

EGE TIP DERGİSİ

Ege Journal of Medicine

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Resmi Yayın Organıdır.
Official Publication of Ege University Faculty of Medicine.

Cilt / Volume: 56

Sayı / Issue:2

Haziran / June 2017

Sayfa / Pages: 57-110

Ege Tıp Dergisi / Ege Journal of Medicine

Editör / Editor

Ufuk ÇAĞIRICI

Editör Yardımcıları / Associate Editors

Özen KAÇMAZ BAŞOĞLU

Okan BİLGE

Raika DURUSOY

Oğuz GÖZEN

Yayın Kurulu / Publication Committee

Ayşegül AKGÜN

Ali BAŞÇI

Semra KARAMAN

Ayşe Nur OKTAY ALFATLI

Hasan TEKGÜL

Altuğ YAVAŞOĞLU

Biyoistatistik Uzmanları / Biostatisticians

Timur KÖSE

Mehmet N. ORMAN

Uluslararası Editör ve Danışma Kurulu / International Editorial & Advisory Board

Juzar ALI, *Pulmonary Medicine, US*

J Patrick BARBET, *Anatomy, Histology and Embryology, FR*

Mustafa ÇIKIRIKÇIOĞLU, *Cardiovascular Surgery, CH*

Pınar COŞKUN, *Neuroscience, US*

Volkan COŞKUN, *Neuroscience, US*

Stephen KANTROW, *Pulmonary Medicine, US*

Jose Antonio KARAM, *Urology, US*

Eduardo Weruaga PRIETO, *Neuroscience, ES*

Ömer ŞENBAKLAVACI, *Thoracic Surgery, UK*

Tanık TIHAN, *Pathology, US*

Radu Ioan TUTUIAN, *Internal Medicine, CH*

Utku YAVUZ, *Biophysics, DE*

Yazışma Adresi / Address for Correspondence

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi

Yayın Bürosu

Bornova 35100, İzmir, Türkiye

Tel : +90 232 390 31 03

Faks / Fax : +90 232 342 21 42

E-posta / E-mail : editor@egetipdergisi.com.tr

Web adresi / URL : www.egetipdergisi.com.tr

Ege Tıp Dergisi, yılda 4 sayı (Mart, Haziran, Eylül, Aralık) yayımlanır.
Ege Journal of Medicine is published 4 times (March, June, September, December) per year.

TÜBİTAK, ULAKBİM (Türk Tıp Dizini), Türkiye Atıf Dizini ve HINARI tarafından taranmaktadır.
Indexed in TÜBİTAK, ULAKBİM (Turkish Medical Sciences Index), Türkiye Citation Index and HINARI.

T.C. Kültür ve Turizm Bakanlığı Sertifika No: 18679

Baskı

Ege Üniversitesi Basımevi
Bornova - İZMİR

Baskı Tarihi

22.06.2017

Ege Tıp Dergisi yıllık abone creti 28 TL, tek sayı bedeli 7 TL'dir. Abone ve tek sayı istekleri için
editor@egetipdergisi.com.tr adresine mesaj gönderilmesi veya
0 232 390 3103 – 0 232 390 3186 numaralı telefona bildirilmesi gerekmektedir.

İÇİNDEKİLER
CONTENTS**ARAŞTIRMA MAKALELERİ**
RESEARCH PAPERS**Ağır aplastik anemili hastalarda allojeneik periferik kök hücre nakli sonuçları: Tek merkez deneyimi**

Allogeneic peripheral stem cell transplantation in patients with severe aplastic anemia: Single center experience

Nur Soyer Ayşe Uysal Oruç Murat Tombuloğlu Filiz Vural 57

Diferansiye tiroid kanserlerinde prognostik faktörlerin cinsiyetler arasında karşılaştırmalı olarak retrospektif değerlendirilmesi

A retrospective gender-comparative evaluation of the prognostic factors in differentiated thyroid cancers

Mustafa Demirpençe Hamiyet Yılmaz Pelin Tütüncüoğlu Ahmet Görgel Mithat Bahçeci 62

The determination of the value of contrast enhancement in carotid artery plaques with multi detector computed tomography

Multi dedektör bilgisayarlı tomografi ile karotid arter plaklarında kontrastlanma miktarlarının saptanması

Halil İbrahim Özdemir Celal Çınar Halil Bozkaya Ayşe Güler İsmail Oran 66

Çocuklarda demir eksikliği anemisinin tiroid hormonları üzerine etkisi

The effect of iron deficiency anemia on thyroid hormones in the child

Zahide Yalaki Esra Yazarlı Bülent Alioğlu 72

Deneysel diabet modeli oluşturulan farelerde tirozin kinaz inhibitör uygulamanının testis dokusu üzerine olan etkilerinin pluripotensi kapasitesi ve hücre adezyonu özelinde araştırılması

The investigation of effects of tyrosine kinase inhibitor on testicular tissue in terms of pluripotent capacity and cell adhesion in experimental diabetic mice

Kaan Özdedeli Hüseyin Aktuğ Fatih Oltulu Gülperi Öktem Altuğ Yavaşoğlu
Eda Açıkgoz Gürkan Yiğittürk Kenan Demir Ayşegül Uysal 77**Bariatrik cerrahi ile ilgili ilk sonuçlarımız**

Our initial results related to bariatric surgery

Turgut Anuk Neşet Köksal Fatih Aşar Tülay Diken Allahverdi Barlas Sülü Hülya Çakmur 82

OLGU SUNUMLARI

CASE REPORTS

Çocukluk çağı myastenia gravis

Myastenia gravis at childhood

İhsan Çakır Osman Bulut Ocak Aslı İnal Ebru Demet Aygıt Birsen Gökyiğit Gamze Öztürk Karabulut 86

Long term follow-up in a patient with homozygous familial hypercholesterolemia: LDL-apheresis and problems experienced in treatment

Homozigot ailevi hiperkolesterolemi olgusunda uzun dönem izlem: LDL aferezi ve tedavide yaşanan sorunlar

Levent Can Meral Kayıkçıoğlu Selen Bayraktar Mahmut Çoker 88

Unusual localization of medulloblastoma mimicking as meningioma

Menenjiomu taklit eden anormal yerleşimli medulloblastom olgusu

Onur Özgürül Ümit Eroğlu Burak Bahadır Aylin Heper Okçu Hakan Tuna 91

Tiroglossal duktus kistinde gelişen papiller tiroid karsinom

Papillary carcinoma arising from thyroglossal duct cyst

Aykut Bozan Ayşe Polat Hayrettin Cengiz Alpay Sercan Göde 93

Can a single dose of duloxetine induce hyponatremia in a young male patient?

Tek doz duloksetin genç erkek hastada hiponatremiye neden olabilir mi?

Tanzer Korkmaz Funda Karbek Akarca Çome Selen Cem Ertan 96

Kraniyal görüntüleme bulguları ile akçağaç şurubu idrar hastalığı

Maple syrup urine disease with cranial imaging findings

Yusuf Kale Ece Karaoğlu 99

DERLEME

REVIEW

Hücre içi trafik ve hücre davranış özellikleri

Intracellular trafficking and cell behaviour characteristics

Berrin Özdil Çevik Gürel Kubilay Doğan Kılıç Gökçe Ceren Kuşçu Yasemin Adalı Hüseyin Aktuğ 102

Ağır aplastik anemili hastalarda allojeneik periferik kök hücre nakli sonuçları: Tek merkez deneyimi

Allogeneic peripheral stem cell transplantation in patients with severe aplastic anemia: Single center experience

Nur Soyer Ayşe Uysal Oruç Murat Tombuloğlu Filiz Vural

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

Öz

Amaç: Erişkin kök hücre nakil ünitesinde ağır aplastik anemi tanısıyla nakil olan hastaların klinik özelliklerini, nakil sonuçlarını ve sağkalımlarını geriye dönük olarak değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: On bir olguya (6 erkek ve 5 kadın) edinsel aplastik anemi tanısı ile 12 allojeneik kök hücre nakli yapıldı. Nakil öncesinde 2 hasta hariç tüm hastalar immünsupresif tedavi almıştı. Tüm nakillerde HLA tam uyumlu kardeş donörden elde edilen periferik kök hücreler kullanıldı. Hazırlama rejimleri, siklofosamid, antitimosit globulin, fludarabin ve busulfan kombinasyonlarından oluşuyordu.

Bulgular: Ortanca nakil yaşı 22 yıl (17- 38) ve tanıdan nakile kadar geçen süre ortanca 9 ay (3-108) idi. Ortanca 5.49 x 106/kg (4.9-12.7 x 106/kg) CD34 pozitif kök hücre verildi. Ortanca nötrofil ve trombosit engraftmanları sırasıyla 21.5 (10-37) ve 15 (14-29) günde oldu. On bir hastanın 4'ünde (%36.3) akut *graft versus host* hastalığı (GVHH) ve 1'inde (%9) kronik GVHH ortaya çıktı. Graft yetmezliği 11 hastanın 2'sinde (%18.1) görüldü. İzlemede 11 hastanın 4'ü (%36.3) (3'ü enfeksiyon ve 1'i karaciğer yetmezliği) kaybedildi. Ortanca izlem süresi 33.5 ay (0.5-59) idi. On bir hastanın %63.7'si halen hayattadır. Beş yıllık toplam sağkalım %66.7 ve olaysız sağkalım %58.3 idi.

Sonuç: Hasta sayımız az olmakla birlikte tam uyumlu kardeş donörden allojeneik kök hücre naklinin, 40 yaş altındaki ağır aplastik anemili hastalarda ilk tedavi seçeneği olduğunu destekler bulgular elde edilmiştir. Tam uyumlu kardeş donör, tanıdan nakile kadar geçen sürenin kısalığı, uygun hazırlama rejimi ve uygun kök hücre kaynağı seçimi, nakil başarısını ve sağkalımı artırır görünmektedir.

Anahtar Sözcükler: Ağır aplastik anemi, allojeneik kök hücre nakli, sağkalım, *graft versus host* hastalığı, graft yetmezliği.

Abstract

Aim: We retrospectively analyzed the clinical features, transplantation results and survival of patients with severe aplastic anemia (SAA) treated with allogeneic stem cell transplantations (ASCT) in adult transplantation unit.

Materials and Methods: Eleven patients (6 male, 5 female) treated with 12 ASCTs were analyzed. All patients except 2 were treated with immunosuppressive treatment before ASCT. Peripheral CD34+ stem cells from HLA matched sibling donors (MSD) were transfused after conditioning regimens including cyclophosphamide, busulphan, antithymocyte globulin and fludarabine.

Results: The median age at ASCT and time from diagnosis to ASCT were 22 years (17-38) and 9 months (3-108), respectively. The median 5.49 x 106/kg (4.9-12.7 x 106/kg) CD34+ cells were transfused. The median duration of time to neutrophil and platelet engraftments were 21.5 (10-37) and 15 (14-29) days, respectively. Acute graft versus host disease (GVHD) and limited chronic GVHD were observed in 4 (36.3%) patients and 1 (9%) patient, respectively. Graft failure was seen in 2 (18.1%) of 11 patients. The median follow-up period was 33.5 months (0.5-59). Four (36.3%) of 11 patients died due to infection (3 patients) and liver failure (1 patient). Approximately 64% of all recipients are alive. The 5-year overall and event-free survival rates were 66.7% and 58.3%, respectively.

Conclusion: Although we have few patients, our findings are seems to support that ASCT from a MSD remains the first choice for SAA patients younger than 40 years. Presence of MSD, shorter time from diagnosis to ASCT, using optimal conditioning regimens and choosing optimal stem cell source are seems to increase the success and survival rates of transplantation.

Keywords: Severe aplastic anemia, allogeneic stem cell transplantation, survival, graft versus host disease, graft failure.

Giriş

Ağır aplastik anemi (AAA) nadir, ama hayatı tehdit edebilen bir hastalıktır. Tedavi seçenekleri içinde immunsupresif ilaçlar (IS) ve allojeneik kök hücre nakli (AKHN) bulunur (1). Özellikle HLA tam uyumlu kardeş donörü olan genç hastalarda yaşam beklentisi yüksektir ve AKHN ilk basamak tedavi olarak önerilir (2). Çalışmalarda, AAA tanısı olan hastalarda tam uyumlu kardeş donörden AKHN ile toplam sağkalım % 50-90 arasında bildirilmiştir (3,4). Toplam sağkalım yaş arttıkça azalmaktadır. Bin üç yüz yedi hasta içeren çalışmada, 20 yaşından küçük ve 20-40 yaş arası hastalarda 5 yıllık sağkalım sırasıyla %82 ve %72 iken, 40 yaş üstünde sağkalım %53'e düşmektedir (5). Geriye dönük olarak 40-68 yaş arası 23 hastanın AKHN verilerinin değerlendirildiği çalışmada ise toplam sağkalım %65 saptanmıştır (6). Bu veriler ışığında ileri yaşta hastalar için AKHN, IS tedavinin başarısızlığına saklanmıştır. IS tedavi ve AKHN'nin uzun dönem yaşam süresine etkisinin karşılaştırıldığı çalışmalarda iki tedavi arasında fark saptanmamıştır. Ayrıca, 40 yaş üstü AKHN yapılan hastalarda mortalite oranları, 40 yaş altında yapılanlara kıyasla anlamlı oranda daha yüksektir (7,8). HLA uyumlu akraba dışı donörden nakillerde, graft yetmezliği yaklaşık %10, *graft versus host* hastalığı (GVHH) %30-40 ve toplam sağkalım %42-94 arasında bildirilmiştir (9). Periferik kök hücre kullanımı ile daha fazla GVHH bildirilmesi ve malign olmayan bir hastalıkta GVHH gelişiminin gerekli olmaması nedeniyle kök hücre kaynağı olarak kemik iliği önerilmektedir (10). Akraba dışı donör ile yapılan nakillerde de kök hücre kaynağı olarak kemik iliği kullanımı önerilmiştir (11).

Bu çalışmada, erişkin kök hücre nakil ünitemizde aplastik anemi tanısıyla allojeneik periferik kök hücre nakli yapılan olguların klinik özelliklerini, nakil sonuçlarını ve sağkalımlarını geriye dönük olarak değerlendirdik.

Gereç ve Yöntem

Hastalar

Ocak 2005-Ocak 2015 tarihleri arasında 11 olguya edinsel aplastik anemi tanısı ile toplam 12 kez AKHN yapıldı. Tüm hastalardan bilgilendirilmiş onam formu alındı. Aplastik anemi tanısı pansitopeni (infiltrasyon ve fibrozisin eşlik etmediği) ve kemik iliği hipoplazisi ile kondu. Diğer hastalıklar (myelodisplastik sendrom, myelofibrosis ve lösemiler) dışlandı. Fankoni anemisi için periferik kan lenfositlerinde diepoksibütan ile kromozom kırığı araştırıldı. AAA tanısı için periferik kanda üç kriterden ikisinin varlığı arandı: Mutlak nötrofil sayısı (ANS) <500/µL (çok ağır aplastik anemi tanısı için <200/µL), trombosit sayısı <20000/ µL ve mutlak retikülosit sayısı <60000/µL.

Tüm olgularda ayırıcı tanı ve etiyolojik araştırma için viral seroloji (Hepatit A, B, C virüsü, Parvovirüs B-19, Ebstein-Bar virüs ve sitomegalovirüs), paroksizmal nokturnal hemoglobinüri (PNH) açısından hücre

yüzeyinde *flow* sitometri ile CD55 ve CD 59 araştırılması, myelodisplastik sendrom için kemik iliği (Kİ) biyopsisi morfolojik değerlendirmesi yapıldı.

Donör kaynağı

Tüm nakillerde HLA tam uyumlu kardeş donörden elde edilen periferik kök hücreler kullanıldı. Bir olguya 2.nakil tam uyumlu ilk donörden yapıldı.

Hazırlama rejimi

Hazırlık rejimi olarak fludarabin 25-30 mg/m²/gün 3-5 gün, siklofosamid 50 mg/kg/gün 4 gün veya 300 mg/m²/gün 3-5 gün, antitimosit globülin (ATG Fresenius S) 2.5-5 mg/kg/gün 4-5 gün, busulfan 3.2 mg/kg/gün 2 gün kullanıldı. Her hasta için kullanılan rejimler Tablo-1'de gösterilmiştir.

Kök hücre toplama ve nakil

Tüm donörlere granulosit koloni stimule edici faktör 10 µg/kg/gün sc verildi. İlk dozdan sonra 4-5. günde aferez yapıldı. Toplanan periferik kök hücrelerin ölçümü akım sitometri cihazı kullanılarak CD34 pozitif kök hücre sayımı ile yapıldı. Toplanan kök hücreler işlem yapılmadan infüze edildi. Nakil sonrası nötrofillerin 3 gün üst üste >500/ µL olması nötrofil engraftmanı ve trombositlerin >20000/ µL olması trombosit engraftmanı olarak kabul edildi.

GVHH profilaksisi

GVHH için siklosporin 5 mg/kg/gün iv 2 dozda 1.günden itibaren ve kontrendikasyon yoksa metotreksat +1, +3, +6 ve +11. günlerde iv verildi. Siklosporin dozu GVHH yok ise 6. aydan itibaren azaltılmaya başlandı. Bir olguda siklosporin yerine takrolimus kullanıldı.

Graft yetmezliği

Primer graft yetmezliği, nakil sonrası nötrofil engraftmanının olmaması ve sekonder graft yetmezliği nötrofil engraftmanı olduktan sonra nötrofillerin tekrar <500/ µL olması olarak kabul edildi.

Destek tedavi

Tüm kök hücre nakilleri HEPA filtreli odalarda yapıldı. Oral flukonazol, asiklovir ve trimetoprim-sulfametaksazol (TMP-SMZ) ile antimikrobiyal profilaksi tüm hastalara verildi. Oral TMP-SMZ hazırlama rejimi ilk günü başlandı ve kök hücre infüzyonundan 1 gün önce kesildi, nötrofil engraftmanı olduktan sonra yeniden başlandı. Nakil sonrası CMV taraması, haftada iki gün CMV antijenemi bakılarak yapıldı. Kimerizm analizi +1, +2, +6, +12. aylarda ve sonrasında gerektiğinde kan örneğinde *specificshort tandem repeats* PCR amplifikasyonu ile çalışıldı.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler elektronik ortamda, SPSS kullanılarak yapıldı. Toplam sağkalım, nakil gününden hastanın son görüldüğü tarihe kadar geçen zaman olarak alındı. Olaysız sağkalım hesaplanırken ölüm, hastalık nüksü ve graft yetmezliği olay olarak kabul edildi. Toplam ve olaysız sağkalım Kaplan-Meier analizi ile hesaplandı.

Tablo-1. Hastaların Hazırlık Rejimleri ve Nakil Sonrası Özellikleri

Olgu sayısı	Hazırlama rejimi	Nötrofil engrafmanı (gün)	Trombosit engrafmanı (gün)	Akut GVHH	Kronik GVHH	Graft yetmezliği	Toplam sağkalım (ay)	Son durum
1	Flu+ Siklofosfamid	10	14	Yok	Yok	Yok	59	Sağ
2*	Siklofosfamid	22	14	Yok	Yok	Var	9	Kaybedildi
	Flu+ ATG+ Siklofosfamid	37	-	Var	Yok	Var	6	
3	Flu+ ATG+ Siklofosfamid	11	15	Yok	Var	Yok	59	Sağ
4	Flu+ Bu+ siklofosfamid	21	15	Yok	Yok	Yok	54	Sağ
5	Siklofosfamid+ ATG	23	29	Yok	Yok	Yok	54	Sağ
6	Siklofosfamid+ ATG	27	-	Yok	Yok	Yok	45	Sağ
7	Flu+ Bu+ siklofosfamid	11	20	Var	Yok	Yok	37	Sağ
8	Siklofosfamid	-	-	Yok	Yok	Yok	0.5	Kaybedildi
9	Flu+ Bu+ siklofosfamid	16	16	Yok	Yok	Yok	28	Sağ
10	Flu+ Siklofosfamid	-	-	Yok	Yok	Yok	0.5	Kaybedildi
11	Flu+ Siklofosfamid	27	-	Var	Yok	Var	8	Kaybedildi

*İki kez nakil; Bu: Busulfan; Flu: Fludarabin; ATG: Anti timosit globulin; GVHH: *Graft versus host* hastalığı

Sonuç

Bu çalışmada 11 ağır aplastik anemi tanılı hastanın 12 nakli değerlendirildi. On bir hastanın 6'sı erkek ve 5'i kadındı. Ortanca tanı yaşı 19 yıl (10-35), nakil yaşı 22 yıl (17-38) ve tanıdan nakile kadar geçen ortalama süre 9 ay (3-108) idi. Nakil öncesinde 2 hasta hariç tüm hastalar IS tedavi almıştı. Bir olgu nakil öncesi invaziv mantar enfeksiyon tanısıyla antimikotik tedavi almaktaydı. Kan grupları uyumlu olan nakil sayısı 7 ve minör ya da majör kan grubu uyumsuzluğu olan nakil sayısı 5 idi. Hasta donör cinsiyet uyumsuzluğu 1 olguda (erkek alıcı kadın donör) vardı.

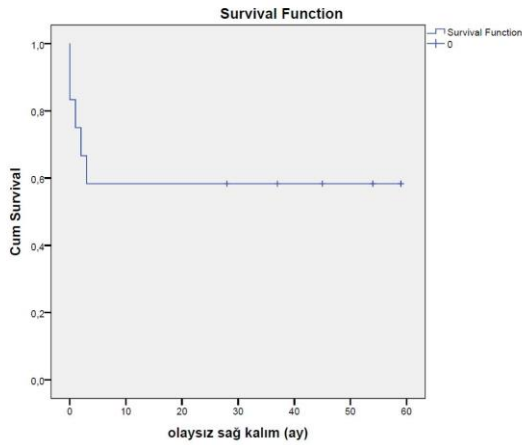
Nakil sırasında hastalara ortalama $5.49 \times 10^6/\text{kg}$ ($4.9-12.7 \times 10^6/\text{kg}$) CD34 pozitif kök hücre verildi. Ortanca nötrofil ve trombosit engrafmanı sırasıyla 21.5 (10-37) ve 15. (14-29) günde oldu. İki kez nakil yapılan olgunun ilk naklinde sekonder graft yetmezliği gelişti. İlk nakilden yaklaşık 2.5 ay sonra 2.nakil yapıldı.

Olguların 4'ünde (%36.3) akut GVHH ortaya çıktı. Olguların birinde *grade 2* deri ve diğerinde *grade 2* gastrointestinal sistem tutulmuştu. Steroid tedavisine her iki olguda da yanıt alındı. Olguların birinde geç başlangıçlı akut deri GVHH gelişti. Steroid, immunsupresif ve fotoferez tedavisine rağmen hasta kaybedildi. Kronik GVHH, 1 olguda (%9) ortaya çıktı ve fotoferez ve immunsupresif tedavi ile kontrol altına alındı. Graft yetmezliği 11 olgunun 2'sinde (%18.1) görüldü. Tablo-1'de hazırlık rejimleri ve nakil sonrası özellikleri gösterilmiştir.

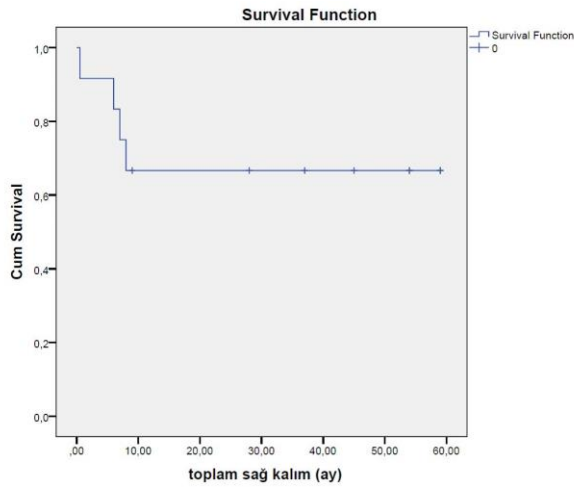
Nakil sonrası dönemde 11 hastanın 10'unda (% 91) febril nötropeni saptandı. Bu hastaların 5'inde kan ve/veya kateter kültüründe üreme saptandı. Üreyen etkenler 1 hastada *Klebsiella pneumoniae*, 1 hastada koagülaz negatif Stafilokok, 1 hastada metisilin dirençli Stafilokok, 1 hastada *Escherichia coli* ve 1 hastada *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Escherichia coli* üremesi oldu. Kanıtlanmış fungal enfeksiyon saptanmadı. İzlemde 11 hastanın 4'ü (%36.3) (3'ü enfeksiyon ve 1'i karaciğer yetmezliği) kaybedildi. Ortanca izlem süresi 33.5 ay (0.5-59) idi. Olguların %63.7'si halen hayattadır. Beş yıllık toplam sağkalım %66.7 ve olaysız sağkalım %58.3 idi (Şekil-1 ve 2). Yaşayan olguların tümünde >%95 donör kimerizmi saptandı.

Tartışma

Allojeneik kök hücre nakli, AAA için tek küratif tedavi yöntemidir. Pek çok merkezde tam uyumlu kardeş donörü olan genç hastalara uygulanmaktadır. On bir hastalık serimizde de AAA tanısıyla nakil yapılan hastaların tümü 40 yaş altındaydı. Tanıdan nakile kadar geçen süre ortalama 9 ay idi. Beş yıllık toplam ve olaysız sağkalım sırasıyla %66.7 ve %58.3 olarak saptandı. Ortanca 33.5 aylık izlemde hastaların %63.7'si halen hayattadır. Akut GVHH sıklığı %36.3, graft yetmezliği sıklığı % 18.1 ve kronik GVHH sıklığı ise %9 olarak saptandı.



Şekil-1. Nakil sonrası toplam sağkalım



Şekil-2. Nakil sonrası olaysız sağkalım

AAA tedavisinde allojeneik kök hücre naklinin genellikle 40- 50 yaş altındaki HLA tam uyumlu kardeş donörün nakil edilmesinin 1307 hastalık geniş bir analizle desteklenmiştir. Bu çalışmada HLA tam uyumlu kardeş donörden nakil olan hastalar 20 yaş altı, 20-40 yaş arası ve 40 yaş üstü olarak 3 gruba ayrılmıştır. Bu yaş gruplarına göre 5 yıllık toplam sağkalım sırasıyla %82, %72 ve %53 olarak saptanmıştır. Ayrıca mortalite riski 20 yaş altındaki hastalara kıyasla 20-40 yaş arası ve 40 yaş üstü hastalarda sırasıyla 1.69 ve 2.7 kat artmıştır. Tanıdan nakile kadar geçen sürenin 3 aydan uzun olması ve performans durumunun kötü olması da artmış mortaliteye neden olmuştur (5). Bir başka çalışmada da 40 yaş üstü ve altında nakil olan 225 hasta geriye dönük olarak değerlendirilmiştir. Beş yıllık toplam sağkalım 40 yaş altı hastalarda %75 iken 40 yaş üstünde %55.9 olarak bulunmuştur. Kırk yaş üstü grupta, yaşı >50 olan hastalarda mortalite, 40-50 yaş arasına göre artmış olarak saptanmıştır. Bu çalışmada da tanıdan nakile kadar geçen sürenin >6 ay olması ve >40 yaş olmak kötü prognostik belirteçlerdir (7). Aksoylar ve ark. (12), 20

yaş altı AAA tanılı çocuk hastalarda allojeneik nakil ile 5 yıllık toplam ve olaysız sağkalımı sırasıyla %100 ve %94 olarak bildirmişlerdir. Bu çalışma da 20 yaş altında nakilin başarısını desteklemektedir. Çalışmamızda tanıdan nakile kadar geçen sürenin ortanca 9 ay olması, toplam ve olaysız sağkalımın diğer çalışmalara göre düşük olması ile ilişkili olabilir. Fakat hasta sayısının düşük olması göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca bu çalışmada alternatif donörden nakil olan hastamız olmasa da, literatürde HLA tam uyumlu akraba dışı donörden nakil ile bildirilen toplam sağkalım oranı yaklaşık %75'tir. Günümüzde IS tedavi ile başarısızlık olduğunda HLA tam uyumlu kardeş donör yokluğunda, akraba dışı donörden nakil önerilmektedir (13).

Malign olmayan hastalıklarda hazırlama rejimi, GVHH ortaya çıkmadan yeterli engraftmanı sağlamalıdır. ATG'ye siklofosfamid eklenmesi ile yalnızca siklofosfamid kullanımına göre hem uzun dönem sonuçlar düzelmiş, hem de GVHH ortaya çıkması azalmıştır (3,6). Yaşı >40 olan hastalar için fludarabin, siklofosfamid ve ATG veya alemtuzumab içeren azaltılmış yoğunluklu rejimler de kullanılmıştır (3). Bu rejim ile hem akut hem de kronik GVHH sıklığı düşük olarak bulunmuştur. Ayrıca 2 yıllık toplam sağkalım oranı, tam uyumlu kardeş donörden nakilde %95 ve akraba dışı donörden nakilde %83 saptanmıştır (14). Fludarabin ve alemtuzumab içeren hazırlama rejimleri bugün 30 yaşından büyük HLA tam uyumlu kardeş donörden nakillerde ve tüm HLA tam uyumlu akraba dışı nakillerde önerilmektedir. Enfeksiyon ile GVHH oranları düşük, hasta uyumu ile sağkalım yüksektir. ATG ve siklofosfamid kombinasyonu ise 30 yaş altındaki HLA tam uyumlu kardeş nakillerde önerilmektedir (15). Çalışmamızda fludarabin ve siklofosfamid temelli hazırlık rejimleri kullanılmasına rağmen, hasta sayısının azlığı ve kullanılan rejimlerin farklılığı nedeniyle literatürle kıyaslama yapmak mümkün olmamıştır.

Donör kök hücre kaynağı olarak kemik iliği ya da periferik kök hücre kullanılan 1886 tam uyumlu kardeş donörden yapılan nakilin değerlendirilmesi sonucu, AAA'da kök hücre kaynağı olarak kemik iliği önerilmektedir (10). Bu çalışmada, periferik kök hücre ile nakil olan grupta graft yetmezliği sıklığı %8.6, akut ve kronik GVHH sıklığı sırasıyla %17 ve %22 olarak bildirilmiştir. Toplam sağkalım ise periferik kök hücre ile nakil olan grupta 20 yaşından küçük hastalar için %76 ve yaşı \geq 20 olan hastalar için %64'tür ve kemik iliğinden nakil olan gruba kıyasla anlamlı daha düşüktür (10). Periferik kök hücre kullanımı erken engraftmanı sağlasa da akut ve kronik GVHH riskini arttırmaktadır (3,15). Seth ve ark. (16), 41 hastaya HLA tam uyumlu kardeş donörden periferik kök hücre nakli yaptıkları çalışmalarında, ortanca 29 ay izlem ile akut GVHH sıklığını %39, kronik GVHH sıklığını %25, graft yetmezliğini %4.9 ve toplam sağkalımı %75.6 olarak

bildirmişlerdir (16). Ülkemizden Akı ve ark. (17) 15 hastalık serilerinde periferik kök hücre kullanımı ile graft yetmezliği sıklığını %3, akut ve kronik GVHH sıklığını ise sırasıyla %25 ve %8.3 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda hasta sayısı az olmakla birlikte akut ve kronik GVHH sıklığı genel olarak literatüre benzerdir. Graft yetmezliği oranı ise Akı ve ark. (17) çalışmasına göre daha düşük ama Bacigalupo ve ark. (10) çalışmasına göre yüksektir.

Bu çalışmanın olumsuz yönleri hasta sayısının az olması, tek merkeze ait verileri içermesi ve geriye dönük dosya taraması şeklinde yapılımasıdır.

Sonuç

Hasta sayımız az olmakla birlikte tam uyumlu kardeş donörden allojeneik kök hücre naklinin, 40 yaş altındaki ağır aplastik anemili hastalarda ilk tedavi seçeneği olduğunu destekler bulgular elde edilmiştir. Tam uyumlu kardeş donör, tanıdan nakile kadar geçen sürenin kısalığı, uygun hazırlama rejimi ve uygun kök hücre kaynağı seçimi, nakil başarısını ve sağkalımı artırır görünmektedir.

Kaynaklar

1. Young NS, Calado RT, Scheinberg P. Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia. *Blood* 2006; 108(8):2509-19.
2. Marsh JC, Ball SE, Cavenagh J, et al; British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia. *Br J Haematol* 2009;147(1):43-70.
3. Aljurf M, Al-Zahrani H, Van Lint MT, et al. Standard treatment of acquired SAA in adult patients 18–40 years old with an HLA-identical sibling donor. *Bone Marrow Transplant* 2013;48(2):178-9.
4. Scheinberg P, Young NS. How I treat acquired aplastic anaemia. *Blood* 2012;120(6):1185-96.
5. Gupta V, Eapen M, Brazauskas R, et al. Impact of age on outcomes after bone marrow transplantation for acquired aplastic anemia using HLA matched sibling donors. *Haematologica* 2010;95(12):2119-25.
6. Sangiolo D, Storb R, Deeg HJ, et al. Outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation from HLA-identical siblings for severe aplastic anemia in patients over 40 years of age. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16(10):1411-8.
7. Kim H, Lee K, Yoon S, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplant for adults over 40 years old with acquired aplastic anaemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18(10):1500-8.
8. Peinemann F, Grouven U, Kroger N, et al. First-line matched related donor hematopoietic stem cell transplantation compared to immunosuppressive therapy in acquired severe aplastic anaemia. *PLoSOne* 2011;6:e18572.
9. Scheinberg P, Young NS. How I treat acquired aplastic anaemia. *Blood* 2012;120(6):1185-96.
10. Bacigalupo A, Socie G, Schrezenmeier H, et al. Bone marrow versus peripheral blood as the stem cell source for sibling transplants in acquired aplastic anaemia: survival advantage for bone marrow in all age groups. *Haematologica* 2012;97(8):1142-8.
11. Eapen M, Le Rademacher J, Antin JH. Effect of stem cell source on outcomes after unrelated donor transplantation in severe aplastic anaemia. *Blood* 2011;118(9):2618-21.
12. Aksoylar S, Çetingül N, Kansoy S. Ağır edinsel aplastik anemili çocuklarda kök hücre transplantasyonu:15 olgunun değerlendirilmesi. *Ege Tıp Dergisi* 2012;51(1):31-5.
13. Bacigalupo A, Marsh JC. Unrelated donor search and unrelated donor transplantation in the adult aplastic anaemia patient aged 18-40 years without an HLA-identical sibling and failing immunosuppression. *Bone Marrow Transplant* 2013;48(2):198-200.
14. Marsh JC, Gupta V, Lim Z, et al. Alemtuzumab with fludarabine and cyclophosphamide reduces chronic graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation for acquired aplastic anaemia. *Blood* 2011;118(8):2351-7.
15. Young ME, Potter V, Kulasekararaj AG, Mufti GJ, Marsh JC. Haematopoietic stem cell transplantation for acquired aplastic anaemia. *Curr Opin Hematol* 2013;20(6):515-20.
16. Seth T, Kanga U, Sood P, Sharma V, Mishra P, Mahapatra M. Audit of peripheral stem cell transplantation for aplastic anemia in multitransfused infected patients. *Transplant Proc* 2012;44(4):922-4.
17. Aki SZ, Sucak GT, Ozkurt ZN, Yeğin ZA, Yağcı M, Haznedar R. Allogeneic stem cell transplantation for severe aplastic anemia: graft rejection remains a problem. *Transfus Apher Sci* 2009;40(1):5-11.

Diferansiye tiroid kanserlerinde prognostik faktörlerin cinsiyetler arasında karşılaştırmalı olarak retrospektif değerlendirilmesi

A retrospective gender-comparative evaluation of the prognostic factors in differentiated thyroid cancers

Mustafa Demirpençe¹ Hamiyet Yılmaz¹ Pelin Tütüncüoğlu² Ahmet Görgel³ Mithat Bahçeci⁴

¹Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği, İzmir, Türkiye

²Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği, İzmir, Türkiye

³Medikal Park Hastanesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği, Elazığ, Türkiye

⁴Özel Kent Hastanesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği, İzmir, Türkiye

Öz

Amaç: Diferansiye tiroid kanserleri en sık rastlanan endokrin kanser olmakla birlikte son yıllarda sıklığı da giderek artmaktadır. Diferansiye tiroid kanserleri kadınlarda daha sık görülmele beraber erkeklerde daha progresif seyir göstermektedir. Çalışmamızda İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji Kliniğinde diferansiye tiroid kanseri tanısı ile takip edilen hastalarda prognostik faktörlerin cinsiyetler arasında karşılaştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Kliniğimize cerrahi sonrası diferansiye tiroid kanseri tanısı ile yönlendirilen hastalar geriye dönük olarak değerlendirildi. Klinik verileri tam olan 458 hasta çalışmamıza dahil edildi.

Bulgular: Hastalarımızın 68'i (%14.8) erkek, 390'ı (%85.2) kadın olup tanı anındaki yaş ortalamaları 49.8 ±12.6 idi. Erkek ve kadın hastaların tanı anındaki yaş ortalamaları sırasıyla 54.6 (±13.6) ve 48.9 (±12.2) idi (p<0.05). Hastaların tümör boyutlarının ortanca değeri 11.5 mm idi. Araştırmaya katılan erkek ve kadın hastaların ortanca tümör boyutu sırasıyla 13.5 ve 11.0 mm idi (p<0.05). Kırk (%18.6) hastada lenf bezi metastazı saptandı, bunlardan 11'i (%16.1) erkekti. Lenf bezi tutulum oranının erkek hastalarda kadın hastalara göre daha fazla olduğu gözlemlendi (p<0.05). Çalışmamızda ortalama tanı yaşı, tümör boyutu, lenf bezi tutulumu erkeklerde kadınlara göre anlamlı derecede yüksek saptandı.

Sonuç: Diferansiye tiroid kanserleri erkeklerde kadınlara göre daha kötü prognozlu bir seyir göstermesinin sebebi daha ileri yaşta tanı alması ve tümör boyutunun daha fazla olması olabilir.

Anahtar Sözcükler: Diferansiye tiroid kanserleri, prognostik faktörler, cinsiyet.

Abstract

Aim: Differentiated thyroid cancers are the most common endocrine cancer types among all. Differentiated thyroid cancers are more common with women, but the prognosis tends to be poorer in men. This study aims to compare prognostic factors between genders in the patients who are being treated with a differentiated thyroid cancer diagnosis in İzmir Atatürk Research and Training Hospital Endocrinology Department.

Materials and Methods: The 458 patients who were treated with a diagnosis of differentiated thyroid carcinoma in our department were included in this retrospective study.

Results: Sixty-eight (14.8%) of the patients were male and 390 (85.2%) of the patients were female. The mean age of the patients included in the study was 49.8 (±12.6) at the time of diagnosis. The mean age of the male and female patients were 54.6 (±13.6) and 48.9 (±12.2), respectively (p<0.05). The medium value of the tumor size of the patients was 11.5 mm, whereas 13.5 mm in men and 11.0 mm in women (p<0.05). Lymph node metastasis was detected in 40 (18.6%) patients. In patients with lymph node metastasis, 11 (16.1%) were male. The rate of lymph node metastasis were higher in men (p<0.05). In this study, the mean age and the tumor size at the time of diagnosis and the percentage of the lymph node metastasis in men was found significantly higher than that of women.

Conclusion: Differentiated thyroid cancers tend to have poor prognosis in men and this may be due to being diagnosed on an advanced age and with a larger size.

Keywords: Differentiated thyroid cancer, prognostic factors, gender.

Giriş

Diferansiye tiroid karsinomu (DTK) endokrin sistemin en sık görülen malign hastalığı olup her yıl yaklaşık 7/100.000 DTK tanısı konmaktadır. DTK sıklığı tüm dünyada son yıllarda artış göstermektedir. 2011 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde 48.020 yeni tiroid kanseri vakası tanımlanmıştır. Olguların 36.550'sinin (%76.1) kadın, 11.470'i (% 23.7) erkeklerden oluştuğu ve aynı yıl içinde 980 kadın ile 760 erkeğin tiroid kanseri nedeni ile hayatını kaybettiği bildirilmiştir. DTK kadınlarda daha sık görülmekle birlikte erkeklerde daha progresif seyir göstermektedir (1).

DTK genel olarak iyi prognozlu ve tedavi edilebilir olmakla birlikte yıllar içinde nüksler ve metastazlar da gelişebilmektedir. Hastalığın prognozu üzerinde hastanın tanı anındaki yaşı, erkek cinsiyet, tümör kapsül invazyonu ve bölgesel yaygınlığı, lenf bezlerinin durumu ve uzak metastazların varlığı etkilidir.

Yaş en önemli prognostik faktördür. Yaşı <45 olanlar, ≥45 olanlara göre belirgin olarak daha iyi prognoza sahiptirler. *American Joint Committee on Cancer (AJCC)*, yaşa göre evrelemesi olan tek kanser türü olduğunu bildirmektedir (2). Yaşı <45 olanlarda evre 3 veya 4 yoktur, bu hastaların uzak metastazları olsa da prognozları çok iyidir (3). Yaşlı hastalarda kanser daha agresif olma eğilimindedir. Genellikle tanı sırasında uzak metastaz vardır (4). Kadınlarda prognozun erkeklerle göre daha iyi olduğunu bildiren yayınlar vardır. Erkeklerde nüks ve mortalite daha yüksek olup 30 yıllık kanser ile ilişkili mortalite kadınların iki katı olarak bulunmuş ve cinsiyet bağımsız bir risk faktörü olarak belirtilmiştir. Tiroid kanserlerinin en sık premenapozal dönemde görülmesi seks hormonlarının etkili olabileceğini düşündürmektedir. Fakat bu durum tam olarak kesinlik kazanmış değildir. Prevelans çalışmalarında tiroid nodülü ve cerrahi tedavi gereksinimi kadınlarda daha fazla görülmektedir. Yapılan çalışmalar tiroid papiller kanser tanısının kadınlarda erkeklerden daha genç yaşlarda konulduğunu göstermesine rağmen bu yaş farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (5).

Çalışmamızda İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji Kliniğinde DTK tanısı ile takip edilen hastalarda prognostik faktörlerin cinsiyetler arasında karşılaştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Çalışma geriye dönük olarak tasarlandı. Çalışma protokolü için İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmaları Yerel Etik Kurulundan onay alındı. Araştırmanın kapsamı içine 01.01.2009 ile 31.12.2012 yılları arasında İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniğinde ICD 10 (C73-malign tiroid neoplazi) kodu ile izlenen diferansiye (papiller ve

foliküler) tiroid karsinomu tanılı hastalar dahil edildi. Hastaların bilgileri (yaş, cinsiyet ve takipte olanlarda bulunan tıbbi belgeler ve hastanemizin bilgi işletim sistemi kayıtları, klinikler arasındaki konsültasyonlar, patoloji, radyoloji ve hormon laboratuvarı sonuçları) esas alınarak incelendi. Baş yüz doksan hasta araştırma kapsamı içine alındı. Hastalar tanı anındaki yaş ve cinsiyetlerine göre gruplandırılmışlardır. Çalışmamızda DTK'de erkek ve kadın cinsiyetlerde prognostik faktörler açısından farklılık olup olmadığı geriye dönük olarak değerlendirildi. DTK dışında primeri bilinen metastatik malign hastalık öyküsü olan 4 hasta ve klinik verileri yetersiz olan 128 hasta çalışma dışı bırakıldı, geri kalan 458 hasta çalışmaya dahil edildi.

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analiz için *Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 15.0 for Windows* programı kullanıldı. Sınıflanmış ve sayısal verilerin tanımlayıcı istatistikleri analiz edildi. Kategorili grupları karşılaştırmak için ki-kare uygulandı. İstatistiksel analizde $p < 0.05$ olan değerler anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya alınan 458 hastanın 68'i (%14.8) erkek, 390'ı (%85.2) kadın olup yaş aralığı 19-87. Hastaların tanı anındaki ortalama yaşı 49.8 (± 12.6) olup, bu değer erkeklerde 54.6 (± 13.6), kadınlarda 48.9 (± 12.2) idi. Erkek hastaların kadınlara göre daha ileri yaşlarda DTK tanısı aldığı görüldü ($p < 0.05$).

Hastaların tümör boyutlarının ortanca değeri 11.5 mm olup, erkeklerde 13.5 mm iken kadınlarda 11.0 mm idi. Erkek ve kadın hastalar arasında tümör boyutları arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$).

İki yüz altı (%45.0) hastada mikrokarsinom (tümör boyutu <1cm) saptandı. Bunların 30'u (%44.1) erkek, 176'sı (%45.1) kadındı ($p < 0.05$).

Lenf bezi diseksiyonu yapılan 216 (%47.1) hastadan 176'sında (%81.4) metastaz saptanmazken, 40'ında (%18.6) lenf bezi metastazı mevcuttu. Bunlardan 11'i (%16.1) erkek, 29'u (%7.4) kadındı. Lenf bezi tutulum oranının erkeklerde daha fazla olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$).

Diğer prognostik faktörlerden tümör kapsül durumu, tümör kapsül invazyonu, multifokalite, bilateralite, tiroid kapsül invazyonu, lenfovasküler invazyon ve uzak metastaz oranları, erkek ve kadınlar arasında anlamlı farklılık göstermemekteydi ($p > 0.05$).

Uzak metastaz sadece 6 (%1.3) hastada izlendi. Bunların 2'si (%2.9) erkekti. Uzak metastaz olan iki erkek hastadan birinde kemik diğeriinde akciğer metastazı saptanırken, uzak metastazı olan dört kadın hastadan ikisinde akciğer, birinde kemik diğeriinde böbrek metastazı mevcuttu. Hastaların karşılaştırmalı sonuçları Tablo-1'de özetlenmiştir.

Tablo-1. Cinsiyetler Arasında Prognostik Faktörlerin Karşılaştırılması.*

	Erkek n (%)	Kadın n (%)	Toplam (%)	p değeri
Hasta sayısı	68 (14.8)	390 (85.2)	458	
Yaş (ortalama±SS)	54.6±13.6	48.9±12.2	49.7±12.56	p <0.05
Mikrokarsinom (tümör boyutu <10mm)	30 (44.1)	176 (45.1)	206 (45)	p <0.05
Tümör boyutu >10mm	38 (55.9)	114 (54.9)	252 (55)	
Tumor boyutu / mm				
Ortanca (mm)	13.5 ±29.6	11.0 ±13.47	11.5 ±17.09	
En düşük / En yüksek	1/207	1/95	1 /207	
Tümör boyutu evreleme	30 (44.1)	176 (45.1)	206 (45)	p <0.05
T1	41 (60.3)	293 (75.1)	334 (72.9)	
T2	16 (23.5)	68 (17.4)	84 (18.3)	
T3	11 (16.2)	18 (4.6)	29 (6.3)	
T4a	0	10 (2.6)	10 (2.2)	
T4b	0	1 (%0.3)	1 (%0.2)	
Lenfovasküler invazyon				p>0.05
Var	16 (23.5)	71 (18.2)	87 (19)	
Yok	52 (76.5)	319 (81.8)	371 (81)	
Nodal tutulum				p<0.05
N0	24 (35.3)	152 (39.0)	176 (38.4)	
N1a	9 (13.2)	27 (6.9)	36 (7.9)	
N1b	2 (2.9)	2 (0.5)	4 (0.9)	
Uzak metastaz	2 (2.9)	4 (1)	6 (1.3)	p>0.05

* T1: Tümör ≤2 cm ve tiroide sınırlı; T2: Tümör >2 <4 cm ve tiroide sınırlı; T3 Tümör: ≥4 cm ve tiroide sınırlı veya minimal ekstratiroidal invazyon; T4a: Tümör herhangi bir boyutta ve tiroid kapsülü dışına yayılım, çevre yumuşak doku ve organlara invazyon (larinks, özofagus, trakea, laringeal sinir); T4b: Tümör prevertebral fasya veya karotid arter ya da mediastinal damarlara invaze; N0: Bölgesel lenf bezlerine metastaz yok; N1: Bölgesel lenf bezi metastazı var; N1a: Santral kompartmanda lenf bezi metastazı; N1b: Ünilateral, bilateral ya da kontrilateral servikal ya da superior mediastinal lenf bezi metastazı.

Tartışma

Diferansiye tiroid kanseri, erken saptandığında ve doğru tedavi uygulandığında prognozu genellikle iyi seyreden bir hastalıktır. DTK'lerde yaşın önemli bir prognostik faktör olduğu ve genç hastalarda hastalısız sağkalımın daha uzun olduğu Shah ve ark. (6) çalışmalarında belirtilmektedir. Hundahl ve ark. (7) 53.856 tiroid kanserli hastayı kapsayan çalışmasında, yaşın tiroid kanserindeki önemli bağımsız prognostik faktörlerden biri olduğu belirtilmiştir. Yaş tiroid kanseri ile ilgili evreleme sistemlerinde kullanılan majör prognostik belirteçlerden biridir (8). Çalışmamızda erkek hastalar, kadınlara göre daha ileri yaşta tanı almıştı. Ortalama tanı yaşı literatür bilgileriyle uyumlu idi.

Literatürde diferansiye tiroid kanserinin kadın/erkek görülme oranı 2/1 ile 4/1 arasında bildirilmektedir (9). Çalışmamızda kadın/erkek oranı yaklaşık olarak 5/1 idi.

Jukkola ve ark. (10) 499 diferansiye tiroid kanserli hastada yaptığı çalışmada, erkek hastalardaki nüks oranı %23 iken kadın hastalarda %12 olarak

belirlenmiş ve erkek hastalarda kadın hastalara göre prognoz daha kötü olduğu belirtilmiştir. DTK gelişiminde normal foliküler epitel hücrelerinin farklılaşarak diferansiye malign hücrelere dönüşmesinin birçok aşama ve genetik mutasyon ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Dönüşüm esnasında androjenlerin kanser hücrelerinin proliferasyonu, migrasyonu veya apoptozunu etkilediği yönünde çalışmalar mevcuttur (11). Kasai ve ark. (12) yaptığı bir çalışmada papiller mikrokarsinom tanılı 78 hasta tümör boyutuna göre ≤5 mm ve >5 mm olarak 2 gruba ayrılmış, lenf bezi metastazı >5mm grupta anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Pellegriti ve ark. (13) 299 hasta ile yaptıkları başka bir değerlendirmede hastalar 3 gruba ayrılmış (<0.5 cm, 0.6-1 cm, 1.1-1.5 cm) ve tümör boyutu arttıkça tümör agresivitesinin arttığı belirtilmiştir. Bu çalışmada multifokalite, bilateral olma, ekstratiroidal invazyon ve lenf bezi metastazı gibi parametreler tümörün agresif davranış kriterleri olarak belirlenmiştir. Çalışmada hastaların %31'inde multifokalite, %30'unda lenf bezi metastazı, %4.7'sinde

vasküler invazyon ve %2.7'sinde uzak metastaz saptanmıştır. Tanı sırasında uzak metastaz ve vasküler invazyon olmasının tümör boyutundan çok, tümörün biyolojik davranışına bağlı olduğu saptanmıştır. Ancak tümör boyutunun persistan ve rekürren hastalık varlığı ile ilişkisi bulunmamıştır. Chow ve ark. (14) yaptığı çalışmada, 842 papiller kanserli hastanın ortalama 9.2 yıllık izleminde <1 cm tümörü olan 165 hastadan 1 hastada (%0.6) mortalite gözlenirken, >1cm tümörü olan 577 hastadan 42'sinde (%7.3) mortalite gözlenmiş, lokorejyonel nüks oranları ise sırasıyla %6.7-18 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda tümör boyutuna göre erkek ve kadın hastalarımız karşılaştırıldığında erkek hastalarda tümör boyutu daha yüksek saptandı. Sonuçlarımız istatistiksel olarak anlamlı idi. Tümör kapsül invazyonunun varlığı morbidite ve mortaliteyi artırdığına dair çalışmalar vardır. Tümör kapsül invazyonu olan hastalarda multifokalite, tiroid kapsül invazyonu daha sık görülmektedir. Özellikle beraberinde lenfovasküler invazyonunun da bulunması kötü prognoz göstergesidir. Tümör kapsül invazyonu mikroskopik ya da makroskopik şekilde olabilir (8). Araştırmamızda erkek ve kadın hastalar arasında

tümör kapsülü invazyonu ve lenfovasküler invazyon oranları açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Lee ve ark. (15) papiller mikrokarsinom tanılı 300 hasta ile yaptıkları bir çalışmada hiçbir hastada uzak metastaz saptamazken, Chow ve ark. (16), ise papiller mikrokarsinom tanılı 203 hastanın 2'sinde (%1) uzak metastaz saptamışlardır. Bir metaanalizde ise uzak metastazı olan diferansiye tiroid kanserli 1231 hasta değerlendirilmiş metastazların %49'unun akciğere, %25'i kemiğe, %15'i akciğer ve kemiğe birlikte, %10 kadarı da santral sinir sistemi ve diğer yumuşak dokulara olduğu rapor edilmiştir (17). Çalışmamızda uzak metastaz sadece 6 hastada (%1.3) saptandı.

Sonuç

Diferansiye tiroid kanseri kadınlarda daha sık görülürken erkeklerde daha kötü prognozlu olabilmektedir. Ortalama tanı yaşının erkeklerde daha ileri oluşu, ortalama tümör boyutunun da daha fazla olması bu duruma neden olabilir. Bu konunun daha iyi aydınlatılması için DTK tanısı sonrasında hormonların etkisinin değerlendirildiği, genetik farklılık ve histokimyasal yöntemlerin kullanıldığı daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

Kaynaklar

1. Wells SA. Cancer of the Endocrine System. In Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). Cancer: Principles and Practice of Oncology. 8th Ed., Philadelphia Lippincott Williams&Wilkins, 2008:1655-82.
2. Greene FL, Balch CM, Fleming ID, et al. AJCC cancer staging handbook: TNM classification of malignant tumors: Springer Science & Business Media; 2002.
3. Shaha AR. Implications of prognostic factors and risk groups in the management of differentiated thyroid cancer. Laryngoscope. 2004;114(3):393-402.
4. Pacini F, Schlumberger M, Dralle H, Elisei R, Smit JW, Wiersinga W. European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium. Eur J Endocrinol 2006;154(6):787-803.
5. Morganti S, Ceda GP, Sacconi M, Milli B, Ugolotti D, Prampolini R, et al. Thyroid disease in the elderly: Sex-related differences in clinical expression. J Endocrinol Invest 2005;28(11 Suppl Proceedings):101-4.
6. Shah JP, Loree TR, Dharker D, Strong EW, Begg C, Vlamis V. Prognostic factors in differentiated carcinoma of the thyroid gland. Am J Surg 1992;164(6):658-61.
7. Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR. A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995. Cancer 1998;15:83(12):2638-48.
8. Dean DS, Hay ID. Prognostic indicators in differentiated thyroid carcinoma. Cancer Control 2000;7(3):229-39.
9. Nagataki S, Nystrom E. Epidemiology and primary prevention of thyroid cancer. Thyroid 2002;12(10):889-96.
10. Jukkola A, Bloigu R, Ebeling T, Salmela P, Blanco G. Prognostic factors in differentiated thyroid carcinomas and their implications for current staging classifications. Endocr Relat Cancer 2004;11(3):571-9.
11. Zeng Q, Chen G, Vlantis A, Tse G, van Hasselt C. The contributions of oestrogen receptor isoforms to the development of papillary and anaplastic thyroid carcinomas. J Pathol 2008;214(4):425-33.
12. Kasai N, Sakamoto A. New subgrouping of small thyroid carcinomas. Cancer 1987;60(8):1767-70.
13. Pellegriti G, Scollo C, Lumera G, Regalbutto C, Vigneri R, Belfiore A. Clinical behavior and outcome of papillary thyroid cancers smaller than 1.5 cm in diameter: Study of 299 cases. J Clin Endocrinol Metab 2004;89(8):3713-20.
14. Chow SM, Law SC, Mendenhall WM, et al. Papillary thyroid carcinoma: prognostic factors and the role of radioiodine and external radiotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2002 Mar 1;52(3):784-95.
15. Lee J, Rhee Y, Lee S, et al. Frequent, aggressive behaviors of thyroid microcarcinomas in Korean patients. Endocr J 2006;53(5):627-32.
16. Chow SM, Law SC, Chan JK, Au SK, Yau S, Lau WH. Papillary microcarcinoma of the thyroid-Prognostic significance of lymph node metastasis and multifocality. Cancer 2003;98(1):31-40.
17. Shaha AR, Shah JP, Loree TR. Differentiated thyroid cancer presenting initially with distant metastasis. Am J Surg 1997;174(5):474-6.

The determination of the value of contrast enhancement in carotid artery plaques with multi detector computed tomography

Multi dedektör bilgisayarlı tomografi ile karotid arter plaklarında kontrastlanma miktarlarının saptanması

Halil İbrahim Özdemir¹ Celal Çınar¹ Halil Bozkaya¹ Ayşe Güler² İsmail Oran¹

¹Ege University, Faculty of Medicine, Department of Radiodiagnostics, Bornova, İzmir, Turkey

²Ege University, Faculty of Medicine, Department of Neurology, Bornova, İzmir, Turkey

Abstract

Aim: The purpose of the study is to determine the accuracy of carotid artery plaque density measurements using multi detector computed tomography (MDCT) with contrast administration to differentiate symptomatic from asymptomatic plaques.

Materials and Methods: Seventy-two patients who did not have calcified plaques were identified retrospectively among patients undergoing neck and brain MDCT due to atherosclerotic carotid artery disease diagnosis or pre-diagnosis. The plaque density measurements were made on the same axial unenhanced and contrast-enhanced sections in large window, using a circular ROI in 1-4 mm² in size. The symptom differentiation of patients was based on neurological examination and radiological findings. The measured density values were compared according to the clinical and laboratory findings and medical histories of the patients. Student t-test was used for statistical analyses.

Results: Significant differences ($p<0.001$) were found between the unenhanced and contrast-enhanced plaque densities, but the same density difference was not observed among symptomatic patients. A significant relationship was shown between the plaque density and localization ($p<0.003$). In addition, the comparison between the degree of stenosis and symptoms was statistically significant ($p<0.001$). There was no significant association between the plaque density and symptoms, gender, stenosis side, infarct type, hyperlipidemia, hypertension, diabetes, coronary artery disease and cigarette use.

Conclusion: An increased density with MDCT was determined depending on the contrast agent uptake in carotid plaques. However, it was not statistically significant between the symptomatic and the asymptomatic patients groups.

Keywords: Carotid plaque, plaque density, CT angiography.

Öz

Amaç: Multi dedektör bilgisayarlı tomografi (MDBT) ile karotid arter plaklarının kontrastsız ve kontrastlı görüntüleri üzerindeki dansite artışının saptanması ve bu dansite artışının semptomatik hastalardaki miktarının belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Aterosklerotik karotid arter hastalığı tanı ya da ön tanısıyla supraaortik damarların incelenmesine yönelik MDBT tetkiki yapılmış ve kalsifik plak içermeyen 72 hasta retrospektif olarak tespit edildi. Plak dansite ölçümleri, kontrastlı ve kontrastsız olmak üzere aynı aksiyel kesitlerde, geniş pencerede, 1-4 mm² büyüklüğündeki dairesel ROI kullanılarak yapıldı. Hastaların semptom ayrımında nörolojik muayene bulguları ve radyolojik görüntüleme bulguları kullanıldı. Ölçülen dansite değerleri hastaların özgeçmiş, klinik ve laboratuvar bulguları ile karşılaştırıldı. İstatistik hesaplamaları student-t testi ile yapıldı.

Bulgular: Tüm hastaların kontrastsız ve kontrastlı plak dansiteleri arasındaki fark anlamlı ($p<0.001$) bulundu, fakat semptomlu hastalarda aynı dansite farkı tespit edilmedi. Plak dansitesi ile lokalizasyon arasında anlamlı ($p<0.003$) bir ilişki saptandı. Ayrıca stenoz derecesi ile semptom arasındaki karşılaştırma ($p<0.001$) anlamlı idi. Plak dansitesi ile semptom, cinsiyet, stenoz tarafı, infarkt tipi, hiper lipidemi, hipertansiyon, diabet, koroner arter hastalığı varlığı ve sigara kullanımı arasında anlamlı ilişki bulunmadı.

Sonuç: MDBT ile karotid plaklarında kontrast madde tutuluşuna bağlı dansite artışı, semptomatik ve asemptomatik hasta grupları arasında anlamlı bulunmadı.

Anahtar Sözcükler: Karotis plak, plak dansitesi, BT anjiyografi.

Introduction

Throughout the world, death from ischemic stroke associated with cerebrovascular diseases is in third rank following coronary diseases and cancer (1). Nearly 800,000 people experience stroke every year, either new or recurrent. More than 15 million people suffer from stroke each year worldwide, resulting in a mortality of 5 million (2). Ischemic stroke, as well as being a frequent cause of death, is the primary reason for disability in adults. Patients with ischemic stroke comprise of more than half of the patients referred to hospital due to neurologic diseases. It is obvious that a stroke is a very important and preventable health problem in our country whose population is increasingly getting older (1).

Two types of embolism cause an ischemic stroke; cerebral embolism and cerebral thrombosis. The most important cause of an ischemic stroke (approximately one third) is an embolic stroke. The major cause of an embolic stroke is atherosclerotic plaques in the internal carotid artery (ICA). Aortic atherosclerotic plaques are common in patients with an ischemic stroke of an undetermined etiology, and in particular those with carotid, intracranial and coronary atherosclerosis, or with high intima media thickness (IMT) values. In these patients, the computed tomography angiography (CTA) of the aorta should be seriously considered (3).

In recent years, studies on vulnerable plaque imaging have increased. In the standard imaging of atherosclerotic carotid artery lesions, Ultrasonography (USG), Magnetic Resonance Imaging (MRI) and Computed Tomography (CT) can be used. USG is unable to give morphologic details such as fibrous capsule thickness and hemorrhage which are still known as important features of plaque sensitivity even today (4,5). MRI has given the highest specificity in the establishment of plaque hemorrhage and it has shown a relatively lower sensitivity (6-10). However, new CT technologies with a multi detector can rapidly scan arteries from the arch of the aorta to the base of the skull at the arterial phase and with a higher resolution. Identifying plaque calcifications, ulcerations, and intraluminal thrombosis is possible with a CT (11-13). Furthermore, CT angiography has a high sensitivity and a high negative predictive value for carotid disease. CT angiography appears to be an excellent screening test for internal carotid artery stenosis, and the authors advocate its use for the initial imaging of patients with a suspected stroke or transient ischemic attack (TIA) (14).

Our study focuses on vulnerable plaque distinctions on CT images. The purpose of the study is to determine the accuracy of carotid artery (CA) plaque density

measurements using multi detector computed tomography (MDCT) with contrast administration in order to differentiate symptomatic (vulnerable) from asymptomatic plaques.

Materials and Methods

This retrospective study was carried out by using the image archive at the radiology department of Ege University Medical School. We identified 72 patients from the archive who had had a supra-aortic neck and brain CT examination that did not include calcification and showed 50% or more ICA stenosis in their carotid bifurcation. The neck and brain MDCT angio examinations were carried out using a 128 detector CT system (Somatom Sensation; Siemens, Erlangen, Germany). The MDCT angio examination protocol included kVp: 120, mAs: 100-225, slice thickness: 0.6 mm, kernel filter: 326f medium smooth, tube rotation time: 0.3 s, pitch: 0.8, detector coverage: 128*0.6 mm, and matrix: 512*512. The examinations were performed by using scans with both an unenhanced and enhanced-contrast as a cover from the supra-aortic area to the vertex of the brain. Contrast application was performed using an automatic injector (Ulrich) and by giving intravenous (4-5 ml/s) 60 ml non-ionic contrast material, directly after 25 ml of serum physiologic.

To differentiate between symptomatic and asymptomatic patients and stenosis, clinical examination and radiologic findings were used according to the American Heart Association and American Stroke Association recommendations on carotid endarterectomy for carotid artery stenosis (Table-1,2) (24-26). The clinical findings were assessed by a neurologist with 5 years of experience. The radiological findings were determined by two interventional and neuro-radiologists with 12 years of experience by examining the CT and MRI images of the patients. According to the American Heart Association and American Stroke Association recommendations on carotid endarterectomy for carotid artery stenosis and also our findings, patients having embolic stroke/ischemic stroke or the presence and type of infarction (embolic/watershed) on the same side as the ICA plaques on the MDCT angio and MRI images, and a cured carotid endarterectomy + medical therapy were considered to be "symptomatic"; in the case of the presence of a lesion contralateral to the plaque, these patients were considered to be "asymptomatic" (Table-1,2) (24-26).

The plaque measurements were performed on images unenhanced and enhanced and contrasted by using cross-sections at the same table level. The cross-sections on which the plaque measurements were performed were magnified by 200%.

Table-1. Overview of Carotid Endarterectomy versus Medical Therapy Trial.*

Trial (year)	Stenosis (%)	Treatment	Results
Symptomatic patients			
NASCET (1991)	70–99	CEA / PTA + medical therapy	65% lower rate of ipsilateral cerebral events with CEA
ECST (1991)	70–99	CEA / PTA + medical therapy	Incidence of ipsilateral ischemic stroke 2.8 versus 16.8% with aspirin alone
VA (1991)	50–99	CEA / PTA + medical therapy	Death or stroke 7.7% with CEA versus 19.4% with medical therapy
Asymptomatic patients			
ACAS (1995)	60–99	CEA / PTA + medical therapy	Relative risk reduction of 53% with CEA
ACST (2004)	60–99	CEA / PTA + medical therapy	5-year stroke risk 6.4% with CEA versus 11.8%
VA (1993)	50–99	CEA / PTA + medical therapy	61% lower risk of TIA or stroke with CEA

*ACAS: Asymptomatic Carotid Atherosclerotic Study; ACST: Asymptomatic Carotid Surgery Trial; CEA: Carotid endarterectomy; ECST: European Carotid Surgery Trial; NASCET: North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial; PTA: Percutaneous transluminal angioplasty; TIA: Transient ischemic attack; VA: The Veterans Affairs Cooperative Study Group (22,24).

Table-2. American Heart Association and American Stroke Association Recommendations on Carotid Endarterectomy for Carotid Artery Stenosis.*

Stenosis (%)	Recommendation	Level of recommendation
Symptomatic stenosis		
High grade (≥70%)	CEA / PTA mortality rate <6%	Class I level of evidence A
Moderate (≥50 and <70%)	CEA / PTA depending on patient	Class I level of evidence A
Mild (<50%)	No indications for CEA / PTA	Class I level of evidence A
Asymptomatic stenosis		
High grade (≥60%)	CEA / PTA mortality rate of <3%	Class I level of evidence A

*CEA: Carotid endarterectomy; PTA: Percutaneous transluminal angioplasty (23,24).

Table-3. Demographic Data Showing The Patients' Clinical Status.*

	Gender		Symptom		Infarct		Infarct Type		Localiz.		HL		HT		DM		CAD		Smoke	
	F	M	+	-	+	-	E	W	B	pB	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
n	20	52	40	32	40	32	27	13	58	14	25	47	21	51	8	64	9	63	13	59
Pre-D	32.2	36.7	37.8	33.8	36.2	33.4	39.5	33.0	38.1	28.5	34.7	36.1	35.5	35.7	30.1	36.3	32.1	36.1	32.8	36.2
Post-D	57.3	57.0	56.7	57.5	54.2	58.0	60.3	48.2	60.1	44.5	53.8	58.8	52.3	59.1	52.8	57.6	51.6	57.9	49.4	58.8
ΔD	25.1	20.2	18.8	23.6	17.9	24.6	20.7	15.2	22.0	16.0	19.1	22.7	16.8	23.3	22.7	21.3	19.5	21.7	16.6	22.5

*Localiz.: Localization; n: Number; Pre-D: Density on unenhanced image; Post-D: Density on enhanced-contrast image; ΔD: Density difference between unenhanced and enhanced-contrast images; F: Female; M: Male; E: Embolic; W: Watershed; B: Bulbar; pB: Post-bulbar; HL: Hyperlipidemia; HT: Hypertension; DM: Diabetes mellitus; CAD: Coronary artery disease.

All the measurements were made on the cross-sections with and without contrast in order to establish the transition densities between the plaque and arterial lumen, and the same wider window level (width=900, level=250) was used. Initially, the measurement was made on the contrast-enhanced cross-sections to both visualize the arterial lumen and to clearly establish the location of the plaque. Subsequently, the density measurements were repeated on the unenhanced image with the same localization and the same table level. Single circular ROI area with a magnitude of 1-4 mm² was used for the density measurements according to the status of stenosis (Figure-1,2).

The SPSS Program was used for statistical analyses. The independent-samples T test was used to compare the density rates according to clinical status and the dual

comparisons were done with the paired sample T test. The results were evaluated according to their significance status. A ROC Curve analysis was conducted to explore the diagnostic value of unenhanced and enhanced images in detecting symptomatic patients.

Results

The data of these 72 patients that had at least 50 % bulbar and post-bulbar carotid stenosis are summarized in Table-3. The mean age of the patients was 67.13 years (ranging from 37 to 82 years). The mean degree of the stenosis associated with the carotid artery plaque was measured as 72.29 % (50-95).

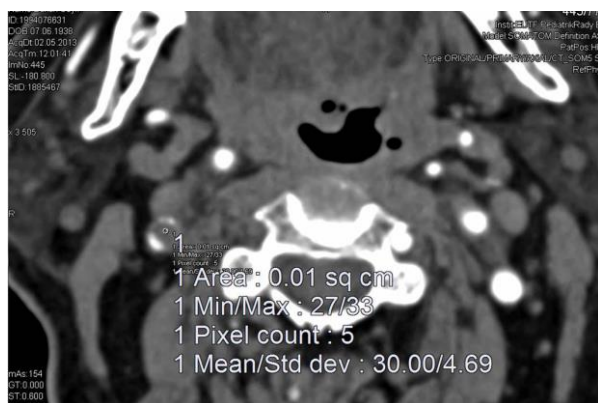


Figure-1. The ROI area on enhanced-contrast sections over the plaque located in the right carotid artery.

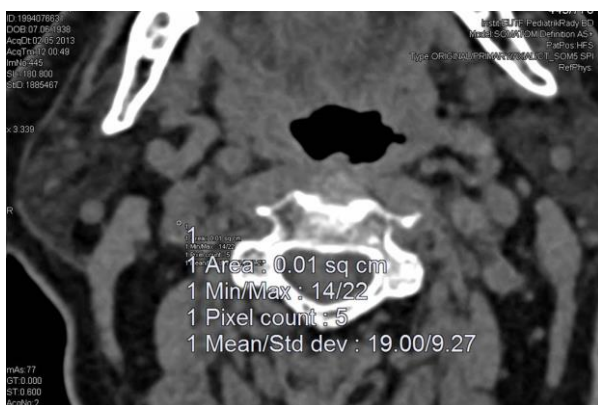


Figure-2. The ROI area on unenhanced sections over the plaque located in the right carotid artery.

Significant difference was detected in three different types of analyses. The first was the difference between the average plaque density of the unenhanced images as 35.67 (6-70) Hounsfield Unit (HU) and the average plaque density of the enhanced contrast images measured as 57.14 (17-141) HU. The mean increase in the plaque density after contrast was found to be 21.47 (0-94) HU. This increase is statistically significant ($p < 0.001$).

The second difference was in the plaque density (Pre-D) according to plaque localization ($p < 0.003$); the density value of plaques at post-bulbar localization being lower.

Thirdly, the degree of stenosis was significantly different according to symptomatology ($p < 0.001$). The stenosis percentages of symptomatic patients were higher.

According to the ROC Curve analysis, the unenhanced (pre-D) and enhanced (post-D) image densities were not found to be useful for detecting symptomatic patients (Figure-3).

A statistically significant relationship was not detected between the plaque density and symptoms, gender, the site of the stenosis, the type of infarction, hyperlipidemia, hypertension, diabetes, presence of coronary artery disease or smoking status.

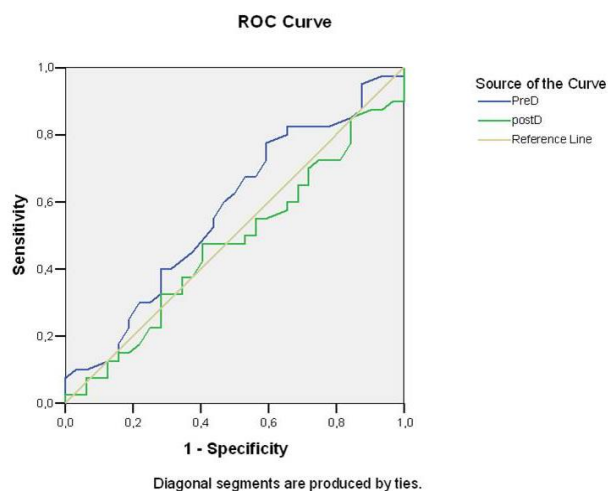


Figure-3. ROC Curve analyze of densities between on unenhanced (pre-D) and enhanced (post-D) images of symptomatic patients.

Discussion

As a result of pathological studies carried out on plaques, a classification (also approved by the American Heart Association) was developed. There are eight types of atherosclerotic lesions according to this classification. Fibrotic lesions are characterized by fibrous tissue and do not contain a lipid structure. Fibrotic and calcific plaques are more stable plaques and their probability to rupture is very low; however, they exhibit a symptom of hampering blood flow from the carotid artery (15).

The main aim in radiological imaging of a patient with atherosclerotic carotid artery disease is to detect the degree of carotid artery stenosis caused by the plaque. As the percentage of stenosis increases, the possibility of becoming symptomatic increases. The generally accepted view is that plaques that cause 70% or more stenosis should be treated (16).

De Weert et al. (17) suggested that the surface structure of the atherosclerotic plaque can be examined by an MDCT angio. Adraktas et al. (18) and Van Gils et al. (19) were able to reveal the risk factors showing temporal alterations on the plaques of the patients with carotid stenosis who were followed up with MDCT. The use of ionized radiation and the artifacts resulting from the calcifications and metallic implants limit in general the utilization of CT. Furthermore, it is not able to show the plaques' soft components such as a hemorrhage (20). A diagnostic improvement in the discrimination between soft tissues through a dual energy CT has been reported; in the future this technique could be used more frequently in carotid plaque examination (21).

In our study, a significant difference was found between the unenhanced and enhanced contrast plaque densities, the plaque densities increasing after the contrast medium administration on MDCT. The retention of the contrast material means that the plaques contain

inflammation and neo-angiogenesis. Generally vulnerable plaques which are likely to become symptomatic contain plenty of inflammation cells and microvascular angiogenesis. In light of this information, theoretically vulnerable plaques (i.e. symptomatic plaques) are expected to retain more contrast material than stable, asymptomatic plaques. In the literature, there are only a few studies on this topic which use the same technique presented here (i.e., MDCT) with inconsistent results. Saba et al. have found statistically significant density increases in symptomatic plaques and suggested that the discrimination of "vulnerable" plaque could be made in MDCT angio examinations where unenhanced and enhanced contrast imaging is performed (22,23). On the contrary, we could not find any significant difference between the asymptomatic and symptomatic plaques in terms of density increase on the unenhanced and enhanced contrast images in MDCT. Ha et al. have found similar results with a lack of significant correlation in the averaged HU value between the pre-contrast and post-contrast early arterial phase and between the symptomatic and asymptomatic sides, in MDCT. However, they had found a statistically significant difference in the post-contrast HU values and difference of pre-contrast and post-contrast HU values between the symptomatic and asymptomatic sides (27).

Our study demonstrated that there was a statistical difference among the plaque densities between the bulbar and post-bulbar locations; the plaques at the post-bulbar location having lower density values. Lower densities imply that the plaque contains more fat and/or less micro-calcification. These characteristics are likely

to belong to the "vulnerable" plaque. Besides the degree of plaque stenosis among the symptomatic patients were also found to be significantly higher in our study, which is also consistent with literature (16).

In the density measurement on MDCT cross-sections, some of the limitations of this study that we thought influenced the results negatively are given below;

1. There may be changes in the locations of unenhanced and contrast-enhanced examinations due to breathing, swallowing and other causes. This could result in an error in measuring location.
2. Beam heartening artifact affects density measurements directly. Although plaques containing calcification were not included, the effects of these artifacts could originate from other soft tissue and bony structures and could not be completely eliminated.
3. Since contrast-enhanced images were taken at the early arterial phase to prevent venous contamination for ideal MDCT angiography, intra-plaque contrast retention (density increase) might not have been sufficiently established; thus imaging at a later phase might give more correct results.

Conclusion

According to our results, contrast agent uptake due to increased density has been observed in the carotid plaque. However, the increase was not statistically significantly different between symptomatic and asymptomatic patients groups.

References

1. Özdemir AO, Özdemir G. İnme Dağılımı: Dünyada ve Türkiye'de santral sinir sisteminin damarsal hastalıkları. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 2011:17-20.
2. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, et al. Executive summary: Heart disease and stroke statistics: 2010 update: A report from the American Heart Association. *Circulation* 2010;121(7):948-54.
3. Chatzikonstantinou A, Ebert AD, Schoenberg SO, Hennerici MG, Henzler T. Atherosclerosis in intracranial, extracranial, and coronary arteries with aortic plaques in patients with ischemic stroke of undetermined etiology. *Int J Neurosci* 2015;125(9):663-70.
4. Vicenzini E, Giannoni MF, Puccinelli F, et al. Detection of carotid adventitial vasa vasorum and plaque vascularization with ultrasound cadence contrast pulse sequencing technique and echo-contrast agent. *Stroke* 2007;38(10):2841-3.
5. Coli S, Magnoni M, Sangiorgi G, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of intraplaque neovascularization in carotid arteries: Correlation with histology and plaque echogenicity. *J Am Coll Cardiol* 2008;52(3):223-30.
6. Yuan C, Mitsumori LM, Ferguson MS, et al. In vivo accuracy of multi spectral magnetic resonance imaging for identifying lipid-rich necrotic cores and intra-plaque hemorrhage in advanced human carotid plaques. *Circulation* 2001;104(17):2051-6.
7. Eesa M, Hill D, Al-Khathaami A, et al. Role of CT angiographic plaque morphologic characteristics in addition to stenosis in predicting the symptomatic side in carotid artery disease. *AJNR Am J Neuroradiol* 2010;31(7):1254-60.
8. U-King-Im JM, Fox AJ, Aviv RI, et al. Characterization of carotid plaque hemorrhage: A CT angiography and MR intraplaque hemorrhage study. *Stroke* 2010;41(8):1623-9.
9. Saba L, Caddeo G, Sanfilippo R, Montisci R, Mallarini G. CT and ultrasound in the study of ulcerated carotid plaque compared with surgical results: Potentialities and advantages of multidetector row CT angiography. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007;28(6):1061-6.
10. Toussain JF, LaMuraglia GM, Souther JF, Fuster V, Kantor HL. Magnetic resonance images lipid, fibrous, calcified, hemorrhagic, and thrombotic components of human atherosclerosis in vivo. *Circulation* 1996;94(5):932-8.
11. Chu B, Kampschulte A, Ferguson MS, et al. Hemorrhage in the atherosclerotic carotid plaque: A high-resolution MRI study. *Stroke* 2004;35(5):1079-84.

12. Kampschulte A, Ferguson MS, Kerwin WS, et al. Differentiation of intraplaque versus juxtaluminal hemorrhage/thrombus in advanced human carotid atherosclerotic lesions by in vivo magnetic resonance imaging. *Circulation* 2004;110(20):3239-44.
13. Yamada K, Song Y, Hippe DS, et al. Quantitative evaluation of high intensity signal on MIP images of carotid atherosclerotic plaques from routine TOF-MRA reveals elevated volumes of intraplaque hemorrhage and lipid rich necrotic core. *J Cardiovasc Magn Reson* 2012;14:81.
14. Josephson SA, Bryant SO, Mak HK, Johnston SC, Dillon WP, Smith WS. Evaluation of carotid stenosis using CT angiography in the initial evaluation of stroke and TIA. *Neurology* 2004;63(3):457-60.
15. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: A comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(5):1262-75.
16. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) Collaborators. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. *N Engl J Med* 1991;325(7):445-53.
17. de Weert TT, Cretier S, Groen HC, et al. Atherosclerotic plaque surface morphology in the carotid bifurcation assessed with multidetector computed tomography angiography. *Stroke* 2009;40(4):1334-40.
18. Adraktas DD, Tong E, Furtado A, Cheng SC, Wintermark M. Evolution of CT imaging features of carotid atherosclerotic plaques in a 1-year prospective cohort study. *J Neuroimaging* 2014;24(1):1-6.
19. van Gils MJ, Homburg PJ, Rozie S, de Weert TT, Dippel DW, van der Lugt A. Evolution of atherosclerotic carotid plaque morphology: Do ulcerated plaques heal? A serial multidetector CT angiography study. *Cerebrovasc Dis* 2011;31(3):263-70.
20. U-King-Im JM, Fox AJ, Aviv R, et al. Characterization of carotid plaque hemorrhage: A CT angiography and MR intraplaque hemorrhage study. *Stroke* 2010;41(8):1623-9.
21. Zachrisson H, Engstrom E, Engvall J, Wigstrom L, Smedby O, Persson A. Soft tissue discrimination ex vivo by dual energy computed tomography. *Eur J Radiol* 2010;75(2):e124-8.
22. Saba L, Piga M, Raz E, Farin, D, Montisci R. Carotid artery plaque classification: Does contrast enhancement play a significant role? *AJNR Am J Neuroradiol* 2013;33(9):1814-7.
23. Saba L, Mallarini G. Carotid plaque enhancement and symptom correlations: An evaluation by using multidetector row CT angiography. *AJNR Am J Neuroradiol* 2011;32(10):1919-25.
24. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. *N Engl J Med* 1991;325(7):445-53.
25. Brott TG, Halperin JL, Abbara S, et al. Guideline on the Management of Patients With Extracranial Carotid and Vertebral Artery Disease: Executive Summary. A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, and the American Stroke Association, American Association of Neuroscience Nurses, American Association of Neurological Surgeons, American College of Radiology, American Society of Neuroradiology, Congress of Neurological Surgeons, Society of Atherosclerosis Imaging and Prevention, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Interventional Radiology, Society of NeuroInterventional Surgery, Society for Vascular Medicine, and Society for Vascular Surgery Developed in Collaboration With the American Academy of Neurology and Society of Cardiovascular Computed Tomography. *J Am Coll Cardiol* 2011;57(8):1002-44.
26. Mughal MM, Khan MK, DeMarco JK, Majid A, Shamoun F, Abela GS. Symptomatic and asymptomatic carotid artery plaque. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2011;9(10):1315-30.
27. Ha SM, Suh S, Seo WK, Seol HY. Arterial wall imaging in symptomatic carotid stenosis: Delayed enhancement on MDCT angiography. *Neurointervention* 2016;11(1):18-23.

Çocuklarda demir eksikliği anemisinin tiroid hormonları üzerine etkisi

The effect of iron deficiency anemia on thyroid hormones in the child

Zahide Yalaki¹ Esra Yazarlı¹ Bülent Alioğlu²

¹Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Ankara, Türkiye

²Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Hematoloji Bölümü, Ankara, Türkiye

Öz

Amaç: Demir eksikliği anemisi ve tiroid hormonları arasındaki ilişkinin araştırıldığı erişkin ve çocuk çalışmaları az sayıdadır. Bu çalışmada çocuklarda sık görülen demir eksikliği anemisi ile tiroid hormonları arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 6 ay-17 yaş arası toplam 102 çocuk (70 demir eksikliği anemisi olan grup ve 32 kontrol grubu) alındı. Tüm hastalardan tam kan sayımı, serum demiri, demir bağlama kapasitesi, ferritin ve tiroid hormonları için kan alındı. Çalışma için hastanemiz etik kurulundan onam alındı. Elde edilen veriler SPSS 15.00 programı kullanılarak değerlendirildi.

Bulgular: Çalışma grubunun ortanca yaşı 7.5 yaş ve % 62.9'u kız idi, kontrol grubunun ortanca yaşı 6 yaş ve % 65.6'ı kız idi. Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından fark saptanmadı ($p>0.005$). Çalışma grubunda TSH ortalaması 2.03 ± 0.95 $\mu\text{IU/mL}$, serbest T4 (ST4) ortalaması 1.09 ± 0.21 ng/dL, ve serbest T3 (ST3) ortalaması 3.25 ± 0.68 pg/dL iken, kontrol grubunda TSH ortalaması 2.15 ± 0.94 $\mu\text{IU/mL}$, ST4 ortalaması 1.14 ± 0.16 ng/dL, ST3 ortalaması 3.45 ± 0.56 pg/dL idi ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla $p=0.540$, $p=0.255$, $p=0.149$). Ancak ST4 ile hemoglobin arasında pozitif korelasyon saptandı ($p=0.031$, $r=0.214$).

Sonuç: Çalışmamızda hemoglobin ile ST4 arasında pozitif korelasyon saptandı. Bu nedenle çocukluk çağında büyüme, bilişsel gelişimi ve zeka gelişiminde önemli olan demir ve tiroid hormonları arasındaki ilişkinin araştırılacağı daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Sözcükler: Demir eksikliği anemisi, tiroid hormonu, çocuk.

Abstract

Aim: There are few studies that investigate the relationship between iron deficiency anemia and thyroid hormones. The aim of this study is to evaluate the relationship between iron deficiency anemia, a common disease of childhood, and thyroid hormones.

Materials and Methods: A total of 102 children (70 in the study group and 32 in the control group) ranging in age from 6 months to 17 years were included in the study. Blood samples were obtained from the children to determine total blood count, blood iron, total iron binding capacity, ferritin, and thyroid hormone levels.

Results: The median age of the study group was 7.5 years and 62.9% of the subjects were female. Gender and age distribution of the groups were not different ($p>0.005$). The mean thyroid-stimulating hormone (TSH) level was 2.03 ± 0.95 $\mu\text{IU/mL}$, mean free thyroxine (FT4) was 1.09 ± 0.21 ng/dL, and mean free triiodothyronine (FT3) was 3.25 ± 0.68 pg/dL in the study group. In the control group, mean TSH was 2.15 ± 0.94 $\mu\text{IU/mL}$, mean FT4 was 1.14 ± 0.16 ng/dL, and mean FT3 was 3.45 ± 0.56 pg/dL. There was no statistically significant difference between the groups in TSH, FT4, or FT3 levels ($p=0.540$, $p=0.255$, and $p=0.149$, respectively). However, there was a positive correlation between FT4 and hemoglobin ($p=0.031$, $r=0.214$).

Yazışma Adresi: Zahide Yalaki

Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Ankara, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 27.06.2016 Kabul Tarihi: 11.07.2016

Conclusion: The main finding of our study was the positive correlation between FT4 and hemoglobin. Thus, we believe that further studies are needed to investigate the relationship between iron and thyroid hormones, which play important roles in growth and cognitive and mental development in childhood.

Keywords: Iron deficiency anemia, thyroid hormone, child

Giriş

Demir eksikliği (DE), ülkemizde ve tüm dünyada sık rastlanan besinsel eksiklik olup özellikle gelişmekte olan ülkelerde ve düşük sosyoekonomik koşullarda yaşayanlar için önemli bir halk sağlığı sorunudur (1,2). Demir eksikliği anemisinin (DEA) halen dünya üzerinde 500 milyondan fazla kişiyi etkilediği düşünülmektedir (3). Ülkemizde Dünya Sağlık Örgütü'nün 2001 verilerine göre okul öncesi çocukların %32.6'ında DEA bulunmaktadır (4). Demir vücudumuzda tüm hücreler için gerekli bir element olduğu için eksikliğinde büyüme, psikomotor gelişim, zihinsel gelişim, immün sistem, gastrointestinal sistem ve termoregülasyon da etkilenmektedir (5). Daha çok hayvan deneyleri ve erişkinlerde yapılan çalışmalarda demir eksikliğinden tiroid hormonlarının da etkilendiği bildirilmektedir (6-8).

Çocukların gelişiminde tiroid hormonları da önemli bir rol oynamaktadır. Normal tiroid fonksiyonları, süt çocukluğu ve çocukluk çağında normal somatik gelişme, beyin gelişimi ve büyüme için çok önemlidir. Tiroid hormonları, protein sentezi, su ve iyon transportu, termogenezis gibi olaylarda da rol alır (9). Bununla birlikte tiroid fonksiyonları akut veya kronik hastalıklar, postoperatif dönem, stres, ilaç kullanımları gibi durumlardan etkilenmektedir (6).

DEA olan çocuklarda tiroid hormonlarının nasıl etkilendiğine dair az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda, çocuklarda sık görülen demir eksikliği anemisi ile tiroid hormonları arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Aralık 2011-Eylül 2011 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Polikliniği ve Çocuk Hematoloji Polikliniğine başvuran 6 ay-17 yaş arasındaki toplam 102 çocuk çalışmaya alındı. Prematüre doğum öyküsü, kronik sistemik hastalığı, hematolojik hastalığı ve ilaç kullanım öyküsü olanlar çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmaya alınanlardan tam kan sayımı, serum demiri, demir bağlama kapasitesi, ferritin düzeyleri için kan alındı. Çocuk polikliniği ve çocuk hematoloji polikliniğine başvuran 1 yaş üstü hastalardan, hemoglobin (Hb) ve hematokrit (Hct) değerleri, yaş grubuna göre 2 standart sapma altında olan ve ferritin düzeyi 12 ng/mL altında olanlar demir eksikliği anemisi tanısı ile çalışma grubu olarak tanımlandı (10).

Çocuk polikliniğine genel kontrol amaçlı başvuran, hemogram, ferritin değerleri normal sınırlar içerisinde olan, tiroid fonksiyonlarını etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanım öyküsü, sistemik ve kronik hastalığı olmayan çocuklar kontrol grubu olarak tanımlandı. Demir eksikliği anemisi tanısı alan hastalarda ve kontrol grubunu oluşturan çocuklarda serum serbest T3 (ST3) ve serbest T4 (ST4) ve Tiroid stimulan hormon (TSH) düzeyleri çalışıldı.

Elde edilen veriler SPSS 15.00 programı kullanılarak bilgisayar ortamında değerlendirildi; $p < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sürekli ve kesikli sayısal değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı *Kolmogorov Smirnov* testiyle araştırıldı. Dağılımları normal olan sayısal değerler için (Hb, Htc, TSH, sT4, sT3) tanımlayıcı istatistikler ortalama \pm SD, dağılımları normalden farklı olanlar için (yaş, ferritin) ortanca (en küçük - en büyük) şeklinde verildi. Kategorik değişkenler için tanımlayıcı istatistikler olgu sayısı ve % biçiminde gösterildi.

Gruplar arasında ortanca değerler yönünden farkın önemliliği *Mann Whitney U* testi ile araştırıldı. Ortanca değerler arasındaki korelasyonu değerlendirmek için *Spearman* korelasyon testi uygulandı. Kategorik değişkenler Pearson'un ki-kare veya Fisher'in kesin sonuçlu ki-kare testiyle değerlendirildi.

Çalışma için hastanemiz etik kurulundan 14.12.2011 tarih ve 3703 karar numarası ile onam alındı. Hastaların ailelerinden yazılı onam alındı.

Bulgular

Çalışmaya alınan 102 çocuğun ortanca yaşı 6.5 yaş (6 ay-17 yaş) ve 65'i (%63.7) kız, 37'si (%36.3) erkekti. Yetmiş (%68.6) anemisi olan grup, 32'si (%31.4) kontrol grubunu oluşturmaktaydı. Çalışma grubunun 44'ü (%62.9) kız ve ortanca yaşı 7.5 (6 ay-17 yaş) idi, kontrol grubunun 21'i kız (%65.6) ve ortanca yaşı 6 (6 ay-17 yaş) idi. Her iki grup arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından anlamlı fark yoktu (sırası ile, $p=0.392$, $p=0.828$).

Tam kan sayımı değerleri incelendiğinde çalışma grubunda Hb ortalama değeri 8.8 ± 1.5 g/dL, Hct ortalama değeri 27.9 ± 4.2 , ferritin ortanca değeri 3 (0.5-11.2) ng/mL idi. Kontrol grubunda ise Hb ortalama değeri 13.4 ± 1.1 g/dL, Hct ortalama değeri 39.0 ± 3.4 , ferritin ortanca değeri 27.9 (12.1-60) ng/mL olarak bulundu.

Çalışma ve kontrol grubunun TSH, ST3 ve ST4 düzeyleri normaldi. Çalışma grubunda TSH ortalaması 2.03 ± 0.95 (0.34-4.81) $\mu\text{IU/mL}$, ST4 ortalaması 1.09 ± 0.21 (0.27-1.52) ng/dL, ve ST3 ortalaması 3.25 ± 0.68 (1.19-4.92) pg/dL iken, kontrol grubunda TSH ortalaması 2.15 ± 0.94 (0.95-4.73) $\mu\text{IU/mL}$, ST4 ortalaması 1.14 ± 0.16 (0.84-1.5) ng/dL, ST3 ortalaması 3.45 ± 0.56 (2.47-4.92) pg/dL olarak bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla $p=0.540$, $p=0.255$, $p=0.149$).

Çalışma grubunda Hb ile ST4 arasında pozitif korelasyon saptanırken ($p=0.031$, $r=0.214$), TSH ve ST3 ile Hb arasında ilişki saptanmadı.

Tartışma

Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre anemi, özellikle gebe ve çocuklarda yaygın bir halk sağlığı sorunudur (1,2). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre bir ülkede anemi prevalansı %5 ise sorun yoktur, %5-19 arasında ise hafif, %20-39 arasında ise orta, %40 ise ağır bir halk sağlığı sorunu vardır (11). Nutrisyonel DE ve DEA en sık görülen anemi nedenidir. Ülkemizde DE ve DEA ile ilgili yapılan çalışmalarda anemi sıklığının %14-30 arasında olduğu bildirilmiştir (12). Demir eksikliği ve DEA büyümenin hızlandığı dönemde daha sık görülür. Beslenme biçimi, sosyoekonomik durum, geçirilmiş enfeksiyonlar anemi gelişiminde etkilidir (1,11). Demir vücudumuzda birçok enzimin yapısında ve fonksiyonunda yer aldığı için eksikliği durumunda tüm sistemler etkilenmektedir. DEA, çocukların bilişsel gelişimlerini, zekalarını, büyümelerini olumsuz yönde etkiler. DEA gelişen çocukların tedavi edilseler bile 5-10 yıl sonra zeka katsayılarının anemi gelişmemiş çocuklardan daha düşük olduğu da bilinmektedir (13). Bazı çalışmalarda anemi gelişmeden de DE'nin çocuklarda zeka ve motor gelişim test değerlerini düşürdüğü bildirilmiştir (14,15).

Tiroid hormonları da süt çocuğu ve çocukluk çağında normal somatik gelişim, büyüme, beyin gelişimi ve zihinsel fonksiyonların gelişimi için çok önemlidir. İlk olarak ratlarda yapılan tiroid hormonları ile DEA arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalarda T3 ve T4 değerleri bazı çalışmalarda normal (8,16,17), bazı çalışmalarda düşük bulunmuştur (18,19). Beard ve ark. (8) ratlar üzerinde yaptığı çalışmada TRH uyarı testine TSH ve prolaktin cevaplarının anemik grupta daha zayıf, T3 ve T4 cevabının ise anemik ve kontrol grubu arasında fark olmadığını bildirmişlerdir (8). Tang ve ark. (19) da ratlarda DEA'da periferik $T4 \rightarrow T3$ dönüşümünün yavaşlamasına ek olarak hipofiz dokusunda TSH düzeylerinin azaldığını göstermişlerdir (19).

Yapılan çalışmalarda soğuk çevreye bırakılan deney hayvanlarında serum TRH, TSH ve katekolamin düzeylerinde yükselme, T4 sekresyonunda ve periferik $T4 \rightarrow T3$ dönüşümünde artış gözlenmiştir (16,18). Ancak DEA olan ratlarda bu artışın olmadığı gösterilmiştir (16,17,19). DEA ile tiroid hormonları arasındaki ilişkinin

araştırıldığı insan çalışmaları az sayıdadır. Martinez ve ark. (20) yapmış olduğu çalışmada da DEA olan insanların soğuk su banyosu sırasında normal termoregülasyonu sağlayamadıkları bildirilmiştir. Demirin tiroid hormonların sentezi, sekresyon ve periferik metabolizmaları üzerine etkileri olduğu ileri sürülmüştür (16,17,20). Tiroid hormon sentezinin ilk basamaklarını katalizleyen tiroid peroksidaz enzimi *hem* içermektedir. Tiroid peroksidazın etkinliği için ferriprotoporfirin IX'a bağlı hem proteini gerekmektedir. Bu nedenle DEA'da tiroid hormon sentezinin de etkilendiği ileri sürülmektedir (21). Ancak Tienboon ve ark. (22) yaptıkları çalışmada DEA olan çocuklarda demir tedavisi öncesi ve sonrasında tiroid hormon düzeyleri arasında fark bulamadıklarını bildirmişlerdir.

Ülkemizde DEA ve tiroid hormonları arasındaki ilişkinin araştırıldığı ilk çalışma Gündüz ve ark. (23) tarafından yapılmıştır. DEA olan 21 hasta ve 11 kontrol grubundan oluşan 32 çocuğun (6 ay-15 yaş) dahil edildiği çalışmada DEA olan grubun bazal TT3, TT4 ve TSH düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. DEA olan gruba iki aylık demir tedavisi verilmiş sonrasında bakılan değerlerde TT3 düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ancak TSH ve TT4 düzeylerinde anlamlı fark saptamamışlardır (23).

Gökdeniz ve ark. (6) erişkinlerde yaptıkları çalışmada ise DEA olan hastalarda sekonder ve subklinik hipotiroidi saptadıklarını verilen demir tedavisi ile tiroid hormonlarındaki bu değişikliklerin normale döndüğünü bildirmişlerdir. Yazar ve ark. (7) yine erişkinlerde yaptıkları çalışmada DEA olan grupta ST3 ve ST4'ün kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğunu bildirmişlerdir. İki grup arasında TSH düzeylerinde fark saptanmamıştır. Hastalara verilen demir tedavisinden sonra DEA olan grupta ST3 ve ST4 düzeylerinde anlamlı artış saptanırken, TSH düzeyinde düşme saptanmıştır.

Bu konuda çocuklarda yapılan çalışmalar sınırlıdır. Tienboon ve ark. (22), 9 DEA olan çocuk ve 8 kontrol grubundan oluşan çocuklarda yaptığı çalışmada TSH, ST3, ST4, TT3 ve TT4 düzeylerinde anlamlı fark saptamamıştır. Bu çalışmada üç yaş üstü hastalar çalışmaya alınmamış ve az sayıda olgu ile çalışılmıştır. Bizim çalışmamızda ise geniş bir yaş aralığındaki (6 ay-17 yaş) 70 hasta, 32 kontrol grubu incelendi. Literatürde çalışmamızdakine benzer geniş yaş aralığını kapsayan çalışmaya rastlamadık.

Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında ST3, ST4 ve TSH düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Ancak ST4'ün Hb ile pozitif korelasyonu olduğu saptandı. İpek ve ark. (24) 1-14 yaş arası 90 hasta ve 38 kontrol grubunda yaptıkları çalışmada DEA olan grupta TT3 ve TT4 düzeylerinde anlamlı düşük bulunurken, ST3 ve ST4 arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Başka bir çalışmada da 1-15 yaş grubunda TSH, TT3, TT4, ST3

ve ST4 düzeylerinde anlamlı fark saptanmamıştır (25). Her iki çalışmada da yaş grupları birbirine benzerdir.

Yavuz ve ark. (26) okul çağı çocuklarında yapmış olduğu geniş bir grup çalışmasında (toplam 330) DEA olan ve olmayanlar arasında çalışmamızdakine benzer şekilde ST3, ST4 ve TSH düzeylerini karşılaştırmışlar ve iki grup arasında anlamlı fark saptamamışlardır (Tablo-1). Çalışmaya alınan vaka sayısı bizimkinden fazladır ancak sadece 12-14 yaş arası okul çağı çocuklarında yapılmıştır. Çalışmamızda ise daha geniş bir yaş aralığı çalışmaya dahil edilmiştir.

Tablo-1. Çalışma ve Kontrol Gruplarının Tiroid Hormon Değerleri.

	Hasta	Kontrol	p
TSH	2.03±0.95	2.15±0.94	0.540
ST4	1.09±0.21	1.14±0.16	0.255
ST3	3.25±0.68	3.45±0.56	0.149

Literatürde erişkinlerde yapılan çalışmalarda DEA olan gruplarda hipotiriodiye rastlanabileceği ve bu durumun demir tedavisi ile kendiliğinden düzelebileceği bildirilmektedir (6,7).

Çocuklarda yapılan çalışmalarda ise DEA ve hipotiriodi saptanan demir tedavisi verildikten sonra tekrar tiroid hormonlarına bakılan çalışmaya rastlanmadı. İpek ve ark. (24) yaptığı çalışmada DEA olan grupta TT4 ve TT3 düzeylerinde kontrollere göre anlamlı düşüklük saptanırken, ST3 ve ST4'de anlamlı fark bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda TT3 ve TT4 düzeylerine bakılmamıştı, ST4 ve ST3 düzeylerinde de kontrole göre anlamlı fark bulunmadı. Ancak ST4 ile Hb arasında pozitif korelasyon saptandı. Vücudumuzda biyolojik olarak etkin olan ST4'ün hemoglobin düzeylerindeki değişikliklerden etkilenebileceği düşünüldü. Ancak benzer sonuç alınan başka bir çalışmaya rastlanmadığından karşılaştırma yapılamadı. Ülkemizde DEA halen sık olarak görüldüğü ve bu durumun çocuklarda büyümeyi, zeka gelişimini etkilemesinden dolayı; benzer şekilde tiroid hormonlarının da çocuklarda büyümeyi, bilişsel gelişimi ve zeka gelişimini etkilemesi bakımından DEA ve tiroid hormonları arasındaki ilişkinin aydınlatılması için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Kaynaklar

1. Merovitch J, Sherf M, Antebi F, et al. The incidence of anemia in an Israeli population: A population analysis for anemia in 34 512 Israeli infants aged 9 to 18 months. *Pediatrics* 2006;118(4):1055-60.
2. Schneider JM, Fujii ML, Lamp CL, Lönnnerdal B, Zidenberg-Cherr S. Anemia, iron deficiency and iron deficiency anemia in 1236-month-old children from low-income families. *Am J Clin Nutr* 2005;82(6):1269-75.
3. World McLean E, Cogswell M, Egli I, de Benoist B. Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993-2005. *Public Health Nutr* 2009;12(4):444-54.
4. Iron deficiency anemia: assessment, prevention and control. A guide for programme managers. Geneva, World Health Organization, 2001 (WHO/NHD/01.3). Available from: http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/anaemia_iron_deficiency/WHO_NHD_01.3/en/index.html
5. Prasad AN, Prasad C. Iron deficiency; non-hematological manifestations. *Prog Food Nutr Sci* 1991;15(4):255-83.
6. Gökdeniz E, Demir C, Dilek İ. Demir eksikliği anemisinin tiroid fonksiyonları üzerine etkisi *J Clin Exp Invest* 2010;1(3):156-60.
7. Yazar A, Pata C, Altıntaş E, Kıyıkım AA, Gen R, Polat G. Demir eksikliği anemisi ve demir tedavisinin plazma tiroid hormon düzeylerine etkisi. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi* 2002;65(2):125-8.
8. Beard J, Tobin B, Gren W. Evidence for the thyroid hormone deficiency in iron deficient anemic rats. *J Nutr* 1989;119(9):772-8.
9. Kelnar CJH, Butler GE. The thyroid gland. In: Mc Intosh N, Helms P, Smyth R, (eds). *Forfar and Arneil's Textbook of Pediatrics* 6th edition Elsevier Livingstone, 2003;506-14.
10. Soycan LY. Çocukta anemiye yaklaşım: sınıflama ve ayırıcı tanı. *İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Anemiler sempozyumu İstanbul* 2001;127-35.
11. Andrews NC, Bridges KR. Disorders of iron metabolism. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood Vol I (5th ed). Philadelphia: WB Saunders, 1998:437-42.
12. Kutluay MT, Köksal G, Köksal E. Nutritional status and problems of school age children in Turkey. Hacettepe University, Department of Nutrition and Dietetics, Ankara, Turkey, 2006. Available from: <http://www.gcnf.org/library/country-reports/turkey/2006-Turkey-Nutrition-Status-Problems.pdf>.
13. Lannotti LL, Tielsch JM, Black MM, Black RE. Iron supplementation in early childhood: Health benefits and risks. *Am J Clin Nutr* 2006;84(6):1261-76.
14. Berrak SG, Türkan E, Canbolat C, Kahveci S. Çocuklardaki demir eksikliği tedavisinin düşük gelişim test skorlarına etkisi. *İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası* 2002;65(3):188-96.
15. Ağağlı L, Torun O, Sefil Y, Demir D, Ünüvar E. Demir eksikliği anemisi ve zeka üzerine etkisi. *Çocuk Dergisi* 2004;4(4):241-7.
16. Dillman E, Gale C, Green W, Johnson DG, Mackler B, Finch C. Hypothermia in iron deficiency due to altered triiodothyronine metabolism. *Am J Physiol* 1980;239(5):377-81.
17. Beard J, Tobin B, Smith SM. Effects of iron repletion and correction of anemia on norepinephrine turnover and thyroid metabolism in iron deficiency. *Proc Soc Exp Biol Med* 1990;193(4):306-12.
18. Beard J. Feed efficiency and norepinephrine turnover in iron deficiency. *Proc Soc Exp Biol Med* 1987;184(3):337-44.
19. Tang F, Wong TM, Loh TT. Effects of cold exposure or TRH on the serum TSH levels in the iron deficient rat. *Horm Metab Res* 1988;20(10):616-9.

20. Martinez-Torres C, Cubeddu L, Dillman E, et al. Effect of exposure to low temperature on normal and iron deficient subjects. *Am J Physiol* 1984;246(3):380-3.
21. Zimmermann M, Adou P, Torresani T, Zeder C, Hurrell R. Persistence of goiter despite oral iodine supplementation in goitrous children with iron deficiency anemia in Côte d'Ivoire. *Am J Clin Nutr* 2000;71(1):88-93.
22. Tienboon P, Unachak K. Iron deficiency anemia in childhood and thyroid function. *Asia Pac J Clin Nutr* 2003;12(2):198-202.
23. Gündüz Z, Kumandaş S, Kurtoğlu S, Üzüm K. Demir eksikliği anemisinin tiroid hormonları üzerine etkileri. *Turk J Med Res* 1992;10(4):205-9.
24. İpek İÖ, Kaçmaz E, Bozaykut A, Sezer RG, Seren L, Paketci C. Çocukluk çağında demir eksikliği anemisinin plazma tiroid hormonları üzerine etkisi. *Türk Ped Arş* 2011;46(2):129-32.
25. Demir F, Yükselmiş U, Sarı MY, Korkmaz G, Türkkan E, Adal SE. Demir eksikliği anemisinin tiroid hormonları üzerine etkileri. *Abant Med J* 2013;2(1):1-6.
26. Yavuz O, Yavuz T, Kahraman C, Yeşildal N, Bundak R. The Relationship between iron status and thyroid hormones in adolescents living in iodine deficient area. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2004;17(10):1443-9.

Deneysel diabet modeli oluşturulan farelerde tirozin kinaz inhibitör uygulananın testis dokusu üzerine olan etkilerinin pluripotensi kapasitesi ve hücre adezyonu özelinde araştırılması

The investigation of effects of tyrosine kinase inhibitor on testicular tissue in terms of pluripotent capacity and cell adhesion in experimental diabetic mice

Kaan Özdedeli¹ Hüseyin Aktuğ² Fatih Oltulu² Gülperi Öktem² Altuğ Yavaşoğlu²
Eda Açıkgöz³ Gürkan Yiğittürk² Kenan Demir² Ayşegül Uysal²

¹Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Yüzüncüyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

Öz

Amaç: Tirozin kinaz inhibisyonunun diyabet etkisi altındaki testis dokusu üzerine göstereceği etkileri araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 31 adet CD1 türü erkek fare kullanıldı ve dört gruba ayrıldı: Grup 1'de (kontrol grubu) 7, Grup 2'de tirozin kinaz inhibitörü uygulanan 7, Grup 3'te diyabetik ve SF uygulanan 8, Grup 4'te diyabet + tirozin kinaz inhibitörü uygulanan 9 denek hayvanı yer aldı. Grup 1'de herhangi bir uygulama yapılmadı. Grup 2'deki farelere 3 hafta boyunca tirozin kinaz inhibitörü verildi. Diyabet oluşturulması için 0.1mol/L tek doz streptozotosinin intraperitoneal olarak verildi. 250 mg/dL ve üzeri kan glikoz seviyesi diyabetik olarak kabul edildi. Deneysel diyabet modeli oluşturulan farelere 1 hafta beklendikten sonra, Grup 3'e SF, Grup 4'e 3 hafta boyunca tirozin kinaz inhibitörü verildi. Sonunda tüm denek hayvanları anestezisi altında sakrifiye edilerek histopatolojik inceleme için testis dokuları alındı. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi yapıldı, 0.05'ten küçük p değerleri, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Testis dokusu histopatolojik olarak incelendiğinde deneysel diyabete bağlı olarak seminifer tübülün germ hücre serilerinde kayıp, hücre bütünlüklerinde ise bozulma saptandı.

Sonuç: Bu çalışma, diyabetin testiste germ hücre serilerinde sayısal olarak azalmaya ve hücre adezyon mekanizmasında bozulmaya yol açtığını göstermektedir. Tirozin kinaz inhibitörü uygulamasının, bu hasarlanmada tamir edici etkisinin olduğu düşünülmektedir. Bu hasarın tedavisinin derecesi, uygulanan tirozin kinaz inhibitörünün dozu ve süresine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Ancak, klinik diyabet uygulamalarında tirozin kinaz inhibitörü kullanılabilmesi için bu konuda moleküler çalışma sayılarının artışına ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Tirozin kinaz inhibisyonu, diyabetes mellitus, testis, deneysel çalışma.

Abstract

Aim: The aim of the study is to investigate the effects of tyrosine kinase inhibition on testicular tissue under the effects of diabetes mellitus.

Materials and Methods: Thirty one CD-1 male mice were divided into four groups: Group 1 (control group) consisted 7, Group 2 (tyrosine kinase inhibitor given group) 7, Group 3 (diabetic group treated with SF) 8 and Group 4 (diabetic group treated with tyrosine kinase inhibitor) 9 experimental mice. No application was made to the animals in Group 1. In Group 2, mice were given tyrosine kinase inhibitor for 3 weeks. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of single dose of streptozotocin 0.1mol/L. Mice with 250 mg/dL and higher blood glucose levels were accepted as diabetic. After waiting for 1 week, experimental diabetic mice in Group 3 were treated with SF and those in Group 4 were treated with tyrosine kinase inhibitor for 3 weeks. Then, all the experimental animals were sacrificed and the testicular tissue was removed for histopathological examination. The one-way analysis of variance (ANOVA) is used for statistical analysis, a p value less than 0.05 was considered statistically significant.

Yazışma Adresi: Fatih Oltulu⁶
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Makalenin Geliş Tarihi: 19.01.2016 Kabul Tarihi: 27.07.2016

Results: Histopathologic examination of the testes revealed loss of germ cells series in the seminiferous tubules and deterioration in cellular integrity depending on experimental diabetes.

Conclusion: By the study, it was demonstrated that diabetes lead to a decrease in the number of germ cells in testes and deterioration in cell adhesion mechanism. The administration of tyrosine kinase inhibitor could be considered to have a regenerative effect in this damage. The degree of treatment of this injury varies depending to the dose and time of the tyrosine kinase inhibitors. But, for the use of tyrosine kinase inhibitors in clinical practice of diabetes mellitus, more molecular studies are needed.

Keywords: Tyrosine kinase inhibition, diyabetes mellitus, testis, experimental study.

Giriş

Diyabetes mellitus, kandaki glikoz seviyesinin düşmesi ile karakterize edilmiş bir grup metabolik hastalıktır (1).Yüksek hasta sayısı ve hastalığın sonuçları birçok araştırmacıyı yüksek masraflı birçok tedavi geliştirme sürecine itmiştir. Diyabetin en sık karşılaşılan sonucu reaktif oksijen partiküllerinin (ROS) üretilmesidir (2). ROS, β-hücrelerinin yetmezliğine neden olurken insülin direncinin gelişmesini tetikler (3). Öte taraftan diyabet oksidatif stres yaratmasıyla direk olarak erkek infertilitesini de etkiler. Subfertilite yaygınlık oranı diyabetik hastalarda yüksektir (4). Diyabetin sperm sayısı, kalitesi ve fonksiyonunu negatif bir şekilde değiştirdiği de yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (5). Erkek fertilitasını (örneğin ejakülasyon, spermatogenezde endokrin kontrolü, ereksiyon, semen hacmi, spermatozoa canlılık ve hareketi gibi) birçok seviyede negatif olarak etkiler (6). Temel işlevi erkek üreme hücreleri, spermatozoaları oluşturmak olan testisler, bireye erkeklik özelliklerini kazandıran testesteron üretir (7).

Tirozin kinaz (TK), protein fosforilasyonunu sağlayan protein kinaz ailesine mensup bir enzimdir. Kinazlar yoluyla proteinlerin fosforilasyonu, sinyal iletim mekanizmasında önemli rol oynar. Sinyal iletimi hücrelerin çoğalması ve apoptozisi gibi işlevleri kontrol ettiğinden, burada meydana gelen değişimler kanser gelişiminde ve metastazlarda önemli rol oynar. TK'lar buldukları yere göre 2 gruba ayrılır; membran yerleşimli (reseptör) ve sitoplazmik yerleşimli (non-reseptör). Membranda yerleşenlere reseptör tirozin kinazlar (RTK) denir. Bu reseptörler arasında insülin reseptörü, büyüme faktörleri reseptörleri ve efrin reseptörleri örnek gösterilebilir (8). Bilinen yaklaşık 2000 kinaz arasında, 90'dan fazla TK insan genomunda bulunmaktadır. Bunların hücrel aktivitelere (büyüme, diferensiyasyon, metabolizma, adezyon, motilite, ölüm vs.) önemli rolü vardır. Birçok RTK, gen mutasyonu veya kromozom translokasyonu nedeniyle değişime uğrayarak kanser gelişimde etkin rol oynar. Bu patolojik durum kısaca aşırı-ekspresyon olarak da tanımlanabilir (9).

*Cadherin*ler, büyük bir transmembran ailesini ya da membrana bağlı glikoproteinleri içermektedir ve Ca^{+2} ye bağlı olarak özel hücre-hücre bağlantılarını sağlayıp birçok organın morfogenezinde anahtar molekül olarak

görev alırlar. *Cadherin* ailesi en az beş ana alt aileyi içerir, bunlardan *e-cadherin*, tip I *cadherin* olarak bilinir ve erken tanınması ve karakterizasyonu ile normal ve patolojik durumlarda gözlemlendiği için bütün *cadherin*lerin prototipi olarak düşünülür. Tümör baskılayıcı gen ürünü *e-cadherin*ler ile *cadherin* ve aktin filamentlerini bağlayan alt kaplama proteinleri kateninler epitel hücrelerinin yapışma bölgelerinde yoğunlaşır ve sıkı hücre-hücre bağlantılar oluştururlar. Kanser hücrelerindeki hücrel yapışma sisteminde *e-cadherin*ler birçok mekanizma ile inaktif edilirler ve bu durum hem morfolojik hem de biyolojik olarak tümör karakteristikliğini yansıtır. Yaygın infiltrate kanserlerde, *e-cadherin* ile alfa ve beta katenin genlerinde mutasyonlar bulunur. Kanser invazyonu öncesinde, *e-cadherin* hücre yapışma sistemi onkogen ürünü olan c-erbB-2 proteini tarafından beta katenine direk bağlanarak tirozin fosforilasyonu ile inaktive edilir. *In vivo* ve *in vitro* deney sonuçlarından etkileyici bulgular gösteriyor ki *e-cadherin*/katenin kompleksi invazyon baskılayıcı olarak çalışmaktadır (10).

Temel embriyonik kök hücre transkripsiyon faktörleri SSEA-1 (aşamaya özgü embriyonik antijen 1) kemirgen pluripotent kök hücreler için işaretleyicidir. Bu işaret preimplantasyon embriyodaki hücre yapışması ve hareketinde önemli rol oynar. FUT4 (fukoziltransferaz 4) ve FUT9 tarafından sentezlenir. SSEA-1, yüksek moleküler ağırlıklı (>200 kDa) bir glikoproteindir ve erken fare embriyosunun, fare embriyonel karsinomunun, embriyonik kök hücrelerin ve fare ve insan embriyonik germ hücrelerinin yüzeyinde bulunur. SSEA-1, farklanmamış insan embriyonel karsinomda, embriyonik kök hücrede veya indüklemiş pluripotent kök hücrede; ya da resus maymun embriyonik kök hücre hattında ifadelendirmez. Kemirgen embriyonik kök hücrelerinde farklılaşmaya bağlı olarak ifadelendirme azalmakta, fakat insanlarda farklılaşma sürecinde ifadelendirme artmaktadır. SSEA-1, ayrıca CD15'in ifadelendiği olgun insan granülositinde ve monositinde de bulunur ve yapılan çeşitli çalışmalarda SSEA-1'in hücre yapışması, migrasyon ve hücre farklılaşması olaylarında görev aldığı belirtilmiştir (11).

TK inhibisyonunun diyabet etkisi altındaki testis dokusu üzerine göstereceği etkilerin araştırılması çalışmamızın temel amacını oluşturmaktadır.

Gereç ve Yöntem

Deney Kurgulanması - İn Vivo Uygulamalar

Bu çalışma protokolü Avrupa Birliği'nin deney hayvanları kullanım kurallarına uygundur. Bütün çalışmalar Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından desteklenmiştir.

Çalışmamızda 31 Adet CD1 Türü erkek fare kullanıldı. Fareler, 4 gruba ayrıldı: Grup 1 (kontrol grubu) 7, Grup 2 (TK inhibitörü uygulanan) 7, Grup 3 (diyabet + SF uygulanan) 8, Grup 4 (diyabet + TK inhibitörü uygulanan) 9 denek hayvanı içermektedir.

Grup 1'dekifarelere herhangi bir uygulama yapılmadı. Grup 2'de 3 hafta boyunca tirozin kinaz inhibitörü 0.5 mL; 1.5mg/kg verildi. Deneysel diyabet oluşturulması için 0.1mol/L sodyum sitrat tamponu içerisinde çözülmüş streptozotisin (STZ) 55 mg/kg olacak şekilde tek doz intraperitoneal enjeksiyon yapıldı (12). STZ'nin verilmesinden sonraki 24. ve 48. saatlerde tüm hayvanlarda kuyruk kan damarı glikoz seviyesi ölçüldü. 250 mg/dL ve üzeri kan glikoz seviyesi diyabet olarak kabul edildi. Deneysel diyabet modeli oluşturulan fareler 1 hafta beklendikten sonra, Grup 3'e SF, Grup 4'e TK inhibitörü 3 hafta boyunca 0.5 mL; 1.5mg/kg dozunda verildi. Takiben, tüm fareler yüksek doz anestezi altında sakrifiye edilerek testis dokuları rutin histopatolojik inceleme için çıkarıldı.

İmmünohistokimyasal İnceleme

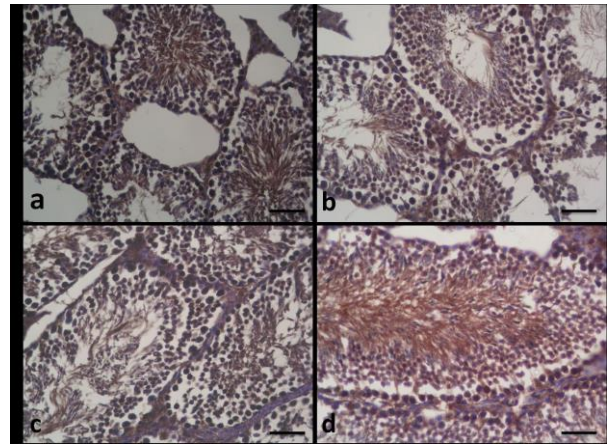
Çıkarılan testisler, %4'lük paraformaldehit içerisinde gece boyunca bekletilerek tespit edildi, sonra dehidrate edildi, parafine gömüldü ve mikrotom (Leica RM 2145) aracılığı ile kesildi. İmmünohistokimyasal analizler için 0.5 µm kalınlığındaki kesitler kullanıldı. Rehidratasyon her biri için 2 dakika süreyle, sıralı %100, %95, %80 ve %70'lik alkol serisi ile yapıldı. Kesitler 5 dakika boyunca distile suda bırakıldıktan sonra, endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük H₂O₂ içerisinde 20 dakika boyunca inkübe edilerek engellendi. Lam üzerindeki bu doku örneklerinin etrafı işaretleyici bir kalem (Dakopen, Glostrup, Denmark) ile çizildi, fosfat tamponlu salin (PBS) içerisinde 10 dakika boyunca yıkandı, daha sonra 37°C'de 50mM Tris tamponu içindeki %2'lik tripsinde 15 dakika bırakıldı ve tekrar PBS ile yıkandı. Spesifik olmayan arka plan boyamaları azaltmak için, lamalar %3'lük bovine serum albümin/1X-Tris tamponlu salin içerisinde 30 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. Primer antikorlar, *e-cadherin* ve SSEA-1 (Abcam), 1/200 oranında seyreltildi ve sonra nemli bir bölme içerisinde 57°C'deki inkübatörde bırakıldı. Kesitler her biri 5 dakikalık sürelerde üç kez PBS ile yıkandı bunu takiben biyotinlenmiş sekonder antikor (*histostain plus peroxidase kit*, Zymed Laboratories Inc., South San Francisco, CA, USA) ile inkübe edildi ve daha sonra streptavidin, PBS içerisindeki *horse radish* peroksidaz ve 3,3-

diaminobenzidin tetraklorid (DAB) ile 30 dakika konjuge edildi. Distile su ile yıkama sonrası, kesitler Mayer's Hematoksilen ile boyandı, dehidre edildi, ksilen ile temizlendi ve entellan ile kapatıldı. Kahverengi bir çökeltinin varlığı primer antikorlar için pozitif bulgu olarak gösterildi. Negatif kontrol örnekleri aynı işlemlere tabi tutuldu, primer antikorlar yerine benzer Ig G'ler kullanıldı. Bütün kesitler Olympus C-5050 dijital kamera ile incelendi ve fotoğrafları çekildi. Yazılım programını (Image-Pro Express, Media-Cybernetics, Inc. Bethesda, MD, USA) çalıştıran bir bilgisayar sistemine bağlı Olympos BX51 mikroskop analizler için kullanıldı. İmmünoreaktivite desenleri iki araştırmacı tarafından bağımsız olarak değerlendirildi. Nükleer immün boyama bütün primer antikorlar için puanlandırdı. Örneklerin grup ayırımından habersiz her iki araştırmacı her bir primer antikor için hayvan başına on farklı kesitten en az beş desen buldu. Preparatlar rastgele bir başlangıç ile sistematik olarak incelendi. 100'lük büyütmedeki örnekleme preparatın en üst sağ köşesinden başladı ve yoğun şekilde immün reaktif hücreler analiz edildi.

Bulgular

Testis dokusu histolojik olarak incelendiğinde deneysel diyabete bağlı olarak seminifer tübülde germ hücre serilerinde kayıp, hücre bütünlüklerinde bozulma saptandı.

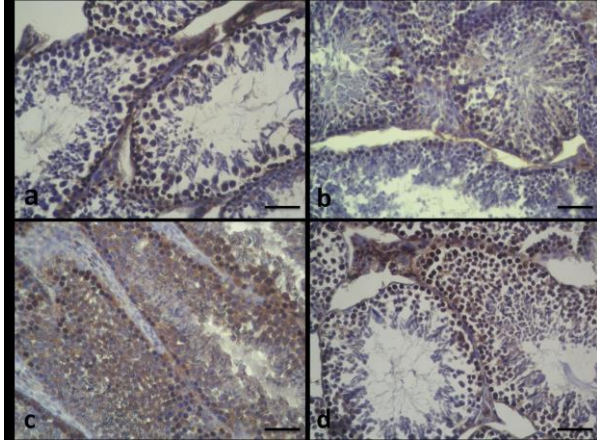
E-cadherin ekspresyonu incelendiğinde, deneysel diyabet grubunda (Şekil-1b) tüm hücre serilerinde *e-cadherin* ekspresyonunda azalma saptandı, diyabet grubuna uygulanan TK inhibitörü (Şekil-1c) tedavisi bu ekspresyonu arttırmayı başarmasına karşın ekspresyon düzeyleri kontrol grubu (Şekil-1a) ve kontrol+TK inhibitörü (Şekil-1d) grubu düzeylerine ulaşamamış olarak bulundu.



Şekil-1.e-cadherin a. Grup 1, kontrol grubu, b. Grup 3, diyabet+SF grubu, c. Grup 4, diyabet+TK inhibitörü grubu, d. Grup 2, TK inhibitörü grubu.

SSEA-1 ekspresyonu incelendiğinde, deneysel diyabet grubunda (Şekil-2b) SSEA-1 ekspresyonunda azalma

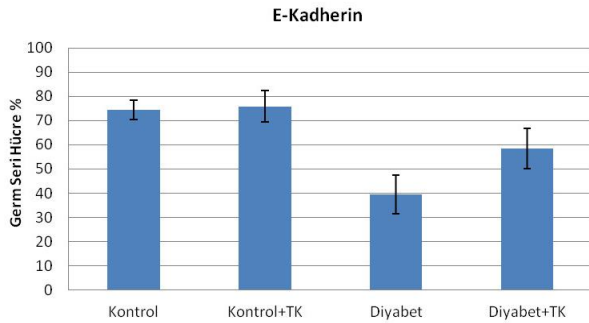
saptandı, diyabet grubuna uygulanan TK inhibitörü (Şekil-2c) tedavisinin bu ekspresyonu oldukça fazla düzeyde arttırdığı izlendi. Kontrol grubu (Şekil-2a) ve kontrol+TK inhibitörü (Şekil-2d) grubu SSEA-1 ekspresyonu düzeyleri diyabet grubundan fazla, diyabet+TK inhibitörü uygulanan gruptan daha az olarak bulundu.



Şekil-2. SSEA-1 a. Grup 1, kontrol grubu, b. Grup 3 diyabet+SF grubu, c. Grup 4, diyabet+TK inhibitörü grubu, d. Grup 2, TK inhibitörü grubu.

İstatistiksel Analiz

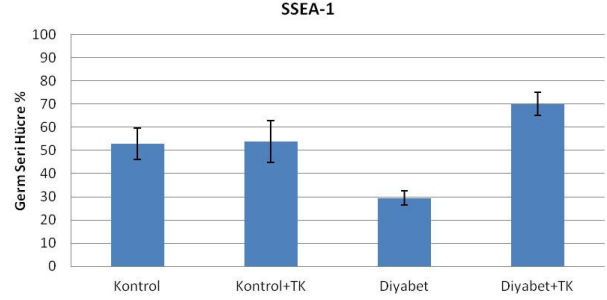
Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi sonuçlarına göre *e-cadherin* ve SSEA-1 immünohistokimyasal boyaması yapılan her bir gruptan randomize seçilmiş 10 testis örneğinden, seminifer tübül içerisindeki pozitif boyanan germ hücreleri analiz edildi. *E-cadherin* için diyabet grubu ile diyabet+TK, kontrol ve TK grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$) (Şekil-3). SSEA-1 için de diyabet grubu ile diyabet+TK, kontrol ve kontrol+TK grupları arasındaki fark ile, kontrol ve TK grupları ile diyabet+TK grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu her ikisi için de $p<0.001$) (Şekil-4). Kontrol ve TK grupları arasında ise her iki boyama için istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).



Şekil-3. E- cadherin istatistiksel analizi.

Tartışma

Çalışmamızda bir tirozin kinaz inhibitörü olan sunitinib kullanımına bağlı deneysel diyabet modelinde testis dokusu üzerine olan değişikliklerin, hücre adezyonu ve pluripotensi kapasitesi açısından incelenmesi amaç edinilmiştir.



Şekil-4. SSEA-1 istatistiksel analizi

Bir TK inhibitörü olan sunitinib, hücrel sinyali, çoklu RTK yollarını hedefleyerek durdurur. Bunlar tümör anjiyogenez ve tümör proliferasyonunda rol alan tüm paletlerden türetilmiş büyüme faktörleri, *platelet-derived growth factor* (PDGF-Rs) ve vasküler endotel büyüme faktör reseptörlerini, *vascular endothelial growth factor receptors* (VEGFRs) kapsamaktadır. Sunitinib, ayrıca, RTK olan CD-117'yi (c-KIT) inhibe eder ki, CD-117 uygun olmayan mutasyon ile aktive edildiğinde gastrointestinal stromal hücre tümörlerini aktive eder (13). Öte taraftan sunitinib böbrek kanseri için ilk basamak tedavidir. Sunitinib'in, diğer TK inhibitörleriyle birlikte tip 2 diyabette ve yeni başlangıçlı tip 1 diyabette kan şekerini düşürdüğü bildirilmiştir (14). Sunitinib kullanımıyla insülin gereksinimlerinde azalma ile diyabet kontrolünde iyileşme saptanmıştır. Ancak, glikoz seviyelerini düşürme açısından sunitinib etki mekanizması üzerine fikir birliği yoktur (15).

Yaptığımız bu çalışmada, bir TK inhibitörü olan sunitinib'in diyabet hastalarında, hücre adezyon molekülleri özelinde, *e-cadherin* ve hücre pluripotensi ile farklılaşması özelinde SSEA-1 üzerinden nasıl bir etki mekanizması oluşturacağı araştırılmıştır. Elde edilen veriler sonucunda diyabet gruplarında *e-cadherin* ekspresyonunun, kontrol gruplarına oranla daha az olduğu saptanmıştır. Diyabetin testiste, hem germ hücrelerinin kendi aralarında hem de destek hücreleri ile aralarında olan hücre adezyon davranışlarında hasarlanmaya yol açtığı düşünülmektedir. Diyabet grubuna tedavi amaçlı sunitinib uygulanması, istatistiksel anlamlı olmayan düzeyde *e-cadherin* ekspresyonunun artışına yol açmaktadır.

Öte yandan, SSEA-1 ekspresyonu diyabet grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı oranda düşük bulunmuş, bu gruba sunitinib uygulanması kontrol grubundan da daha yüksek bir SSEA-1 ekspresyonuna yol açmıştır. SSEA-1'in ekspresyonunun artışı, hücre farklılaşma sürecinde özellikle diyabetli grupta sunitinib uygulamasının, pluripotensi kapasitesini indüklediği ve diyabetli grupta tedavi sürecine katkı sağladığı düşünülmektedir.

Sonuç

Diyabetin testiste germ hücre serilerinde sayısal olarak azalmaya ve hücre adezyon mekanizmasında bozulmaya yol açtığı ve sunitinib uygulanmasının bu hasarlanmada tamir edici rol oynadığı düşünülmektedir. Oluşan hasarın tedavisinin başarısı, sunitinib dozu ve süresine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Gelecekte bu konuda yapılacak moleküler çalışmalar, sonuna ışık tutabilecektir.

Kaynaklar

1. Lin Y, Sun Z. Current views on type 2 diabetes. *J Endocrin* 2010;204(1):1-11.
2. Harrison D, Griendling KK, Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2003;91(3A):7A-11A.
3. Stephens JW, Khanolkar MP, Bain SC. The biological relevance and measurement of plasma markers of oxidative stress in diabetes and cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2009;202(2):321-9.
4. La Vignera S, Calogero AE, Condorelli R, Lanzafame F, Giammusso B, Vicari E. Andrological characterization of the patient with diabetes mellitus. *Minerva Endocrinol* 2009;34(1):1-9.
5. Mallidis C, Agbaje I, McClure N, Kliesch S. The influence of diabetes mellitus on male reproductive function: A poorly investigated aspect of male infertility. *Urologe* 2011;50(1):33-7.
6. Petroianu A, Alberti LR, Antonio M, deMelo B, de Almeida LM. Relation between diabetes mellitus and male fertility. *Einstein* 2009;7(4):407-10.
7. Young B, Heath JW. *Wheater's Functional Histology*, 4th edition, Churchill Livingstone; London: 2000.
8. Doğan AL, Güç D. Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2004;35(1):34-42.
9. Bhise SB, Nalawade AD, Wadhawa H. Role of protein tyrosine kinase inhibitors in cancer therapeutics. *Indian J Biochem Biophys* 2004;41(6):273-80.
10. Hulpiau P, vanRoy F. Molecular evolution of the cadherin superfamily. *Int J Biochem Cell Biol* 2009;41(2):349-69.
11. Nakayama F, Nishihara S, Iwasaki H, et al. CD15 expression in mature granulocytes is determined by alpha 1,3-fucosyltransferase IX, but in promyelocytes and monocytes by alpha 1,3-fucosyltransferase IV. *J Biol Chem* 2001;276(19):16100-6.
12. Gomez R, Barros HM. Ethopharmacology of the antidepressant effect of clonazepam in diabetic rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2000;66(2):329-35.
13. Hartmann JT, Kanz L. Sunitinib and periodic hair depigmentation due to temporary c-KIT inhibition. *Arch Dermatol* 2008;144(11):1525-6.
14. Quek R, George S. Gastrointestinal stromal tumor: A clinical overview. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;23(1):69-78.
15. Tyrrell HE, Pwint T. Sunitinib and improved diabetes control. *BMJ Case Rep* 2014;24:2014.

Deneysel diabet modeli oluşturulan farelerde tirozin kinaz inhibitör uygulananın testis dokusu üzerine olan etkilerinin pluripotensi kapasitesi ve hücre adezyonu özelinde araştırılması

The investigation of effects of tyrosine kinase inhibitor on testicular tissue in terms of pluripotent capacity and cell adhesion in experimental diabetic mice

Kaan Özdedeli¹ Hüseyin Aktuğ² Fatih Oltulu² Gülperi Öktem² Altuğ Yavaşoğlu²
Eda Açıkgöz³ Gürkan Yiğittürk² Kenan Demir² Ayşegül Uysal²

¹Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Yüzüncüyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

Öz

Amaç: Tirozin kinaz inhibisyonunun diyabet etkisi altındaki testis dokusu üzerine göstereceği etkileri araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 31 adet CD1 türü erkek fare kullanıldı ve dört gruba ayrıldı: Grup 1'de (kontrol grubu) 7, Grup 2'de tirozin kinaz inhibitörü uygulanan 7, Grup 3'te diyabetik ve SF uygulanan 8, Grup 4'te diyabet + tirozin kinaz inhibitörü uygulanan 9 denek hayvanı yer aldı. Grup 1'de herhangi bir uygulama yapılmadı. Grup 2'deki farelere 3 hafta boyunca tirozin kinaz inhibitörü verildi. Diyabet oluşturulması için 0.1mol/L tek doz streptozotosinin intraperitoneal olarak verildi. 250 mg/dL ve üzeri kan glikoz seviyesi diyabetik olarak kabul edildi. Deneysel diyabet modeli oluşturulan farelere 1 hafta beklendikten sonra, Grup 3'e SF, Grup 4'e 3 hafta boyunca tirozin kinaz inhibitörü verildi. Sonunda tüm denek hayvanları anestezisi altında sakrifiye edilerek histopatolojik inceleme için testis dokuları alındı. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi yapıldı, 0.05'ten küçük p değerleri, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Testis dokusu histopatolojik olarak incelendiğinde deneysel diyabete bağlı olarak seminifer tübülün germ hücre serilerinde kayıp, hücre bütünlüklerinde ise bozulma saptandı.

Sonuç: Bu çalışma, diyabetin testiste germ hücre serilerinde sayısal olarak azalmaya ve hücre adezyon mekanizmasında bozulmaya yol açtığını göstermektedir. Tirozin kinaz inhibitörü uygulamasının, bu hasarlanmada tamir edici etkisinin olduğu düşünülmektedir. Bu hasarın tedavisinin derecesi, uygulanan tirozin kinaz inhibitörünün dozu ve süresine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Ancak, klinik diyabet uygulamalarında tirozin kinaz inhibitörü kullanılabilmesi için bu konuda moleküler çalışma sayılarının artışına ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Tirozin kinaz inhibisyonu, diyabetes mellitus, testis, deneysel çalışma.

Abstract

Aim: The aim of the study is to investigate the effects of tyrosine kinase inhibition on testicular tissue under the effects of diabetes mellitus.

Materials and Methods: Thirty one CD-1 male mice were divided into four groups: Group 1 (control group) consisted 7, Group 2 (tyrosine kinase inhibitor given group) 7, Group 3 (diabetic group treated with SF) 8 and Group 4 (diabetic group treated with tyrosine kinase inhibitor) 9 experimental mice. No application was made to the animals in Group 1. In Group 2, mice were given tyrosine kinase inhibitor for 3 weeks. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of single dose of streptozotocin 0.1mol/L. Mice with 250 mg/dL and higher blood glucose levels were accepted as diabetic. After waiting for 1 week, experimental diabetic mice in Group 3 were treated with SF and those in Group 4 were treated with tyrosine kinase inhibitor for 3 weeks. Then, all the experimental animals were sacrificed and the testicular tissue was removed for histopathological examination. The one-way analysis of variance (ANOVA) is used for statistical analysis, a p value less than 0.05 was considered statistically significant.

Yazışma Adresi: Fatih Oltulu⁶
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Makalenin Geliş Tarihi: 19.01.2016 Kabul Tarihi: 27.07.2016

Results: Histopathologic examination of the testes revealed loss of germ cells series in the seminiferous tubules and deterioration in cellular integrity depending on experimental diabetes.

Conclusion: By the study, it was demonstrated that diabetes lead to a decrease in the number of germ cells in testes and deterioration in cell adhesion mechanism. The administration of tyrosine kinase inhibitor could be considered to have a regenerative effect in this damage. The degree of treatment of this injury varies depending to the dose and time of the tyrosine kinase inhibitors. But, for the use of tyrosine kinase inhibitors in clinical practice of diabetes mellitus, more molecular studies are needed.

Keywords: Tyrosine kinase inhibition, diyabetes mellitus, testis, experimental study.

Giriş

Diyabetes mellitus, kandaki glikoz seviyesinin düşmesi ile karakterize edilmiş bir grup metabolik hastalıktır (1).Yüksek hasta sayısı ve hastalığın sonuçları birçok araştırmacıyı yüksek masraflı birçok tedavi geliştirme sürecine itmiştir. Diyabetin en sık karşılaşılan sonucu reaktif oksijen partiküllerinin (ROS) üretilmesidir (2). ROS, β -hücrelerinin yetmezliğine neden olurken insülin direncinin gelişmesini tetikler (3). Öte taraftan diyabet oksidatif stres yaratmasıyla direk olarak erkek infertilitesini de etkiler. Subfertilite yaygınlık oranı diyabetik hastalarda yüksektir (4). Diyabetin sperm sayısı, kalitesi ve fonksiyonunu negatif bir şekilde değiştirdiği de yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (5). Erkek fertilitasını (örneğin ejakülasyon, spermatogenezde endokrin kontrolü, ereksiyon, semen hacmi, spermatozoa canlılık ve hareketi gibi) birçok seviyede negatif olarak etkiler (6). Temel işlevi erkek üreme hücreleri, spermatozoaları oluşturmak olan testisler, bireye erkeklik özelliklerini kazandıran testesteron üretir (7).

Tirozin kinaz (TK), protein fosforilasyonunu sağlayan protein kinaz ailesine mensup bir enzimdir. Kinazlar yoluyla proteinlerin fosforilasyonu, sinyal iletim mekanizmasında önemli rol oynar. Sinyal iletimi hücrelerin çoğalması ve apoptozisi gibi işlevleri kontrol ettiğinden, burada meydana gelen değişimler kanser gelişiminde ve metastazlarda önemli rol oynar. TK'lar buldukları yere göre 2 gruba ayrılır; membran yerleşimli (reseptör) ve sitoplazmik yerleşimli (non-reseptör). Membranda yerleşenlere reseptör tirozin kinazlar (RTK) denir. Bu reseptörler arasında insülin reseptörü, büyüme faktörleri reseptörleri ve efrin reseptörleri örnek gösterilebilir (8). Bilinen yaklaşık 2000 kinaz arasında, 90'dan fazla TK insan genomunda bulunmaktadır. Bunların hücresel aktivitelerde (büyüme, diferensiyasyon, metabolizma, adezyon, motilite, ölüm vs.) önemli rolü vardır. Birçok RTK, gen mutasyonu veya kromozom translokasyonu nedeniyle değişime uğrayarak kanser gelişimde etkin rol oynar. Bu patolojik durum kısaca aşırı-ekspresyon olarak da tanımlanabilir (9).

*Cadherin*ler, büyük bir transmembran ailesini ya da membrana bağlı glikoproteinleri içermektedir ve Ca^{+2} ye bağlı olarak özel hücre-hücre bağlantılarını sağlayıp birçok organın morfogenezinde anahtar molekül olarak

görev alırlar. *Cadherin* ailesi en az beş ana alt aileyi içerir, bunlardan *e-cadherin*, tip I *cadherin* olarak bilinir ve erken tanınması ve karakterizasyonu ile normal ve patolojik durumlarda gözlemlendiği için bütün *cadherin*lerin prototipi olarak düşünülür. Tümör baskılayıcı gen ürünü *e-cadherin*ler ile *cadherin* ve aktin filamentlerini bağlayan alt kaplama proteinleri kateninler epitel hücrelerinin yapışma bölgelerinde yoğunlaşır ve sıkı hücre-hücre bağlantılar oluştururlar. Kanser hücrelerindeki hücresel yapışma sisteminde *e-cadherin*ler birçok mekanizma ile inaktif edilirler ve bu durum hem morfolojik hem de biyolojik olarak tümör karakteristikliğini yansıtır. Yaygın infiltrate kanserlerde, *e-cadherin* ile alfa ve beta katenin genlerinde mutasyonlar bulunur. Kanser invazyonu öncesinde, *e-cadherin* hücre yapışma sistemi onkogen ürünü olan c-erbB-2 proteini tarafından beta katenine direk bağlanarak tirozin fosforilasyonu ile inaktive edilir. *In vivo* ve *in vitro* deney sonuçlarından etkileyici bulgular gösteriyor ki *e-cadherin*/katenin kompleksi invazyon baskılayıcı olarak çalışmaktadır (10).

Temel embriyonik kök hücre transkripsiyon faktörleri SSEA-1 (aşamaya özgü embriyonik antijen 1) kemirgen pluripotent kök hücreler için işaretleyicidir. Bu işaret preimplantasyon embriyodaki hücre yapışması ve hareketinde önemli rol oynar. FUT4 (fukoziltransferaz 4) ve FUT9 tarafından sentezlenir. SSEA-1, yüksek moleküler ağırlıklı (>200 kDa) bir glikoproteindir ve erken fare embriyosunun, fare embriyonel karsinomunun, embriyonik kök hücrelerin ve fare ve insan embriyonik germ hücrelerinin yüzeyinde bulunur. SSEA-1, farklanmamış insan embriyonel karsinomda, embriyonik kök hücrede veya indüklemiş pluripotent kök hücrede; ya da resus maymun embriyonik kök hücre hattında ifadelendir. Kemirgen embriyonik kök hücrelerinde farklılaşmaya bağlı olarak ifadelendirme azalmakta, fakat insanlarda farklılaşma sürecinde ifadelendirme artmaktadır. SSEA-1, ayrıca CD15'in ifadelendiği olgun insan granülositinde ve monositinde de bulunur ve yapılan çeşitli çalışmalarda SSEA-1'in hücre yapışması, migrasyon ve hücre farklılaşması olaylarında görev aldığı belirtilmiştir (11).

TK inhibisyonunun diyabet etkisi altındaki testis dokusu üzerine göstereceği etkilerin araştırılması çalışmamızın temel amacını oluşturmaktadır.

Gereç ve Yöntem

Deney Kurgulanması - İn Vivo Uygulamalar

Bu çalışma protokolü Avrupa Birliği'nin deney hayvanları kullanım kurallarına uygundur. Bütün çalışmalar Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından desteklenmiştir.

Çalışmamızda 31 Adet CD1 Türü erkek fare kullanıldı. Fareler, 4 gruba ayrıldı: Grup 1 (kontrol grubu) 7, Grup 2 (TK inhibitörü uygulanan) 7, Grup 3 (diyabet + SF uygulanan) 8, Grup 4 (diyabet + TK inhibitörü uygulanan) 9 denek hayvanı içermektedir.

Grup 1'dekifarelere herhangi bir uygulama yapılmadı. Grup 2'de 3 hafta boyunca tirozin kinaz inhibitörü 0.5 mL; 1.5mg/kg verildi. Deneysel diyabet oluşturulması için 0.1mol/L sodyum sitrat tamponu içerisinde çözülmüş streptozotisin (STZ) 55 mg/kg olacak şekilde tek doz intraperitoneal enjeksiyon yapıldı (12). STZ'nin verilmesinden sonraki 24. ve 48. saatlerde tüm hayvanlarda kuyruk kan damarı glikoz seviyesi ölçüldü. 250 mg/dL ve üzeri kan glikoz seviyesi diyabet olarak kabul edildi. Deneysel diyabet modeli oluşturulan fareler 1 hafta beklendikten sonra, Grup 3'e SF, Grup 4'e TK inhibitörü 3 hafta boyunca 0.5 mL; 1.5mg/kg dozunda verildi. Takiben, tüm fareler yüksek doz anestezi altında sakrifiye edilerek testis dokuları rutin histopatolojik inceleme için çıkarıldı.

İmmünohistokimyasal İnceleme

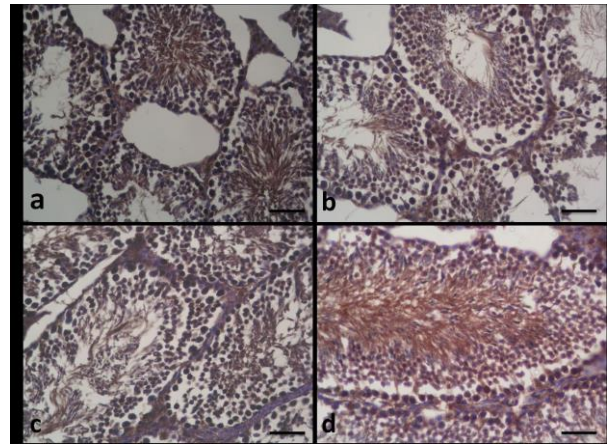
Çıkarılan testisler, %4'lük paraformaldehit içerisinde gece boyunca bekletilerek tespit edildi, sonra dehidrate edildi, parafine gömüldü ve mikrotom (Leica RM 2145) aracılığı ile kesildi. İmmünohistokimyasal analizler için 0.5 µm kalınlığındaki kesitler kullanıldı. Rehidratasyon her biri için 2 dakika süreyle, sıralı %100, %95, %80 ve %70'lik alkol serisi ile yapıldı. Kesitler 5 dakika boyunca distile suda bırakıldıktan sonra, endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük H₂O₂ içerisinde 20 dakika boyunca inkübe edilerek engellendi. Lam üzerindeki bu doku örneklerinin etrafı işaretleyici bir kalem (Dakopen, Glostrup, Denmark) ile çizildi, fosfat tamponlu salin (PBS) içerisinde 10 dakika boyunca yıkandı, daha sonra 37°C'de 50mM Tris tamponu içindeki %2'lik tripsinde 15 dakika bırakıldı ve tekrar PBS ile yıkandı. Spesifik olmayan arka plan boyamaları azaltmak için, lamalar %3'lük bovine serum albümin/1X-Tris tamponlu salin içerisinde 30 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. Primer antikorlar, *e-cadherin* ve SSEA-1 (Abcam), 1/200 oranında seyreltildi ve sonra nemli bir bölme içerisinde 57°C'deki inkübatörde bırakıldı. Kesitler her biri 5 dakikalık sürelerde üç kez PBS ile yıkandı bunu takiben biyotinlenmiş sekonder antikor (*histostain plus peroxidase kit*, Zymed Laboratories Inc., South San Francisco, CA, USA) ile inkübe edildi ve daha sonra streptavidin, PBS içerisindeki *horse radish* peroksidaz ve 3,3-

diaminobenzidin tetraklorid (DAB) ile 30 dakika konjuge edildi. Distile su ile yıkama sonrası, kesitler Mayer's Hematoksilen ile boyandı, dehidre edildi, ksilen ile temizlendi ve entellan ile kapatıldı. Kahverengi bir çökeltinin varlığı primer antikorlar için pozitif bulgu olarak gösterildi. Negatif kontrol örnekleri aynı işlemlere tabi tutuldu, primer antikorlar yerine benzer Ig G'ler kullanıldı. Bütün kesitler Olympus C-5050 dijital kamera ile incelendi ve fotoğrafları çekildi. Yazılım programını (Image-Pro Express, Media-Cybernetics, Inc. Bethesda, MD, USA) çalıştıran bir bilgisayar sistemine bağlı Olympos BX51 mikroskop analizler için kullanıldı. İmmünoreaktivite desenleri iki araştırmacı tarafından bağımsız olarak değerlendirildi. Nükleer immün boyama bütün primer antikorlar için puanlandırıldı. Örneklerin grup ayırımından habersiz her iki araştırmacı her bir primer antikor için hayvan başına on farklı kesitten en az beş desen buldu. Preparatlar rastgele bir başlangıç ile sistematik olarak incelendi. 100'lük büyütmedeki örnekleme preparatın en üst sağ köşesinden başladı ve yoğun şekilde immün reaktif hücreler analiz edildi.

Bulgular

Testis dokusu histolojik olarak incelendiğinde deneysel diyabete bağlı olarak seminifer tübülde germ hücre serilerinde kayıp, hücre bütünlüklerinde bozulma saptandı.

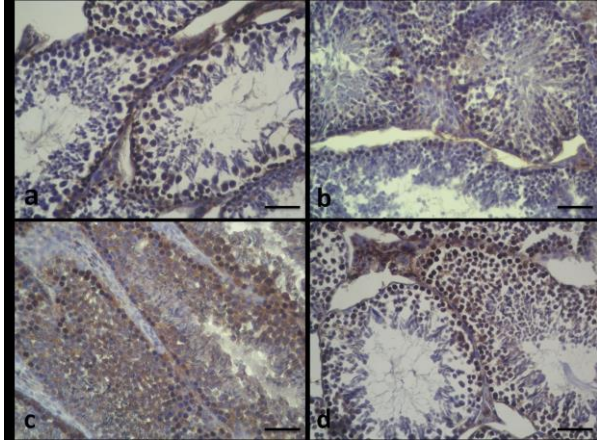
E-cadherin ekspresyonu incelendiğinde, deneysel diyabet grubunda (Şekil-1b) tüm hücre serilerinde *e-cadherin* ekspresyonunda azalma saptandı, diyabet grubuna uygulanan TK inhibitörü (Şekil-1c) tedavisi bu ekspresyonu arttırmayı başarmasına karşın ekspresyon düzeyleri kontrol grubu (Şekil-1a) ve kontrol+TK inhibitörü (Şekil-1d) grubu düzeylerine ulaşamamış olarak bulundu.



Şekil-1.e-cadherin a. Grup 1, kontrol grubu, b. Grup 3, diyabet+SF grubu, c. Grup 4, diyabet+TK inhibitörü grubu, d. Grup 2, TK inhibitörü grubu.

SSEA-1 ekspresyonu incelendiğinde, deneysel diyabet grubunda (Şekil-2b) SSEA-1 ekspresyonunda azalma

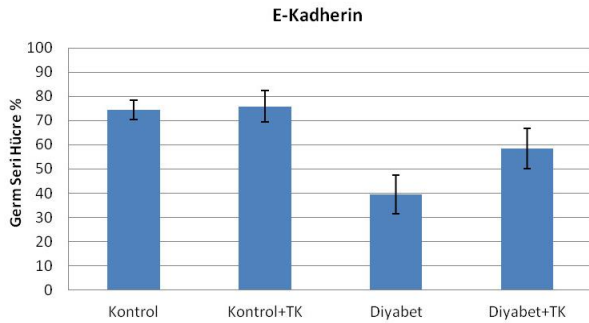
saptandı, diyabet grubuna uygulanan TK inhibitörü (Şekil-2c) tedavisinin bu ekspresyonu oldukça fazla düzeyde arttırdığı izlendi. Kontrol grubu (Şekil-2a) ve kontrol+TK inhibitörü (Şekil-2d) grubu SSEA-1 ekspresyonu düzeyleri diyabet grubundan fazla, diyabet+TK inhibitörü uygulanan gruptan daha az olarak bulundu.



Şekil-2. SSEA-1 a. Grup 1, kontrol grubu, b. Grup 3 diyabet+SF grubu, c. Grup 4, diyabet+TK inhibitörü grubu, d. Grup 2, TK inhibitörü grubu.

İstatistiksel Analiz

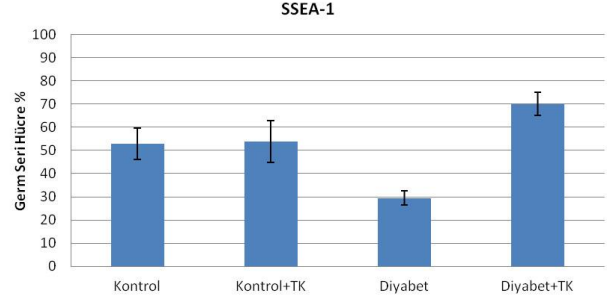
Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi sonuçlarına göre *e-cadherin* ve SSEA-1 immünohistokimyasal boyaması yapılan her bir gruptan randomize seçilmiş 10 testis örneğinden, seminifer tübül içerisindeki pozitif boyanan germ hücreleri analiz edildi. *E-cadherin* için diyabet grubu ile diyabet+TK, kontrol ve TK grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$) (Şekil-3). SSEA-1 için de diyabet grubu ile diyabet+TK, kontrol ve kontrol+TK grupları arasındaki fark ile, kontrol ve TK grupları ile diyabet+TK grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu her ikisi için de $p<0.001$) (Şekil-4). Kontrol ve TK grupları arasında ise her iki boyama için istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).



Şekil-3. E- cadherin istatistiksel analizi.

Tartışma

Çalışmamızda bir tirozin kinaz inhibitörü olan sunitinib kullanımına bağlı deneysel diyabet modelinde testis dokusu üzerine olan değişikliklerin, hücre adezyonu ve pluripotensi kapasitesi açısından incelenmesi amaç edinilmiştir.



Şekil-4. SSEA-1 istatistiksel analizi

Bir TK inhibitörü olan sunitinib, hücrel sinyali, çoklu RTK yollarını hedefleyerek durdurur. Bunlar tümör anjiyogenez ve tümör proliferasyonunda rol alan tüm paletlerden türetilmiş büyüme faktörleri, *platelet-derived growth factor* (PDGF-Rs) ve vasküler endotel büyüme faktör reseptörlerini, *vascular endothelial growth factor receptors* (VEGFRs) kapsamaktadır. Sunitinib, ayrıca, RTK olan CD-117'yi (c-KIT) inhibe eder ki, CD-117 uygun olmayan mutasyon ile aktive edildiğinde gastrointestinal stromal hücre tümörlerini aktive eder (13). Öte taraftan sunitinib böbrek kanseri için ilk basamak tedavidir. Sunitinib'in, diğer TK inhibitörleriyle birlikte tip 2 diyabette ve yeni başlangıçlı tip 1 diyabette kan şekerini düşürdüğü bildirilmiştir (14). Sunitinib kullanımıyla insülin gereksinimlerinde azalma ile diyabet kontrolünde iyileşme saptanmıştır. Ancak, glikoz seviyelerini düşürme açısından sunitinib etki mekanizması üzerine fikir birliği yoktur (15).

Yaptığımız bu çalışmada, bir TK inhibitörü olan sunitinib'in diyabet hastalarında, hücre adezyon molekülleri özelinde, *e-cadherin* ve hücre pluripotensi ile farklılaşması özelinde SSEA-1 üzerinden nasıl bir etki mekanizması oluşturacağı araştırılmıştır. Elde edilen veriler sonucunda diyabet gruplarında *e-cadherin* ekspresyonunun, kontrol gruplarına oranla daha az olduğu saptanmıştır. Diyabetin testiste, hem germ hücrelerinin kendi aralarında hem de destek hücreleri ile aralarında olan hücre adezyon davranışlarında hasarlanmaya yol açtığı düşünülmektedir. Diyabet grubuna tedavi amaçlı sunitinib uygulanması, istatistiksel anlamlı olmayan düzeyde *e-cadherin* ekspresyonunun artışına yol açmaktadır.

Öte yandan, SSEA-1 ekspresyonu diyabet grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı oranda düşük bulunmuş, bu gruba sunitinib uygulanması kontrol grubundan da daha yüksek bir SSEA-1 ekspresyonuna yol açmıştır. SSEA-1'in ekspresyonunun artışı, hücre farklılaşma sürecinde özellikle diyabetli grupta sunitinib uygulamasının, pluripotensi kapasitesini indüklediği ve diyabetli grupta tedavi sürecine katkı sağladığı düşünülmektedir.

Sonuç

Diyabetin testiste germ hücre serilerinde sayısal olarak azalmaya ve hücre adezyon mekanizmasında bozulmaya yol açtığı ve sunitinib uygulanmasının bu hasarlanmada tamir edici rol oynadığı düşünülmektedir. Oluşan hasarın tedavisinin başarısı, sunitinib dozu ve süresine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Gelecekte bu konuda yapılacak moleküler çalışmalar, sonuna ışık tutabilecektir.

Kaynaklar

1. Lin Y, Sun Z. Current views on type 2 diabetes. *J Endocrinol* 2010;204(1):1-11.
2. Harrison D, Griendling KK, Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2003;91(3A):7A-11A.
3. Stephens JW, Khanolkar MP, Bain SC. The biological relevance and measurement of plasma markers of oxidative stress in diabetes and cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2009;202(2):321-9.
4. La Vignera S, Calogero AE, Condorelli R, Lanzafame F, Giammusso B, Vicari E. Andrological characterization of the patient with diabetes mellitus. *Minerva Endocrinol* 2009;34(1):1-9.
5. Mallidis C, Agbaje I, McClure N, Kliesch S. The influence of diabetes mellitus on male reproductive function: A poorly investigated aspect of male infertility. *Urologe* 2011;50(1):33-7.
6. Petroianu A, Alberti LR, Antonio M, deMelo B, de Almeida LM. Relation between diabetes mellitus and male fertility. *Einstein* 2009;7(4):407-10.
7. Young B, Heath JW. *Wheater's Functional Histology*, 4th edition, Churchill Livingstone; London: 2000.
8. Doğan AL, Güç D. Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2004;35(1):34-42.
9. Bhise SB, Nalawade AD, Wadhawa H. Role of protein tyrosine kinase inhibitors in cancer therapeutics. *Indian J Biochem Biophys* 2004;41(6):273-80.
10. Hulpiau P, vanRoy F. Molecular evolution of the cadherin superfamily. *Int J Biochem Cell Biol* 2009;41(2):349-69.
11. Nakayama F, Nishihara S, Iwasaki H, et al. CD15 expression in mature granulocytes is determined by alpha 1,3-fucosyltransferase IX, but in promyelocytes and monocytes by alpha 1,3-fucosyltransferase IV. *J Biol Chem* 2001;276(19):16100-6.
12. Gomez R, Barros HM. Ethopharmacology of the antidepressant effect of clonazepam in diabetic rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2000;66(2):329-35.
13. Hartmann JT, Kanz L. Sunitinib and periodic hair depigmentation due to temporary c-KIT inhibition. *Arch Dermatol* 2008;144(11):1525-6.
14. Quek R, George S. Gastrointestinal stromal tumor: A clinical overview. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;23(1):69-78.
15. Tyrrell HE, Pwint T. Sunitinib and improved diabetes control. *BMJ Case Rep* 2014;24:2014.

Bariatrik cerrahi ile ilgili ilk sonuçlarımız

Our initial results related to bariatric surgery

Turgut Anuk¹ Neşet Köksal¹ Fatih Avşar¹ Tülay Diken Allahverdi¹ Barlas Sülü¹ Hülya Çakmur²

¹Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

²Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aile hekimliği Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

Öz

Amaç: Obezite ile mücadelede diyet egzersiz ve çeşitli medikal tedaviler denenmiş ancak başarı sağlanamaması üzerine etkin bir tedavi yöntemi geliştirmek üzere pek çok araştırma yapılmıştır. Bu retrospektif çalışmada, bariatrik cerrahi uygulanan hastalardaki ilk sonuçlarımızı irdeledik.

Gereç ve Yöntem: Haziran 2012 - Haziran 2015 tarihleri arasında endokrinolojik ve psikolojik açıdan değerlendirilmiş, daha önceki tıbbi tedavi yöntemleri başarısız olmuş 20 morbid obez hasta çalışmaya alındı. Hastalar; yaş, cinsiyet, ek hastalıklar, ameliyat öncesi ve sonrası vücut kitle indeksleri (VKİ), ameliyat komplikasyonları, ameliyat sonrası kilo kaybı miktarları ve önceden mevcut olan ek hastalıklar üzerine etkisi araştırıldı. Tüm veriler istatistiksel olarak analiz edildi, $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Hastaların ortalama yaşı 35.5 (19-54) olup kadın erkek oranı 4/1 idi. Ameliyat öncesi VKİ ortalaması 48.4 ± 5.2 kg/m² idi. Hastaların 17'sine primer 3'üne gastrik band sonrası yeniden kilo alma nedeni ile redo cerrahi uygulandı. On sekiz hastaya laparoskopik sleeve gastrektomi (LSG), 2 hastaya Roux-en-Y gastrik bypass (RYGB) yapıldı. Ameliyat sonrası 1 aylık dönemde bir hastada derin ven trombozu bir hastada yara yeri enfeksiyonu gözlemlendi. Redo RYGB uygulanan bir hasta postoperatif 6. ayda kaybedildi. Ortalama izlem süresi 18 (6-36) ay idi. Ameliyat sonrası VKİ ortalaması 33.6 ± 2.8 kg/m², ortalama kilo kaybı 42.2 (20.2-66.3) kg idi. VKİ'lerinin ameliyat öncesi ve sonrası ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi ($p < 0.001$). Preoperatif mevcut olan ek hastalıklarda ameliyattan sonra belirgin derecede düzelme görüldü.

Sonuç: Bariatrik cerrahi, doğru hasta seçimi ve deneyimli merkezlerde yapılması durumunda, obezite tedavisinde etkin ve güvenilir bir yöntemdir.

Anahtar Sözcükler: Bariatrik cerrahi, obezite, sleeve gastrektomi.

Abstract

Aim: Diet, exercise and various medical treatments had been tried in struggling with obesity, but since most of them did not reach a satisfactory success, many researches have been made in order to develop an effective method for the treatment. In this retrospective study, we report the initial outcomes of bariatric surgery in obese patients.

Materials and Methods: Between June 2012 and June 2015, 20 morbid obese patients whose previous treatment modalities failed were evaluated endocrinologically and psychologically and underwent bariatric surgery. Age and gender of the patients, comorbidities, body mass indices (BMI) before and after operation, complications, the amount of weight loss after surgical intervention and its effect on existing comorbidities were investigated. All data were analysed statistically and a value of $p < 0.05$ was considered as statistically significant.

Results: The mean age of the patients was 35.5 (19-54) with a 4/1 female/male ratio. Preoperative BMI was 48.4 ± 5.2 kg/m². Primary surgery was performed on 17 patients and redo surgery was performed on 3 patients after gastric band ligation because of regaining weight. Eighteen patients underwent laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) and two patients underwent Roux-en-Y gastric bypass (RYGB). In the postoperative one-month period, deep venous thrombosis developed in one patient and wound infection in one patient. One patient who underwent redo RYGB died in the postoperative 6th month. Mean follow-up period was 18 (6-36) months. Postoperative mean BMI and mean weight loss was 33.6 ± 2.8 kg/m² and 42.2 (20.2-66.3) kg respectively. The difference between preoperative and postoperative mean BMI values was statistically significant ($p < 0.001$). After operation, marked improvement was noted in patients having associated diseases preoperatively.

Conclusion: Bariatric surgery is an efficient and reliable treatment method in obesity therapy with proper patient selection in experienced centers.

Keywords: Bariatric surgery, obesity, sleeve gastrectomy.

Yazışma Adresi: Turgut Anuk
Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı,
Kars, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 11.06.2016 Kabul Tarihi: 09.08.2016

Giriş

Obezite, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde en önemli sağlık sorunları arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Günümüzde obeziteye bağlı kronik hastalıklar (kanser, kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabet, vb.), fiziksel bozukluklar ve psikolojik problemler daha sık görülmektedir. Yaygınlaşan obezitenin tedavisi için yapılan harcamalar da her geçen gün artmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre bugün yaklaşık 1.7 milyar erişkin aşırı kilolu (VKİ >25 kg/m²) ve bunların yaklaşık %30'u obezdir (VKİ>30 kg/m²) (1). OECD verilerine göre ise yakın gelecekte her üç kişiden ikisi aşırı kilolu veya obez olacaktır. Her yıl yaklaşık 2.8 milyon kişinin obezite veya aşırı kilo sonucu öldüğü göz önüne alındığında durumun ne kadar tehlikeli olduğunu ortaya çıkmaktadır.

Bütün olumsuzluklarına rağmen obezitenin önlenabilir veya tedavi edilebilir olduğu savunulmaktadır. Bu amaçla diyet, egzersiz ve medikal tedavi gibi birçok tedavi protokolleri uygulanmaktadır. Ancak bu yöntemlerin uygulanmasından kısa süre sonra kaybedilen kiloların tekrar alındığı gözlenmiştir.

Bu yöntemlerde beklenen başarı sağlanamaması üzerine 20. Yüzyılın ortalarından itibaren bariatrik cerrahi yöntemleri alternatif bir tedavi olarak uygulanmaya başlanmıştır. Cerrahi yöntemler; kısıtlayıcı, emilim bozucu ve kombine işlemlerden oluşmaktadır. Kısa dönem sonuçlarına göre, kilo kaybının cerrahi dışı yöntemlere göre daha hızlı olması nedeniyle bu yöntemler günümüzde tüm dünyada artan sayıda kullanılmaktadır.

Bu çalışmada kliniğimizde laparoskopik sleeve gastrektomi (LSG) ve Roux-en-Y gastrik bypass (RYGB) bariatrik cerrahi uyguladığımız hastalardaki erken dönem sonuçlarımızı irdeledik.

Gereç ve Yöntem

Haziran 2012 – Haziran 2015 tarihleri arasında Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda morbid obez tanısıyla opere edilen hastaların dosya kayıtları, etik kurul onayı alındıktan sonra retrospektif olarak tarandı. Obezitede cerrahi için çok sayıda kriterler olmasına rağmen biz çalışmamızda *American Society of Bariatric Obesity-Surgery* kriterlerini baz aldık (Tablo-1) (1). Tüm hastalar ameliyat öncesi kardiyoloji, psikiyatri, göğüs hastalıkları ve anestezi bölümleri ile konsülte edildi. Özofagus, mide ve duodenumu değerlendirmek için üst endoskopik inceleme uygulandı. Batın ultrasonografisi çekildi. Endokrinolog tarafından konsülte edilen ve hormonal hastalık tespit edilmeyen hastalar için operasyon kararı alındı. Ameliyat öncesi bilgilendirme yapılarak tüm hastalardan bilgilendirilmiş yazılı onam alındı.

Tablo-1. *American Society of Bariatric Surgery-Obesity* Kriterleri (1).

- Vücut kitle indeksinin 40 kg/m²'nin üstünde olması veya 30-40 arasında olup eşlik eden hastalık bulunması (hipertansiyon, diyabet, uyku apne sendromu, diz eklemlerinde artritik dejenerasyon)
- 18-65 yaş arasında olması
- Obezitenin en az 3 yıldır devam etmesi
- Hormonal hastalık bulunmaması
- Alkol ve ilaç bağımlılığı olmaması
- Hastanın uygulanacak yöntemi anlaması ve ameliyattan sonra uyum sağlayabilecek durumda olması
- Ameliyat riskinin kabul edilebilir düzeyde olması

Ameliyat öncesi tüm hastalara 1x0.6 IU, postoperatif ise 7 gün 2x0.6 IU düşük molekül ağırlıklı heparin subkutan uygulandı. Ayrıca hastalar mobilize oluncaya kadar bilateral dizüstü varis çorabı giydirildi. Preoperatif amprik ve postoperatif geniş spektrumlu sefalosporin grubu antibiyotik verildi. Hastaların operasyon süreleri ortalama 2.2 saat (2.0-6.5) olup peroperatif komplikasyon görülmedi. Çıkarılan tüm piyesler değerlendirilmek üzere patolojiye gönderildi. Hastaların ortalama yatış süreleri 3.5 gün olup hiçbir hastamızda peroperatif mortalite görülmedi.

Operasyon öncesi VKİ ve ağırlık değerleri kaydedildi. Operasyon sonrası hastalar hastanemiz bünyesinde Aile Hekimliği Anabilim Dalı tarafından kurulan obezite polikliniğine yönlendirildi ve beslenme eğitimi ve uygun diyet programı almaları sağlandı. Ayrıca hastaların operasyon sonrası 1. ay, 3. ay, 6. ay ağırlık, VKİ değişimleri ve fazla kilo kaybı yüzde değerleri (%FKK) kaydedildi.

Çalışmada, primer/*redo* cerrahinin hastalardaki etkisi, operasyon öncesi ve sonrası kilo kaybı ve VKİ'deki değişiklikler ile ek hastalıklardaki durum karşılaştırılarak değerlendirildi (Tablo-2).

Tablo-2. Hastaların Demografik Özellikleri.

Özellikler	Ortalama Değerler
Yaş (yıl)	31.5 (19-54)
Cinsiyet (K/E)	4/1
Primer cerrahi / <i>Redo</i> cerrahi	17/3
Sleeve gastrektomi / Roux-N-Y Gastrik bypass	9
VKİ (kg/m ²)	48.4±5.2

İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS for Windows 22 (Chicago, IL, USA) paket programında yapıldı. Sürekli değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı Kolmogorov-Smirnov testiyle araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama±standart sapma veya ortanca (minimum-maksimum) olarak kategorik değiş-

kenler ise olgu sayısı ve (%) şeklinde gösterildi. Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği *Student's t* testi ile ortanca değerler yönünden farkın önemliliği *Mann Whitney U* testi ile incelendi. Kategorik değişkenler Pearson'un Ki-Kare testiyle değerlendirildi. $p < 0.05$ değeri, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya preoperatif incelemeleri tamamlanmış 20 hasta dahil edildi. Hastaların ortalama yaşı 35.5 (19-54) olup kadın/erkek oranı 4/1 idi. Ameliyat öncesi VKİ ortalaması 48.4 ± 5.2 kg/m² saptandı. Ek hastalık olarak 5 hastada hipertansiyon, 1 hastada infertilite ve 4 hastada da tip 2 diyabet mevcuttu. Hastaların 17'sine primer, 3'üne gastrik band sonrası yeniden kilo alma nedeni ile *redo* cerrahi uygulandı. On sekiz hastaya LSG, 2 hastaya RYGB yapıldı. Hastaların ortalama izlem süresi 18 ay (6-36) idi. Ameliyat sonrası 1 aylık dönemde 1 hastada derin ven trombozu, 1 hastada yara yeri enfeksiyonu gözlemlendi. *Redo* RYGB uygulanan 56 yaşındaki kadın hasta postoperatif 6. ayda kaybedildi. Hastaların ameliyat sonrası VKİ ortalaması 33.6 ± 2.8 kg/m², ortalama kilo kaybı değeri 42.2 kg (20.2-66.3), kilo kaybı oranı için ortalama değer 29.9 (16-44) idi. VKİ'lerinin ameliyat öncesi ve sonrası ortalama değerleri arasında anlamlı fark gözlemlendi ($p < 0.001$). Preoperatif dönemde mevcut olan ek hastalıklarında gerileme gözlemlendi.

Tartışma

Obezite, tüm dünyada ve ülkemizde sıklıkla görülen temel sağlık sorunlarından biridir. Sosyo-ekonomik düzeyi yüksek toplumlarda teknolojinin ilerlemesi ile beraber fiziksel aktivite yetersizliği ve beslenme alışkanlıklarının değişmesi (dengesiz ya da aşırı beslenme) obezitenin en önemli çevresel nedenlerini oluşturmaktadır. Sosyo-ekonomik düzeyi düşük toplumlarda ise, özellikle uygun gıda bulma olanaklarının kısıtlı olması, kişilerin tek yönlü beslenmesine neden olarak obezite insidansında artışa yol açmaktadır. Erkek ve kadınlarda yaşın ilerlemesi ile birlikte obezite sıklığında artış görülmektedir. Yaş ilerledikçe bazal metabolizma hızı yavaşlamakta, enerji tüketimi azalmaktadır. Bu durumda enerji alımı azaltılmaz ise yaş ile beraber vücut ağırlığı da artmaktadır (3,4).

Obezite cerrahisinin ana hedefi obez hastalarda istenilen vücut ağırlığını elde etmektir. Gelişen teknolojinin tıpta kullanımının artması ve devam eden araştırmalar, morbid obezite cerrahi tedavisinde yeni yöntemler ortaya çıkmasına katkı sağlamıştır. LSG günümüzde en sık uygulanan bariatrik cerrahi teknik olup mide hacminin azaltıldığı bir girişim olduğu için kısıtlayıcı bir işlemdir (5,6). RYGB, hem gıda alımını kısıtlayıcı hem de absorpsiyon azaltıcı özelliği olan bir ameliyat şeklidir. LSG'nin teknik olarak RYGB'ye oranla çok daha rahat olması ve ayarlanabilir gastrik bant uygulanmasındaki

yabancı cismin komplikasyonlarının olmaması gibi avantajlarının yanı sıra, sadece kilo kaybını sağlamayıp, metabolik iyileşmeye de katkı sağlaması daha fazla tercih edilen yöntem olmasını sağlamıştır (7).

Günümüzde ise bu yöntemler laparoskopik ve hatta robotik cerrahi ile yapılabilmektedir. Açık cerrahiye göre daha az ağrı, hasta konforunun yüksek olması, daha kısa sürede mobilizasyon, yara yeri enfeksiyonu ve insizyonel herni komplikasyonlarının az olması nedeniyle tercih edilmektedir (8). Bariatrik cerrahi, obezite için etkili bir tedavi ve istikrarlı uzun vadeli sonuçları ile etkili olduğu kanıtlanmıştır. Son yıllarda, LSG kilo kaybı, komorbidite ve postoperatif komplikasyonlar çözümlenmesi konusunda olumlu sonuçlar nedeniyle cerrahlar arasında genel kabul gören güvenilir bir bariatrik prosedürdür (9). LSG tekniğinin cerrahlar arasında popüleritesi her geçen gün artmakta ve teknik olarak uygulanabilirliği kolay olması nedeniyle gelecek vaat etmektedir. Cerrahın eğitim süresi kısadır ve daha kolay uygulanabilir bir prosedürdür. Fakat uzun dönem sonuçları henüz rapor edilmemiştir. Son yıllarda, hastaların memnuniyetinin artması ile güvenilir bir hal almıştır (10). Çalışmamızdaki hastaların %90'ına LSG tekniği başarı ile uygulanmıştır. LSG tekniği uyguladığımız hastalarımızdan birine daha önce laparoskopik ayarlanabilir gastrik *banding* uygulandığı ve bandın mide içine migrasyonu gözlemlendi. LSG'yi RYGB ile karşılaştırdığımızda; LSG'de üst gastrointestinal sistem endoskopisi yapılabilir. Oral alınan ilaçlarda absorpsiyon değişikliği olmaz, anastomoz yoktur, pilor korunduğundan *dumping* sendromu görülmez. LSG'de doğal gastrointestinal bütünlük korunur, malabsorpsiyon yoktur. Gereğinde diğer bariatrik cerrahi prosedürlere dönüştürülebilir.

LSG'nin en önemli ve korkulan komplikasyonu kaçak (%2) olup sıklıkla *his* açısına yakın kısımda görülür. Son *stapler* hattının özofagusu yakın konulması, *incisura angularis* stenozu ve tübüler midenin bükülmesi kaçak nedenleri arasında sayılabilir. Bu komplikasyonu önlemeye yönelik birçok yöntem denenmiş ancak komplikasyon olasılığını ortadan kaldıracak bir teknik tanımlanamamıştır. Dikiş hattının ayrışması mekanik ve iskemik sebeplerden dolayı meydana gelir. Mekanik sebeplerden oluşan kaçaklar ilk 2 gün içinde oluşurken iskemi kaynaklı ayrışmalar inflamatuvar ve fibrotik yanıtın en yoğun olduğu 5-7.günler arasında olur (11). Olgularımızda bu komplikasyona rastlanmadı.

Çalışmamızda, preoperatif dönemde mevcut olan ek hastalıklar arasında bulunan 5 hastadaki hipertansiyon, 1 hastadaki infertilite, 4 hastadaki diyabette ameliyat sonrası gerileme gözlemlendi. İnfertil olan obez hasta postoperatif 1 yılında hamileliği takiben sağlıklı bebek dünyaya getirdi. Regüle olmayan diyabeti olan obez hastalarda postoperatif dönemde kan glukoz regülasyonu sağlandı.

Daha önce Laparoskopik ayarlanabilir gastrik banding uygulanan 56 yaşında bir kadın hastamızda izlem süresince yeterli kilo kaybı olmaması üzerine *redo* cerrahi olarak RYGB uygulandı ve şifa ile hastaneden çıkarıldı ancak postoperatif 6.ayda obeziteye bağlı nedenlerden kaybedildi.

Sonuç

Morbid obezite tanısıyla opere edilen hastalarımızın, ameliyat öncesi ve sonrası VKİ'lerinin ortalama değerleri

arasında anlamlı fark ve komorbiditelerde iyileşme açısından olumlu sonuçlar gözlemlendi. Daha anlamlı sonuçlar için uzun süreli takiplere ve daha çok sayıda hasta ile yapılan çalışmalara ihtiyaç vardır. Sonuç olarak, bariatrik cerrahi, doğru hasta seçimi ve tecrübeli merkezlerde yapılması halinde, sonuçları itibarıyla günümüzde obezite ve metabolik cerrahi tedavisinde etkin ve güvenilir bir uygulamadır.

Kaynaklar

1. ASMBS Professional Resource Center. Available from: <https://asmbs.org/resource-categories/guidelines-recommendations>.
2. Deitel M. Overweight and obesity worldwide now estimated to involve 1.7 billion people. *Obes Surg* 2003;13(3):329-30.
3. Baysal A, Aksoy M, Bozkurt N ve ark. *Diyet El Kitabı*. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi: 2011.
4. Kırım S. Obez hastalarda diyet, egzersiz ve ilaç tedavisinin homosistein düzeylerine etkisi. (Yandal Uzmanlık Tezi). Adana: Çukurova Üniversitesi; 2005.
5. Lazzati A, Guy-Lachuer R, Delaunay V, et al. Bariatric surgery trends in France: 2005-2011. *Surg Obes Relat Dis* 2014;10(2):328-34.
6. Reames BN, Finks JF, Bacal D, et al. Changes in bariatric surgery procedure use in Michigan, 2006-2013. *JAMA* 2014;312(9):959-61.
7. Rogula T, Khorgami Z, Bazan M, et al. Comparison of reinforcement techniques using suture on staple-line in sleeve gastrectomy. *Obes Surg* 2015;25(11):2219-24.
8. Atila K. Morbid obezitenin cerrahi tedavisi. *Arc Clin Toxicol* 2014;1(1):23-7.
9. Breathauer SA, Hammel JP, Schauer PR. Systematic review of sleeve gastrectomy as staging and primary bariatric procedure. *Surg Obes Relat Dis* 2009;5(4):469-75.
10. D'hondt M, Vanneste S, Pottel HN, Devriendt D, Van Rooy F, Vansteenkiste F. Laparoscopic sleeve gastrectomy as a single-stage procedure for the treatment of morbid obesity and the resulting quality of life, resolution of comorbidities, food tolerance, and 6-year weight loss. *Surg Endosc* 2011;25(8): 2498-504.
11. Baker RS, Foote J, Kemmeter P, et al. The science of stapling and leaks. *Obes Surg* 2004;14(10):1360-6

Çocukluk çağı miyastenia gravis**Myasthenia gravis at childhood**İhsan Çakır Osman Bulut Ocak Aslı İnal Ebru Demet Aygıt Birsen Gökyiğit
Gamze Öztürk KarabulutProf.Dr. N. Reşat Belger Beyoğlu Göz Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği,
İstanbul, Türkiye**Öz**

Jüvenil miyastenia gravis (JMG) çocukları etkileyen en yaygın miyastenik hastalıktır. JMG nöromusküler kavşak proteinlerini hedef alan bir grup otoimmün antikor kaynaklı hastalığı içerir. Hastalığın klinik belirtisi dinlenmekle azalan istemli kaslarda yorgunluk ve güçsüzlüktür. Ptozis, oftalmopleji ve bunlara eşlik eden diplopi hastalığın ilk belirtisi olabilmektedir. Bu yazıda, dış merkezlerde strabismus sebebiyle operasyon önerilen bir JMG olgusu sunulmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Jüvenil miyastenia gravis, ptozis, strabismus, oftalmopleji.

Abstract

Juvenile myasthenia gravis (JMG) is the most common myasthenic disorder affecting children. JMG includes a group of autoimmune antibody-mediated disorders targeting neuromuscular junction proteins. The clinical hallmark of the disease is fluctuating and fatigable skeletal muscle weakness, which improves with rest. Ocular symptoms could be the first signs of the disease as ptosis, ophthalmoplegia, and/or diplopia. In this study we present a JMG patient who was planned to be operated for strabismus before referring to our clinic.

Keywords: Juvenile myasthenia gravis, ptosis, strabismus, ophthalmoplegia.

Giriş

Miyastenia gravis (MG), nöromusküler bileşkenin antikorlar tarafından hasarlandığı kompleks bir hastalıktır. Bu hastalıkta klinik olarak vücudun istemli kasları özellikle göz, ağız, göğüs ve ekstremitelerde etkilenir (1). Çocukluk çağında ortaya çıkan MG, jüvenil miyastenia gravis (JMG) olarak adlandırılır ve tüm MG hastalarının yaklaşık %10'unu oluşturur (2). JMG tanısı almış hastalarda, başlangıç semptomlarının sıklıkla ekstraoküler kas tutulumuna bağlı olarak ptozis, diplopi ve strabismus olduğu bildirilmektedir (3). Bu makalede strabismus sebebiyle başvurdukları dış merkezlerde cerrahi müdahale önerilmesi üzerine hastanemizin şaşılık birimine başvuran ve tarafımızca pediatrik nöroloji bilim dalına yönlendirilerek JMG tanısı konulan olgunun sunumu amaçlanmıştır.

Olgu Sunumu

Ailesi tarafından 2014 yılında kliniğimize getirilen 8 yaşındaki kız olgunun geliş şikayetleri az görme ve sol gözde içe kayma idi.

Hastanın öyküsünde 4 yaşından beri farklı kliniklerde düzensiz bir şekilde takip edildiği, görme azlığı için kapama tedavisi verildiği ve şaşılık için operasyon önerildiği öğrenildi. Öz ve soy geçmişinde bir özellik bulunmadı. Yapılan oftalmolojik muayenesinde, en iyi düzeltilmiş görme keskinlikleri sağ gözde (-4.25 -1.00 α 145) tashihle 0.5, sol gözde (-2.00 -1.50 α 160) tashihle 0.1 idi. Ön segment ve arka segment muayeneleri doğal bulundu. Şaşılık muayenesinde örtme açma testi ile alterne olmayan sol ezotropeya (ET) görüldü. Yapılan prizma kapama testi (PKT) ile yakında 18 prizma diyoptrisi (PD) ET, uzakta 18 PD ET bulundu. Göz hareketlerinde her iki göz dışı bakışta hafif kısıtlılık saptandı. Yapılan sikloplejinli refraksiyon muayenesinde; sağ göz (-3,75 -0.75 α 144), sol göz (-1,50 -2,25 α 154) bulundu. Stereopsis 400 saniye/ark (sn/ark) olarak saptandı (Şekil-1a). Olgunun muayenesi sırasında ailesi, olgunun göz kayması şikayetinin özellikle yatarken belirgin biçimde arttığını ve sabah kaymasının kalmadığını belirtti. Bunun üzerine olgunun ailesinden aydınlatılmış onam alınarak JMG ön tanısı ile pediatrik nöroloji bilim dalından konsültasyon istendi ve en iyi gördüğü tashihli gözlük verilerek sağ göze 2 saat/gün kapama başlandı. Olguya pediatrik nöroloji tarafından tekrarlayan sinir uyarımı ve orbikularis okülü kasında tek

Yazışma Adresi: Osman Bulut Ocak

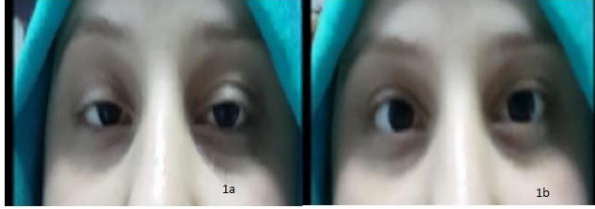
Prof.Dr. N. Reşat Belger Beyoğlu Göz Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, İstanbul, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 09.03.2016 Kabul Tarihi: 26.05.2016

lif elektromiyelografi (EMG) ve antikolinergik tedaviye olumlu yanıt alınması ile JMG tanısı kondu ve pridostigmin 60 mg tablet 3x1 başlandı.

Medikal tedavi ve kapama tedavisi sonrası 3. ayında hastanın en iyi düzeltilmiş görme keskinlikleri sağ gözde 0.7, sol gözde 0.6 olarak saptandı. PKT ile yakında 8 PD ET, uzakta 6 PD ET saptanan hastada göz hareketleri her yöne serbest idi (Şekil-1b).

Hastanın yasal vasisinden tıbbi verilerinin yayınlanabileceğine ilişkin yazılı onam belgesi alındı.



Şekil-1. a.Başvuru sırasında saptanan 18 PD sağ ezotropya
b. 3 aylık medikal tedavi sonrası görünüm

Tartışma

MG nöromusküler bileşkenin bir hastalığıdır. Genellikle ikinci ve üçüncü dekatta başlamakta olup çocuklarda daha nadir görülmektedir (1). Bebeklik ve çocukluk çağında geçici neonatal, konjenital ve JMG olarak 3 formda görülebilen çocukluk çağı MG'de en sık görülen form JMG'dir (2,4). Literatürde, Kim ve ark. (5) semptomların başlangıç yaşını ortalama 38 ay olarak bulmuşlardır. Mullaney ve ark. (6) ise semptomların ortalama başlangıç yaşını 78 ay olarak belirtmişlerdir. Olgumuzun tahmini başlangıç yaşı 50 aydır.

Kaynaklar

1. Sarnat HB. Disorders of neuromuscular transmission and of motor neurons. In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton FB (eds). Nelson Textbook of Pediatrics. 18th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007:2554-2559.
2. Değerliyurt A, Şenbil N, Anlar B. Jüvenil (otoimmün) miyasteni: Klinik özellikler ve tedavi sonuçları. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2005;48(1):25-29.
3. Evoli A, Batocchi AP, Bartocconi E, Lino MM, Minisci C, Tonali P. Juvenile myasthenia gravis with prepubertal onset. Neuromuscular Disorders 1998;8(8):561-7.
4. Saltık S, Ergüven M, Turgut T, Demirbilek V, Özümzütoprak N, Doğu A. Çocukluk çağında miyastenia gravis. Türk Pediatri Arşivi 2004;39:135-8.
5. Kim JH, Hwang JM, Hwang YS, Kim KJ, Chae J. Childhood ocular myasthenia gravis. Ophthalmology 2003;110(7):1458-62.
6. Mullaney P, Vajsar J, Smith R, Buncic JR. The natural history and ophthalmic involvement in childhood myasthenia gravis at the hospital for sick children. Ophthalmology 2000;107(3):504-10.
7. Batocchi AP, Evoli A, Palmisani MT, Lo Monaco M, Bartocconi M, Tonali P. Early onset myasthenia gravis: Clinical characteristics and response to therapy. Eur J Pediatr 1990;150(1):66-8.
8. Ellenhorn N, Lucchese N, Greenwald M. Juvenile myasthenia gravis and amblyopia. Am J Ophthalmol 1986;101(2):214-7.
9. Tanrısever Ö, Sarıoğlu B, Kanık A, Arslan CN, Baydan F. Farklı bir klinik başlangıç gösteren miyastenia gravis olgusu. Tepecik Eğitim Hast Derg 2014;24(1):59-62.
10. Yılmaz Ü, Yiş U. Jüvenil miyastenia gravis: Üç olgu sunumu ve literatürün gözden geçirilmesi. J Clin Anal Med 2015;6(4):473-8.

JMG'de sistemik tutulum oranı %3-%35 arasında olup, %47 oranında sadece ekstraoküler kaslar tutulmaktadır (3,7). JMG'de ilk bulgular ise genellikle ekstraoküler bulgular olup, buna bağlı olarak hastaların çoğu ilk olarak göz kliniklerine başvurumaktadırlar (5,6). JMG olgularında konkomitan ve inkomitan strabismus ve göz hareketlerinde kısıtlılık görülebilmektedir (5,6). Olgumuzda da hastanın geliş şikayeti gözlerde kaymaydı ve göz hareketlerinde kısıtlılık bulunmaktaydı. JMG'de ptosis ve strabismusa sekonder olarak ambliyopi gelişebilir (5,8). Ellenhorn ve ark. (8) 26 ve 36 aylık iki hastada yaptıkları çalışmada JMG'den kaynaklanan ptosis ve strabismusa sekonder ambliyopi tespit etmişlerdir. Kim ve ark. (5) olguların % 21'inde ambliyopi saptamışlardır. Olgumuzda ambliyopi tespit edilmiş ve tedavisine başlanmıştır. Tanıda, EMG'de tekrarlayıcı uyarımda %10'u geçen dekrement yanıtı ya da tek lif EMG'de uzamış jitter şeklinde elektrofizyolojik anormalliğin bulunması, antikolinergik ilaçlara klinik yanıt alınması, serolojik testlerde asetilkolin reseptör antikollarının pozitifliğinin gösterilmesinden faydalanılır (9). Olgumuzda da EMG bulguları ve antikolinergik tedaviye olumlu yanıt alınması ile tanı konmuştur. Tedavide oral antikolinesteraz, kortikosteroidler ve bazen azatioprin, siklosporin gibi immünsüpresifler kullanılmaktadır (7,10). Olgumuzda antikolinesteraz tedavisi sonrası semptomlar gerilemiş veya kaybolmuştur.

Sonuç olarak JMG olgularının bir kısmı ilk olarak göz kliniklerine başvurumaktadır. Hastanın şikayetlerinin gün içerisinde değişiklik göstermesi ve kontrol muayenelerinde bulgulardaki farklılıkların göze çarpması durumunda JMG akılda bulundurulmalıdır.

Long term follow-up in a patient with homozygous familial hypercholesterolemia: LDL-apheresis and problems experienced in treatment

Homozigot ailevi hiperkolesterolemi olgusunda uzun dönem izlem: LDL aferezi ve tedavide yaşanan sorunlar

Levent Can¹ Meral Kayıkçıoğlu¹ Selen Bayraktar³ Mahmut Çoker²

¹Ege University, Faculty of Medicine, Department of Cardiology, İzmir, Turkey

²Ege University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, İzmir, Turkey

³Ege University, Faculty of Medicine, Department of Radiodiagnostics, İzmir, Turkey

Abstract

Familial Hypercholesterolemia (FH) is a genetic disease characterized by extremely high levels of cholesterol leading to cholesterol deposition in skin and tissues and premature atherosclerosis due to defective LDL-receptors. In homozygous individuals (HoFH) cardiovascular events could develop from childhood on. HoFH case reports from our country generally describe the success of the treatments of LDL apheresis or cardiovascular surgery in these young patients. However, there is no information about the long term prognosis of these individuals. This article presents a patient with a long term treatment (≥ 7 years) of LDL apheresis, who had died at the age of 25 because of severe cardiac failure. Even though he had consulted primary care physicians many times with specific physical signs of FH (arcus cornea, xanthomas in the skin) at a very early age and a history of cardiovascular events in first-degree relatives, he could not receive HoFH diagnosis. Due to a delayed diagnosis of HoFH, despite long-term apheresis, atherosclerotic process has progressed. In this case report, the severe problems encountered during the long term management of this HoFH patient are described. At the same time, current treatment approaches for HoFH recommended by the related guidelines are reviewed.

Keywords: Familial Hypercholesterolemia, lipoprotein apheresis, LDL-cholesterol, xanthoma.

Öz

Ailevi hiperkolesterolemi (AH), LDL reseptörlerinin defektif olması sonucu gelişen aşırı yüksek kolesterol düzeyleri, deri ve dokularda kolesterol birikimi ve erken aterosklerozla karakterize genetik bir hastalıktır. Homozigot olgularda (HoAH) çocukluk döneminden itibaren kardiyovasküler olaylar gelişebilmektedir. Ülkemizden bildirilen HoAH olguları sıklıkla aferez veya kardiyovasküler cerrahinin bu genç hastalarda başarısını aktarmaktadır. Ancak, uzun dönem prognoz hakkında bir bilgi yoktur. Bu makalede uzun süreli (>7 yıl) afereze giren ve ciddi kalp yetersizliği ile 25 yaşında iken ölen bir olgu paylaşılmıştır. Olgu, çok erken yaşta AH'nin tüm tipik bulguları (arkus kornea, deride yaygın kolesterol birikimleri) ve birinci derece akrabalarında erken KV olay hikayesi ile birinci basamak hekimlerine defalarca başvurmasına rağmen tanı alamamıştır. Geç tanı sonucunda uzun yıllar devam eden düzenli afereze rağmen aterosklerotik süreç ilerlemiştir. Bu olgu sunumunda uzun süreli izlemde HoAH hastanın tedavisinde yaşanan ciddi sorunlar aktarılmıştır. Aynı zamanda HoAH için kılavuzların önerdiği güncel tedavi yaklaşımı gözden geçirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Ailevi hiperkolesterolemi, lipoprotein aferezi, LDL-kolesterol, ksantom.

Introduction

Familial Hypercholesterolemia (FH) is characterized by cholesterol deposition and premature atherosclerosis due to genetically defective low density lipoprotein (LDL) receptors (1,2).

Patients with homozygous FH (HoFH) have extremely high serum cholesterol levels (>500 mg/dL). Severe ostial coronary artery disease (CAD) and aortic stenosis (AS) develop starting from early childhood due to life-long exposure to elevated cholesterol (1,2). Antilipid medications remain ineffective in HoFH due to absent or defective LDL-receptors. HoFH patients should undergo LDL-apheresis or liver transplantation at early ages for survival. Herein we present an adult HoFH patient, who had been regularly undergoing LDL-apheresis since

Corresponding Author: Levent Can

Ege University faculty of Medicine, Department of Cardiology, İzmir, Turkey

Received: 19.04.2016

Accepted: 05.06.2016

childhood in our Lipid Clinic. Parents of the patient provided informed consent for the use of his medical history belonging to his childhood period in the article.

Case Report

Herein we present a typical case of HoFH associated with proximal coronary artery and aortic involvement. He had visible lipid depositions since he was 4 years old (Figure-1).

His family history was remarkable for hypercholesterolemia and CAD with no consanguineous marriages. Despite the definite clinical picture for HoFH, he had been treated empirically with antibiotics for xanthomas.

At the age of 9 years, a pediatric endocrinologist had noticed extremely high cholesterol levels and had informed his family about HoFH for the first time. He was compound heterozygous with two different LDL-receptor defects (allele-1:C292, exon-6 and allele 2:2400delCTTC, exon-17). He had reported to have severe AS (maximal-gradient 82 mmHg) with typical proximal coronary involvement (50% stenosis in left main coronary artery proceeding to left coronary artery and 50-60% in mid-circumflex artery). Though aortic replacement and coronary bypass grafting was recommended, his family did not give consent for surgery. At the age of 13, LDL-apheresis treatment was

initiated and continued biweekly for 5 years in our Pediatric Metabolism Department. However, at the age of 18 years, he was lost to follow-up.

At the age of 21 years, he was admitted to our cardiology department with the complaint of angina pectoris. AS (maximal /mean gradients of 100/66 mmHg) had progressed during the non-treatment period, while the left ventricular ejection fraction had decreased (40%). There was significant calcification both in the aortic root and valve. He did not give consent for surgery. He underwent LDL-apheresis biweekly for 3 years regularly and angina vanished. As he was full-time employed, arranging apheresis timing was difficult and affected his compliance. Therefore, he refused apheresis and one year later he died at the age of 25 years due to progressive heart failure. He was hospitalized 18 times totally during his last 4 years (3 years on apheresis plus the last non-apheresis 1 year) due to worsening of the heart failure (10 times), severe anemia - blood transfusion (3 times), pulmonary embolism (once), pneumonia (twice) and bacteremia (twice; catheter infection once and endocarditis). Type III aortic dissection was also detected.

Written informed consent was obtained from the patient for publishing the individual medical records.

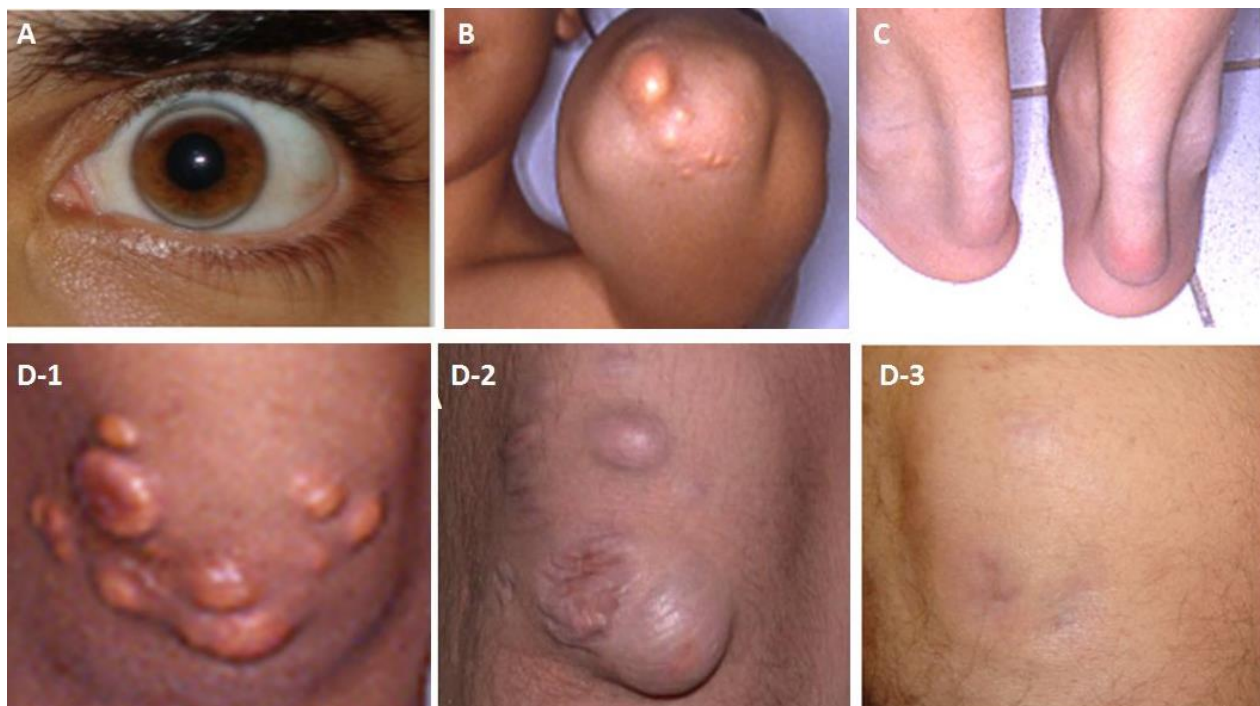


Figure-1. Examples for the patient's cholesterol depositions **A.** Arcus lipemia in the cornea (at 23 years of age, while on a regular apheresis treatment for 3 years), **B.** Cholesterol deposition on the extensor surface of the elbow (at 13 year of age), **C.** Thickening of the Achilles tendon due to cholesterol deposition (at 13 years of age) **D.** Deposition in the skin on the extensor surface of the knee-joint D-1. Before apheresis at 13 years of age, D-2. After a 3-year discontinuation of apheresis at 21 years of age, D-3. Cholesterol deposition on the extensor surface of the knee-joint disappearing after 3 years of regular apheresis.

Discussion

Despite the presence of skin findings and strong family history of our patient, the subject had not been considered for the diagnosis of FH in his early presentations. Late diagnosis has led to the progression of the atherosclerosis and has delayed the commencement of apheresis. For HoFH, LDL-apheresis is a lifesaving treatment decreasing cardiovascular events and enables the regression of xanthomas (3,4). The patient underwent regular LDL-apheresis for 5 years. Lipid levels were reduced to target levels, however AS has progressed. In fact, guidelines recommend starting LDL-apheresis in early childhood (<6-7 of age) in order to prevent AS (5). Apheresis, which was started at around the age of 10, was not able to prevent the progression of AS, even if it was effective in lowering LDL. Moreover, the atherosclerotic process might progress in 25% of the patients despite regular and effective lipid apheresis (6). This could be explained by the non-sustained lipid decrease ensured by apheresis. LDL-cholesterol levels achieved at the end of each apheresis session rapidly increase to its former level in

the following days. Moreover, apheresis is an invasive procedure with drawbacks and is also a chronic and time requiring therapy that leads to decreased compliance. Thus, more easily applicable new treatment options (7) are needed for achieving more effective lipid decrease with much more continuity and consistency.

HoFH cases in the literature are generally presented for the short term success of treatments with lipid lowering agents and/or apheresis. The longest survived patients are reported to have passed the age of 50 (8). However, these long surviving patients in general have considerably lower pre-treatment cholesterol levels denoting a less severe genetic defect in the cholesterol pathways. Our patient was a severe form of HoFH associated with a cholesterol level of 1002 mg/dl at the time of diagnosis.

Patients with HoFH are at severe risk for premature cardiovascular events and need to be treated very early (9). Therefore, early diagnosis is the key point in the management of HoFH in order to prevent lifetime exposure to high cholesterol levels leading to premature atherosclerosis including AS.

References

1. Hopkins PN, Toth PP, Ballantyne CM, Rader DJ. National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. Familial hypercholesterolemias: Prevalence, genetics, diagnosis and screening recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol* 2011;5(3 Suppl):S9-17.
2. Goldberg AC, Hopkins PN, Toth PP, et al. Familial hypercholesterolemia: Screening, diagnosis and management of pediatric and adult patients: Clinical guidance from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol* 2011;5(3):133-40.
3. Kayıkçıoğlu M. Uzman yanıtları: Ailesel hiperkolesterolemide aferez tedavisi kimlere önerilmelidir? *Türk Kardiyol Dern Arş - Arch Turk Soc Cardiol* 2013;41(2):182.
4. Thompsen J, Thompson PD. A systematic review of LDL-apheresis in the treatment of cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2006;189(1):31-8.
5. TC Sağlık Bakanlığı. Ulusal Terapötik Aferez Rehberi 2013:63-65. Available from: <http://www.saglik.gov.tr/DAGM/dosya/1-76699/h/ulusalteson.pdf>
6. Thompson GR, Barbir M, Davies D, et al. Efficacy criteria and cholesterol targets for LDL-apheresis. *Atherosclerosis* 2010;208(2):317-21.
7. Cuchel M, Meagher E, Theron H, et al. Efficacy and safety of a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor in patients with HoFH: A single-arm, open-label, phase 3 study. *Lancet* 2013;381(2):40-6.
8. Thompson GR. Managing homozygous familial hypercholesterolemia from cradle to grave. *Atheroscler Suppl* 2015;18(1):16-20.
9. Kayıkçıoğlu M, Kısmalı E, Can L, Payzin S. Long-term follow-up in patients with homozygous familial hypercholesterolemia; 13-year experience of a university hospital lipid clinic. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2014;42(7):599-611.

Unusual localization of medulloblastoma mimicking as meningioma

Menenjiomu taklit eden anormal yerleşimli medulloblastom olgusu

Onur Özgür¹ Ümit Eroğlu¹ Burak Bahadır¹ Aylin Heper Okçu² Hakan Tuna¹

¹Ankara University Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Ankara, Turkey

²Ankara University Faculty of Medicine, Department of Pathology, Ankara, Turkey

Abstract

Medulloblastoma is one of the most common primitive neuroectodermal tumors at pediatric age. It is usually located at fourth ventricle originated from vermis. Pontocerebellar angle medulloblastomas are rare and are mostly localized intraaxially. It can be confused with other tumors such as meningioma and schwannoma which are usually seen at this zone. In this report, a 16-year-old girl having medulloblastoma located at the pontocerebellar angle extraaxially and mimicking as meningioma was presented.

Keywords: Medullablastoma, pontocerebellar angle, extraaxial.

Öz

Medulloblastom, pediyatrik çağda en sık görülen primitif nöroektodermal tümör grubundandır. Genellikle vermis kaynaklı ve 4. ventrikül yerleşimlidir. Pontoserebellar açı medulloblastomları oldukça nadir olup çoğunlukla intraaksiyel yerleşimlidir. Bu bölgede sık görülen menenjiom ve schwannom gibi tümörlerle karışabilir. Bu yazıda, 16 yaşında kız çocukta pontoserebellar bölgede ekstraaksiyel yerleşen ve menenjiomu taklit eden medulloblastom olgusu sunulmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Medulloblastom, pontoserebellar açı, ekstraaksiyel.

Introduction

Medulloblastoma is the most common malignant primitive neuroectodermal tumor group at pediatric age. It accounts approximately for 20% of all intracranial pediatric tumors. Many cerebellopontine angle medulloblastomas are intraaxial-located; however, the localization is extraaxial in very few cases (1). The current report presents a case with extraaxial medulloblastoma with pontocerebellar angle localization.

Case Report

A 16-year-old female patient was admitted to our clinic with headache, dizziness, nausea and swallowing difficulty for about 1 month. Neurological examination revealed right peripheral 7th cranial paralysis, horizontal nystagmus and mild neck stiffness. Imaging assessments showed a homogeneous-enhancing mass in the right pontocerebellar region (Figure-1a,b).

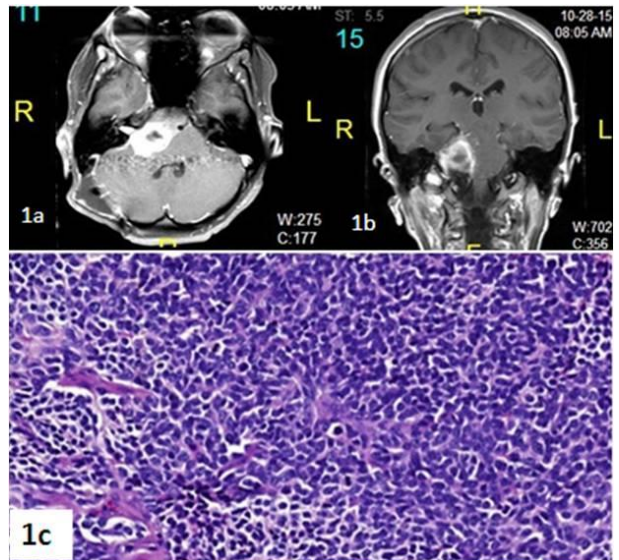


Figure-1. a. Axial image of tumor located pontocerebellar angle. b. Coronal image of tumor located pontocerebellar angle. c. Hypercellular tumor is composed of sheets of monotonous undifferentiated, mitotically active embryonal cells with oval hyperchromatic nuclei and minimal cytoplasm (Hematoxylen and eosinx320).

Corresponding Author: Onur Özgür

Ankara University Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Ankara, Turkey

Received: 08.02.2016

Accepted: 19.04.2016

The patient was hospitalized. First of all, from the right Kocher point ventricular external drainage system placed and then right paramedian suboccipital craniotomy and subtotal tumor excision were performed. There was no additional deficit in postoperative early period except 6th cranial paralysis on the right. Pathology was reported as grade 4 medulloblastoma (Figure-1c).

Written informed consent was obtained from the patient's legal custodian for publishing the individual medical records.

Discussion

Most of the medulloblastomas occurs in the first decade. It typically develops from the primitive neuroectodermal cells at the roof of the fourth ventricle (2). Approximately 2/3 of the cases are originated from vermis at pediatric age (3). The development of this tumor at the cerebellopontine angle may be originated from the residues of external granular layer the cerebellar cortex (4).

Spread to pontocerebellar angle (PCA) may be due to the *foramen luscka* lateral extension or directly exophytic growth of the lesion in the cerebellum or pons. Extraaxial localization without any contact with the cerebellar tissue is quite rare (5).

Regardless of the clinical reflection, it is difficult to distinguish angle medulloblastomas from other tumors located in this region (6). The most common pathologic lesions of cerebellopontine angle are acoustic neurinomas, meningiomas, primary cholesteatomas and epidermoid tumors (7). In our case the tumor was

located extraaxially which was extremely rare at pediatric age.

The pathologic lesions of this region are commonly associated with non-specific symptoms such as headache, nausea-vomiting, dizziness and hearing loss (8). Lack of hearing loss and facial paralysis is helpful in distinguishing from acoustic neurinoma, but these symptoms are commonly observed in other PCA tumors (9). The present case had right facial paralysis in the preoperative period.

MR imaging usually shows a heterogeneous-enhancing lesion appearance in clinical terms; however, there may also be a homogenous-enhancing pattern. This may lead to misinterpretation in the preliminary diagnosis. In the present case, the tumor was a homogeneous-enhancing mass in the MR sequences.

The goal of surgical treatment for CPA tumors is histopathological diagnosis, maximum cytoreduction, and restoration of cerebrospinal fluid flow while avoiding brainstem manipulation and cerebellar injury (10). We performed subtotal tumor excision because of preoperative hemorrhage.

Although intracranial medulloblastomas are usually originated from the posterior fossa cerebellar vermis, they may rarely occur at the pontocerebellar angle and extraaxially. Therefore, they may be confused with other tumors such as acoustic neurinoma and meningioma that are frequently seen in this region. This rare localization should be considered during the differential diagnosis.

References

1. Zakhary R, Keles GE, Aldape K., Berger MS. Medulloblastoma and primitive neuroectodermal tumors. 2nd ed. Jr. Churchill Livingstone: 2001:605-15.
2. Gusnard DA. Cerebellar neoplasms in children. *Semin Roentgenol* 1990;25(3):263-78.
3. Akman T, Aras BA, Güven M, Sen MH, Cosar M. A case of medulloblastoma mimicking astrocytoma located in cerebellopontine, *Ege Journal of Medicine* 2015;54(3):137-8.
4. Yamada S, Aiba T, Hara M. Cerebellopontine angle medulloblastoma: Case report and literature review. *Br J Neurosurg* 1993;7(1):91-4.
5. Akay KM, Erdogan E, Izci Y, Kaya A, Timurkaynak E. Medulloblastoma of the cerebellopontine angle-case report. *Neurol Med Chir* 2003;43(11):555-8.
6. Bahrami E, Bakhti S, Fereshtehnejad SM, Parvaresh M, Khani MR. Extra-axial medulloblastoma in cerebello-pontine angle: A report of a rare case with literature review *MJIRI*; 2014: 28-57.
7. Moffat DA, Saunders JE, McElveen JT Jr, McFerran DJ, Hardy DG. Unusual cerebello-pontine angle tumours. *J Laryngol Otol* 1993;107(12):1087-98.
8. Jaiswal AK, Mahapatra AK, Sharma MC. Cerebellopontine angle medulloblastoma. *J Clin Neurosci* 2004;(11):42-5.
9. Becker RL, Becker AD, Sobel DF. Adult medulloblastoma: Review of 13 cases with emphasis on MRI. *Neuroradiology* 1995;37(2):104-8.
10. Dalgıç A, Uçkun Ö, Okçu AH, Okay Ö, Dağlıoğlu E, Ergüngör F. Uncommon tumor of cerebellopontine angle: Report of an adult medulloblastoma. *J Neurol Sci* 2011;28(2):273-7.

Tiroglossal duktus kistinde gelişen papiller tiroid karsinom**Papillary carcinoma arising from thyroglossal duct cyst**Aykut Bozan¹ Ayşe Polat² Hayrettin Cengiz Alpay³ Sercan Göde⁴¹Medical Park Tarsus Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Kliniği, Mersin, Türkiye²Mersin Patoloji Laboratuvarı, Mersin, Türkiye³İstanbul Kemerburgaz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye**Öz**

Tiroglossal duktus kisti tiroid glandın dil kökünden boyuna doğru olan embriyolojik göçü sırasında, bu kanalın patent kalmasıyla gelişen konjenital bir kisttir. Bu duktus kistinden malignite gelişme oranı çok düşük olmakla birlikte en sık karşılaşılan malign tümör papiller karsinomdur. Bu yazıda, boyunda orta hatta kitlesi olan ve histopatolojik inceleme sonucu tiroglossal duktus kisti içinden köken alan ve papiller tiroid karsinomu olarak rapor edilen 46 yaşındaki kadın hasta sunulmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Tiroglossal duktus kisti, tiroglossal kanal, papiller karsinom.

Abstract

Thyroglossal duct cyst is a congenital cyst originating from patent duct remnant during embryological migration of thyroid gland from tongue to neck via foramen caecum. Malignancy arising from this duct is very rare, whereas in case of malignancy, papillary thyroid carcinoma is encountered mostly. In this paper, we report a 46-year-old female patient who referred to our clinic with a midline neck mass whose histopathological evaluation revealed papillary thyroid carcinoma arising from the thyroglossal canal cyst.

Keywords: Thyroglossal duct cyst, thyroglossal duct, papillary carcinoma.

Giriş

Tiroglossal duktus kistleri boyunda en sık karşılaşılan konjenital kitledir. Tiroglossal duktus kistinden karsinom gelişimi nadir olup yaklaşık %1'inde görülmektedir. Tiroglossal duktus kistinde gelişen karsinomların en sık histolojik tipini papiller tiroid karsinom oluşturmaktadır (1). Bu yazıda, tiroglossal duktus kisti içinde gelişen papiller tiroid karsinomlu 46 yaşındaki kadın hastayı literatür eşliğinde sunmayı amaçladık.

Olgu Sunumu

Kırk altı yaşındaki kadın hasta 4 yıldır boyun orta hatta yavaş şekilde büyüyen kitle nedeniyle polikliniğimize başvurdu. Hastanın boyunda kitle dışında ağrı, akıntı, disfaji, dispne, disfoni gibi ek şikayeti yoktu. Yapılan fizik muayenede boyun orta hatta yer alan, vertikal planda tiroid kartilaj seviyesinden submental alana kadar uzanan yaklaşık 5 x 4.5 x 3.5 cm boyutlarında solid, semi-mobil kitle palpe edildi.

Ağız-boğaz, nazofarinks ve larinks muayenesinde patolojik bulgu saptanmadı. Boyun ultrasonografisi ve tomografisi; tiroid bezinin hemen süperior kesiminde orta hat düzeyinde submental bölgeye uzanan kraniokaudal boyutu 60 mm, aksiyel boyutları 44x31 mm olan, kalın septasyonlar, posterior duvarında ve septalarda kalsifikasyonlar barındıran kalın duvarlı yoğun içerikli kistik lezyon (komplike tiroglossal kist?) olarak rapor edildi (Şekil-1A). Kitleden ince iğne aspirasyon biyopsisi yapıldı ve seröz mayi aspire edildi. Biyopsi sonucu benign kist içeriği olarak rapor edilmesi üzerine tiroglossal duktus kisti ön tanısı ile operasyon planlandı. Preoperatif tiroid fonksiyon testleri normal bulunan hastaya genel anestezi altında Sistrunk operasyonu yapıldı. Operasyonda kistik kitle; traktusu, hyoid kemik korpusu ile birlikte *en-bloc* rezeke edildi. Peroperatif ve postoperatif komplikasyon gelişmedi.

Patolojik İnceleme

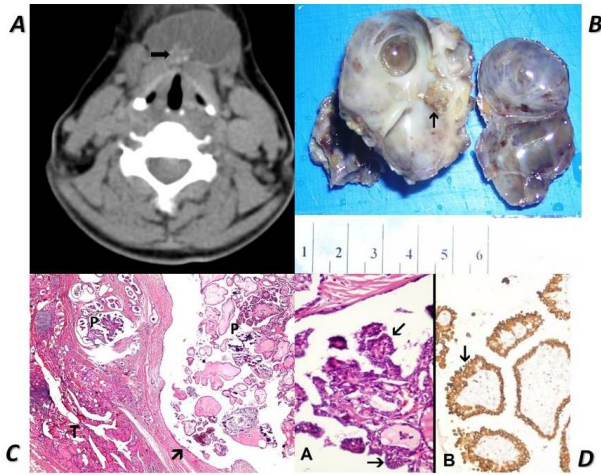
Makroskopik incelemede kesit yüzeyinde lümenleri kirlili sarı renkte mayi ile dolu multiloküler kistik yapılar saptandı, bir alanda 1 cm çapta lümene doğru uzanan papiller yapı izlendi (Şekil-1B). Materyalden hazırlanan kesitlerin histopatolojik incelenmesinde; geniş alanda

Yazışma Adresi: Aykut Bozan

Medical Park Tarsus Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Kliniği, Mersin, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 11.05.2016 Kabul Tarihi: 14.06.2016

döşeyici epiteli izlenmeyen, duvarında inflamatuvar hücreler ve taze kanama odakları içeren multiloküle kistik yapının duvarında tiroid parankim dokusu ve bu alanda ince fibrovasküler stromaya tutunmuş tek sıralı, nükleusları yer yer buzlu cam görünümünde, eosinofilik sitoplazmalı atipik tirositlerin oluşturduğu papiller yapılar izlendi (Şekil-1C,1D). Ayrıca tümör hücrelerinin bir kısmında konsantrik kalsiyum birikimleri (psammom cisimleri) görüldü. Mikroskopik tanı tiroglossal kist duvarından gelişen papiller karsinom olarak rapor edildi. Tümör çapı 1 cm ve kist duvarına 2 mm uzaklıkta idi. Kistin dış yüzeyinde serbest tümör ve lenfovasküler invazyon yoktu.



Şekil-1. A. Boyun BT'de kalsifikasyon gösteren (ok ile işaretli) yoğun içerikli kistik kitle. **B.** Tiroglossal kist duvarında 1 cm çapında papillomatöz kitle (ok ile işaretli). **C.** Lümeni kısmen nonkeratinize skuamöz epitelyum ile döşeli (ok ile işaretli) tiroglossal kist duvarında tiroid dokusu (T) içerisinde, ince fibrovasküler stromaya tutunmuş tek sıralı, nükleusları buzlu cam görünümünde, atipik tirositlerin oluşturduğu papiller yapılar (P). Tümör lümen içerisine de papiller tarzda gelişim göstermektedir. **D.** Buzlu cam görünümündeki tümör hücrelerinin daha yakından görünümü (ok ile işaretli) (A). Galektin 3 ile tümör hücrelerinde güçlü pozitif boyanma (ok ile işaretli) izlenmektedir (B).

Hastaya postoperatif 1.ayda yapılan tiroid sintigrafisinde ve tiroid ultrasonografisinde patolojik lezyon izlenmedi. Tiroid fonksiyon testleri normal sınırlardaydı. Papiller karsinomun primer olduğu düşünüldü. Tiroid süpresyon tedavisi başlandı. Tiroidektomi yerine hastaya 2 ayda bir tiroid ve boyun ultrasonografisi, 6 ayda bir tiroid sintigrafisi ve boyun MR ile değerlendirilmesi kararlaştırıldı. Hasta postoperatif 9. ayda halen sağ olup, kontrollerinde nüks bulgusuna rastlanmamıştır.

Hastadan tıbbi verilerinin yayınlanabileceğine ilişkin yazılı onam belgesi alındı.

Tartışma

Tiroglossal duktus, tiroid bezi ile foramen çekum arasındaki epitelyal bağlantıdır. Normalde duktus gestasyonun 8 ila 10. haftasında involüsyona uğrar.

Duktus involüsyonu gerçekleşmez ise epitelyal artıklar ve sekresyonlar duktus içerisinde birikerek kist oluşumuna yol açar. Duktus kaybolmayıp, içerisine olan sekresyonlar ile kist oluşabilmektedir. Tiroglossal duktus kistlerinin hepsi orta hattadır. %50'si hyoidin inferiorunda yerleşir (2). Olgumuzda kitlenin büyük boyutlarda olması nedeniyle hem suprahoid, hem de infrahyoid bölgede yerleşmiştir.

Tiroid papiller kanserler tiroglossal kanal kistlerinde gelişen en sık malign tümörleridir. Diğerleri skuamöz hücreli karsinom ve adenoskuamöz karsinomdur (2). Papiller kanserler daha çok lokal-bölgesel olarak yayılan, nadir uzak metastaz yapan tümörlerdir (3).

Tiroglossal kistinden gelişen papiller karsinom adolesan ve erişkin kadınlarda daha sık görülür (3) Olgumuz 46 yaşında kadın idi. Klinik olarak hastalarda ağrı, ses kısıklığı, kist boyutlarında ani artış, boyunda lenfadenopati bulgularının olması malign bir kitleyi düşündürür (4), ancak olgumuzda maligniteyi düşündüren bir belirti ve bulgu yoktu.

Tiroglossal duktus kistinden papiller karsinom gelişimi etiyojisi iki farklı teori ile açıklanmaktadır (5). Birinci teoriye göre, kist duvarındaki ektopik tiroid dokusundan *de novo* olarak karsinomun geliştiği ileri sürülmektedir. İkinci teoride ise karsinomun tiroid dokusundan tiroglossal duktus yoluyla yayıldığı düşünülmektedir. Tiroglossal duktus kistinde gelişen papiller karsinomun primer olması için gerekli kriterler; Kist epitel duvarının olması, kistin içinde veya yakınında normal tiroid dokusunun bulunması, tiroid bezinde primer tümör varlığının gösterilmemesi ve tiroid bezinin klinik olarak normal olmasıdır (6). Olgumuzda da kist epitelinin olması, kist duvarında normal tiroid dokusunun bulunması ve tiroid bezinin klinik ve radyolojik olarak normal olması papiller karsinomun primer olduğunu gösteren bulgulardır.

Preoperatif bilgisayarlı tomografide kist içinde kalsifikasyon bulguları, benign tiroglossal duktus kistinden ayırıcı tanısında önemlidir (7). Olgumuzda preoperatif bilgisayarlı tomografide kistin posterior duvarında kalsifikasyon odağı izlenmiştir.

Tiroglossal duktus kisti zemininde papiller tiroid karsinom tanısı kesinleşen vakalarda tiroid gland radyolojik ve sintigrafik olarak değerlendirilmelidir (8). Tiroglossal duktus kistinden kaynaklanan papiller karsinom tedavisinde kist duvarını aşan tümör invazyonu veya servikal lenf nodlarına yayılım bulunmadığı, tiroid bezinin normal olduğu, tümör çapının 1 cm'den büyük olmadığı durumlarda Sistrunk işlemi ve postoperatif tiroid süpresyon tedavisi önerilmektedir (9). Bu kriterlere uymayan tümör varlığında, boyunda lenf nodu tutulumu veya kist duvarı invazyon durumunda tiroidektomi ile beraber modifiye radikal boyun diseksiyonu uygulanması gerekmektedir (10). Olgumuzda tümör çapı 1 cm idi. Kist duvarı invazyonu ve lenf nodlarına yayılım yoktu. Tiroid bezinin ultrasonografik ve sintigrafik olarak

değerlendirilmesinde normal olduğu izlendi. Bu nedenle Sistrunk operasyonu yeterli görüldü, tiroid süpresyon tedavisi başlandı ve hasta yakın takibe alındı. Ancak tümörün primer olmadığı durumlarda, invazyon varlığında

veya multisentrik tümör olabileceğine yönelik klinik bulgu varsa Sistrunk operasyonuna ilaveten tiroidektomi ve/veya boyun diseksiyonu yapılması gerekir.

Kaynaklar

1. Balalaa N, Megahed M, Ashari MA, Branicki F. Thyroglossal duct cyst papillary carcinoma. *Case Rep Oncol* 2011;4(1):39-43.
2. Proia G, Bianciardi Valassina MF, Palmeieri G, Zama M. Papillary carcinoma on a thyroglossal duct cyst: Diagnostic problems and therapeutic dilemma. A case report. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2014;34(3):215-7.
3. Martins AS, Melo GM, Tincani AJ, Lage HT, Matos PS. Papillary carcinoma in thyroglossal duct: Case report. *Sao Paulo Med J* 1999;117(6):248-50.
4. Wigle TL, Chonkich GD, Wat BY. Papillary duct carcinoma arising in a thyroglossal duct cyst. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997;116(3):386-8.
5. Yang S, Park KK, Kim JH. Papillary carcinoma arising from throglossal duct cyst with thyroid and lateral neck metastasis. *Int J Surg Case Rep* 2013;4(8):704-7.
6. Samara C, Bechrakis I, Kavadias S, Papadopoulos A, Maniatis V, Strigaris K. Thyroglossal duct cyst carcinoma. *Neuroradiology* 2001;43(8):647-9.
7. Branstetter BF, Wiessman JL, Kennedy TL, Whitaker M. The CT appearance of thyroglossal duct carcinoma. *Ann J Neuroradiol* 2000;21(1):1547-50.
8. Luna-Ortiz K, Hurtado-Lopez LM, Valderrama-Landaeta L, Ruiz-Vega A. Thyroglossal duct cyst with papillary carcinoma: What must be done? *Thyroid* 2004;14(5):363-6.
9. Heshmati HM, Fatourechi V, van Heerden JA, Hay ID, Goellner JR. Thyroglossal duct carcinoma: Report of 12 cases. *Mayo Clin Proc* 1997;72(4):315-9.
10. Maleki N, Alamdari MN, Feizi F, Tavosi Z. Papillary carcinoma of the thyroglossal duct cyst: Case Report. *Iran J Public Health* 2014;43(4): 529-31.

Can a single dose of duloxetine induce hyponatremia in a young male patient?

Tek doz duloksetin genç erkek hastada hiponatremiye neden olabilir mi?

Tanzer Korkmaz¹ Funda Karbek Akarca² Selen Çome³ Cem Ertan¹

¹İzmir University Faculty of Medicine, Department of Emergency Medicine, İzmir, Turkey

²Ege University Faculty of Medicine, Department of Emergency Medicine, İzmir, Turkey

³Dokuz Eylül Faculty of Medicine, Department of Emergency Medicine, İzmir, Turkey

Abstract

We report a case of duloxetine-induced hyponatremia which developed rapidly with somatic symptoms in a middle-aged male after a single dose of medication. A 28-year-old male patient presented with fatigue and dizziness. The patient's presenting complaints completely resolved after duloxetine was ceased and normal saline treatment was given. When treating patients with duloxetine, close monitoring for hyponatremia is essential.

Keywords: Duloxetine, hyponatremia, young male patient, somatic symptoms.

Öz

Somatik semptomları olan orta yaşlı bir erkek hastada tek doz duloksetin tedavi sonrası hızlıca gelişen bir hiponatremi olgusunu rapor ettik. Yirmi sekiz yaşında erkek hasta halsizlik ve başdönmesi şikayeti ile başvurdu. Duloksetinin kesilmesi ve normal salin tedavisinden üç gün sonra tamamen normale döndü. Duloksetin ile tedavi edilen hastaların hiponatremi açısından yakın takiplerinin yapılması gereklidir.

Anahtar Sözcükler: Duloksetin, hiponatremi, genç erkek hasta, somatik semptomlar.

Introduction

Duloxetine hydrochloride is a dual reuptake inhibitor of both 5-hydroxytryptamine (5-HT) and norepinephrine (NE) receptors which lacks significant affinity for muscarinic, histamine H₁, α₁-adrenergic, dopamine and opioid receptors (1). Duloxetine is used for the treatment of major depressive disorder, diabetic neuropathy, fibromyalgia, generalized anxiety disorder, and chronic musculoskeletal pain. The most prominent side effects are dizziness, nausea, headache, paresthesia, vomiting, irritability, and nightmares (2). In addition, although rare, hyponatremia has been reported in patients taking duloxetine for depression and neuropathic pain (3,4).

Here we present a case of duloxetine-related hyponatremia which occurred following a single dose in a young male patient under treatment for somatization. Written informed consent was obtained from the patient for publishing his personal medical records.

The relation between the drug and possible side effects is reviewed via Naranjo's drug interaction probability scale (5). According to Naranjo's scale, the score of our case was 7 (probable adverse drug reaction).

Case Report

A 28-year-old male patient presented to the emergency department with fatigue and dizziness. His past medical history revealed no diseases other than sporadic joint pain. The patient was not using any medication other than the duloxetine 30 mg he was prescribed one day earlier for his joint pain (diagnosed as somatization), and had taken only a single dose. His vitals were also within normal range and he was hemodynamically stable. Biochemical tests showed hyponatremia (126 mEq/L), other electrolyte levels were within normal range (Table 1). The patient had ordinary oral intake, with no salt or other dietary restriction, and no vomiting or diarrhea to cause fluid loss. There were no signs of other diseases that affect serum sodium level, such as sepsis, pancreatitis, or ileus. The patient's sodium level was within normal limits in tests performed three days earlier in the same hospital as part of the complete medical examination to determine the cause of his joint pain (Table-1). Since the physical examination of the patient, including neurological examination, was completely

Corresponding Author: Tanzer Korkmaz

İzmir University Faculty of Medicine, Department of Emergency Medicine, İzmir, Turkey

Received: 11.05.2016

Accepted: 14.07.2016

normal and his serum sodium level was above 120 mEq/L, the only treatment was cessation of duloxetine and administration of normal saline infusion, limited to 1000 mL/day. The patient was discharged symptom-free after 24 hours of follow-up in the emergency department. The patient's serum sodium level was normal when retested 7 days after discharge (138 mEq/L).

Written informed consent was obtained from the patient for publishing the individual medical records.

Table 1. Serial Laboratory Data in the Patient.

Serum	Duloxetine			
	Normal range	Three days before admission	One day after admission	Seven days after discharge
Sodium (mEq/L)	136-145	139	121	138
Potassium (mEq/L)	3.5-5.1	3.5	3.5	3.9
Glucose (mg/dmL)		85	125	
AST	5-34	25		
ALT	0-55	21		
BUN	9.0-22.0	11.6	4.5	
Creatinine (mg/dL)	0.6-1.25	0.78	0.79	
Osmolality (mOsm/L)	275-295	283	252	

AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; BUN: Blood urea nitrogen

Discussion

Hyponatremia is a significant entity due to its range of symptomatology from asymptomatic to mortal cases, mostly depending on the duration and speed of the change in sodium level (6). In our patient, hyponatremia emerged

following the intake of a single low dose of duloxetine. Since the patient had hypo-osmolar hyponatremia, it is reasonable to assume that the etiology of the hyponatremia is likely to be syndrome of inappropriate antidiuretic hormone (ADH) secretion (SIADH). Although some animal experiments suggest that norepinephrine and serotonin are stimulants of ADH secretion, the true mechanism of serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor (SNRI)-related hyponatremia is yet unclear (7). Some authors suggest a multifactorial pathway including selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI)-related increases in central and renal medullar ADH secretion and possible drug interactions as the etiology of SAIDH (8). Stovall et al. reported a 66-year-old female patient with duloxetine-associated hyponatremia presenting as altered mental status despite sodium replacement (Na 128 mEq/L) (4).

Our case presents a rare occurrence of duloxetine-induced hyponatremia, with some distinctive characteristics. First, the patient was a young male. Previous reports of duloxetine-induced hyponatremia have mostly been in elderly females (3,9,10). Second, the hyponatremia occurred following only single dose of duloxetine administration and developed more rapidly. Third, the patient had none of the risk factors for developing hyponatremia. The risk factors for hyponatremia include older age, female sex, history of hyponatremia, lower body mass index, use of thiazide diuretics, lower baseline serum sodium level (<138 mmol/L), and significant comorbidities (10).

Our report has some limitations. Urine sodium levels and osmolality were not tested in our patient. Since there was no information regarding a related comorbidity, thyroid gland function tests and cortisol levels were also not investigated.

In summary, emergency physicians should be aware of SSRI-induced hyponatremia and should be encouraged to monitor serum sodium levels in both male and female patients of all ages who are under SSRI treatment and present with nonspecific symptoms.

References

1. Nemeroff CB, Schatzberg AF, Goldstein DJ, et al. Duloxetine for the treatment of major depressive disorder. *Psychopharmacol Bull* 2002;36(4):106-32.
2. Kulkarni M. Duloxetine induced hyponatremia. *Indian J Nephrol* 2015;25(4):259.
3. Safdieh JE, Rudominer R. A case of hyponatremia induced by duloxetine. *J Clin Psychopharmacol* 2006;26(6):675-6.
4. Stovall R, Brahm NC, Crosby KM. Recurrent episodes of serotonin-reuptake inhibitor-mediated hyponatremia in an elderly patient. *Consult Pharm* 2009;24(10):765-8.
5. Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, et al. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther* 1981;30(2):239-45.
6. Movig KL, Leufkens HG, Lenderink AW, Egberts AC. Serotonergic antidepressants associated with an increased risk for hyponatremia in the elderly. *Eur J Clin Pharmacol* 2002;58(2):143-8.
7. Horn JR, Hansten PD, Chan LN. Proposal for a new tool to evaluate drug interaction cases. *Ann Pharmacother* 2007;41(4):674-80.
8. Arinzon ZH, Lehman YA, Fidelman ZG, Krasnyansky II. Delayed recurrent SIADH associated with SSRIs. *Ann Pharmacother* 2002;36(7-8):1175-7.

9. Dirks AC, van Hyfte DM. Recurrent hyponatremia after substitution of citalopram with duloxetine. *J Clin Psychopharmacol* 2007;27(3):313.
10. Bowen PD. Use of selective serotonin reuptake inhibitors in the treatment of depression in older adults: Identifying and managing potential risk for hyponatremia. *Geriatr Nurs* 2009;30(2):85-9.

Kraniyal görüntüleme bulguları ile akçaağaç şurubu idrar hastalığı**Maple syrup urine disease with cranial imaging findings**Yusuf Kale¹ Ece Karaoğlu²¹Gaziantep Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Yenidoğan Ünitesi, Gaziantep, Türkiye²Gaziantep Dr. Ersin Arslan Devlet Hastanesi, Radyoloji Kliniği, Gaziantep, Türkiye**Öz**

Dallı-zincirli ketoasidüri olarak da bilinen Akçaağaç şurubu idrar hastalığı (MSUD) dallı-zincirli alfa ketoasit dehidrogenaz kompleks aktivitesindeki yetersizliğinden kaynaklanır. Otozomal resesif olarak kalıtılan bir hastalıktır. Yenidoğanda huzursuzluk, emme problemleri, kusma, letarji, distoni ve idrarda akçaağacı kokusu ile karakterizedir. Burada MSUD tanısı alan olgunun kraniyal manyetik rezonans bulguları ile birlikte sunulmasını ve yönetiminin tartışılmasını amaçladık.

Anahtar Sözcükler: Akçaağaç şurubu idrar hastalığı, yenidoğan, yönetim.

Abstract

Maple syrup urine disease (MSUD) also known as branched-chain ketoaciduria, is caused by a deficiency of branched-chain alpha-ketoacid dehydrogenase complex. It has autosomal recessive inheritance. It is characterized by irritability, feeding problems, vomiting, lethargy, dystonia and a maple syrup odor of the urine in newborn infants. Herein we aimed to report a case of MSUD with its MR imaging findings and to discuss the management for this case.

Keywords: Maple syrup urine disease, newborn, management.

Giriş

Akçaağaç şurubu idrar hastalığı (MSUD), dallı zincirli aminoasitlerin metabolizmasındaki genetik defektten kaynaklanan, otozomal resesif olarak kalıtılan metabolik bir hastalıktır. Alfa-ketoasit dehidrogenaz kompleks aktivitesindeki yetersizlik sonucunda valin, lösin ve izölösün katabolizmasındaki duraksama olması nedeniyle plazma, idrar ve beyin omurilik sıvısında dallı zincirli aminoasitlerin ketoasitleri birikir. Kraniyal MR ile görüntüleme beyin ödemi, miyelinizasyonda gecikme ve difüzyon kısıtlılığı saptanması tipiktir (1-3). Tanı plazma lösin, izölösün, valin, alloizölösün düzeyinde artış ile alanin düzeyindeki azalmanın tespiti ve idrarda lösin, izölösün, valin ve onların ketoasitlerinde artış saptanması ile konulur (4). Yaklaşık olarak 1: 185.000-940.000 sıklığında görülür (5). Toksik metabolitlerin birikmesi ile beslenme sorunları, ciddi metabolik asidoz, ensefalopati bulguları ve idrarda çemen ya da yanmış şeker kokusu duyulabilir (6).

Olgu Sunumu

Eşi ile amca çocukları olan 32 yaşındaki annenin üçüncü gebeliğinden birinci yaşayan olarak normal vajinal yol ile 38 haftalık, 3190 gram ağırlığında doğan erkek bebeğin apgar skoru 1. ve 5. dakikada sırası ile 8 ve 9 idi. Annenin gebeliği sırasında düzensiz takip edildiği, ilk gebeliğinin sekiz aylık iken ölü doğum ile sonlandığı öğrenildi. Hastanın kız kardeşinin 20 günlük iken sebebi bilinmeyen bir hastalıktan dolayı öldüğü öğrenildi. Hasta 5 günlük iken emmeme, solunum sıkıntısı, nöbet geçirme ve aktivitede azalma şikayeti ile yenidoğan yoğun bakım ünitesine yatırıldı. Fizik muayenede, vücut ağırlığı 3190 gram (25-50 p), boy 49 cm (25-50 p), baş çevresi 34 cm (25 p) olarak ölçüldü. Vücut ısısı 36.5 °C, nabız 146 /dk ve solunum sayısı 66 /dk. idi. Genel durumu kötü olan hastada inleme, çekilmeli solunum, letarjik görünüm mevcut idi. Kardiyovasküler sistem muayenesinde 1/6 sistolik üfürüm duyuldu. Kollar fleksiyonda, bacaklar ekstansiyonda, çaprazlanmış görünümde idi. Yenidoğan refleksleri alınamayan hastanın santral hipotonisitesi mevcuttu. İdrarında yanmış şeker (çemen) kokusu dikkat çekmekteydi. Solunumu yüzeyleşen, siyanozu olan hasta entübe edilerek mekanik ventilatörde izleme alındı. Hastada sepsis dışlanmadığı için antibiyotik tedavisi düzenlendi.

Yazışma Adresi: Yusuf Kale

Gaziantep Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Yenidoğan Ünitesi, Gaziantep, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 31.05.2016 Kabul Tarihi: 01.08.2016

Laboratuvar incelemelerinde tam kan sayımı, kan şekeri, kan gazı, serum elektrolitleri, C-reaktif protein değeri, böbrek fonksiyon testleri ve karaciğer enzimleri normal sınırlarda idi. Kan kültüründe üreme olmadı. Metabolik tetkikleri gönderildi. Amonyak ve laktat değerleri normal sınırlarda idi. Tüm abdomen ve transfontanel ultrasonda patolojik bulgu saptanmadı. Ekokardiyografide sekundum küçük ASD ve PFO mevcuttu. Çekilen elektroensefalografisinde frontosantralde keskin dalga deşarjları saptandı. Yatışının 2. gününde nazal devamlı pozitif hava yolu basıncı ile takibe geçildi. Total parenteral nütrisyon (TPN) başlandı. Göz dibi muayenesinde anormal bulgu saptanmadı. Postnatal 10. gününde çekilen kraniyal MR'da T1 ağırlıklı görüntüde serebellar pedinkülde myelinizasyona ait sinyal artışı, T2 ağırlıklı görüntüde periventriküler derin beyaz cevherde, internal kapsül posterior bacağında sinyal artışları ve diffüzyon ağırlıklı görüntülerde bilateral internal kapsül posterior bacağında, kortikospinal traktta ve ponsta difüzyon kısıtlanması saptandı (Şekil-1). Metabolik tetkikleri çıkmadan mevcut kraniyal MR bulguları ile MSUD olabileceği düşünöldü. Hızlı program kan aminoasitleri çalışıldı, serum lösin düzeyi 2007 µmol/L (N: 55-149) saptandı. Hastaya MSUD tanısı konularak özel diyet ile beslenme başlandı. Bir hafta sonra bakılan lösin düzeyi 785 µmol/L idi. Postnatal 20 günlük iken çocuk metabolizma hastalıkları bölümüne gelmek üzere taburcu edildi.

Tartışma

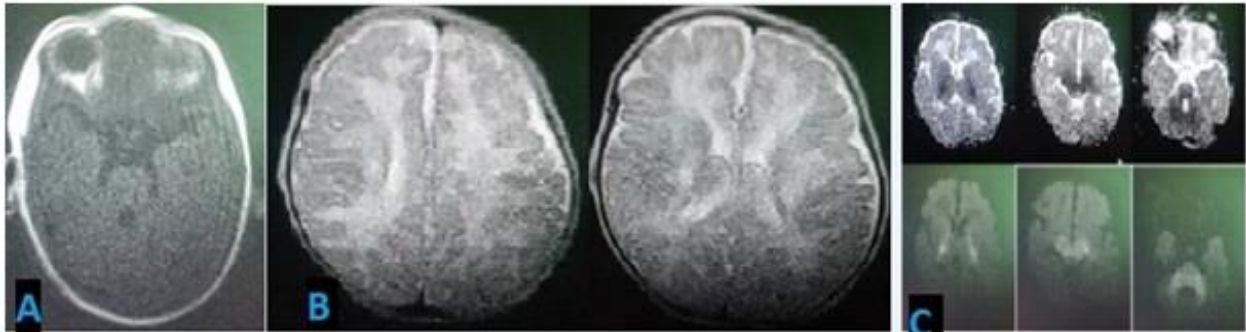
MSUD, ketoasit dehidrogenaz enzim eksikliğine bağılı olarak dallı-zincirli aminoasitlerin metabolizmasındaki bozukluk sonucu gelişir (1). Metabolik bozukluğun ağırlığı hastalığın şiddetini belirler. Biriken metabolitler nörotoksiktir ve acilen tedavi edilmesi gerekir.

En sık rastlanan klasik neonatal tipinde hastalar doğumda normaldir, bulgular yaşamın ilk haftasında ortaya çıkar.

Hastalığın akut döneminde kusma, letarji, beslenme bozukluğu, huzursuzluk, tiz sesle ağlama, hipotoni, hipertoni, hipoglisemi, metabolik asidoz, konvülsiyon, ekstremitelerde distonik ekstansiyon, koma gibi semptomlar görölebilir. Erken tedavi edilmezse ölüme neden olabilen metabolik kriz ortaya çıkar (5) Sunulan olguda 5 günlük iken letarji ve emme güçlüğü ile başvuran, idrarında yanmış şeker kokusu bulunan karakteristik MSUD kliniğı olan bir olgu idi. MSUD tanısı uygun tarama prosedürleri ile ilk bir hafta içinde mümkündür. Erken tanı ve tedavi ile nörolojik sekellerde azalma sağlanabilir (6).

MSUD hastalarında serebral iskeminin patogeneğinde apoptozis önemlidir ve mikrovasküler dolaşımdaki bozukluk gelişmesi sonucu sitotoksik ödem ortaya çıkar (7). Yenidoğan metabolik hastalıklarında, beyin bozukluklarının tespitinde kraniyal MR'nin spesifitesi sınırlıdır. MSUD hastalarında kraniyal MR bulgusu olarak akut dönemde beyin ödemi, serebellar beyaz cevher, posterior beyin sapı, serebral pedinküller, internal kapsülün posterior bacağı ve posterior centrum semiovalede ödem ve difüzyon kısıtlılığı saptanması spesiftir (8,9). Bizim hastamızda da serebellar pedinkülde myelinizasyona ait sinyal artışı ve periventriküler derin beyaz cevherde, internal kapsül posterior bacağında sinyal artışları (ödem) izlenmekte idi. Difüzyon MR beyin matürasyonun ölçülmesinde ve beyaz cevher hastalıklarının tanısında önemli bir yere sahiptir (9,10). Bu hastalarda myelinizasyonda gecikme vardır. Hastamızın difüzyon ağırlıklı beyin MR'ında bilateral internal kapsül posterior bacağında, kortikospinal traktta ve ponsta difüzyon kısıtlanması vardı.

Sonuç olarak, MSUD nadir görölen, erken tedavi ile nörolojik sekellerin önlenmesi mümkün olan bir hastalıktır. Bu olgu ile ensefalopati bulguları olan ve ayırıcı tanısında metabolik hastalık olabileceğı düşünölen hastalarda kraniyal görüntöleme bulgularının tanıda yol gösterici olabileceğı vurgulanmak istenmiştir.



Şekil-1. A. T1 ağırlıklı görüntüde serebellar pedinkülde myelinizasyona ait sinyal artışı dikkat çekmektedir. B. T2 ağırlıklı görüntüde periventriküler derin beyaz cevherde, internal kapsül posterior bacağında sinyal artışları izlenmektedir (ödem). C. Diffüzyon ağırlıklı görüntülerde bilateral internal kapsül posterior bacağında, kortikospinal traktta ve ponsta difüzyon kısıtlanması görölmektedir.

Kaynaklar

1. Kilicarslan R, Alkan A, Demirkol D, Toprak H, Sharifov R. Maple syrup urine disease: Diffusion-weighted MRI findings during acute metabolic encephalopathic crisis. *Jpn J Radiol* 2012;30(6):522-25.
2. Cavalleri F, Berardi A, Burlina AB, Ferrari F, Mavilla L. Diffusionweighted MRI of maple syrup urine disease encephalopathy. *Neuroradiology* 2002;44(6):499-502.
3. Jong SH, Taik-Kun K, Baik-Lin E. Maple syrup urine disease encephalopathy: A follow-up study in the acute stage using diffusion-weighted MRI. *Pediatr Radiol* 2004;34(2):163-6.
4. Morton DH, Strauss KA, Robinson DL, Puffenberger EG, Kelley RI. Diagnosis and treatment of maple syrup disease: A study of 36 patients. *Pediatrics* 2002;109(6):999-1008.
5. Ogier de Baulny H, Saudubray JM. Branched-chain organic acidurias. *Semin Neonatol* 2002;7(1):65-74.
6. Simon E, Fingerhut R, Baumkötter J, Konstantopoulou V, Ratschmann R, Wendel U. Maple syrup urine disease: Favourable effect of early diagnosis by newborn screening on the neonatal course of the disease. *J Inherit Metab Dis* 2006;29(4):532-37.
7. Xia W, Yang W. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging in a case of severe classic maple syrup urine disease. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2015;28(7-8):805-8.
8. Cakmakci H, Pekcevik Y, Yis U, Unalp A, Kurul S. Diagnostic value of proton MR spectroscopy and diffusion-weighted MR imaging in childhood inherited neurometabolic brain diseases and review of the literature. *Eur J Radiol* 2010;74(3):161-71.
9. Mascalchi M, Filippi M, Floris R, Fonda C, Gasparotti R, Villari N. Diffusion-weighted MR of the brain. Methodology and clinical application. *Radiol Med* 2005;109(3):155-97.
10. Jain A, Jagdeesh K, Mane R, Singla S. Imaging in classic form of maple syrup urine disease: A rare metabolic central nervous system. *J Clin Neonatol* 2013; 2(2): 98-100.

Hücre içi trafik ve hücre davranış özellikleri

Intracellular trafficking and cell behaviour characteristics

Berrin Özdil¹ Çevik Gürel² Kubilay Doğan Kılıç³ Gökçe Ceren Kuşçu³ Yasemin Adalı³
Hüseyin Aktuğ³

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye

²Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Öz

Hücre davranışı ve farklılaşmasının yanı sıra hücre bölünme modeli de canlılar için hayati önem taşımaktadır. Hücresel farklılaşma ve hücre çeşitliliği, doğrudan ve dolaylı olarak erken embriyonik aşamada hücre iskeleti, hücre polaritesi, hücre içi ve hücre dışı sinyaller gibi biyolojik süreçlerin yanı sıra, hücre şekli ve hareketinden de etkilenir. Atipik hücre davranışı, embriyogenezde ve bazen onkogeneze gözlenmektedir. Hücre içi trafik, hücrenin dışarıdan gelen sinyallere verdiği cevaplar ve hücre davranışı yönünden daha kapsamlı değerlendirilmelidir. Bu derlemenin amacı: hücre davranışının anlaşılmasında önemli yer tutan; hücre bölünme mekanizmaları açısından hücre şekli, hücrenin farklılaşma kapasitesi, hücre iskeleti, hücre motilitesi ve hücre polaritesi kavramlarını birbirleri ile ilişkilendirerek açıklamaktır.

Anahtar Sözcükler: Simetrik ve asimetric hücre bölünmesi, polarite, motilite, hücre iskeleti.

Abstract

Cell behavior, differentiation and cell division pattern is vital for living organisms. Cellular differentiation and diversification is directly and indirectly affected by cell skeleton, cell polarity, intracellular and extracellular signals, cell shape and movement from the early embryonic stage. Atypical cell behavior is observed in embryogenesis and occasionally in oncogenesis. Intracellular traffic in the basis of this behavior and the assessment of extrinsic information to the cell are still needed to be investigated. The aim of this review is to clarify concepts of cell shape, differentiation capacity, cytoskeleton, cell motility and polarity in terms of cell division mechanisms which are important in the discovery of cell behavior.

Keywords: Symmetric and asymmetric cell division, polarity, motility, cell skeleton.

Giriş

Hücre bölünmesi birçok hücreyel aktiviteye öncülük eden bir süreçtir. Bölünme tipi, farklılaşma ve kaynak kök hücreleri için önemlidir. Kök hücre ile yapılan birçok çalışma bulunurken, doku bazında bulunan (örneğin epitelial hücrelerde) bölünme modeli ile hücreler küçük değişikliklerle farklıdır. Modelleme ve mutasyon analizi çalışmalarında hücre bölünmesi önemli bir konudur. Hücre bölünmesi ayrıca modelleme ve mutasyon oranı analizleri için önemli bir kavramdır. Hücre şekli, membranın içinden ve dışından alınan sinyallere bağlıdır ve hücre iskeleti elemanları tarafından oluşturulur. Hücre motilitesi iskelet elemanlarının ayrışması ve yeniden birleşmesi ile sağlanır.

Hücre motilitesi doğrudan hücre polaritesiyle ve gelecek sinyallere göre iskelet elemanlarını yönetme ile ilişkilidir. Buna ek olarak, farklı hücre tipleri, sinyallere özgün yanıtlar verir. Hücre polaritesi iskelet elemanlarının ve hücre içi moleküllerin asimetric dağılımı ile ortaya çıkan bir olaydır. Hücre polaritesi, farklı hücre tiplerinde gözlenmektedir ve hücre bölünmesi, hücre ölümü, hücre şekil değişikliği, hücre göçü ve hücre farklılaşması gibi biyolojik süreçlerde rol oynamaktadır. Bu derleme somatik hücre, kök hücre ve onkogenik hücrelerin davranışları arasındaki farklılıkların ve benzerliklerin belirlenmesini sağlayacaktır.

Simetrik ve Asimetric Hücre Bölünmesi

Hücre bölünmesi hücrelerin ve dokuların devamlılığı için büyük önem taşımaktadır. Hücre bölünmesi iki farklı tipe gerçekleşmektedir; bunlar simetrik bölünme ve asimetric bölünmedir. Hücre bölünme çalışmaları genel olarak kök hücre temelli yapılmaktadır; çünkü kök hücre bölünmesi hem farklılaşacak hücreyi oluşturur hem de kök hücre

Yazışma Adresi: Kubilay Doğan Kılıç

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 05.08.2016 Kabul Tarihi: 18.08.2016

olarak kalacak kaynak hücrelerin oluşmasında kaynak sağlar (1).

Hücre bölünme tipi alanındaki araştırmalar ilk olarak 2001 yılında yapılmış; kolon kriptalarında kök hücre bölünmelerinde metilasyon seviyesine bakılmıştır (2). Simetrik ve asimetrik bölünme mitoz bölünmenin iki farklı tipi olarak görülebilir. Kök hücrelerde, simetrik bölünme sonucunda hücreler ya ikisi de farklılaşacak ya da ikisi de kök hücre olarak kalacak hücreleri meydana getirir. Kök hücrelerde, asimetrik bölünmede ise oluşacak iki hücreden biri farklılaşırken diğeri kök hücre olarak kalır (1).

Bir hücrenin asimetrik olabilmesi için: 1) iki kardeş hücrenin farklı boyutlara sahip olması, 2) bir veya daha fazla hücre bileşenlerinin iki kardeş hücreden sadece birine ayrılması, 3) iki kardeş hücre özel bir hücre tipi için farklı farklılaşma potansiyellerine sahip olması gerekmektedir (3).

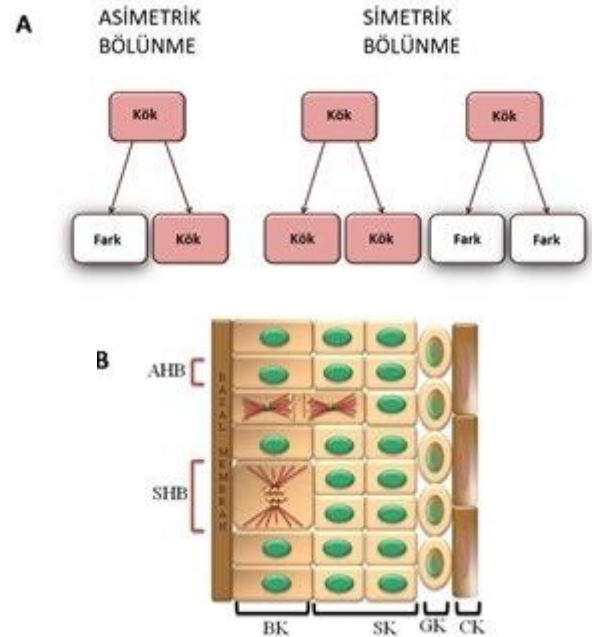
Kardeş hücrelerin boyutları mitotik iğ ipliklerin konumuna göre şekillenen yarıklanma ile belirlenir (4). Merkezi bölgeye konumlanmış olan mitotik iplikler sonucunda aynı boyutta iki kardeş hücre oluşur, fakat mitotik ipliklerin herhangi bir şekilde yer değiştirmesi bir kutup yönünde büyük, diğeri bir kutup yönünde ise küçük kardeş hücre oluşmasına sebep olur. Kutup cisimciğinin atılması gibi bazı durumlarda aşırı simetri görülebilir ki bu kardeş hücrelerden biri ancak genetik materyalin bir kopyasını taşıyabilecek büyüklüktedir. Somatik hücre bölünmelerinde hafif asimetri görülmesine rağmen nadiren bir kardeş hücre diğeri hücrenin iki katından fazla boyutlarda bölünebilir.

Asimetrik hücre oluşumuna sebep olan ve en iyi anlaşılan sistem *Caenorhabditis elegans* zigotlarında gözlenmiştir. Döllenen sonra *C. elegans* embriyoları büyük ön (anterior) AB ve küçük arka (posterior) P1 kardeş hücrelerine ayrılırlar. Spermin girişiyle birlikte bir seri olay gerçekleşir bu durum hücre korteksinin anterior ve posterior bölgelere ayrılmasıyla sonuçlanır (5). Bu sonuçlar posterior korteksin güçlü kapasitesinin mitotik iğ ipliklerine güç uygulaması ile gerçekleşir. İğ iplikleri posterior uca doğru yer değiştirir ve bu nedenle bölünme düzlemi simetrisini kaybeder. Bu proteinler hücre polaritesi ve asimetrik hücre bölünmesinde temel mekanizmaları kontrol eder (6).

Epidermis çok katlı bir epiteldir ve epiderminin, epitel öncüllerinin tek bir katmanından gelişmesi, tabakalaşma olarak adlandırılır. Bazal tabaka olarak adlandırılan iç hücre tabakası, membranın en alt tabanındaki hücreler, yüzey alanını arttırmak amacıyla simetrik bölünme yapar. Yaklaşık 13.5 günlük fare embriyolarında bölünme yön değiştirir ve hücrenin apikal bazal eksenini boyunca mitotik iğ ipliklerinin düzenlenmeleri ile birlikte bölünmeler gerçekleşir. Bu bölünmeler asimetrik olarak adlandırılır (7,8). Hücre kaderi ve iğ iplikçiklerinin yönelimi arasındaki bağlantı tam olarak anlaşılamiyorken iç ve dış düzenlenmenin her ikisi içinde kanıtlar

mevcuttur. Bazal membran, öncü hücreler ve yer değiştirme için bir niştir. Bu niş asimetrik hücre bölünmesi sırasında hücre kaderinin kararında önemli bir rol oynar. İntegrin protein ailesi hücrenin altında bulunan hücreler arası madde içindeki bazal membrana bağlanmasını sağlar ve integrin ECM sinyali epidermal bazal hücrelerin çoğalma aşamasında ilişkilendirilmiştir (9,10). Buna ek olarak, EGFR ve notch sinyallerinin ikisi de hücre kaderini kontrol edebilen intirinsik faktörler olarak öne sürülmüştür (11-13).

Bazal tabakada bulunan öncü hücreler mitotik iğ iplikçiklerini paralel ya da dik yönlendirerek bazal membranı sırasıyla asimetrik ya da simetrik olarak bölünmesine sebep olurlar. Bir bazal hücre asimetrik bölünmeye uğrayarak suprabazal/spinoz tabakası hücrelerine ve proliferatif bazal hücrelerine farklılaşmasına yol açar. Suprabazal/spinoz hücreleri daha da dışa doğru farklılaşarak ve göç ederek granüler tabaka ve kornifiye tabakaya diferansiye olurlar. Mitozdaki apikal Par polarite kompleksi ve NuMa arasındaki bağlantı, apikal-bazal iğ yönlendirmesini direk olarak etkileyerek epidermal bazal hücrelerinin asimetrik hücre bölünmesine geçişini sağlarlar (Şekil-1) (14).



Şekil-1. A. Simetrik ve asimetrik bölünme. B. Bazal katmanda bulunan progenitor hücreler paralel veya perpendikular mitotik iğlerle, bazal membranın sırasıyla asimetrik (AHB) ve simetrik (SHB) bölünmesini sağlar.

Kök Hücrelerde Simetrik ve Asimetrik Bölünme

Asimetrik ve simetrik bölünme çok çeşitli dokularda görülür. Ayrıca, kök hücrelerin her iki bölünme şeklini de kullanabildiği görülmüştür. Örneğin, *Drosophila* germ kök hücrelerinde hücre bölünmesinin asimetrik mi simetrik mi olacağı bölünme sırasında oluşan iğ ipliklerin niş ile hücre arasında kalan yüzeye dik ya da paralel olmasına

bağlıdır (1). Kök hücreler asimetric olarak bölündüğünde mutasyona uğramış genler varsa bunlar süresiz olarak sistemde kalır. Bunun nedeni ise her hücre bölünmesinde mutant hücrenin birebir aynı kopyasının oluşmasıdır. Diğer taraftan, mutant bir kök hücrenin simetric bölünmeyle aktarılması çok daha farklıdır ve hücre kalıcılığı ile ilgili daha az bir kesinlik söz konusudur. Simetric bölünmede mutant hücreler iki farklı yola girer: Ya hücre bileşimindeki farklılaşma elimine edilir ya da proliferasyondan sonra mutant hücre sayısı artar. Bu konu üzerinde çalışan bir grubun yaptığı hesaplamalar simetric bölünme sonucu oluşan mutant sayısı oranının her zaman asimetric bölünmeden daha düşük bir orana sahip olduğunu gösterilmiştir (1). Pek çok kanserleşme kanser baskılayıcı genlerinin inaktivasyonu ile başlar. Bu genler kanserleşme sürecini her iki allelde mutasyona uğradığında başlatırlar. Knudson, bu olayı açıklamak için “Çift Vuruş Hipotezi’ni” ortaya atmıştır. Bu hipoteze göre, ilk “vuruş” ebeveynlerden birinden yavruya aktarılırken, ikincisi sonradan kazanılır. Asimetric bölünen hücreler aksine simetric bölünen hücreler daha düşük çift vuruşlu mutasyon oranlarıyla karakterize edilirler. Bu, özellikle karsinogenezde en yaygın modellerden biri olan tümör baskılayıcı genlerinin inaktivasyonunda önemlidir. Aynı araştırma grubu asimetric ve simetric bölünmeler sonucu oluşan mutasyon olasılıklarını hesaplamışlardır. Bunun için normal bir kök hücre ile tek vuruşlu bir kök hücreyi temel almışlardır ve bu iki hücre için ayrı ayrı karar ağacı oluşturmuşlardır. Her hücre için verilen cevaplara göre oluşacak farklı yolların ve hücre çeşitlerinin istatistikini yapmışlardır. Bu araştırma yapılırken iki farklı hücre kullanılmıştır ancak yapılan bütün bu istatistiksel hesaplamalar sonucunda daha fazla hücre çeşidinin varlığında bile simetric bölünmenin çift-mutant oluşum oranını azaltmaya devam ettiği bulunmuştur (1).

Hücre Şekli ve Farklılaşması

Hücre iskeleti, hücre içindeki yapı ve etkinliklerin organizasyonunda temel yapıdır. İskelet elemanları, hücreye şeklini vermelerinin yanı sıra desteklik sağlama, hücre hareketi ve düzenlemede görev alırlar. Hücre iskeletinin en göze çarpan işlevi ise hücreyi mekanik olarak desteklemek ve onun biçimini korumaktır. Gelen iç ve dış kuvvetlere tepki yapılar ile mümkündür. Hücre iskeleti aynı zamanda mitoz bölünmede kromozomları tutarak, kutup noktalarına çeker. Ayrıca sitokinezde de etkilidir. Hücre içi trafikte ise, çeşitli molekülleri ve organelleri taşımakla görevlidir. Hücre şeklini sağlarken aynı zamanda dışarıdan gelecek herhangi bir etkiye karşı plazma membranının altında bulunup sıkı bir tabaka oluşturur. Hücre iskeleti üç farklı yapıdan oluşur. Bunlar, mikrotübüller, mikrofilamentler (aktin filamentler) ve ara (intermediyer) filamentlerdir.

Mikrotübüller tüm ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında bulunurlar. İçi boş çubuklar şeklindedirler ve iskelet

elemanlarının en kalınlarıdır. Mikrotübül duvarları tübülün proteinlerinin oluşturduğu 13 kolon içerir. Her tübülün molekülü dimer yapıdadır ve α ve β -tübülün adı verilen iki alt birimden oluşur. Mikrotübül oluşumu ise α ve β -tübülün dimerlerinin GTP enerjisi kullanılarak polimerleşmesi sonucu olur. Mikrotübüller kendilerini kuran birimlere yıkılabilirler ve bu birimler hücrenin başka bir yerinde mikrotübül kurulması için kullanılır. Hücre şeklinin sağlanmasının yanı sıra hücre hareketinde, organel lokalizasyonunda ve hücre bölünmesi sırasında kromozomların yer değiştirilmesinde görev yapar.

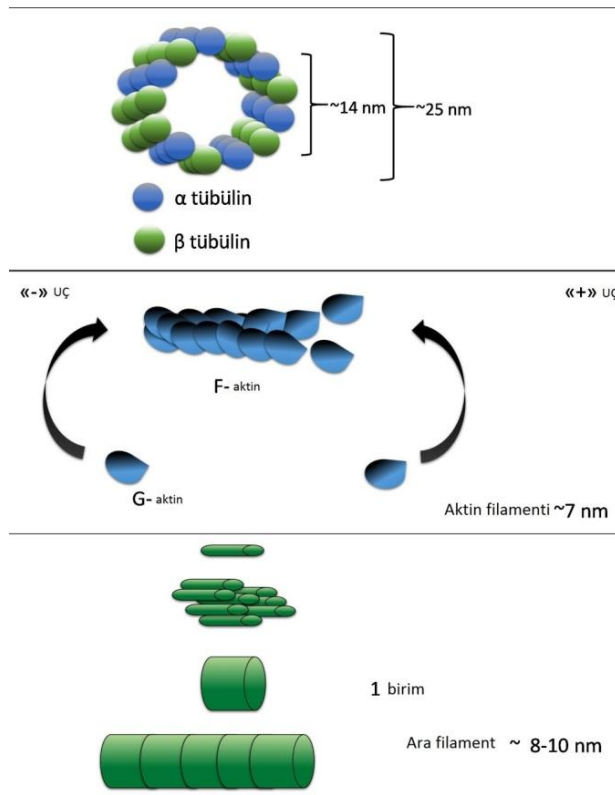
γ -tübülün kompleksi mikrotübül monomerlerinin polimerizasyonuna çekirdek oluşturur. γ -tübülün kompleksleri ökaryotik çoklu-altbirimli protein kompleksleridir. Birçok farklı boyutta olabileceği gibi, çeşitli altbirimler içerebilir. İnsanda açık yüzük şekilli geniş γ -tübülün kompleksleri bulunur (γ TuRCs). Bu yapılar γ -tübülün, GCPs 2-6, GCP-WD'den oluşmuşlardır (15).

Aktin filamentler, küresel aktin (G-Aktin) monomerlerinin ATP enerjisi kullanarak bir araya gelmesi ile oluşur. Ortaya çıkan yapı, iki aktin zincirinden oluşan bir sarmal şekilde gözüktür. Aktin filament oluşumundan sonra G-aktin molekülü isim değiştirerek F-aktin'e dönüşür. Aktin filamentler, mikrotübüllerin sıkıştırılmaya dayanma özelliğinden farklı olarak gerilmeye (çekici güçlere) dayanmaktadır. Diğer moleküllerle bir araya gelerek oluşturduğu üç boyutlu ağ yapısı hücre membranının desteklenmesine yardımcı olur. Mikrovillüs gibi özelleşmiş yapıların merkezi yapısını oluşturarak onlara hareket kazandırır. Bütün bunların yanı sıra kasın kasılıp gevşemesinde, hücre hareketinde (ameboid hareket, yalancı ayak) ve hücre bölünmesinde görev yaparlar.

Ara filamentler, fibröz proteinlerin yoğunlaşmış birbirleri üzerine sarılmasıyla oluşurlar. Diğer hücre iskeleti elemanlarının aksine protein alt birimlerinde çeşitlilik taşırlar. Bu durum bulunduğu hücreye ve görevine göre özelleşmelerinden kaynaklanır. Ayrıca diğer iskelet elemanlarının yıkımı yapımı çok kolay bir şekilde yapılırken ara filamentler çok daha kalıcı yapılardır. Bunun sayesinde hücre kolay bir şekilde gerilmeye dayanır ve hücrenin şeklinin korunmasını sağlar. Aynı zamanda çekirdek ve bazı organelleri sabitler ve çekirdek kılıfını oluşturur. Ara filamanlar yaklaşık 10 nm çapa sahiptirler. 50'den fazla farklı tipi tanımlanıp aminoasit dizilimindeki benzerlik baz alınarak 6 farklı gruba ayrılmıştır. Tip I ve Tip II, epitelyal hücrelerde sentezlenen yaklaşık 15 farklı tip protein içeren iki ayrı grup keratin yapısıdır. Tip III, vimentin dahil farklı türde çeşitli bulunan desmin, glial fibriler asidik proteini içerir. Periferin nöronlarda bulunur. Tip IV 3 tip nörofilament ve α -interneksin içerir. NF'ler olgun nöronların çok çeşitli önemli ara filamanlarıdır, α -interneksin nöron erken gelişim aşamasında ifade edilir. Tek tip VI ara filaman proteini (Nestin), merkezi sinir sistemi, merkezi sinir

sistem kök hücreleri, hatta nöronların erken embriyonik gelişimi sırasında ifade edilmektedir. Tip 5 nükleer laminleri içerir, ökaryotik hücrelerin çoğunda bulunur. Ara filaman proteinlerin hepsi yaklaşık olarak 310 amino asit (Nükleer Laminler 350 amino asit) merkezli bir α -sarmal çubuğu etki alanına sahiptir (16).

Bu üç temel yapının dışında hücre iskeletinin görevlerinin yerine getirilmesinde önemli rol oynayan motor proteinler vardır. Bu moleküller hücre hareketinde rol oynarlar. Aynı zamanda kargo proteinlerini ve organelleri aktin filamentler ve mikrotübüller üzerinde bir yerden başka bir yere taşırlar. Görev aldıkları süreç içinde ATP ya da GTP hidrolizi ile enerji sağlarlar.



Şekil-2. Hücre iskelet elemanları: Hücre iskeleti 3 farklı eleman içerir; mikrotübüller, aktin filamentleri ve ara filamanlar.

Hücre yüzeyine etki eden mekanik kuvvetler üç farklı alt gruba ayrılır. Bunlar hücre içi değişimler ile meydana gelen (aktin ağındaki değişimler veya iyon kanallarından molekül geçişleri gibi) mekanik kuvvetler, hücre dışından gelen (komşu hücre ya da hücreler arası madde kaynaklı) mekanik kuvvetler ve hücre membranındaki değişikliklerden kaynaklanan (membran lipidlerinin yenilenmesi ve membrandan ayrılması) mekanik kuvvetlerdir (17).

Hücre içindeki mekanik kuvvetler, hücre iskeletinin yeniden şekillenmesinde görev alır. Bu kuvvetlerin düzeni aslında çift taraflı olarak birbirini dengeleme ve/veya birbirini yenme üzerine kuruludur. Hücre içinde bulunan birçok kimyasal ve bunlara bağlı olarak üretilen fiziksel güç, hücre dışından gelen kuvvetlerle dengeli bir

şekilde hareket eder; ya da hücre dışından gelen kuvvet ile bir bölgeye yönlendirilir. Bu bağlamda hücreler arası maddenin katılığı, yoğunluğu ve hücre üzerinde oluşturduğu kuvvet önemlidir.

Hücre, dışarıdan gelen kuvvetlerle kendi içindeki düzeni yeniden sağlarken, hücre dışına uyguladığı kuvveti de düzenlemektedir. Bu sayede hücre hem kendi katılığını değiştirebilmekte hem de hücreler arası maddeyi de salgıladığı moleküllerle düzenleyerek katılığını etkileyebilmektedir. Ayrıca hücre dışarıdan gelen sinyallerle yeni odaksal yapışmalar oluşturabilmekte veya var olan odaksal yapışmaları çözebilmektedir. Hücre, dış ortamı daha katı olduğunda daha çok kasılabilir ve yayılabilir, fakat hareket etmesi daha güçtür (18).

Hücre şekli deneysel olarak farklılaştırılabilir. Hücrenin ekildiği yüzey canlı içindeki yapıya ne kadar benzetilirse hücre, *in vivo*'daki haline o kadar benzer. Hücrenin ekildiği yüzeyin özellikleri de hücre şeklini belirleyen etmenlerden biridir. Hücrenin yapışmak istemediği bir protein ile kaplanmış yüzeyde hücre, yapışma yüzeyini en aza indirmek için yuvarlak bir şekilde durmayı tercih ederken, hücreler arası maddede bulunan proteinlerle yapılan desenlemelerde ise hücre şekli ve organizasyonu değişir ayrıca hücre, yapışma proteinlerini hücreler arası maddede olacak şekilde düzenler (19).

Biyolojik süreçler kimyasal ve fiziksel kurallara göre düzenlenmiştir ve biyolojik olaylar bunların sonuçlarıdır. Yaşamı boyunca hücre dışarıdan ve içeriden gelen sinyallere göre şekil değiştirir. Dış sinyaller mitotik işipliklerinin yerleşimini (20), hücre bölünmesini (proliferasyon) (21), hücre şekli yanında apoptozu da (22) düzenler. Deneysel olarak, hücre şekli hücreler arası madde *in vivo* yapışma bölgelerini taklit ederek ayarlanabilir (23). Hücre ve doku kültürlerinin her ikisinde de hücreler kontrollü bir şekilde şekillendirilebilir (24). Deneysel olarak yapışma bölgeleri *microcontact* baskı tekniği ile desenlenip, fibronektin noktalar farklı mekansal dağılımı ile lokalize edilmiştir. Hücre kültürü deneyleri göstermiştir ki, noktalar arası yay biçimi alan hücre şekli fibronektin noktalara göre düzenlenmiştir (19,25). Hücrelerin odaksal yapışmaları vinkülin ve paksillin boyamaları ile gösterilmiş ve bu yapışma moleküllerinin fibronektin noktalar üzerinde yoğunlaştığı görülmüştür. Doku kültürü deneylerinde, fibroblast hücreleri kollajen tip I üzerinde sabitlenmiş, gözlemler sonucunda şekillerin hücre kültüründe olduğu gibi sabitlemeye göre gerçekleştiği görülmüştür. Hem hücre hem doku kültüründe hücrenin oluşturduğu yay yarıçapı noktalar arası uzaklıkla ya da sabitlemeyle artmıştır (19).

Kanser ve normal hücrelerin arasında da birçok fark vardır. Örneğin, normal hücrelerin şekilleri tek düze iken kanser hücreleri morfolojik olarak birbirinden farklıdır. Normal hücreler belirli bir bölgede belirli zamanlarda bölünürken kanser hücrelerinde sınırsız bir şekilde

bölünme söz konusudur ve yüzey sınırından bağımsızdır (*contact inhibition*). Normal hücreler belirli karakteristik özellikler sergilerken kanser hücreleri çok farklı özellikler gösterir (26).

Xenopus blastosist araştırması yapan grup çalışmasında, hücrelerin birbiriyle etkileşime girebilmesi için hücrelerin yer değiştirmesi gerekliliğini belirtmiştir. Yer değiştirme ve etkileşim için modelleme yapan grup, zamana bağlı çalışmalar yapmış ve hücrelerin arasındaki açılara bağlı olarak iki hücrenin arasındaki etkileşimi belirlemeye çalışmışlardır. Normal bir hücre, izole edildikten sonra yüzeyel gerilimini minimize etmek ister ve bu nedenle yuvarlak bir şekle girer. İki hücre tek bağlantı bölgesinden etkileşim halinde ise aralarındaki açı sıfır; eğer o yüzeyde tamamen etkileşim halinde iseler aralarındaki açı doksan derecedir. Hücrelerin birbiriyle olan etkileşimi bağlanma bölgelerinin artması azalması ile yeni oluşumlar için yok olması gerekebilir, bu aşamalar hücrelerin belirli zaman aralıklarında görüntülenmesiyle belirlenip analiz edilebilir. Kortikal aktin, blastosist yapısında yüzeydeki hücrelerde yoğun olarak bulunurken, iç hücre kitlesinde düşük yoğunlukta bulunur. Miyozin II aktin moleküllerine destek olarak iki bölgede de bulunurlar (27).

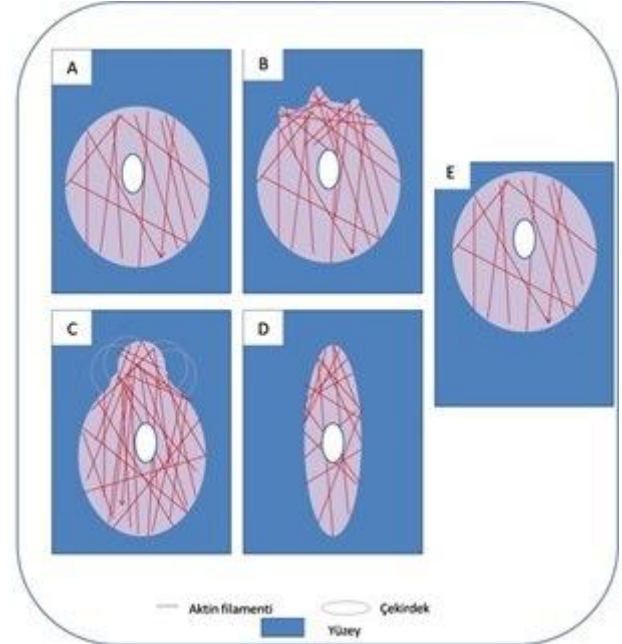
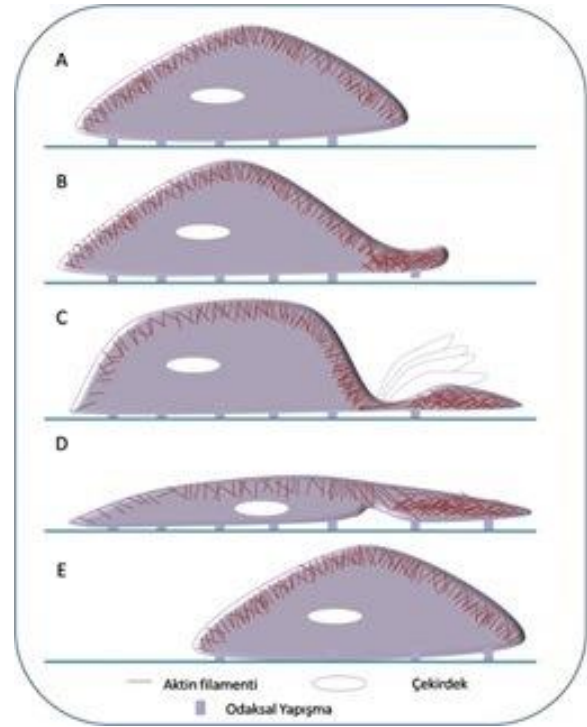
Hücre hareketi için sürekli olarak yapılan ve yıkılan hücre yapışmalarının varlığı gereklidir. Bu süreçte gerekli olan yapım ve yıkım olayları için birçok sinyal yolağının ve molekülün kullanılması gerekir. Hücre hareketini anlamak için, farklı etkenlerin bir araya gelerek oluşturduğu bir olay olduğu göz önüne alınmalıdır. Yapışmaların başlıcaları, odaksal yapışmalar, fibriler yapışmalar, odaksal kompleksler ve podozomlardır. Bu farklı yapışma çeşitleri, farklı moleküller ve farklı sinyal yollarının aktivasyonu sonucu oluşur (28).

Hücre Hareketi ve Polaritesi

Hücre hareketi; hücrelerin canlılığı, birbiriyle olan etkileşimi, gelişmesi ve bölünmesi için gerekli olan bir süreçtir. Bu süreç özellikle embriyolojik dönemde, inflamasyon cevabında, doku yenilenmesinde ve kanserde çalışılmıştır. Hücrenin hareket etmesi için dıştan ya da içten gelen etkiler ile hücre içi protein ifadenmesi değişir ve hücre iskeletindeki yapıları şekillendirir.

Hücre, hücre içerisinden ya da dışarisından gelen yer değiştirmesi için gerekli sinyalleri aldıktan sonra yakın çevresinde tutunacak bir bölge aramaya başlar. Bu tutunulacak bölgeyi bulmak için hücre dışarıya doğru *protrusion* adı verilen çıkıntılar oluşturur. Hücre, hücreler arası maddeye tutunarak ilerleme sağlar. Tutunacak bir bölge bulunduğunda orada yapışma bölgesi oluşturur ve o bölgeye kanca atarak ve yüzey gerilimini artırarak kendini o bölgeye doğru çeker. Bu sırada hücre yüzeyinde akto-miyozine bağlı olarak gerilme gücü oluşur. Bu sırada geride kalan yapışma bölgelerini azaltır

ve o bölgeyi bırakır. Yüzey gerilimini azaltır ve yeni bölgede ilk durumunu alır (29).



Şekil-3. Hücre hareket adımlarının yandan (kutu I) ve üstten (kutu II) görünüşü. **A.** Aktin hücre ve odaksal yapışma aracılığıyla bağlanma yüzeyi ve sinyallere göre biçimlendirilir. **B.** Motilite sinyali geldiğinde aktin kortikal yüzeyde ve önde olan uçta birikir. **C.** Motilite sinyalleri hücreyi yeni odaksal yapışmayı destekleyici yüzeyi aramak için teşvik eder, bunun için hücre yüzeye doğru çıkıntılar oluşturur. **D.** Hücreler kortikal gerginliği ve hücre uzunluğunu artırırken yeni odaksal yapışmalar oluşturur. **E.** Hücreler arka odaksal yapışma komplekslerini çözer ve kortikal gerginliği azaltır.

Hücre hareketindeki basamaklarda birçok yardımcı proteinler görev almaktadır. Bunlardan bazıları kofilin,

integrin-talin kompleksi, aktin bağlantılı protein 2/3 (ARP2/3) kompleksi, forminler, profilin, kapatma proteini ve miyozinlerdir. Kofilin aktin polimerizasyonunun zamansal ve yüzeysel dağılımında görev alan bir proteindir. Kofilin hücre hareket basamağında asimetrik dağılmaya başlayan aktin filamentlerinin polimerizasyonunda görev alır. Ayrıca sonraki adımlarda aktin filamentlerinin yeni dağılım eğiliminde de görev alır (29).

Hücre polaritesi, hücresel komponentlerin ve hücresel yapıların asimetrik organizasyonuna dayanan bir olaydır. Birbirinden farklı hücre tiplerinde (epitel, nöron) gözlemlenmesine rağmen hücre polaritesi temel iki özellik taşımaktadır. Bunlardan ilki hareketli hücre elemanlarının (düzenleyici proteinler) hücrenin karşı kutuplarında asimetrik dağılımı, diğeri ise polarite eksenine boyunca hücre iskeleti elemanlarına (özellikle aktin ve mikrotübüller) odaklı düzenlemedir. Bu iki özellik kutuplaşacak hücrelerde eş zamanlı olarak ortaya çıkar ve bunların etkileşimi hem hücre polaritesinin oluşumu hem de devamlılığında kilit rol oynar (30). Hücre polaritesi: hücre bölünmesi, hücre ölümü, hücre şekil değişimi, hücre göçü ve hücre farklılaşması gibi biyolojik süreçlerde görev alır (31).

Aktin filamentleri ve mikrotübüller doğalarında bulunan polimer örgüleri boyunca kutuplaşma ve hücre polaritesi sinyallerine hızlıca cevap vermelerine olanak sağlayan kendi iç dinamikleri sayesinde hücre polarizasyonu için temel yapıları sağlamak için oldukça uygundur. Aktin filamentleri ve mikrotübüller, nükleotid (ATP veya GTP) hidrolizi ile aktifleşerek bir araya gelen monomerlerden oluşan polarize polimerlerdir. Aktin filamentleri G-aktin bağlanma ve ayrışma hızının farklı olduğu iki farklı uca sahiptir: kancalı ve iğneli uçlar. Aktin filamentlerindeki bu polarize yapı, bütün aktin filamentlerinin aynı yöne doğru hareket etmesine ve hücre iskeleti regülatör moleküllerin polarize dağılımına olanak sağlayarak simetri kıran süreci yönlendirir. Tıpkı aktin filamentlerinde olduğu gibi, mikrotübüller de tübülün bağlanma ve ayrışma hızının farklı olduğu artı ve eksi uçlar içerir. Bu uçların oluşmasında en önemli etken GTP-tübülün ile GDP-tübülün moleküllerinin ayrışma hızının farklı olmasıdır. Mikrotübül yapısında GTP-tübülün bağlanması ve GDP-tübülün ayrışması olayları aynı anda meydana gelir. Bu olaya dinamik kararsızlık adı verilir. Dinamik kararsızlık mikrotübül yapısının asimetriyi inşa etmesini, polarize düzenlemenin devamlılığını ve kararlılığını sağlar (30,32).

Ara filamentler ise non-polarlardır yani kutuplaşma özelliği göstermezler ve genellikle hücre polaritesinin oluşumunda görevli değildirler. Bununla birlikte yapılan son çalışmalar ara filamentler gibi polar olmayan septin protein ailesinin, birçok hücre tipinde hücre polaritesi için önemli olduğunu ortaya koymuştur (30,33,34).

Hücre iskeleti bağlantılı motor proteinler de hücre polaritesi için önemlidir. Bu proteinler ATP hidroliz enerjisi ile şekil değişikliğine uğrayarak aktin filamentleri

veya mikrotübüller üzerinde tek yönlü hareket ederler. Miyozin süper ailesine mensup proteinler, aktin filamentleri üzerinde işlevsel motor proteinlerdir ve birçok miyozin üyesi aktin filamentinin kancalı ucuna doğru hareket eder. Mikrotübül motorları proteinleri ise kinesinleri ve dineini içerir. Kinesinler mikrotübülün artı ucuna doğru hareket ederken dinein ise mikrotübülün eksi ucuna doğru hareket eder (30,35,36).

Genel olarak kargo proteinleri ve organeller, kendilerine özgü hücresel konumlarına aktin ve mikrotübül motor proteinler tarafından taşınırlar. Polarize hücre iskeleti hattı oluşumu için, aktin filamentleri ve mikrotübüllerin organize yapılarının oluşturulması (polimerizasyonu) gerekir. Aktin filamentleri ve mikrotübüllerin organize yapılarının oluşumunun sınırlayıcı basamağı nükleasyon (çekirdek oluşumu) aşamasıdır ki bu aşamada oligomerler hızla uzayarak aktin filamentleri ve mikrotübüllerin yapımının başlamasına öncülük ederler (33,37). Aktin polimerleşmesinde nükleasyon üç aktin monomerinin (G-aktin) bir araya gelerek küçük bir aktin çekirdeği oluşturmasıyla başlar. Bundan sonra monomerler her iki uca polarize şekilde eklenerek aktin filamentlerini oluşturur. Mikrotübül nükleasyonunda ise tübülün dimerlerinden (α ve β tübülün) meydana gelen ön filamanlar boru şeklinde bir çekirdek etrafında genellikle 13'lü gruplar şeklinde organize olarak mikrotübülleri meydana getirirler (16).

Aktin bağlantılı protein 2/3 (Arp 2/3) kompleksi ve formin ailesi proteinleri önemli ölçüde korunmuş aktin nükleasyon proteinleridir ve bu proteinlerin aktivasyonu polarize aktin hattının oluşturulmasında anahtar mekanizmadır. Arp 2/3 kompleksi var olan aktin filamentlerine bağlanarak yaklaşık 70°'lik bir açıyla yeni bir aktin filamenti sentezleyerek dendritik (dallanma gösteren) aktin filament nükleasyonunu oluşturur. Formin ailesi proteinleri ise tropomyozinin de yardımı ile genellikle düz aktin nükleasyonunu gerçekleştirir. Formin ailesi proteinleri, formin homoloji 2 (FH2) domaini ile aktin filament nükleasyonunu gerçekleştirirken, formin homoloji 1 (FH1) domaini ile iplikçiği uzatır. Aktin nükleasyonu hücre membranı ve bu membranla ilişkili proteinlerden oluşan hücre korteksinde gözlenir çünkü nükleasyon faktörleri doğrudan (bazı forminler) ya da dolaylı olarak (Arp 2/3 kompleksi) membrana bağlı Rho ailesi GTPaz'lar (R-GTP) tarafından aktive edilir (30,38).

Aktin nükleasyonundan farklı olarak mikrotübül nükleasyonu, genellikle hücrenin neredeyse merkezinde bulunan sentrozom ya da mikrotübül organize edici merkezler olarak adlandırılan yapıların yakınında gerçekleşir. Mikrotübül organize edici merkezler hücre polaritesini uyaran membran kaynaklı sinyalleri hücre içerisine dağıtmakta görev alırlar. Hücre polarizasyonu sırasında sıklıkla kullanılan mekanizmalardan bir tanesi kortikal faktörler tarafından gerçekleştirilen ve

mikrotübülün artı ucunun kararlılığını arttıran mikrotübül sabitlemesidir (30,39).

Kortikal sabitleme genellikle iki tip protein sınıfının karşılıklı etkileşimi ile ilişkilidir: mikrotübülün artı ucu ile ilişkili proteinler (+TIPs) ve Rho GTPaz'lar ve diğer membran yakınında görev alan proteinlerce kontrol edilen kortikal faktörler. Mikrotübül sabitleme olayı, mikrotübüllerin lokal yoğunluğu arttırır bunun yanı sıra kargoların belirli bölgelere taşınmasında araç olarak kullanılır. +TIP proteinlerinden bir tanesi de dinein proteindir ve bu proteinde mikrotübül sabitlemesi sürecinde görev alır. Ayrıca ilkel ökaryotlarda hücre şeklinin sürekliliği yoğun şekilde paketlenmiş mikrotübül yapılarıyla sağlanır (30,40).

Dinein ilişkili mikrotübül sabitlemesi, mikrotübül nükleasyonundan sorumlu olan mikrotübül organize edici bölgelerin konumunun belirlenmesinde önemlidir. Dinein bağıntılı mikrotübül sabitlenmesi özellikle göç eden hücrelerde ve T hücrelerinde gözlemlenir (30).

Aktin bağıntılı hücre simetrisi kırılması hücre polaritesinin oluşumunda önemlidir. Cdc42 ve miyozin V aracılığı ile gerçekleşen aktine bağlı hücre simetrisi yıkımı mayada (*S. cerevisiae*) çalşılmış ve önemli veriler ortaya konmuştur. Çalışmada G1 aşamasında duraksamış ve polarize olmamış mayalarda Cdc42'nin sürekli olarak aktif kalacak şekilde uyarmasının, aktin filamentlerinin bir kutupta yoğunlaşmasına ve maya hücrelerinde spontan bir polarizasyonun meydana gelmesine neden olduğu gösterilmiştir. Çalışmada Cdc42 ya da miyozin V'in bloke edilmesinin kendiliğinden gerçekleşen hücre polarizasyonunu önlediği gösterilmiş böylece olayda miyozin V'in de etkili olduğu ortaya konmuştur (41).

Aktin bağıntılı hücre simetrisi kırılımının önemli olduğu bir diğer süreç asimetrik hücre bölünmesidir. Örneğin *C.elegans* zigotunda döllenmeden hemen sonra oluşan, anterior- posterior (A-P) kutuplaşmanın gözlemlendiği bir asimetrik bölünme gözlemlenir. A-P kutuplaşması PAR (partitioning defective proteins) protein setlerinin zigotun farklı kutuplarına karşılıklı olarak yerleşmeleri ile karakterizedir. PAR3, PAR6 ve atipik protein kinaz C (aPKC) zigotun anterioruna yerleşirken, PAR1 ve PAR2 posterior kutba yerleşir. PAR3, PAR6 ve aPKC aktin filamentlerini kendine doğru çeker. Bu hareket sırasında miyozin II aktin filamentleri anterior kısma doğru hareketinde görev alır. Miyozin II'nin RNA müdahalesi ile yıkımı ve PAR3 ile PAR6 proteinlerinin yokluğunda asimetrik bölünmenin gerçekleşmemesi bu moleküllerin aktine bağlı simetri kırılmasında önemli rol oynadığının göstergesidir (5,30).

Hücre polaritesinin stabilitesi, hücrelerin farklılaşmış yapılarının ve işlevlerinin devamlılığı için zorunludur ve hücre polaritesinin dayanıklılığı hücre tipine bağlı olarak değişir. Polarize durumun dayanıklılığını düzenlenmesi hakkında aydınlatılması gereken birçok konu olmasına rağmen, aktinin endositik işlev yoluyla dinamik bir şekilde hücre polaritesinin devamlılığına katkı sağladığı buna karşılık mikrotübüllerin ise hücre polaritesinin dayanıklılığı için önemli olduğu bilinmektedir (30).

Dallanmış aktin ağının polimerizasyonu motor protein miyozin I ile birlikte endositik membranların içe doğru katlanmasıyla ve uzamasını kontrol eder ayrıca veziküllerin kesimine öncülük eder. Örneğin mayada, membrana bağlı proteinlerin çevrimi (*recycling*; çevrim, geri döngü) endositik çevrim adı verilen süreç ile gerçekleştirilir. Bu olayda aktin ağının kurulmasında görevli olan Arp2/3 kompleksi ve birçok NPF görev alır. Hücre polaritesinde endositozun gerekli olduğu, asimetrik bölünen kök hücrelerde ve epitel hücrelerinde saptanmıştır. Ayrıca *C.elegans*'ta yapılan bir deneyde hücre polaritesinde düzenleyici rolü olan CDC-42 ve PAR proteinlerinin membran trafiğinin düzenlenmesinde de görev aldığı gösterilmiştir (30,42).

Mikrotübüller ise aktin filamentlerince oluşturulan polaritenin devamlılığı ve dayanıklılığında önemlidir. Örneğin epitel hücrelerinde polarizasyonun oluşumundan hemen sonra çarpıcı şekilde, mikrotübüller ışınal sentrozomal düzenden sentrozomal olmayan düzene geçer ve sentrozomal olmayan düzende mikrotübüller eksi uçları apikal ve artı uçları bazal kutuplara gelecek dizilirler (30,38).

Epitelyal kaderin (E-kaderin) ile aderens bağlantıların kurulması sentrozomal olmayan düzene geçişi tetikler ve epitelyal mikrotübül kararlılığını arttırarak hücre polaritesinin dayanıklılığına katkıda bulunur. Bu süreçte aPKC, EB1 ve APC gibi moleküller polaritenin devamlılığında rol oynar (30).

Sonuç

Hücre iskelet bileşenleri, hücre polaritesinden sorumlu yapılar ve bunların işlevi sonucu oluşan hücre bölünme tipleri iç içe geçmiş ve aydınlatılması mutlak zorunlu bir hal almıştır. Tüm bu bileşenlere iç ve dış hücre sinyal yolları, hücre ifadesi ve hücre morfolojisinin çeşitliliği eklendiğinde hücre davranışının ve hücre trafik yoğunluğunun ne kadar karmaşık olduğu ortaya çıkmaktadır. Bu süreçteki tüm mekanizmasal aydınlanmalar, karsinogenezis, embriyogenezis gibi ana konularda da yeni tanımlamalara ve çözümlemelere yol açacaktır.

Kaynaklar

1. Shahriyari L, Komarova NL. Symmetric vs. asymmetric stem cell divisions: An adaptation against cancer? *PloS One*. 2013;8(10):e76195.
2. Yatabe Y, Tavare S, Shibata D. Investigating stem cells in human colon by using methylation patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001;98(19):10839-44.
3. Horvitz HR, Herskowitz I. Mechanisms of asymmetric cell division: Two Bs or not two Bs, that is the question. *Cell* 1992;68(2):237-55.
4. Glotzer M. Cleavage furrow positioning. *J Cell Biol* 2004;164(3):347-51.
5. Cowan CR, Hyman AA. Asymmetric cell division in *C. elegans*: Cortical polarity and spindle positioning. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004;20:427-53.
6. Neumuller RA, Knoblich JA. Dividing cellular asymmetry: asymmetric cell division and its implications for stem cells and cancer. *Genes Dev* 2009;23(23):2675-99.
7. Lechler T, Fuchs E. Asymmetric cell divisions promote stratification and differentiation of mammalian skin. *Nature* 2005;437(7056):275-80.
8. Smart IH. Variation in the plane of cell cleavage during the process of stratification in the mouse epidermis. *Br J Dermatol* 1970;82(3):276-82.
9. Fuchs E, Raghavan S. Getting under the skin of epidermal morphogenesis. *Nat Rev Genet* 2002;3(3):199-209.
10. Watt FM. Role of integrins in regulating epidermal adhesion, growth and differentiation. *EMBO J* 2002;21(15):3919-26.
11. Blanpain C, Lowry WE, Pasolli HA, Fuchs E. Canonical notch signaling functions as a commitment switch in the epidermal lineage. *Genes Dev* 2006;20(21):3022-35.
12. Le Roy H, Zuliani T, Wolowczuk I, et al. Asymmetric distribution of epidermal growth factor receptor directs the fate of normal and cancer keratinocytes in vitro. *Stem Cells Dev* 2010;19(2):209-20.
13. Williams SE, Beronja S, Pasolli HA, Fuchs E. Asymmetric cell divisions promote notch-dependent epidermal differentiation. *Nature* 2011;470(7334):353-8.
14. Ray S, Lechler T. Regulation of asymmetric cell division in the epidermis. *Cell Div* 2011;6(1):12.
15. Teixido-Travesa N, Villen J, Lacasa C, et al. The gammaTuRC revisited: A comparative analysis of interphase and mitotic human gammaTuRC redefines the set of core components and identifies the novel subunit GCP8. *Mol Biol Cell* 2010;21(22):3963-72.
16. Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd ed, ASM Press; Boston:2000.
17. Paluch E, Heisenberg C-P. Biology and physics of cell shape changes in development. *Curr Biol* 2009;19(17):R790-9.
18. Lange JR, Fabry B. Cell and tissue mechanics in cell migration. *Exp Cell Res* 2013;319(16):2418-23.
19. Bischofs IB, Klein F, Lehnert D, Bastmeyer M, Schwarz US. Filamentous network mechanics and active contractility determine cell and tissue shape. *Biophys J* 2008;95(7):3488-96.
20. Thery M, Jimenez-Dalmaroni A, Racine V, Bornens M, Julicher F. Experimental and theoretical study of mitotic spindle orientation. *Nature* 2007;447(7143):493-6.
21. Nelson CM, Jean RP, Tan JL, et al. Emergent patterns of growth controlled by multicellular form and mechanics. *Proc Natl Acad Sci* 2005;102(33):11594-9.
22. Chen CS, Alonso JL, Ostuni E, Whitesides GM, Ingber DE. Cell shape provides global control of focal adhesion assembly. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;307(2):355-61.
23. Bischofs IB, Schmidt SS, Schwarz US. Effect of adhesion geometry and rigidity on cellular force distributions. *Phys Rev Lett* 2009;103(4):048101.
24. Albert Philipp J, Schwarz Ulrich S. Dynamics of cell shape and forces on micropatterned substrates predicted by a cellular potts model. *Biophys J* 2014;106(11):2340-52.
25. Labouesse C, Verkhovsky AB, Meister JJ, Gabella C, Vianay B. Cell shape dynamics reveal balance of elasticity and contractility in peripheral arcs. *Biophys J* 2015;108(10):2437-47.
26. Hanahan D, Weinberg Robert A. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* 2011;144(5):646-74.
27. David R, Luu O, Damm EW, Wen JW, Nagel M, Winklbauer R. Tissue cohesion and the mechanics of cell rearrangement. *Development* 2014;141(19):3672-82.
28. Webb DJ, Parsons JT, Horwitz AF. Adhesion assembly, disassembly and turnover in migrating cells -- over and over and over again. *Nat Cell Biol* 2002;4(4):E97-100.
29. Bravo-Cordero JJ, Magalhaes MA, Eddy RJ, Hodgson L, Condeelis J. Functions of cofilin in cell locomotion and invasion. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013;14(7):405-15.
30. Li R, Gundersen GG. Beyond polymer polarity: How the cytoskeleton builds a polarized cell. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9(11):860-73.
31. Lecuit T, Le Goff L. Orchestrating size and shape during morphogenesis. *Nature* 2007;450(7167):189-92.
32. des Georges A, Katsuki M, Drummond DR, Osei M, Cross RA, Amos LA. Mal3, the *Schizosaccharomyces pombe* homolog of EB1, changes the microtubule lattice. *Nat Struct Mol Biol* 2008;15(10):1102-08.
33. Barton JS, Riazhi GH. Evidence for two growth steps in microtubule polymerization. *Biochim Biophys Acta* 1980;630(3):392-401.
34. Goldman RD, Grin B, Mendez MG, Kuczmarski ER. Intermediate filaments: Versatile building blocks of cell structure. *Curr Opin Cell Biol* 2008;20(1):28-34.
35. Ikebe M. Regulation of the function of mammalian myosin and its conformational change. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;369(1):157-64.
36. Numata N, Kon T, Shima T, et al. Molecular mechanism of force generation by dynein, a molecular motor belonging to the AAA+ family. *Biochem Soc Trans* 2008;36(Pt 1):131-5.
37. Wegner A, Engel J. Kinetics of the cooperative association of actin to actin filament. *Biophys Chem* 1975;3(3):215-25.

38. Bornens M. Organelle positioning and cell polarity. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9(11):874-86.
39. Lansbergen G, Akhmanova A. Microtubule plus end: A hub of cellular activities. *Traffic* 2006;7(5):499-507.
40. Gundersen GG, Gomes ER, Wen Y. Cortical control of microtubule stability and polarization. *Cur Opin Cell Biol* 2004;16(1):106-12.
41. Wedlich-Soldner R, Altschuler S, Wu L, Li R. Spontaneous cell polarization through actomyosin-based delivery of the Cdc42 GTPase. *Science* 2003;299(5610):1231-5.
42. Kaksonen M, Toret CP, Drubin DG. Harnessing actin dynamics for clathrin-mediated endocytosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006;7(6):404-14.

YAZARLARA BİLGİ

AMAÇ ve KAPSAM

Ege Tıp Dergisi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin yayın organı olup, üç ayda bir yayımlanır ve dört sayı ile bir cilt tamamlanır. Dergi; tüm tıp alanlarıyla ilgili nitelikli klinik ve deneysel araştırmaları, olgu sunumlarını ve editöre mektupları yayımlar.

Ege Tıp Dergisi, bilimsel yayınlara açık erişim sağlar. Dergi basımından hemen sonra, makalelerin tam metinlerine ücretsiz ulaşılabilir. Yazarlardan makale yayımı için herhangi bir ücret talep edilmez.

Dergide yayımlanmak üzere gönderilen yazıların daha önce başka bir yerde yayımlanmamış veya yayımlanmak üzere gönderilmemiş olması gerekir. Daha önce kongrelerde sunulmuş çalışmalar, bu durum belirtilmek koşuluyla kabul edilir. Makale, yazar(lar)ın daha önce yayımladığı bir yazısındaki konuların bir kısmını içeriyorsa bu durum belirtilmeli ve yeni yazı ile birlikte önceki makalenin bir kopyası da Yayın Bürosu'na gönderilmelidir.

Gönderilen yazılar; Editör, Editör Yardımcısı ya da Yayın Kurulu Üyesi tarafından incelenir. Editör, Editör Yardımcısı ya da Yayın Kurulu Üyesi, yayın koşullarına uymayan yazıları yayımlanmamak, düzeltmek üzere yazar(lar)a geri göndermek, biçimce düzenlemek veya reddetmek yetkisine sahiptir. Editör, Editör Yardımcısı ya da Yayın Kurulu Üyesi, uygun gördüğü yazıyı incelemek üzere danışman(lar)a gönderir. Gerekli olduğu durumlarda, yazar(lar)dan düzeltme istenebilir. Yazardan düzeltme istenmesi, yazının yayımlanacağı anlamına gelmez. Bu düzeltmelerin en geç 21 gün içinde tamamlanıp dergiyeye gönderilmesi gereklidir. Aksi halde yeni başvuru olarak değerlendirilir. Sorumlu yazara yazının kabul veya reddedildiğine dair bilgi verilir.

Dergide yayımlanan yazıların etik, bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazar(lar)a ait olup Editör, Editör Yardımcısı ve Yayın Kurulu'nun görüşlerini yansıtmaz.

Dergide yayımlanması kabul edilse de edilmese de, yazı materyali yazarlara geri verilmez. Dergide yayımlanan yazılar için telif hakkı ödenmez. Bir adet dergi, sorumlu yazara gönderilir.

Derginin Yazı Dili

Derginin yazı dili Türkçe ve İngilizcedir. Dili Türkçe olan yazılar, İngilizce özetleri ile yer alır. Yazının hazırlanması sırasında, Türkçe kelimeler için Türk Dil Kurumundan (www.tdk.gov.tr), teknik terimler için Türk Tıp Terminolojisinden (www.tipterimleri.com) yararlanılabilir.

Yazarlık Kriterleri

Makalenin yayımlanması uygun bulunduktan sonra, tüm yazarlardan "Yayın Hakkı Devir Formu"nu imzalamaları istenir: "*Biz, aşağıda isimleri olan yazarlar, bu makalenin yazılması yanında, çalışmanın planlanması, yapılması ve verilerin analiz edilmesi aşamalarında da aktif olarak rol aldığımızı ve bu çalışma ile ilgili her türlü sorumluluğu kabul ettiğimizi beyan ederiz. Makalemiz geçerli bir çalışmadır. Hepimiz makalenin son halini gözden geçirdik ve yayımlanması için uygun bulduk. Ne bu makale ne de bu makaleye benzer içerikte başka bir çalışma hiçbir yerde yayımlanmadı veya yayımlanmak üzere gönderilmedi. Gerekmesi durumunda makale ile ilgili bütün verileri editörlere göndermeyi de garanti ediyoruz. Ege Tıp Dergisi'nin bu makaleyi değerlendirmesi ve yayınlaması durumunda, makale ile ilgili tüm telif haklarımızı Ege Tıp Dergisi'ne devrettiğimizi beyan ve kabul ederiz. Yazarlar olarak, telif hakkı ihlali nedeniyle üçüncü şahıslarca istenecek hak talebi veya açılacak davalarda Ege Tıp Dergisi Editör, Editör Yardımcıları ve Yayın Kurulu'nun hiçbir sorumluluğunun olmadığını yazarlar olarak taahhüt ederiz. Ayrıca, makalede hiçbir suç unsuru veya kanuna aykırı ifade bulunmadığını, araştırma yapıldırken kanuna aykırı herhangi bir malzeme ve yöntem kullanılmadığını,*

çalışma ile ilgili tüm yasal izinleri aldığımızı ve etik kurallara uygun hareket ettiğimizi taahhüt ederiz."

Ege Tıp Dergisi, Uluslararası Tıp Dergileri Editörleri Kurulu'nun (*International Committee of Medical Journal Editors*) "Biyomedikal Dergilere Gönderilen Makalelerin Uyması Gereken Standartlar: Biyomedikal Yayınların Yazımı ve Baskıya Hazırlanması (*Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication*)" standartlarını kullanmayı kabul etmektedir. "Ege Tıp Dergisi Yazarlara Bilgi" içeriği, bu sürümden yararlanarak hazırlanmıştır. Bu konudaki bilgiye www.icmje.org adresinden ulaşılabilir.

Etik Sorumluluk

Ege Tıp Dergisi, etik ve bilimsel standartlara uygun makaleleri yayımlar. Makalelerin etik kurallara uygunluğu yazarların sorumluluğundadır. Tüm prospektif çalışmalar için, çalışmanın yapıldığı kurumdan Etik Kurul onayı alınmalı ve yazının içinde belirtilmelidir. Olgu sunumlarında; etik ve yasal kurallar gereği, hastanın mahremiyetinin korunmasına özen gösterilmelidir. Hastaların kimliğini tanımlayıcı bilgiler ve fotoğraflar, hastanın (ya da yasal vasisinin) yazılı bilgilendirilmiş onamı olmadan başlamadığından, "*Hastadan (ya da yasal vasisinden) tıbbi verilerinin yayımlanabileceğine ilişkin yazılı onam belgesi alındı*" cümlesi, makale metninde yer almalıdır.

Ege Tıp Dergisi, deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, genel kabul gören ilgili etik kurallara uyulması zorunluluğunu hatırlatır. Alınmış Etik Kurul Onayı, makale ile birlikte sisteme yüklenmelidir.

Yazar(lar), ticari bağlantı veya çalışma için maddi destek veren kurum varlığında; kullanılan ticari ürün, ilaç, firma vb. ile nasıl bir ilişkisi olduğunu sunum sayfasında Editöre bildirilmelidir. Böyle bir durumun yokluğu da yine ayrı bir sayfada belirtilmelidir.

YAZI TÜRLERİ

Yazılar, elektronik ortamda www.egetipdergisi.com.tr adresine gönderilir.

Orijinal makaleler, 3000 sözcük sayısını aşmamalı, "Öz (250 sözcükten fazla olmamalı), Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma, Sonuç, Kaynaklar" bölümlerinden oluşmalıdır.

Olgu Sunumu, "Öz, Giriş, Olgu Sunumu, Tartışma, Kaynaklar" şeklinde düzenlenmelidir. En fazla 1000 sözcük ve 10 kaynak ile sınırlıdır. Sadece bir tablo ya da bir şekil ile desteklenebilir.

Editöre Mektup, yayımlanan metinlerle veya mesleki konularla ilgili olarak 500 sözcüğü aşmayan ve beş kaynak ile bir tablo veya şekil içerecek şekilde yazılabilir. Ayrıca daha önce dergide yayınlanmış metinlerle ilişkili mektuplara cevap hakkı verilir.

Yayın Kurulu'nun daveti üzerine yazılanlar dışında *derleme* kabul edilmez.

MAKALENİN HAZIRLANMASI

Dergide yayımlanması istenilen yazı için aşağıdaki kurallara uyulmalıdır.

- Yazı; iki satır aralıklı olarak, Arial 10 punto ile yazılmalıdır.
- Sayfalar başlık sayfasından başlamak üzere, sağ üst köşesinde numaralandırılmalıdır.
- Online makale sistemine yüklenen *word* dosyasının başlık sayfasında (makalenin adını içeren başlık sayfası), yazarlara ait isim ve kurum bilgileri yer almamalıdır.
- Makale, şu bölümleri içermelidir: Her biri ayrı sayfada yazılmak üzere; Türkçe ve İngilizce Başlık Sayfası, Öz, Abstract, Anahtar Sözcükler, *Keywords*, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma, Sonuç, Açıklamalar (varsa), Kaynaklar, Şekil Alt Yazıları, Tablolar (başlıkları ve açıklamalarıyla beraber), Ekler (varsa).

Yazının Başlığı

Kısa, kolay anlaşılır ve yazının içeriğini tanımlar özellikle olmalıdır.

Özetler

Türkçe (Öz) ve İngilizce (*Abstract*) olarak yazılmalı, Amaç, Gereç ve Yöntem, Bulgular ve Sonuç (*Aim, Materials and Methods, Results, Conclusion*) olmak üzere dört bölüme ayrılmalı, en fazla 250 sözcük içermelidir. Araştırmanın amacı, yapılan işlemler, gözlemsel ve analitik yöntemler, temel bulgular ve ana sonuçlar belirtilmelidir. Özetle kaynak kullanılmamalıdır. Editöre mektup için özet gerekmemektedir.

Anahtar Sözcükler

Türkçe Öz ve İngilizce *Abstract* bölümünün sonunda, Anahtar Sözcükler ve *Keywords* başlığı altında, bilimsel yazının ana başlıklarını yakalayan, *Index Medicus Medical Subject Headings (MeSH)*'e uygun olarak yazılmış en fazla beş anahtar sözcük olmalıdır. Anahtar sözcüklerin, Türkiye Bilim Terimleri'nden (www.bilimterimleri.com) seçilmesine özen gösterilmelidir.

Metin

Yazı metni, yazının türüne göre yukarıda tanımlanan bölümlerden oluşmalıdır. Uygulanan istatistiksel yöntem, Gereç ve Yöntem bölümünde belirtilmelidir.

Kaynaklar

Ege Tıp Dergisi, Türkçe kaynaklardan yararlanmaya özel önem verdiğini belirtir ve yazarların bu konuda duyarlı olmasını bekler.

Kaynaklar metinde yer aldıkları sırayla, cümle içinde atıfta bulunulan ad veya özelliği belirten kelimenin hemen bittiği yerde, ya da cümle bitiminde noktadan önce parantez içinde Arabik rakamlarla numaralandırılmalıdır. Metinde, tablolarda ve şekil alt yazılarında kaynaklar, parantez içinde Arabik numaralarla nitelendirilir. Sadece tablo veya şekil alt yazılarında kullanılan kaynaklar, tablo ya da şeklin metindeki ilk yer aldığı sıraya uygun olarak numaralandırılmalıdır. Dergi başlıkları, *Index Medicus*'ta kullanılan tarza uygun olarak kısaltılmalıdır. Kısaltılmış yazar ve dergi adlarından sonra nokta olmamalıdır. Yazar sayısı altı veya daha az olan kaynaklarda tüm yazarların adı yazılmalı, yedi veya daha fazla olan kaynaklarda ise üç yazar adından sonra *et al.* veya *ark.* yazılmalıdır. Kaynak gösterilen derginin sayı ve cilt numarası mutlaka yazılmalıdır.

Kaynaklar, yazının alındığı dilde ve aşağıdaki örneklerde görüldüğü şekilde düzenlenmelidir.

Dergilerdeki yazılar

Tkacova R, Toth S, Sin DD. Inhaled corticosteroids and survival in COPD patients receiving long-term home oxygen therapy. *Respir Med* 2006;100(3):385-92.

Ek sayı (Supplement)

Solca M. Acute pain management: Unmet needs and new advances in pain management. *Eur J Anaesthesiol* 2002;19(Suppl 25):3-10.

Henüz yayınlanmamış online makale

Butterly SJ, Pillans P, Horn B, Miles R, Sturtevant J. Off-label use of rituximab in a tertiary Queensland hospital. *Intern Med J* doi: 10.1111/j.1445-5994.2009.01988.x

Kitap

Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji. 2. Baskı. İzmir: Bilgehan Basımevi; 1986:137-40.

Kitap bölümü

McEwen WK, Goodner IK. Secretion of tears and blinking. In: Davson H (ed). *The Eye*. Vol. 3, 2nd ed. New York: Academic Press; 1969:34-78.

İnternet makalesi

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: The ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet] 2002 [cited 12 Aug 2002]. Available from: www.nursingworld.org/AJN/2002/june/wawatch.htm

Web Sitesi

Cancer-pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources [updated 16 May 2002; cited 9 July 2002]. Available from: www.cancer-pain.org

Açıklamalar

Varsa finansal kaynaklar, katkı sağlayan kurum, kuruluş ve kişiler bu bölümde belirtilmelidir.

Tablolar

Tablolar metni tamamlayıcı olmalı, metin içerisinde tekrarlanan bilgiler içermemelidir. Metinde yer alma sıralarına göre Arabik sayılarla numaralandırılıp tablonun üstüne kısa ve açıklayıcı bir başlık yazılmalıdır. Tabloda yer alan kısaltmalar, tablonun hemen altında açıklanmalıdır. Dipnotlarda sırasıyla şu semboller kullanılabilir: *, †, ‡, §, ¶.

Şekiller

Şekil, resim, grafik ve fotoğrafların tümü "Şekil" olarak adlandırılmalı ve ayrı birer *.jpg* veya *.gif* dosyası olarak (yaklaşık 500x400 piksel, 8 cm eninde ve 300 dpi çözünürlükte) sisteme eklenmelidir. Şekiller metin içinde kullanım sıralarına göre Arabik rakamla numaralandırılmalı ve metinde parantez içinde gösterilmelidir.

Şekil Alt Yazıları

Şekil alt yazıları, her biri ayrı bir sayfadan başlayarak, şekillere karşılık gelen Arabik rakamlarla çift aralıklı olarak yazılmalıdır. Şeklin belirli bölümlerini işaret eden sembol, ok veya harfler kullanıldığında bunlar alt yazıda açıklanmalıdır. Başka yerde yayınlanmış olan şekiller kullanıldığında, yazarın bu konuda izin almış olması ve bunu belgelemesi gerekir.

Ölçümler ve Kısaltmalar

Tüm ölçümler metrik sisteme (Uluslararası Birimler Sistemi, SI) göre yazılmalıdır. Örnek: mg/kg, µg/kg, mL, mL/kg, mL/kg/h, mL/kg/min, L/min, mmHg, vb. Ölçümler ve istatistiksel veriler, cümle başında olmadıkları sürece rakamla belirtilmelidir. Herhangi bir birimi ifade etmeyen ve dokuzdan küçük sayılar yazı ile yazılmalıdır.

Metin içindeki kısaltmalar, ilk kullanıldıkları yerde parantez içinde açıklanmalıdır. Bazı sık kullanılan kısaltmalar; *iv*, *im*, *po* ve *sc* şeklinde yazılabilir.

İlaçların yazımında jenerik isimleri kullanılmalıdır.

İletişim

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayın Bürosu

Bornova 35100-İZMİR

Tel : 0 232 3903103 / 232 3903186

Faks : 0 232 3422142

E-posta : editor@egetipdergisi.com.tr

Web adresi : www.egetipdergisi.com.tr

Kontrol Listesi

- Türkçe ve İngilizce başlık
- Türkçe ve İngilizce özet
- Türkçe ve İngilizce anahtar sözcükler (En fazla 5 sözcük)
- İki satır aralıklı yazılmış metin (Arial, 10 punto)
- Kurallara uygun hazırlanmış tablo ve şekiller
- Kurallara uygun yazılmış kaynaklar
- İmzalı "Yayın Hakkı Devir Formu" (makale yayın için kabul edildikten sonra istenmektedir)

INFORMATION FOR AUTHORS

AIMS AND SCOPE

Ege Journal of Medicine is the official journal of Ege University Faculty of Medicine with four issues published quarterly. Its purpose is to publish high-quality original clinical and experimental studies, case reports and letters to the editor.

Ege Journal of Medicine provides open access for academic publications. The journal provides free access to the full texts of all articles immediately upon publication. The journal does not request any charges for article processing or article submission. There is no charge for readers to download articles, case reports and reviews for their own scholarly use. The journal is free to all at any time. To provide this the journal relies on financial resources of Ege University, the voluntary work of its editorial team and advisory board, and the continuing support of its network of peer reviewers.

The Journal will not consider manuscripts any that have been published elsewhere, or manuscripts that are being considered for another publication, or are in press. Studies previously announced in the congresses are accepted if this condition is stated. If any part of a manuscript by the same author(s) contains any information that was previously published, a reprint or a copy of the previous article should be submitted to the Editorial Office with an explanation by the authors.

All manuscripts are reviewed by the Editor, Associate Editor or a member of the Editorial Board. The Editor, Associate Editor and the member of the Editorial Board have right not to publish or send back to author(s) to be amended, edit or reject the manuscript. For further review, the Associate Editor or Editorial Board member sends the article to the referee(s). If necessary, author(s) may be invited to submit a revised version of the manuscript. This invitation does not imply that the manuscript will be accepted for publication. Revised manuscripts must be sent to the Editorial Office within 21 days, otherwise they will be considered as a new application. The corresponding author will be notified of the decision to accept or reject the manuscript for publication.

Statements and suggestions published in manuscripts are the authors' responsibility and do not reflect the opinions of the Editor, Associate Editors and the Editorial Board members.

The manuscript will not be returned to the authors whether the article is accepted or not. Copyright fee is not paid for the articles published in the journal. A copy of the journal will be sent to the corresponding author.

Language of the Journal

The official languages of the Journal are Turkish and English. The manuscripts that are written in Turkish have abstracts in English, which makes the abstracts available to a broader audience.

Authorship Criteria

After accepted for publication, all the authors will be asked to sign "Copyright Transfer Form" which states the following: "*We, all the authors certify that, we have all participated sufficiently in the conception and design of this work and the analysis of data, as well as the writing of the manuscript to take public responsibility for it. We declare that the manuscript represents valid work. We have all reviewed the final version of the manuscript and approve it for publication. Neither this manuscript nor one with substantially similar content under our authorship has been published or being considered for publication elsewhere. Furthermore, we declare that we will produce the data upon which the manuscript is based for examination by the editors or associates if requested. In consideration of the action of Ege Journal of Medicine in reviewing and editing this submission (manuscript, tables and*

figures) all copyright ownership is hereby transferred, assigned or otherwise conveyed to Ege Journal of Medicine, in the event that such work is published by Ege Journal of Medicine. We also warrant that Editor, Associate Editors and the Editorial Board members of Ege Journal of Medicine will not be held liable against all copyright claims of any third party or in lawsuits that may be filed in the future. We acknowledge that the article contains no libellous or unlawful statements, we did not use any unlawful method or material during the research, we obtained all legal permissions pertaining to the research, and we adhered to ethical principles during the research."

Ege Journal of Medicine has agreed to use the standards of the International Committee of Medical Journal Editors. The author(s) should meet the criteria for authorship according to the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication. It is available at www.icmje.org.

Ethical Responsibility

Ege Journal of Medicine publishes papers conforming ethical and scientific standards. It is the authors' responsibility to ensure compliance to ethical rules. For all prospective studies, Ethics Committee approval should be obtained from the local institution and it should be stated in the manuscript. In case reports, according to ethical and legal rules, special attention is required to protect patient's anonymity. Identifying information and photographs cannot be printed unless disclosure is allowed by a written consent of the patient (or his/her legal custodian). Case reports should include a statement such as: "*Written informed consent was obtained from the patient (or from his/her legal custodian) for publishing the individual medical records.*"

Any experiments involving animals must include a statement in the Materials and Methods section giving assurance that all animals have received humane care in compliance with the *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (www.nap.edu/catalog/5140.html) and indicating approval by the local institutional Ethics Committee.

Note also that for publishing purposes, the Journal requires acknowledgement of any potential conflicts of interest. This should involve acknowledgement of grants and other sources of funds that support reported research and a declaration of any relevant industrial links or affiliations that the authors may have.

TYPES OF MANUSCRIPT

Manuscripts should be submitted online via the journal's website: www.egetipdergisi.com.tr.

Original Articles should not exceed 3000 words and should be arranged under the headings of Abstract (not more than 250 words), Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusion and References.

Case Reports should not exceed 1000 words and 10 references, and should be arranged as follows: Abstract, Introduction, Case Report, Discussion and References. It may be accompanied by one figure or one table.

Letter to the Editor should not exceed 500 words. Short relevant comments on medical and scientific issues, particularly controversies, having no more than five references and one table or figure are encouraged. Where letters refer to an earlier published paper, authors will be offered right of reply.

Reviews are not accepted unless written on the invitation of the Publication Committee.

PREPARATION OF MANUSCRIPTS

All articles submitted to the Journal must comply with the following instructions:

a) Submissions should be doubled-spaced and typed in Arial 10 points.

b) All pages should be numbered consecutively in the top right-hand corner, beginning with the title page.

c) The title page should not include the names and institutions of the authors.

d) The manuscript should be presented in the following order: Title page, Abstract (English, Turkish), Keywords (English, Turkish), Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusion, Acknowledgements (if present), References, Figure Legends, Tables (each table, complete with title and foot-notes, on a separate page) and Appendices (if present) presented each on a separate page.

Title

The title should be short, easy to understand and must define the contents of the article.

Abstract

Abstract should be in both English and Turkish and should consist "Aim, Materials and Methods, Results and Conclusion". The purpose of the study, the setting for the study, the subjects, the treatment or intervention, principal outcomes measured, the type of statistical analysis and the outcome of the study should be stated in this section (up to 250 words). Abstract should not include reference. No abstract is required for the letters to the Editor.

Keywords

Not more than five keywords in order of importance for indexing purposes should be supplied below the abstract and should be selected from Index Medicus Medical Subject Headings (MeSH), available at www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html

Text

Authors should use subheadings to divide sections regarding the type of the manuscript as described above. Statistical methods used should be specified in the Materials and Methods section.

References

In the text, references should be cited using Arabic numerals in parenthesis in the order in which they appear. If cited only in tables or figure legends, they should be numbered according to the first identification of the table or figure in the text. Names of the journals should be abbreviated in the style used in Index Medicus. The names of all authors should be cited when there are six or fewer; when seven or more, the first three should be followed by *et al.* The issue and volume numbers of the referenced journal should be added.

References should be listed in the following form:

Journal article

Tkacova R, Toth S, Sin DD. Inhaled corticosteroids and survival in COPD patients receiving long-term home oxygen therapy. *Respir Med* 2006;100(3):385-92.

Supplement

Solca M. Acute pain management: Unmet needs and new advances in pain management. *Eur J Anaesthesiol* 2002; 19(Suppl 25):3-10.

Online article not yet published in an issue

Butterly SJ, Pillans P, Horn B, Miles R, Sturtevant J. Off-label use of rituximab in a tertiary Queensland hospital. *Intern Med J* doi: 10.1111/j.1445-5994.2009.01988.x

Book

Kaufmann HE, Baron BA, McDonald MB, Waltman SR (eds). *The Cornea*. New York: Churchill Livingstone; 1988:115-20.

Chapter in a book

McEwen WK, Goodner IK. Secretion of tears and blinking. In: Davson H (ed). *The Eye*. Vol. 3, 2nd ed. New York: Academic Press; 1969:34-78.

Journal article on the Internet

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: The ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet] 2002 [cited 12 Aug 2002]. Available from: www.nursingworld.org/AJN/2002/june/wawatch.htm

Website

Cancer-pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources [updated 16 May 2002; cited 9 Jul 2002]. Available from: www.cancer-pain.org

Acknowledgements

The source of financial grants and the contribution of colleagues or institutions (if present) should be acknowledged.

Tables

Tables should be complementary, but not duplicate information contained in the text. Tables should be numbered consecutively in Arabic numbers, with a descriptive, self-explanatory title above the table. All abbreviations should be explained in a footnote. Footnotes should be designated by symbols in the following order: *, †, ‡, §, ¶.

Figures

All illustrations (including line drawings and photographs) are classified as figures. Figures must be added to the system as separate .jpg or .gif files (approximately 500x400 pixels, 8 cm in width and at 300 dpi resolution). Figures should be numbered consecutively in Arabic numbers and should be cited in parenthesis in consecutive order in the text.

Figure Legends

Legends should be self-explanatory and positioned on a separate page. The legend should incorporate definitions of any symbols used and all abbreviations and units of measurements should be explained. A letter should be provided stating copyright authorization if figures have been reproduced from another source.

Measurements and Abbreviations

All measurements must be given in metric system (*Système International d'Unités, SI*). Example: mg/kg, µg/kg, mL, mL/kg, mL/kg/h, mL/kg/min, L/min, mmHg, etc. Statistics and measurements should always be given in numerals, except where the number begins a sentence. When a number does not refer to a unit of measurement, it is spelt out, except where the number is greater than nine.

Abbreviations that are used should be defined in parenthesis where the full word is first mentioned. Some common abbreviations can be used, such as *iv, im, po, and sc*.

Drugs should be referred to by their generic names, rather than brand names.

Editorial Correspondence

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayın Bürosu
Bornova, 35100, Izmir, Turkey
Tel : +90 232 3903103 / 232 3903186
Fax : +90 232 3422142
E-mail : editor@egetipdergisi.com.tr
Website : www.egetipdergisi.com.tr

Checklist for Manuscripts

Review guide for authors and instructions for submitting manuscripts through the electronic submission, website at www.egetipdergisi.com.tr

EGE TIP DERGİSİ
YAYIN HAKKI DEVİR FORMU

Makalenin Başlığı:	
--------------------	--

Sorumlu yazarın;

Adı, soyadı:		
Adresi:		
Tel:	E-posta:	İmza:

Biz, aşağıda isimleri olan yazarlar, bu makalenin yazılması yanında, çalışmanın planlanması, yapılması ve verilerin analiz edilmesi aşamalarında da aktif olarak rol aldığımızı ve bu çalışma ile ilgili her türlü sorumluluğu kabul ettiğimizi beyan ederiz. Makalemiz geçerli bir çalışmadır. Hepimiz makalenin son halini gözden geçirdik ve yayınlanması için uygun bulduk. Ne bu makale ne de bu makaleye benzer içerikte başka bir çalışma hiçbir yerde yayınlanmadı veya yayınlanmak üzere gönderilmedi. Gerekmesi durumunda makale ile ilgili bütün verileri editörlere göndermeyi de garanti ediyoruz.

Ege Tıp Dergisi'nin bu makaleyi değerlendirmesi ve yayınlaması durumunda, makale ile ilgili tüm telif haklarımızı Ege Tıp Dergisi'ne devrettiğimizi beyan ve kabul ederiz.

Yazarlar olarak, telif hakkı ihlali nedeniyle üçüncü şahıslarca istenecek hak talebi veya açılacak davalarda Ege Tıp Dergisi Editör, Editör Yardımcıları ve Yayın Kurulu'nun hiçbir sorumluluğunun olmadığını yazarlar olarak taahhüt ederiz. Ayrıca, makalede hiçbir suç unsuru veya kanuna aykırı ifade bulunmadığını, araştırma yapılırken kanuna aykırı herhangi bir malzeme ve yöntem kullanılmadığını, çalışma ile ilgili tüm yasal izinleri aldığımızı ve etik kurallara uygun hareket ettiğimizi taahhüt ederiz.

	Yazar Adı, Soyadı	İmza	Tarih
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			

**EGE JOURNAL OF MEDICINE
COPYRIGHT TRANSFER FORM**

Title of Manuscript:	
----------------------	--

Corresponding author's;

Name, surname:		
Address:		
Tel.	E-mail:	Signature:

We all the authors certify that, we have all participated sufficiently in the conception and design of this work and the analysis of data, as well as the writing of the manuscript to take public responsibility for it. We declare that the manuscript represents valid work. We have all reviewed the final version of the manuscript and approve it for publication. Neither this manuscript nor one with substantially similar content under our authorship has been published or being considered for publication elsewhere. Furthermore, we declare that we will produce the data upon which the manuscript is based for examination by the editors or associates if requested.

In consideration of the action of Ege Journal of Medicine in reviewing and editing this submission (manuscript, tables and figures) all copyright ownership is hereby transferred, assigned or otherwise conveyed to Ege Journal of Medicine, in the event that such work is published by Ege Journal of Medicine.

We also warrant that Editor, Associate Editors and the Editorial Board members of Ege Journal of Medicine will not be held liable against all copyright claims of any third party or in lawsuits that may be filed in the future. We acknowledge that the article contains no libellous or unlawful statements, we did not use any unlawful method or material during the research, we obtained all legal permissions pertaining to the research, and we adhered to ethical principles during the research.

	Author Name, Surname	Signature	Date
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			

