COVID-19 Vaccine Hesitancy, Confidence, and Public Engagement: A Global Social Listening Study. *J Med Internet Res.* 2021;23:e27632. Erişim: <https://www.jmir.org/2021/6/e27632>
17. Oruç MA, Öztürk O. Attitudes of health care professionals towards COVID-19 vaccine - a sequence from Turkey. *Hum Vaccin Immunother.* 18 Haziran 2021;1-7. Erişim: <https://doi.org/10.1080/21645515.2021.1928462>
18. Erçelik HC, Çamlıca T. Fear of COVID-19 Among Nursing Students and an Evaluation of Their Attitudes Towards Vaccination. *Türkiye Klin J Nurs Sci.* 2021;
19. Turan GB, Aksoy M, Özer Z, Demir C. The Association Between Coronaphobia And Attitude Towards Covid-19 Vaccine: A Sample In The East Of Turkey. *Encephale.* 2021; Erişim: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013700621001299>
20. Civelek B, Yazıcı O, Özdemir N, Karacın C, Sural AA. Attitudes of physicians towards COVID-19 vaccines and reasons of vaccine hesitancy in Turkey. *Int J Clin Pract.* 26 Mayıs 2021;n/a(n/a):e14399. Erişim: <https://doi.org/10.1111/ijcp.14399>
21. Salali GD, Uysal MS. COVID-19 vaccine hesitancy is associated with beliefs on the origin of the novel coronavirus in the UK and Turkey. *Psychol Med.* 2020/10/19. 2020;1-3. Erişim: <https://www.cambridge.org/core/article/covid19-vaccine-hesitancy-is-associated-with-beliefs-on-the-origin-of-the-novel-coronavirus-in-the-uk-and-turkey/720F9BF973939689A82FFE4316855CFE>
22. Schwarzingler M, Watson V, Arwidson P, Alla F, Luchini S. COVID-19 vaccine hesitancy in a representative working-age population in France: a survey experiment based on vaccine characteristics. *Lancet Public Heal.* 2021;6(4):e210-21. Erişim: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468266721000128>
23. Hussein AARM, Galal I, Makhlof NA, Makhlof HA, Abd-Elaal HK, Kholief KMS. A national survey of potential acceptance of COVID-19 vaccines in healthcare workers in Egypt. *medRxiv.* 2021; Erişim: <https://www.medrxiv.org/content/early/2021/01/15/2021.01.11.21249324>
24. Caserotti M, Girardi P, Rubaltelli E, Tasso A, Lotto L, Gavaruzzi T. Associations of COVID-19 risk perception with vaccine hesitancy over time for Italian residents. *Soc Sci Med.* 2021;272:113688. Erişim: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0277953621000204>

# Evaluation of Health Status and Quality of Life in Patients Using Intravenous and Subcutaneous Forms of Immunoglobulin Replacement

Intravenöz ve Subkütan İmmünoglobulin Replasman Tedavisi Kullanan Hastalarda Sağlık Durumu ve Yaşam Kalitesinin Değerlendirilmesi

© Saliha Esenboğa, © Ayşegül Akarsu, © Hacer Neslihan Bildik, © Deniz Çağdaş, © İlhan Tezcan

Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Child Health and Diseases Immunology Unit, Ankara, Turkey

## Abstract

**Objectives:** Health-related quality of life (HRQoL) is an emerging field of research in primary immunodeficiency (PID) patients. PID patients' quality of life worsens as a result of their considerable disease load causing limited capacity to work and attend school, as well as participation in routine physical activities. The aim of this study was to analyze the demographics, treatment satisfaction, treatment-related side effects, health status and HRQoL of adult PID patients using different immunoglobulin replacement methods.

**Materials and Methods:** In this prospective, cross-sectional research, 53 adult patients, who had been diagnosed with PID and treated with IgRT, were included. The Euro-QoL 5-D (EQ-5D) and Medical Outcomes Study Short Form-36 (SF-36) scales were used to evaluate health status and HRQoL.

**Results:** The study included 53 patients with a median age of 32 (IQR: 24-45) years. Thirty-three (62.2%) patients were female. Twenty-three individuals received intravenous immunoglobulin (IVIg) and 30 subcutaneous immunoglobulin (SCIg). There was no significant difference in side effects between SCIg and IVIg. According to the EQ-5D results, anxiety/depression was the most problematic area to deal with. Patients' median SF-36 scores were significantly lower ( $p<0.005$ ) than healthy Turkish population norms in all categories (except for mental health). For physical functioning, physical role difficulty, emotional role difficulty, and vitality, the median scores of the SCIg group were similar to those of the healthy population.

**Conclusion:** Given that individuals receiving SCIg therapy have a comparable quality of life as the general population, employing SCIg in appropriate and chosen patients may improve quality of life by allowing patients to be more independent. Patients with PIDs should have regular HRQoL assessments to ensure that they are receiving sufficient psychosocial care.

**Key Words:** Health Status, Quality of Life, Primary Immunodeficiency, IVIg, SCIg

## Öz

**Amaç:** Sağlık ilişkili yaşam kalitesi (HRQoL), primer immün yetmezlik (PİY) hastalarında giderek daha çok araştırılan bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır. PİY'lere bağlı ortaya çıkan önemli hastalık yükü hastaların çalışma ve okul hayatına dahil olma, rutin fiziksel aktivitelere katılımını olumsuz olarak etkileyerek yaşam kalitelerini düşürmektedir. Bu çalışma ile farklı immünoglobulin replasman tedavisi (IgRT) formlarını kullanan yetişkin PİY hastalarının demografik özelliklerini, tedavi memnuniyetini, tedaviye bağlı yan etkileri, sağlık durumunu ve yaşam kalitesini değerlendirmek amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Bu prospektif, kesitsel araştırmaya, PİY tanısı ile takip edilen ve IgRT alan 53 erişkin hasta dahil edilmiştir. Sağlık durumunu ve yaşam kalitesini değerlendirmek için Euro-QoL 5-D (EQ-5D) ve Medical Outcomes Study Short Form-36 (SF-36) ölçeklerinin Türkçe versiyonları kullanıldı.

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Saliha Esenboğa

Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Child Health and Diseases Immunology Unit, Ankara, Turkey

Phone: +90 312 305 11 74 E-mail: saliha.esenboga@hacettepe.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0003-0562-9863

Received/Geliş Tarihi: 03.12.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 01.03.2022

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.

All content are under CC BY-NC-ND license.



**Bulgular:** Çalışmaya medyan yaşı 32 (IQR: 24-45) olan 53 hasta dahil edildi. Otuz üç (%62,2) hasta kadındı. Yirmi üç kişiye intravenöz immünoglobulin (IVIG) ve 30 subkütan immünoglobulin (SCIG) verildi. SCIG ve IVIG arasında yan etkiler açısından anlamlı bir fark yoktu. EQ-5D sonuçlarına göre kaygı/depresyon en sorunlu alandı. Hastaların medyan SF-36 puanları, tüm kategorilerde (ruh sağlığı hariç) sağlıklı Türk popülasyonu normlarından anlamlı derecede düşüktü ( $p<0,005$ ). Fiziksel işlevsellik, fiziksel rol gücünü, duygusal rol gücünü ve canlılık için SCIG grubu medyan puanları sağlıklı popülasyona benzerdi.

**Sonuç:** SCIG tedavisi alan bireylerin genel popülasyonla benzer bir yaşam kalitesine sahip olduğu göz önüne alındığında, uygun ve seçilmiş hastalarda SCIG kullanılması, hastaların daha bağımsız olmasına izin vererek yaşam kalitesini iyileştirebilir. PİY'li hastalarda, yaşam kalitesi düzenli olarak değerlendirilmeli ve yeterli psikososyal bakım sağlanmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Sağlık Durumu, Yaşam Kalitesi, İmmünoglobulin Replasman Tedavisi, IVIG, SCIG

## Introduction

Quality of life (QoL) is a term that refers to an individual's personal satisfaction with his/her adaptation to life and represents the personal reactions to the diseases's physical, mental, and social consequences (1). The term "health related QoL (HRQoL)" refers to a multifaceted concept that attempts to describe the impact of a disease on a patient's life. The simplest definition of HRQoL is "perceived health". The patient's perception and functional impairments as a result of the disease are two main factors that have an impact on the HRQoL (2).

The development of more treatment options for chronic illnesses has prolonged patient survival, but in this situation the patient has to live with the disease. Primary immunodeficiencies (PIDs) are chronic diseases, including a heterogenous group of disorders. PIDs may manifest with recurrent/severe infections, autoimmune disorders, allergic diseases, autoinflammation, lymphoproliferation, or malignancies (3). As a result, PID patients have a significant disease burden. Impaired patients' ability to work and attend school, as well as participation in routine physical activities, all contribute to a decline in PID patients' QoL. The deterioration in QoL is often worsened by diagnostic delays and disease-related comorbidities (4). HRQoL is a growing area of investigation in patients with PID.

A lifelong immunoglobulin replacement treatment is necessary for certain patients with PID. Subcutaneous and intravenous immunoglobulin (SCIG and IVIG) replacement therapies are both effective in avoiding infections. However research data shows that patients who receive these treatments have a worse QoL in terms of mental and physical health (5).

The purpose of this study was to assess the demographic characteristics, treatment satisfaction and treatment-related side effects, health status and HRQoL of adult patients with PID who were using different methods of immunoglobulin replacement therapy.

## Patients and Methods

### Patients and Study Design

This prospective, cross-sectional study included 53 adult patients who were diagnosed with PID and treated with immunoglobulin replacement in Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Immunology. Between June and September 2021, participants were questioned at outpatient control visits. Each patient provided informed consent to participate in the study. Socio-demographic data ascertained included age, gender, BMI and education level, economic status, number of hospital admissions in the preceding year, number of oral or intravenous antibiotic use episode in the preceding year, side effects experienced during immunoglobulin replacement therapy, degree of satisfaction with the immunoglobulin form used, and the reason for preference of that immunoglobulin form. This study was approved by the Ethics Committee of Hacettepe University Faculty of Medicine (GO 21/1238).

### Outcome Measures

The Euro-QoL 5-D (EQ-5D) scale was used to evaluate health status and HRQoL. The EQ-5D assesses health status in terms of five dimensions of health including mobility, self-care, usual daily activities, pain/discomfort, and anxiety/depression. A triple Likert scale was used for each item on the measure. It is also possible to determine the health benefit index score by looking at the distribution of responses to these dimensions. The second section of the EQ-5D questionnaire is a typical vertical 20-cm VAS calibrated from 'the worst health you can imagine' (score 0) to 'the best health you can imagine' (score 100) at the apex.

Patients are asked to mark an X on the scale to reflect their current state of health and enter the result in an adjacent box. The EuroQoL working group created the EQ-5D in 1990 (6). Eser et al. (7) investigated the reliability and validity of Turkish and established community norm values in 2007.

HRQoL was assessed using the Medical Outcomes Study Short Form-36 (SF-36), a commonly used generic scale. Ware and Sherbourne designed the SF-36 in 1992 (8), and a Turkish reliability and validity assessment was conducted in 1999 (9). The SF-36 is a self-report scale that covers eight dimensions

of health using 36 items. These categories include physical functioning, social functioning, role difficulties (physical and emotional), mental health, vitality, pain, and overall perception of health. The scale measures health on a scale of 0 to 100, with a higher score indicating better health. Demiral et al. (10) defined SF-36 community norm values for Turkish society in 2006.

### Statistical Analysis

The study's demographic data were represented as a percentage or as a number. Categorical variables were compared using the chi-square or Fisher-Exact test, and numerical variables using the Mann-Whitney U test, a non-parametric test for two-group comparisons, or the Kruskal-Wallis test for three-group comparisons. The t-test was used to compare patients on characteristics such as gender, education level, economic status, and immunoglobulin forms used. The single value t-test was used to compare the patients' QoL scale scores to community norm values. The statistical analysis was carried out using the SPSS 21.0, and the graphics were created using the Prism 5.0 program.

## Results

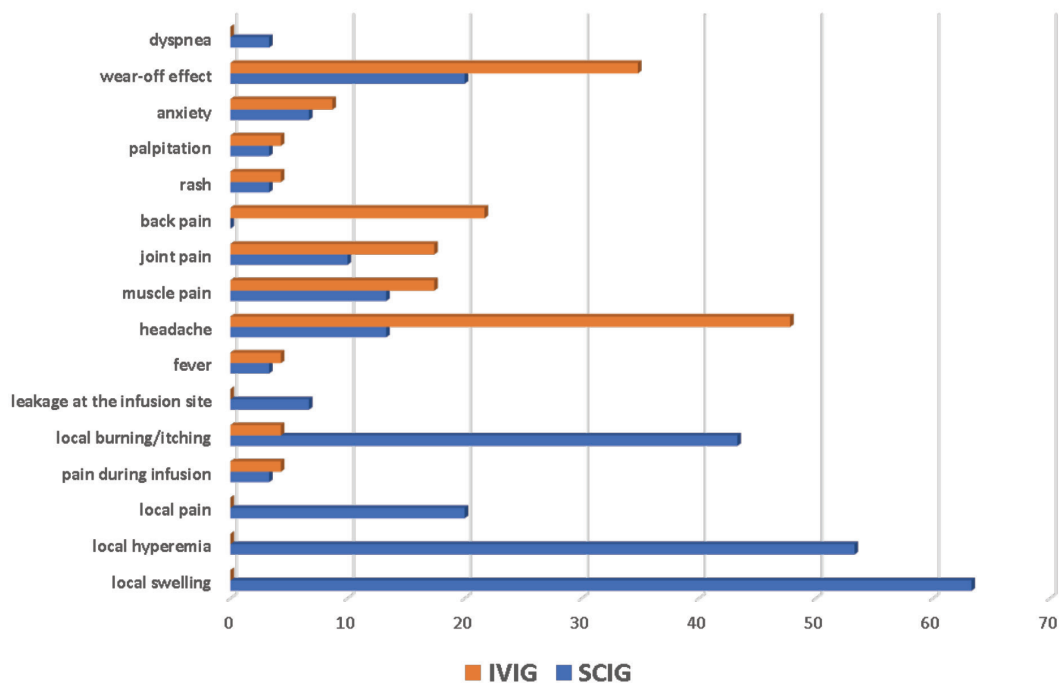
### Socio-demographic and Clinical Characteristics

The research enrolled 53 individuals with a median age of 32 years (IQR: 24-45). Thirty-three patients (62.2%) were female. There were 23 patients using IVIG, 21 receiving SCIG,

and 9 using facilitated SCIG (fSCIG). Because the fSCIG group had a limited number of patients, analyzes were conducted by combining the SCIG and fSCIG groups. Table 1 summarizes the socio-demographic and clinical characteristics of the patients. In groups receiving SCIG and IVIG, the distribution of gender, diagnosis, BMI, education level, and economic status was similar.

In terms of side effects during immunoglobulin replacement therapy (IgRT), there was no significant difference between the SCIG and IVIG groups. No side effects were reported by 35.8% of individuals. Figure 1 presents IgRT-related side effects in detail. Local side effects such as swelling (63.3%), hyperemia (53.3%), and burning/itching (43.3%) were the most often reported in the SCIG group. The most frequently reported side effects in the IVIG group were headache (47.8%), wear-off effect (34.8%), and back pain (21.7%). There was no risk factor identified in the logistic regression analysis for the emergence of adverse effects in patients receiving IgRT.

The patients' level of satisfaction with the immunoglobulin form they used was assessed using a visual analogue scale ranging from 0 to 10. The SCIG group had a median score of 9 (8-10), whereas the IVIG group had a median score of 8 (7-9), with no statistically significant difference in scores between the groups. The patients were questioned if the immunoglobulin form they used was their own preference or a doctor's suggestion. The proportion of patients who preferred the SCIG form was 36.7%; the rate for those who preferred the IVIG form was 17.4 %; the difference was not statistically significant



**Figure 1:** Distribution of adverse events reported by patients in the IVIG and SCIG groups

SCIG: Subcutaneous immunoglobulin, IVIG: intravenous immunoglobulin

(Table 2). The reasons why patients preferred the immunoglobulin forms they utilize are summarized in Figure 2. The most often stated reason for selecting the SCIG form is a reduction in the frequency of hospital visits and independence and autonomy; the most commonly quoted reason for choosing the IVIG form is a reduction in infections, less local side effects.

### Assessment of Health Status

According to the EQ-5D results, 79.2% of the patients reported no problems in mobility, 98.1% in self-care, 73.5% in usual daily activities, 62.2% in pain/discomfort, 62.2% in anxiety/depression. There was no difference in areas of difficulty between the IVIG and SCIG groups. Anxiety/depression was the most problematic area to deal with. Table 3 displays the distribution of EQ-5D answers. There was no significant differences in mean or median values for the EQ-5D health index or VAS score between the SCIG and IVIG groups. The EQ-5D health index score for the entire patient group was  $0.88 \pm 0.14$ , which was similar to the Turkish population norm values ( $0.8 \pm 0.1$ ).

### Assessment of Quality of Life

Figure 3 illustrates the SF-36 scale scores of patients in the SCIG and IVIG groups and healthy Turkish population. Compared to healthy Turkish population norm scores, patients' median scores were significantly lower ( $p < 0.005$ ) in all categories (except for mental health). However, when the IVIG and SCIG groups were compared with Turkish norm values individually, the SCIG group median scores were found to be similar to the healthy population in the categories of physical functioning, physical role difficulty, emotional role difficulty, and vitality ( $p = 0.059 - 0.319$ ). Patients received the highest score in the physical functionality category, but the lowest score in the overall perception of health. The groups were compared to one another and to the normative standards of Turkish society. The SCIG group's median scores for emotional role difficulties ( $p = 0.037$ ), and social functioning ( $p = 0.006$ ) were higher than those in the IVIG group.

### Discussion

QoL and health status in PIDs have previously received little attention in our country. In this study, we analyzed the

**Table 1: Demographical characteristics of the patients**

	Total (n=53)	SCIG (n=30)	IVIG (n=23)	P
<b>Male/female</b>	20/33	11/19	9/14	0.854
<b>BMI, n (%)</b>				
Underweight	7 (13.2)	5 (16.7)	2 (8.7)	0.069
Normal	32 (60.4)	20 (66.7)	12 (52.2)	
Overweight	10 (18.9)	2 (6.7)	8 (34.8)	
Obese	4 (7.5)	3 (10)	1 (4.3)	
<b>Diagnosis, n (%)</b>				
CID	3 (5.7)	-	3 (13)	0.092
CVID	39 (73.9)	22 (73.3)	17 (73.9)	
XLA	2 (3.8)	2 (6.7)	-	
Hyper IgM	4 (7.5)	4 (13.3)	-	
Others	5 (9.4)	2 (6.7)	3 (13)	
<b>Education level n (%)</b>				
Primary	5 (9.4)	3 (10)	2 (8.7)	0.323
Secondary	4 (7.5)	2 (6.7)	2 (8.7)	
High school	16 (30.2)	12 (40)	4 (17.4)	
University	28 (52.8)	13 (43.3)	15 (65.2)	
<b>Economic status, n (%)</b>				
Low income	12 (22.6)	9 (30)	3 (13)	0.066
Middle income	32 (60.4)	14 (46.7)	18 (78)	
High income	9 (17)	7 (23.3)	2 (8.7)	
<b>Side effects during</b>				
IgRT, n (%)	34 (64.2)	20 (66.7)	14 (60.9)	0.663

BMI: Body mass index, CID: Combined immunodeficiency, CVID: Common variable immunodeficiency, IgRT: Immunoglobulin replacement therapy, IVIG: Intravenous immunoglobulin, SCIG: Subcutaneous immunoglobulin, XLA: X linked agammaglobulinemia

QoL of patients diagnosed with PID and treated with various immunoglobulin replacement approaches. When compared to the healthy Turkish population, the QoL was found to be worse in PID patients under IGRT. The HRQoL in the SCIG group was better than in the IVIG group and comparable to the healthy population.

Immunoglobulin replacement therapy, regardless of the route of administration, improves survival and mortality in patients with PID (11). This is further confirmed by our study's

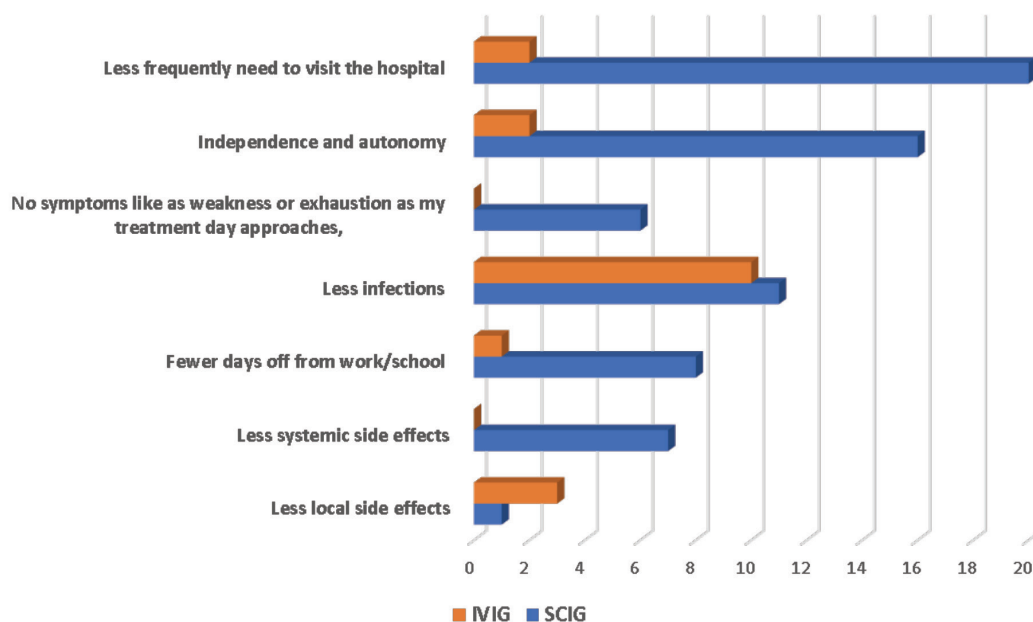
high treatment satisfaction scores for both the SCIG and IVIG groups. The patients had a variety of mild or moderate side effects during their IgRT therapy. However there was no evidence that these side effects had a negative impact on their treatment satisfaction. Treatment related local side effects were noticed more frequently in the SCIG group than in the IVIG group, as expected; headache, wear off effect, and back pain were observed more frequently in the IVIG group. There were no risk factors identified that may have predicted the occurrence of side effects.

**Table 2: Treatment selection and satisfaction of patients with their treatment method**

	Total	SCIG		IVIG		p	
	n	%	n	%	n		%
Doctor's advice	38	71.7	19	63.3	19	82.6	0.123
Patient's choice	15	28.3	11	36.7	4	17.4	
Satisfaction level with the Ig form	9 (8-10)	9 (8-10)		8 (7-9)		0.052	

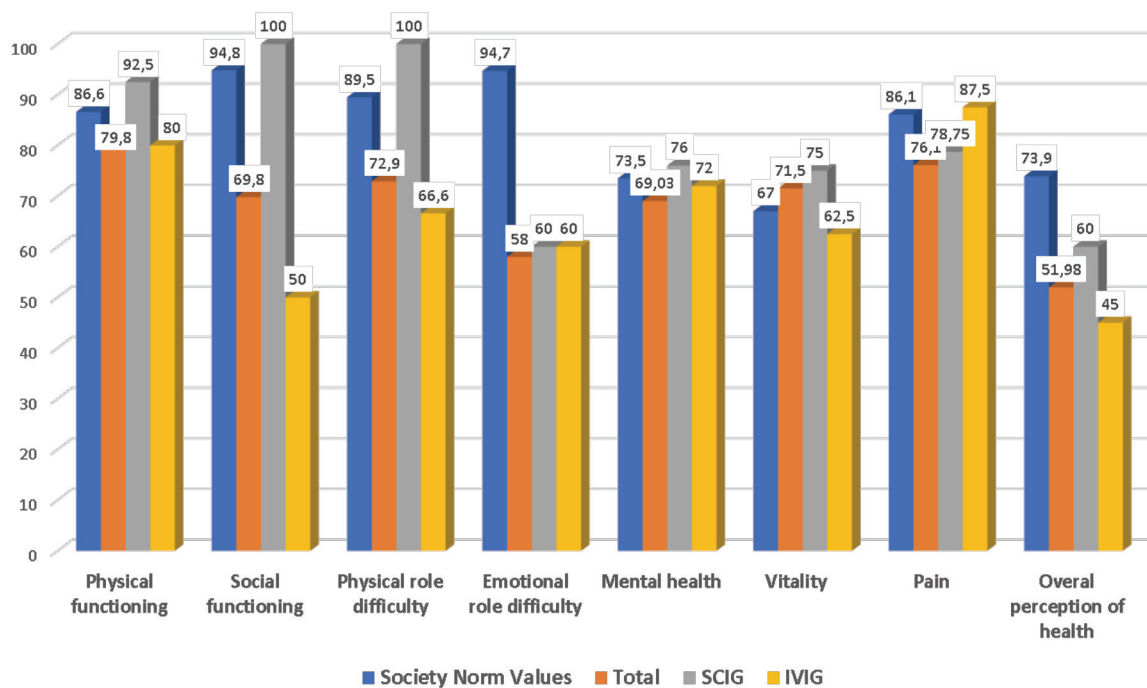
**Table 3: Distribution of EQ-5D answers in SCIG and IVIG groups**

	SCIG			IVIG			P
	No problem	Some problems	Extreme problems	No problem	Some problems	Extreme problems	
Mobility	26 (86.7%)	4 (13.3%)		16 (69.6%)	7 (30.4%)		0.128
Self-care	29 (96.7%)	1 (3.3%)		23 (100%)			0.283
Usual daily activities	24 (80%)	6(20%)		15 (65.2%)	8 (34.8%)		0.226
Pain/Discomfort	20 (66.7%)	10 (33.3%)		13 (56.5%)	10 (43.5%)		0.45
Anxiety/Depression	21 (70%)	9 (30%)		12 (5.2%)	9 (39.1%)	2 (8.7%)	0.166
EQ-VAS score median (IQR)	87.5 (70-100)			70 (60-90)			0.052
EQ-VAS score mean±SD	82.1±16.7			73.26±16.62			0.062
EQ-5D health index mean±SD	0.91±0.10			0.84±0.18			0.074



**Figure 2: Reasons for patient preference and satisfaction in the IVIG and SCIG groups**

SCIG: Subcutaneous immunoglobulin, IVIG: Intravenous immunoglobulin



**Figure 3:** SF-36 scores of patients in the whole patient group, IVIG and SCIG groups, and healthy Turkish population norms

SF-36: Short Form-36, SCIG: Subcutaneous immunoglobulin, IVIG: Intravenous immunoglobulin

The EQ-5D scale was used as a measure to assess QoL and health status. Health status evaluation, health index, and VAS scores of patients were found to be comparable to those of the general Turkish population. The EQ-5D scale revealed that the patients experienced difficulties, particularly in the areas of anxiety and depression. In a study conducted in patients with CVID, the researchers discovered that fatigue, anxiety, and social involvement were the most crucial features impacting the QoL of the participants (12). EO-VAS and EQ-5D health index scores were higher in the SCIG group than in the IVIG group, however it did not reach statistical significance.

In the assessment of HRQoL in PID patients, combining general and disease-specific measurements is an effective strategy (5). Therefore we also used the SF-36 to evaluate HRQoL. HRQoL in the SCIG group was shown to be comparable to that of the healthy population in our study. Previous research found that switching from IVIG to SCIG enhanced HRQoL in children and their parents (13,14).

While factors such as delayed diagnosis, other chronic comorbidities, stress, unemployment, recurrent infectious episodes, and chronic lung disease have a negative impact on QoL in PIDs, factors such as home treatment, independence, treatment comfort, and convenience of treatment have a positive impact (5). The proportion of patients who chose SCIG therapy as their treatment of choice was higher in our study;

the most often cited reasons were the desire to have fewer hospital visits, independence and autonomy.

When compared to the healthy population, patients with PID scored lower in most categories on the HRQoL assessment. The patients' HRQoL was shown to be affected, particularly in the area of overall health perception, emotional role difficulty and mental health. An Italian research analyzing individuals with CVID discovered that their health condition was worse than that of normal subjects. Overall, the Role-Physical and General Health measures were associated with worse clinical status and the duration of the disease had no effect on health status (15).

Patients with primary antibody deficiency were investigated in a research from Iran. They discovered that patients had considerably lower scores on several mental and physical components, and that patients with longer follow-up periods had greater mental component scores but continued to have poor physical component scores. There was no significant correlation between sex, age, and disease types with scores similar with our findings (16).

In a research published in 2016 that analyzed the QoL in patients with primary antibody deficiency before and after IgRT, 17 adult and 8 pediatric patients were included in the study. Improvements were observed in physical role difficulties as well as in overall perception of health and social functioning following IgRT (11). In our patient cohort, however, there was no



pre-treatment evaluation, and the greatest scores were achieved in the categories of physical functioning, pain, and physical role difficulties during IgRT. Remarkably, patients using SCIG achieved scores comparable to the healthy population in many areas. Indeed, the scores for social functioning and physical role difficulties were full points and even higher than those for the healthy group.

HRQoL in PID patients was compared with normal controls and patients with other chronic diseases in a review of the published literature. The articles included standardized instruments to measure HRQoL and the results emphasized the influence of treatment administration on patient satisfaction. HRQoL is significantly affected by the route of IgRT for patients with PID (5).

## Conclusion

Considering that patients getting SCIG therapy have a comparable QoL as the general population, using SCIG in suitable and selected patients may increase the QoL by allowing the patients being more independent. To improve the patient's well-being and reduce the burden of the disease on everyday life, it is necessary to further analyze the factors that influence HRQoL. The patients encountered problems, notably with anxiety and depression. Health-related quality-of-life assessments on patients with PIDs should be conducted on a regular basis to assure that they are receiving proper psychological care, according to our findings. Identifying screening and supportive treatment options for patients with PID will enhance their QoL and their emotional, physical, and social well-being, as well as their overall health.

## Acknowledgments

We thank our nurses Meliha Erol and Feride Özkan for their invaluable support and care for patients with PID.

## Ethics

**Ethics Committee Approval:** This study was approved by the Ethics Committee of Hacettepe University Faculty of Medicine (GO-21/1238).

**Informed Consent:** Informed consent was taken from all patients and/or their parents as well.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

## Authorship Contributions

Design: S.E., I.T., Data Collection or Processing: S.E., H.N.B., A.A., Analysis or Interpretation: S.E., A.A., Literature Search: S.E., D.Ç., I.T., Writing: S.E., I.T., H.N.B., A.A., D.Ç.

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

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

## References

- Osterfeld E. Aristotle on the good life and quality of life. In: Nordenfelt L (ed.), *Concepts and Measurement of Quality of Life in Health Care*. Amsterdam: Kluwer.; 1994. s. 19-34.
- Hellström Y, Hallberg IR. Perspectives of elderly people receiving home help on health, care and quality of life. *Health Soc Care Community*. 2001;9:61-71.
- Bousfiha A, Jeddane L, Picard C, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update of the IUIS Phenotypical Classification. *J Clin Immunol*. 2020;40:66-81.
- Aghamohammadi A, Montazeri A, Abolhassani H, et al. Health-related quality of life in primary antibody deficiency. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2011;10:47-51.
- Jiang F, Torgerson TR, Ayars AG. Health-related quality of life in patients with primary immunodeficiency disease. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2015;11:27.
- EuroQol Group. EuroQol--a new facility for the measurement of health-related quality of life. *Health Policy*. 1990;16:199-208.
- Eser E, Dinç G, Cambaz S, et al. EURO-QoL (EQ-5D) indeksinin toplum standartları ve psikometrik özellikleri: Manisa kent toplumu örnekleme. 2. Sağlıkta Yaşam Kalitesi Kongresi Bildiri Özetleri Kitabı Meta Basımevi.; İzmir: 2007. s. 78.
- Ware JE Jr, Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Med Care*. 1992;30:473-483.
- Koçyiğit H, Aydemir Ö, Ölmez N, et al. Kısa Form-36 (KF- 36)'nın Türkçe Versiyonunun Güvenilirliği ve Geçerliliği. *İlaç ve Tedavi Dergisi*. 1999;12:102-106.
- Demiral Y, Ergor G, Unal B, et al. Normative data and discriminative properties of short form 36 (SF-36) in Turkish urban population. *BMC Public Health*. 2006;6:247.
- Routes J, Costa-Carvalho BT, Grimbacher B, et al. Health-Related Quality of Life and Health Resource Utilization in Patients with Primary Immunodeficiency Disease Prior to and Following 12 Months of Immunoglobulin G Treatment. *J Clin Immunol*. 2016;36:450-461.
- Zhang S, Kline M, Fuleihan RL, et al. PROMIS-29 survey confirms major impact of fatigue on health-related quality of life in common variable immunodeficiency. *Immunol Res*. 2020;68:379-388.
- Lingman-Framme J, Fasth A. Subcutaneous immunoglobulin for primary and secondary immunodeficiencies: an evidence-based review. *Drugs*. 2013;73:1307-19.
- Abrahamsen TG, Sandersen H, Bustnes A. Home therapy with subcutaneous immunoglobulin infusions in children with congenital immunodeficiencies. *Pediatrics*. 1996;98:1127-31.
- Quinti I, Di Pietro C, Martini H, et al. Health related quality of life in common variable immunodeficiency. *Yonsei Med J*. 2012;53:603-10.
- Ataenia B, Montazeri A, Tavakol M, et al. Measurement of Health-Related Quality of Life in Primary Antibody-Deficient Patients. *Immunol Invest*. 2017;46:329-340.

# Evaluation of HLA Class II Alleles in Cases with Chronic Spontaneous Urticaria

## Kronik Spontan Ürtikerli Olgularda HLA Klas II Alellerinin Değerlendirilmesi

Elif Demirci Saadet<sup>1</sup>, Ayşe Boyvat<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Private Physician, Ankara, Turkey

<sup>2</sup>Ankara University Faculty of Medicine, Department of Dermatology, Ankara, Turkey

### Abstract

**Objectives:** Autoantibodies against high-affinity IgE receptor or IgE on the surface of mast cells and basophils are held responsible for etiopathogenesis in some cases with chronic spontaneous urticaria. Factors causing the development of autoimmunity are unknown. Genetic factors are known to play a role in autoimmunity and human leukocyte antigen (HLA) alleles are associated with many autoimmune diseases. Our study aimed to investigate the frequency of HLA class II alleles in patients with chronic spontaneous urticaria.

**Materials and Methods:** In this cross-sectional study, HLA class II alleles were evaluated in the 80 cases with chronic spontaneous urticaria and in the control group consisting of 100 renal transplant donors. The case group was divided into subgroups by applying autologous serum skin test (ASST). HLA class II alleles were determined in chronic spontaneous urticaria cases with positive and negative ASST and the control group by molecular analysis method (Olerup SSP DQ-DR Combi tray, Genovision, Vienna, Austria).

**Results:** ASST was found positive in 57.5% of the patients. The frequency of HLA DRB1\*04 and HLA DQB1\*08 alleles was found to be significantly higher in patients with chronic spontaneous urticaria compared to the control group. In contrast, the frequency of HLA DRB1\*07 and HLA DQB1\*09 alleles was significantly lower ( $p<0.05$ ). When the ASST positive and negative case groups and the control group were compared, HLA DRB1\*04 and HLA DQB1\*08 alleles were higher in the ASST positive patient group ( $p<0.05$ ). In the ASST negative patient group, HLA DRB1\*01 and HLA DRB1\*07 alleles were found in low frequency ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** The fact that there is a significantly higher frequency of HLA DRB1\*04 and DQB1\*08 alleles in cases with positive ASST and these alleles do not differ significantly from the control group in cases with negative ASST support the idea that autoimmune mechanisms are responsible for pathogenesis in some of the patients.

**Key Words:** Genetic Predisposition, HLA Class II Alleles, Chronic Spontaneous Urticaria, Autologous Serum Skin Test, Autoimmunity

### Öz

**Amaç:** Kronik spontan ürtikerli olguların bir kısmında etiopatogenezden mast hücreleri ve bazofillerin yüzeyindeki yüksek afiniteli IgE reseptörüne veya IgE'ye karşı oluşan otoantikörler sorumlu tutulmaktadır. Otoimmünitenin gelişmesine neden olan faktörler bilinmemektedir. Genetik faktörlerin otoimmünitede rol oynadığı bilinmektedir ve insan lökosit antijeni (HLA) alellerinin birçok otoimmün hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda kronik spontan ürtikerli hastalarda HLA klas II alellerinin sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Kesitsel tipteki bu çalışmada, 80 kronik spontan ürtikerli olguda ve 100 renal transplant donöründen oluşan kontrol grubunda HLA klas II alelleri değerlendirildi. Olgu grubu otolog serum deri testi (OSDT) uygulanarak alt gruplara ayrıldı. HLA klas II alelleri, OSDT testi pozitif ve negatif olan kronik spontan ürtiker olgularında ve kontrol grubunda moleküler analiz yöntemiyle (Olerup SSP DQ-DR Combi tray, Genovision, Viyana, Avusturya) belirlendi.

**Bulgular:** OSDT hastaların %57,5'inde pozitif bulundu. Kronik spontan ürtikerli hastalarda HLA DRB1\*04 ve HLA DQB1\*08 alellerinin sıklığı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek tespit edildi. HLA DRB1\*07 ve HLA DQB1\*09 alellerinin sıklığı ise anlamlı derecede daha düşüktü ( $p<0,05$ ).

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Elif Demirci Saadet

Private Physician, Ankara, Turkey

Phone: +90 312 292 92 92 E-mail: demircisaadetelif@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-7449-7951

Received/Geliş Tarihi: 20.02.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 19.12.2021

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.

All content are under CC BY-NC-ND license.



OSDT pozitif ve negatif olgu grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; HLA DRB1\*04 ve HLA DQB1\*08 alelleri OSDT pozitif hasta grubunda daha sık bulundu ( $p<0,05$ ). OSDT negatif hasta grubunda ise HLA DRB1\*01 ve HLA DRB1\*07 alelleri düşük sıklıkta saptandı ( $p<0,05$ ).

**Sonuç:** OSDT pozitif olan olgularda HLA DRB1\*04 ve DQB1\*08 alellerinin anlamlı derecede daha sık görülmesi ve bu alellerin OSDT negatif olan olgularda kontrol grubundan anlamlı bir farklılık göstermemesi, hastaların bir kısmında patogeneze otoimmün mekanizmaların sorumlu olduğu fikrini desteklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Genetik Yatkınlık, HLA Klas II Alelleri, Kronik Spontan Ürtiker, Otolog Serum Deri Testi, Otoimmünite

## Introduction

Urticaria is an itchy disease characterized by erythematous, edematous papules and plaques that develop due to the activation of cutaneous mast cells and the release of histamine and various mast cell mediators; angioedema occurs as a result of temporary edema of the deep dermis, subcutaneous or submucosal tissues (1,2).

According to the disease duration, urticaria is defined as acute urticaria if it lasts for less than six weeks and chronic urticaria if it presents for more than six weeks (1-3).

Chronic urticaria is currently divided into two groups as chronic spontaneous urticaria and inducible urticaria (2,3). The term chronic spontaneous urticaria (previously called chronic idiopathic urticaria) is used for chronic urticaria cases other than urticarial vasculitis, physical urticaria and some diseases associated with urticaria (2-5).

While acute urticaria may develop due to foods, drugs, and infections, the etiological factor cannot be determined in approximately 55-70% of chronic spontaneous urticaria patients (2,3).

In 1986, Grattan et al. (6) showed that erythema and edema response developed with intradermal injection of autologous serum in 60% of the cases with chronic idiopathic urticaria and that serum of these cases induced histamine release from basophils taken from healthy individuals.

This finding was called autologous serum skin test (ASST). In 30-50% of the ASST positive cases, it has been determined that there are IgG antibodies against IgE or the alpha subunit of high-affinity IgE receptors ( $Fc\epsilon R1\alpha$ ) found in mast cells and basophils (7). Currently, ASST is used in screening functional antibodies in chronic spontaneous urticaria (3,8). The mechanisms of the development of autoantibodies against  $Fc\epsilon R1\alpha$  and IgE have not yet been revealed. Many autoimmune diseases are associated with human leukocyte antigen (HLA) class II antigens (9). Our study aimed to evaluate the HLA class II antigens in patients with chronic spontaneous urticaria who were ASST positive and negative.

## Materials and Methods

A total of 80 cases applied to Ankara University Faculty of Medicine, Department of Dermatology were included in

our study. According to the detailed anamnesis, clinical and laboratory findings, the cases had been diagnosed with chronic spontaneous urticaria. ASST was applied to the patients, and the cases were divided into two groups as ASST positive and negative. The control group consisted of 100 unrelated healthy people who were kidney transplant donors. Frequency distributions at HLA DRB1 and DQB1 loci in the control group did not deviate from Hardy-Weinberg equilibrium.

HLA class II alleles were investigated in 80 patients with chronic spontaneous urticaria and the control group at Ankara University Faculty of Medicine, Immunology Laboratory.

### Autologous Serum Skin Test

ASST was administered while the patients were active and after their antihistaminic treatment was discontinued for three days. It was confirmed that the patients had not received any immunosuppressive therapy or systemic steroid therapy for at least two months. The separated 0.05 mL serum of patients was injected intradermally in the flexor aspect of the forearm. If the erythema and edema response were 1.5 mm and above compared to the negative control, the test was considered positive (6,10).

### Determination of HLA Class II Subgroups

DNA was prepared from blood anticoagulated with ethylenediamine tetraacetic acid obtained from patients and control groups. Puregene DNA isolation kit (Gentra, USA) was used for genomic DNA extraction. Polymerase chain reaction (PCR) (Olerup SSP DQ-DR Combi tray, Genovision, Vienna, Austria) using sequence-specific polymers for each sample was used to identify all the alleles present MHC class II type DRB1 and DQB1 loci. After PCR amplification, the content of each reaction was electrophoresed in 2% gel agar containing 0.5  $\mu$ L/mL ethidium bromide. It was then imaged under ultraviolet light. All known alleles at the HLA Class II DRB1 and DQB1 loci were detected.

### Statistical Analysis

All statistical analysis were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 11.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA.) HLA-DRB1 and DQB1 allelic frequencies were obtained by direct counting. The distribution differences of HLA class II alleles between the cases with chronic spontaneous urticaria and the control group were evaluated

using chi-square and Fisher's exact tests. ASST positive case group, negative case group and control group were compared among themselves regarding the frequency of HLA class II alleles. Statistical significance (p-value) was calculated for each HLA allele. If the p value was less than 0.05, the difference was considered significant. The odds ratio and 95% confidence interval were calculated to determine the risk of HLA alleles.

## Results

In our study, 60 of 80 cases were female (75%) and 20 were male (25%). ASST was positive in 46 (57.5%) of 80 cases and ASST was negative in 34 (42.5%).

When ASST positive and negative case groups were compared, the distribution between genders was not statistically different ( $p=0.8$ ).

The mean age was  $44.1 \pm 11.3$  years. The mean age of the ASST positive patients was  $46.5 \pm 10.9$  and the mean age of the ASST negative case group was  $40.8 \pm 11.1$  years. The difference in mean age between the two groups was statistically significant ( $p=0.025$ ).

The mean age of disease onset was  $40.7 \pm 11.3$  years and the duration of disease was  $3.3 \pm 4.1$  years. No statistically significant difference was found between the ASST positive and negative

patient groups in terms of age of onset and disease duration ( $p=0.058$ ,  $p=0.5$ ).

The angioedema was found in 61 (76.3%) of 80 cases. When evaluated according to the case groups, angioedema was found in 43 (93.5%) of 46 ASST positive cases and 18 (52.9%) of 34 ASST negative cases. The incidence of angioedema was statistically significantly higher in cases with positive ASST than in cases with negative ASST ( $p<0.01$ ).

When the patients with chronic spontaneous urticaria and the control group were compared according to the results of HLA-class II alleles, HLA-DRB1\*04 and HLA-DQB1\*08 alleles were higher in chronic spontaneous urticaria, and HLA-DRB1\*07 and HLA-DQB1\*09 alleles were lower (Table 1).

When the distribution of HLA class II alleles between the ASST positive subgroup and the control group was evaluated, HLA-DRB1\*04 and HLA-DQB1\*08 alleles were higher in ASST positive case group (Table 2).

According to the comparison of the ASST negative subgroup and the control group according to the distribution of HLA class II alleles, HLA-DRB1\*01 and DRB1\*07 alleles were lower in ASST negative case group (Table 3).

When ASST positive and ASST negative case groups were evaluated according to the HLA class II alleles distribution, HLA-

**Table 1: Distribution of HLA class II alleles in patients with chronic spontaneous urticaria and control group**

HLA alleles	Total cases n=80 (%)	Control n=100 (%)	P	Odds ratio	95% CI
DRB1*01	4 (5)	14 (14)	0.046	3.09	0.9-9.8
<b>DRB1*04</b>	<b>30 (37.5)</b>	<b>23 (23)</b>	<b>0.034</b>	<b>2.0</b>	<b>1.04-3.8</b>
<b>DRB1*07</b>	<b>9 (11.3)</b>	<b>24 (24)</b>	<b>0.028</b>	<b>2.49</b>	<b>1.08-5.7</b>
DRB1*08	5 (6.3)	3 (3)	0.469	0.46	0.1-2.0
DRB1*09	1 (1.3)	1 (1)	1.000	0.79	0.0-12.9
DRB1*10	6 (7.5)	6 (6)	0.688	0.78	0.2-2.5
DRB1*11	29 (36.3)	37 (37)	0.917	1.03	0.5-1.9
DRB1*12	0 (0)	3 (3)	0.255	1.03	0.9-1.06
DRB1*13	19 (23.8)	15 (15)	0.136	0.56	0.2-1.2
DRB1*14	13 (16.3)	11 (11)	0.303	0.63	0.2-1.5
DRB1*15	13 (16.3)	24 (24)	0.201	1.62	0.7-3.4
DRB1*16	10 (12.5)	10 (10)	0.596	0.77	0.3-1.9
DRB1*17	11 (13.8)	13 (13)	0.883	0.93	0.3-2.2
DQB1*02	18 (22.5)	32 (32)	0.157	1.62	0.8-3.1
DQB1*04	7 (8.8)	5 (5)	0.316	0.54	0.1-1.8
DQB1*05	30 (37.5)	40 (40)	0.732	1.11	0.6-2.0
DQB1*06	28 (35)	32 (32)	0.671	0.87	0.4-1.6
DQB1*07	29 (36.3)	41 (41)	0.516	1.22	0.6-2.2
<b>DQB1*08</b>	<b>22 (27.5)</b>	<b>12 (12)</b>	<b>0.008</b>	<b>2.77</b>	<b>1.2-6.0</b>
<b>DQB1*09</b>	<b>1 (1.3)</b>	<b>10 (10)</b>	<b>0.024</b>	<b>8.77</b>	<b>1.0-70.1</b>

CI: Confidence interval, HLA: Human leukocyte antigen

DRB1\*04 and HLA-DQB1\*08 alleles were found more frequently in ASST positive cases, but this difference was not statistically significant (Table 4).

## Discussion

Some patients with chronic spontaneous urticaria have autoreactivity/mast cell activating autoantibodies (2). The ASST is positive in 50-60% of cases with chronic spontaneous urticaria (11). In our study, ASST was found positive in 57.5% of the cases. Studies have shown that patients with chronic urticaria who are positive for ASST have a more severe urticaria course and that angioedema is more common in these cases (11,12). Our study supported these findings.

In the studies conducted on the etiopathogenesis of chronic spontaneous urticaria, The higher prevalence of autoimmune thyroiditis in cases with chronic spontaneous urticaria than the normal population and the higher frequency of autoimmune diseases such as vitiligo, pernicious anemia, insulin-dependent diabetes, and rheumatoid arthritis in chronic urticaria patients with functional autoantibodies support autoimmunity (13,14).

The mechanisms that trigger the development of antibodies in autoimmune urticaria are not yet known. On the other hand, it is known that genetic predisposition is one of the factors that

cause autoimmunity. Significantly, the relationship between HLA alleles and various autoimmune diseases has been shown in many studies. Although the relationship between HLA alleles and autoimmunity is not fully understood, there are some hypotheses on this issue (15).

van Neste and Bouillenne (16) investigated the HLA class I allele frequency for the first time in 27 patients with chronic urticaria in 1978 but could not find a difference with the control group.

In other studies investigating HLA class I alleles, Bozek et al. (17) found that HLA-A33 was higher in the control group. Aydoğan et al. (18) found that HLA-A24 antigen was higher in the control group and could be protective in chronic urticaria. Doğan et al. (19) in Turkey found the HLA-A allele was high in the control group. They did not detect any statistical difference in HLA-A subgroups. In the studies on HLA B, Bozek et al. (17) and Coban et al. (20) found the HLA-B44 was higher in the patient group and Aydoğan et al. (18) found a higher rate of HLA-Bw4 antigen in the patient group.

When studies on HLA class II alleles were examined, the frequency of HLA class II alleles was first investigated by O'Donnell et al. (21). ASST was applied to the cases and histamine release activity with basophils taken from healthy donors of each case's serum were evaluated. In this study, a significant

**Table 2: Distribution of HLA class II alleles in ASST positive patients and control group**

HLA alleles	ASST positive n=46 (%)	Control n=100 (%)	P	Odds ratio	95% CI
DRB1*01	4 (8.7)	14 (14)	0.365	1.70	0.5-5.5
<b>DRB1*04</b>	<b>20 (43.5)</b>	<b>23 (23)</b>	<b>0.012</b>	<b>2.57</b>	<b>1.2-5.4</b>
DRB1*07	7 (15.2)	24 (24)	0.228	1.75	0.6-4.4
DRB1*08	1 (2.2)	3 (3)	1.000	1.39	0.1-13.7
DRB1*09	1 (2.2)	1 (1)	0.532	0.45	0.02-7.4
DRB1*10	1 (2.2)	6 (6)	0.433	2.87	0.3-24.5
DRB1*11	15 (32.6)	37 (37)	0.607	1.21	0.5-2.5
DRB1*12	0 (0)	3 (3)	0.552	1.03	0.99-1.06
DRB1*13	10 (21.7)	15 (15)	0.315	0.63	0.2-1.5
DRB1*14	9 (19.6)	11 (11)	0.162	0.50	0.1-1.3
DRB1*15	9 (19.6)	24 (24)	0.552	1.29	0.5-3
DRB1*16	4 (8.7)	10 (10)	1.000	1.16	0.3-3.9
DRB1*17	5 (10.9)	13 (13)	0.716	1.22	0.4-3.6
DQB1*02	10 (21.7)	32 (32)	0.203	1.69	0.7-3.8
DQB1*04	3 (6.5)	5 (5)	0.707	0.75	0.1-3.3
DQB1*05	19 (41.3)	40 (40)	0.881	0.94	0.4-1.9
DQB1*06	14 (30.4)	32 (32)	0.850	1.07	0.5-2.2
DQB1*07	15 (32.6)	41 (41)	0.333	1.43	0.6-2.9
<b>DQB1*08</b>	<b>15 (32.6)</b>	<b>12 (12)</b>	<b>0.003</b>	<b>3.54</b>	<b>1.4-8.4</b>
DQB1*09	1 (2.2)	10 (10)	0.174	5.0	0.6-40.2

HLA: Human leukocyte antigen, ASST: Autologous serum skin test, CI: Confidence interval

**Table 3: Distribution of HLA class II alleles in ASST negative patients and control group**

HLA alleles	ASST negative n=34 (%)	Control n=100 (%)	P	Odds ratio	95% CI
DRB1*01	0 (0)	14 (14)	0.021	1.16	1.0-1.2
DRB1*04	10 (29.4)	23 (23)	0.453	0.71	0.3-1.7
DRB1*07	2 (5.9)	24 (24)	0.021	5.05	1.1-22.6
DRB1*08	4 (11.8)	3 (3)	0.069	0.23	0.04-1.09
DRB1*09	0 (0)	1 (1)	1.000	1.01	0.9-1.03
DRB1*10	5 (14.7)	6 (6)	0.146	0.37	0.1-1.3
DRB1*11	14 (41.2)	37 (37)	0.665	0.83	0.3-1.8
DRB1*12	0 (0)	3 (3)	0.571	1.03	0.9-1.06
DRB1*13	9 (26.5)	15 (15)	0.132	0.49	0.1-1.2
DRB1*14	4 (11.8)	11 (11)	1.000	0.92	0.2-3.1
DRB1*15	4 (11.8)	24 (24)	0.130	2.36	0.7-7.4
DRB1*16	6 (17.6)	10 (10)	0.235	0.51	0.1-1.5
DRB1*17	6 (17.6)	13 (13)	0.571	0.69	0.2-2.0
DQB1*02	8 (23.5)	32 (32)	0.351	1.52	0.6-3.7
DQB1*04	4 (11.8)	5 (5)	0.231	0.39	0.1-1.5
DQB1*05	11 (32.4)	40 (40)	0.428	1.39	0.6-3.1
DQB1*06	14 (41.2)	32 (32)	0.330	0.67	0.3-1.4
DQB1*07	14 (41.2)	41 (41)	0.986	0.99	0.4-2.1
DQB1*08	7 (20.6)	12 (12)	0.256	0.52	0.1-1.4
DQB1*09	0 (0)	10 (10)	0.065	1.11	1.0-1.1

HLA: Human leukocyte antigen, ASST: Autologous serum skin test, CI: Confidence interval

**Table 4: Distribution of HLA class II alleles in ASST positive and ASST negative cases**

HLA alleles	ASST positive n=46 (%)	ASST negative n=34 (%)	p	Odds ratio	95% CI
DRB1*01	4 (8.7)	0 (0)	0.133	1.09	1.0-1.1
DRB1*04	20 (43.5)	10 (29.4)	0.199	0.54	0.2-1.3
DRB1*07	7 (15.2)	2 (5.9)	0.288	0.34	0.06-1.7
DRB1*08	1 (2.2)	4 (11.8)	0.157	6.0	0.6-56.3
DRB1*09	1 (2.2)	0 (0)	1.000	0.97	0.9-1.02
DRB1*10	1 (2.2)	5 (14.7)	0.078	7.75	0.8-69.8
DRB1*11	15 (32.6)	14 (41.2)	0.431	1.44	0.5-3.6
DRB1*12	0 (0)	0 (0)	-	-	-
DRB1*13	10 (21.7)	9 (26.5)	0.623	1.29	0.4-3.6
DRB1*14	9 (19.6)	4 (11.8)	0.350	0.54	0.1-1.9
DRB1*15	9 (19.6)	4 (11.8)	0.350	0.54	0.1-1.9
DRB1*16	4 (8.7)	6 (17.8)	0.310	2.25	0.5-8.7
DRB1*17	5 (10.9)	6 (17.6)	0.514	1.75	0.4-6.3
DQB1*02	10 (21.7)	8 (23.5)	0.850	1.10	0.3-3.1
DQB1*04	3 (6.5)	4 (11.8)	0.451	1.91	0.3-9.1
DQB1*05	19 (41.3)	11 (32.4)	0.414	0.68	0.2-1.7
DQB1*06	14 (30.4)	14 (41.2)	0.319	1.60	0.6-4.0
DQB1*07	15 (32.6)	14 (41.2)	0.431	1.44	0.5-3.6
DQB1*08	15 (32.6)	7 (20.6)	0.234	0.53	0.1-1.5
DQB1*09	1(2.2)	0(0)	1.000	0.97	0.9-1.02

HLA: Human leukocyte antigen, ASST: Autologous serum skin test, CI: Confidence interval

relationship was found with the HLA-DRB1\*04 and DQB1\*0302 alleles in patients with chronic idiopathic urticaria with ASST positive and *in vitro* histamine release activity. Also, HLA-DRB1\*15 and HLA-DQB1\*06 alleles were found with a lower frequency in the patient group with chronic idiopathic urticaria. It was suggested that these alleles might play a protective role against the disease (21).

A study conducted in Turkey by Oztas et al. (22) showed that HLA-DRB1\*04 was significantly higher in the chronic urticaria group. Coban et al. (20) found that HLA-DRB1\*01 and HLA-DRB1\*15 alleles were higher in the chronic urticaria group. They applied ASST to the patients; they found no difference in HLA alleles between the ASST positive and negative groups (20). Aydogan et al. (18) found that HLA-DQ1 antigen was higher in the patient group.

Chen et al. (23) found the HLA-DRB1\*12 and DRB1\*0901 alleles to be high in the patient group, while the DQB1\*05 allele was found to be low in the patient group.

Bozek et al. (17) found the HLA-DRB1\*04 allele to be high in the patient group, and this difference was found to be highly significant, especially in the OSDT positive group.

In the study conducted by Calamita et al. (24) in 2012, there was no difference between the ASST positive patient group and the control group regarding the frequency of HLA-A, HLA-B and HLA-DR alleles.

Recently, Doğan et al. (19) found no statistically significant difference in the HLA class II alleles in the patient group with chronic spontaneous urticaria and the control group.

We found that the frequency of HLA-DRB1\*04 and HLA-DQB1\*08 alleles was significantly higher in the chronic spontaneous urticaria cases than in the control group. These results supports the findings obtained from other studies (17,21,22). The fact that the frequency of HLA-DRB1\*07 and HLA-DQB1\*09 alleles was significantly lower in patients with chronic spontaneous urticaria in our study than in the control group suggests that these alleles may have protective properties for chronic spontaneous urticaria. This finding has not been detected in other studies.

When the frequency of HLA class II alleles was investigated by dividing the cases into two groups as ASST positive and negative, the frequency of HLA-DRB1\*04 and HLA-DQB1\*08 alleles was found to be statistically significantly higher in the ASST positive patient group, indicating a potential role in the etiology of autoimmunity, compared to the control group. In the ASST negative group, the frequency of HLA-DRB1\*04 and HLA-DQB1\*08 alleles did not differ significantly from the control group. These findings support O'Donnell et al. (21). Also, HLA-DRB1\*04 allele was significantly higher in the ASST positive patient group in the studies of Bozek et al. (17).

## Conclusion

The findings obtained from this study show that chronic spontaneous urticaria is a heterogeneous disease and supports that autoimmune mechanisms are responsible for the pathogenesis in some patients. Although the significant relationship detected with the HLA-DRB1\*04 allele showed that this may play a role in the pathogenesis of autoimmune urticaria, other genetic or environmental factors that cause the  $\alpha$ -chain of the Fc $\epsilon$ RI receptor to gain antigenicity should be elucidated.

## Ethics

**Ethics Committee Approval:** This manuscript is derived from the thesis conducted in 2005. For this reason, ethical committee approval is not available

**Informed Consent:** Patients were informed and consent was taken.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

## Authorship Contributions

Concept: A.B., Design: A.B., Data Collection or Processing: E.D.S., Analysis or Interpretation: E.D.S., A.B., Literature Search: E.D.S., Writing: E.D.S., A.B.

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

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

## References

1. Kozel MM, Sabroe RA. Chronic urticaria: aetiology, management and current and future treatment options. *Drugs*. 2004;64:2515-2536.
2. Zuberbier T, Aberer W, Asero R, et al. The EAACI/GA $^2$ LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria. *Allergy*. 2018;73:1393-1414.
3. Nettis E, Foti C, Ambrifi M, et al. Urticaria: recommendations from the Italian Society of Allergology, Asthma and Clinical Immunology and the Italian Society of Allergological, Occupational and Environmental Dermatology. *Clin Mol Allergy*. 2020;18:8.
4. Kaplan AP, Greaves M. Pathogenesis of chronic urticaria. *Clin Exp Allergy*. 2009;39:777-787.
5. Saini SS, Kaplan AP. Chronic Spontaneous Urticaria: The Devil's Itch. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2018;6:1097-1106.
6. Grattan CE, Wallington TB, Warin RP, et al. A serological mediator in chronic idiopathic urticaria--a clinical, immunological and histological evaluation. *Br J Dermatol*. 1986;114:583-590.
7. Greaves M. Chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;105:664-672.
8. Greaves MW, Tan KT. Chronic urticaria: recent advances. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2007;33:134-143.
9. Simmonds MJ, Gough SC. Genetic insights into disease mechanisms of autoimmunity. *Br Med Bull*. 2005;71:93-113.
10. Sabroe RA, Grattan CE, Francis DM, et al. The autologous serum skin test: a screening test for autoantibodies in chronic idiopathic urticaria. *Br J Dermatol*. 1999;140:446-452.

11. Grattan CE. Autoimmune urticaria. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2004;24:163-181.
12. Nettis E, Dambra P, D'Oronzio L, et al. Reactivity to autologous serum skin test and clinical features in chronic idiopathic urticaria. *Clin Exp Dermatol.* 2002;27:29-31.
13. Nettis E, Dambra P, D'Oronzio L, et al. Reactivity to autologous serum skin test and clinical features in chronic idiopathic urticaria. *Clin Exp Dermatol.* 2002;27:29-31.
14. Mete N, Gulbahar O, Aydin A, et al. Low B12 levels in chronic idiopathic urticaria. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2004;14:292-299.
15. Abul KA, Lichtman AH, Pober JS, editors. Self-tolerance and autoimmunity. In: *Cellular and Molecular Immunology*. Second edition, Philadelphia: WB. Saunders; 1994. s. 388-390.
16. van Neste D, Bouillenne C. HLA antigens and urticaria. *Arch Dermatol Res.* 1978;261:213-215.
17. Bozek A, Krajewska J, Filipowska B, et al. HLA status in patients with chronic spontaneous urticaria. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;153:419-423.
18. Aydogan K, Karadogan SK, Akdag I, et al. HLA class I and class II antigens in Turkish patients with chronic ordinary urticaria. *Clin Exp Dermatol.* 2006;31:424-429.
19. Doğan N, Çildağ S, Yenisey Ç, et al. The association between chronic spontaneous urticaria and HLA class I and class II antigen. *Turk J Med Sci.* 2020;50:1231-1235.
20. Coban M, Erdem T, Ozdemir S, et al. HLA class I and class II genotyping in patients with chronic urticaria. *Int Arch Allergy Immunol.* 2008;147:135-139.
21. O'Donnell BF, O'Neill CM, Francis DM, et al. Human leucocyte antigen class II associations in chronic idiopathic urticaria. *Br J Dermatol.* 1999;140:853-858.
22. Oztas P, Onder M, Gonen S, et al. Is there any relationship between human leucocyte antigen class II and chronic urticaria? (chronic urticaria and HLA class II). *Yonsei Med J.* 2004;45:392-395.
23. Chen J, Tan Z, Li J, et al. Association of HLA-DRB1, DQB1 alleles with chronic urticaria. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci.* 2005;25:354-356.
24. Calamita Z, Pelá AB, Gamberini M, et al. HLA among Brazilian patients with spontaneous chronic urticaria and positive autologous serum skin test. *An Bras Dermatol.* 2012;87:578-583.



# Is it Possible to Differentiate Community-Acquired Pneumonia from COVID-19 Pneumonia?

## Toplum Kökenli Pnömoniye COVID-19 Pnömonisinden Ayırmak Mümkün Mü?

Arif Doğan Habiloğlu<sup>1</sup>, Serkan Demircan<sup>2</sup>, Özlem Ataoğlu<sup>3</sup>, Filiz Mercan Sarıdaş<sup>4</sup>, Can Çolakoğlu<sup>5</sup>, Mehmet Yasir Pektezel<sup>6</sup>

<sup>1</sup>University of Health Sciences Turkey, Dışkapı Yıldırım Beyazıt Training and Research Hospital, Clinic of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Ankara, Turkey

<sup>2</sup>Atatürk State Hospital, Clinic of Adult Emergency, Düzce, Turkey

<sup>3</sup>Atatürk State Hospital, Clinic of Chest Diseases, Düzce, Turkey

<sup>4</sup>Atatürk State Hospital, Clinic of Internal Medicine, Düzce, Turkey

<sup>5</sup>Atatürk State Hospital, Clinic of Clinical Biochemistry, Düzce, Turkey

<sup>6</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Division of Intensive Care Medicine, Ankara, Turkey

### Abstract

**Objectives:** Coronavirus disease-2019 (COVID-19) caused a pandemic, which has been going on for about 1 year. How long the pandemic will continue remains uncertain. Determining the etiology of pneumonia is the most important point for the treatment approach. In this study, it was aimed to determine the parameters that might be useful in the differentiation of community-acquired pneumonia (CAP) from COVID-19 pneumonia.

**Materials and Methods:** CAP group consisted of 53 people who applied to the infectious diseases polyclinic and chest diseases polyclinic between 01.12.2019 and 30.01.2020 in our country, including the periods when the incidence of CAP increased and influenza peaked, and were hospitalized after being diagnosed with pneumonia. For the COVID-19 pneumonia group, 37 patients with Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 detected by polymerase chain reaction from the combined nasal throat swab and with computed tomography showing lesions consistent with COVID-19 were included.

**Results:** Age, leukocyte count, neutrophil count, monocyte count and C-reactive protein (CRP) were significantly higher in pneumonia patients in the CAP group. In receiver operating characteristic analysis, positive predictive value of age CRP monocyte count formula was 0.83 and negative predictive value was 0.75.

**Conclusion:** The age difference between the groups was used in different studies on the etiology of pneumonia. It has been thought that the detection of monocytes in the tissues in postmortem studies in COVID-19 pneumonia may be due to consumption. Higher CRP detection in CAP compared to covid pneumonia was found to be similar to the literature. Our study has shown that the formulation containing monocytes, CRP and age factors, which were found to be statistically significantly different, is suitable for use in diagnostic differentiation.

**Key Words:** Community-Acquired Pneumonia, COVID-19, Monocyte

### Öz

**Amaç:** Koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19), yaklaşık 1 yıldır devam eden bir salgına neden oldu. Salgının ne kadar süreceği belirsizliğini korumaktadır. Pnömoni etiyolojisinin belirlenmesi tedavi yaklaşımı için en önemli noktadır. Bu çalışmada toplum kökenli pnömoninin (TKP) COVID-19 pnömonisinden ayırımında faydalı olabilecek parametrelerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Ülkemizde 01.12.2019-30.01.2020 tarihleri arasında, TKP'nin insidansının arttığı ve influenzanın pik yaptığı dönemlerde enfeksiyon hastalıkları polikliniği ve göğüs hastalıkları polikliniğine başvuran ve pnömoni tanısı aldıktan sonra hastaneye yatırılan 53 kişi TKP grubunu oluşturdu. COVID-19 pnömoni grubuna, kombine nazal boğaz sürüntüsünden polimeraz zincir reaksiyonu ile pozitiflik saptanan ve bilgisayarlı tomografide COVID-19'a uyumlu lezyonları olan 37 hasta dahil edildi.

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Arif Doğan Habiloğlu

University of Health Sciences Turkey, Dışkapı Yıldırım Beyazıt Training and Research Hospital, Clinic of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Ankara, Turkey

Phone: +90 532 704 55 58 E-mail: arifhabiloglu@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-8122-8768

Received/Geliş Tarihi: 20.05.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 12.11.2021

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.

All content are under CC BY-NC-ND license.



**Bulgular:** TKP grubundaki hastalarda yaş, lökosit sayısı, nötrofil sayısı, monosit sayısı ve C-reaktif protein (CRP) anlamlı olarak daha yüksekti. İşlem Karakteristik Eğrisi analizinde, yaş CRP monosit sayısı formülünün pozitif prediktif değeri 0,83 ve negatif prediktif değeri 0,75 idi.

**Sonuç:** Gruplar arası yaş farkı, pnömoni etiyojisine yönelik farklı çalışmalarda kullanılmıştır. COVID-19 pnömonisinde postmortem çalışmalarda dokularda monosit tespit edilmesinin tüketime bağlı olabileceği düşünüldü. TKP'de COVID pnömonisine kıyasla daha yüksek CRP tespiti literatüre benzer bulunmuştur. Çalışmamız, istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu tespit edilen monosit, CRP ve yaş faktörlerini içeren formülasyonun tanısıl ayırmda kullanılmasının uygun olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Toplum Kökenli Pnömoni, COVID-19, Monosit

## Introduction

The factor that started in Wuhan city of China and caused the pandemic was defined as severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 (SARS-CoV-2) and the pneumonia caused by it was named Coronavirus disease-2019 (COVID-19) (1). There are no specific antivirals for patients and it seems impossible to predict how the pandemic will progress in the future (2,3). Community-acquired pneumonia (CAP) is often caused by *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, rhinovirus, influenza, respiratory syncytial virus, continues to be a persistent global public health problem (4,5). It can be more difficult to determine the empirical treatment to be applied in periods of pandemic, especially when the incidence of CAP is increasing (5). The mortality of COVID-19 pneumonia is up to 14.4 times higher than CAP, and timely delivery of medical treatments for SARS-CoV-2 is required to reduce mortality (6,7). Distinguishing covid-pneumonia patients from CAP subjects will limit unnecessary antibiotic use. A biomarker that differentiates COVID-19 pneumonia from CAP could be important for an early and appropriate empirical treatment algorithm. In our study we evaluated features of two different pneumonia groups in order to discover a readily available and favourable marker that differs etiologies.

## Materials and Methods

### Patients

Two groups of patients were included in study. First group (CoV) comprising patients >18 years old, diagnosed with COVID-19 pneumonia according to a positive nasal swap sample for SARS-CoV-2 virus in polymerase chain reaction and a thorax computed tomography imaging suitable for COVID-19 pneumonia, and hospitalized from date 15 April 2020 to 30 April 2020. Hospitalization was decided according to guideline provided by Turkish Republic Health Ministry which suggest hospitalization of patients >50 years, having additional comorbidity, with a pulse saturation of  $\leq 94$ , and one laboratory criteria of poor prognosis. Second group (CAP) including patients >18 years old, diagnosed with CAP according to clinical examination and imaging data, and

hospitalized from date 1 December 2019 to 30 January 2020, the time gap in which Influenza used to make a peak in our country and any COVID-19 pneumonia has not been detected yet. Hospitalization was assessed according to CURB-65 criteria which contains a score of five items, one point for each of: Confusion, urea  $>7$  mmol/L, respiratory rate  $\geq 30$ /min, low systolic ( $<90$  mm Hg) or diastolic ( $\leq 60$  mm Hg) blood pressure, age  $\geq 65$  years (8). Those who scored two points or more were admitted to the hospital. Outpatients were excluded.

All data regarding socio-demographics, admission laboratory [hemoglobin, platelet, white blood cell (WBC), lymphocyte, neutrophil, monocyte, D-dimer, ferritin, lactatedehydegenosis, C-reactive protein (CRP), alanine amino transferase, aspartate amino transferase, gamma glutamyl transferase, alkaline phosphatase, sodium, potassium, creatine, blood urea nitrogen, troponine], comorbid diseases, admission physiological values (fever, oxygen saturation, blood pressure, pulse), supplemental oxygen (O<sub>2</sub>) requirement, transferring to intensive care unit on follow-up, length of stay, and outcome was gathered retrospectively from hospital's electrical records. Our study has been approved by local ethical commission with a registration number of 2020/150. Patient consent was not obtained for our retrospective study.

### Statistical Analysis

All values were represented as mean  $\pm$  standard deviation, 95% confidence intervals (95% CI), percentages, medians with interquartile ranges as appropriate. Suitable analyzes including Mann-Whitney U/Student's t, paired t and chi-square/exact tests were appropriately used. A sample analysis to detect a group difference regarding monocyte count was calculated with a power of 0.8 and an alpha of 0.05 that showed 36 patients a group was required. A ROC analysis using area under curve (AUC), has been performed by parameters considered to provide clinical meaning, while evaluating a favourable biomarker able to distinguish patients with COVID-19 pneumonia from others, then sensitivity and specificity analysis were appropriately calculated. A p-value of  $<0.05$  was accepted as significant. All analyzes were calculated with SPSS 23 IBM® statistics program provided by Hacettepe University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey.

## Results

A total of 90 patients were evaluated. Mean age was  $52 \pm 15$  years [Female (F): 21 (57%)] in CoV group while it was  $73 \pm 15$  in [F: 24 (45%)] CAP group ( $p < 0.001$  for age,  $p = 0.248$  for gender). Comorbidities other than congestive heart failure, chronic lung and neurologic diseases did not differ between groups (Table 1). Cough as an onset symptom was much more common in group CoV than in group CAP (Table 1). When compared to group CoV, laboratory parameters related with WBCs and CRP level were higher in group CAP. Only median pulse saturation and mean heart rate (beat/min), unlike other admissional physiologic parameters, differed between groups [96 (94-98) vs. 91 (86-96),  $p < 0.001$ ];  $92 \pm 13$  vs  $103 \pm 21$ ,  $p = 0.006$ ]. No mortality difference was detected between groups.

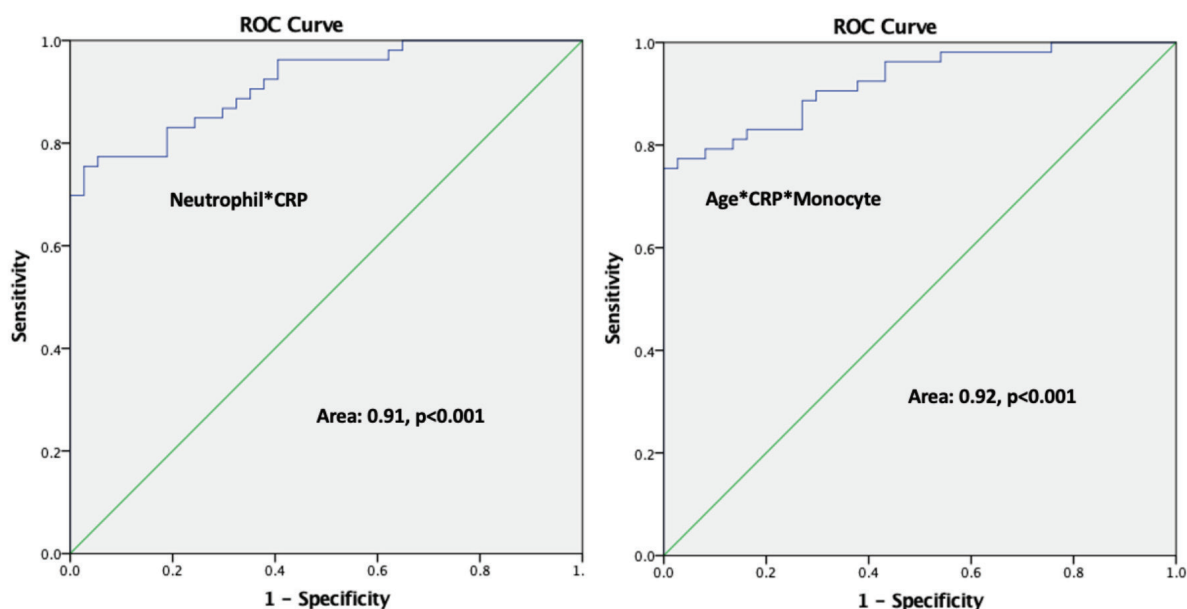
ROC analysis, with combined parameters in order to achieve a more extended AUC, revealed that an admissional neutrophil x CRP ratio to have an AUC of 0.91 ( $p < 0.001$ ) while a formula gathered age x CRP x monocyte (count) to have a that of 0.92 ( $p < 0.001$ ) (Figure 1) with a sensitivity and specificity of 0.83 (0.70-0.91) and 0.84 (0.67-0.93), respectively. The latter formula had a positive predictive value of 0.88 (0.75-0.95) and a negative predictive value of 0.75 (0.61-0.89) (Table 2). Only age x CRP x monocyte count with a cut-off value of 167.662 and having chronic obstructive lung disease were found to be an independent factor for predicting non-COVID-19 pneumonia while adjusted for age (>65 years), gender, and comorbidities [OR (95% CI): 18.5 (4.6-74.4),  $p < 0.001$ ; OR: 24.1 (2.4-246),  $p = 0.007$ , respectively] (Data not shown).

## Discussion

We have been getting involved in a period in which CAP is increasing while there is not a certain knowledge about how COVID-19 will evolve. In this study, we found that age x CRP x monocyte formula could be a reliable marker to distinguish COVID-19 pneumonia from CAP.

People in CoV group were detected to be younger than CAP group and found as statistically significant in our study which was similar to literature (9). When COVID-19 pandemic had been realized for the first time in our country, a curfew order for people older than 65 years was administered by the government. The restriction has to be taken into account, also. Especially old age condition and comorbid diseases, which were also known to be risk factors for CAP, were detected higher in CAP group (10-12). In addition to the fact that old age poses a risk for CAP, the younger age group is more likely to be in crowded environments due to working life and social life and is excluded from restrictions. For these reasons, the age difference made us think of it as a predictor, not a constraint. It is also stated in the literature that old age can be considered as diagnostic for COVID (13). Being elderly is a parameter in the PES score which is used to predict the etiology of pneumonia in the literature, and there are age-related studies in the prediction of etiology (14,15). One of the dynamics in the transmission of SARS-CoV-2 is age, and serological studies in England, Brazil, Japan and Germany estimate that the seroprevalence is highest in adults under 35 years of age (16,17).

Among the presentation symptoms, in our study, cough, fatigue, fever and myalgia were significantly common in



**Figure 1:** ROC/AUC analyzes of neutrophil x CRP (left) and age x CRP x monocyte (right) parameters, respectively

AUC: Area under curve, CRP: C-reactive protein, ROC: Receiver operating characteristic

Table 1: Comparison between COVID-19 and CAP			
	COVID pneumonia (n=37)	CAP pneumonia (n=53)	p
Age* (year)	52±15	73±15	<0.001
Gender (F), n (%)	21 (57)	24 (45)	0.284
Symptom interval** (day)	3 (2-5)	1 (1-2)	<0.001
Hb 1 <sup>st</sup> day* (g/dL)	12.9±2	12.9±2	0.885
Plt 1 <sup>st</sup> day* (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	229±62	289±128	0.005
WBC 1 <sup>st</sup> day* (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	5.4±1.5	14.8±7	<0.001
Lymphocyte 1 <sup>st</sup> day** (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	1.2 (0.9-1.7)	1.2 (0.8-1.9)	0.980
Neutrophil* (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	3.5±1.1	11.5±6.3	<0.001
Monocyte* (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0.5±0.2	1.5±1.2	<0.001
Lymphocyte %	24 (19-30)	9 (5-14)	<0.001
Neutrophil %	62 (58-72)	78 (71-83)	<0.001
Monocyte %	9 (7-11)	9 (6-12)	0.771
Dimer 1 <sup>st</sup> day** (ng/mL)	430 (330-953)	2.572 (1.239-2.572)	0.065
Ferritin** (ng/mL)	105 (56-409)	-	-
LDH* (U/l)	275±111	665±111	0.567
CRP 1 <sup>st</sup> day** (mg/L)	1.8 (1-6.6)	14.7 (8-23)	<0.001
AST** (U/L)	25 (21-39)	19 (15-27)	0.003
ALT** (U/L)	25 (17-37)	14 (10-20)	<0.001
GGT 1 <sup>st</sup> day** (U/L)	30 (18-62)	24 (24-24)	0.678
ALP* (U/L)	74±19	139±21	0.765
Na** (mEq/L)	139 (136-140)	139 (135-141)	0.801
K* (mEq/L)	4.3±0.4	4.3±0.6	0.557
Cre** (mg/dL)	0.8 (0.7-1)	0.9 (0.7-1.3)	0.169
BUN** (mg/dL)	25 (21-34)	39 (29-62)	<0.001
Troponin** (ng/mL)	2 (1-5)	16 (7-48)	<0.001
Fever** (°C)	36.6 (36.5-37.1)	36.7 (36.5-36.9)	0.907
Pulse* (beat/min)	92±13	103±21	0.006
SBP 1 <sup>st</sup> day** (mm-Hg)	120 (110-130)	125 (100-130)	0.749
DBP** (mm-Hg)	70 (70-80)	70 (60-80)	0.971
MAP* (mm-Hg)	83±22	73±36	0.107
SpO <sub>2</sub> ** (%)	96 (94-98)	91 (86-96)	<0.001
LOS** (day)	7 (6-10)	7 (4-10)	0.451
Mortality, n (%)	1 (3)	7 (13)	0.134
HT, n (%)	12 (32)	26 (49)	0.116
DM, n (%)	8 (22)	11 (21)	0.921
CAD, n (%)	7 (19)	11 (21)	0.830
CHF, n (%)	0 (0)	9 (17)	0.008
CRF, (%)	0 (0)	2 (4)	0.510
COPD, n (%)	1 (3)	23 (43)	<0.001
Malignity, n (%)	1 (3)	5 (9)	0.394
Astma, n (%)	0 (0)	5 (9)	0.075
HL, n (%)	0 (0)	2 (4)	0.510
Dementia, n (%)	1 (3)	11 (21)	0.013

**Table 1: Continued**

	COVID pneumonia (n=37)	CAP pneumonia (n=53)	p
Stroke, n (%)	0 (0)	8 (15)	<b>0.019</b>
Cough, n (%)	<b>25 (68)</b>	22 (42)	<b>0.015</b>
Fever, n (%)	15 (41)	5 (9)	<b>&lt;0.001</b>
Fatigue, n (%)	<b>12 (35)</b>	<b>4 (8)</b>	<b>0.001</b>
Dyspnea, n (%)	<b>6 (16)</b>	<b>48 (91)</b>	<b>&lt;0.001</b>
Myalgia, n (%)	<b>4 (11)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0.014</b>
Agosia, anosmia, n (%)	2 (5)	0 (0)	0.087

AST: Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase, BUN: Blood urea nitrogen, CAD: Coronary artery disease, CAP: Community acquired pneumonia, CHF: Congestive heart failure, COPD: Chronic obstructive lung disease, CRP: C-reactive protein, CT: Computed tomography, COVID: Coronavirus, COVID-19: Coronavirus disease-2019, DM: Diabetes mellitus, F: Female, GGT: Gamma glutamyl transferase, Hb: Hemoglobin, HL: Hyperlipidemia, HT: Hypertension, LDH: Lactate dehydrogenase, LOS: Length of stay, MAP: Mean arterial pressure, NS: Not significant, PCR: Polymerase chain reaction, SBP: Systolic blood pressure, WBC: White blood cell, ALP: Alkaline phosphatase, CRP: Chronic renal failure, DBP: Diastolic blood pressure, \*mean  $\pm$  SD \*\*median (IQR), SD: Standard deviation, IQR: Interquartile range, a Student t-test was used for parameters signed by \*, a Mann-Whitney U test was used for parameters signed by \*\*

**Table 2: Age CRP monocyte analysis with a cut-off of "167.262" for predicting CAP**

	Estimated value	95% CI
<b>Sensitivity</b>	0.83	0.70-0.91
<b>Specificity</b>	0.84	0.67-0.93
<b>PPV</b>	0.88	0.75-0.95
<b>NPV</b>	0.75	0.61-0.89

NPV: Negative predictive value, PPV: Positive predictive value, CI: Confidence interval, CAP: Community acquired pneumonia

\*A given value equal or greater than 167.262 predicts a diagnosis of CAP

COVID pneumonia, while dyspnea was more common in CAP patients. There are significant differences in the comparison of presentation symptoms of COVID and non-COVID pneumonias in the literature, and symptoms other than dry cough do not appear as appropriate data for the prediction of the causative agent of respiratory system infection (18,19). Among the vital signs of the patients at admission, tachycardia and relative hypoxia are more common in the CAP group and may be associated with an excess of comorbid diseases in the same group.

Hitherto, laboratory parameters especially lymphocyte and monocyte count have been investigated already in detail and those revealed findings similar to our study had revealed (19-22). In these studies, the leukocyte and neutrophil counts were relatively lower in COVID pneumonia than in non-COVID pneumonia including other viral pneumonia (18-21). Our study showed monocyte count to be an essential parameter to distinguish patients with COVID-19 and others. Migration and redistribution of monocytes from blood to both lung and non-respiratory tissue, thus consumption might be the explanation of significantly reduced monocyte count in COVID-19 patients, while compared to patients those are not (18,22-25). It has been shown in most studies that the number of monocytes is decreased in COVID patients, and in addition, the correlation between severe alterations of monocyte subtypes and severe

clinical findings shows the importance of monocyte in the pathogenesis of COVID and it should be clarified with ongoing studies (26,27).

CRP is an acute phase reactant that is released dependant on inflammation of the body and is also used in differential diagnosis between viral infections and bacterial infections (25,28). In our study, the CRP value in the CAP group was found to be statistically significantly higher than the CoV group. In the literature, there are studies in which the CRP value in non-COVID diseases including other viral diseases was found to be higher than COVID pneumonia (29).

As a consequence, we are hopeful of the vaccination programs implemented for the pandemic that caused serious losses all over the world for 1 year. The fact that RNA viruses can mutate frequently is the biggest obstacle to the success of vaccinations and the possibility of COVID-19 getting out of our lives. For this reason, studies for the development of early diagnosis methods and the discovery of direct-acting antivirals should continue in the fight against SARS-CoV-2.

### Study Limitations

Our study has some limitations. First one is the retrospective nature of the study that might have caused data loss. Second is the possible selection bias due to the prohibition for elderly to be outside by government provision in Turkey that might be a protective factor for them which results in lower mean age in CoV group. Third, limited number of patients, even though our study is not underpowered, restrained subgroup analysis.

### Conclusion

We aimed to establish a suitable marker to distinguish patients with COVID-19 pneumonia from those with CAP and found age CRP monocyte formula to be reliable. Validation of

our result in larger studies will provide an easily accessed and readily available parameter for health workers.

### Ethics

**Ethics Committee Approval:** Our study has been approved by Düzce University Local Ethical Commission with a registration number of 2020/150.

**Informed Consent:** Patient consent was not obtained for our retrospective study.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

### Authorship Contributions

Concept: A.D.H., C.Ç., Design: A.D.H., S.D., Data Collection or Processing: Ö.A., F.M.S., Analysis or Interpretation: F.M.S., M.Y.P., Literature Search: S.D., Ö.A., Writing: A.D.H., M.Y.P.

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

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

## References

- Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;395:1054-1062.
- He R, Lu Z, Zhang L, et al. The clinical course and its correlated immune status in COVID-19 pneumonia. *J Clin Virol*. 2020;127:104361.
- Fontanarosa PB, Bauchner H. COVID-19-Looking Beyond Tomorrow for Health Care and Society. *JAMA*. 2020;323:1907-1908.
- Wunderink RG. Community Acquired Pneumonia. *Evidence-Based Critical Care*. 2019:155-160. [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-26710-0\\_20](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-26710-0_20)
- Murdoch KM, Mitra B, Lambert S, et al. What is the seasonal distribution of community acquired pneumonia over time? A systematic review. *Australas Emerg Nurs J*. 2014;17:30-42.
- Faust JS, Del Rio C. Assessment of Deaths From COVID-19 and From Seasonal Influenza. *JAMA Intern Med*. 2020;180:1045-1046.
- Şimşek Yavuz S, Ünal S. Antiviral treatment of COVID-19. *Turk J Med Sci*. 2020;611-619.
- Lim WS, van der Eerden MM, Laing R, et al. Defining community acquired pneumonia severity on presentation to hospital: an international derivation and validation study. *Thorax*. 2003;58:377-382.
- Kuluöztürk M, İn E, Telo S, et al. Efficacy of copeptin in distinguishing COVID-19 pneumonia from community-acquired pneumonia. *J Med Virol*. 2021;93:3113-3121.
- Almirall J, Rofes L, Serra-Prat M, et al. Oropharyngeal dysphagia is a risk factor for community-acquired pneumonia in the elderly. *Eur Respir J*. 2013;41:923-928.
- Vinogradova Y, Coupland C, Hippisley-Cox J. Risk of pneumonia in patients taking statins: population-based nested case-control study. *Br J Gen Pract*. 2011;61:e742-e748.
- Müllerova H, Chigbo C, Hagan GW, et al. The natural history of community-acquired pneumonia in COPD patients: a population database analysis. *Respir Med*. 2012;106:1124-1133.
- Liu KC, Xu P, Lv WF, et al. Differential diagnosis of coronavirus disease 2019 from community-acquired-pneumonia by computed tomography scan and follow-up. *Infect Dis Poverty*. 2020;9:118.
- Cillóniz C, Cardozo C, García-Vidal C. Epidemiology, pathophysiology, and microbiology of community acquired pneumonia. *Ann Res Hosp*. 2018;2:1-11.
- Sahuquillo-Arce JM, Menéndez R, Méndez R, et al. Age-related risk factors for bacterial aetiology in community-acquired pneumonia. *Respirology*. 2016;21:1472-1479.
- Goldstein E, Lipsitch M, Cevik M. On the Effect of Age on the Transmission of SARS-CoV-2 in Households, Schools, and the Community. *J Infect Dis*. 2021;223:362-369.
- Oster AM, Caruso E, DeVies J, Hartnett KP, et al. Transmission Dynamics by Age Group in COVID-19 Hotspot Counties - United States, April-September 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020;69:1494-1496.
- Zhou Y, Guo S, He Y, et al. COVID-19 Is Distinct From SARS-CoV-2-Negative Community-Acquired Pneumonia. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:322.
- Tang X, Du RH, Wang R, et al. Comparison of Hospitalized Patients With ARDS Caused by COVID-19 and H1N1. *Chest*. 2020;158:195-205.
- Shen C, Tan M, Song X, et al. Comparative Analysis of Early-Stage Clinical Features Between COVID-19 and Influenza A H1N1 Virus Pneumonia. *Front Public Health*. 2020;8:206.
- Sun Y, Koh V, Marimuthu K, et al. Epidemiological and Clinical Predictors of COVID-19. *Clin Infect Dis*. 2020;71:786-792.
- Merad M, Martin JC. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Nat Rev Immunol*. 2020;20:355-362.
- Gómez-Rial J, Rivero-Calle I, Salas A, et al. Role of Monocytes/Macrophages in Covid-19 Pathogenesis: Implications for Therapy. *Infect Drug Resist*. 2020;13:2485-2493.
- Pence BD. Severe COVID-19 and aging: are monocytes the key? *Geroscience*. 2020;42:1051-1061.
- Martinez FO, Combes TW, Orsenigo F, et al. Monocyte activation in systemic Covid-19 infection: Assay and rationale. *EBioMedicine*. 2020;59:102964.
- Kvedaraitė E, Hertwig L, Sinha I, et al. Major alterations in the mononuclear phagocyte landscape associated with COVID-19 severity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021;118:e2018587118.
- Meidanikjeh S, Sabouni N, Marzouni HZ, et al. Monocytes and macrophages in COVID-19: Friends and foes. *Life Sci*. 2021;269:119010.
- [https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes\\_01\\_02/111\\_b\\_met\\_c\\_reactive\\_protein.pdf](https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes_01_02/111_b_met_c_reactive_protein.pdf)
- Li Y, Wang H, Wang F, et al. Comparison of hospitalized patients with pneumonia caused by COVID-19 and influenza A in children under 5 years. *Int J Infect Dis*. 2020;98:80-83.

# Ultrason Kılavuzluğunda Karaciğer Biyopsisi: Tek Merkez Deneyimleri

## Ultrasound-Guided Liver Biopsy: Single Center Experiences

© Mehmet Onay, © Çetin Murat Altay, © Ali Burak Binboğa

Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Radyoloji Kliniği, Gaziantep, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, kronik hepatitli hastalarda karaciğer fibrozisini derecelendirmek için ultrason eşliğinde tru-cut karaciğer biyopsisinin (US-TKB) güvenliğini ve etkinliğini araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Haziran 2016-Haziran 2021 tarihleri arasında US-TKB yapılan hastalar geriye dönük olarak incelendi. Hastaların demografik özellikleri, biyopsi endikasyonu, komplikasyon oranları not edildi. Biyopsinin etkinliği doku örneğinin yeterliliğine göre belirlendi. Yeniden biyopsi, yetersiz biyopsi olarak kabul edildi. Masif kanama, pnömotoraks ve ölüm majör komplikasyonlar olarak belirlendi. Diğer komplikasyonlar minör komplikasyon olarak not edildi. Morbidite ve mortalite oranları, komplikasyon oranları ve biyopsi endikasyonları arasındaki ilişki araştırıldı.

**Bulgular:** Toplam 1143 hastada 1195 karaciğer parankim biyopsisi yapıldı. Majör komplikasyon oranı %0,16 (n=2), minör komplikasyon oranı %6,1 (n=73) idi. Majör komplikasyonlar masif abdominal kanama %0,08 (n=1) ve pnömotoraks %0,08 (n=1) idi. Minör komplikasyonlar sırası ile %3,2 (n=39) oranında biyopsi sahasında medikasyon gerektiren ağrı, %2,1 (n=26) oranında transfüzyon gerektirmeyen kendini sınırlayan subkapsüler hematom ve %0,6 (n=8) oranında senkop idi. US-TKB etkinliği %95,5 idi. Mortalite yoktu.

**Sonuç:** Kronik hepatitli hastaların karaciğer fibrozisini derecelendirmek için yapılan US-TKB'de yüksek başarı oranları ile yeterli patolojik spesmen elde edilebilmektedir. US-TKB kronik hepatitli hastalarda güvenli ve etkin bir yöntemdir.

**Anahtar Kelimeler:** Karaciğer Biyopsisi, Komplikasyon Oranları, Tru-Cut Biyopsi

### Abstract

**Objectives:** The aim of this study was to investigate the safety and efficiency of ultrasound-guided tru-cut liver biopsy (US-TLB) for grading liver fibrosis in patients with chronic hepatitis.

**Materials and Methods:** Between June 2016 and June 2021, patients who underwent US-TLB were reviewed retrospectively. Patients' demographics, biopsy indication, and complication rates were noted. The efficiency of the biopsy was determined according to the adequacy of the tissue sample. Re-biopsy was considered as inefficient biopsy. Massive bleeding, pneumothorax and death were determined as major complications. Other complications were noted as minor complications. The relationship between morbidity and mortality rates, complication rates and biopsy indications were investigated.

**Results:** A total of 1195 liver parenchymal biopsies were performed in 1143 patients. Major complication rate was 0.16% (n=2) and minor complication rate was 6.1% (n=73). Major complications were massive abdominal bleeding at the rate of 0.08% (n=1) and pneumothorax at the rate of 0.08% (n=1). Minor complications were pain at the biopsy site requiring medication in 3.2% (n=39), self-limiting subcapsular hematoma not requiring transfusion in 2.1% (n=26), and syncope in 0.6% (n=8), respectively. US-TLB effectiveness was 95.5%. There was no mortality.

**Conclusion:** To grade the liver fibrosis of patients with chronic hepatitis, adequate pathological specimens can be obtained with high success rates in US-TLB. US-TLB is a safe and effective method in patients with chronic hepatitis.

**Key Words:** Liver Biopsy, Complication Rates, Tru-Cut Biopsy

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Mehmet Onay

Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Radyoloji Kliniği, Gaziantep

Tel.: +90 505 850 63 07 E-posta: mehmetonay079@hotmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-6220-3207

Geliş Tarihi/Received: 30.09.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 16.11.2021

©Telif Hakkı 2022 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



## Giriş

Karaciğer biyopsisi, karaciğer hastalıklarının tanı ve evrelemede altın standart olarak kullanılmaktadır (1). Perkütan, transjuguler, laparoskopik ve intraoperatif olarak yapılabilen karaciğer biyopsisi, hepatitli hastalarda inflamasyonun değerlendirilmesi için temel bir tanısal yaklaşımdır (2,3). Ultrason eşliğinde tru-cut karaciğer biyopsisi (US-TKB), kolay erişilebilir olması ve iyonlaştırıcı radyasyon içermemesi nedeniyle en yaygın kullanılan karaciğer biyopsisi tekniğidir (3,4). İnce iğne aspirasyon biyopsisi US-TKB'ye göre daha az travmatik olması nedeniyle daha düşük komplikasyon riskine sahiptir (5). Ancak US-TKB'nin daha büyük doku parçası elde edilmesine imkan vermesi nedeniyle tanısal doğruluk oranları yüksektir (5). Buna ek olarak kronik hepatitli hastalarda, US-TKB ile elde edilen doku parçası ile prognostik öneme sahip olan karaciğer fibrosis evrelemesi yapılabilmektedir (6). US-TKB birçok merkezde sıklıkla yapılmasına rağmen, US-TKB'nin komplikasyonları hem hastalar hem de operatörler için endişe kaynağı olmaya devam etmektedir. US-TKB'nin komplikasyon oranları ve şiddeti, karaciğer hastalığının etiolojisine ve operatörün deneyimlerine göre değişebilmektedir (7).

Bu çalışmanın amacı, kronik hepatitli hastalarda karaciğer fibrozisini derecelendirmek için uygulanan US-TKB'nin güvenliğini ve etkinliğini araştırmaktır.

## Gereç ve Yöntem

Bu retrospektif çalışma için Gaziantep Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu'ndan onay alınarak araştırmacılar tarafınca veriler toplandı (karar no: 2021/237). Hastaların kendilerinden ya da yasal temsilcilerinden bilgilendirilmiş onamları alınmıştır.

### Hastalar

Haziran 2016 ile Haziran 2021 tarihleri arasında girişimsel radyoloji kliniğinde perkütan karaciğer biyopsisi yapılan hastalar retrospektif olarak tarandı. Çalışmaya dahil edilme kriteri; ultrason eşliğinde tru-cut biyopsi iğnesi ile karaciğer parankim biyopsisi yapılmış olması olarak belirlendi. Karaciğer kitle biyopsisi yapılan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya dahil edilen hastaların bazal demografik özellikleri (yaş, cinsiyet), biyopsi yapılma nedeni ve biyopsi sonrası meydana gelen komplikasyonlar hastane bilgi işlem servisi ve girişimsel radyoloji arşivinden tek tek tarandı. İşlem sonrası komplikasyonlar majör ve minör komplikasyon olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kan transfüzyonu gerektiren kanama (peritoneal ya da subkapsüler), pnömotoraks ve ölüm majör komplikasyonlar olarak belirlendi. Hastanede yatış gerektiren biyopsi sahası ağrısı, işlem sırasında gelişen senkop ve kan transfüzyonu gerektirmeyen subkapsüler hematoma minör komplikasyonlar olarak belirlendi.

## Biyopsi İşlemi

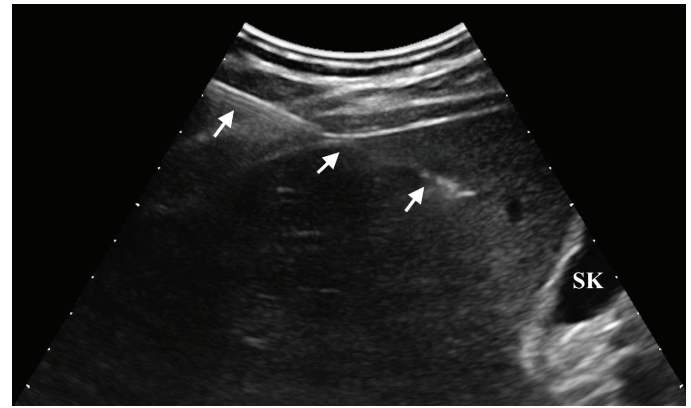
Bütün hastalarda biyopsi işlemi ultrason rehberliğinde yapıldı. Hasta sol lateral dekübit pozisyonda yatırıldı. Lokal saha temizliği ve lokal anestezi yapıldıktan sonra karaciğer segment 6 hedeflenerek interkostal aralıktan 18 gauge (G) kalınlığında tam otomatik iğne ile (ESTACORE veya VESCU, Geotek Healthcare Products, Ankara, Türkiye) tru-cut biyopsi yapıldı (Şekil 1). Biyopsi öncesi periprocedural kanama riskini azalmak için Society of Interventional Radiology (SIR) kılavuzu önerileri dikkate alındı (8). Uluslararası normalize oranları (INR) değeri 1,5'in üstünde olan ve trombosit sayısı 50.000'den az olan hastalara biyopsi yapılmadı. Asetil salisilik asit (ASA) kullanan hastalarda biyopsi öncesi ASA kullanımına ara verilmedi. Biyopsi sonrası bütün hastalar 4 saat hastanede yatırılarak takip edildi. İşlemden sonra ultrasonografi yapılarak olası kanama komplikasyonlarının varlığı araştırıldı.

## İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi SPSS v. 20 (IBM) programıyla hesaplandı. Tanımlayıcı istatistiksel metotlar (ortalama, standart sapma) kullanıldı. Oransal verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## Bulgular

Toplamda 1416 hastada 1468 US-TKB yapılmıştı. Bu hastalardan 1143'üne karaciğer parankim biyopsisi, 273'üne ise karaciğer kitle biyopsisi yapılmıştı. Kitle biyopsisi yapılan hastalar çalışmadan çıkartıldı. Sonuç olarak, bu çalışma %33,1 (n=379) kadın, %66,9 (n=764) erkek, ortalama yaşı 37,8±11,50 yıl olan 1143 hasta içermektedir. Bu hastaların 52'sine biyopsi spesmeninde fibrozis derecelendirmesi için yeterli portal yapının olmaması nedeniyle ilk biyopsiden en az 2 hafta sonra tekrar biyopsi yapıldı. Bu çalışmanın re-biyopsi oranı %4,5 (n=52/1143) olup US-TKB'nin efektifite oranı %95,5 idi. Re-biyopsi yapılan



**Şekil 1:** Otuz iki yaşında erkek hastanın US kılavuzluğunda perkütan tru-cut karaciğer parankim biyopsisine ait gri skala US görüntüsü. Beyaz oklar karaciğer sağ lobdaki biyopsi iğnesini göstermektedir

SK: Safra kesesi, US: Ultrason

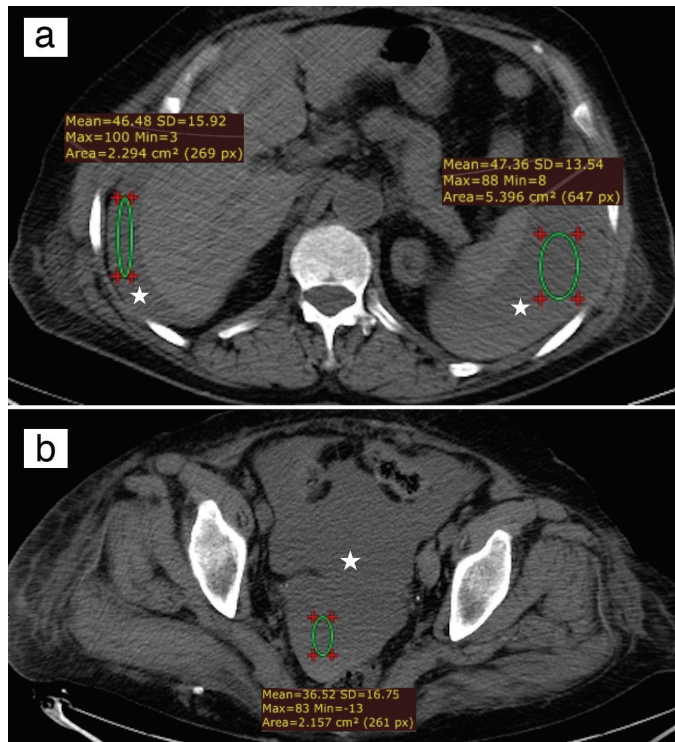


hastalar komplikasyon değerlendirilmesi yapılırken yeni birer hasta olarak değerlendirildi. Bu çalışmada toplamda 1195 US-TKB prosedürünün komplikasyonları incelenmiştir. Hastaların biyopsi endikasyonlarına bakıldığında sıklık sırasına göre %91,3 (n=1043) kronik hepatit B, %8,2 (n=94) hepatit C, %0,3 (n=4) otoimmün hepatit, %0,2 (n=2) nedeni bilinmeyen karaciğer enzim yüksekliği idi. Tablo 1'de çalışma popülasyonu özetlendi.

### Komplikasyonlar

Bu çalışmada 1195 biyopsi işleminde toplamda %6,2 oranında (n=75) komplikasyon gelişti. Majör komplikasyon oranı %0,16 (n=2) ve minör komplikasyon oranı %6,1 (n=73) idi. Çalışmamızda meydana gelen komplikasyonlar ve özellikleri Tablo 2'de özetlendi.

İki majör komplikasyondan biri masif abdominal kanama diğeri ise pnömotoraks idi. Masif abdominal kanama olan hastada geçmeyen karın ağrısı, hemoglobin düşüşü ve biyopsi işlemi sonrası 3. saatte taşikardi gelişmişti. Hastaya kontrol US ve bilgisayarlı tomografi (Şekil 2) yapıldığında subkapsüler hematoma ve peritoneal masif hemoraji saptandı. Hastaya kan transfüzyonu yapılmasına rağmen hemoglobinin değerlerinde düşme devam etmesi üzerine hasta kanama kontrolü için acil olarak açık cerrahiye alındı. Hasta yoğun bakım ve servis sürecinden sonra taburcu edildi. Pnömotoraks gelişen hastada



**Şekil 2:** Kırk üç yaşında kadın hastada US kılavuzluğunda perkütan tru-cut karaciğer parankim biyopsisi sonrası masif abdominal kanamaya ait aksiyel kesit bilgisayarlı tomografi görüntüleri. Yıldız işaretleri perihepatik, perisplenik (a) ve pelvik alanlarda (b) kanamaya ait yüksek dansiteli sıvıları göstermektedir

US: Ultrason, SD: Standart deviasyon

ise işlem sonrasında solunum sıkıntısı, ağrı ve nefeste batma şikayeti vardı. Direkt akciğer grafiğinde pnömotoraks saptanan hastaya tüp torakostomi takıldı. Hasta 5 gün sonra taburcu edildi.

Minör komplikasyonlar sırası ile %3,2 (n=39) medikasyon gerektiren biyopsi sahasında ağrı, %2,1 (n=26) transfüzyon gerektirmeyen kendini sınırlayan subkapsüler hematoma, ve %0,6 (n=8) senkop idi. Subkapsüler hematoma olan hastalar 24 saat hastanede yatarak takip edildi. Hemodinamik olarak stabil ve kontrol US'de hematoma boyutlarında artış olmaması nedeniyle taburcu edildiler. Diğer minör komplikasyon meydana gelen hastalar ise ilk 24 saat içinde semptomlarının gerilemesi sonucu taburcu edildiler. Komplikasyon sıklığı ve şiddeti ile karaciğer biyopsi nedenleri, yaş ve cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu (p>0,05). US-TKB yaptığımız hastalarda mortalite gelişmedi.

### Tartışma

Bu retrospektif çalışmada, geniş çalışma örneklemi ile US-TKB'nin tek merkez deneyimleri sunulmaktadır. Çalışmamızın sonuçlarına göre en sık karaciğer biyopsisi endikasyonu kronik hepatit B idi. Çalışmamızda US-TKB majör komplikasyon oranları oldukça düşük idi ve minör komplikasyonlar kabul edilebilir düzeyde idi. US-TKB'sinin, karaciğer fibrozisini değerlendirmek için yeterli doku örnekleme oranı %95,5 idi.

Chang ve ark. (9) 18 yıllık deneyimlerini sundukları çalışmalarında en sık karaciğer biyopsisi endikasyonunu kronik hepatit B olarak bildirmektedir. Ancak son 10 yılda hepatit B nedeniyle yapılan karaciğer biyopsi sayısının azaldığı bunun yerine alkol ile ilişkili olmayan karaciğer yağlanması nedeniyle yapılan biyopsi endikasyonunun arttığı vurgulamaktadır. Bu endikasyon değişimi obezite ve hazır gıda tüketimi ile ilgili olabilir. Biz çalışmamızda benzer bir endikasyon değişikliği

**Tablo 1: Hastaların demografik özellikleri ve biyopsi sayıları**

Değişkenler	n (%)
Yaş ± SD	37,8±11,50 yıl
Cinsiyet	
Kadın	379 (33,1)
Erkek	764 (66,9)
Biyopsi nedeni	
Hepatit B	1043 (91,3)
Hepatit C	94 (8,2)
Otoimmün hepatit	4 (0,3)
Enzim yüksekliği	2 (0,2)
Yeterli doku örnekleme oranı	1091 (95,5)
Yetersiz doku örnekleme oranı (rebiyopsi)	52 (4,5)
<b>Total hasta/biyopsi sayısı</b>	<b>1143/1195</b>

SD: Standart deviasyon

**Tablo 2: Komplikasyonların hasta özelliklerine göre dağılımı**

	Hepatit B (%)	Hepatit C (%)	Otoimmün hepatit (%)	Enzim yüksekliği (%)	Total (%)*	p
Masif kanama	1 (0,09)	0	0	0	1 (0,08)	
Pnömotoraks	1 (0,09)	0	0	0	1 (0,08)	
Şiddetli ağrı	31 (2,9)	8 (8,5)	0	0	39	>0,05
Subkapsüler hematoma	22 (2,1)	4 (4,2)	0	0	26	
Senkop	7 (0,6)	1 (1,06)	0	0	8	
<b>Total n (%)</b>	<b>62 (5,9)</b>	<b>13 (13,8)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>75 (6,2)</b>	

\*: Bütün karaciğer biyopsilerindeki (n=1195) komplikasyon oranını belirtir

saptamadık. Türkiye'de hepatit B aşısı çocukluk çağı aşı takviminde yer almasına rağmen Dünya Sağlık Örgütü'ne göre ülkemiz orta dereceli hepatit B endemik bölgesidir (10). Kronik hepatit B oranı Türkiye'de en sık Doğu ve Güneydoğu bölgesinde olup %6,7'dir (10,11). Literatürdeki bu veriler çalışmamızda en sık karaciğer biyopsi endikasyonunun neden kronik hepatit B olduğunu anlaşılır kılmaktadır.

Perkütan karaciğer biyopsisi bütün dünyada sıklıkla yapılmasına rağmen oluşabilecek komplikasyonlar hala endişe vericidir. Komplikasyon oranları operatör, hasta ve biyopsi tekniğine bağlı olarak değişmektedir. Herhangi bir görüntüleme yöntemi olmadan yapılan karaciğer parankim biyopsilerinde, görüntüleme eşliğinde yapılanlara göre hem teknik başarı oranları düşüktür hem de komplikasyon oranı daha yüksektir (12). Ayrıca kullanılan iğnenin kalınlığı da komplikasyon oranlarını etkileyebilmektedir. Takyar ve ark. (13) 16 G kalınlığında biyopsi iğnesi kullanarak yaptıkları 3357 karaciğer biyopsisinde total komplikasyon oranını %4, minör komplikasyon oranını %3 majör komplikasyon oranını ise %1 olarak rapor etmiştir. Chi ve ark. (14) 16 G kalınlığında biyopsi iğnesi kullanarak 1710 karaciğer biyopsisinde total komplikasyon oranını %6 olarak gözlemladiler. Chang ve ark. (9) 18 G iğne kullanarak yaptıkları 1944 görüntüleme kılavuzluğunda karaciğer biyopsisinde majör komplikasyon oranını %0,05 olarak bildirmiştir. Biz merkezimizde rutin olarak bütün US-TKB prosedürlerini 18 G iğne ile yapıyoruz. Çalışmamızda %6,2 oranında total, %0,2 oranında majör ve %6,1 oranında ise minör komplikasyon meydana geldi. Komplikasyon oranlarımız literatür ile kıyaslandığında majör komplikasyon oranlarımız daha düşük gibi görünmekle birlikte total komplikasyon oranımız literatür ile benzerdi. Çalışmamızda majör komplikasyon oranımızın düşük olmasının nedeni daha ince bir iğne kullanmış olmamız olabilir. Ayrıca operatör deneyimi de komplikasyon oranlarını etkileyebilmektedir. Ancak bu konuda daha fazla karşılaştırmalı çalışmaya ihtiyaç vardır.

Perkütan karaciğer biyopsisinde sık karşılan komplikasyonlardan biri kanama olup hem Cardiovascular and Interventional Radiological Society of Europe 2021 kılavuzunda hem de SIR 2019 kılavuzunda orta-yüksek dereceli kanama riski olan işlem olarak sınırlandırılmaktadır (15,16). Perkütan

karaciğer biyopsisi öncesi trombosit sayısının  $50 \times 10^9/L$ 'den fazla ve INR değerinin ise 1,5'ten daha düşük olması önerilmektedir (15,16). Ayrıca her iki kılavuzda da antiagregan ve antikoagülan ilaçların biyopsi öncesi kesilmesi ve biyopsiden sonra tekrar başlanması önerilmektedir (15,16). Bununla birlikte özellikle yüksek tromboz riski taşıyan hastalarda antikoagülan veya antiagregan ilaçlar kesilirken heparin gibi etki süresi kısa ajanlarla köprüleme yapılması böylelikle hem kanama hem de tromboz riskinin azaltılması vurgulanmaktadır (15,16). Kanama komplikasyonu kendini sınırlayan subkapsüler hematoma şeklinde olacağı gibi, masif abdominal kanama şeklinde de olabilir. Kan tranfüzyonu gerektiren masif abdominal kanamalar majör komplikasyon olarak sınıflandırılmaktadır. Perkütan karaciğer biyopsinin total (minör ve majör) kanama komplikasyonu %11'e kadar çıkmaktadır (3). Kan tranfüzyonu veya girişim gerektiren masif kanama %0,5-0,65 olarak bildirilmektedir (17,18). Bizim çalışmamızda minör kanama oranı %2,1 ve majör kanama oranı %0,08 idi. Biyopsi sonrası hemorajik komplikasyonların patofizyolojisi net değildir. Ateş ve ark. (19) karaciğer parankiminin ultrasonografik olarak heterojen ve kaba görünümünün karaciğer biyopsisi sırasında kanama komplikasyonu için risk faktörü olabileceğini belirtmektedir. Kadın cinsiyet ve siroz kanama riskini artırmaktadır (17,20). Bizim çalışmamızda cinsiyet ile kanama komplikasyonları arasında bir ilişki yoktu ( $p > 0,05$ ). Bizim kanama komplikasyonlarımız literatür ile kıyaslandığında daha düşüktür. Bunun nedeni kanama riskini azaltmak için biyopsi öncesi SIR kılavuzunda önerilen koagülasyon parametrelerine ve işlem sonrası 4 saat boyunca mobilizasyon kısıtlamasına sıkı sıkıya uyulması olabilir.

Perkütan karaciğer biyopsisinin bir diğer majör komplikasyonu ise pnömotorakstır. Pnömotoraks, karaciğer biyopsisinin nadir bir komplikasyonu olup %0,007 ile %0,03 arasında bildirilmektedir (3,13). Bizim çalışmamızda %0,08 oranında pnömotoraks mevcuttu. Bizim çalışmamızın sonuçları literatür ile kıyaslandığında daha yüksek görünmesine rağmen yine de pnömotoraksın nadir bir komplikasyon olduğu söylenebilir.

Birçok girişimsel işlemin doğası gereği mortalite riski mevcuttur. Perkütan karaciğer biyopsisine bağlı ölüm çok nadir

olmakla birlikte literatürde %0,01 ile %0,001 arasında rapor edilmiştir (3,21). Bizim çalışmamızda mortalite yoktu. Bunun nedeni majör komplikasyon sayımızın az olması veya majör komplikasyon geliştiğinde hızlı bir şekilde gerekli tedavinin yapılmış olması olabilir. Ancak daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Perkütan karaciğer biyopsisinde minör komplikasyonlar majör komplikasyonlara göre daha sıklıkla görülmektedir. Kapsamlı bir meta-analiz çalışmasında total minör komplikasyon oranı ortalama %9,5 olarak bildirilmektedir (22). En sık görülen minör komplikasyon ise ortalama %12,9 oranında ağrı olarak belirtilmektedir (22). Biz çalışmamızda total minör komplikasyon oranlarını literatüre göre daha düşük olarak saptadık. Ancak farklı operatörlerin deneyimlerini sunan çok merkezli bir çalışmada bu komplikasyon oranları değişebilir.

Kronik hepatitli hastalarda fibrozis derecelendirmesi yapılabilecek kalitede karaciğer parankim örnekleme, hem US-TKB'nin birincil amacı hem de biyopsi işleminin etkinliğini gösteren en önemli belirteçtir (4). Yetersiz portal yapı nedeniyle yetersiz biyopsi oranı %2,7 olarak bildirilmektedir (23). Biz hastaların %4,5'ine yetersiz biyopsi nedeni ile re-biyopsi yaptık. Çalışmamızda yetersiz biyopsi oranı görece olarak yüksektir. Bunun nedeni biyopside daha ince boyutta iğne kullanmamız olabilir. Daha fazla karşılaştırmalı çalışmaya ihtiyaç vardır.

### Çalışmanın Kısıtlılıkları

Bu çalışmanın bazı kısıtlımları mevcuttur. Birincisi retrospektif dizaynda olması ve tek merkez deneyimlerini sunuyor olmasıdır. İkincisi, farklı boyutta iğne ve farklı biyopsi tekniklerini kıyaslayan veri içermemesidir. Ancak bu kısıtlımların çalışmamızın değerini azaltmadığını düşünüyoruz. Çalışmamızda hasta sayısının fazla olması daha doğru istatistiksel veri elde etmemize izin verdi. Bu nedenle çalışmamızın literatüre katkı sağlayacağını düşünüyoruz.

### Sonuç

Sonuç olarak, US-TKB düşük majör komplikasyon ve mortalite riski, kabul edilebilir minör komplikasyon oranlarına sahiptir. Kronik hepatitli hastaların karaciğer fibrozisini derecelendirmek için yapılan US-TKB'de yüksek başarı oranları ile yeterli patolojik spesmen elde edilebilmektedir. US-TKB kronik hepatitli hastalarda güvenli ve etkin bir yöntemdir.

### Etik

**Etik Kurul Onayı:** Çalışma için Gaziantep Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu'ndan onay alındı (karar no: 2021/237).

**Hasta Onayı:** Çalışma Helsinki Deklarasyonu'na uygun şekilde yürütüldü ve tüm hastalardan yazılı aydınlatılmış onam alındı.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunun dışından olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

### Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: M.O., Ç.M.A., A.B.B., Konsept: M.O., Ç.M.A., Dizayn: M.O., Ç.M.A., Veri Toplama veya İşleme: M.O., Analiz veya Yorumlama: M.O., Ç.M.A., A.B.B., Literatür Arama: Ç.M.A., A.B.B., Yazan: M.O.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmektedir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma herhangi bir kurum, kuruluş ya da kişi tarafından finanse edilmemiştir.

### Kaynaklar

1. Tian G, Kong D, Jiang T, et al. Complications After Percutaneous Ultrasound-Guided Liver Biopsy: A Systematic Review and Meta-analysis of a Population of More Than 12,000 Patients From 51 Cohort Studies. *J Ultrasound Med.* 2020;39:1355-1365.
2. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, et al. Liver biopsy. *Hepatology.* 2009;49:1017-1044.
3. Khalifa A, Rockey DC. The utility of liver biopsy in 2020. *Curr Opin Gastroenterol.* 2020;36:184-191.
4. Neuberger J, Patel J, Caldwell H, et al. Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice from the British Society of Gastroenterology, the Royal College of Radiologists and the Royal College of Pathology. *Gut.* 2020;69:1382-1403.
5. Veltri A, Bargellini I, Giorgi L, et al. CIRSE Guidelines on Percutaneous Needle Biopsy (PNB). *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2017;40:1501-1513.
6. Sun Y, Zhou J, Wang L, et al. New classification of liver biopsy assessment for fibrosis in chronic hepatitis B patients before and after treatment. *Hepatology.* 2017;65:1438-1450.
7. Al Knawy B, Shiffman M. Percutaneous liver biopsy in clinical practice. *Liver Int.* 2007;27:1166-1173.
8. Patel IJ, Davidson JC, Nikolic B, et al. Consensus guidelines for periprocedural management of coagulation status and hemostasis risk in percutaneous image-guided interventions. *J Vasc Interv Radiol.* 2012;23:727-736.
9. Chang Y, Kim JI, Lee B, et al. Clinical application of ultrasonography-guided percutaneous liver biopsy and its safety over 18 years. *Clin Mol Hepatol.* 2020;26:318-327.
10. Özkan H. Epidemiology of Chronic Hepatitis B in Turkey. *Euroasian J Hepatogastroenterol.* 2018;8:73-74.
11. Gurol E, Saban C, Oral O, et al. Trends in hepatitis B and hepatitis C virus among blood donors over 16 years in Turkey. *Eur J Epidemiol.* 2006;21:299-305.
12. Nobili V, Comparcola D, Sartorelli MR, et al. Blind and ultrasound-guided percutaneous liver biopsy in children. *Pediatr Radiol.* 2003;33:772-775.
13. Takyar V, Etzion O, Heller T, et al. Complications of percutaneous liver biopsy with Klatskin needles: a 36-year single-centre experience. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;45:744-53.
14. Chi H, Hansen BE, Tang WY, et al. Multiple biopsy passes and the risk of complications of percutaneous liver biopsy. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2017;29:36-41.
15. Patel IJ, Rahim S, Davidson JC, et al. Society of Interventional Radiology Consensus Guidelines for the Periprocedural Management of Thrombotic and Bleeding Risk in Patients Undergoing Percutaneous Image-Guided Interventions-Part II: Recommendations: Endorsed by the Canadian Association for Interventional Radiology and the Cardiovascular and Interventional Radiological Society of Europe. *J Vasc Interv Radiol.* 2019;30:1168-1184.e1.

16. Hadi M, Walker C, Desborough M, et al. CIRSE Standards of Practice on Perioperative Anticoagulation Management During Interventional Radiology Procedures. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2021;44:523-536.
17. Boyum JH, Atwell TD, Schmit GD, et al. Incidence and Risk Factors for Adverse Events Related to Image-Guided Liver Biopsy. *Mayo Clin Proc*. 2016;91:329-335.
18. Potretzke TA, Saling LJ, Middleton WD, et al. Bleeding Complications After Percutaneous Liver Biopsy: Do Subcapsular Lesions Pose a Higher Risk? *AJR Am J Roentgenol*. 2018;211:204-210.
19. Ateş ÖF, Taydaş O, Kara AB, et al. A new predictor of bleeding based on ultrasonographic features in percutaneous liver mass biopsy. *Turk J Med Sci*. 2020;50:1970-1975.
20. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med*. 2001;344:495-500.
21. West J, Card TR. Reduced mortality rates following elective percutaneous liver biopsies. *Gastroenterology*. 2010;139:1230-1237.
22. Thomaidis-Brears HB, Alkhouri N, Allende D, et al. Incidence of Complications from Percutaneous Biopsy in Chronic Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dig Dis Sci*. 2021 Jun 15.
23. van der Poorten D, Kwok A, Lam T, et al. Twenty-year audit of percutaneous liver biopsy in a major Australian teaching hospital. *Intern Med J*. 2006;36:692-699.

# Sorafenib in Radioactive Iodine Refractory Differentiated Thyroid Cancer: A Real-life Data with Long-term Experience

Radyoaktif İyot Dirençli Diferansiye Tiroid Kanserinde Sorafenib: Uzun Dönem Tecrübe ile Gerçek Yaşam Verisi

Emre Yekedüz<sup>1,2</sup>, Elif Berna Köksoy<sup>1,2</sup>, Filiz Çay Şenler<sup>1,2</sup>, Hakan Akbulut<sup>1,2</sup>, Ahmet Demirkazık<sup>1,2</sup>, Yüksel Ürün<sup>1,2</sup>,  
Güngör Utkan<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Ankara University Faculty of Medicine, Department of Medical Oncology, Ankara, Turkey

<sup>2</sup>Ankara University Cancer Research Institute, Ankara, Turkey

## Abstract

**Objectives:** Sorafenib is one of the standard anti-cancer drugs in the treatment of radioactive iodine refractory (RR) metastatic differentiated thyroid cancer (DTC). In this study, we aimed to present a long-term real-life experience of sorafenib in the treatment of (RR) metastatic (DTC).

**Materials and Methods:** We retrospectively searched the patients' records for RR metastatic DTC patients treated with sorafenib in a tertiary cancer center between 01.01.2014 and 31.12.2019. Progression-free survival (PFS), overall survival (OS), response rates, and safety profile of sorafenib were assessed.

**Results:** A total of 19 patients were included in this study. The majority of patients had papillary thyroid cancer (80%). With a median follow-up of 18 months, the median PFS and OS were 10.9 and 41 months, respectively. The objective response rate and disease control rate were 36% and 68%, respectively. Nine patients (45%) reported any adverse events (AEs) with sorafenib.

**Conclusion:** This long-term real-life experience study showed that the median OS was longer than 3 years in RR metastatic DTC patients treated with sorafenib. On the other hand, AEs rates were lower in our study than in the pivotal phase III trial of sorafenib in RR DTC patients

**Key Words:** Thyroid, Tyrosine Kinase Inhibitor, Radioactive Iodine Refractory

## Öz

**Amaç:** Sorafenib radyoaktif iyot (RAİ) dirençli metastatik diferansiye tiroid kanseri (DTK) hastalarındaki standart tedavilerden biridir. Bu araştırmada, sorafenibin RAİ dirençli metastatik DTK hastalarındaki uzun dönem sonuçlarının sunulması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** 01.01.2014-31.12.2019 tarihleri arasında RAİ dirençli metastatik DTK tanısı ile takipli hastaların kayıtları geriye dönük olarak incelendi. Genel sağkalım (GSK), progresyonsuz sağkalım (PSK), yanıt oranları ve güvenlik profili analiz edildi.

**Bulgular:** Araştırmaya toplamda 19 hasta dahil edildi. Hastaların çoğunda (%80) papiller tiroid kanseri mevcuttu. On sekiz aylık ortanca takipte, PSK ve GSK sırasıyla 10,9 ve 41 ay olarak bulundu. Objektif yanıt oranı ve hastalık kontrol oranı sırasıyla %36 ve %68 idi. Dokuz hastada (%45) sorafenib ilişkili yan etki görüldü.

**Sonuç:** Bu uzun dönem gerçek yaşam deneyimi verisi, sorafenib ile tedavi edilen RAİ dirençli metastatik DTK hastalarında GSK'nin 3 yıldan daha uzun olduğunu gösterdi. Diğer taraftan, yan etki görülme oranı sorafenibin faz-3 çalışmasındakinden daha azdı.

**Anahtar Kelimeler:** Tiroid, Tirozin Kinaz İnhibitörü, Radyoaktif İyot Dirençli

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Emre Yekedüz

Ankara University Faculty of Medicine, Department of Medical Oncology; Ankara University Cancer Research Institute, Ankara, Turkey

Phone: +90 312 595 71 12 E-mail: emreyekeduz@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-6819-5930

Received/Geliş Tarihi: 14.09.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 30.11.2021

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.

All content are under CC BY-NC-ND license.



## Introduction

Thyroid cancer incidence has been increasing in both sexes over the last ten years, and the estimated incidence is 6.6/100,000 in GLOBOCAN 2020 (1). Hopefully, early-stage differentiated thyroid cancer (DTC) has an excellent survival rate. However, metastatic disease is inevitable in approximately 10% of all patients (2,3). Radioactive iodine (RAI) is the mainstay of treatment in these patients. Unfortunately, during the clinical course of metastatic DTC, two out of three patients become RAI refractory (RR), and the prognosis is poor in this group of patients (2,4).

Sorafenib and lenvatinib are the two main options in the RR metastatic DTC treatment. The pivotal phase III trial of sorafenib, the DECISION trial, showed that progression-free survival (PFS) was better in the sorafenib arm than the placebo arm. On the other hand, lenvatinib had also improved PFS in the SELECT trial. However, despite the improved PFS, there was no difference between the arms in the DECISION and SELECT trials for overall survival (OS) (5,6).

Sorafenib and lenvatinib are recommended by the National Comprehensive Cancer Network (NCCN) guideline for RR metastatic DTC patients with progressive and/or symptomatic disease. On the other hand, treatment armamentarium in metastatic thyroid cancer has been expanding over the last two years. In this context, pembrolizumab for patients with high tumor mutational burden, larotrectinib/entrectinib for patients with *NTRK* gene fusion are the other options recommended in the NCCN guidelines (7).

In this study, we aimed to share six years' experience of sorafenib in the treatment of metastatic RR DTC patients from a tertiary cancer center.

## Materials and Methods

This study was conducted in a tertiary cancer center in Turkey. We searched metastatic RR DTC patients diagnosed between 01.01.2014-31.12.2019 and treated with sorafenib in the metastatic setting.

Clinical and pathological data were extracted to a database from electronic and printed patient files. Patients had one of the following criteria accepted as RAI refractory: a) The total RAI dose 600 millicuries (mCi), b) Presence of metastatic lesion without RAI uptake, c) Disease progression within 16 weeks after the last RAI dose.

We assessed PFS, OS, response rates, and safety profile of sorafenib. PFS was calculated from the initial date of sorafenib to disease progression or death, OS was calculated from the initial date of sorafenib to death. Objective response rate (ORR)

and disease control rate (DCR) were assessed by using "response evaluation criteria in solid tumors (RECIST) version 1.1".

## Statistical Analysis

Descriptive analyses were presented by using mean  $\pm$  standard deviation or median with interquartile range (IQR) for continuous variables and percentages for categorical variables. Kaplan-Meier survival estimates were used for survival analyses. A p-value of less than 0.05 was considered to show a statistically significant result. For all statistical analyses, SPSS 27.0 for Mac (IBM Corp., Armonk, NY) was used.

This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Ankara University Faculty of Medicine Human Research Ethics Committee (approval no: I3-86-19, date: 12/09/2019).

## Results

After searching the patients' records, a total of 19 patients were included in this study. The median age at the start of sorafenib was 63 years (IQR: 53-66). The majority of patients were male (63%). Fifteen patients had papillary thyroid carcinoma, and four patients had follicular thyroid carcinoma. The total median dose of RAI was 700 mCi (IQR: 450-925). Ninety percent of all patients had lung metastasis. Two patients received doxorubicin in the metastatic setting. Three patients were treated with lenvatinib after progression with sorafenib. All baseline characteristics are shown in Table 1.

At the median follow-up of 18 months, the median PFS was 10.9 months [95% confidence interval (CI): 4.4-17.5], and the median OS was 41 months (95% CI: 23.7-58.2). Kaplan-Meier estimates of PFS and OS are shown in Figure 1 and Figure 2, respectively. ORR was 36%, and DCR was 68%. Best responses, according to RECIST criteria, are shown in Table 2.

Nine patients (45%) reported sorafenib-related adverse events (AEs). The most common AEs were skin toxicities (e.g., rash or hand-foot syndrome), and one patient had a grade 4 skin rash. All sorafenib-related AEs are shown in Table 3.

## Discussion

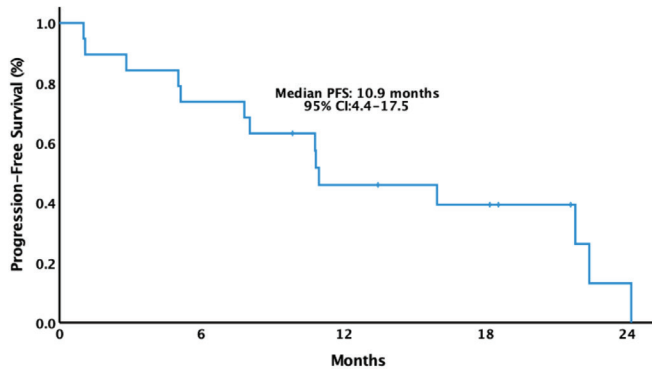
In this study, we presented a long-term real-life experience of sorafenib in RR metastatic DTC patients. The median OS was longer than three years in those patients with an acceptable toxicity profile.

The median PFS was similar to the pivotal phase III trial of sorafenib in RR DTC. In the DECISION trial, the median PFS was 10.8 months. However, although OS did not reach the median, there was no statistically significant difference between the sorafenib and placebo arms (6).

In a Korean real-life experience study, Oh et al. (8) showed that the median PFS was 13.7 months. Actually, it was slightly higher than our study. In addition, the median OS was almost the same as our study and was 41.5 months. In this real-life experience study, 33% of all patients received lenvatinib after progression. In our study, 15% of all patients were treated with lenvatinib after progression. Despite lower PFS, we revealed the same OS with the study of Oh et al. (8) It could be explained by the effect of lenvatinib after progression.

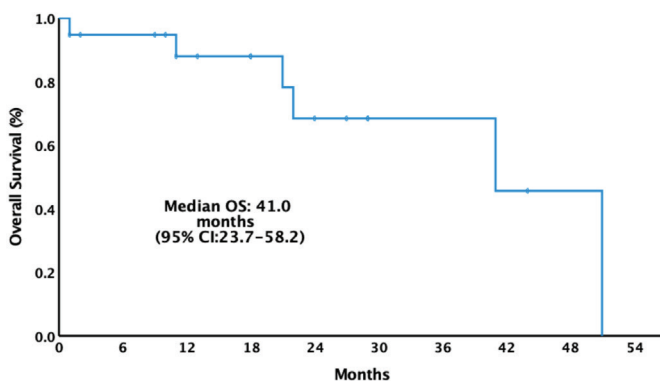
ORR was higher in our study than the DECISION trial (36% vs. 12%). Despite better ORR and DCR in our study than the DECISION trial, we did not reveal a better PFS. Conversely, with the same DCR, OS was similar in our study and the study of Oh et al. (6,8). Taken together, the best responses did not reflect the survival outcomes in thyroid cancer. DTC usually shows a slow progression. In compliance with this biological behavior, response with tyrosine kinase inhibitors is usually slow. In this context, despite higher response rates in our study, PFS was not better than the DECISION trial.

Interestingly, AEs rates were lower than the DECISION trial in our study. In the DECISION trial, higher than 90% of all patients reported any grade AEs, while this rate was 45% in our study. Similar to the DECISION trial, the most common AEs were skin



**Figure 1:** Kaplan-Meier estimates of progression-free survival (PFS)

CI: Confidence interval



**Figure 2:** Kaplan-Meier estimates of overall survival (OS)

CI: Confidence interval

toxicities. The majority of them were grade 1 or 2, and only one patient reported grade 4 skin rash. In the Korean real life-experience study, the AEs rate was 96%. This difference may be associated with the patient population. The study of Oh et al. (8) reported the results of Korean patients. Genetic variations in the drug mechanisms might affect the toxicity profile (6,8).

### Study Limitations

Our study has some limitations. First, it was a retrospective data collection study. Due to its retrospective nature, we did not assess the dose adjustments after toxicity due to the lack of data. Second, RR metastatic DTC incidence is very low compared to the other common cancer types. Thus, we included a low number of patients in this study and we did not carry out a subgroup analysis.

**Table 1: Baseline characteristics**

	n=19 (%)	
<b>Age-years, median (IQR)</b>	63 (53-66)	
<b>Total dose of RAI-mCi, median (IQR)</b>	700 (450-925)	
<b>Thyroglobulin-ng/mL, median (IQR)</b>	482 (50-960)	
<b>Anti-thyroglobulin</b>		
Positive	5	(26)
Negative	14	(74)
<b>Sex</b>		
Male	12	(63)
Female	7	(37)
<b>Histological type</b>		
Papillary	15	(80)
Follicular	4	(20)
<b>Distant metastasis</b>		
Lung	17	(90)
Bone	7	(37)
Liver	5	(26)
CNS	1	(5)
<b>Metastatic site number, median (IQR)</b>	1 (1-2)	
<b>Previous chemotherapy</b>		
Yes	2	(10)
No	17	(90)

CNS: Central nervous system, IQR: Interquartile range, mCi: Millicuries, RAI: Radioactive iodine

**Table 2: Best responses**

	n=19	(%)
Complete response (CR)	0	(0)
Partially response (PR)	7	(36)
Stable disease (SD)	6	(32)
Progressive disease (PD)	6	(32)
<b>ORR (CR+PR)</b>	7	(36)
<b>DCR (CR+PR+SD)</b>	13	(68)

DCR: Disease control rate, ORR: Objective response rate

**Table 3: Adverse events**

	n=19 (%)	
	Grade 1-2	Grade 3-4
Skin rash	2 (10)	1 (5)
Loss of appetite	2 (10)	0 (0)
Hand-foot syndrome	1 (5)	0 (0)
Fatigue	1 (5)	0 (0)
Peripheral neuropathy	1 (5)	0 (0)
Diarrhea	1 (5)	0 (0)
<b>Total</b>	<b>8 (40)</b>	<b>1 (5)</b>

## Conclusion

We showed that the median OS was longer than three years in RR metastatic DTC patients treated with sorafenib in this real-life experience study. RR metastatic DTC patients have a poor prognosis and sorafenib is one of the mainstays of treatment in these patients.

### Ethics

**Ethics Committee Approval:** This study approved by the Ankara University Faculty of Medicine Human Research Ethics Committee (approval no: I3-86-19, date: 12/09/2019).

**Informed Consent:** Retrospective study.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

### Authorship Contributions

Concept: E.Y., E.B.K., F.Ç.Ş., H.A., A.D., Y.Ü., G.U., Design: E.Y., E.B.K., F.Ç.Ş., G.U., Data Collection or Processing: E.Y., E.B.K.,

Analysis or Interpretation: E.Y., E.B.K., Literature Search: E.Y., E.B.K., F.Ç.Ş., Writing: E.Y., E.B.K., F.Ç.Ş., H.A., A.D., Y.Ü., G.U.

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

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

## References

1. WHO. GLOBOCAN 2020 [cited 2020 29.12.2020]. Available from: <https://geo.iarc.fr/>.
2. Durante C, Haddy N, Baudin E, et al. Long-term outcome of 444 patients with distant metastases from papillary and follicular thyroid carcinoma: benefits and limits of radioiodine therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:2892-2899.
3. Ruegemer JJ, Hay ID, Bergstralh EJ, et al. Distant metastases in differentiated thyroid carcinoma: a multivariate analysis of prognostic variables. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;67:501-508.
4. Shobab L, Gomes-Lima C, Zeymo A, et al. Clinical, Pathological, and Molecular Profiling of Radioactive Iodine Refractory Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid.* 2019;29:1262-1268.
5. Schlumberger M, Tahara M, Wirth LJ, et al. Lenvatinib versus placebo in radioiodine-refractory thyroid cancer. *N Engl J Med.* 2015;372:621-630.
6. Brose MS, Nutting CM, Jarzab B, et al. Sorafenib in radioactive iodine-refractory, locally advanced or metastatic differentiated thyroid cancer: a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet.* 2014;384:319-328.
7. NCCN. Thyroid Cancer 2020 [cited 2020 29.12.2020]. Available from: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/thyroid.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/thyroid.pdf)
8. Oh HS, Shin DY, Kim M, et al. Extended Real-World Observation of Patients Treated with Sorafenib for Radioactive Iodine-Refractory Differentiated Thyroid Carcinoma and Impact of Lenvatinib Salvage Treatment: A Korean Multicenter Study. *Thyroid.* 2019;29:1804-1810.



# Kronik Perineal Ağrı Yönetiminde İmpar Ganglion Blok Etkinliğinin Değerlendirilmesi

## Evaluation of Impar Ganglion Block Effectivity in the Management of Chronic Perineal Pain

© Dostali Aliyev<sup>1</sup>, © Ümit Akkemik<sup>2</sup>, © Güngör Enver Özgencil<sup>1</sup>, © İbrahim Aşık<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Algoloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Konya Şehir Hastanesi, Algoloji Kliniği, Konya, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Kronik ağrı hayat kalitesi ve fonksiyonel kapasiteyi olumsuz etkileyen bir nedendir. Kronik ağrı sendromlarının pek çoğunda olduğu gibi perineal (pelvik) kronik ağrı da multimodal yaklaşım gerektirir. Konservatif tedavilere yanıt vermeyen olgularda ganglion impar blokajı, nörolizisi etkin olabilmektedir. Bu çalışmada kronik perineal ağrılı olgularda ganglion impar blokajının etkinliğini retrospektif olarak değerlendirdik.

**Gereç ve Yöntem:** Kronik perineal ağrı yakınması (ağrı süresi >6 ay) olan ve floroskopi rehberliğinde ganglion impar blokajı yapılmış 30 hasta retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Pelvik kanser ilişkili kronik perineal ağrısı olan 5 hastada diagnostik blok sonrası nörolizis uygulanmıştır.

**Bulgular:** Ortalama hasta yaşı 48,6±14,6 (28-75), %63,3 (19) kadın, %36,7 (11) erkek idi. İşlem öncesi ve sonrası vizüel analog skala ve fonksiyonel bel ağrısı skalası skorlarının karşılaştırmalarında anlamlı azalma gözlenmiştir (p<0,05).

**Sonuç:** Kronik perineal ağrı tedavisinde ganglion impar blokajı etkin tedavi seçenekleri arasındadır.

**Anahtar Kelimeler:** Pelvik Ağrı, Sinir Bloğu, Ağrı Yönetimi, Kimyasal Nörolizis, Floroskopi

### Abstract

**Objectives:** Chronic pain is a cause that negatively affects the quality of life and functional capacity. As with most chronic pain syndromes, perineal (pelvic) chronic pain requires a multimodal approach. Ganglion impar blockage and neurolysis may be effective in cases that do not respond to conservative treatments. In this study, we retrospectively evaluated the effect of ganglion impar block in patients with chronic perineal pain.

**Materials and Methods:** Thirty patients with chronic perineal pain (duration of pain >6 months), who underwent ganglion impar block under fluoroscopy, were evaluated retrospectively. Neurolysis was performed after diagnostic block in 5 patients with chronic perineal pain associated with pelvic cancer.

**Results:** The average age of the patients was 48.6±14.6 (28-75) years, 63.3% (19) were female, 36.7% (11) were male. Significant differences were observed in visual analogue scale and Oswestry disability index values before and after the procedure (p<0.05).

**Conclusion:** Ganglion impar blockade should be considered as an effective treatment option in the treatment of chronic perineal pain.

**Key Words:** Pelvic Pain, Nerve Block, Pain Management, Chemical Neurolysis, Fluoroscopy

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dostali Aliyev

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Algoloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

Tel.: +90 312 508 24 04 E-posta: dr.dostali.aliyev@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-6111-0938

Geliş Tarihi/Received: 23.02.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 22.09.2021

©Telif Hakkı 2022 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayinevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



## Giriş

Kronik perineal ağrı, anorektal ve/veya perineal bölgede 6 aydan uzun süre devam eden inatçı ağrı olarak tanımlanmaktadır (1). Semptomlara bilişsel, davranışsal, cinsel ve duygusal sorunlar; jinekolojik, üriner, pelvik taban ve bağırsak fonksiyon bozuklukları eşlik edebilir. Ortalama başlangıç yaşının 40 olduğu ve kadınlarda erkeklere göre 5 kat daha sıklıkta görüldüğü bildirilmektedir. Hastalar sıklıkla yanıcı ve batıcı tarzda ağrıdan yakınır. Olguların çoğu idiyopatikdir (2). Ancak perineal ağrı şikayeti ile başvuran hastalarda muhakkak altta yatan organik nedenlerin (tümör, prostatit vb) ayrıntılı fizik muayene, görüntüleme ve laboratuvar yöntemleri ile araştırılması gereklidir.

Kronik perineal ağrı tedavisi multimodal yaklaşım gerektirir. Non-steroid anti-enflamatuvar, topikal anestezi ajanlar, levator ani gevşeme egzersizleri ve transkutanöz elektriksel sinir stimülasyonu gibi konservatif tedaviler ile etkinlik sağlanamayan olgularda perikoksigeal enjeksiyonlar, kaudal epidural bloklar veya ganglion impar blokları uygulanmaktadır (3).

İmpar ganglion, paravertebral sempatik zincirin en son halkasıdır. Sakrumun ön yüzünde, retroperitoneal alanda, sakrokoksigeal bileşke-koksiks anteriorunda lokalizedir. Nadiren iki ayrı ganglion olarak sonlandığı anatomik varyasyonlar tanımlanmıştır (4). Literatürde ilk perkütan impar ganglion blokajı uygulaması Plancarte ve ark. (5) tarafından bildirilmiştir.

Çalışmamızda kronik perineal ağrı yakınması nedeni ile konservatif tedavilerden etkin sonuç alınamamış ve floroskopi eşliğinde impar ganglion blokajı uygulanmış hastalarda işlem etkinliğini retrospektif değerlendirmeyi amaçladık.

## Gereç ve Yöntemler

Çalışma için 01.09.2020 tarihli ve İ7-436-20 sayılı Ankara Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Çalışmalar Etik Kurulu onayı alınmıştır. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesi Algoloji Polikliniği'ne 01.01.2016-01.01.2018 tarihleri arasında kronik perineal ağrı ile takip edilen 18 yaş ve üzeri hastalar, hastanemizin elektronik veri tabanı ve kliniğimizde bulunan ağrı takip formları ile retrospektif olarak tarandı. Çalışmaya vizüel analog skala (VAS) puanı 7 ve üzeri olan ve impar ganglion bloğu uygulanan hastalar dahil edildi. On sekiz yaşından küçük hastalar, kronik enflamatuvar hastalık, primer koksidiya ile birlikte lumbosakral spinal patolojisi bulunan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Algoloji kliniğimizde girişimsel işlem planlanan hastalardan bilgilendirilmiş gönüllü onam formu alınmaktadır. Bu formu imzalayan hastalara aynı zamanda tıbbi bilgilerinin bilimsel çalışmalarda kullanılmasına da izin vermiş oldukları ile ilgili tarafımızca detaylı bilgi verilmektedir.

Polikliniğe başvurudaki VAS ve fonksiyonel bel ağrısı skalası (ODI) skoru, girişimsel işlem sonrası birinci, altıncı ve on ikinci ay VAS ve ODI skorları değerlendirilmiştir.

VAS sayısal olarak ölçülemeyen bazı değerleri sayısal hale çevirmek için kullanılır. 100 mm'lik bir çizginin iki ucuna değerlendirilecek parametrenin iki uç tanımı yazılır ve hastadan bu çizgi üzerinde kendi durumunun nereye uygun olduğunu bir çizgi çizerek veya nokta koyarak veya işaret ederek belirtmesi istenir.

ODI ağrının şiddeti, kişisel bakım, yük kaldırma, yürüme, oturma, ayakta durma, sosyal yaşam, uyuma, seyahat ve ağrı derecesini ölçen toplam 10 maddelik sorulardan oluşan bir anketdir. Her bir madde 0-5 arasında derecelendirilmektedir. Toplam puan arttıkça özürülülük düzeyi artmaktadır. Uygulaması ve puanlaması kolaydır, hastanın şikayetlerini somutlaştırır ve uygulanan tedavi etkinliğini takip etmeye olanak sağlar.

İmpar ganglion blokajı için birkaç teknik tanımlanmıştır (6). Kliniğimizde 22 G spinal iğne ile transsakrokoksigeal (transdiskal) yaklaşım uygulanmaktadır. Prone pozisyonda rutin monitorizasyon, sedoanaljezi, asepsi ve antisepsi sağlandıktan sonra C kollu fluoroskopi ile lateral ve anteroposterior görüntüler rehberliğinde girişim yapılacak sakrokoksigeal alan tespit edilir. Yirmi iki gaugespinal iğne ile fluoroskopi eşliğinde orta hattan sakrokoksigeal bileşkeden girilir (Şekil 1). İğne pozisyonu doğrulandıktan sonra 0,5-1 mL radyoopak madde verilerek virgül şeklinde yayılımı olduğu görülür, vasküler yayılım veya rektum penetrasyonu ekarte edilmiş olur (Şekil 2). Diagnostik bloktan fayda gören (VAS skorunda %50 azalma) inatçıl ağrılı hastalara (örneğin kanser ilişkili) nörolitik blok (4-6 mL %6-8 fenol solüsyonu) veya radyofrekans ablasyon uygulanabilir.

## İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesi SPSS 11.5 for Windows programı kullanılarak yapılmıştır. Çalışma popülasyonunun sayısal değişkenlerinin ortalama, standart sapma, medyan ve minimum-maksimum değerlerini içeren tanımlayıcı istatistikler kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Ayrıca kategorik değişkenler için frekans ve yüzde değerleri kullanılmıştır.

## Bulgular

Hastaların yaş, cinsiyet, boy, vücut kitle indeksi demografik verileri Tablo 1'de gösterilmiştir. Çalışma hastalarının 8'inde (%26,7) geçirilmiş travma (düşme), 5'inde (%16,6) pelvik organ malignitesi (mesane, rektum kanseri), 2'sinde (%6,2) ise interstisyel sistit öyküsü bulunmakta iken, 15 hasta (%50) ise idiyopatik olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 2).

VAS ve ODI değerlendirmelerinde işlem öncesi ortalama VAS skoru 8,4 iken işlemden bir saat sonra, bir ay sonra, altı ay ve bir

yıl sonraki VAS skoru sırasıyla 4, 2,2, 1,4, 0,9 olarak kaydedilmiştir (Tablo 3). VAS skorundaki değişimlerin hepsi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

İşlem öncesi hastaların ortalama ODI skoru %45,7 (ağır özürllülük) olarak kaydedilmiştir. Hastaların işlem sonrası birinci ay kontrolünde ODI skoru %21,8, altıncı ay kontrolde %10,4 ve on ikinci ay kontrolde ise %3 olarak kaydedilmiştir (Tablo 4). ODI skorundaki değişimlerin hepsi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

## Tartışma

Kronik perineal ağrı hastanın yaşam kalitesini düşüren ve fonksiyonel kapasitesini sınırlayan bir sorundur. Pelvik

**Tablo 1: Hastalara ait demografik veriler**

	Ortalama $\pm$ SS	Min. - Maks.
Yaş (yıl)	48,6 $\pm$ 14,6	28-75
Boy (cm)	169,2 $\pm$ 5,1	160-180
Kilo (kg)	72,3 $\pm$ 7,4	55-85
Vücut kitle indeksi	25,26 $\pm$ 2,5	19-29,7

SS: Standart sapma, Min.: Minimum değer, Maks.: Maksimum değer

**Tablo 2: Hastaların kronik perineal ağrı nedenleri**

Kronik perineal ağrı nedeni	Hasta sayısı	Yüzde (%)
İdiyopatik	15	50,0
Travma (Düşme)	8	26,7
Kanser	5	16,6
İnterstitial sistit	2	6,2

**Tablo 3: VAS skor değişimi**

N=30	Ortalama $\pm$ SS	p*
<b>İşlem öncesi</b>	8,4 $\pm$ 1,1	
<b>İşlem sonrası</b>		
1. saat	4,0 $\pm$ 0,6	p=0,011
1. ay	2,2 $\pm$ 0,8	p=0,000
6. ay	1,4 $\pm$ 0,8	p=0,000
12. ay	0,9 $\pm$ 0,6	p=0,000

\* $p<0,05$  (işlem öncesi ve işlem sonrası VAS skor değişimleri Friedman's Two-Way test kullanılarak analiz edilmiştir).

VAS: Vizüel analog skala, SS: Standart sapma

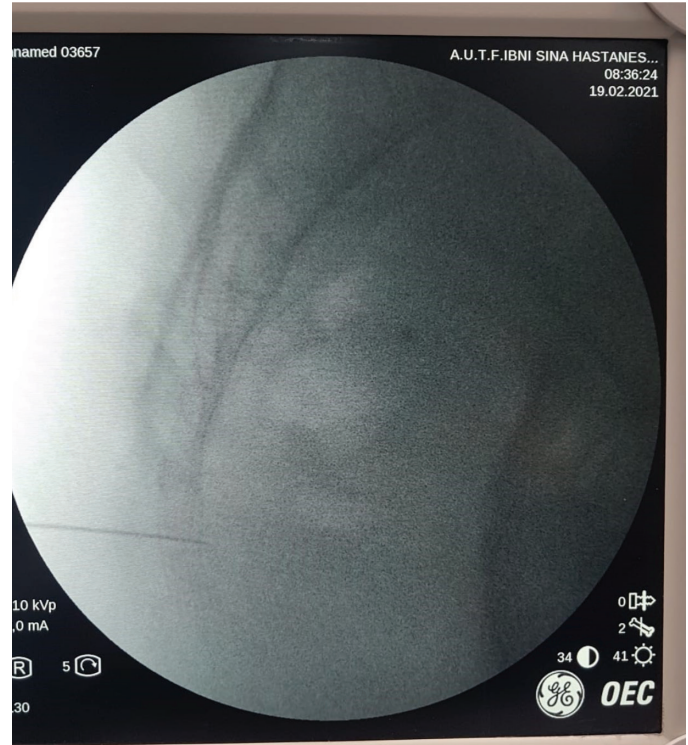
**Tablo 4: ODI skor değişimi**

N=30	Ortalama $\pm$ SS	p*
<b>İşlem öncesi</b>	45,7 $\pm$ 7,1	
<b>İşlem sonrası</b>		
1. ay	21,8 $\pm$ 3,8	p=0,016
6. ay	10,4 $\pm$ 3,0	p=0,000
12. ay	3,0 $\pm$ 1,5	p=0,000

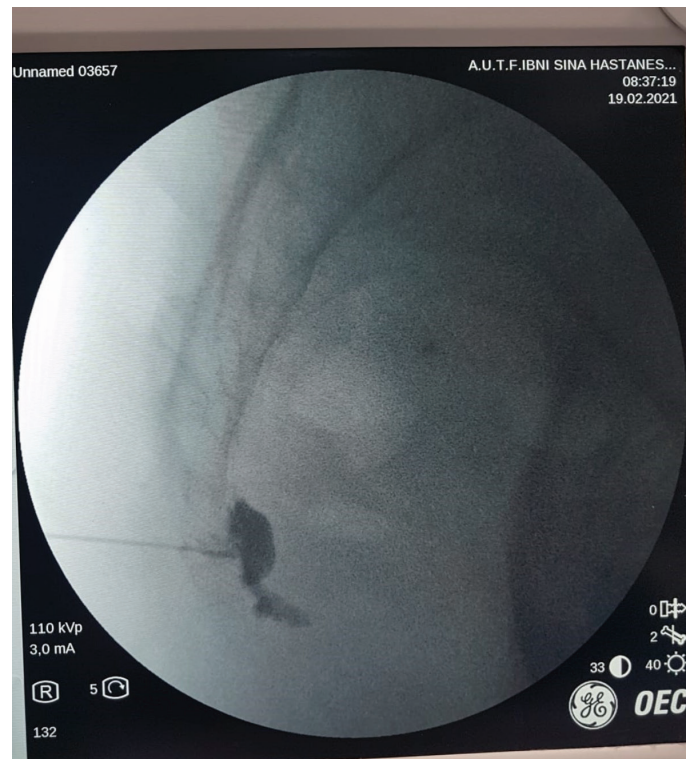
\* $p<0,05$  (işlem öncesi ve işlem sonrası ODI skor değişimleri Friedman's Two-Way test kullanılarak analiz edilmiştir).

SS: Standart sapma, ODI: Fonksiyonel bel ağrısı skalası

ağrılarda; ürolojik, jinekolojik, muskuloskeletal nedenlerin yanı sıra gastrointestinal sistem patolojileri, psikiyatrik ve nörolojik hastalıklar etiolojide yer alabilir. Ancak pek çok olguda ağrı nedeni bulunamaz ve idiyopatik olarak sınıflandırılır.



**Şekil 1: Lateral görüntüde sakrokoksigeal bileşkede iğne pozisyonu**



**Şekil 2: Radyopak maddenin yayılımı**

Çalışmamızda kronik perineal ağrı tanısı konulan hastalara uygulanan impar blok sonrası VAS ve ODI skorlarındaki 1 yıllık değişim araştırılmıştır. Ağrı tedavisinde uygulanan sinir blokajı işlemlerinde 3-6 aydan daha uzun süreli çalışmaların, işlemin kalıcı etkisi konusunda daha aydınlatıcı sonuçları olduğuna inanıyoruz. Çalışmamızda 30 hastanın 23'ünde (%76,7) impar blok işleminden 1 yıl sonraki VAS skorunda başlangıca göre %50'den fazla azalma kaydedilmiştir, ODI skorunda ise başlangıca göre %65,6 oranında iyileşme kaydedilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Literatürde kronik perineal ağrı kadınlarda erkeklere göre beş kat fazla görülür ve 40 yaş üzerinde pik yapar (7). Maigne ve ark. (2) yaptıkları çalışmaya göre kronik perineal ağrı sendromu kadınlarda daha fazla görülmektedir. Bu çalışmada literatürdeki bilgilere benzer olarak hastaların yaş ortalaması 48,6 olup hastaların %63,3 (19 hasta) kadındır.

Çalışma hastalarının %50'sinde (15 hasta) kronik perineal ağrı nedeni bilinmemektedir (idiyopatik) ve bu veri literatür ile uyumludur (8). Pennekamp ve ark. (9) çalışmasında kronik perineal ağrı sendromunun risk faktörleri arasında koksiksin direkt veya tekrarlayıcı minör travmasının öneminden bahsedilmektedir. Çalışma bulgularımızda 8 hastada etiyolojik faktör olarak düşmeye bağlı travma, 5 hastada pelvik tümörler, 2 hastada ise interstisiyel sistit görülmektedir.

Kronik perineal ağrı sendromunun tedavi yöntemleri fizik, farmakolojik, cerrahi ve algolojik girişimsel işlemleri içermektedir (10). Kronik pelvik/perineal ağrı tedavisinde algolojik girişimsel işlemlerden tetik nokta enjeksiyonu, botulinum toksini tip A enjeksiyonu, lomber pleksus, süperior hipogastrik pleksus, ganglion impar bloğu yaygın olarak uygulanmaktadır (10).

İmpar ganglion bloğu için hasta seçimi önemlidir. Çalışmamıza dahil edilmiş hastaların hiçbirinde karın ağrısı, tenesmus, kabızlık/ishal, dismenore ve hemoroid öyküsü yoktu. Hastaların hiçbirinde radiküler belirti veya semptom yoktu, lomber ekstansiyon ve lateral rotasyonla şiddetlenen gerginlik belirtileri, faset eklem hassasiyeti veya ağrı olmadığı gibi pilonidal sinüs bulgusu da bulunmamakta idi.

İmpar ganglion (Walther ganglion) sempatik zincirin en son ganglionu olup perine bölgesinin sempatik innervasyonunu sağlamaktadır. İmpar ganglion blokajı kronik perineal ağrı tedavisinde etkin olabilecek bir yöntemdir. Tek doz steroid+lokal anestetik karışım enjeksiyonu ile ağrı %50-75 oranında azaltmakta ve bu etki haftalar bazen aylar sürebilmektedir (11).

İmpar ganglion blokajında 2-5 mL lokal anestetik yeterli olmakla beraber yapılan çalışmalar lokal anesteziğe steroid eklenmesinin uzun dönem ağrı kontrolü üzerine olumlu sonucu olduğunu göstermiştir (12).

Bupivakain daha uzun etki süresi ile tercih edilen lokal anestetiktir (13). Çalışmamızda impar ganglion bloğunda %0,5 bupivakain 2 mL+8 mg deksametazon karışımı uygulanmıştır.

İlk kez Plancarte ve ark. (5) tarafından tanımlanan perkütan impar ganglion blokajı ucu eğri iğne vasıtasıyla klasik ve paramedian yaklaşımla yapılabilmektedir. Kliniğimizde 22 G iğne ile transsakrokoksigeal yaklaşım uygulanmaktadır. Diğer yöntemlere göre daha konforlu, daha kolay yönetilebilen, daha az yumuşak doku ve organ hasarına neden olmaktadır. Kanama ve diskrit bu tekniğin olası komplikasyonlarıdır (14). Çalışmamıza dahil edilen 30 hastanın hepsinde transsakrokoksigeal yaklaşım ile başarılı blok uygulanmıştır.

İmpar ganglionun lokalizasyonu varyasyonlar gösterebilmektedir. Sakrokoksigeal bileşke ve sakrum anteriorunda herhangi bir lokalizasyonda, ender de olsa koksiks distal ucunda mevcut olabilir. Oh ve ark. (15) yapmış olduğu topografik anatomi çalışmasında impar ganglionunun %26 sakrokoksigeal eklem ve koksiks ucunu birleştiren hattın ortasına lokalize olduğu rapor edilmiştir. Anatomik varyasyona bağlı olarak impar ganglionun sakrokoksigeal bileşke veya koksiks ucuna yakın olmakla farklı konumu blokaj başarısını doğrudan etkileyen bir faktördür. Bazı merkezlerde bu amaçla bilgisayar tomografi kullanılmaktadır. İğnenin güvenli ve doğru bir şekilde yönlendirilmesi, anatomik varyasyonlarda ganglion lokalizasyonunun daha doğru tespitinin sağlanması bilgisayarlı tomografinin avantajlarından (16). Kliniğimizde işlem fluoroskopi eşliğinde yapılmaktadır. İntravasküler enjeksiyondan kaçınılması, iğne ucunun aşırı anterior yerleşmesi ile olası rektum perforasyonu veya posterior yanlış lokalizasyonla intradiskal yerleşimin önlenmesi, radyasyon seviyesinin bilgisayarlı tomografiye göre düşük olması, işlem süresinin kısalığı, maliyet azalması bu tekniğin avantajlarından (17).

İdiyopatik olgularda ağrı nedeninin enflamatuvar olduğu düşünülmekte ve bu nedenle kortikosteroid enjeksiyonu önerilmektedir. Diagnostik veya teropatik bloklarda metilprednizolon yaygın olarak kullanılmaktadır (10). Metilprednizolon partikülleri uniform bir yapıya sahiptir ve büyük bir çoğunluğu alyuvarlardan daha küçük çaptadır. Agregasyon özelliği düşük olsa da emboli riski vardır. Deksametazon partikülleri 0,5 µm çapları ile alyuvarlardan 5-10 kez daha küçük yapıdadır. Suda eriyebilir. Agregasyon özelliği yoktur. Deksametazon lokal anestetiklerle birlikte aynı enjektörde kullanıldığında viskozitesi bir miktar artmakla birlikte agregasyonu artmaz (18). Kliniğimizde bu amaçla deksametazon tercih edilmektedir.

Pelvik organ tümörlerine bağlı kronik perineal ağrı sendromu kimi zaman konservatif tedaviye dirençli olabilmektedir. Ağrı nedeni; tümörün kendisi veya tedaviye sekonder (radyoterapi) iyatrojenik sinir ve doku hasarı olabilir. Sinir hasarı mevcut ise yanma, batma, karıncalanma veya iğnelenme gibi şikayetlere neden olan nöropatik ağrı olarak sınıflandırılır. Nöropatik ağrıda tedaviye antiepileptikler (gabapentin, pregabalin), trisiklik

antidepresanlar (amitriptilin) veya selektif serotonin gerilim inhibitörleri eklenebilir. Konservatif tedaviye dirençli olgularda impar ganglionun nörolitik ajanlar (fenol veya alkol solüsyonları) ile kimyasal ablasyon veya konvansiyonel radyofrekans (70 °C ve üzeri) ile elektriksel ablasyon etkinliği birçok çalışmada gösterilmiştir (19-21). Çalışmamızda pelvik organ kanserleri tanısı bulunan 5 hastaya diagnostik blok sonrası, %6 fenol (3 mL %6 fenol+2 mL %0,5 bupivakain) ile kimyasal nörolizis yapılmıştır. Nörolitik blok sonrasında 5 hastada da kontrol edilen dönem için etkin analjezinin sağlanmış olduğu tespit edilmiştir.

Koksidinia için koksigektominin etkinliği konusundaki sonuçlar değişkendir, çalışmalar %60 ila %91 oranında başarı oranları bildirmiştir (22-26).

### Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmanın retrospektif olması çalışmanın dezavantajıdır. Kronik pelvik ağrının tedavisi, sınırlı kanıta dayalı tedavi seçenekleri ile genellikle karmaşıktır. Özellikle perine bölgesinde yanıcı tarzda ağrının ön planda olduğu durumlarda sempatik deşarjin varlığı görülmektedir. Hastaların ayrıntılı anamnezleri, detaylı fizik muayenelerinin yapılması olası etiyojinin ortaya çıkarılmasında büyük önem taşır. Elde edilen veriler doğrultusunda gerekli laboratuvar testlerinin, görüntüleme yöntemlerinin ve diğer özel tetkiklerin planlanması akılcı olacaktır.

### Sonuç

Kronik perineal ağrı tedavisinde impar ganglion blokajı etkin bir tedavi seçeneğidir. Fluoroskopi eşliğinde transsakrokoksigeal yaklaşımla lokal anestezi+steroid karışımı ile yapılan blokaj sonuçları yüz güldürücüdür. Kanser kaynaklı perineal ağrılarda diagnostik blok ile etkinlik sağlanan hastalara nörolitik blok yapılabilmektedir.

### Etik

**Etik Kurul Onayı:** Çalışma için 01.09.2020 tarihli ve İ7-436-20 sayılı Ankara Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Çalışmalar Etik Kurulu onayı alınmıştır.

**Hasta Onayı:** Algoloji kliniğimizde girişimsel işlem planlanan hastalardan bilgilendirilmiş gönüllü onam formu alınmaktadır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunun dışından olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

### Yazarlık Katkıları

Konsept: D.A., Ü.A., G.E.Ö., İ.A., Dizayn: D.A., Ü.A., G.E.Ö., İ.A., Veri Toplama veya İşleme: D.A., Ü.A., G.E.Ö., İ.A., Analiz veya Yorumlama: D.A., Ü.A., G.E.Ö., İ.A., Literatür Arama: D.A., Ü.A., G.E.Ö., İ.A., Yazan: D.A., Ü.A., G.E.Ö., İ.A.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

### Kaynaklar

1. Andromanos NP, Kouraklis G, Alkiviadis K. Chronic perineal pain: current pathophysiological aspects, diagnostic approaches and treatment. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2011;23:2-7.
2. Maigne JY, Doursounian L, Chatellier G. Causes and mechanisms of common coccydynia: role of body mass index and coccygeal trauma. *Spine (Phila Pa 1976).* 2000;25:3072-3079.
3. Nagpal AS, Moody EL. Interventional Management for Pelvic Pain. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2017;28:621-646.
4. Raj PP, Erdine S. Interventional Pain Procedures in the Pelvic and Sacral Regions. In: P.P. Raj and S. Erdine, editors. *Pain-Relieving Procedures.* 1st ed. Chichester, John Wiley&Sons Limited. 2012. pp. 337-383. doi:https://doi.org/10.1002/9781118300480.ch17
5. Plancarte R, Amescua C, Patt RB, Allende S. A751 Presacral neurectomy of the ganglion of walther (Ganglion Impar). *Anesthesiology.* 1990;73:751.
6. Laxmaiah M. in: Karina G, Michael L, Vikram BP. ed. *Essentials of Interventional Techniques in Managing Chronic Pain.* 1st ed. Cham: Springer International Publishing: AG; 2018. s. 582-587.
7. Gunduz OH, Sencan S, Kenis-Coskun O. Pain Relief due to Transsacrocoxygeal Ganglion Impar Block in Chronic Coccygodynia: A Pilot Study. *Pain Med.* 2015;16:1278-1281.
8. Fogel GR, Cunningham PY, Esses SI. Coccygodynia: evaluation and management. *J Am Acad Orthop Surg.* 2004;12:49-54.
9. Pennekamp PH, Kraft CN, Stütz A, et al. Coccygectomy for coccygodynia: does pathogenesis matter? *J Trauma.* 2005;59:1414-1419.
10. Mitra R, Cheung L, Perry P. Efficacy of fluoroscopically guided steroid injections in the management of coccydynia. *Pain Physician.* 2007;10:775-778.
11. Buttaci JC, Foye PM, Stitik TP. Coccydynia successfully treated with ganglion impar blocks: A case series. *Am J Phys Med Rehabil.* 2005;84:218.
12. Sencan S, Edipoglu IS, Ulku Demir FG, et al. Are steroids required in the treatment of ganglion impar blockade in chronic coccydynia? a prospective double-blinded clinical trial. *Korean J Pain.* 2019;32:301-306.
13. Yektaş A. Bupivakain-Lidokain Karışımının Neden Olduğu Sistemik Lokal Anestezi Toksisitesinde İntravenöz Lipid ile Tedavi. *Okmeydanı Tıp Dergisi.* 2017;33:172-177.
14. Loev MA, Varklet VL, Wilsey BL, et al. Cryoablation: a novel approach to neurolysis of the ganglion impar. *Anesthesiology.* 1998;88:1391-1393.
15. Oh CS, Chung IH, Ji HJ, et al. Clinical implications of topographic anatomy on the ganglion impar. *Anesthesiology.* 2004;101:249-250.
16. Datir A, Connell D. CT-guided injection for ganglion impar blockade: a radiological approach to the management of coccydynia. *Clin Radiol.* 2010;65:21-25.
17. Agarwal-Kozlowski K, Lorke DE, Habermann CR, et al. CT-guided blocks and neuroablation of the ganglion impar (Walther) in perineal pain: anatomy, technique, safety, and efficacy. *Clin J Pain.* 2009;25:570-576. doi:10.1097/AJP.0b013e3181a5f5c7
18. Serdar E. Algolojide Girişimsel İşlemler. 1st ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti; 2012.s.58-60.
19. Eker HE, Çok OY, Koçum A, et al. Transsacrocoxygeal approach to ganglion impar for pelvic cancer pain: a report of 3 cases. *Reg Anesth Pain Med.* 2008;33:381-382.
20. Bhatnagar S, Khanna S, Roshni S, et al. Early ultrasound-guided neurolysis for pain management in gastrointestinal and pelvic malignancies: an observational study in a tertiary care center of urban India. *Pain Pract.* 2012;12:23-32.

21. Demircay E, Kabatas S, Cansever T, et al. Radiofrequency thermocoagulation of ganglion impar in the management of coccydynia: preliminary results. *Turk Neurosurg.* 2010;20:328-333.
22. Perkins R, Schofferman J, Reynolds J. Coccygectomy for severe refractory sacrococcygeal joint pain. *J Spinal Disord Tech.* 2003;16:100-103.
23. Bayne O, Bateman JE, Cameron HU. The influence of etiology on the results of coccygectomy. *Clin Orthop Relat Res.* 1984;190:266-272.
24. Grosso NP, van Dam BE. Total coccygectomy for the relief of coccygodynia: a retrospective review. *J Spinal Disord.* 1995;8:328-330.
25. Hellberg S, Strange-Vognsen HH. Coccygodynia treated by resection of the coccyx. *Acta Orthop Scand.* 1990;61:463-465.
26. Key JA. Operative treatment of coccygodynia. *J Bone Joint Surg.* 1937;19:759-764.

# Relationship Between Serum CA 19-9 Levels and Lymphovascular and Perineural Invasion of the Tumor and Lymph Node Metastasis in Patients Operated due to Pancreatic Carcinoma

Pankreas Karsinomu Nedeniyle Ameliyat Edilen Hastalarda Serum CA 19-9 Düzeyleri ile Tümörün Lenfovasküler ve Perinöral Invazyonu ve Lenf Nodu Metastazı Arasındaki İlişki

Meriç Emre Bostancı<sup>1</sup>, Murat Can Mollaoğlu<sup>1</sup>, Kürşat Karadayı<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sivas Numune Hospital, Clinic of Surgical Oncology, Sivas, Turkey

<sup>2</sup>Sivas Cumhuriyet University Faculty of Medicine, Department of Surgical Oncology, Sivas, Turkey

## Abstract

**Objectives:** The aim of this study was to determine the relationship between serum CA 19-9 levels and lymphovascular and perineural invasion and lymph node metastasis in patients operated due to pancreatic cancer.

**Materials and Methods:** A total of 32 patients underwent pancreaticoduodenectomy or distal pancreatectomy at Sivas Cumhuriyet University Department of Surgical Oncology. CA 19-9 values were evaluated by retrospectively examining the data of the patients. By examining the pathology reports, the presence of lymphovascular and perineural invasion and lymph node metastasis was evaluated.

**Results:** The mean serum CA 19-9 level in patients with lymphovascular invasion was 242.38 U/mL, and the mean serum CA 19-9 level in patients without lymphovascular invasion was 31.73 U/mL. The mean serum CA 19-9 level was 220.93 U/mL in patients with perineural invasion and 15.23 U/mL in patients without perineural invasion. The mean serum CA 19-9 level was 238.52 U/mL in patients with lymph node metastasis and 35.16 U/mL in patients without lymph node metastasis. A value of 16.25 U/mL of serum CA 19-9 gives a positive result of 84.7% for lymphovascular invasion and 91.8% for perineural invasion. A value of 27.06 U/mL of serum CA 19-9 gives a positive result of 85.9% for lymph node metastasis.

**Conclusion:** Lymphovascular invasion was detected in 94.44% and perineural invasion was detected in 90.48% of our patients with serum CA19-9 values above 16.25 U/mL. Lymph node metastasis was detected in 80.7% of our patients with serum CA19-9 values above 27.06 U/mL. Before surgery, it is important to predict the probability of lymphovascular and perineural invasion of the tumor and lymph node metastasis, and to make the decision to perform broader surgery and perform adjuvant, neoadjuvant therapy and serum CA19-9 levels are of great benefit in this regard.

**Key Words:** Pancreatic Cancer, CA 19-9, Lymphovascular And Perineural Invasion

## Öz

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı pankreas kanseri nedeniyle ameliyat edilen hastalarda serum CA 19-9 düzeyleri ile lenfovasküler ve perinöral invazyon ve lenf nodu metastazı arasındaki ilişkiyi belirlemektir.

**Gereç ve Yöntem:** Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Cerrahi Onkoloji Kliniği'nde, pankreatikoduodenektomi veya distal pankreatektomi uygulanan 32 hastanın verileri, CA 19-9 düzeyleri retrospektif olarak incelendi. Patoloji raporları incelenerek lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığı, lenf nodu metastazı değerlendirildi.

**Bulgular:** Lenfovasküler invazyonu olan hastalarda ortalama serum CA 19-9 seviyeleri 242,38 U/mL, olmayan hastalarda ortalama serum CA19-9 seviyeleri 31,73 U/mL idi. Perinöral invazyonu olan hastalarda ortalama serum CA19-9 seviyeleri 220,93 U/mL idi, olmayan hastalarda ortalama serum CA 19-9 seviyeleri 15,23 U/mL idi. Lenf nodu metastazı olan hastalarda ortalama serum CA19-9 seviyeleri 238,52 U/mL, lenf nodu metastazı

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Meriç Emre Bostancı

Sivas Numune Hospital, Clinic of Surgical Oncology, Sivas, Turkey

Phone: +90 506 302 20 72 E-mail: drmericembostanci@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-0429-9834

Received/Geliş Tarihi: 14.09.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 22.10.2021

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.

All content are under CC BY-NC-ND license.



olmayan hastalarda ortalama serum CA 19-9 seviyeleri 35,16 U/mL idi. Serum CA19-9 değeri 16,25 U/ml lenfovasküler invazyon için %84,7 ve perinöral invazyon için %91,8 pozitif sonuç verir. Serum CA19-9 değeri, 27,06 U/mL lenf nodu metastazı için %85,9'luk bir pozitif sonuç vermektedir.

**Sonuç:** Serum CA 19-9 değerleri 16,25 U/mL'nin üzerinde olan hastalarımızın %94,44'ünde lenfovasküler invazyon, %90,48'inde perinöral invazyon saptandı. Serum CA 19-9 değerleri 27,06 U/mL'nin üzerinde olan hastalarımızın %80,7'sinde lenf nodu metastazı saptandı. Ameliyattan önce, tümörün lenfovasküler ve perinöral invazyon olasılığını, lenf nodu metastazını tahmin etmek, daha geniş bir ameliyat yapma ve adjuvan, neoadjuvan tedavi yapma kararını vermek önemlidir ve serum CA 19-9 düzeyi bu konuda büyük fayda sağlamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Pankreas Kanseri, CA 19-9, Endovasküler Ve Perinöral İnvazyon

## Introduction

Pancreatic cancer is shown as the 4<sup>th</sup> deadliest cancer in the world among all cancer types (1). At the time of diagnosis, 52% of the patients have diffuse disease, 26% of them have regional spread, and only 15-20% of the patients have the tumor in the surgical removal stage (2). While the one-year overall survival rate of pancreatic cancer is 26%, the five-year survival rate is 6% (3). The size, location, differentiation level, and lymph node relationship of the tumor have been associated with clinical outcomes. In addition, pancreatic cancer incidence and mortality rate increase with advancing age (4,5).

Cancer antigen (CA) 19-9 is a marker that can be seen at high levels in malignant tumors such as bile duct, colon, stomach, ovarian, hepatocellular, esophagus and pancreatic cancers. It is used for differential diagnosis of conditions that will be confused with pancreatic cancer and again for the evaluation of response to treatment and relapse in pancreatic cancer (6). High levels of CA 19-9 can also occur in benign conditions such as biliary tract obstruction, cholangitis, inflammatory bowel disease, acute or chronic pancreatitis, cirrhosis of the liver, cystic fibrosis, and thyroid diseases (7). Serum CA19-9 value after resection is an independent indicator of recurrence and life expectancy, and CA19-9 level is correlated with tumor spread and metastatic disease (8,9).

Lymphovascular invasion is the invasion of tumor cells into blood vessels or lymphatic vessels. Lymphovascular invasion is significant in affecting local recurrence, lymph node metastasis, distant metastasis, and disease-free life expectancy, so it is considered an important prognostic indicator. Although lymphatic and blood vessel invasion, lymph node metastasis and micrometastases to lymph nodes are prognostic criteria that determine survival and recurrence in ampulla cancer, it is also a determinant of postoperative liver metastasis according to some researchers (10,11). In pancreatic cancer, the rate of lymphovascular invasion in tumors less than 2 cm is 86%; in tumors of 4-6 cm, it is 100%. Lymph vessel invasion rates are high even in patients without lymph node metastasis (12). Lymph node metastasis and total lymph node metastatic lymph node rate in pancreatic cancer are also markers found by researchers to be prognostically significant (13,14).

Perineural invasion is the appearance of cancer cells in the medial part of the perineurium. Perineural invasion is one of the important pathways involved in the spread of pancreatic cancer (15). Plexus invasion is observed more frequently in pancreatic cancer located in the pancreatic head than distal bile duct cancer and vater papilla carcinoma (16). The fact that perineural invasion is in various spreading patterns, does not always follow lymph node metastasis, occurs both before and after lymph node metastasis and peritoneal spread, requiring a closer examination of perineural invasion in order to perform curative treatment and improve prognosis in patients with pancreatic cancer (16).

The aim of this study was to determine the relationship between serum CA 19-9 levels and lymphovascular and perineural invasion and lymph node metastasis in patients operated due to pancreatic cancer. The low number of patients and the single-center of the study were restrictive aspects of this study.

## Materials and Methods

### Ethics Committee Approval

Ethics committee approval of the study was obtained from Sivas Cumhuriyet University Clinical Research Ethics Committee with the decision numbered 2020-10/34. The study was also carried out in accordance with the Helsinki Declaration of Principles. We have received verbal consent from patients.

### Study Population

A total of 32 patients with a pre-diagnosis of pancreatic cancer underwent pancreaticoduodenectomy or distal pancreatectomy at Sivas Cumhuriyet University Department of Surgical Oncology, between February 2015 and December 2019. The exclusion criteria of the study; the presence of another malignancy, metastatic disease, bile duct obstruction, cholangitis, inflammatory bowel disease, acute or chronic pancreatitis, liver cirrhosis.

### Study Design

The data of the patients were analyzed retrospectively, and their demographic findings, CA 19-9 values, and stage of the disease were evaluated. The presence of lymphovascular and perineural invasion, lymph node metastasis, and tumor diameter



were evaluated by examining the pathology reports. Serum CA19-9 reference range is 0-37 U/mL.

### Statistical Analysis

The data was recorded in the SPSS 25.0 software program (IBM Corp, Armonk, NY, USA). ChiSquare and Mann-Whitney U tests were used for statistical evaluation, and cases where the p value was below 0.05 were considered statistically significant. Receiver operator characteristic (ROC) curve analysis was used to determine over which limit CA19-9 was associated with perineural invasion.

## Results

Of the patients, 14 (43.7%) were female and 18 (56.2%) were male. The mean age of the patients was  $62.4 \pm 6.1$  (21-82). Pathology results of patients; there were 26 ductal adenocarcinoma, 4 neuroendocrine tumor, 2 intraductal papillary mucinous neoplasia. Of the patients, 21 (65.6%) had pancreaticoduodenectomy, and 11 (34.3%) had distal pancreatectomy. In 8 cases (25.0%), the tumor was found to be a good degree, in 21 (65.6%) to be a moderate degree, and in 3 (9.3%) to be a bad degree differential. The mean tumor diameter of the patients was  $4.6 \pm 2.1$  cm. Lymphovascular invasion was detected in 18 (56.2%) of patients, perineural invasion in 21 (65.6%), lymph node metastasis in 26 (81.2%), CA 19-9 elevation in 19 (59.3%) (Table 1).

While lymphovascular invasion was detected in 3 (23.0%) of the patients with serum CA19-9 level below 37 U/mL, lymphovascular invasion was not detected in 10 (76.9%) of them. While lymphovascular invasion was detected in 15 (78.9%) of the patients whose CA19-9 level was above 37 U/mL, lymphovascular invasion was not detected in 4 (21.0%) of them. The CA19-9 level given in Table 2 was found to be statistically significant in lymphovascular invasion ( $p < 0.001$ ).

While perineural invasion was detected in 4 (30.7%) of the patients with a CA 19-9 level below 37 U/mL, 9 (69.2%) of them did not have perineural invasion. While perineural invasion was detected in 17 (89.4%) of the patients whose CA19-9 level was above 37 U/mL, perineural invasion was not detected in 2 (10.5%) of them. CA19-9 level was found to be in a statistically significant relationship with perineural invasion ( $p < 0.001$ ) (Table 2).

Lymph node metastasis was detected in 5 (38.4%) of the patients with a CA19-9 level below 37 U/mL, as shown in Table 2, while lymph node metastasis was not detected in 8 (61.5%). Lymph node metastasis was detected in 18 (94.7%) of the patients whose CA19-9 level was above 37 U/mL, while lymph node metastasis was not detected in 1 (5.2%). CA19-9 level was found to be in a statistically significant relationship with lymph node metastasis ( $p < 0.001$ ).

Mean serum CA 19-9 levels in patients with lymphovascular invasion were 242.38 U/mL, and mean serum CA19-9 levels in patients without lymphovascular invasion were 31.73 U/mL. Mean serum CA19-9 levels in patients with perineural invasion were 220.93 U/mL, and mean serum CA 19-9 levels in patients without perineural invasion were 15.23 U/mL. Mean serum CA 19-9 levels in patients with lymph node metastasis were 238.52 U/mL, and mean serum CA19-9 levels in patients without lymph node metastasis were 35.16 U/mL (Table 3).

As a result of the ROC analysis performed to determine above which value the serum CA19-9 level increased the frequency of lymphovascular invasion, it was determined that the lymphovascular invasion rate increased significantly in CA19-9 values above 16.25 U/mL (Figure 1). A value of 16.25 U/mL of CA19-9 gives a positive result of 84.7% for lymphovascular invasion. As a result of the analysis, the positive predictive value of CA19-9 in predicting lymphovascular invasion is 94.44%. As a result of the ROC analysis, it was determined that the perineural invasion rate increased significantly at the values of CA19-9 above 16.25 U/mL (Figure 2). A value of 16.25 U/mL of CA19-9 gives a 91.8% positive result for perineural invasion. As a result of the analysis, the positive predictive value of CA19-9 in predicting perineural invasion is 90.48%. Similarly, looking at

**Table 1: Demographic and clinicopathological characteristics of cases**

Cases of pancreatic cancer	Cases
<b>Age</b>	62.4±6.1
<b>Gender n (%)</b>	
Female	14 (43.7%)
Male	18 (56.2%)
<b>Performed surgery n (%)</b>	
Pancreaticoduodenectomy	21 (65.6%)
Distal pancreatectomy	11 (34.3%)
<b>Tumor grade n (%)</b>	
1	8 (25.0%)
2	21 (65.6%)
3	3 (9.3%)
<b>Tumor diameter (cm) (mean ± SD*)</b>	4.6±2.1
<b>Lymphovascular invasion n (%)</b>	
Yes	18 (56.2%)
No	14 (43.7%)
<b>Perineural invasion n (%)</b>	
Yes	21 (65.6%)
No	11 (34.3%)
<b>Lymph node metastasis n (%)</b>	
Yes	26 (81.2%)
No	6 (18.7%)
<b>High level of CA 19-9 n (%)</b>	
Yes	19 (59.3%)
No	13 (40.6%)

SD\*: Standard deviation

the results of ROC analysis to determine which value of CA19-9 level increased the frequency of lymph node metastasis, it was determined that the rate of lymph node metastasis increased significantly at values of CA19-9 above 27.06 U/mL (Figure 3). A value of 27.06 U/mL of CA19-9 gives a positive result of 85.9% for lymph node metastasis. As a result of the analysis, the positive predictive value of CA19-9 in predicting lymph node metastasis is 80.77%.

## Discussion

Pancreatic cancer ranks 13<sup>th</sup> among the most common types of cancer in the world (17). Despite standard curative surgery, pancreatic cancer treatment results are still poor. One of the possible reasons for this is local recurrence as a result of perineural and lymphovascular invasion (16). There are many studies investigating a wide range of treatment options such as wider surgeries, neoadjuvant, adjuvant chemoradiotherapy, intraoperative radiation therapy with the aim of reducing or preventing local recurrence in pancreatic cancer (18,19). 80%

of pancreatic cancer cases are between the ages of 60-80, very rare under the age of 40 (20). While pancreatic cancer that occurs at a younger age is 3 times more common in men than in women, the difference between men and women disappears in advanced ages and the incidence is equalized (21). Similarly, 18 of the cases of our study were male patients, and the average age of all the cases taken in the study was 62.4±6.1.

CA 19-9, an important indicator for pancreatic carcinoma, can be caused by both normal and tumor-containing epithelial cells of the pancreas. It is used for differential diagnosis of diseases that will be confused with pancreatic cancer and again for the evaluation of response to treatment and relapse in pancreatic cancer (22). High CA 19-9 (>1,000 U/mL) levels often indicate an advanced tumor with no chance of resection, even if they are not sufficient to be considered a preoperative inoperability criterion (22). A decrease in the postoperative CA 19-9 level is correlated with good survival. Conversely, postoperative high levels are also correlated with short survival and high recurrence rate (22). In this study, the association between serum CA19-9 and height

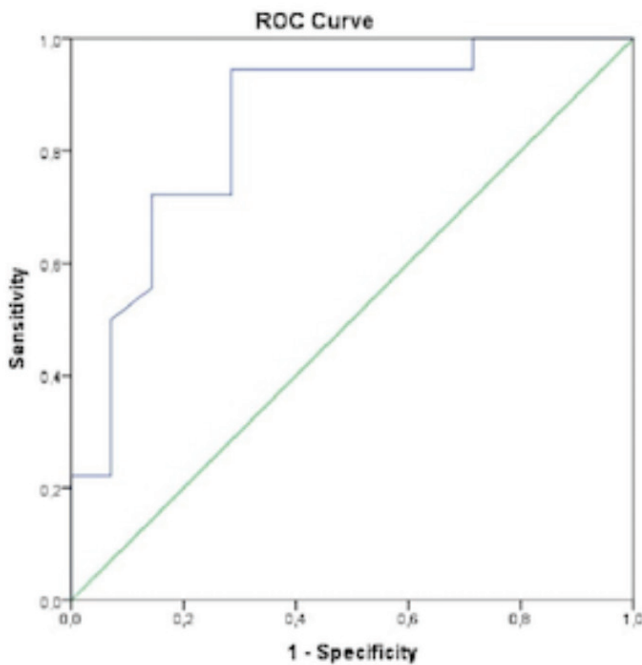


Figure 1: Lymphovascular invasion ROC analysis

ROC: Receiver operator characteristic

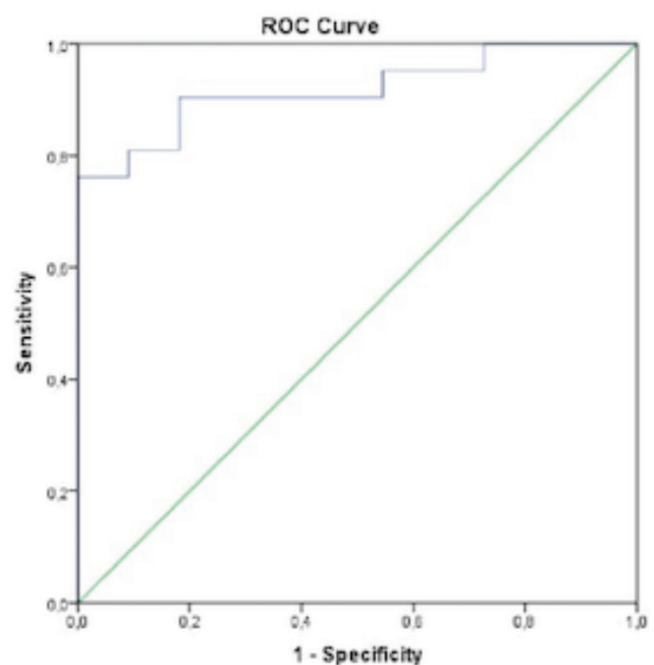


Figure 2: Perineural invasion ROC analysis

ROC: Receiver operator characteristic

Table 2: Comparison of Serum CA 19-9 levels with lymphovascular invasion, perineural invasion, and lymph node metastasis

CA 19-9	Normal (<37 U/mL)		High (>37 U/mL)		p-value
	Yes n (%)	No n (%)	Yes n (%)	No n (%)	
Lymphovascular invasion	3 (23.0)	10 (76.9)	15 (78.9)	4 (21.0)	<0.001
Perineural invasion	4 (30.7)	9 (69.2)	17 (89.4)	2 (10.5)	<0.001
Lymph node metastasis	5 (38.4)	8 (61.5)	18 (94.7)	1 (5.2)	<0.001

and the incidence of lymphovascular and perineural invasion and lymph node metastasis was found to be significant. High levels of lymphovascular, perineural invasion and lymph node metastasis were detected in patients with Serum CA19-9 values above 37 U/mL. As a result of the ROC Curve analysis, serum CA19-9 values above 16.25 U/mL were statistically strongly correlated with lymphovascular and perineural invasion, and values above 27.06 U/mL were statistically strongly correlated with lymph node metastasis.

Lymphovascular and perineural invasion, common in pancreatic cancer, limits curative resection and causes abdominal pain, retropancreatic tumor spread, and poor prognosis (23). Pour et al. (24) in their study, they found that in pancreatic cancer (88%), 89% perineural invasion in intrapancreatic allograft followed by lymphatic invasion (33%) and vascular invasion (2%). In our study, 26 (81.2%) of the 32 patients who underwent pancreatectomy had lymph node metastasis,

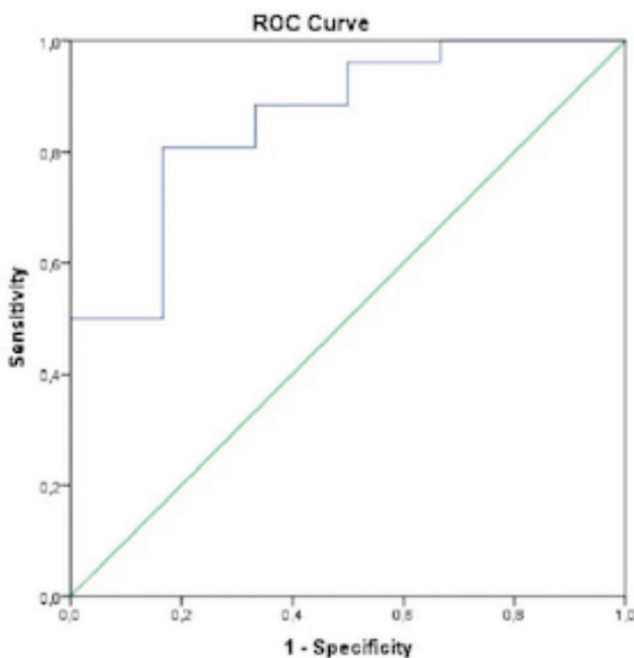


Figure 3: ROC analysis of lymph node metastasis

ROC: Receiver operator characteristic

Table 3: Comparison of CA 19-9 levels with lymphovascular invasion, perineural invasion and lymph node metastasis

Min-Max		Serum CA 19-9 (U/mL)		
		Mean $\pm$ SD*	p-value	
Lymphovascular invasion	Yes	6.70-1899.70	242.38 $\pm$ 453.36	<0.001
	No	1.20-171.30	31.73 $\pm$ 47.06	
Perineural invasion	Yes	5.20-1899.70	220.93 $\pm$ 422.14	<0.001
	No	1.20-54.80	15.23 $\pm$ 16.88	
Lymph node metastasis	Yes	5.80-1605.40	238.52 $\pm$ 435.54	<0.001
	No	2.20-162.00	35.16 $\pm$ 36.01	

21 (65.6%) had perineural invasion, and 18 (56.2%) had lymphovascular invasion. Mean tumor size was 4.1 $\pm$ 2.2 cm. In our study, no significant association was found between tumor size and lymphovascular and perineural invasion ( $p>0.05$ ).

Perineural invasion can also be monitored without lymphatic or vascular invasion and is the only way of metastatic spread in some tumors (25). It is important to know in advance what conditions pancreatic tumors perform perineural and lymphovascular invasion and therefore require extended dissection, and to make the surgical plan according to this information in terms of determining the width of the surgery. Numerous studies are available with the use of tumor markers, especially CA19-9, along with radiological and endoscopic examinations from existing diagnostic methods to predict TNM staging of pancreatic carcinoma (26,27). Studies investigating the relationship between serum CA19-9 levels in patients with pancreatic carcinoma and lymphovascular invasion and perineural invasion of the tumor are very limited.

Early tumor invasion in pancreatic cancer is generally associated with aggressive spread, advanced vascularization and innervation, retroperitoneal settlement, and multifaceted lymphatic drainage. Lymph node status is generally accepted, prognosis is the determining factor. In studies, it was reported that 50-80% of patients had lymph node metastasis during surgery (28,29). For our study, this rate is 81.2%.

Lymphovascular and perineural invasion are not yet proven independent prognostic factors. As a result, lymphovascular invasion is observed in 70-80% of all R0 specialties, and perineural invasion in 50-100%, regardless of tumor size and lymph node status.

Wider, comparative studies are needed to tell whether the 16.25 U/mL limit value of serum CA19-9 found in our study can be used to make decisions such as making a broader dissection plan before surgery, applying adjuvant chemoradiotherapy to the patient in the case of curative resection, or applying neoadjuvant therapy.

## Conclusion

It is known that the only curative treatment for pancreatic cancer is surgery. Despite standard curative surgery, it has been proven by studies that recurrence rates are high and that the causes of recurrence are lymphovascular and perineural invasion. Lymphovascular invasion was detected in 94.44% and perineural invasion was detected in 90.48% of our patients with Serum CA19-9 values above 16.25 U/mL. Predicting the likelihood of lymphovascular and perineural invasion of the tumor before surgery is important to decide whether to perform a larger surgery and to apply adjuvant and neoadjuvant therapy.

In order to use the CA19-9 limit value for this purpose, we need more extensive and prospective comparative studies.

### Ethics

**Ethics Committee Approval:** Ethics committee approval of the study was obtained from Sivas Cumhuriyet University Clinical Research Ethics Committee with the decision numbered 2020-10/34.

**Informed Consent:** We have received verbal consent from patients.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

### Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: M.E.B., M.C.M., K.K., Concept: M.E.B., M.C.M., K.K., Design: M.E.B., M.C.M., K.K., Data Collection or Processing: M.E.B., M.C.M., K.K., Analysis or Interpretation: M.E.B., M.C.M., K.K., Literature Search: M.E.B., M.C.M., K.K., Writing: M.E.B., M.C.M., K.K.

**Conflict of Interest:** We declare that there is no conflicts of interest associated with this publication.

**Financial Disclosure:** We declare that we have not received any financial support to perform this study.

### References

- American Cancer Society. Cancer facts & figures 2014. Atlanta, Georgia: American Cancer Society; 2014. aacp-042151.pdf. Accessed March 28 2014.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin*. 2009;59:225-249.
- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin*. 2010;60:277-300.
- Howlader N, Noone AM, Krapcho M, et al. Cancer Statistics Review, 1975-2012 - SEER Statistics. National Cancer Institute. Bethesda, MD. [https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975\\_2012/](https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2012/)
- Muniraj T, Jamidar PA, Aslanian HR. Pancreatic cancer: a comprehensive review and update. *Dis Mon*. 2013;59:368-402.
- Boone BA, Steve J, Zenati MS, et al. Serum CA 19-9 response to neoadjuvant therapy is associated with outcome in pancreatic adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2014;21:4351-4358.
- Ito S, Gejyo F. Elevation of serum CA19-9 levels in benign diseases. *Intern Med*. 1999;38:840-841.
- Fujioka S, Misawa T, Okamoto T, et al. Preoperative serum carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 levels for the evaluation of curability and resectability in patients with pancreatic adenocarcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2007;14:539-544.
- Meyer W, Jurowich C, Reichel M, et al. Pathomorphological and histological prognostic factors in curatively resected ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Surg Today*. 2000;30:582-587.
- Kayahara M, Nagakawa T, Ohta T, et al. Surgical strategy for carcinoma of the papilla of Vater on the basis of lymphatic spread and mode of recurrence. *Surgery*. 1997;121:611-617.
- Moriya T, Kimura W, Hirai I, et al. Nodal involvement as an indicator of postoperative liver metastasis in carcinoma of the papilla of Vater. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2006;13:549-555.
- Gebhardt C, Meyer W, Reichel M, et al. Prognostic factors in the operative treatment of ductal pancreatic carcinoma. *Langenbecks Arch Surg*. 2000;385:14-20.
- Sierzega M, Popiela T, Kulig J, et al. The ratio of metastatic/resected lymph nodes is an independent prognostic factor in patients with node-positive pancreatic head cancer. *Pancreas*. 2006;33:240-245.
- Slidell MB, Chang DC, Cameron JL, et al. Impact of total lymph node count and lymph node ratio on staging and survival after pancreatotomy for pancreatic adenocarcinoma: a large, population-based analysis. *Ann Surg Oncol*. 2008;15:165-174.
- Liu B, Lu KY. Neural invasion in pancreatic carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2002;1:469-476.
- Kayahara M, Nakagawara H, Kitagawa H, et al. The nature of neural invasion by pancreatic cancer. *Pancreas*. 2007;35:218-223.
- Anderson KE, Mack T, Silverman D. Cancer of the pancreas. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF ed. *Cancer epidemiology and prevention*. New York: Oxford University; 2006. s. 721-762.
- Samra JS, Gananadha S, Hugh TJ. Surgical management of carcinoma of the head of pancreas: extended lymphadenectomy or modified en bloc resection? *ANZ J Surg*. 2008;78:228-236.
- Ihse I, Andersson R, Ask A, et al. Intraoperative radiotherapy for patients with carcinoma of the pancreas. *Pancreatol*. 2005;5:438-442.
- Kloppel G, Klimstra D. Tumors of the exocrine pancreas. In: Fletcher CDM ed. *Diagnostic histopathology of tumors*. Churchill Livingstone Elsevier; 2007. s. 463-484.
- Safalı M. Pankreas patolojisi. Mocan Kuzey G ed. *Temel Patoloji*, Ankara: Güneş Kitabevi; 2007. s. 517-524.
- Goonetilleke KS, Siriwardena AK. Systematic review of carbohydrate antigen (CA 19-9) as a biochemical marker in the diagnosis of pancreatic cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2007;33:266-270.
- Ben QW, Wang JC, Liu J, et al. Positive expression of L1-CAM is associated with perineural invasion and poor outcome in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2010;17:2213-2221.
- Pour PM, Egami H, Takiyama Y. Patterns of growth and metastases of induced pancreatic cancer in relation to the prognosis and its clinical implications. *Gastroenterology*. 1991;100:529-536.
- Liu B, Lu KY. Neural invasion in pancreatic carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2002;1:469-476.
- Schlieman MG, Ho HS, Bold RJ. Utility of tumor markers in determining resectability of pancreatic cancer. *Arch Surg*. 2003;138:951-5; discussion 955-956.
- Katz A, Hanlon A, Lanciano R, et al. Prognostic value of CA 19-9 levels in patients with carcinoma of the pancreas treated with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1998;41:393-396.
- Sohn TA, Yeo CJ, Cameron JL, et al. Resected adenocarcinoma of the pancreas-616 patients: results, outcomes, and prognostic indicators. *J Gastrointest Surg*. 2000;4:567-579.
- Sierzega M, Popiela T, Kulig J, et al. The ratio of metastatic/resected lymph nodes is an independent prognostic factor in patients with node-positive pancreatic head cancer. *Pancreas*. 2006;33:240-245.

# Fournier Gangreni Deneyimimiz: Otuz Beş Olguluk Retrospektif Analiz

## Fournier's Gangrene Experience: Retrospective Analysis of Thirty-five Cases

© Emre Uzun, © Muhammed Emin Polat, © Mustafa Karaaslan, © Yusuf Kasap, © Samet Şenel, © Sedat Taştumur, © Öner Odabaş

Ankara Şehir Hastanesi, Üroloji Kliniği, Ankara, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Çalışmamızda kliniğimizde Fournier gangreni tanısı ile takip ve tedavi edilen hastaların sonuçlarını incelemeyi ve literatüre sunmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Kliniğimizde Ocak 2019-Mart 2021 tarihleri arasında tedavi görmüş olan 35 Fournier gangreni hastası retrospektif olarak incelendi. Hastaların yaş, cinsiyet, gangren lokalizasyonu, mortalite durumu, ek hastalıkları, laboratuvar değerleri, mikrobiyolojik sonuçları analiz edildi.

**Bulgular:** Otuz beş hastanın 34'ü erkek 1'i kadın olmak üzere ortalama yaş 59,8 olarak saptandı. Hastaların ortalama hastanede kalış süreleri 25 gün olup (3-72), 6 hastanın (%20,7) yoğun bakım ihtiyacı oldu. Yalnızca 2 kişi hayatını kaybetti (%5,7). Hastaların 24'ünde hipertansiyon (HT) (%68,6), 22'sinde diabetes mellitus (%62,9) eşlik etmekteydi. Hastaların C-reaktif protein seviyeleri ortalama 203,3 mg/L olarak saptandı. Fournier gangrenin ağırlıklı olarak görüldüğü yerler ise 27 hastada skrotal (%77,1), 7 hastada perianal (%20), 1 hastada ise perineal (%2,9) bölgelerdi. Hastalar mikrobiyolojik açıdan incelendiğinde polimikrobiyal flora dikkati çekmiştir ve *Eschericia coli* en sık görülen etken olmuştur (%31,9). Hastaların tamamına cerrahi debridman yapıldı ve antibiyoterapileri düzenlenerek takip edildi. Hastalara düzenli olarak lokal yara bakımı uygulandı. Ek işlem gereken hastaların %31,4'üne orşiektomi yapılmış olup, %22,9'una kolostomi açıldı. Olguların %28,6'sında ise deri flebi ile rekonstrüksiyon yapıldı.

**Sonuç:** Fournier gangreni, hızlı ilerleyen, erken tanı konulup tedavi edilmediğinde mortal seyredabilen enfeksiyöz bir süreçtir. Tedavi programında multidisipliner bir yaklaşım şarttır.

**Anahtar Kelimeler:** Fournier Gangreni, Tanı, Tedavi

### Abstract

**Objectives:** The purpose of this study was to analyze the results of Fournier's gangrene patients who were followed and treated in our clinic.

**Materials and Methods:** In this study, 35 of Fournier's gangrene patients who were treated between January 2019-October 2020 were analyzed retrospectively. The patients' results, including age, sex, gangrene localization, mortality rates, comorbidities, laboratory results, and microbiological results, were analyzed.

**Results:** Thirty-four of the patients were male and 1 of them was female. Their mean age was 59.8 years. The duration of hospitalization was 25 days (range between 3-72), only 6 of them required intensive care unit. 2 of them died in this period (mortality: 5.7%). Twenty-four of the patients (65.2%) had hypertension (HT), 22 of them (62.9%) had diabetes mellitus. The mean level of C-reactive protein was 203.3 mg/L. The most influenced parts of the body were the scrotum in 27 patients (77.1%), perianal in 7 patients (20%), and perineal in 1 patient (2.9%). When we looked at the microbiological aspects of the cases, there was polymicrobial flora and *Eschericia coli* was the leading agent with the rate of 31.9%. All of the patients were followed after making adequate surgical debridement and they all were given the required antibiotic treatment. Local wound care has been done regularly. The additional procedures were required in some patients, which were orchiectomy in 31.4%, colostomy in 22.9%, and reconstruction with skin flap in 28.6%.

**Conclusion:** Fournier's gangrene is an infectious process that progresses rapidly and can be fatal if not diagnosed and treated early. A multidisciplinary approach is essential in the treatment program.

**Key Words:** Fournier's Gangrene, Management, Treatment

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Samet Şenel

Ankara Şehir Hastanesi, Üroloji Kliniği, Ankara, Türkiye

Tel.: +90 537 880 22 85 E-posta: samet\_senel\_umt@hotmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0003-2280-4192

Geliş Tarihi/Received: 05.04.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 30.09.2021

©Telif Hakkı 2022 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



## Giriş

Fournier gangreni (FG), yüksek mortalite ve morbidite ile seyreden, hızlı ilerleyen, perine ile eksternal genital organların sinerjistik enfeksiyonuna ve eşlik eden vasküler trombozuna bağlı bir nekrotizan fasiit çeşididir. Literatürde "Streptokok gangreni", "sinerjistik nekrotizan selülit", "periüretal flegmon" gibi farklı isimlendirmeler de kullanılmıştır (1,2).

FG, altta yatan birçok hastalığın mevcut olduğu farklı mekanizmalarla ortaya çıkmaktadır. Gastrointestinal, genitouriner ve deri enfeksiyonları primer odak olarak tespit edilmektedir. Bu hastaların çoğunda diabetes mellitus (DM), kronik alkolizm, maligniteler, sitotoksik ilaç kullanımı, travmatik girişimsel işlem öyküsü gibi lokal dolaşımın bozulduğu ve immün sistemin baskılandığı patolojiler mevcuttur. Mevcut dolaşım bozukluğuna eklenen enfeksiyon, dokuları besleyen arterlerde obliterasyona yol açarak dokunun kanlanmasını ve oksijenizasyonunu engellemekte böylece hem enfeksiyon etkenleri kolayca dokuya yayılmakta hem de ilerleyici nekroza sebep olmaktadır (1-5).

Komorbiditelere ek olarak hastaların sosyo-ekonomik düzeylerinin düşük olması, temizlik ve hijyen koşullarının uygun olmaması, sağlık hizmetlerinin yeterli olmaması FG'nin daha kötü seyretmesine neden olmakta ve mortaliteyi artırmaktadır (2).

Tedavinin erken dönemde başlaması bu sürecin önüne geçmek için en önemli basamaktır. Uygun resüsitasyonun sağlanması, uygun antibiyoterapinin başlanması ve en önemlisi cerrahi olarak debridmanın yapılması bu ilerleyişi engellemek için şarttır (3,4). Debridman sonrası yara bakımının uygun şekilde yapılması ve granülasyon dokusunun oluşup nekrotize alanların kaybolmasının ardından rekonstrüksiyon aşamasına geçilerek tedavi tamamlanmalıdır (1,6,7).

Biz de bu çalışmamızda kliniğimizde karşılaştığımız olguları ve sahip oldukları özellikleri incelemeyi, bu bilgiler ışığında FG hastalığını önleme, tanı, tedavi basamaklarında uyguladığımız yöntemimizi ve elde ettiğimiz sonuçları literatüre sunmayı amaçladık.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmamız, Helsinki Bildirgesi prensiplerine uygun olarak hazırlanmış olup Ankara Şehir Hastanesi Lokal Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve oy birliğiyle etik açıdan uygun görülmüştür (etik kurul onay numarası: E1-20-1064). Çalışma retrospektif olduğundan hasta onayı alınmamıştır.

Ocak 2019-Ekim 2020 tarihleri arasında kliniğimizde FG tanısı alıp tedavi uygulanan 50 hastanın verileri retrospektif olarak incelendi. On beş hastanın verilerinin takibinin yapılamaması

ve kliniğimiz dışında farklı kliniklerde takibi olması nedeniyle çalışma dışında bırakıldı. Çalışmaya 35 FG hastası dahil edildi. Hastaların yaş, cinsiyet, ek hastalıkları, vücut sıcaklığı, beyaz küre (WBC), C-reaktif protein (CRP), albümin, kan şekeri değerleri incelendi. Hastaların mortalite oranları hesaplandı. FG nedeniyle tutulum gösteren anatomik lokalizasyonlar (perineal, skrotal ve perianal) belirlendi.

Yara yerinden alınan kültür incelemelerinde üremesi gözlenen bakteri türleri oransal olarak ifade edildi. Ayrıca hastaların klinik seyrini gösteren Fournier gangren şiddet indeksi (FGSI) hesaplandı. Hastanede yatış süreleri, yoğun bakım ihtiyaçları, debridmanın yanında yapılan ek girişimler (orşiektomi, kolostomi açılması, rekonstrüksiyon) belirlendi. Hastaların tamamına gerekli cerrahi debridman yapıldı ve antibiyoterapileri düzenlenerek takip edildi. Hastalara düzenli olarak lokal yara bakımı uygulandı.

## İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için SPSS versiyon 22.0 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistiksel veriler sürekli değişkenler için ortalama  $\pm$  standart sapma, minimum-maksimum biçiminde ifade edildi. Bütün analizlerde istatistiksel anlamlılık seviyesi 0,05 olarak kabul edildi.

## Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 35 hastanın 34'ü (%97,1) erkek 1'i (%2,9) kadındı. Ortalama yaş  $59,8 \pm 10,7$  idi. İki (%5,7) hasta postoperatif üçüncü ve 24. günde eks oldu. Hastaların 24'ünde (%68,6) hipertansiyon, 22'sinde (%62,9) DM, 7'sinde (%20) kronik obstrüktif akciğer hastalığı vardı. FG'nin lokalizasyonları 27 (%77,1) hastada skrotal, 7 (%20) hastada perianal, 1 (%2,9) hastada ise perineal bölgelerdi. Hastaların CRP seviyeleri ortalama  $203,3 \text{ mg/L} \pm 89,6$ , WBC değerleri ise  $15,3 \pm 7,1 \text{ mg/dL}$  olarak saptandı ve hastaların 25'inde (%71,4)  $>38^\circ\text{C}$  ateş tespit edildi. Ortalama kan şekeri düzeyi  $200,8 \pm 134,6 \text{ mg/dL}$ , albümin düzeyi ise  $32,3 \pm 7,3 \text{ mg/dL}$  olarak saptandı (Tablo 1).

Hastaların yara yeri kültür sonuçları incelendiğinde polimikrobiale flora dikkati çekti ve *Escherichia coli* en sık görülen etken oldu (%31,9). *Escherichia coli* ile birlikte 16 çeşit mikroorganizma saptandı (Tablo 2). Hastaların hastanede kalış süreleri ortancası 25 (3-72) gün olup, 6 (%20,7) hastanın yoğun bakım ihtiyacı oldu. Hastaların 11'ine (%31,4) orşiektomi yapılırken, 8'ine (%22,9) kolostomi açıldı. Olguların 10'una (%28,6) ise deri flebi ile rekonstrüksiyon yapıldı. Hastaların FGSI skor ortalaması ise  $5 \pm 2,6$  puan olarak hesaplandı (Tablo 3).

## Tartışma

FG, tedavi edilmediği takdirde %90'a kadar mortalite oranlarına sahip olabilen, ürolojik acil bir durumdur. Doğru

tedavi ve takiple hastalığın mortalitesinin anlamlı ölçüde azaldığı, bazı serilerde ölümün hiç gerçekleşmediği gösterilmiştir (1,4).

Belirtiler ilk olarak lokal ağrı, kaşıntı, kızarıklık şikayetleriyle başlar. Kısa süre içerisinde genital bölgede hiperemi artar, ülseratif lezyonlar ile beraber nekrotik dokular ortaya çıkar. Karakteristik olarak hassas ve krepitasyon gösteren lezyonlar ortaya çıkar (1,3). Yüzeysel dokulardan derin dokulara yayıldıkça sistemik semptomlar eşlik etmeye başlar. Sepsis, çoklu organ yetmezliği

**Tablo 1: Hastaların demografik özellikleri**

<b>Yaş, yıl (ort ± SS)</b>	59,8±10,7
<b>Cinsiyet, n (%)</b>	
Erkek	34 (97,1)
Kadın	1 (2,9)
<b>Lokalizasyon, n (%)</b>	
<b>Perineal</b>	1 (2,9)
Skrotal	27 (77,1)
Perianal	7 (20)
<b>Mortalite, n (%)</b>	2 (5,7)
<b>Hipertansiyon, n (%)</b>	24 (68,6)
<b>Diabetes mellitus, n (%)</b>	22 (62,9)
<b>KOAH, n (%)</b>	7 (20)
<b>Ateş, n (%)</b>	25 (71,4)
<b>Beyaz küre, mg/dL</b>	15,3±7,1
<b>CRP, mg/L</b>	203,3±89,6
<b>Albümin, g/dL</b>	32,3±7,3
<b>Glikoz, mg/dL</b>	200,8±134,6

SS: Standart sapma, ort: Ortalama, KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, CRP: C-reaktif protein

**Tablo 2: Üretilen etken bakteriler**

<b>Bakteri</b>	<b>n (%)</b>
<i>Actinomyces radingae</i>	1 (2,9)
<i>Eschericia coli</i>	8 (22,9)
<i>Eschericia coli + Streptococcus anginosus</i>	1 (2,9)
<i>Eschericia coli + Corynebacterium striatum</i>	1 (2,9)
<i>Eschericia coli + Enterococcus faecium</i>	1 (2,9)
<i>Enterococcus avium</i>	1 (2,9)
<i>Enterococcus faecium</i>	2 (5,7)
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 (2,9)
<i>Raoultella ornithino</i>	1 (2,9)
<i>Salmonella enterica</i>	1 (2,9)
<i>Streptococcus anginosus</i>	2 (5,7)
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 (5,7)
<i>Streptococcus agalactiae + Candida tropicalis</i>	1 (2,9)
<i>Candida albicans</i>	4 (11,4)
<i>Klebsiella pneumonia</i>	1 (2,9)
<i>Acinetobacter boumanii</i>	1 (2,9)
Bakteriyel olmayan	6 (17,1)

en son dönemde görülecek semptomlar olarak karşımıza çıkar (3). Tanının netleştirilemediği olgularda görüntüleme yapmak, subkütan alanda görülen gaz komponentini saptamak tanıya yardımcı olabilir. Ancak, mutlak olarak şüphelenilen olgularda tedaviyi geciktirmemek için görüntüleme yapılmayabilir. Çünkü tedavideki gecikmenin morbidite ve mortalite artışına sebep olduğu kanıtlanmıştır (3,4,8). Kliniğimize başvuran hastaların öne çıkan semptomları ağrı ve eşlik eden kızarıklık olarak gözlemlendi. Hemodinamisi stabil hastalarımızdan yüzeysel ultrason ve ilaçsız alt batın-pelvik bilgisayarlı tomografi görüntüleme yapıldı ve nekrotik dokunun yayılım alanı cerrahi öncesi tespit edilerek cerrahi yaklaşımımızı belirlemede kullanıldı. Semptomların başlamasından itibaren hastane başvurusunu erteleyen hastalarda nekrotik doku oranının arttığı hastalığın tedavi sürecinin daha uzun sürdüğü gözlemlendi. Bu gecikmenin sonucunda literatürde testisin etkilenme oranı düşük olarak belirtilse de, çalışmamızda 11 (%31,4) hastada gelişen nekroz sebebiyle orşiektomi yapıldı. Ayrıca 8 (%22,9) hastamızda da nekrotik alan debridmanını ve cerrahi sterilizasyonu sağlamak amacıyla genel cerrahlar tarafından kolostomi açıldı. Ek girişimlerin yanında semptomları ilerleyen hastalarımızın ise yoğun bakım ihtiyacı ortaya çıktı. Debridman sonrası 6 (%20,7) hasta ortalama 7±2,4 gün yoğun bakım ünitesinde takip ve tedavi edildi.

FG sıklığının her geçen gün artış göstermesi, komorbiditelerle olan ilişkisinin belirlenmesi, hastalığın seyrini öngörmek için çeşitli parametre arayışlarına sebep olmuştur. FGSI, nekrotizan fasiit için laboratuvar risk göstergesi, Uludağ FGSI, yaş ayarlı Charlson komorbidite indeksi, cerrahi Apgar skoru kullanılan indekslerdendir ve bu indeksler arasında hastalığın prognozunu öngörme açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (1,3,7,9).

Çalışmamızda FGSI skoru kullanıldı. Bu indeks için hastanın vücut sıcaklığı, kalp atım hızı, solunum sayısı, serum sodyum, potasyum, bikarbonat ve kreatinin değerleri; tam kan sayımında hematokrit, WBC düzeyleri kullanılmaktadır. Bu değerlerin

**Tablo 3: Hastaların klinik özellikleri**

<b>FGSI, puan (ort ± SS)</b>	<b>5±2,6</b>
<b>Hospitalizasyon, gün</b>	25 (3-72)
<b>Yoğun bakım yatış süresi, gün, (ort ± SS)</b>	7±2,4
Var, n (%)	6 (20,7)
Yok, n (%)	29 (79,3)
<b>Orşiektomi</b>	
Var	11 (31,4)
Yok	24 (68,6)
<b>Kolostomi açılması</b>	
Var	8 (22,9)
Yok	27 (77,1)
<b>Deri flebi ile rekonstrüksiyon</b>	
Var	10 (28,6)
Yok	25 (71,4)

FGSI: Fournier gangren şiddet indeksi, ort: Ortalama, SS: Standart sapma

normal aralıktan sapma miktarına göre 1'den 4'e kadar puanlama yapılır. Bu puanlama sonunda 9'un üzerinde skora sahip olan hastaların ölüm olasılığı %75 olarak hesaplanmışken, 9 ve altında skora sahip olan hastaların %78 olasılıkla hayatta kalma ihtimali olduğu bildirilmiştir (9). Ulaştığımız sonuçlarda FGSI ortalama olarak  $5 \pm 2,6$  puan olarak hesaplanmıştır. Mortalite oranı ise bu skorla paralel olarak %5,7 olarak hesaplanmış, hastaların %94,3'ü hayatta kalmıştır. Ancak bu skoru ortalamasının üstünde olan hastalarda hastane yatış sürelerinin daha uzun olduğu ve yoğun bakım ihtiyaçlarının diğer hastalara göre fazla olduğu gözlemlendi.

Enfeksiyona sebep olan mikroorganizmalar FG için çeşitlilik göstermektedir. Tek bir etkenin saptandığı olgu sayısı az olmakla beraber, izole edilen patojenler çoğunlukla perinenin ve genital organların florasında bulunan *E. coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacterioides fragilis*, *Staphylococcus aureus* gibi bakterilerdir. Bazı olgularda fungal enfeksiyonların varlığından da bahsedilmiştir (3,4,7). Hastalığın sepsis ve multiorgan yetmezliğine neden olmasında polimikrobiyal floranın direkt dolaşım sistemine yayılması veya salgıladıkları toksinlerle sistemik toksite oluşturmaları etkindir. Yaptığımız bu çalışmada da yara yeri kültürlerinde en çok *Escherichia coli* üremesi saptanmış olup buna eşlik eden 16 çeşit mikroorganizma bulunmaktadır. Fungal etkenlerden de 4 hastada (%11,4) *Candida albicans*, 1 hastada (%2,9) *Candida tropicalis* üremesi saptandı.

Tedavide ilk olarak hastanın hemodinamik resüsitasyonu sağlanmalıdır. Sıvı açığı hesaplanmalı uygun şekilde sıvı replasmanı yapılmalıdır. Hastanın vazopressör ihtiyacı değerlendirilmeli gereklilik halinde uygun destek sağlanmalıdır (3). Aynı zamanda polimikrobiyal etiyojolojiye yönelik geniş spektrumlu antibiyoterapi uygulanmalıdır. Bu tedavi 2-3. kuşak sefalosporinler ile florokinolon, aminoglikozid veya nitroimidazol grubu antibiyotiklerin kombinasyonu olup çok ağır olgularda karbapenem grubu da bunlara eklenebilir (1). Ancak tüm bu müdahalelerle birlikte FG yönetiminde en önemli adım uygun cerrahi debridmanın sağlanmasıdır. Enfeksiyon odağının ortadan kaldırılmasıyla hastalığın mortalitesi önemli ölçüde azalmaktadır. Debridman sonrası yara bakımı uygun koşullarda yapılmalıdır. Antibiyoterapinin etkisi, hasarlı dokunun vasküler yapısının bozuk olmasından ve antibiyotik yıkımının fazla olmasından dolayı her zaman maksimum düzeyde olmamaktadır. Bu yüzden FG yönetiminde en önemli enstrüman cerrahi debridmandır. Debridman sonrası takiplerinde rekonstrüktif cerrahinin yapılabilmesi için granülasyon dokusunun oluşması ve nekrotik dokuların ortadan kalkması gerekmektedir. Rekonstrüktif tedavinin yanında rehabilitasyon tedavilerinin de yapılması önem arz etmektedir (1,3,6). Hastanemizde debridman sonrası antibiyoterapilerini tamamlayan hastalardan alınan yara yeri kültüründe üreme olmaması halinde uygun yöntemlerle rekonstrüksiyon, 10 hastada (%28,6) deri flebi ile rekonstrüksiyon yapıldı ve kalan olgularda da lokal deri onarımı yapıldı. Ayrıca kliniğimizde yatış olan hastalara

hastanemiz fizik tedavi ve rehabilitasyon bölümü tarafından, uygun rehabilitasyon tedavisi düzenlendi.

### Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamızın mevcut kısıtlılıklarından birisi retrospektif olarak dizayn edilmiş olmasıdır. İkinci olarak hasta sayısının az olması bir diğer handikaptır. Ayrıca hastaların uzun dönem takipleri ve enfeksiyonun tekrarlama durumuyla ilgili veriler mevcut değildir. Yine de çalışmamızın FG'nin yönetimi açısından literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

### Sonuç

FG hızlı ilerleyen, erken tanı konulup tedavi edilmediğinde mortal seyredabilen enfeksiyöz bir süreçtir. Ek hastalıkların kontrolü FG gelişimini önlemede en önemli adımların başında gelmektedir. Geniş spektrumlu antibiyoterapi başlanarak cerrahi debridman sağlanmalıdır. Tedavi programında multidisipliner bir yaklaşım şarttır. Gereklilik halinde yoğun bakım takibi ile hastalara destek tedavi sağlanmalıdır. Yara bakımının özenle yapılması ve granülasyon dokusunun oluşumuyla birlikte rekonstrüktif tedavinin uygulanması hastalığın seyrini olumlu yönde etkileyecektir.

### Etik

**Etik Kurul Onayı:** Çalışma Ankara Şehir Hastanesi Lokal Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve oy birliğiyle etik açıdan uygun görülmüştür (etik kurul onay numarası: E1-20-1064).

**Hasta Onayı:** Çalışma geriye dönük analiz olduğundan dolayı hasta onayı alınmamıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulu ve editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

### Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: Y.K., S.T., Konsept: M.K., S.Ş., Dizayn: M.E.P., E.U., Veri Toplama veya İşleme: M.E.P., E.U., Analiz veya Yorumlama: Ö.O., S.T., Literatür Arama M.E.P., E.U., S.Ş., Yazan: S.Ş., M.K.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

### Kaynaklar

1. Chernyadyev SA, Ufimtseva MA, Vishnevskaya IF, et al. Fournier's Gangrene: Literature Review and Clinical Cases. *Urol Int.* 2018;101:91-97.
2. Singh A, Ahmed K, Aydin A, et al. Fournier's gangrene. A clinical review. *Arch Ital Urol Androl.* 2016;88:157-164.
3. El-Qushayri AE, Khalaf KM, Dahy A, et al. Fournier's gangrene mortality: A 17-year systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2020;92:218-225.



4. Kuzaka B, Wróblewska MM, Borkowski T, et al. Fournier's Gangrene: Clinical Presentation of 13 Cases. *Med Sci Monit.* 2018;24:548-555.
5. Thwaini A, Khan A, Malik A, et al. Fournier's gangrene and its emergency management. *Postgrad Med J.* 2006;82:516-519.
6. Saifee NH, Evans HL, Magaret AS, et al. Outcomes in necrotizing soft tissue infections treated with therapeutic plasma exchange. *Transfusion.* 2017;57:1407-1413.
7. Kincius M, Telksnys T, Trumbeckas D, et al. Evaluation of LRINEC Scale Feasibility for Predicting Outcomes of Fournier Gangrene. *Surg Infect (Larchmt).* 2016;17:448-453.
8. Montrief T, Long B, Koyfman A, et al. Fournier Gangrene: A Review for Emergency Clinicians. *J Emerg Med.* 2019;57:488-500.
9. Laor E, Palmer LS, Tolia BM, et al. Outcome prediction in patients with Fournier's gangrene. *J Urol.* 1995;154:89-92.

# Yüksek Homosistein Seviyelerinin Eretil Disfonksiyon Süresi ve Şiddeti Üzerine Etkileri

## The Effects of High Homocystein Levels on Duration and Severity of Erectile Dysfunction

✉ Murat Topcuoğlu<sup>1</sup>, ✉ Murat Çakan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

<sup>2</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği, Ankara, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Yüksek serum homosistein düzeyleri ile erektil disfonksiyon (ED) şiddeti, süresi ve aynı zamanda vasküler patoloji içeren diabetes mellitus (DM), aterosklerotik kalp hastalığı (ASKH), metabolik sendrom, hipertansiyon gibi hastalıklarla olan ilişkisini klinik ve laboratuvar değerleri ile göstermeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** ED şikayeti ile başvuran 82 hasta, serum homosistein değerlerine göre, 15 µmol/L'den düşük hastalar (Grup 1) ve 15 µmol/L'den yüksek hastalar (Grup 2) olarak iki gruba ayrıldı. Her iki grup yaş, ED süresi ve şiddeti, eşlik eden sistemik hastalıklar öyküsü DM, ASKH, hipertansiyon ve laboratuvar [açlık kan şekeri, total kolesterol, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), trigliserit, total testosteron] değerleri açısından karşılaştırıldı. Hastaların ED şiddeti Uluslararası Eretil Fonksiyon İndeksi anketinin kısa formu ile değerlendirildi.

**Bulgular:** Grup 2 hastalarda ED şiddeti ve süresi ortalaması, Grup 1 hastalara göre istatistiksel anlamlı olarak daha uzundu. Grup 2'de, DM ve ASKH eşlik eden hasta oranı Grup 1'e göre anlamlı yüksek iken hipertansiyon oranı açısından gruplar benzerdi. Laboratuvar değerleri açısından, her iki grup, serum total kolesterol ve HDL değerleri açısından benzerken, LDL, VLDL, trigliserit değerleri açısından izlenen fark istatistiksel açıdan Grup 1 lehine anlamlı idi.

**Sonuç:** ED'nin temel nedenlerinden biri olan endotelial disfonksiyonun tanı ve takibi için biyokimyasal belirteçlerin rolü birçok çalışmada incelenmiştir. Bu amaç doğrultusunda ilgi gören ve ED ile ilişkisi araştırılan parametrelerden bir tanesi de serum homosistein seviyeleridir. Homosistein, ED için varsayılan bir risk faktörü olmaya devam etmektedir. Bulgular daha fazla olgu sayılı çalışmalarla desteklenirse, ED gelişiminin ve ilerlemesinin önlenmesinde ve medikal tedavi yanıtının takibinde bir belirteç olarak katkı sağlayabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Homosistein, Eretil Disfonksiyon, Vasküler Patoloji

### Abstract

**Objectives:** We aimed to demonstrate the relationship between high serum homocysteine levels and severity, duration of erectile dysfunction (ED), also the diseases including vascular pathologies like diabetes mellitus (DM), atherosclerotic heart disease (ASHD), hypertension, and metabolic syndrome with clinical and laboratory values.

**Materials and Methods:** Eighty-two patients admitted with ED were divided into two groups based on serum homocysteine values, as patients with a homocysteine value of less than 15 µmol/L (Group 1) and patients with a homocysteine value of more than 15 µmol/L (Group 2). Both groups were compared in terms of age, duration and severity of ED, history of concomitant systemic diseases like DM, ASHD, hypertension and laboratory values [fasting blood sugar, total cholesterol, high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL), very low-density lipoprotein (VLDL), triglyceride, total testosterone] values. The severity of ED in patients was evaluated with the short form of the International Index of Erectile Function questionnaire.

**Results:** Severity and duration of ED were statistically more significant in the patients in Group 2 than in the patients in Group 1. While the ratio of patients with DM and ASHD was significantly higher in Group 2 than in Group 1, the groups were similar for ratio of hypertension. In terms of laboratory values, both groups were similar for serum total cholesterol and HDL while the difference observed for LDL, VLDL and triglyceride was statistically significant in favor of Group 1.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Murat Topcuoğlu

Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

Tel.: +90 505 643 61 42 E-posta: muraturo@yahoo.com ORCID ID: orcid.org/0000-0003-2155-5171

Geliş Tarihi/Received: 04.10.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 02.03.2022

©Telif Hakkı 2022 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



**Conclusion:** The role of biochemical markers in the diagnosis and follow-up of endothelial dysfunction, which is one of the main causes of ED, has been investigated in many studies. For this purpose, one of the parameters that has been investigated for its relationship with ED is serum homocysteine level. Homocysteine remains as a putative risk factor for ED. If results are supported by studies with larger number of cases, it may contribute as a marker in the prevention of ED development and progression and also in the follow-up of medical treatment response.

**Key Words:** Homocysteine, Erectile Dysfunction, Vascular Pathology

## Giriş

Eretil disfonksiyon (ED), tatmin edici cinsel ilişki için yeterli penil ereksiyonun sağlanamaması ve/veya sürdürülememesi olarak tanımlanır. ED, ilerleyici bir hastalıktır ve 2025 yılına kadar yaklaşık 300 milyon erkeği etkileyeceği tahmin edilmektedir (1). Kırk ile 70 yaş arasındaki erkeklerin %10'unda total impotans mevcutken, bu hastalarda %50'ye varan oranlarda farklı şiddetlerde ED gösterilmiştir (2). ED, yüksek insidansının yanı sıra, hastalar ile birlikte partnerlerini de etkileyen ciddi bir sağlık sorunudur. ED patofizyolojisine yönelik yapılan çalışmalarda, yaşlanma, diyabet, hipertansiyon, dislipidemi, metabolik sendrom gibi kardiyovasküler hastalıklar (KVH) için bilinen risk faktörlerinin benzer şekilde ED için de risk faktörü oldukları gösterilmiştir (3). Metabolik sendrom ED gelişimi için temel risk faktörlerini barındırmaktadır ve bu risk faktörlerine bağlı olarak gelişen endotel disfonksiyon metabolik sendromda izlenen temel komponettir ve gelecekteki KVH'leri belirlemede prediktif değeri vardır (4). Penise kan akımı sağlayanlar arteriyel sistem de dahil olmak üzere tüm vasküler sistemi etkiler (5). Metabolik sendromla ilişkili risk faktörlerinin sonucu olarak gelişen endotel disfonksiyon ve dolayısıyla vasküler yapıda meydana gelen hasar, ED'nin etiopatogenezinde en belirgin ve en sık araştırılan faktördür (6,7).

Bu doğrultuda ED ve KVH patofizyolojinde rol oynayan, tanı ve tedavi takibinde kullanılabilecek vasküler belirteçlerle ilgili çalışmalar son yıllarda artmaktadır. Vasküler hasarı göstermede kullanılan serum belirteçleri, erken hastalık gelişiminin göstergeleri olarak kullanılarak, ED gelişiminin veya ilerlemesinin önlenmesinde rol oynayabilir (8). Homosisteinin de dahil olduğu farklı serum biyobelirteçleri, vasküler hastalıklar ile ED gelişimi ve ilerlemesinin potansiyel göstergeleri olarak araştırılmıştır. Homosistein, hayvansal proteinlerde bol miktarda bulunan, diyet ile alınan metionininden demetilasyonu yoluyla üretilen, sülfhidril içeren bir amino asittir (9). KVH gelişimi ile ilişkili bir faktör olan homosistein aynı zamanda ED için de bağımsız bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır (10). Mekanik olarak, homosisteinin anjiyopatik etkisinin, endotel hücrelerinde işlev bozukluğu ile sonuçlanan serbest oksijen radikalleri yoluyla olduğuna dair önemli kanıtlar vardır (11). Bu verilerle birlikte, ED patogenezinde homosistein seviyelerin mutlak bir risk faktörü olabileceğine yönelik kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur.

Çalışmamızda ED hastalarında serum homosistein düzeylerini değerlendirdik ve yüksek serum homosistein düzeylerinin ED şiddeti, süresi ve metabolik sendrom gibi vasküler patoloji içeren hastalıklarla ile ilişkisini klinik ve laboratuvar olarak göstermeyi amaçladık.

## Hastalar ve Yöntem

Bu prospektif çalışmaya, üroloji kliniğimize ED şikayeti ile başvuran 82 erkek dahil edildi. Araştırmanın etik kurul onayı hastanemizin klinik araştırmalar etik kurulundan 21/03 numarasıyla alındı. Hastaların çalışma için yazılı onamını takiben detaylı anemnez alındı ve eşlik eden sistemik hastalıklar [diabetes mellitus (DM), aterosklerotik kalp hastalığı (ASKH), hipertansiyon] ayrıntılı olarak sorgulandı. Takiben genitouriner sistemin muayenesini de içeren detaylı fizik muayeneleri yapıldı. Hastalarda periferik kandan, homosistein ( $\mu\text{mol/L}$ ), açlık kan şekeri (AKŞ), (mg/dL), total kolesterol (mg/dL), yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL) (mg/dL), düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL) (mg/dL), çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (VLDL) (mg/dL), trigliserit (mg/dL), total testosteron (ng/dL) düzeyleri ölçüldü. Homosistein düzeyi standart ölçümü için, 12 saatlik açlıktan sonra alınan venöz kan örnekleri bir saat içinde 2000 devir/dk hızda 15 dakika santrifüj edildi. İmmünoassay yöntemi ile ölçüldü. Hastalar homosistein değerlerine göre iki gruba ayrıldı: homosistein değeri  $15 \mu\text{mol/L}$ 'den düşük hastalar (Grup 1), homosistein değeri  $15 \mu\text{mol/L}$ 'den yüksek hastalar (Grup 2) (Tablo 1). Her iki grup yaş, ED süre ve şiddeti, eşlik eden sistemik hastalıklar (DM, ASKH ve hipertansiyon) ve biyokimya değerleri açısından karşılaştırıldı. Hastaların ED şikayetlerinin değerlendirilmesi amacıyla UUSulararası Eretil Fonksiyon İndeksinin (IIEF) Türkçe versiyonu verildi. Hastaların IIEF anket formunun 1, 2, 3, 4, 5 ve 15. sorulara verdiği cevaba göre toplam eretil fonksiyon skoru belirlendi. Hastalar puanlarına göre: "1-10: Ağır, 11-16: Orta, 17-21: Hafif-Orta, 22-25: Hafif, 26-30: ED" yok olarak kategorize edildi.

## İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, United States for Windows 11.5) istatistik paket programında yapıldı.

**Tablo 1: Homosistein seviyelerine göre hastaların gruplandırılması**

	Grup 1 (n=51)	Grup 2 (n=31)	p-değeri
Ortalama kan homosistein seviyesi (mg/dL)	8,0 (4,9-13,4)	17,0 (14,4-76,4)	<b>0,012</b>

Sürekli değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı "Shapiro Wilk" testi ile incelendi. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama  $\pm$  standart sapma veya ortanca (minimum-maksimum) biçiminde gösterildi. Gruplar arasında normal dağılan değişkenler yönünden farkın önemliliği "Student's t-testi" ile normal dağılmayan değişkenler yönünden farkın önemliliği ise "Mann-Whitney U" testi ile değerlendirildi.  $P < 0,05$  için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel olarak yaş farklılığını daha fazla hesaba katmak için, hastaların yaşa göre eşleştirilmesinden sonra ayrı bir eşleştirilmiş analiz yapıldı ( $n=15$ /grup) ve eşleşen iki alt grup arasındaki farkları değerlendirmek için eşleştirilmemiş bir t-testi kullanıldı (Tablo 2).

## Bulgular

Her iki grup hastaların yaş ortalamaları Tablo 3'te gösterilmiştir. Grup 2 hastalarda ED süreleri ve IIEF skorları Grup 1 lehine istatistiksel anlamlı bulundu. Gruplarda ED hastalarına eşlik eden ASKH ve DM oranı grup 1 hastalarda istatistiksel anlamlı fazla bulunurken, hipertansiyon oranı açısından gruplar benzerdi (Tablo 2). Hastaların serum biyokimya rakamsal değerleri Tablo 4'te gösterilmiştir. Her iki grup, serum total kolesterol, HDL ve testosteron değerleri açısından benzer iken Grup 2 hastalarda AKŞ, LDL, VLDL ve trigliserit değerleri istatistiksel anlamlı daha

**Tablo 2: Yaş eşleştirilmiş örneklem t-test değerleri**

Yaş eşleştirilmiş analiz	Grup 1 (n=15)	Grup 2 (n=15)	p-değeri
Yaş	54,9 $\pm$ 10,2	55,0 $\pm$ 11,1	0,980
Ortalama kan homosistein seviyesi (mg/dL)	8 $\pm$ 5,6	17,4 $\pm$ 13,2	<b>0,018</b>
ED süresi (ay)	11 $\pm$ 3,9	44 $\pm$ 7,9	<b>0,036</b>
IIEF skor	10,6 $\pm$ 4,1	7,9 $\pm$ 3,6	<b>0,041</b>

ED: Erektile disfonksiyon, IIEF: Uluslararası Erektile Fonksiyon İndeksi

**Tablo 3: Grupların demografik özellikleri ve eşlik eden hastalıklar açısından dağılımları**

	Grup 1 (n=51)	Grup 2 (n=31)	P-değeri
Ortalama yaş (yıl)	49 $\pm$ 8,2 (44-74)	57 $\pm$ 9,2 (42-71)	<b>0,034</b>
ED süresi (ay)	12 (3-120)	48 (6-120)	<b>0,021</b>
IIEF skor	11 (3-18)	8 (3-13)	<b>0,043</b>
Diabetes mellitus	18 (%35,3)	16 (%51,6)	<b>0,046</b>
ASKH	13 (%25,5)	14 (%45,2)	<b>0,032</b>
Hipertansiyon	15 (%29,4)	9 (%29)	0,987

ED: Erektile disfonksiyon, IIEF: Uluslararası Erektile Fonksiyon İndeksi

yüksek bulundu. Gruplar arası yaş farklılıklarını hesaba katmak için hastaların bir alt grubu ( $n=30$ ) (her grup için 15 hasta) eşleştirildi. Eşleştirilmiş analizden elde edilen sonuçlar test edilen parametreler için çalışma kohortunun istatistiksel olarak ayarlanmış analizi ile uyumluydu.

## Tartışma

Bu çalışmamızda öncelikle yüksek serum homosistein seviyeleri ile ED şiddeti ve süresi arasındaki ilişkiyi saptamaya çalıştık. Serum homosistein seviyesi yüksekliğini tanımlanmasında literatürde farklı eşik değerleri önerilmiştir. Hiperhomosisteinemi tanımındaki farklı değerler etnik, genetik, yaşam tarzı, çevresel, beslenme ve diyet faktörlerindeki farklılıklara bağlı olmakla beraber literatürde hiperhomosisteinemi genellikle bir kontrol popülasyonunun 90 veya 95 yüzdeleri dilimindeki serum homosistein seviyesinin üstü olarak tanımlanmıştır; çoğu çalışmada bu serum değeri yaklaşık 15  $\mu$ mol/L'ün üstüdür (12). Biz de çalışmamızda ED hastalarını, hiperhomosisteinemi için genel literatürde eşik değer olarak belirlenen 15  $\mu$ mol/L üstü ve altı değerine göre gruplandırdık. Yüksek homosistein seviyeleri olan grupta erektile disfonksiyon süresini uzun ve şiddetini daha yüksek belirledik. Ereksiyon, temel mekanizması vasodilatasyon olan nörolojik ve vasküler kökenli bir olaydır dolayısıyla vasküler hasar gelişimine neden olan yaş, DM, dislipidemi, hipertansiyon ve metabolik sendrom gibi risk faktörleri doğal olarak ED etiolojisinde de önemli bir yere sahiptirler (13). Bu risk faktörlerin, endotelial disfonksiyon ve nitrik oksit (NO) ile ilişkili kavernoza relaksasyonda bozulmaya sebep olarak ED oluşumuna yol açtıkları gösterilmiştir (14). ED'nin temel nedenlerinden biri olan endotelial disfonksiyonun tanı ve takibi için biyokimyasal belirteçlerin rolü birçok çalışmada incelenmiştir. Meigs ve ark. (15) yaptıkları çalışmalarında E-selectin, intersellüler adezyon molekülü-1 ve vasküler hücre adezyon molekülü gibi

**Tablo 4: Grupların serum laboratuvar değerlerinin dağılımları**

	Grup 1 (n=51)	Grup 2 (n=31)	P-değeri
Glukoz (mg/dL)	100 (70-280)	149 (80-400)	<b>0,026</b>
Kolesterol (mg/dL)	199,8	213,6	0,235
HDL-Kolesterol (mg/dL)	44 (22-150)	38 (17-70)	0,215
LDL-Kolesterol (mg/dL)	104 (38-163)	149 (50-185)	<b>0,021</b>
VLDL-Kolesterol (mg/dL)	38 (23-74)	49 (23-85)	<b>0,043</b>
Trigliserid (mg/dL)	124 (89-211)	178 (90-256)	<b>0,031</b>
Testosteron (ng/dL)	425 (220-940)	475 (186-800)	0,719

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

adezyon molekülleri ile endotel disfonksiyon arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu amaç doğrultusunda ED ile ilişkisi araştırılan parametrelerden bir tanesi de homosistein molekülüdür. Temel mekanizması vazodilatasyon ve düz kas gevşemesi olan penil ereksiyonun bozukluğu KVH'lerle aynı risk faktörlerini paylaşmaktadır. Aynı zamanda ED'nin, KVH için potansiyel öncü bir hastalık olma özelliği de vardır. Bu noktadan yola çıkarak KVH için ispatlanmış bir risk faktörü olan homosisteinin benzer şekilde ED için de bir risk faktörü olacağı düşünüyoruz. Hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalar, homosisteinin direkt veya dolaylı olarak ED'ye neden olabileceğini göstermiştir (16,17). Homosistein, doğrudan aterosklerotik süreci hızlandırır, endotelial onarım kapasitesini bozar, devam eden aterosklerotik süreç ile penis kavernoöz arter kan akımı giderek bozulur (18). *In vitro* olarak homosisteinin tavşan korpus kavernozumda asetilkolin kaynaklı gevşemeyi ve cGMP üretimini inhibe ettiği, *in vivo* olarak ise hem kavernoöz sinüsün hem de damarların iç duvarında endotelial NO sentaz ekspresyonunu azaltarak ereksiyon sayısını ve kalitesini düşürdüğü gösterilmiştir (16,19). Khan ve ark. (16) ise homosisteinin, tavşan kavernoözal düz kasında kربول ile uyarılan gevşemesini (NO'ya bağımlı bir mekanizma) inhibe ettiğini bildirdi. Homosistein yüksekliğinin vasküler yapılarda meydana getirdiği hasarın moleküler seviyede gösterildiği bu çalışmaların yanı sıra, klinik etkileri ve ED, DM ASKH ve metabolik sendrom gibi vasküler kaynaklı klinik patolojilerle olan ilişkisi literatürde araştırılmıştır (20). Çalışmamızda hasta gruplarını ED gelişiminde rol oynayan risk faktörlerinin oranını ve laboratuvar sonuçları açısından karşılaştırdık. ED gelişimi için geleneksel risk faktörlerinden bağımsız olarak yüksek homosistein seviyelerinin bir risk faktörü olduğu ilk olarak Demir ve ark. (21) tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada ED'li hastaların plazma homosistein seviyeleri kontrol deneklerinden anlamlı derecede yüksek bulundu ve plazma homosistein seviyesi ile ortalama IIEF skoru arasında anlamlı bir negatif korelasyon bildirildi. Biz de bu çalışmaya benzer olarak serum homosistein seviyeleri yüksek olan grupta IIEF skorlarını istatistiksel anlamlı düşük bulduk. Benzer şekilde, homosistein seviyeleri yüksek olan grupta ED ortalama süresini belirgin olarak daha uzun bulduk. Çalışmamızda hiperhomosisteinemisi olan grupta ED riski diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak fazla bulundu. Sonuçlarımız hafif orta homosistein yüksekliğinde vasküler hastalıklar için artış bildiren çalışmalar ve hiperhomosisteinemisi olan gruplarda ED riskini diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak fazla bulan Demir ve ark.'nın (21) bulgularıyla benzerdi uyumlu idi (22). Yüksek olgu sayılı kontrol gruplarının da yer aldığı diğer klinik çalışmalarda da bulgularımıza paralel olacak şekilde ED'nin tüm dereceleri için yüksek homosistein değerlerinin önemli bir bağımsız risk faktörü olabileceği rapor edilmiştir (7,23).

Çalışmamızda yüksek homosistein seviyeleri olan grupta ASKH oranı, düşük homosistein seviyeleri gruba göre anlamlı yüksek izlendi. Klinik olarak, koroner arter hastalarının, anormal

homosistein metabolizmasına sahip olduklarından ilk kez Wilcken ve Wilcken (24) bahsetmiştir. Hiperhomosisteinemi ve ASKH ilişkisinin incelendiği bir çalışmada, koroner kalp hastalığı gelişme riskinin hiperhomosisteinemili hastalarda normal popülasyona göre 24 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (25). Toplam 27 araştırmayı içeren bir meta-analizde ise toplumda görülen koroner kalp hastalığının %10'unun homosisteine bağlı olduğu belirtilmiştir (26). ASKH ile yüksek birliktelik gösteren ve ED için mutlak risk faktörü olan metabolik sendrom, merkezi obezite, yüksek glukoz, dislipidemi ve yüksek kan basıncının ile karakterizedir (27). Metabolik sendrom, endotelial disfonksiyon ve aterosklerozdan sorumlu olan bir grup risk faktörüdür (28). Metabolik sendromlu hastalarda ED'nin daha yaygın ve şiddetli olduğu gösterilmiştir. ED için genel risk faktörlerini içeren metabolik sendrom ile homosistein düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda ise çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (29,30). Hajer ve ark. (31) ileri vasküler hasar eşlik eden metabolik sendromlu hastalarda yaş, kreatinin klerensi ve cinsiyet için ayarlama yapıldıktan sonra kontrol grubuna göre homosistein açlık plazma seviyelerinin önemli ölçüde yüksek olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada metabolik sendromlu hastalarda izlenen yüksek homosistein seviyelerinin KVH riskini artırmadığı vurgulanmıştır. Bunu destekleyen başka bir çalışmada ise homosistein seviyelerinin tedaviyle düşürülmesinin kardiyovasküler riski düşürmede pozitif etkisinin olmadığı gösterilmiştir (32,33). Bu çalışmalara göre, metabolik sendrom hastalarında vasküler risk, temel olarak bireysel metabolik sendrom bileşenleri ve insülin direnci ile ilişkili olan diğer vasküler risk faktörleri tarafından belirlenir ve homosistein yüksekliğinin ilave bir katkısı yoktur.

Metabolik sendromun diğer bir önemli bir bileşeni açlık serum glikoz yüksekliği veya tedavi gerektiren glikoz yüksekliğidir. Yüksek homosistein seviyeleri olan grupta anlamlı serum glikoz yüksekliği ve DM oranı gözlemledik. Hayvan modellerinde bildirildiği gibi, yüksek homosistein plazma seviyeleri, hiperinsülineminin sonucu olabilir (34,35). Öte yandan literatürde homosisteinin *in vitro* olarak insülin-reseptör kinaz aktivitesi inhibisyon yoluyla insülin direncine ve DM'ye yol açabileceği de gösterilmiştir (36). Bu sonuçlara göre hiperhomosisteinemi, insülin direncinin bir nedeni veya aynı zamanda sonucu olabilir.

Laboratuvar bulgularımızda homosistein yüksek grupta LDL, VLDL ve trigliserit seviyelerinin istatistiksel anlamlı yüksek olduğunu belirledik. Bulgularımıza benzer olarak, 750 olgu ve 800 kontrol grubundan olan bir çalışmada hiperhomosisteinemi ile LDL, total kolesterol, trigliserit, apoprotein A1, apoprotein B seviyelerinin yüksekliği arasında yakın ilişki gösterilmiştir (37). Başka bir çalışmada LDL ile yapısal benzerlik gösteren lipoprotein (a) seviyeleri, hiperhomosisteinemisi olan gruplarda yüksek oranda rapor edilmiştir (38). Homosistein ve hiperlipidemi arasındaki ilişkiyi destekleyen bu çalışmalara karşıt olarak Gao ve

ark. (39), homosistein seviyeleri ile serum lipid seviyeleri arasında anlamlı ilişki olmadığını ifade etmişlerdir. Biz de lipid profilinde gruplar arasında izlediğimiz bu farklılıklara karşın serum kolesterol ve HDL seviyeleri açısından bir fark gözlemedik. Literatürde testosteron seviyeleri ile homosistein arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışma sayısı azdır ve bu ilişki belirsizliğini korumaktadır. Bu ilişkiyi inceleyen 400 olgu sayılı bir çalışmada homosistein seviyelerinin genel olarak seks hormonları üzerinde herhangi bir etkisi gösterilememiştir (40). Hasta gruplarımızda, homosistein seviyeleri ile testosteron seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki izlemedik.

### Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamızın zayıf yönü nispeten düşük hasta sayısı ve hastaların ED için birçok risk faktörlerini barındırmaları nedeniyle sadece hiperhomosisteineminin erektil fonksiyon üzerine olan etkilerini saptamadaki oluşturduğu güçlüğüdür.

### Sonuç

Hiperhomosisteinemi olan grupta, ED şiddeti ve süresinin istatistiksel anlamlı fazla olduğunu gözlemedik. DM ve ASKH gibi vasküler nedenlere bağlı gelişen hastalıklar da yüksek homosistein değerleri olan grupta belirgin olarak fazlaydı. Homosistein, ED için varsayılan bir risk faktörü olmaya devam etmektedir. ED gelişiminin ve ilerlemesinin önlenmesi ve takibinde prediktif bir belirteç olarak katkı sağlayabilir. Bununla birlikte, hiperhomosisteinemi ile ED arasındaki nedensel ilişkinin ortaya konulması ve kan homosisteinin seviyesinin ED'de gelişen vasküler hasarı göstermede rutin bir belirteç olarak kullanılabilmesi için daha yüksek sayıda hasta ve kontrol grupları içeren çok merkezli çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

### Etik

**Etik Kurul Onayı:** Araştırmanın etik kurul onayı hastanemizin klinik araştırmalar etik kurulundan 21/03 numarasıyla alındı.

**Hasta Onayı:** Hasta onamı alındı.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunun içinden ve dışından olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

### Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: M.T., M.Ç., Konsept: M.T., M.Ç., Dizayn: M.T., M.Ç., Veri Toplama veya İşleme: M.T., Analiz veya Yorumlama: M.T., Literatür Arama: M.T., Yazan: M.T.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

### Kaynaklar

1. Ayta IA, McKinlay JB, Krane RJ. The likely worldwide increase in erectile dysfunction between 1995 and 2025 and some possible policy consequences. *BJU Int.* 1999;84:50-56.
2. Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG, et al. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol.* 1994;151:54-61.
3. Fung MM, Bettencourt R, Barrett-Connor E. Heart disease risk factors predict erectile dysfunction 25 years later: the Rancho Bernardo Study. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43:1405-1411.
4. Hsueh WA, Lyon CJ, Quiñones MJ. Insulin resistance and the endothelium. *Am J Med.* 2004;117:109-117.
5. Maas R, Schwedhelm E, Albsmeier J, et al. The pathophysiology of erectile dysfunction related to endothelial dysfunction and mediators of vascular function. *Vasc Med.* 2002;7:213-225.
6. Sullivan ME, Keoghane SR, Miller MA. Vascular risk factors and erectile dysfunction. *BJU Int.* 2001;87:838-845.
7. Bansal TC, Guay AT, Jacobson J, et al. Incidence of metabolic syndrome and insulin resistance in a population with organic erectile dysfunction. *J Sex Med.* 2005;2:96-103.
8. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69:89-95.
9. Faeh D, Chiolerio A, Paccaud F. Homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease: should we (still) worry about? *Swiss Med Wkly.* 2006;136:745-756.
10. Zhang Z, Xu Z, Dai Y, et al. Elevated serum homocysteine level as an independent risk factor for erectile dysfunction: a prospective pilot case-control study. *Andrologia.* 2017;46.
11. Emsley AM, Jeremy JY, Gomes GN, et al. Investigation of the inhibitory effects of homocysteine and copper on nitric oxide-mediated relaxation of rat isolated aorta. *Br J Pharmacol.* 1999;126:1034-1040.
12. Finkelstein JD, Martin JJ. Homocysteine. *Int J Biochem Cell Biol.* 2000;32:385-389.
13. Sanchez E, Pastuszak AW, Khara M. Erectile dysfunction, metabolic syndrome, and cardiovascular risks: facts and controversies. *Transl Androl Urol.* 2017;6:28-36.
14. Pickard RS, Powell PH, Zar MA. Nitric oxide and cyclic GMP formation following relaxant nerve stimulation in isolated human corpus cavernosum. *Br J Urol.* 1995;75:516-522.
15. Meigs JB, Hu FB, Rifai N, et al. Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA.* 2004;291:1978-1986.
16. Khan MA, Thompson CS, Emsley AM, et al. The interaction of homocysteine and copper markedly inhibits the relaxation of rabbit corpus cavernosum: new risk factors for angiopathic erectile dysfunction? *BJU Int.* 1999;84:720-724.
17. Jones RW, Jeremy JY, Koupparis A, et al. Cavernosal dysfunction in a rabbit model of hyperhomocysteinemia. *BJU Int.* 2005 ;95:125-130.
18. Katsiki N, Perez-Martinez P, Mikhailidis DP. Homocysteine and Non-Cardiac Vascular Disease. *Curr Pharm Des.* 2017;23:3224-3232.
19. Jiang W, Xiong L, Bin Yang, et al. Hyperhomocysteinemia in rats is associated with erectile dysfunction by impairing endothelial nitric oxide synthase activity. *Sci Rep.* 2016;6:26647.
20. Sreckovic B, Sreckovic VD, Soldatovic I, et al. Homocysteine is a marker for metabolic syndrome and atherosclerosis. *Diabetes Metab Syndr.* 2017;11:179-182.
21. Demir T, Comlekçi A, Demir O, et al. Hyperhomocysteinemia: a novel risk factor for erectile dysfunction. *Metabolism.* 2006;55:1564-1568.
22. Bots ML, Launer LJ, Lindemans J, et al. Homocysteine and short-term risk of myocardial infarction and stroke in the elderly: the Rotterdam Study. *Arch Intern Med.* 1999;159:38-44.

23. Sansone M, Sansone A, Romano M, et al. Folate: a possible role in erectile dysfunction? *Aging Male*. 2018;21:116-120.
24. Wilcken DE, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism. *J Clin Invest*. 1976;57:1079-1082.
25. Clarke R, Daly L, Robinson K, et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med*. 1991;324:1149-1155.
26. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA*. 1995;274:1049-1057.
27. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2001;24:683-689.
28. Shimbo D, Grahame-Clarke C, Miyake Y, et al. The association between endothelial dysfunction and cardiovascular outcomes in a population-based multi-ethnic cohort. *Atherosclerosis*. 2007;192:197-203.
29. Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JM, et al. Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy, non-obese subjects. *Atherosclerosis*. 1998;139:197-198.
30. Godsland IF, Rosankiewicz JR, Proudler AJ, et al. Plasma total homocysteine concentrations are unrelated to insulin sensitivity and components of the metabolic syndrome in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:719-723.
31. Hajer GR, van der Graaf Y, Olijhoek JK, et al. Levels of homocysteine are increased in metabolic syndrome patients but are not associated with an increased cardiovascular risk, in contrast to patients without the metabolic syndrome. *Heart*. 2007;93:216-220.
32. Bønaa KH, Njølstad I, Ueland PM, et al. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2006;354:1578-1588.
33. Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, et al. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med*. 2006;354:1567-1577.
34. Fonseca V, Dicker-Brown A, Ranganathan S, et al. Effects of a high-fat-sucrose diet on enzymes in homocysteine metabolism in the rat. *Metabolism*. 2000;49:736-741.
35. Oron-Herman M, Rosenthal T, Sela BA. Hyperhomocysteinemia as a component of syndrome X. *Metabolism*. 2003;52:1491-1495.
36. Najib S, Sánchez-Margalet V. Homocysteine thiolactone inhibits insulin-stimulated DNA and protein synthesis: possible role of mitogen-activated protein kinase (MAPK), glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) and p70 S6K phosphorylation. *J Mol Endocrinol*. 2005;34:119-126.
37. Daly C, Fitzgerald AP, O'Callaghan P, et al. Homocysteine increases the risk associated with hyperlipidaemia. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2009;16:150-155.
38. Foody JM, Milberg JA, Pearce GL, et al. Lipoprotein(a) associated with coronary artery disease in older women: age and gender analysis. *Atherosclerosis*. 2000;153:445-451.
39. Gao W, Jiang N, Meng Z, et al. Hyperhomocysteinemia and hyperlipidemia in coronary heart disease. *Chin Med J (Engl)*. 1999;112:586-589.
40. Nakhai Pour HR, Grobbee DE, Muller M, et al. Serum sex hormone and plasma homocysteine levels in middle-aged and elderly men. *Eur J Endocrinol*. 2006;155:887-893.

# A Patient with Local Hypersensitivity Reactions to Three TNF- $\alpha$ Inhibitors and Local/Systemic Hypersensitivity Reactions to Tocilizumab: Desensitization to Tocilizumab

Üç TNF- $\alpha$  İnhibitörü ile Lokal ve Tosilizumab ile Lokal/Sistemik Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu Gelişen Bir Hasta: Tosilizumab ile Desensitizasyon

© Betül Özdel Öztürk<sup>1</sup>, © Nilay Orak Akbay<sup>1</sup>, © Elif Er Gülbezer<sup>2</sup>, © Francesca Nencini<sup>3</sup>, © Alessandra Vultaggio<sup>3</sup>, © Sevim Bavbek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara University Faculty of Medicine, Department of Chest Diseases, Division of Immunology and Allergy, Ankara, Turkey

<sup>2</sup>Koç University Hospital, Clinic of Internal Medicine, Division of Rheumatology, İstanbul, Turkey

<sup>3</sup>Careggi University Hospital, Immunoallergology Unit, Florence, Italy

## Abstract

Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) inhibitors are effective alternatives for chronic inflammatory diseases. They are generally well tolerated; however, they may lead to the immediate/delayed local or systemic hypersensitivity reactions (HSR). Tocilizumab is a monoclonal antibody against interleukin 6 receptors. It is given both via intravenous (IV) and subcutaneous (SC) routes and there are limited data reporting that the overall injection and/or infusion reaction rate to tocilizumab is estimated as 7-8%. Cross-reactivity between either TNF- $\alpha$  inhibitors or tocilizumab is not expected. However, we herein present an unusual case of a patient who reacted with local injection site reactions (ISRs) to three TNF- $\alpha$  inhibitors, adalimumab, etanercept, and golimumab. The patient then reacted with ISR and anaphylaxis to SC and IV tocilizumab, respectively. Skin prick tests with all biologicals were negative but positive in early readings of intradermal testing. After all, tocilizumab was successfully administered via rapid drug desensitization.

**Key Words:** TNF- $\alpha$  Inhibitors, Tocilizumab, Local Hypersensitivity Reactions, Anaphylaxis, Desensitization

## Öz

Tümör nekroz faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ) inhibitörleri, kronik enflamatuvar hastalıklar için etkili alternatiflerdir. Genellikle iyi tolere edilirler, ancak erken/geç tip lokal veya sistemik aşırı duyarlılık reaksiyonlarına (ADR) yol açabilirler. Tosilizumab, interlökin-6 reseptörlerine karşı bir monoklonal antikordur. Hem intravenöz (İV) hem de subkütan (SK) yolla verilir ve sınırlı sayıda çalışmada tosilizumab ilişkili enjeksiyon ve/veya infüzyon reaksiyon oranının %7-8 olduğu bildirilmiştir. TNF- $\alpha$  inhibitörleri veya tosilizumab arasında çapraz reaktivite beklenmemektedir. Ancak biz burada olağan dışı bir olgu olan üç TNF- $\alpha$  inhibitörü, adalimumab, etanercept ve golimumab, ile lokal enjeksiyon yeri reaksiyonu gelişen bir hasta sunduk. Hastada daha sonra SK ve İV tosilizumab ile sırasıyla lokal enjeksiyon yeri reaksiyonu ve anafilaksi gelişti. Tüm biyolojik ajanlarla yapılan deri prick testleri negatif, intradermal testlerin erken okumaları pozitif. Bununla birlikte tosilizumab hızlı ilaç desensitizasyon yoluyla başarıyla uygulandı.

**Anahtar Kelimeler:** TNF- $\alpha$  İnhibitörleri, Tosilizumab, Lokal Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu, Anafilaksi, Desensitizasyon

## Introduction

Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) inhibitors are valid alternatives in the treatment of multiple rheumatologic conditions. Five TNF- $\alpha$  inhibitors namely infliximab, adalimumab,

etanercept, golimumab, and certolizumab are currently available (1). TNF- $\alpha$  inhibitors are generally well tolerated but may cause immediate/delayed local or systemic hypersensitivity reactions (HSRs), which can be life-threatening (2,3). The most common reactions with subcutaneous (SC) TNF- $\alpha$  inhibitors are local

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Sevim Bavbek

Ankara University Faculty of Medicine, Department of Chest Diseases, Division of Immunology and Allergy, Ankara, Turkey

Phone: +90 312 595 65 84 E-mail: bavbek@medicine.ankara.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0002-7884-0830

Received/Geliş Tarihi: 14.02.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 01.11.2021

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.

All content are under CC BY-NC-ND license.





injection site reactions (ISRs) (2,3). In clinical trials, ISRs have been reported in up to 37%, 30%, and 16% of the etanercept, adalimumab, and golimumab-treated patients, respectively. These reactions were immediate or delayed and generally mild-to-moderate in severity (2,3).

Tocilizumab is a humanized monoclonal antibody against interleukin 6 receptors. It is administered both via intravenous (IV) and SC routes. Limited data report that HSR rates are estimated as 0.1%–0.7%, and the overall injection and/or infusion reaction rate is estimated as 7–8% with tocilizumab (4).

Cross-reactivity of TNF- $\alpha$  inhibitors with each others or with tocilizumab is not expected. However, herein we present an unusual case of a patient who reacted with ISRs to three TNF- $\alpha$  inhibitors, adalimumab, etanercept, and golimumab. The patient then reacted with ISR and anaphylaxis to SC and IV tocilizumab, respectively. Fortunately, tocilizumab was successfully administered via rapid drug desensitization (RDD).

## Case Report

A 28-year-old woman with a twelve-year history of rheumatoid arthritis, having received hydroxychloroquine, oral steroid, methotrexate, leflunomide, and sulfasalazine without significant benefit, was switched to 50 mg etanercept SC injections weekly, in 2014. After the 2<sup>nd</sup> injection, she developed local swelling, pruritus, and redness 5 cm in diameter within one hour, progressing to 10 cm and 20 cm in diameter after the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> injections.

She was then started on 40 mg/0.8 mL adalimumab SC injections, twice monthly, in 2016. The 2<sup>nd</sup> and the 3<sup>rd</sup> injections of adalimumab resulted in pruritus, redness, and swelling 5 cm and 10 cm in diameter, respectively, at the site of injection within 5 minutes. The 5<sup>th</sup> injection resulted in a local reaction covering the whole upper thigh.

She was then switched to 50 mg/0.5 mL SC golimumab, monthly, in September 2017, but she developed pruritus, redness, and swelling 5 cm and 8 cm in diameter, respectively, at the site of injection within 5 minutes after the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> injection. After the 4<sup>th</sup> injection, redness and swelling reached 10 cm in diameter. She denied having systemic reactions with any of these TNF- $\alpha$  inhibitors.

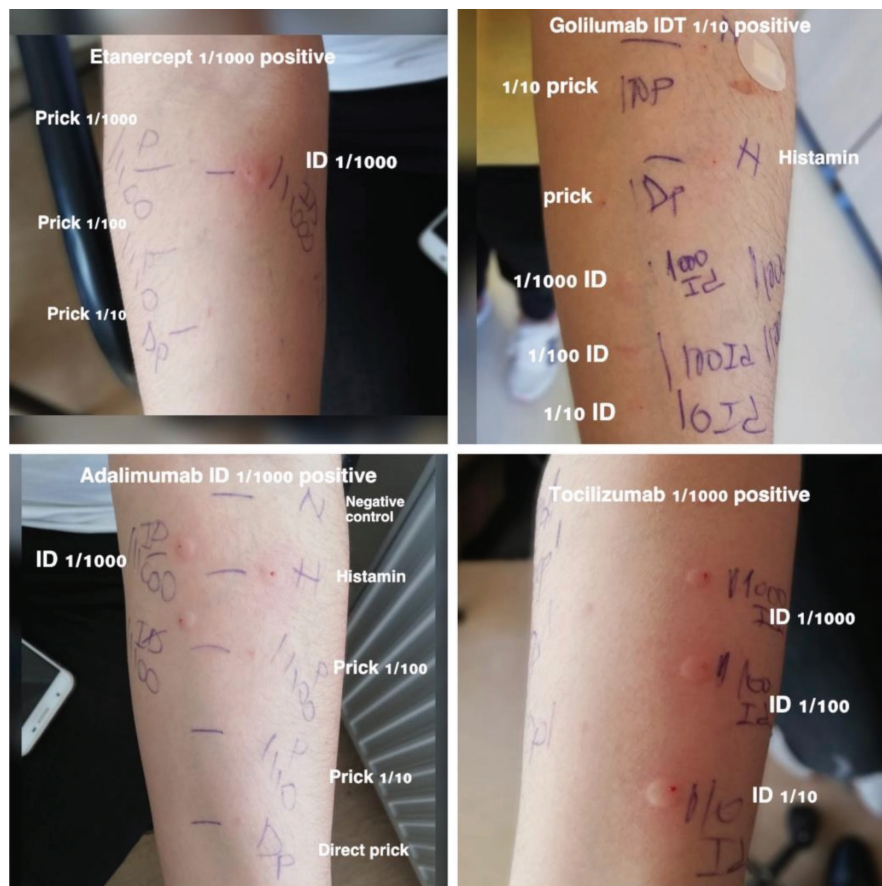
In March 2018, 560 mg IV infusion monthly of tocilizumab was prescribed. She responded well to tocilizumab during 12 infusions, and then switched to 162 mg/0.9 mL tocilizumab SC weekly. After the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> injection, tocilizumab resulted in local pruritus, redness, and swelling less than 5 cm and between 5–10 cm in diameter, respectively, within 5 minutes. After the 4<sup>th</sup> injection, redness, and swelling reached more than 20 cm in diameter prompting drug discontinuation. Then, tocilizumab was changed to monthly infusion, but during the 1<sup>st</sup> infusion,

she developed facial and uvular swelling, mild dyspnea, urticaria, pruritus, a 30 mmHg fall in systolic blood pressure (from 120/80 mmHg to 90/60 mmHg), tachycardia without loss of consciousness, which required IV methylprednisolone (100 mg) and antihistaminic (pheniramine 45.5 mg), fluid support, and she recovered within 20 minutes. After discharge, intermittent urticaria relapsed for a month despite using antihistamines.

Reported non-irritant doses of TNF- $\alpha$  inhibitors and tocilizumab were used for prick (PT) and intradermal testing (IDT) (2,5). A wheal diameter of 3 mm or more than the negative control was considered positive for PT and when the size of the initial wheal increases by 3 mm or greater in diameter associated with a flare was considered positive for IDT. All were negative in prick tests but were positive in early reading of 1/1000 dilutions of IDTs except golimumab, which was positive in 1:10 dilutions (Table 1) (Figure 1). All readings at 24, 48, and 72 hours were negative. Serum anti-drug antibodies (ADA), including ADA-IgE for all culprit drugs were included into the allergology tests. The patient was negative for non-isotype-specific (Theradiag, Paris, France) and for IgE (ImmunoCAP assay, Thermo Scientific-Phadia, Sweden), anti-etanercept, adalimumab, golimumab, and tocilizumab antibodies.

## Discussion

The mechanism underlying ISRs to SC-administered biologics remains unclear. In studies with TNF- $\alpha$  inhibitors, most are thought to be T-lymphocyte-mediated delayed-type, but the underlying mechanism may be IgE-mediated, and continued treatment may not always be advisable (6). Prick and early reading IDT are important in diagnosing immediate systemic or local IgE-mediated HSRs. Accordingly, skin tests have been found positive in some patients with ISRs to TNF- $\alpha$  inhibitors (2). No data are available for ISRs to tocilizumab, but skin tests have been found positive in cases of IV tocilizumab-induced anaphylaxis (5,7,8) (Table 2). Our patient demonstrated positive immediate skin test reactivity to both TNF- $\alpha$  inhibitors and tocilizumab, which suggests IgE-mast cell involvement. Only one study reported two patients who developed HSR to 3 anti-TNFs including infliximab, adalimumab, and etanercept (3). One was positive on IDT only with infliximab. The second resulted positive to IDTs with all anti-TNFs. However, there was no serologic evaluation of these cases (3) (Table 2). Our patient reacted to three TNF- $\alpha$  inhibitors with ISRs that developed after repeated administrations and showed positivity on IDTs, suggesting a sensitization phase and IgE involvement to each agent. Interestingly, the patient reacted to repeated tocilizumab administration, first as ISR via the SC route, followed by anaphylaxis with the IV route. Besides repeated administration, positive IDT also supported an IgE-mediated reaction to tocilizumab. It remains unknown why the serologic evaluation



**Figure 1:** Positivity on early readings intradermal tests to etanercept, golimumab, adalimumab, tocilizumab

**Table 1: Skin test data**

	Concentration	Direct prick test	Intradermal test	
Etanercept	50 mg/mL	Negative	1/1000	OD:8x8 mm ED:20x20 mm
Adalimumab	40 mg/0.8 mL	Negative	1/1000	OD:9x9 mm ED:15x15 mm
Golimumab	50 mg/0.5 mL	Negative	1/10	OD:5x5 mm ED:6x6 mm
Tocilizumab	20 mg/mL	Negative	1/1000	OD:5x5 mm ED:8x8 mm

OD: Edema diameter; ED: Erythema diameter

was negative in our patient. Perhaps the long-time interval between the reactions and the serum sampling ranging from 5 months to 2 years for TNF- $\alpha$  inhibitors and to 3 months for tocilizumab led to the negativity of assays. Another possibility is that skin testing may have been more sensitive than *in vitro* tests.

If there is no valid alternative in the event of an immediate HSR, RDD is effective and safe (2,9). There are case reports of IgE-mediated ISRs induced by TNF- $\alpha$  inhibitors, but very limited data with successful desensitizations with tocilizumab

(2). A patient with tocilizumab-induced anaphylaxis had prick-test positivity and was desensitized successfully (7). A 15-year-old male with systemic juvenile arthritis developed pruritus, maculopapular rash, angioedema, and dyspnea after a 2<sup>nd</sup> dose of tocilizumab. He was positive on IDT with 1/1 concentration and desensitized with a classic 12-step RDD (8). We successfully used the classic 12-step protocol during tocilizumab desensitization (8,10).

In conclusion, we present a patient with ISRs to three TNF- $\alpha$  inhibitors and ISR/anaphylaxis to tocilizumab. She was skin-

**Table 2: Details of reported cases with hypersensitivity reactions to different TNF- $\alpha$  inhibitors or tocilizumab**

Ref no	Patients	Diseases	Drugs	Clinical presentation	Skin tests/serology	Management (desensitization/change of the treatment)
3	Patient 1	Autoimmune disease (detailed information is not available)	Infliximab, Etanercept Adalimumab	Anaphylaxis with infliximab and large local reactions with etanercept and adalimumab	IDT: (+) with three TNF- $\alpha$ inhibitors	No information
3	Patient 2	Autoimmune disease (detailed information is not available)	Infliximab, Etanercept Adalimumab	U/AO	IDT: (+) with infliximab (-) skin test with etanercept/ adalimumab	No information
5	Patient 3	FMF	Canakinumab	U	(-)	Continue treatment with premedication
5	Patient 4	Polyarticular juvenile idiopathic arthritis	Tocilizumab	Anaphylaxis	Not available	Desensitization, successful
5	Patient 5	Systemic juvenile idiopathic arthritis	Tocilizumab	Anaphylaxis	IDT: (+)	Discontinued
5	Patient 6	Granulomatosis with polyangiitis	Rituximab	Anaphylaxis	IDT: (+)	Desensitization, successful
5	Patient 7	SLE	Rituximab	Anaphylaxis	Not available	Discontinued
5	Patient 8	Polyarticular juvenile idiopathic arthritis	Tocilizumab	Anaphylaxis	IDT: (+)	Discontinued
7	Patient 9	Still disease	Tocilizumab	U/AO	SPT: (+)	Desensitization, successful
8	Patient 10	Systemic juvenile idiopathic arthritis	Tocilizumab	Anaphylaxis	IDT: (+)	Desensitization, successful

IDT: Intradermal test, SPT: Skin prick test, U/AO: Urticaria/angioedema, FMF: Familial Mediterranean fever, SLE: Systemic lupus erythematosus

test positive to these drugs and was successfully desensitized to tocilizumab.

### Ethics

**Informed Consent:** Written informed consent for the publication of this report was obtained from the patient by the corresponding author.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

### Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: B.Ö.Ö., N.O.A., Concept: S.B., Design: S.B., Data Collection or Processing: E.E.G., Analysis or Interpretation: F.N., A.V., Literature Search: B.Ö.Ö., N.O.A., Writing: B.Ö.Ö., N.O.A., E.E.G., S.B.

**Conflict of Interest:** We declare that there is no conflicts of interest associated with this publication.

**Financial Disclosure:** We declare that we have not received any financial support to perform this study.

### References

- Aaltonen KJ, Virkki LM, Malmivaara A, et al. Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of existing TNF blocking agents in treatment of rheumatoid arthritis. *PLoS One*. 2012;7:e30275.
- Bavbek S, Lee MJ. Subcutaneous Injectable Drugs Hypersensitivity and Desensitization: Insulin and Monoclonal Antibodies. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2017;37:761-771.
- Puxeddu I, Giori L, Rocchi V, et al. Hypersensitivity reactions during treatment with infliximab, etanercept, and adalimumab. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2012;108:123-124.
- Rocchi V, Puxeddu I, Cataldo G, et al. Hypersensitivity reactions to tocilizumab: role of skin tests in diagnosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2014;53:1527-1529.
- Soyer O, Demir S, Bilginer Y, et al. Severe hypersensitivity reactions to biological drugs in children with rheumatic diseases. *Pediatr Allergy Immunol*. 2019;30:833-840.
- Zeltser R, Valle L, Tanck C, et al. Clinical, histological, and immunophenotypic characteristics of injection site reactions associated with etanercept: a recombinant tumor necrosis factor alpha receptor: Fc fusion protein. *Arch Dermatol*. 2001;137:893-899.
- Justet A, Neukirch C, Poubeau P, et al. Successful rapid tocilizumab desensitization in a patient with Still disease. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2014;2:631-632.
- Cansever M, Şahin N, Dursun I, et al. Successful Slow Desensitization to Tocilizumab in a 15-Year-Old Patient. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2018;28:436-438.
- Vultaggio A, Matucci A, Nencini F, et al. Hypersensitivity Reactions to Biologicals: True Allergy? *Curr Treat Options Allergy*. 2016;3:147-157.
- Bavbek S, Kendirlihan R, Çerçi P, et al. Rapid Drug Desensitization with Biologics: A Single-Center Experience with Four Biologics. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016;171:227-233.

# A Cleft Lip and Palate Case With Fraser Syndrome: Case Report and Literature Review

## Yarık Damak ve Yarık Dudak İçeren Fraser Sendromu Olgusu: Olgu Sunumu ve Literatürün Gözden Geçirilmesi

© Necip Sefa Özden, © Arda Özdemir, © Nijat Babayev, © Savaş Serel

Ankara University Faculty of Medicine, Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Ankara, Turkey

### Abstract

Fraser syndrome, which is also known as cryptophthalmos-syndactyly syndrome, is a rare autosomal recessive multisystemic genetic disease. This syndrome was first described in 1962 by Canadian Genetic specialist Fraser. Cryptophthalmos, cutaneous syndactyly, head and neck anomalies, urogenital and central nervous system malformations are the main features. In this case report, a patient with cryptophthalmos, syndactily, testicular agenesis, craniofacial anomalies and bilateral cleft lip-palate, who was diagnosed with Fraser syndrome, was presented.

**Key Words:** Fraser Syndrome, Congenital Anomaly, Cleft Lip-Palate

### Öz

Fraser sendromu kriptoftalmi-sindaktili sendromu olarak da bilinen ve nadir görülen otozomal resesif multisistemik bir genetik hastalıktır. Bu sendrom ilk kez 1962 yılında Kanadalı genetik uzmanı Fraser tarafından tanımlanmıştır. Kriptoftalmi, kutanöz sindaktili, baş-boyun anomalileri, ürogenital ve santral sinir sistemi malformasyonları bu sendromun ana özellikleridir. Bu olgu sunumunda kriptoftalmi, sindaktili, testiküler agenezi, kraniyofasyal anomali ve bilateral yarık dudak-damak patolojilerini barındıran bir Fraser sendromu olgusu sunulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Fraser Sendromu, Konjenital Anomali, Yarık Damak-Dudak

### Introduction

Fraser syndrome, which is also known as Meyer-Schwickerath syndrome, Fraser-François syndrome, Ullrich-Feichtiger syndrome was initially described by a Canadian genetics specialist named George Fraser in 1962. It is an autosomal recessive disease consisting of head and neck anomalies such as cryptophthalmos, hypertelorism, deafness, outer and middle ear deformities, saddle nose, midline nose clefts, teeth irregularities, cleft palate, and/or lip (1). Other pathologies like larynx stenosis/atresia, clitoromegaly, micropenis, hypospadias, cryptorchidism, vaginal atresia, bicornuate uterus, renal agenesis/hypogenesis, syndactily, wide apart nipples, umbilical

anomalies, microcephaly, encephalocele, meningomyelocele can be present in this syndrome (2).

In the literature, it is claimed to have an incidence of 0.043/10,000 live birth and 1.1/10,000 intrauterine dead birth. Less than 100 cases have been reported up to date (3). Fraser syndrome is known to show genetic heterogeneity according to mutations in *FRAS1* (4q21) and *FREM2* (13q13.3) genes (4). Mutation in the *FRAS1* gene causes disruption in epidermal-basal membrane adhesion and consequently organogenesis. *FREM 2* gene mutation results in structural disruption of FRAS1 related extracellular matrix protein 2 (5).

In this case report, a Fraser syndrome patient with cryptophthalmos, syndactily, testicular agenesis, craniofacial

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Necip Sefa Özden

Ankara University Faculty of Medicine, Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Ankara, Turkey

Phone: +90 312 595 6148 E-mail: necip.sefa.69@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-3871-8160

Received/Geliş Tarihi: 04.05.2020 Accepted/Kabul Tarihi: 26.07.2021

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.

All content are under CC BY-NC-ND license.



anomaly, and bilateral cleft lip and palate who is operated on, in separate sessions to repair the cleft lip and the cleft palate pathologies is presented.

## Case Report

Written informed consent was obtained from parents of this patient. A 2-year-old patient is consulted to our clinic by the pediatric clinic for bilateral cleft lip and palate repair. According to the history taken from the family, the patient is learned to be born weighing 2920 grams from a 25-year-old mother without any prenatal complications at gestational 36th week by C-section. It is also learned that the patient was intubated for 4 months after birth. The family reported that the patient was diagnosed to have bilateral cleft lip and palate and bilateral cryptorchidism by the prenatal ultrasonography yet the patient was not diagnosed to have any syndrome. In history, no mother and father consanguinity was reported. At birth cryptophthalmos, plagiocephaly, hypoplastic nose, hypoplastic ears, bilateral cleft and palate, testicular agenesis were the only pathologies that the patient presented.

On inspection part of the physical examination, by the extraoral examination asymmetrical plagiocephalic head, cryptophthalmos, hypertelorism, flat profiled asymmetrical face, the absence of columella, depressed nose tip with wide nose base, bilateral cleft lip, and anterior displacement of the premaxillary segment were noticed. The front and side views of the patient are shown in Figure 1 and 2.

By the extraoral examination complete cleft palate, multiple missing teeth, enamel hypoplasia, and class 2 occlusion in dentoalveolar angle evaluation. The intraoral view of the patient is shown in Figure 3.

For the assessment of neural and craniofacial development of the patient, a Brain-Orbit magnetic resonance imaging (MRI) was requested. The Brain-Orbit MRI was reported as "Thin corpus callosum, calvarial asymmetry, platybasia, microcephaly, midline defect in the maxilla (cleft palate), the subcutaneous soft tissue in right parietal area in association with bone, a distinction of central canal at the level of the cervical spinal cord, two cystic structures in optic vesicle at right orbit and microphthalmia, cyclical structure belonging deformed primitive globe at left orbit, bilateral lens and optic nerves are not detected". The preoperative MR image of the patient is shown in Figure 4.

For the complete cleft palate repair, von Langenbeck palatoplasty and unilateral cleft lip repair were planned. Complete blood count, full biochemistry, coagulation parameters, and viral markers are requested. No abnormal values were found in the laboratory results. In the preoperative examination of the patient by the department of anesthesia and reanimation cardiac murmur was noticed. Echocardiography of

the patient was requested. The echocardiography was reported as "Left to right shunting through a 1.5-2 mm defect which is thought to be patent foramen ovale".



Figure 1: Front view of the patient



Figure 2: Lateral view of the patient

With an incision medial to alveolar arc to the hamulus notch according to von Langenbeck technique, greater palatine artery-based mucoperiosteal flaps were elevated. Nasal mucosa, soft palate muscles, and oral mucosa were sutured with 4-0 vicryl, 3-0 vicryl, 3-0 rapid vicryl respectively. Afterward for the repair of unilateral cleft lip wedge excision was planned. With the primary repair of the oral mucosa and skin with appropriate sutures, the operation was terminated. The early postoperative views of the patient are demonstrated in Figure 5.

After having oxygen saturations no lower than 94 percent during 3 days in the pediatric intensive care unit and 1 day in the plastic surgery ward the patient was discharged on the postoperative day 4 with appropriate analgesic, anti-inflammatory, and antibiotherapy medication.

## Discussion

The clinical findings of our case are consistent with the diagnosis criteria of Fraser syndrome claimed by Thomas et al. (6) The diagnosis criteria and the pathologic clinical findings of our case are stated in Table 1.

van Haelst and Scambler (7) revised the diagnosis criteria for Fraser syndrome in 2007. The revision includes the addition of urinary system anomalies, laryngeal and tracheal anomalies into major criteria. Also minor criteria are revised as anorectal

defects, dysplastic ears, cranial bone defects, umbilical anomalies and nasal anomalies. According to van Haelst and Scambler (7) for the diagnosis of Fraser syndrome two major and 1 minor criteria or 1 major and 4 minor criteria are required. In this case, 2 major criteria of cryptophthalmos and abnormal genitalia, 2 minor criteria of absence of the columella and cranial skeletal defects were present.

Although being one of the minor criteria of Fraser syndrome, there is no statement of the incidence of cleft lip and palate in literature. Migration defect of neural crest cells, apoptotic insufficiency, or a defect in retinoid metabolism are blamed for the pathogenesis of cleft lip and palate even though the pathway is not fully clear (8,9). In this case, bilateral cleft lip and palate were present. Bardach two flaps, Von Langenbeck, Veau-Wardill-Kilner V-Y palatoplasty techniques can be performed for cleft palate repair (10). In this case, von Langenbeck palatoplasty was preferred.

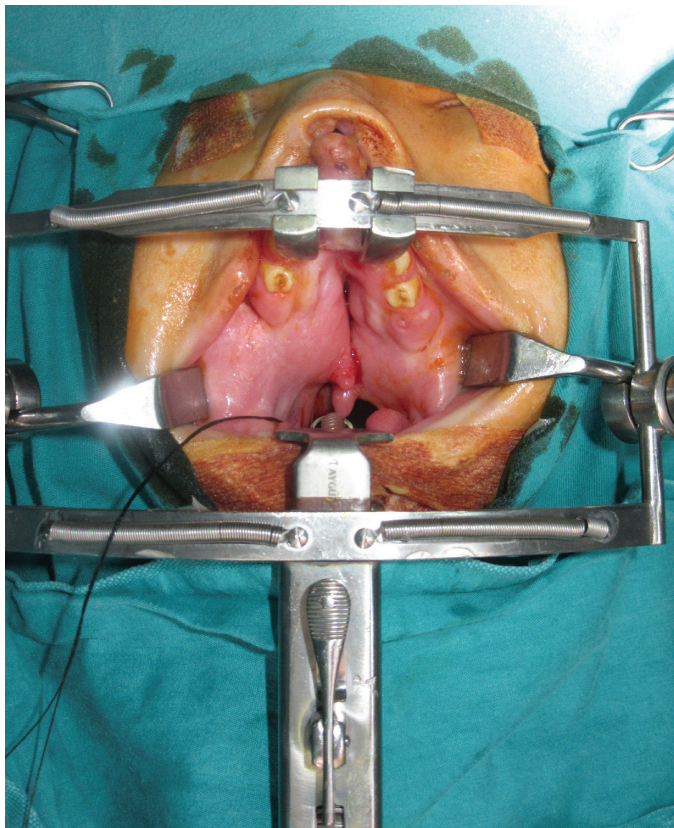


Figure 3: Intraoral view of the patient

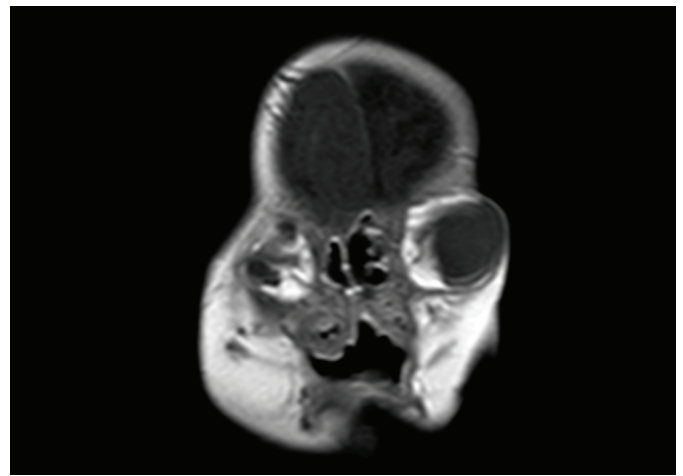


Figure 4: The preoperative MR image of the patient revealing multiple neurologic and skeletal defects

MR: Magnetic resonance

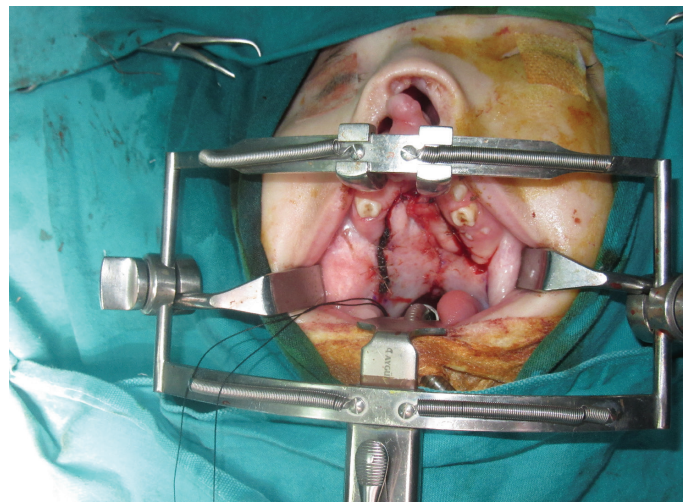


Figure 5: Early postoperative intraoral view of the patient

Cryptophthalmos was described in 1872 by Zehender. It is the most unique finding of Fraser syndrome (11). Yet, Thomas et al. (6) stated that there were not cryptophthalmos in their 14 cases according to their 87 patient Fraser syndrome case series. Cryptophthalmos that can be seen in the syndrome have complete, incomplete, and symblepharon forms. In the complete type which is the most common, eyelids are not formed at all and the forehead skin is continuous with the cheek. The correction of cryptophthalmos requires multiple sessions and in the first session, the Mustardé rotation flap and lower eyelid augmentation with conchal cartilage graft must be performed (12). Afterward, the conjunctiva should be reconstructed with mucosal grafts. In this case, unilateral incomplete cryptophthalmos was present and the reconstruction of the eyelid was planned on a later occasion.

According to Ramsing et al. (13) syndactyly can be seen in 77% of the Fraser syndrome cases. Half of these patients have syndactyly in both hands and feet. Syndactyly in Fraser syndrome is always cutaneous (14). Less than 10% of the patients may also have brachydactyly, nail hypoplasia, and abnormal palmar linings (15). In this case, only syndactyly was present.

Ambiguous genitalia is commonly seen among genital system anomalies. In males, cryptorchidism, micropenis, hypospadias, phimosis, and scrotal hypoplasia can occur. Most common gastrointestinal anomalies include imperforated anus whereas anal stenosis and umbilical hernia are less common (15). In this case, only ambiguous genitalia and none of the gastrointestinal anomalies were present.

Although there is not any case mentioning any cardiac anomalies in the literature review, in this case, patent foramen ovale was detected in echocardiography. Death in Fraser syndrome is generally related to renal agenesis or laryngeal stenosis (11). 25% of the patients are dead at birth, the other 25% die in the first year due to renal agenesis or laryngeal stenosis. 80% of living patients are mentally retarded (11,16). In this case, the patient had mental retardation.

**Table 1: Diagnosis criteria for Fraser syndrome stated by Thomas et al. (6)**

Major Criteria	Minor Criteria
Cryptophthalmos*	Nasal congenital malformations*
Syndactyly	Auricular congenital malformations
Abnormal genitalia*	Laryngeal congenital malformations
	Cleft lip/palate*
	Skeletal defects
Sibling with Fraser syndrome	Umbilical hernia
	Renal agenesis
	Mental retardation*

(Clinical findings marked with \* were present in the case)

Thomas et al. (6) claimed that there is 15% of the patients have a history of mother and father consanguinity. Since the disease has an autosomal recessive transmission it can be said that there is a 25% risk of acquiring this syndrome among siblings. In this case, no known consanguinity was reported. In such cases, it is advised that the families that have a family member of this syndrome get genetic counseling help.

The significance of this case report is that this is the first case report in literature mentioning the repair of cleft lip and palate of a Fraser syndrome patient.

## Conclusion

In such cases, with patients having complicated craniofacial anomalies like the one with Fraser syndrome that is mentioned in this case report, the main concern is the general health status of the patient. The functional stability of the facial skeleton should be the second consideration. Last of all concerns, aesthetic results can be considered. After the repair of the cleft lip and palate, the widening of the maxillary arc occurs. The next step is orthognathic surgery including the protrusion of the mandible is followed by the prosthetic replacement of the multiple missing teeth for functional stability and aesthetic coherence.

Also, airway obstructions due to laryngeal stenosis must be carefully examined in these types of syndromic patients. The operations which lengthen the soft palate and narrow the airway such as cleft lip and palate repair must be cautiously planned.

## Ethics

**Informed Consent:** Written informed consent was obtained from parents of patient.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

## Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: N.S.Ö., S.S., Concept: N.S.Ö., A.Ö., N.B., S.S., Design: N.S.Ö., A.Ö., S.S., Data Collection or Processing: N.S.Ö., A.Ö., S.S., Analysis or Interpretation: N.S.Ö., A.Ö., N.B., S.S., Literature Search: N.S.Ö.; Writing: N.S.Ö., S.S.

**Conflict of Interest:** We declare that there is no conflicts of interest associated with this publication.

**Financial Disclosure:** We declare that we have not received any financial support to perform this study.

## References

- Sanghani JK, Kamble RH, Shrivastav S, et al. Fraser syndrome without cryptophthalmos: A rare case report. *Journal of Cleft Lip Palate and Craniofacial Anomalies*. 2015;2:139-142.
- Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM) 2008. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 219000: Fraser syndrome. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>.

3. Narang M, Kumar M, Shah D. Fraser-cryptophthalmos syndrome with colonic atresia. *Indian J Pediatr.* 2008;75:189-191.
4. Kiyozumi D, Sugimoto N, Sekiguchi K. Breakdown of the reciprocal stabilization of QBRICK/Frem1, Fras1, and Frem2 at the basement membrane provokes Fraser syndrome-like defects. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:11981-11986.
5. Wood BC, Yi S, Oh AK, et al. Frontal Encephalocele Associated With a Bilateral Tessier Number Three Cleft and Fraser Syndrome. *J Craniofac Surg.* 2015;26:1947-19450.
6. Thomas IT, Frias JL, Felix V, et al. Isolated and syndromic cryptophthalmos. *Am J Med Genet.* 1986;25:85-98.
7. van Haelst MM, Scambler PJ; Fraser Syndrome Collaboration Group, Hennekam RC. Fraser syndrome: a clinical study of 59 cases and evaluation of diagnostic criteria. *Am J Med Genet A.* 2007;143A:3194-3203.
8. Kiran G, Namita G, Dheeraj S. Recurrent Fraser syndrome. *Prenat Diagn.* 2007;27:184-185.
9. Omori M, Chytil F. Mechanism of vitamin A action. Gene expression in retinol-deficient rats. *J Biol Chem.* 1982;257:14370-14374.
10. Agrawal K. Cleft palate repair and variations. *Indian J Plast Surg.* 2009;42 Suppl:S102-S109.
11. Yosunkaya E, Fenercioğlu F, Yüksel A. Fraser sendromu: Bir vaka sunumu. *Firat Tıp Dergisi.* 2009;14:274-279.
12. Saleh GM, Hussain B, Verity DH, et al. A surgical strategy for the correction of Fraser syndrome cryptophthalmos. *Ophthalmology.* 2009;116:1707-1712. e1.
13. Ramsing M, Rehder H, Holzgreve W, et al. Fraser syndrome (cryptophthalmos with syndactyly) in the fetus and newborn. *Clin Genet.* 1990;37:84-96.
14. Slavotinek AM, Tiffet CJ. Fraser syndrome and cryptophthalmos: review of the diagnostic criteria and evidence for phenotypic modules in complex malformation syndromes. *J Med Genet.* 2002;39:623-633.
15. Kılınç N, Demir S, Demir B. Fraser Sendromu: İki Olgu Bildirimi. *Medical Bulletin of Haseki/Haseki Tıp Bulteni.* 2015;53:273-276.



# An Intracranial Foreign Body That Encountered Incidentally After Years

## Yıllar Sonra Tesadüfen Karşılaşılan İntrakraniyal Bir Yabancı Cisim

© Koral Erdoğan, © Anıl Eray, © İhsan Doğan

Ankara University Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Ankara, Turkey

### Abstract

Intracranial penetrating foreign bodies are one of the most rarely encountered situations in neurosurgery practice. Although they are uncommon, intracranial foreign bodies are potentially fatal entities. Sewing needles in the brain are among the more unusual foreign bodies. In this article, we presented a case with a sewing needle in the cranium that was detected incidentally. There were no clinical symptoms or inflammatory findings in the insertion area and no external sign of the puncture. We document this patient to highlight the management of such cases with the goal to improve outcome and minimize short and long term complications.

**Key Words:** Penetrating Head Injuries, Sewing Needle, Intracranial Foreign Bodies

### Öz

Kafa içi penetran yabancı cisimler, nöroşirürji pratiğinde en nadir karşılaşılan durumlardan biridir. Nadir olmalarına rağmen, kafa içi yabancı cisimler potansiyel olarak ölümcül antitelere sahiptir. Beyindeki dikiş iğneleri daha sıra dışı yabancı cisimler arasındadır. Bu yazıda kafatasında tesadüfen dikiş iğnesi saptanan bir olguyu sunuyoruz. Hiçbir klinik semptom veya giriş alanında enflamatuvar bulgu yoktu ve giriş deliğine ait bir belirti yoktu. Bu hastayı bu tür olguların yönetimini vurgulamak, daha iyi sonuçlar elde etmek ve kısa veya uzun vadeli komplikasyonları en aza indirmek amacıyla doküman ediyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** Penetran Kafa Yaralanmaları, Dikiş İğnesi, İntrakraniyal Yabancı Cisimler

### Introduction

Penetrating head injuries are commonly associated with a poor neurological prognosis and have a high risk of mortality, accounting for only 0.4% of all head injuries (1). They are rarely encountered in neurosurgery. Most of them result from work-related accidents, motor vehicle accidents, falls, criminal assaults or suicide. Foreign bodies mostly penetrate the cranium through the orbita, frontal sinus, ear and nasal regions. Although they are less common than closed head traumas, massive penetrating head injuries are major causes of death and severe disability as a result of intracerebral hematoma, cerebral contusion, intraventricular hemorrhage, pneumocephalus, caroticocavernous sinus fistula, vascular disruption or meningitis. The rate of vascular complications due

to penetrating cerebral injuries ranges from 5% to 40% in the literature (2). Early recognition of these injuries is important to achieve the best possible outcome. Generally based on the impact velocity they can be grouped into two categories: high and low velocity penetrations.

Intracranial needles were first documented by Meixner (3) in 1914, in two children. In infancy, needles in cranium are usually inserted through fontanelles or cranial sutures and more rarely orbita, ears or nose for the purpose of infanticide (4). Insertion of needles through the fontanel is mostly seen as an attempt for child abuse. Although most of the cases reported in the related literature were diagnosed incidentally, patients may present late in life with epilepsy or headache. Very few symptomatic patients are encountered in articles previously published. The most common symptoms are headache and epilepsy (5). Delayed

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Koral Erdoğan

Ankara University Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Ankara, Turkey

Phone: +90 543 977 98 87 E-mail: koralerdogan@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-5335-7172

Received/Geliş Tarihi: 11.06.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 27.08.2021

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.

All content are under CC BY-NC-ND license.



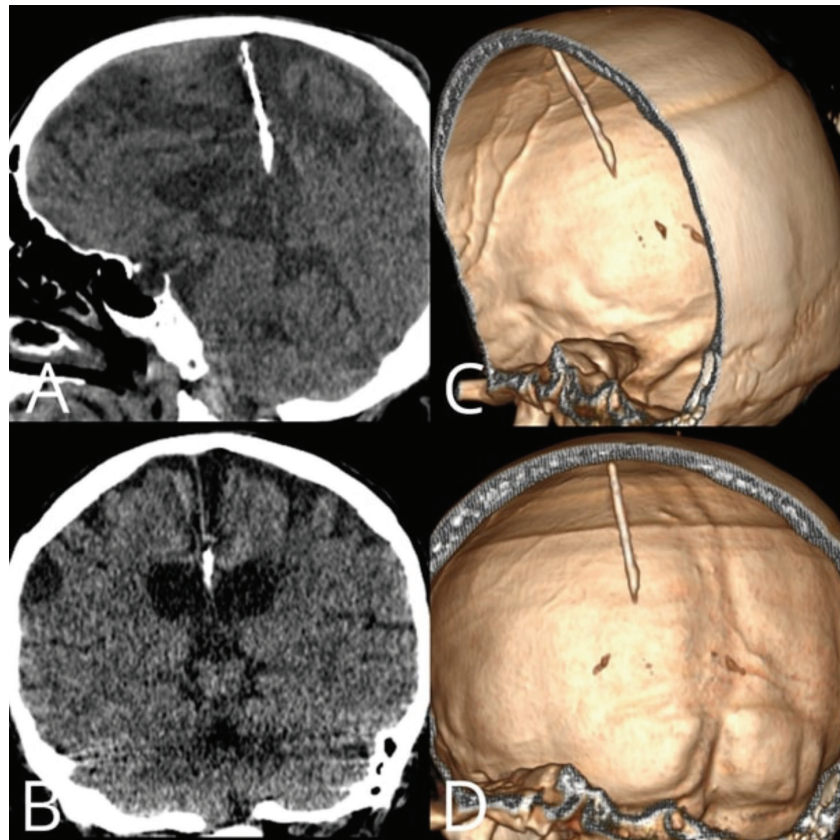
complications can also be seen such as pseudoaneurysms, arteriovenous fistulas, vasospasm, cerebrospinal fluid leak, infection and epilepsy. Most of the cases reported as an incidental finding in asymptomatic adults.

## Case Report

A 78-year-old female with normal physical and mental development consulted our department after presenting with abdominal pain to the gastroenterology clinic. She expressed that there is a needle in her head when a magnetic resonance cholangiopancreatography (MRCP) exam is planned. The needle was encountered by a clinician in a head X-ray after a minor head trauma and aware about this situation before. For this statement of the patient cranial computed tomography (CT) scan performed. CT demonstrated a 40 mm linear, hyperdense foreign object, judged to be a sewing needle extending through superior sagittal sinus adjacent to the falx to the lower margin of corpus callosum (Figure 1). She has no head surgery or trauma in her previous history. Her neurological condition and examination was intact. She has no external finding in the scalp about the entry point or puncture of the needle. There was no an epileptic or syncope attack. No evidence of motor and mental retardation was observed.

## Discussion

Penetrating cranial injuries can be classified as missile and non-missile injuries. There are specific weak areas such as the orbit, skull base foramina, anterior fossa floor and temporal squama where the foreign bodies can penetrate more easily. The needles are discovered incidentally as in our patient. Whether the needles in cranium in asymptomatic patients should be removed surgically or not, is mostly controversial (6). Tuncer et al. (7) suggests that surgical removal is not indicated when no clinical signs or symptoms are present. The most common symptoms are intractable headache and epilepsy and approximately one third of patients with intracranial needles remain asymptomatic (8). Ilbay et al. (4) recommends the conservative treatment if the patient is asymptomatic and diagnosis is incidental and there is no risk of infection. Amirjamshidi et al. (5) reported that there is no absolute surgical removal indication for intracranial sewing needles detected in the later decades of life. Patients with intracranial foreign bodies may present late in life with epilepsy. A view on the pathogenesis of epilepsy suggests that the sewing needle causes ion circulation which triggers the seizures (9). There are patients in the literature that reported underwent surgical removal of intracranial foreign body due to seizures whose attacks can't take under control despite oral antiepileptic



**Figure 1:** CT scan reveals intracranial foreign body through midline beside falx approximately 4 cm long with regular borders and sharp tip  
CT: Computed tomography

medication (10,11). Mass effect due to reactional tissue possibly may also cause seizures (12). Yürekli et al. (13) suggest that surgical removal is unnecessary if seizures are under control with antiepileptic drug therapy. Abbassioun et al. (6) point out that metallic foreign bodies are much better tolerated in the cerebral tissue than bone fragments. Present case in this article has no history of seizure or no infection findings or symptoms. The needle was inserted with an infanticide attempt. She had no complaint due to the intracranial needle. In this article, we aimed to emphasize under which conditions the surgical procedure is not indicated in patients with intracranial penetrating foreign bodies and why we did not operate the patient.

## Conclusion

Present case in this article is not symptomatic although it projects adjacent to the vital neurovascular structures. The life threatening criteria should be determined not only according to the location of the foreign body in the cranium but also according to the damage and symptoms it causes. When considering the surgical removal of a foreign body, the risk of complications and possible benefits should be also considered. In case of such injuries, foreign bodies adjacent to the major neurovascular structures should not be attempted to be taken out if there is no risk of infection and there is no intractable epilepsy.

## Ethics

**Informed Consent:** Written informed consent was obtained.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

## Authorship Contributions

Concept: K.E., A.E., İ.D., Design: K.E., A.E., İ.D., Data Collection or Processing: K.E., A.E., İ.D., Analysis or Interpretation: K.E., A.E., İ.D., Literature Search: K.E., A.E., İ.D., Writing: K.E., A.E., İ.D.

**Conflict of Interest:** We declare that there is no conflicts of interest associated with this publication.

**Financial Disclosure:** We declare that we have not received any financial support to perform this study.

## References

- Gennarelli TA, Champion HR, Sacco WJ, et al. Mortality of patients with head injury and extracranial injury treated in trauma centers. *J Trauma*. 1989;29:1193-1201.
- Kazim SF, Shamim MS, Tahir MZ, et al. Management of penetrating brain injury. *J Emerg Trauma Shock*. 2011;4:395-402.
- Meixner K: Totungsursuchi an Kindern durch Einstechen von Nadeln in den Kopf. *Dtsch Z Gerichtl Med*. 1914;47:382-386.
- İlbay K, Albayrak BS, İsmailoğlu O, et al. Letter to the editor--An incidental diagnosis of four adjacent intracranial sewing needles in a 16-year-old boy: a survivor of an infanticide attempt? *J Forensic Sci*. 2011;56:825.
- Amirjamshidi A, Ghasvini AR, Alimohammadi M, et al. Attempting homicide by inserting sewing needle into the brain Report of 6 cases and review of literature. *Surg Neurol*. 2009;72:635-641.
- Abbassioun K, Ameli NO, Morshed AA. Intracranial sewing needles: Review of 13 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1979;42:1046-1049.
- Tuncer N, Yaycı N, Ekinci G, et al. Intracranial sewing needle in a man with seizure: a case of child abuse? *Forensic Sci Int*. 2007;168:212-214.
- Sturiale CL, Massimi L, Mangiola A, et al. Sewing needles in the brain: infanticide attempts or accidental insertion? *Neurosurgery*. 2010;67:E1170-E1179.
- Balak N, Güçlü G, Karaca I, et al. Intracranially Retained Sewing Needle in a Child: Does the Rust on the Needle Have any Implication? *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2008;34:159-162.
- Gopaul R, Xiao WS, Yan J, et al. Intracranial foreign body through the sagittal sinus: case report and review of literature. *Chin Neurosurg J*. 2016;2:16.
- Balak N, Güçlü G, Karaca I, et al. Intracranially Retained Sewing Needle in a Child: Does the Rust on the Needle Have any Implication? *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2008;34:159-162.
- Göksu E, Ozankaya Ç, Gürer Eİ, et al. Epilepsiyle başvuran bir kafa içi dikiş iğnesi olgusunda nedbe dokusu rezeksiyonunun önemi. *Türk Nöroşirürji Dergisi*. 2014;24:49-51.
- Yürekli VA, Doğan M, Kutluhan S, et al. Status epilepticus in a 52-year-old woman due to intracranial needle. *Seizure*. 2012;21:652-654.

# Cervical Paravertebral Osteolipoma: Case Report and Literature Review

## Servikal Paravertebral Osteolipoma: Olgu Sunumu ve Literatür Taraması

© Mohammad Ahmad Altarawneh<sup>1</sup>, © Yasmeen Alabdallat<sup>2</sup>, © Khaled Albakri<sup>2</sup>, © Mahmoud Ahmad<sup>3</sup>, © Hossam Al-Anaswh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Prince Hamza Hospital, Clinic of Neurosurgery, Amman, Jordan

<sup>2</sup>Hashemite University Faculty of Medicine, Medical Student, Zarqa, Jordan

<sup>3</sup>Zarqa Governmental Hospital, Zarqa, Jordan

### Abstract

Osteolipoma is an unusual form of lipoma containing a well-differentiated metaplastic bone. Ossifying lipomas share clinical and radiological characteristics with other benign and malignant tumors; therefore, distinguishing osteolipomas from malignant ones is challenging, especially when using imaging methods. Accordingly, the diagnosing process requires adequate histological characterization to ensure distinguishing it from other neoplasms with a less favorable prognosis, and the surgical excision is considered the most effective treatment. The case we presented was a 61-year-old female, who presented with neck pain without any neurological signs and symptoms. Imaging studies showed a cervical paravertebral ossified lesion treated by total surgical excision and histopathology examination showed osteolipoma. Furthermore, we conducted a literature review that included six cases of cervical osteolipoma. Osteolipomas have a favorable prognosis like conventional lipomas; thus, surgeons should be aware to distinguish ossifying lipomas, which needs a complete surgical resection as the treatment of choice, from malignant lesions included in the differential diagnosis. However, postoperative follow-up is recommended because of relevant clinical information about these tumors.

**Key Words:** Osteolipoma, Ossifying Lipoma, Atypical Lipoma, Cervical Paravertebral Lipoma, Ossified Lipoma

### Öz

Osteolipoma, iyi ayırt edilmiş bir metaplastik kemik içeren alışılmadık bir lipom şeklidir. Kemikleştirici lipomalar klinik ve radyolojik özellikleri diğer iyi huylu ve kötü huylu tümörlerle paylaşırlar. Bu nedenle osteolipomaları kötü huylu olanlardan ayırmak, özellikle görüntüleme yöntemlerini kullanırken zordur. Buna göre, tanı süreci daha az olumlu bir prognoz ile diğer neoplazmlardan ayırt edilmesini sağlamak için yeterli histolojik karakterizasyon gerektirir ve cerrahi eksizyon en etkili tedavi olarak kabul edilir. Altmış bir yaşında, herhangi bir nörolojik belirti ve semptom göstermeden boyun ağrısı gösteren bir kadın olarak sunduğumuz olguda görüntüleme çalışmalarında total cerrahi eksizyon ile tedavi edilen servikal paravertebral kemikleşmiş lezyon saptandı ve histopatoloji incelemesinde osteolipoma saptandı. Ayrıca, altı servikal osteolipoma olgusunun yer aldığı bir literatür taraması yaptık. Osteolipomalar geleneksel lipomlar gibi olumlu bir prognoza sahiptir. Bu nedenle cerrahlar, tercih edilen tedavi olarak tam bir cerrahi rezeksiyona ihtiyaç duyan kemikleştirici lipomları ayırıcı tanıda yer alan kötü huylu lezyonlardan ayırt etme konusunda bilinçlendirilmelidir. Ancak bu tümörlerle ilgili ilgili klinik bilgiler nedeniyle ameliyat sonrası takip önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Osteolipoma, Kemikleştirici Lipoma, Atipik Lipoma, Servikal Paravertebral Lipoma, Kemikleşmiş Lipoma

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Yasmeen Alabdallat  
Hashemite University Faculty of Medicine, Medical Student, Zarqa, Jordan  
E-mail: abdallat.01@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-6855-3718  
Received/Geliş Tarihi: 28.07.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 30.09.2021

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine  
Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.  
All content are under CC BY-NC-ND license.



## Introduction

The most common repeated soft tissue tumors in the general population are lipomas. Distinguishing these lesions is characterized by the presence of mature fat cells that are surrounded by thin fibrous capsules (1). Grossly, they are yellowish lobulated masses with thin fibrous septal interference strands. Further, they may contain other mesenchymes, resulting in neoplasms, for instance, chondrolipomas, angiolipomas, fibrolipomas, as well as osteolipomas (2).

Although lipomas may be found in any part of the human body, these lesions usually appear in subcutaneous superficial tissues, mostly within the neck, back, and extremities (2) as well as the sternoclavicular region (3). Furthermore, most tumors appear with a similar age in both sexes, in adults aged thirty years or older (3). The rarest and most difficult variant to diagnose is those lipomas that show ossifying changes (4). In a study of 635 cases, less than one percent of lipomas were found to be ossifying (5). They found that the clinical presentation of these lipomas is usually asymptomatic and, thus most cases are not diagnosed for years (6).

If ossification happens on a lipoma outside of the bone, it is referred to as an ossifying lipoma or an osteolipoma. Ossifying lipomas are sharing clinical and radiological characteristics with other benign and malignant tumors (7), thus distinguishing osteolipomas from malignant ones is challenging, especially when using imaging methods (8). Accordingly, the diagnosing process requires adequate histological characterization to ensure distinguishing it from other neoplasms with a less favorable prognosis.

## Materials and Methods

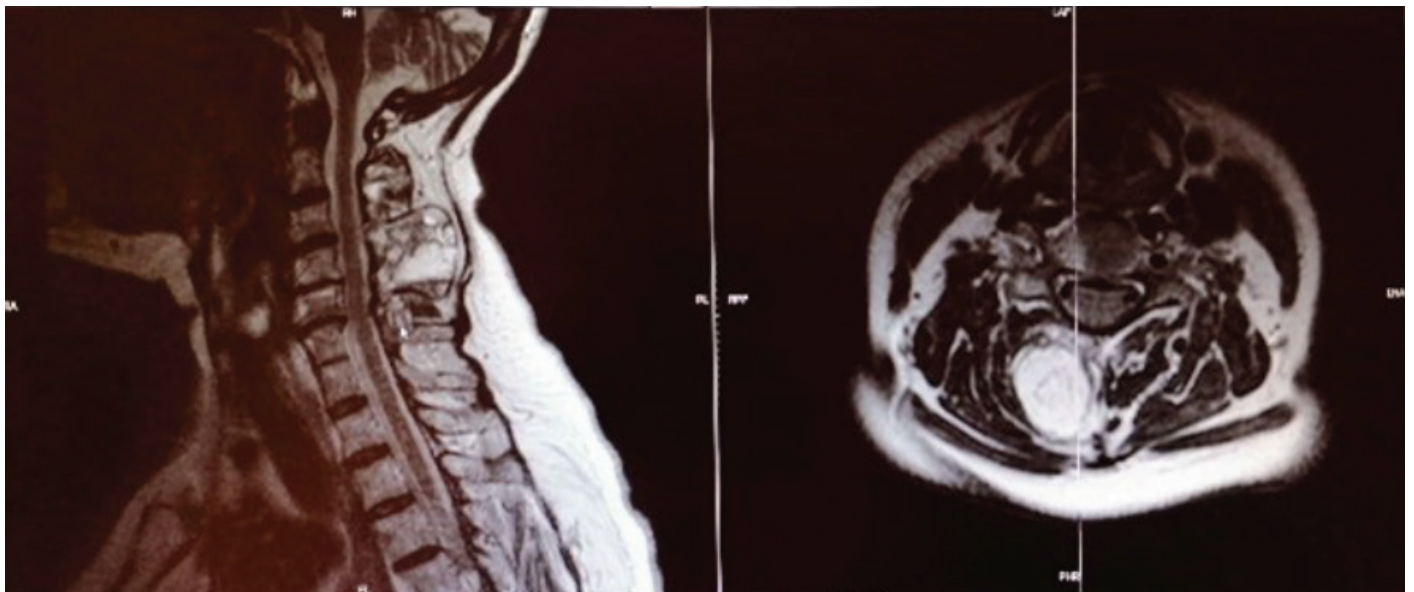
We present a case of cervical paravertebral osteolipoma and review the previous reports that concern cervical paravertebral osteolipomas. The search engine which was used in the literature search was PubMed. A combination of these terms was used "osteolipoma" or "ossifying lipoma" or "atypical lipoma" or "Cervical paravertebral lipoma" or "Ossified lipoma". The search was restricted to literature that is related to human beings and the English language. We included six papers published between 2009 and 2016 that conformed to our criteria.

## Case Presentation

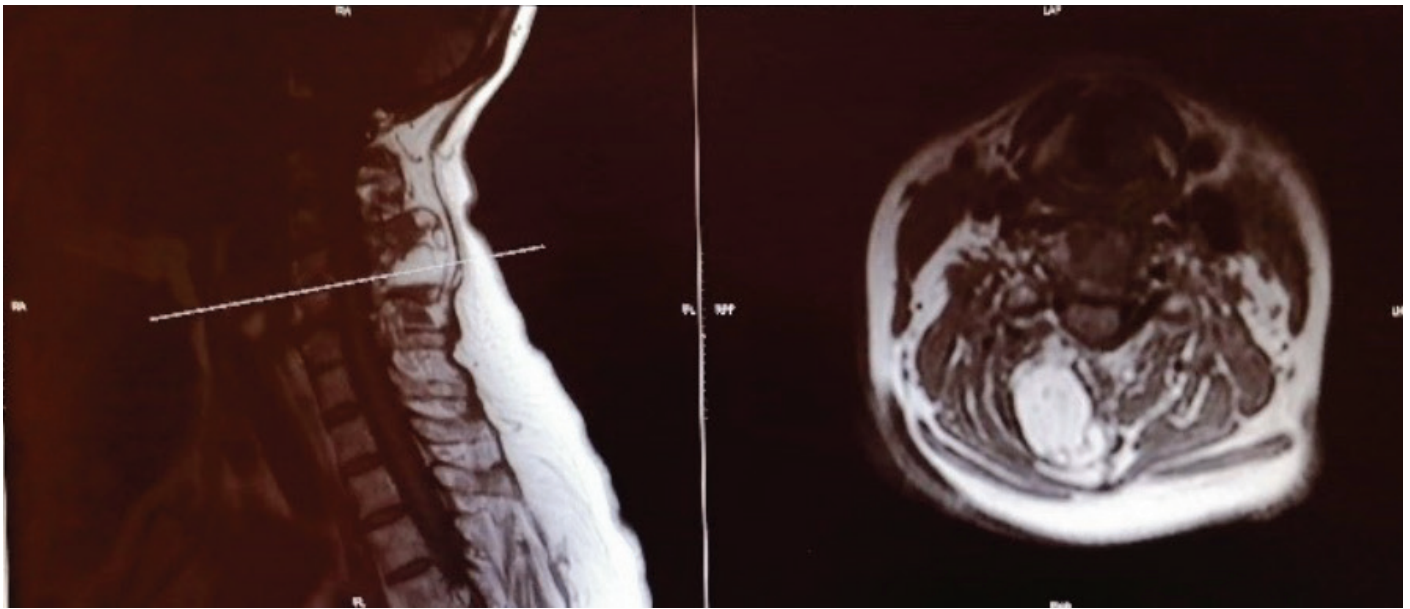
We illustrate the case of a sixty-year sold female who was diagnosed with diabetes on oral hypoglycemic drugs. The patient had presented to the clinic when she experienced neck pain before around a one-year. There was no family history and no severe previous trauma in the same region. After the physical examination, we found that the patient was neurologically intact. The results of blood tests, including thrombocytes count and coagulability characters, were normal.

Magnetic resonance imaging (MRI) was performed and showed a right-sided mass lesion about 3 X 3.5 X 2.5 cm posterior to C3-C5 hyperintense to isointense to hyperintense on T1, T2 with fat restriction and lobulated wall enhancement with differential diagnosis of liposarcoma, atypical lipoma, and ossifying lipoma (Figure 1).

A computerized tomography (CT) scan was obtained for showing more characterizes. CT revealed a calcified mass lesion



**Figure 1a:** Magnetic resonance imaging of the right-sided mass posterior to C3-C5



**Figure 1b:** Magnetic resonance imaging (MRI) of the right-sided mass posterior to C3-C5

right-sided posterior to C3-C5 with thinning of right-sided C4 lamina (Figure 2).

The patient underwent total surgical excision. Intraoperatively, we encountered a white-yellowish non-adherent hard mass underneath the cervical fascia posterior to right-sided C3, C4, and C5 laminae (Figure 3).



**Figure 2a:** A computerized tomography scan of the right-sided calcified mass posterior to C3-C5

The mass was dissected from the adjacent tissue and excised totally. There were no post-operative complications, so we discharged the patient home on the third day after the surgery. Postoperative MRI and CT scan showed no residual tumor (Figure 4).

### Histopathological Findings

Gross examination showed yellow fragmented pieces of fibrofatty to firm tissue with cream/yellow smooth, glistening cut sections, with patchy areas of calcifications and hard bony tissue.

Histopathologic screening showed mature adipose tissue with randomly distributed trabeculae of lamellar bone (Figure 5) and areas with hyaline cartilage undergoing ossification (Figure 6). The adipocytes were monotonous and monomorphic. There was no nuclear atypia, lipoblasts, mitotic activity, or necrosis seen. The case was signed out as osteolipoma.

### Discussion

Lipomas are common soft tissue tumors and when these tumors contain a dominant osseous component it is called osteolipoma, and ossifying lipoma if the fat is dominant (9).

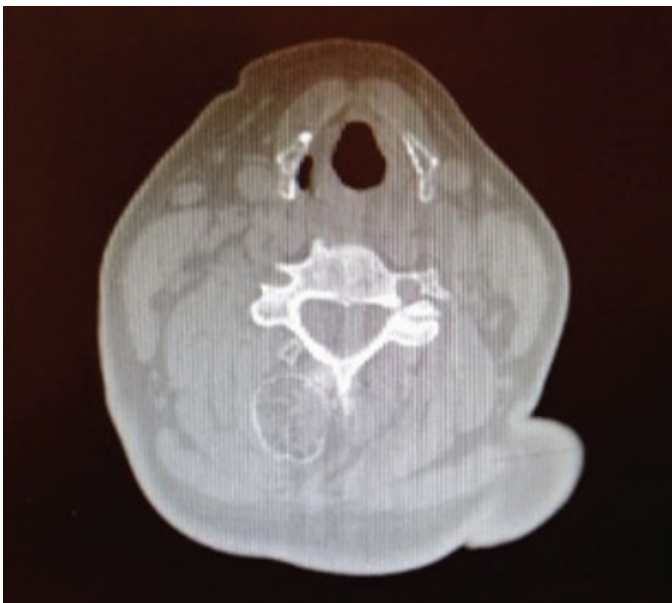
A review of 365 cases noted that less than 1% of lipomas were ossified (10). De Castro et al. (5) also reported that there was no osseous metaplasia when histological specimens of 125 facial and oral lipomas were analyzed. Thus, osteolipoma is considered an unusual form of lipoma. They found that the translocations in three osteolipomas were consistent with the karyotypic features of lipoma when cytogenetic analyses of all cases were performed (6).

The mechanism by which lipoma has become ossified is not clear up to now. However, there are two generally accepted theories: first, these tumors may derive from precursor cells that have the capacity to develop into lipoblasts, fibroblasts, and osteoblasts. Second, ossification may also be incited by nutritional deficiency that occurs due to recurrent trauma, metabolic troubles, or ischemia which lead to transform fibroblasts into osteoblasts (1,6,11).

Osteolipomas are usually presented in patients exceeding 45 years with painless mass. Additionally, most cases are asymptomatic and undetected for many years because of the slow growing of this type of tumors (1,11).



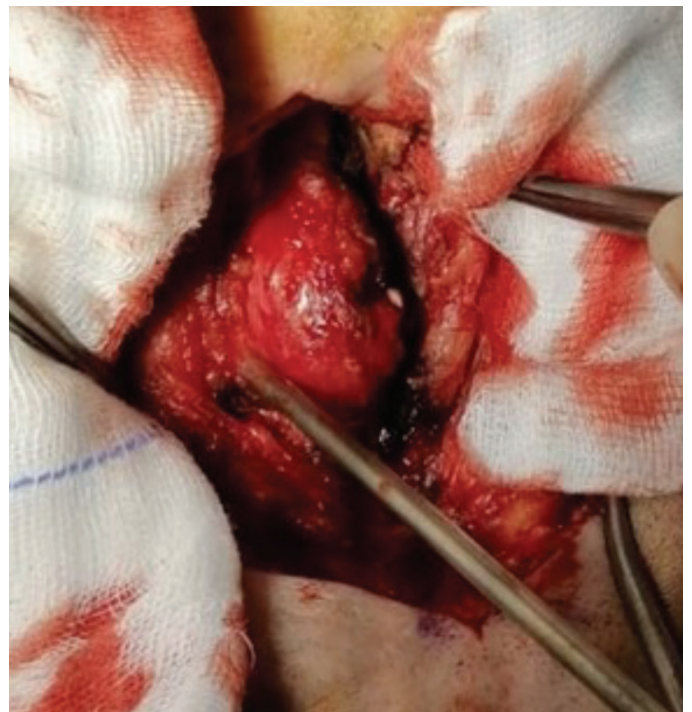
**Figure 2b:** A computerized tomography scan of the right-sided calcified mass posterior to C3-C5



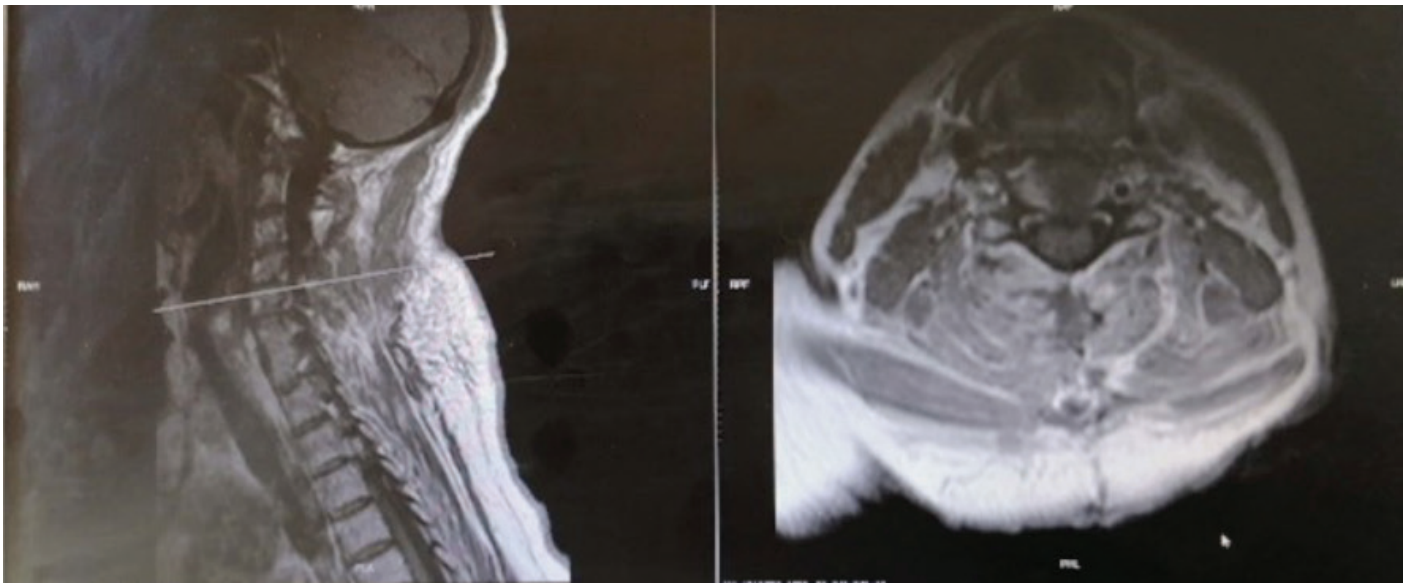
**Figure 2c:** A computerized tomography scan of the right-sided calcified mass posterior to C3-C5



**Figure 2d:** A computerized tomography scan of the right-sided calcified mass posterior to C3-C5

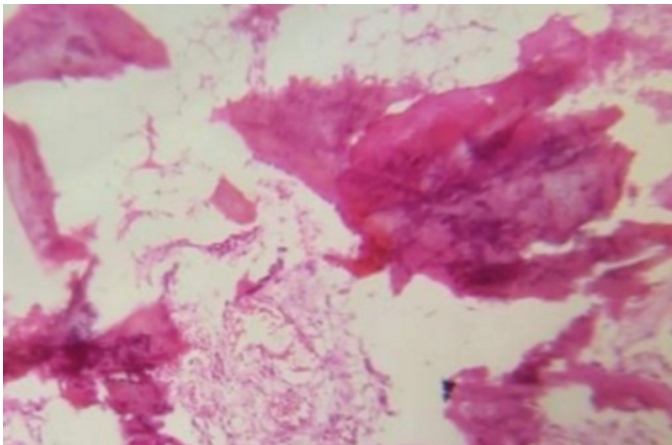


**Figure 3:** Intraoperative picture of the cervical fascia posterior to right sided C3, C4, and C5 laminae

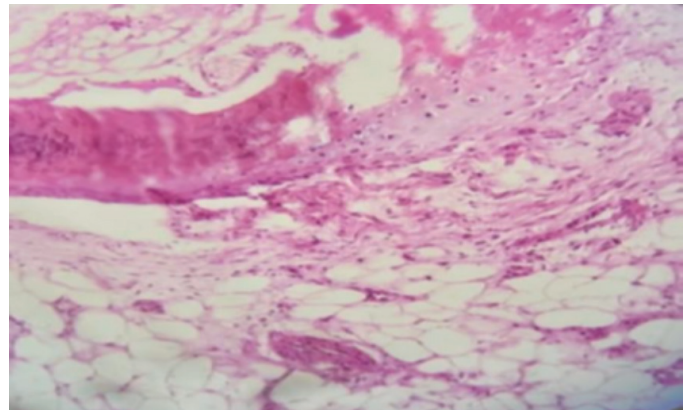


**Figure 4:** Postoperative MRI and CT of the Right-Sided mass posterior to C3-C5

MRI: Magnetic resonance imaging, CT: Computed tomography



**Figure 5:** Histopathologic screening showing a mature adipose tissue with randomly distributed trabeculae of lamellar bone



**Figure 6:** Histopathologic screening of areas with hyaline cartilage undergoing ossification

The differential diagnosis contains various types of other benign tumors such as teratomas, masses with secondary ossification due to trauma, liposarcomas with metaplastic changes, or congenital malformations, as well as surgeons should take consideration into tumor calcinosis, calcification in a bursa, and other conditions such as ossifying fibromas, myositis ossificans, osteosarcomas, and liposarcoma. According to the MRI results of 126 fatty masses, Gaskin and Helms (9) found that osteolipoma may imitate mature liposarcomas, nevertheless they are difficult to distinguish based on imaging alone. However, a Histopathologic test is the only way to give a decisive diagnose and the best treatment would be surgical excision (3,5,7).

Including the current report, a total of seven cases of cervical osteolipoma are included in the literature (Table 1). Five

were female (72%) and the remaining were males (28%), with an age range from 15 to 66 years.

Two of them were intradural (28%), one anterior to C1-C2 (14%) and the remaining four cases were posterior to the cervical spine (58%). While most of the cases were asymptomatic (except neck pain), the intradural lesions presented with dorsal column dysfunction (12) and progressive paraparesis and dysesthesia numbness in both legs (9) with clinical history ranges from 1 to 5 years.

All patients underwent surgical excision, six of them with a posterior approach and an anteriorly located one with the transoral approach. There were no reported adverse outcomes results from the surgeries.



<b>Table 1: Total of seven cases of cervical osteolipoma are included in the literature</b>				
<b>Clinical presentation</b>	<b>Asymptomatic, until a few months ago, when he experienced pain and dizziness.</b>	<b>Asymptomatic</b>	<b>Symptomatic</b>	
Duration (YRS) from diagnosis	2	5	1	
Radiographic appearance	<b>MRI:</b> A mass with a lipid component & calcifications with a possible origin in the right posterior root of C3. <b>CT:</b> Revealed hematic material and small bone spicules with no apparent neoplastic element	<b>MRI:</b> Showed a circumscribed mass compatible with fat & Calcifications	<b>MRI:</b> Midline lesion Posteriorly. <b>CT:</b> Shows the ossific lesion along the spin laminar line near the lamina posteriorly.	
Follow-up	6 months	6 months	24 months	
Attachment/ invasion	Calcified, right-sided, paravertebral mass.	A circumscribed mass, with large calcification.	Severe canal stenosis (4.0 mm) with the compressed cord, with reduced caliber and flattening.	
Approach	Posterior	Posterior	Posterior	
Size (mm)	8x3x4	4x6x3	8 x 9	
Site of the lesion	C2-C6	C2-C6 spinous processes	The cervical spinal canal (C5)	
Age(yrs)/sex	66/M	51/F	61/M	
Article/year	Guirro et al./2015	Yang et al./2013	Aiyer et al./2016	
<b>Clinical presentation</b>	<b>Symptomatic</b>	-	<b>Asymptomatic</b>	<b>Neck pain</b>
Duration (YRS) from diagnosis	2	-	-	1
Radiographic appearance	<b>MRI:</b> At the C6-7 stage, a 3 cm rounded extradural mass with low signal strength and a bright signal portion was demonstrated. The C6-7 VB's posterior scalloping was also discovered. <b>CT:</b> Intraspinal mass that had the density of bone.	<b>MRI:</b> Showed 2 sinus tracts. One of these tracts ended in the bone mass, and the other followed between the laminae of C2 and C3 to the dura. <b>CT:</b> revealed that bone mass, with no direct connection to the axial skeleton.	<b>MRI:</b> No communication between the lesion and C1 or C2. <b>CT:</b> Calcifications	<b>MRI:</b> Mass posterior to c3-c5 hyperintense to isointense on T1, T2 with fat restriction and lobulated wall enhancement. <b>CT:</b> Calcified mass
Follow-up	-	2 years	6 months	-
Attachment/ invasion	No nuclear atypia. No increase cells division rate.	Complete resection in the intradural tract and subtotal resection of the spinal fatty mass.	-	-
Approach	-	Posterior	Transoral	Posterior
Size (cm)	4.5 x 2.5 x 2	7x7	3x2x2	3x3.5x2.5
Site of the lesion	Spinal canal and the dura mater	Posterior cervical spine	Parapharyngeal anterior to c1 and c2	Right paravertebral c3-c5
Age(yrs)/sex	20/f	21m/f	15/f	60/f
Article/year	Lin et al./2009	Brones et al./2009	Bohm et al./2011	Current case/2021

## Conclusion

Osteolipoma is an unusual form of lipoma with an asymptomatic clinical presentation. It shares clinical and radiological characteristics with other benign and malignant tumors. These lipomas have a favorable prognosis like conventional lipomas; thus, surgeons should be aware to distinguish ossifying lipomas, which needs a complete surgical resection as the treatment of choice, from malignant lesions included in the differential diagnosis. However, postoperative follow-up is recommended because of relevant clinical information about these tumors.

## Ethics

**Informed Consent:** The manuscript contains no data by which can identify the patient. The informed consent was gained from the patient.

**Peer-review:** Internally peer-reviewed.

## Authorship Contributions

Concept: M.A.A., Y.A., K.A., M.A., H.A., Design: M.A.A., Y.A., K.A., M.A., H.A., Data Collection or Processing: M.A.A., Y.A., K.A., M.A., H.A., Analysis or Interpretation: M.A.A., Y.A., K.A., M.A., H.A., Literature Search: M.A.A., Y.A., K.A., M.A., H.A., Writing: M.A.A., Y.A., K.A., M.A., H.A.

**Conflict of Interest:** We declare that there is no conflicts of interest associated with this publication.

**Financial Disclosure:** We declare that we have not received any financial support to perform this study.

## References

1. Adebisi KE, Ugboke VI, Maaji SM, et al. Osteolipoma of the palate: report of a case and review of the literature. *Niger J Clin Pract.* 2011;14:242-244.
2. Aiyer SN, Shetty AP, Kanna R, et al. Isolated dorsal column dysfunction due to an intraspinal Osteolipoma - Case report and review of literature. *J Clin Orthop Trauma.* 2016;7(Suppl 1):2-4.
3. Allen PW. Tumors and proliferations of adipose tissue. *Masson Monographs in diagnostic pathology.* 1981. s. 17-20.
4. Bulkeley W, Mills OL, Gonzalvo A, et al. Osteolipoma of the parapharyngeal space mimicking liposarcoma: a case report. *Head Neck.* 2012;34:301-303.
5. de Castro AL, de Castro EV, Felipini RC, et al. Osteolipoma of the buccal mucosa. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010;15:e347-e349.
6. Demiralp B, Alderete JF, Kose O, et al. Osteolipoma independent of bone tissue: a case report. *Cases J.* 2009;2:8711.
7. Demirkan F, Demirkan N. Ossifying lipoma at the wrist. *Aegean Pathol J.* 2004;1:19-21.
8. Fritchie KJ, Renner JB, Rao KW, et al. Osteolipoma: radiological, pathological, and cytogenetic analysis of three cases. *Skeletal Radiol.* 2012;41:237-244.
9. Gaskin CM, Helms CA. Lipomas, lipoma variants, and well-differentiated liposarcomas (atypical lipomas): results of MRI evaluations of 126 consecutive fatty masses. *AJR Am J Roentgenol.* 2004;182:733-739.
10. Guirro P, Saló G, Molina A, et al. Cervical paravertebral osteolipoma: case report and literature review. *Asian Spine J.* 2015;9:290-294.
11. Lin YC, Huang CC, Chen HJ. Intraspinal osteolipoma. Case report. *J Neurosurg.* 2001;94(1 Suppl):126-128.
12. Heffernan EJ, Lefavre K, Munk PL, et al. Ossifying lipoma of the thigh. *Br J Radiol.* 2008;81:e207-e210.

# Two Newborns Presenting with Intraabdominal Cystic Mass and Obstructive Uropathy: Hydrometrocolpos due to Vaginal Atresia

Karın İçi Kistik Kitle ve Obstrüktif Üropati ile Başvuran İki Yenidoğan: Vajinal Atreziye Bağlı Hidrometrokolpos

Ali İhsan Anadolulu

Şanlıurfa Mehmet Akif İnan Training and Research Hospital, Clinic of Pediatric Surgery, Şanlıurfa, Turkey

## Abstract

Vaginal atresia is a rare congenital anomaly and treatment approaches are varied, usually driven by symptoms. We report two newborns presenting with an intraabdominal cystic mass and obstructive uropathy due to vaginal atresia. Physical examination revealed a mass lesion extending to the umbilicus and lack of vaginal patency. They had polydactyly on hands and feet. Both patients underwent vaginoplasty with abdominoperineal approach. The patients are still in the 2<sup>nd</sup> postoperative year and their follow-up is uneventful. Vaginal atresia and hydrometrocolpos should be considered in patients with intraabdominal cystic mass and polydactyly findings.

**Key Words:** Vaginal Atresia, Obstructive Uropathy, Newborn

## Öz

Vajinal atrezi nadir görülen bir doğumsal anomalidir ve tedavi yaklaşımları genellikle semptomlara bağlı olarak çeşitlilik gösterir. İntraabdominal kistik kitle ve obstrüktif üropati ile başvuran vajinal atrezi tanılı iki yenidoğan sunuldu. Fizik muayenelerinde palpasyonla umblikus üzerine uzanan kitlesel lezyon mevcuttu ve vajen açıklığının olmadığı görüldü. El ve ayaklarda polidaktili vardı. Her iki hastaya da abdominoperineal yaklaşımla vajinoplasti yapıldı. Hastalar halen ameliyat sonrası 2. yılında olup takipleri sorunsuzdur. Karın içi kistik kitle ve polidaktili bulguları olan hastalarda vajinal atrezi ve hidrometrokolpos akla gelmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Vajinal Atrezi, Obstrüktif Üropati, Yenidoğan

## Introduction

Hydrometrocolpos is a rare malformation caused by accumulation of secretion in the uterine cavity and vagina due to congenital obstruction of the vagina (1). Vaginal obstruction may be result of various anomalies such as imperforate hymen, transverse vaginal septum, varying degrees of vaginal atresia or cloacal malformation (2). It is mostly detected during adolescence with symptoms of primary amenorrhea, cyclic abdominal pain and voiding dysfunction. Unusually, it may present itself with abdominal mass in the neonatal period and if large enough, may also show signs of urinary system partial

obstruction for examples hydroureters and hydronephrosis (2,3). Here, we report two newborns presenting with intraabdominal cystic mass and obstructive uropathy due to hydrometrocolpos secondary to vaginal atresia.

## Case Presentation

### Case 1

This infant was born to non-consanguineous healthy parents. The mother (G3, P2) was 21 years of age. The pregnancy was uneventful. On routine ultrasonography (USG) at 34 weeks a large cystic mass was found in the

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Ali İhsan Anadolulu

Şanlıurfa Mehmet Akif İnan Training and Research Hospital, Clinic of Pediatric Surgery, Şanlıurfa, Turkey

Phone: +90 530 605 95 44 E-mail: dr.ali.ihsan.anadolulu@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-9742-930X

Received/Geliş Tarihi: 01.01.2022 Accepted/Kabul Tarihi: 05.01.2022

©Copyright 2022 Ankara University Faculty of Medicine

Journal of Ankara University Faculty of Medicine is published by Galenos Publishing House.

All content are under CC BY-NC-ND license.



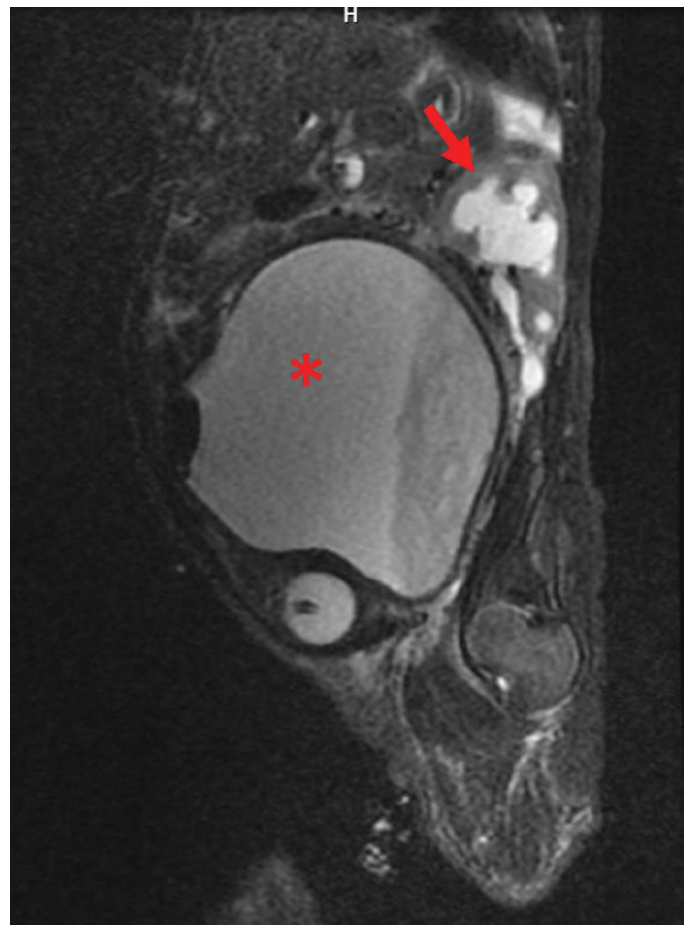
fetal abdomen. The increasing size of the cyst on repeat examination led to early delivery by caesarean section at 36+0 weeks. A female child with weight 2870 grams was delivered with Apgar scores of 3 and 6 at 1 & 5 minutes. The newborn was intubated due to respiratory insufficiency and was immediately transferred to neonatal intensive care unit. The initial babygram showed a large abdominal mass displacing the intestine (Figure 1). Abdominal USG revealed bilateral grade 3 hydronephrosis and a complicated cystic lesion measuring 7x8 cm in the abdomen. Renal function tests were normal. Echocardiography was normal. Abdominal magnetic resonance imaging revealed complicated cystic appearance with preliminary diagnosis complicated mesenteric cyst which was approximately 7x8 cm in size, extending to the level of the superior umbilicus, filling the pelvic area completely (Figure 2). The patient was consulted to pediatric surgery department with the preliminary diagnosis of mesenteric cyst with these findings. Physical examination revealed a mass lesion extending to the umbilicus. Vaginal opening was not present. The appearance of the anus and urethral opening was normal. She had polydactyly on hands and feet. Surgery decision has been taken with the diagnosis of hydrometrocolpos due to vaginal atresia.



**Figure 1:** The appearance of a pelvic mass that displacing the intestine on direct X-ray

## Case 2

A female baby with a birth weight of 3500 gr, was born by spontaneous vaginal delivery at 39 weeks of pregnancy from 34-year-old mother in her 4<sup>th</sup> pregnancy in the external center. The patient has been entubated due to respiratory insufficiency. Apgar score was unknown. The mother did not have regular antenatal care and no prenatal ultrasound examination was performed. The patient was referred to our hospital with evaluation of cystic mass on the abdominal USG which was done due to abdominal distension. Physical examination revealed abdominal distention and palpable mass extending to the superior of the umbilicus (Figure 3a). There was no vaginal patency (Figure 3b). The appearance of the anus and urethral opening was normal. She had polydactyly on hands and feet. Laboratory tests revealed that urea was 102 mg/dL (10.7-38.5) and creatinine was 2.01 mg/dL (0.57-0.87). USG revealed right grade 3, left grade 4 hydronephrosis and intra-abdominal cystic lesion measuring 10x11 cm. Echocardiography showed patent foramen ovale. Surgery decision has been taken with the diagnosis of hydrometrocolpos due to vaginal atresia.



**Figure 2:** The view of cystic uterus (asterisk) and hydronephrotic kidney (arrow) on MRI

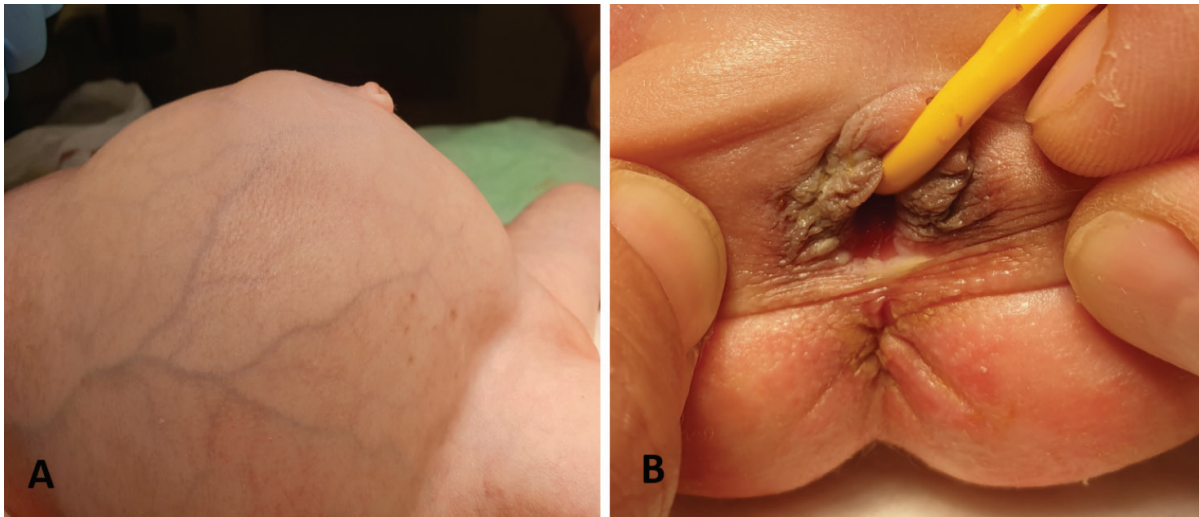
MRI: Magnetic resonance imaging

Both patients underwent vaginoplasty with abdominoperineal approach. Under general anesthesia with Pfannenstiel incision, an opening was made on anterior portion of the cystic uterus and mucoid fluid was aspirated. An urethral bougie was pushed from the uterus to vagina and vaginal bulging area was detected. The atretic vagina was reached with a cruciform incision made from this part, dissected and opened to the outside. Vaginal pull-through was completed (Figure 4a-b). For drainage, a 14 Fr silicone foley catheter was placed and the operation was terminated. Inserted catheter removed after six weeks and started daily dilatations later. Patients were seen monthly at the outpatient clinic. The case 2 did not come to the 5<sup>th</sup> month control. When she came to the 6<sup>th</sup> month control, it was difficult to apply bougie in her physical examination. It was learned that dilatation has not been performed for the last two months. The examination under general anesthesia

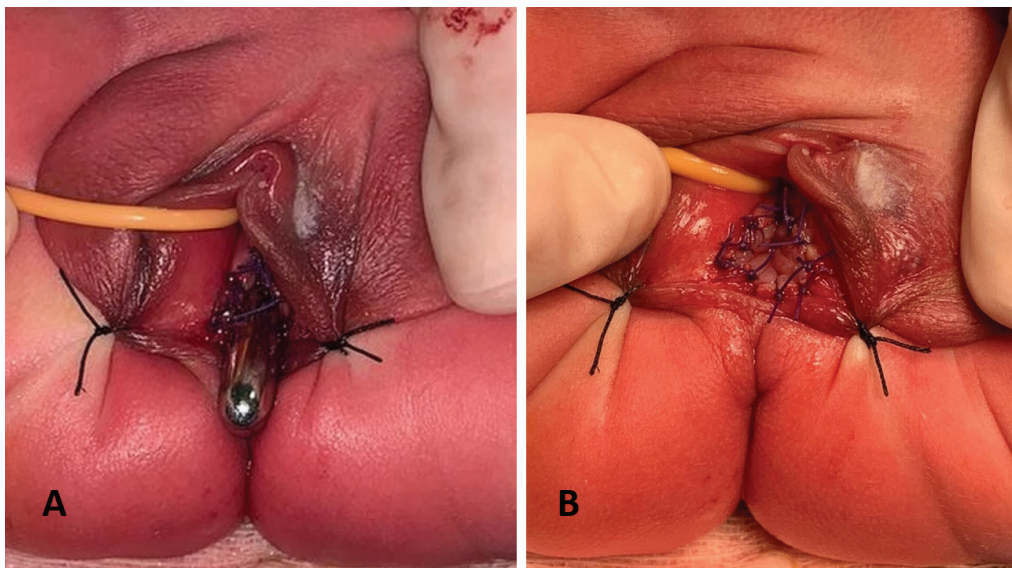
was performed in 6 months postoperatively. Vaginal opening was found to be adequate in case 1. Case 2 was dilated under general anesthesia. Daily dilatations were continued after the procedure. Further, the hydroureteronephrosis also regressed in time. The patients are still in the the 1<sup>st</sup> postoperative year and the follow-up is uneventful.

## Discussion

The uterus and vagina are formed from the müllerian duct system which developed from an invagination of the coelomic epithelium. The fusion of distal portion of the müllerian duct forms the uterus and the proximal two third of the vagina. The lower third of the vagina is derived from the urogenital sinus which is the caudal ends of the Wolffian ducts. The development of the müllerian duct and genitourinary sinus affected by



**Figure 3:** (a) Intraabdominal mass extending to the superior of the umbilicus. (b) View of closed vaginal entrance



**Figure 4:** (a) Operational view of urethral bougie that pushed from the uterus to vagina. (b) The appearance of new vaginal opening

various unidentified factors, and the different factors cause their development to stop at different stages, eventually caused to different types of vaginal dysplasia (4-6).

Gupta and Sharma (1) classified of vaginal dysplasia based on the level of obstruction and the severity of malformation: type I or low hymenal obstruction (Imperforate hymen); type II or mid-level obstruction (vaginal septum); type III or high obstruction (distal vaginal atresia); type IV due to urogenital sinus, and type V due to vaginal atresia with cloacal anomaly. In this article, we present two newborns with type III distal vaginal atresia.

Congenital vaginal atresia is a rare obstructive anomaly of the female genital tract. This generally occurs sporadically, with a reported incidence at term of 0.014-1%, and gives rise to hydrometrocolpos in less than 1/16,000 female births (7). Most cases are sporadic, though familial occurrence and an autosomal recessive mode of transmission (McKusick-Kaufman syndrome: hydrometrocolpos, postaxial polydactyly and cardiopathy) and (Bardet-Biedl syndrome: vaginal atresia, obesity, retinal pigmentation and mental retardation in adolescence) are reported (8,9). Our both patients had postaxial polydactyly but did not have cardiological anomaly or other stigmata suggesting these syndromes.

The presenting clinical features vary with age. The anomaly may stay undetected until adolescence, patient presents with primary amenorrhea or abdominal pain due to an obstructed uterovaginal tract. In the neonatal period, patients usually apply with abdominal mass and symptoms and complications related to the compression of mass (2). The differential diagnosis of lower abdominal masses in female neonates should include ovarian cyst, ureterocele, urachal cyst, anterior meningocele, mesenteric cyst, duplication of the bowel, giant urinoma, and megacystis (10). Additionally, associated genitourinary (persistent urogenital sinus) and anorectal anomalies (cloacal dysgenesis) may be included in the differential diagnosis (11).

Delay in diagnosis may cause several complications such as infection, sepsis, endometriosis and some other urogenital and cardiac complications related to compression (2). The perineum should be carefully examined to identify vaginal opening, imperforate hymen or a low transverse vaginal septum. For example, as in the first case presented, the patient was consulted with a mesenteric cyst pre-diagnosis. Unnecessary imaging studies and time loss may be avoided with a detailed physical examination. However, in some patients, it may not be clearly differentiated by external genital examination especially in urogenital sinus anomalies and cloacal malformations. Vaginoscopy may be helpful in determining the diagnosis and surgical strategy.

The management of patients with genital anomalies is a complex problem requiring individual surgical approaches,

depending on the anatomical conditions. The level of the atresia is decisive in the surgical approach. In cases that very close to perineum, perineal repair becomes possible. But in cases with high atresia, firstly drainage is applied and abdominoperineal repair may be performed in a second session or drainage and abdominoperineal repair may be done in the same session. It is obvious that an obstructive vaginal anomaly should be treated surgically. However, the optimal timing for the surgical procedure is still in dispute. Shaked et al. (12) recommend performing emergency drainage in neonatal period and postponing definitive intervention postpone to adolescence. Both of the cases we presented had high level of vaginal atresia. In both cases, abdominoperineal repair was performed in a single session and no problem was encountered in long-term follow-up. The second important point to be considered in postoperative follow-up is regular dilatation program. Thus, partial stenosis was developed in case 2 due to regular dilatation was not performed.

Vaginal atresia is a rare congenital anomaly. Vaginal atresia and hydrometrocolpos should be considered in the differential diagnosis of female babies with a cystic mass in the abdomen during the intrauterine period. While the treatment options vary according to the level of atresia, in isolated vaginal atresia cases, abdominoperineal approach in single session is suitable option due to closer anatomical structures, flexibility of tissues in the neonatal period, in also high level cases. Postoperative dilatation program reduces complications. Considering the syndromes associated with vaginal atresia, the presence of additional anomalies such as polydactyly and congenital heart disease should be investigated.

## Ethics

**Informed Consent:** Informed consent was obtained.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Financial Disclosure:** The author declare that he has not received any financial support to perform this study.

## References

1. Gupta DK, Sharma S. Hydrometrocolpos. In: Puri P, Hoellworth M (eds) Pediatric surgery: diagnosis and management
2. Nazir Z, Rizvi RM, Qureshi RN, et al. Congenital vaginal obstructions: varied presentation and outcome. *Pediatr Surg Int.* 2006;22:749-753.
3. Ekenze SO, Ezegwui HU. Hydrometrocolpos from a low vaginal atresia: an uncommon cause of neonatal intestinal and urinary obstruction. *Afr J Paediatr Surg.* 2008;5:43-45.
4. Kimble R, Molloy G, Sutton B. Partial Cervical Agenesis and Complete Vaginal Atresia. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2016;29:e43-e47.
5. Sánchez-Ferrer ML, Acien MI, Sánchez del Campo F, et al. Experimental contributions to the study of the embryology of the vagina. *Hum Reprod.* 2006;21:1623-1628.
6. Loudon ED, Awonuga AO, Gago LA, et al. Rare Müllerian Anomaly: Complete Septate Uterus with Simultaneous Longitudinal and Transverse Vaginal Septa. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2015;28:e189-e191.

7. Benson CB, Doubilet PM. The fetal genitourinary system. In: Fleischer AC, editor. *Sonography in Obstetrics and Gynecology*. London: Prentice-Hall International; 1996. s. 444-450.
8. Lim YH, Ng SP, Jamil MA. Imperforate hymen: report of an unusual familial occurrence. *J Obstet Gynaecol Res*. 2003;29:399-401.
9. El-Messidi A, Fleming NA. Congenital imperforate hymen and its life-threatening consequences in the neonatal period. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2006;19:99-103.
10. Anguenot JL, Ibecheole V, Salvat J, et al. Hematocolpos secondary to imperforate hymen, contribution of transrectal echography. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2000;79:614-615.
11. Messina M, Severi FM, Bocchi C, et al. Voluminous perinatal pelvic mass: a case of congenital hydrometrocolpos. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2004;15:135-137.
12. Shaked O, Tepper R, Klein Z, et al. Hydrometrocolpos--diagnostic and therapeutic dilemmas. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2008;21:317-321.