

# EGE TIP DERGİSİ

## *Ege Journal of Medicine*

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

Cilt / Volume: 56

Sayı / Issue:4

Aralık / December 2017

Sayfa / Pages: 163-215

### **Ege Tıp Dergisi / Ege Journal of Medicine**

#### **Editör / Editor**

Ufuk ÇAĞIRICI

#### **Yayın Kurulu / Publication Committee**

Ayşegül AKGÜN  
Gül AKTAN  
Okan BİLGE  
Raika DURUSOY  
Oğuz GÖZEN  
Semra KARAMAN  
Gülgün KAVUKÇU  
Altuğ YAVAŞOĞLU

#### **Biyoistatistik Uzmanları / Biostatisticians**

Timur KÖSE  
Mehmet N. ORMAN

#### **Uluslararası Editör ve Danışma Kurulu / International Editors and Advisory Board**

Ayşe Nur OKTAY ALFATLI, <i>Radiodiagnosics, TR</i>	Jose Antonio KARAM, <i>Urology, US</i>
Juzar ALI, <i>Pulmonary Medicine, US</i>	Metin ÖZDEMİRLİ, <i>Pathology, US</i>
J Patrick BARBET, <i>Anatomy, Histology and Embryology, FR</i>	Eduardo Weruaga PRIETO, <i>Neuroscience, ES</i>
Ali BAŞÇI, <i>Internal Medicine, TR</i>	Ömer ŞENBAKLAVACI, <i>Thoracic Surgery, TR</i>
Mustafa ÇIKIRIKÇIOĞLU, <i>Cardiovascular Surgery, CH</i>	Hasan TEKGÜL, <i>Pediatrics, TR</i>
Pınar COŞKUN, <i>Neuroscience, US</i>	Tarık TIHAN, <i>Pathology, US</i>
Volkan COŞKUN, <i>Neuroscience, US</i>	Radu Ioan TUTUIAN, <i>Internal Medicine, CH</i>
Stephen KANTROW, <i>Pulmonary Medicine, US</i>	Utku YAVUZ, <i>Biophysics, DE</i>

#### **Yazışma Adresi / Address for Correspondence**

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Yayın Bürosu  
Bornova 35100, İzmir, Türkiye

**Telefon / Phone** : +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 / www.dergipark.gov.tr/etd

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

TÜBİTAK-ULAKBİM Türk Tıp Dizini, Index Copernicus ve Türkiye Atıf Dizini tarafından taranmaktadır.  
*Indexed in TÜBİTAK-ULAKBİM Turkish Medical Sciences Index, Index Copernicus and Türkiye Citation Index.*


T.C. Kültür ve Turizm Bakanlığı / *Republic of Turkey Ministry of Culture and Tourism*  
Sertifika / *Certificate* No. 18679


**Basım / Press**  
Ege Üniversitesi Basımevi  
Bornova - İZMİR

**Basım Tarihi / Date of Press**  
27.12.2017

Yıllık abone creti 32 TL, tek sayı bedeli 8 TL'dir.  
*The annual subscription fee is 32 TL, the single issue fee is 8 TL.*

Abone ve tek sayı istekleri için editor@egetipdergisi.com.tr adresine mesaj gönderebilir ya da  
232.3903103 / 232.3903186 numaralı telefonu arayabilirsiniz.  
*For annual subscription or single issue requests, you may mail to editor@egetipdergisi.com.tr or you  
may call +902323903103 / +902323903186*

Bu sayıda yer alan tüm yazarların ORCID (Open Researcher and Contributor ID) bilgisine web adresinde makalenin elektronik kopyasında yazar adı üzerindeki  simgesine tıklanarak erişilebilir.

*ORCID (Open Researcher and Contributor ID) information of each author in this issue can be obtained by clicking the  icon above the author name through the electronic copy of the manuscript on the web site.*

**İÇİNDEKİLER**  
CONTENTS**ARAŞTIRMA MAKALELERİ**  
RESEARCH PAPERS**Different types of trochlear apparatus calcification: Evaluation with multidetector computed tomography (MDCT)**

Trochlear aparat kalsifikasyonunun farklı tipleri: Çok kesitli bilgisayarlı tomografi (ÇKBT) ile değerlendirme

Erdoğan Bülbül Alper Yazıcı Bahar Yanık Gülen Demirpolat 163

**Larinks ve akciğer maligniteli olgularda akciğer rezeksiyonu**

Pulmonary resection for the patients with larynx and pulmonary malignancies

Tevfik İlker Akçam Önder Kavırmacı Ali Özdil Ayşe Gül Ergönül  
Kutsal Turhan Alpaslan Çakan 168**Osteopontin levels do not increase in gestational diabetes mellitus**

Gestasyonel diabetes mellitusta osteopontin seviyeleri artmaz

Ali Saklamaz Muhittin Akyıldız Esin Kasap Hakan Cengiz 173

**Candida türlerinde biyofilm oluşumunun modifiye mikroplak ve modifiye XTT redüksiyon yöntemleri ile saptanması**Detection of biofilm formation in *Candida* species with modified microplate and modified XTT reduction methods

Uğur Tüzüner Ramazan İnci 178

**Meme kanseri kök hücrelerinde elajik asit ile indüklenmiş miRNA'ların ifadesi ve elajik asidin apoptoz üzerine etkisi**

Ellagic acid induced expression of miRNAs in breast cancer stem cells and effect of ellagic acid on apoptosis

Hasan Onur Çağlar Sunde Yılmaz Süslüer Şebnem Kavaklı Cumhuriyet Gündüz  
Biray Ertürk Ferda Özkinay Ayfer Haydaroğlu 183**Eretil disfonksiyonlu diabetes mellitus olgularında penil Doppler ultrasonografi bulguları**

Penile Doppler ultrasound findings in diabetic patients with erectile dysfunction

Namık Kemal Altınbaş Nurullah Hamidi Cemil Yağcı 193

---

## OLGU SUNUMLARI

### CASE REPORTS

---

#### Son ütücü olarak çalışan bir olguda spinal aksesuar sinir hasarına bağlı kanat skapula

A case of spinal accessory nerve palsy, with winged scapula as a result of ironing

Azize Serçe Özgür Zeliha Karahmet Eda Gürçay Ece Ünlü Aytül Çakıcı 200

#### Primary hyperoxaluria

Primer hiperoksalüri

Elçin Aydın Tülay Öztürk Atasoy Mehmet Argın 203

#### Yüksek sosyoekonomik düzeyli aile bebeklerinde amebiasis: İki olgu

Amebiasis in families with high socioeconomic level: Two cases

Aslı Aslan Zafer Kurugöl Güldane Koturoğlu Şule Gökçe 206

#### Rotator manşet rüptürünün nadir bir nedeni: Subakromial osteokondrom

An uncommon cause of rotator cuff rupture: Subacromial osteochondroma

Mesut Tahta Eyüp Çağatay Zengin Tuğrul Bulut Cihan Aslan Muhittin Şener 209

#### Asemptomatik mediastinal dev kavernöz hemanjiom

Asymptomatic mediastinal giant cavernous hemangioma

Yeliz Erol Tarık Yağcı Ahmet Üçvet Soner Gürsoy 212

#### Teikoplaninin indüklediği nöbet

Teicoplanin induced seizure

Bayram Yeşil Mustafa Kaplan Orhan Coşkun Volkan Gökbulut Ferhat Bacaksız  
Erkin Öztaş Ertuğrul Kayaçetin 214

---

**2017 YILI İÇİNDE YAYIMLANAN MAKALELERİ DEĞERLENDİREN DANIŞMANLARIMIZ**

---

A.Mine Küçüker  
Abdullah Demirtaş  
Ahmet Alper Kıyıkım  
Akın Eraslan Balcı  
Ali Akyol  
Ali Başçı  
Ali Karakuş  
Ali Osman Saatçi  
Ali Rıza Kandiloğlu  
Ali Şimşek  
Ali Uzunköy  
Anıl Tombak  
Asım Gündüz Öğüt  
Ayşe Tosun  
Barış Altay  
Bülent Yalçın  
Caner Kabasakal  
Çapan Konca  
Dilek Yeşilbursa  
Ebru İnci Coşkun  
Ercan Öğreden  
Erdal Taşkın  
Erdem Dinç  
Erkan Alataş  
Fazıl Necdet Ardıç  
Fikret Erdemir  
Filiz Afrashi  
Füsun Saygılı  
Füsun Şahin  
Gökay Bozkurt  
Gökhan Sarısoy  
Gülperi Ökten  
Habip Almış  
Hakan Erdoğan  
Hakan Karabağlı  
Halil İbrahim Serin  
Handan Ankaralı  
Hasan Atilla Özkan  
Hasan Hallaçeli

Hasan Şenol Coşkun  
Hulki Meltem Sönmez  
Hüseyin Gülen  
İbrahim Hakan Bucak  
İpek Akil  
Kaan Kavaklı  
Kazım Çapacı  
Kemal Ergin  
Kürşat Gündoğan  
M. Mümtaz Mazıcıoğlu  
Mahmut Tokur  
Mehmet Celal Devocioğlu  
Mehmet Halil Ertuğ  
Mehmet N. Orman  
Melih Malkoç  
Mesut Sipahi  
Murat Üzel  
Musa Altun  
Mutlu Arat  
Okan Bilge  
Oktay Nazlı  
Özlem Makbule Kaya  
Peyker Temiz  
Pınar Aslan Koşar  
Sedat Yılmaz  
Sema Öncel  
Semra Özçelik  
Serdar Olt  
Sevil Çaylı  
Seyhun Kürşat  
Sibel Çubukçu Fırat  
Türkan Patiroğlu  
Uğur Kesici  
Vehbi Yavuz Tokgöz  
Yasemin Balaban  
Yelda Dere  
Yıldız Değirmenci  
Zeliha Ünlü



## Different types of trochlear apparatus calcification: Evaluation with multidetector computed tomography (MDCT)

Troklear aparat kalsifikasyonunun farklı tipleri: Çok kesitli bilgisayarlı tomografi (ÇKBT) ile değerlendirme

Erdoğan Bülbül<sup>1</sup> Alper Yazıcı<sup>2</sup> Bahar Yanık<sup>1</sup> Gülen Demirpolat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Balıkesir University Faculty of Medicine, Department of Radiology, Balıkesir, Turkey

<sup>2</sup>Balıkesir University Faculty of Medicine, Department of Ophthalmology, Balıkesir, Turkey

### Abstract

**Aim:** Trochlear apparatus calcification (TAC) can be an incidental finding in multidetector computed tomography (MDCT) scans. TAC may be misdiagnosed as a foreign body especially in trauma patients. In this study we aim to determine the incidence and types of TAC with cranial and paranasal MDCT scans.

**Materials and Methods:** Consecutive 452 MDCT scans were evaluated retrospectively. Repeated exams and patients with orbital wall fracture history were excluded. CT scans were obtained by a 64-slice scanner with 0.5 mm slice thickness. Reformatted and three-dimension volume rendered images in bone window were used to assess the calcification presence and type.

**Results:** Four hundred forty-one MDCT exams included to study. TACs detected in 31 (7.5%) subjects. TAC was unilateral in 24 (77.4%) and bilateral in seven (22.6%) subjects. There was no significant correlation with aging ( $p=0.681$ ) and between genders ( $p=0.808$ ). "Dot-like" TAC was the most common type ( $n=12$ , 31.6%). The other types were "inverted-U" ( $n=11$ , 28.9%), "linear" ( $n=8$ , 21%), "comma" ( $n=6$ , 15.6%), respectively. Eight (21%) of TACs were attaching the orbital wall, mostly in "comma" type.

**Conclusion:** The TAC incidence in our study was compatible with literature. Four different types of TAC, including, "dot-like", "inverted U", "linear" and "comma" types detected. TACs were usually discrete from the orbital wall however they were occasionally attached. "Linear" type TAC and attachment to orbital wall described for the first time in this study. Knowledge of the TAC appearance may be helpful to differentiate TACs from foreign bodies.

**Keywords:** Calcification, computed tomography, trochlear apparatus, orbit.

### Öz

Troklear aparat kalsifikasyonu (TAK), çok kesitli bilgisayarlı tomografi (ÇKBT) incelemelerinde rastlantısal bir bulgu olabilir. TAK özellikle travma hastalarında yanlışlıkla yabancı cisim olarak değerlendirilebilir. Bu çalışmada amacımız kranial ve paranasal sinüslere yönelik ÇKBT incelemelerinde TAK sıklığını ve tiplerini belirlemektir.

**Gereç ve Yöntem:** Ardışık 452 ÇKBT incelemesi retrospektif olarak değerlendirildi. Tekrar edilmiş incelemeler ve travma öyküsü bulunan hastaların görüntüleri değerlendirme dışı bırakıldı. BT incelemeleri 64-dedektörlü cihazla 0.5 mm kesit kalınlığında elde edildi. Reformat ve üç boyutlu hacim kazandırılmış görüntüler, kalsifikasyon varlığı ve tipinin belirlenmesi için kullanıldı.

**Bulgular:** Çalışmaya 441 inceleme dahil edildi. 31 (%7.5) olguda TAK saptandı. TAK 24 (%77.4) olguda tek taraflı, 7 (%22.6) olguda iki taraflıydı. Yaşlanma ( $p=0.681$ ) ve cinsiyet ( $p=0.808$ ) ile anlamlı korelasyon saptanmadı. "Nokta-benzeri" en sık görülen TAK tipi idi ( $n=12$ , % 31.6). Diğer tipler sırasıyla "ters-U" ( $n=11$ , %28.9), "çizgisel" ( $n=8$ , %21), "virgül" ( $n=6$ , %15.6) şekildedeydi. En fazla "virgül" şekilli olmak üzere, TAK'ların 8'i (%21) orbita duvarına yapışık görülmekteydi.

**Sonuç:** Çalışmamızda bulunan TAK sıklığı literatür ile uyumluydu. "Nokta-benzeri", "ters-U", "çizgisel" ve "virgül" şeklinde olmak üzere TAK'ın dört farklı tipi saptandı. TAK genellikle orbita duvarından ayrık izlenmesine rağmen ara sıra duvara yapışık olduğu görüldü. "Çizgisel" tip TAK ve orbita duvarına yapışık olması ilk defa bu çalışmada tanımlanmıştır. TAK farklı görünüm şekillerinin bilinmesi, TAK'larının yabancı cisimden ayrılmasında yararlı olabilir.

**Anahtar Sözcükler:** Kalsifikasyon, bilgisayarlı tomografi, troklear aparat, orbita.

Corresponding Author: Erdoğan Bülbül

Balıkesir University Faculty of Medicine, Department of Radiology, Balıkesir, Turkey

Received: 16.02.2016

Accepted: 11.04.2016

## Introduction

Orbital calcifications may be located in intra or extraocular compartments and occur in various conditions (1-3). Trochlear apparatus calcification (TAC) is an extraocular calcification located at the superior nasal part of the orbit and may be detected incidentally with non-contrast multidetector computed tomography (MDCT) (4).

The TAC may be misdiagnosed as a foreign body, especially in patients with trauma history. Knowledge of TAC location and type may prevent the misdiagnosis (5). In this study we evaluated the incidence and types of TAC with MDCT scans.

## Materials and Methods

An institutional approval obtained from the local ethic committee before the study. Consecutive 452 non-contrast cranial and paranasal sinus CT scans in which orbits were included to scanning area, performed between August 2013 and April 2015 were evaluated respectively. The CT scans were performed for detecting intracranial and sinonasal pathologies. Repeated exams and subjects with orbital wall fracture history were excluded. CT scans were performed at 64-slice scanner (Toshiba Aquillon 64, Otawara, Japan). Continuous non-overlapping sections of CT scan were obtained with acquisition parameters of 0.5 mm slice thickness, 120 kV, and 200mAs. The pixel spacing was 0.3 mm x 0.3 mm. The slice thickness was 0.5 mm. After image acquisition, the raw data was processed and transferred in DICOM (The Digital Imaging and Communications in Medicine standard) format to the workstation (Aquarius Intuition edition ver. 4.4.6, TeraRecon, Foster City, Calif). Three-dimensional volume-rendering and axial, coronal and sagittal reformatted images were evaluated for calcification presence and determining calcification type at the trochlear apparatus. A single radiologist with a 10-years' experience performed the evaluation.

The age and gender of subject; TAC existence, side and type were recorded. TAC types were grouped according to the classification described in a previous study (5). The prevalence, age distribution and gender predominance of TAC were analyzed. Additionally age-related distributions were also calculated.

Pearson chi-square and Spearman correlation tests were used for statistical analysis. A *p* value less than 0.05 was considered statistically significant.

## Results

Four hundred and forty-one CT scans of 452 subjects were included to study. The ages of the subjects were between 9 and 89 with a mean 45.7±18. Two hundred and twenty-nine (51.9 %) subjects were male. TAC was detected in 31 subjects. TAC incidence was 7.5% and was detected in 20 (8.7%) male and 11 (5.2%) female subjects, respectively. There was no statistically significant difference between gender with chi-square test (*p*=0.808).

The occurrence of TAC in different age groups is shown in Table-1. TACs were mostly detected in 5<sup>th</sup>, 4<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup> decades. However TAC had no correlation with aging (Spearman correlation test, *p*=0.681, *r*=-0.024).

**Table-1.** Age Distribution of Subjects with TAC\*.

Age group (years)	Age distribution	Age correction**
≤20	2/441 (0.45%)	2/48 (4.16%)
21-30	4/441 (1.76%)	4/62 (6.45%)
31-40	7/441 (1.58%)	7/72 (9.72%)
41-50	8/441 (1.81%)	8/90 (8.88%)
51-60	6/441 (1.36%)	6/80 (7.50%)
61-70	2/441(0.45%)	2/50 (4.00%)
71≥	2/441 (0.45%)	2/39 (5.12%)

\*Trochlear apparatus calcification

\*\*Subjects with TAC in age group/ total number of subjects.

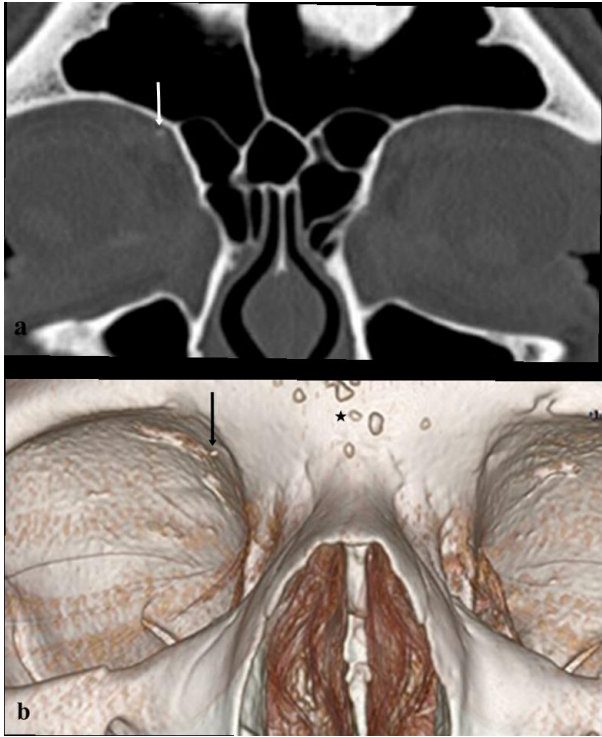
The TAC was unilateral in 24 (77.40 %) subjects and 7 (22.6 %) subjects had bilateral TACs. Totally 38 TACs detected. Twenty (52.6 %) of TACs were at the right side and 18 (47.4 %) of them were at left. There was no significant difference between two sides.

Twelve (31.6%) of TACs were "dot-like" calcifications (Figure-1). The others were "inverted U" (n=11, 28.9%), "linear" (n=8, 21.0%) and "comma" (n=6, 15.6%) types, respectively (Figure-2,3,4). Most of the TACs were not attached to orbital wall. However 8 (21.0%) of TACs were attaching (Figure-4). The most common type attaching to the orbital wall was "comma" type with 83%.

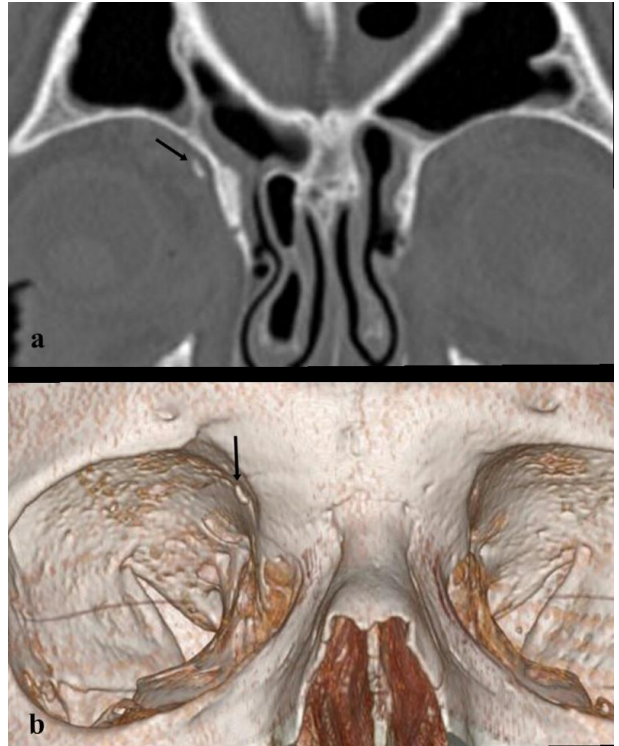
## Discussion

The incidence of TAC was 7.5% in our study. After TAC was described by Mafee et al. (6), several studies were published about this topic. The calcification incidence was reported at varying rates (Table-2). The lowest ratio of TAC was 3% in 100 CT scans which was reported by Murray et al. (1). Ko and Kim (3) reported the highest incidence of 16% in 216 patients. In our study, incidence of TAC is correlated with the literature.

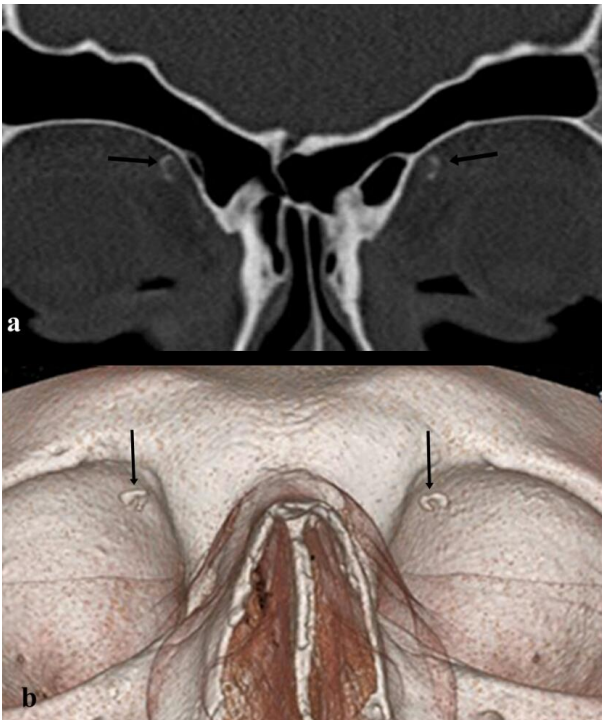




**Figure-1.** Coronal non-contrast CT image in bone window shows the "dot-like" TAC (white arrow) (a) at the right orbit. Same TAC (black arrow) is demonstrated with three-dimensional volume rendering (3D VR) image (b). Black star shows the subcutaneous calcifications at the frontal region.



**Figure-3.** "Linear" type TAC at the right orbit (black arrow) is shown in coronal CT (a) and 3D VR (b) images. The calcification was discrete from the orbital wall.



**Figure-2.** Black arrows demonstrate bilateral "inverted-U" type TACs in non-contrast coronal CT (a) and 3D VR (b) images.



**Figure-4.** Bilateral "comma" type TACs (black arrows) attaching to the orbital walls in coronal plane (a) and 3D VR (b) images.

**Table-2.** The TAC\* Incidence in Our and Previous Studies.

Study	Total subjects (n)	Subjects with TAC* (n)	%
Murray et al. (1)	100	3	3
Xiao et al. (5)	403	27	6.7
Hart et al. (8)	159	19	12
Ko and Kim (4)	216	35	16
Buch et al. (9)	968	128	13
Sobel and Goldstein (13)	132	17	13
Çolak et al. (10)	176	25	14.2
Bülbul et al.	441	31	7.5

\*Trochlear apparatus calcification.

The trochlea is a cartilaginous saddle attached to periorbita of the frontal bone in the superior nasal orbit. This cartilaginous saddle is separated from a fibrovascular sheath by a bursa-like space. The tendon of the superior oblique runs within this sheath (7). Although the exact location of calcification at the trochlear apparatus is not clear, cartilage, the synovial sheath, and the tendon are possible sites. The TAC etiology is not certain, however metabolic, inflammatory and degenerative diseases considered to be potential causative factors (8). TAC thought to be a marker for diabetes mellitus (DM) for patients younger than 40 years old (8,10). However in a recently study performed by Buch et al. (9) did not find an association between TAC and DM. The authors declared that they had not enough data to reveal the relationship among them. Buch et al. (9) also reported a significant correlation with autoimmune diseases, elevated serum alkaline phosphate levels and TAC.

The shape of TAC was not reported in earlier mentioned reports because CT technology was not good enough to obtain thin slices. With the advances in CT technology, it is possible to acquire thin slices less than 1mm and multiplanar reformatted images. Xiao et al. (5) reported the first study evaluating the TAC morphology with MDCT. They assessed the orbital CT scans obtained in 3mm slice-thickness. The authors described three types of trochlear calcification as "comma, dot and inverted U" types. Most of the TAC in their study was "comma" type (66.7%), followed by "dot" (22.2%) and "inverted U" (11.1%) types, respectively. We realized an additional type of TAC which had a "linear" shape. The most common type was "dot-like" similar to Xiao et al. study (5). However the ratio was lower and the second type "inverted U" had close ratio in our study. The shape of TAC may be related to the exact localization at the trochlear apparatus. Classification of TAC according to morphologic appearance can be helpful in differentiating from intraorbital foreign body especially in trauma patients (5).

An interesting finding in our study is the attachment of TAC to the orbital wall although TAC was previously described as a discrete calcification (8). We realized that in 8 (21.05%) subjects TAC was attaching with the orbital wall. As our best knowledge our report is the first one describing this finding. Slice thickness can be less than 1 mm and reformatted images are available in different planes with MDCT. Finding may not be detected previous reports because most of them were performed with thicker slices than our study. Most of TAC attaching to orbital wall was "comma" type. Attachment of TAC to orbital wall might be an additional finding in differentiating TAC from the foreign bodies.

Gender difference was investigated in previous reports. Xiao et al. (5) reported TAC in males two times more than females. The number of male subjects was approximately four times more than female subjects. This may explain the male dominance in their study. The other reports had lack of significant difference between genders like our study (3,8,9). The ratio of male and female subjects was nearly equal in our study and TAC was detected with same ratio in both genders. In an early study about TAC, an incidence increasement with aging reported (8). For this reason the authors suggested TAC could be a degenerative process. However there was no significant correlation found between TAC incidences and aging in the latter reports, including our study (1,3,9).

It is important to differentiate TAC from a metallic foreign body in patients whom require magnetic resonance imaging (MRI) (11). Metallic foreign bodies can move during MRI and may cause severe complications like blindness (12). Both TAC and metallic foreign body may have averaged attenuation in CT images.

This study has some limitations because of its retrospective nature. We couldn't investigate the association of TAC with systemic pathologies because we didn't have enough data. Our study was based on the imaging findings and we were not able to correlate the calcification types with histopathologic findings.

## Conclusion

The incidence of TAC in our study was compatible with the literature. Different TAC types including "dot-like, inverted U, linear and comma" types were detected. Some of TACs were attaching the orbital wall, mostly in comma type. Linear type TAC and attachment to orbital wall described for the first time in this study. Knowing the appearance of TAC in MDCT imaging may be helpful for differentiating TAC from foreign bodies and avoid misdiagnosis.

## Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

## References

1. Murray JL, Hayman LA, Tang RA, Schiffman JS. Incidental asymptomatic orbital calcifications. *J Neuroophthalmol* 1995;15(4):203-8.
2. Salha R, Shah J, Sidebottom AJ. Trochlear calcification with coexisting orbital foreign bodies: Case report and literature review. *Oral Surgery* 2015; 8(1):48-50.
3. Froula PD, Bartley GB, Garrity JA, Forbes G. The differential diagnosis of orbital calcification as detected on computed tomographic scans. *Mayo Clin Proc* 1993;68(3):256-61.
4. Ko SJ, Kim YJ. Incidence of calcification of the trochlear apparatus in the orbit. *Korean J Ophthalmol* 2010; 24(1):1-3.
5. Xiao TL, Kalariya NM, Yan ZH, Chen W, Liu XQ, Zhao ZQ et al. Trochlear calcification and intraorbital foreign body in ocular trauma patients. *Chin J Traumatol* 2009;12(4):210-3.
6. Mafee MF, Folk ER, Langer BG, Miller MT, Lagouros P, Mittleman D. Computed tomography in the evaluation of Brown syndrome of the superior oblique tendon sheath. *Radiology* 1985;154(3):691-5.
7. Yanoff M, Duker SJ. *Ophthalmology* 2nd ed. St Louis: Mosby; 2003: 171-8.
8. Hart BL, Spar JA, Orrison WW Jr. Calcification of the trochlear apparatus of the orbit: CT appearance and association with diabetes and age. *AJR Am J Roentgenol* 1992;159(6):1291-4.
9. Buch K, Nadgir RN, Tannenbaum AD, Ozonoff A, Fujita A, Sakai O. Clinical significance of trochlear calcifications in the orbit. *AJNR Am J Neuroradiol* 2014;35(3):573-7.
10. Çolak A, Energin F, Kaya M, Baykal O, Şen B, Tüfekçi A. Increased prevalence of trochlear apparatus calcifications in diabetes mellitus: A prospective study by orbital CT appearance. *Turk J Med Sci* 1997;27(1):67-70.
11. Lin KY, Ngai P, Echevoyen JC, Tao JP. Imaging in orbital trauma. *Saudi J Ophthalmol* 2012;26(4):427-32.
12. Bailey W, Robinson L. Screening for intra-orbital metallic foreign bodies prior to MRI: Review of the evidence. *Radiography* 2007;13(1):72-80.
13. Sobel RK, Goldstein SM. Trochlear calcification: A common entity. *Orbit* 2012;31(2):94-6.

**Larinks ve akciğer maligniteli olgularda akciğer rezeksiyonu****Pulmonary resection for the patients with larynx and pulmonary malignancies**

Tevfik İlker Akçam Önder Kavurmacı Ali Özdiil Ayşe Gül Ergönül

Kutsal Turhan Alpaslan Çakan

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

**Öz**

**Amaç:** Ortak etiyolojik faktörler nedeni ile larinks ve akciğer maligniteleri, aynı hastada eş zamanlı veya metakron olarak gelişebilmektedir. Çalışmamızda bu hastalara yönelik klinik yaklaşımlar ile tedavi protokollerimizi sunmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Kliniğimizde Ocak 2010 – Nisan 2016 yılları arasında, öncesinde larinks malignitesi tanısı alan ve akciğerde lezyon sebebi ile cerrahi uygulanan hastalar retrospektif olarak incelendi.

**Bulgular:** Çalışmaya dahil edilen, tamamı erkek 20 hastanın yaş ortalaması  $62.18 \pm 2.65$  (47-84) idi. Larinks malignitesi ile eş zamanlı olarak akciğerde lezyon saptanan ve henüz larinks malignitesine yönelik hiçbir tedavi almamış olan hastalar Grup 1 (6 hasta), larinks malignitesine yönelik tedavilerini almakta olan veya tamamlayan, izlemde akciğer lezyonu saptanan hastalar ise Grup 2 (14 hasta) olarak tanımlandı. Grup 2'deki hastalardan dördünde trakeostomi mevcuttu. Hastaların dördüne (%20) solunum fonksiyon testi (SFT) yapılamadı, üç hastada (%15) tek akciğer ventilasyonunun sağlanamadı, yapılan dokuz *frozen-section* incelemeden dördünde (%44.4) tanı elde edilemedi ve üç hastada (%15) sekresyon retansiyonu gelişti.

**Sonuç:** Larinks ve akciğer malignitesi bir arada bulunan hastaların operasyon öncesi entübasyon zorluğu açısından dikkatlice incelenmesi gerekir. SFT uygulanamayan hastaların preoperatif eforlu arteriyel kan gazı, altı dakika yürüme testi gibi yöntemlerle değerlendirilmelidir. Postoperatif sekresyon retansiyonuna yönelik solunum havasının nemlendirilmesi, bronkoskopi ve gerektiğinde trakeostomi açılması akılda tutulmalıdır.

**Anahtar Sözcükler:** Larinks ve akciğer malignitesi, trakeostomi, entübasyon güçlüğü.

**Abstract**

**Aim:** Larynx and pulmonary malignancies can be seen synchronously or metachronously as a result of common etiological factors. In this study, we aimed to present our clinical approach and management methods of these patients.

**Materials and Methods:** The records of patients underwent pulmonary resection with previous larynx malignancy between January 2010 and April 2016 were investigated retrospectively.

**Results:** All of 20 patients were male with a mean age of  $62.18 \pm 2.65$  years (range 47 to 84 years). Synchronous larynx and pulmonary malignancies without any previous treatment for larynx malignancy were defined as Group 1 (6 patients) and pulmonary malignancy patients with previous treated larynx malignancy were defined as Group 2 (14 patients). Tracheostomy had been performed to four patients in Group 2. The pre-, -per and postoperative problems and complications were as follows: Four (20%) patients could not performed pulmonary function test (PFT), single lung ventilation could not be obtained in 3 (15%) patients, differential diagnosis could not be achieved in frozen section examination in 4 of 9 (44.4%) patients.

**Conclusion:** The patients with both larynx and pulmonary malignancies must be evaluated carefully in terms of intubation difficulties. Arterial blood gas analysis with exercise test and six minutes walk test must be performed to the patients who cannot perform PFT. Humidification of the respiration air, bronchoscopy and tracheostomy when needed must be kept in mind to avoid postoperative secretion retention.

**Keywords:** Larynx and pulmonary malignancy, tracheostomy, intubation difficulty.

Yazışma Adresi: Tevfik İlker Akçam

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı,  
İzmir, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 19.08.2016 Kabul Tarihi: 19.09.2016

## Giriş

Baş-boyun kanseri tanılı hastalarda senkron veya metakron bronşiyal karsinom saptanma riskinin arttığı ve bu tümörlerin hastaların yaşam süresini önemli ölçüde değiştirdiği birçok çalışmada ortaya konulmuştur (1-3). Özellikle larinks ve akciğer malignitesi birlikteliğine; sigara kullanımı, hava kirliliği, asbest, krom ve arsenik maruziyeti gibi ortak etiyolojik faktörlerden etkilenmeleri sebebi ile daha sık karşılaşılmaktadır (4,5). Larinks maligniteli hastalarda; akciğerde saptanan bir lezyon sebebi ile operasyon gündeme geldiğinde preoperatif, peroperatif ve postoperatif dönemlerde diğer hasta gruplarından daha farklı sorunlar ile karşı karşıya kalınmaktadır. Özellikle larinks malignitesi sebebi ile geçirilmiş cerrahi öyküsü ve trakeostomisi bulunan hastalarda, solunum fonksiyon testi (SFT)'nin normal formasyonunda yapılamaması ve solunum rezervinin ölçülememesi preoperatif dönemde karşı karşıya kalınan ilk sorunlardandır. Bu sebeple SFT uygulanamayan trakeostomili hastalar için preoperatif değerlendirmede alternatif yollara başvurulmaktadır (6,7). Peroperatif dönemde ise; gerek laringeal lezyona yönelik henüz tedavi almamış ve öncelikli olarak akciğer operasyonu planlanan hastalarda, gerekse laringeal cerrahi veya radyoterapi öyküsü olan hastalarda tek akciğer ventilasyonunun sağlanmasında pek çok zorlukla karşılaşılmaktadır (8). Postoperatif dönem ele alındığında ise trakeostomi sebebi ile hastalarda öksürük, spirometre kullanımı gibi basit solunum egzersizleri kısıtlı olarak uygulanabilmektedir. Buna sekonder birçok komplikasyon meydana gelebilmektedir (9). Bu hasta grubunda karşı karşıya kalınan diğer bir sorun ise akciğer lezyonunun histopatolojisinin ortaya konmasındaki zorluktur. Özellikle akciğer ve larinks malignitelerinin her ikisi de skuamöz hücreli karsinom olduğu durumlarda primer/metastaz ayrımının yapılması oldukça güçtür. Oysa bu ayrım sonucunda, uygulanacak cerrahi seçim hayati rol oynamaktadır. Bu çalışmada larinks malignitesi tanısı ardından akciğerde saptanan lezyon nedeni ile cerrahi tedavi uyguladığımız hastaları değerlendirdik. Preoperatif/peroperatif ve postoperatif dönemde yaşadığımız cerrahi zorluklar ve farklılıklara dikkat çekerek olası çözüm yöntemlerini tartışmayı amaçladık.

## Gereç ve Yöntem

Kliniğimizde Ocak 2010 – Nisan 2016 yılları arasında, öncesinde bilinen larinks malignitesi tanısı olan ve akciğerde saptanan lezyon sebebi ile cerrahi uygulanan hastalar retrospektif olarak incelendi. Larinks malignitesi ile eş zamanlı olarak akciğerde lezyon saptanan ve henüz larinks malignitesine yönelik hiçbir tedavi almamış olan hastalar Grup 1, larinks malignitesine yönelik tedavilerini almakta olan veya tamamlayan, izlemde akciğer lezyonu saptanan hastalar ise Grup 2 olarak tanımlandı. Grup 1'deki hastaların tamamı disfoni, kronik

öksürük gibi semptomlar ile tetkik edilirken laringoskopik bakı/biyopsi sonrası larinks malignitesi tanısı almış, sistemik tarama değerlendirilmeleri sonrası akciğerde malignite şüpheli lezyon saptanmıştı. Hastaların larinks malignitesine yönelik tedavileri, akciğer lezyonunun primer/metastaz olmasına göre değişiklik göstereceği için akciğer lezyonunun aydınlatılması sonrasına bırakılmıştı. Grup 2'deki hastalar ise; larinks malignitesi tanısı sırasında akciğerde herhangi bir lezyon saptanmamış, hastaların larinks malignitelerine yönelik tedavileri başlatılmış iken izlemde akciğerde cerrahi tedavi gerektiren lezyon saptanmış hastalardan oluşturuldu. Her iki grup içinde hastaların demografik özellikleri, larinks malignitelerinin tanısı, akciğer operasyonu öncesi alınan tedavileri kayıt edildi. Cerrahi açıdan karşılaşılan zorluklar ise preoperatif/peroperatif ve postoperatif döneme ayrılarak incelendi. Solunum fonksiyon testi uygulanması, tek akciğer ventilasyonu, *frozen-section* (FS) incelemeleri ve son olarak da postoperatif dönemde solunum egzersizi ve sekresyon kontrolü konularında karşılaşılan zorluklar araştırıldı. Akciğer lezyonunun patolojisi ve larinks malignitesi karşılaştırıldı, FS inceleme ile tanı koyma oranı ve primer/metastaz ayrımı yapılamayan hastalar kayıt edildi. Patoloji sonucu ile cerrahi prosedürün uygunluğu mukayese edildi.

## Bulgular

Grup 1'de bulunan altı hastanın yaş ortalaması 58.3±2.1 (47-61 yaş) idi. Laringeal patolojiler ele alındığında beş hastada skuamöz hücreli larinks karsinomu bir hastada ise intraepiteliyal neoplazi mevcuttu. Preoperatif akciğer rezervinin değerlendirilmesinde altı hastanın hiçbirinde SFT uygulanmasında bir zorlukla karşılaşılmadı. Beş hastada preoperatif akciğer lezyonuna yönelik bronkoskopik/transtorasik biyopsi gibi yöntemler ile tanı elde edilemezken bir hasta transtorasik ince iğne aspirasyon biyopsisi (TTİAB) ile akciğer lezyonunun malign olduğu ancak primer/metastaz ayrımı yapılamadığı belirtildi. Bu hali ile operasyona alınan altı hastadan birine çift lümenli entübasyon uygulanamadı. Üç hastada *wedge* rezeksiyondan daha major bir cerrahi girişim düşünülmediği için FS inceleme yapılmadı. Peroperatif üç hasta için FS inceleme yapıldı. FS incelemede iki hastada lezyonunun primer akciğer karsinomu ile uyumlu olduğunun belirtilmesi üzerine bir hastaya lobektomi diğer hastaya ise pnömonektomi uygulandı. FS inceleme ile primer/metastaz ayrımı yapılmayan bir hastada ise operasyon sonrası patoloji sonucu primer akciğer karsinomu ile uyumlu olduğu için hastaya ikinci bir seansta tamamlayıcı lobektomi uygulandı. Postoperatif dönemde larinks malignitesi sebebi ile karşılaşılan ek sorunlar ele alındığında bir hastada ciddi inspiratuar stridor gelişmesi üzerine trakeostomi açıldı. Larinks malignitesine yönelik herhangi bir tedavi almamış bu grupta solunum egzersizi

ve sekresyon retansiyonu açısında herhangi bir ek sorunla karşılaşılmadı.

Grup 2'deki 14 hastanın yaş ortalaması  $66.07 \pm 3.2$  (54-84 yaş) idi. Larinks patolojileri ele alındığında 13 hastada SCC, bir hastada ise epidermoid karsinom mevcuttu. Ortalama  $22 \pm 4.65$  (8-65) / ay izlem sonrasında akciğer karsinomu tanısı alana hastalardan altısına larinks malignitesine yönelik sadece cerrahi tedavi uygulanmışken (total/parsiyel larenjektomi), bir hastaya hem cerrahi hem medikal tedavi, yedi hastaya ise sadece medikal tedavi (radyoterapi/kemoterapi) uygulandığı görüldü. Toplamda 14 hastadan dört hastaya total larenjektomi uygulanmış idi. Bu hastalar preoperatif SFT ile değerlendirilemediği için altı dakika yürüme testi ve arteriyel kan gazı analizi ile değerlendirme yapıldı. Diğer hastaların SFT uyumluluklarında herhangi bir sorunla karşılaşılmadı. Total larenjektomili bir hastada ve medikal tedavi almış bir hastada çift lümenli entübasyon uygulanamadı ve hastalar tek lümenli entübasyon ile operasyona alındı. Operasyona alınan 14 hastadan ikisinde preoperatif tanı yöntemleri ile akciğer lezyonuna tanı konduğu için FS inceleme yapılmadı. Primer akciğer maligniteli bu hastalardan birine geniş *wedge* rezeksiyon diğerine ise lobektomi uygulandı. Bir hastaya lezyonun lobektomi dışında bir rezeksiyon ile çıkarılamayacağı için yine FS

inceleme yapılmaksızın lobektomi uygulandı. Beş hastada *wedge* rezeksiyondan daha major bir cerrahi işlem uygulanamayacağı için peroperatif FS inceleme yapılmadı. Operasyona alınan altı hastadan peroperatif FS inceleme için örnekler gönderildi. Üç hastada FS inceleme ile primer/sekonder ayrımı yapılamadı ve ikisine lobektomi uygulanırken bir hastada cerrahi işlem hastanın klinik özellikleri de göz önünde bulundurularak *wedge* rezeksiyonda bırakıldı. Diğer üç hastanın biri küçük hücreli akciğer karsinomu tanısı aldı ve *wedge* rezeksiyon uygulandı, iki hasta ise primer akciğer malignitesi lehine değerlendirilerek lobektomi uygulandı. Total değerlendirmede altı hastaya lobektomi, sekiz hastaya ise *wedge* rezeksiyon uygulandı. Peroperatif FS incelemede primer/metastaz ayrımı yapılamayan üç hastanın ikisinde parafin incelemede de ayırım yapılamadı.

Hastaların tamamı solunum egzersizi ve postural drenaj açısından değerlendirilmek üzere Fizik Tedavi Kliniği ile konsülte edilmesine, erken mobilizasyonun teşvik edilmesine, solunum havasının nemlendirilmesine ve rutin solunum egzersizlerinin yaptırılmasına rağmen özellikle trakeostomili hastalarda sekresyon retansiyonu saptandı. Trakeostomili dört hastadan ikisinde günlük aspirasyonlara rağmen atelettazi gelişti ve bronkoskopik aspirasyon gerekli oldu (Tablo-1).

**Tablo-1.** Hastaların Demografik Bilgileri.

		GRUP I / N	GRUP II / N	Toplam / N	
Hasta		6	14	20	
Cinsiyet	Kadın	0	0	-	
	Erkek	6	14	20	
Yaş		54.5 / yıl	66.5 / yıl	62.18 / yıl	
SFT yapılamayan		-	4	4	
"Frozen-section" çalışması yapılan		3	6	9	
"Frozen-section" ile tanı konulamayan		1	3	4	
Larinks Malignitesi	SCC	5	13	18	
	LIN-II	1	-	1	
	Epiteloid karsinom	-	1	1	
Cerrahi Uygulama	Wedge rezeksiyon	3	8	11	
	Anatomik rezeksiyon	3	6	9	
Akciğer Malignitesi	Primer akciğer malignitesi	SCC	3	7	10
		Adenokarsinom	3	4	7
		Küçük Hücreli	-	1	1
	Ayırım yapılamayan	-	2	2	
Tek akciğer ventilasyon zorluğu		1	2	3	
Postoperatif trekeostomi ihtiyacı		1	-	1	
Postoperatif bronkoskopi ihtiyacı		-	2	2	

**SFT:** Solunum fonksiyon testi, **SCC:** Skuamöz hücreli karsinom, **LIN-1:** Larinks intraepitelial karsinom

Çalışmaya dahil edilen tamamı erkek 20 hastanın yaş ortalaması  $62.18 \pm 2.65$  (47-84) idi. Hastaların laringeal maligniteleri incelendiğinde 18 hastada SCC, bir hastada larinks intraepitelial neoplazi ve bir hastada epidermoid

karsinom saptandı. Hastalardan dördünde (%20) SFT yapılamadı, üç hastada (%15) tek akciğer ventilasyonu sağlanamadı, yapılan dokuz FS incelemeden dördünde (%44.4) tanı elde edilemedi ve üç hastada (%15) larinks

yapısına sekonder sekresyon retansiyonu geliştirdi. Postoperatif akciğer patolojileri incelendiğinde, Grup 1'de yer alan altı hastanın üçünde primer akciğer adenokarsinomu diğer üçünde ise primer akciğer skuamöz hücreli karsinomu saptandı. Grup 2'de ise yedi hastada primer akciğer skuamöz hücreli karsinomu, dört hastada primer akciğer adenokarsinomu saptanırken iki hastada lezyonun primer/metastaz ayrımının yapılamadığı ve bir hastada akciğer lezyonunun küçük hücreli akciğer karsinomu ile uyumlu olduğu rapor edildi (Tablo-1).

### Tartışma

Larinks malignite öyküsü olan hastalarda akciğerde saptanan lezyonlar benign olabildiği gibi, mevcut laringeal malignitenin metastazı veya primer akciğer malignitesi olabilirler. Çalışmalarda farklı değerler bildirilmekle birlikte larinks kanserli 2182 hastanın değerlendirildiği bir analizde 36 hastada (%1.65) (3 senkron ve 33 metakron) ikinci bir primer akciğer malignitesi saptanmıştır (10). Bu sıklıkla görülebilen birliktelik durumunda tedavi şeklinin belirlenmesi önem arz etmekte ve cerrahi yaklaşımların her aşamasında buna göre düzenlenme yapılması gerekmektedir. Çalışmamızda total larenjektomi uygulanmış dört hastada preoperatif SFT uygulaması yapılamamış bu sebep ile hastalar altı dakika yürüme testi ve arteriyel kan gazı analizi ile değerlendirilmiştir. Trakeostomili hastalarda SFT uygulanmasındaki zorluk ve uygulanabilecek alternatif yöntemleri vurgulayan pek çok çalışma olmakla birlikte Overstreet ve ark. (6) tarafından yapılan bir çalışmada standart SFT cihazına monte edilen bir bağlantı parçası sayesinde bu sorunun çözüme kavuşturulabildiği bildirilmiştir. Yine alternatif kardiyopulmoner testlerin uygulanabileceğini belirten çalışmalar da mevcuttur (6,7). Bir diğer sorun ise hastalara çift lümenli entübasyon tüpü uygulanmasındaki zorluktur. Her iki grup ele alındığında dört hastada (%20) çift lümenli entübasyon uygulanamamış, hastalar tek lümenli entübasyon uygulanarak opere edilmek zorunda kalmıştır. Literatür incelendiğinde de benzer sonuçlar ile karşılaşılmaktadır. Trakeostomi sahasından çift lümenli entübasyon yapılabileceğini vurgulayan çalışmalar olmakla birlikte (8,11), sorunun endobronşiyal bloker sistemleri ile kolay bir şekilde çözüme ulaştırılabileceğini savunan yayınlar da mevcuttur (12-16). Akciğer lezyonunun peroperatif tanısı ve FS duyarlılığı ele alındığında ise literatürde yeterli bilgi

bulunmamaktadır. Çalışmamızda iki hastada ne FS inceleme ile ne de operasyon sonrası dönemde primer/metastaz ayrımı yapılamadığı görülmüştür. Hasta popülasyonunun tamamı ele alındığında ise FS inceleme ile tanı konulamama oranı %44.4 oranında saptanmış ve literatüre paralel şekilde oranın yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum hastaların ek medikal ve cerrahi tedavi durumları doğrudan etkilediği düşünüldüğünde çok büyük önem teşkil etmektedir.

Postoperatif dönemde bir hastada trakeostomi ihtiyacı duyulduğu ve önceden trakeostomisi bulunan iki hastada ise bronkoskopi gerektiren sekresyon retansiyonu geliştiği saptanmıştır. Grup 2'de yer alan trakeostomili hastalara kuvvetli öksürme, balon şişirme ve spirometre kullanımı gibi rutin uygulamaları gerçekleştiremedikleri için sık aspirasyon yapılarak sekresyon kontrolü sağlanmaya çalışılsa da, iki hastada bronkoskopi gerekli olmuştur. Bu sorun ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, standart spirometri cihazının trakeostomili hastalar için yapılmış modifiye bir halini kullanımını öneren çalışmalar olduğu gibi, hastanın öksürmesini sağlayan devreler ve solunum havasının ısı ve nemini düzenleyen cihazların kullanımını öneren çalışmalar da mevcuttur (9,17-19).

### Sonuç

Malignite tedavisindeki gelişmeler ile birlikte artan sağkalım süreleri aynı etiyolojik faktörlerden köken alan ikinci malignitelere sahip hastalar ile sık karşılaşmamıza sebep olmaktadır. Bu aşamada larinks maligniteli hastalar ele alındığında, akciğer cerrahisi açısından birden fazla zorluk karşımıza çıkmaktadır. Operasyon öncesi SFT dışında ek solunumsal testlerin yapılması, hastanın entübasyonunda deneyimli bir anestezi hekiminin hazır bulunması ve gereğinde blokerli sistemlerin kullanılabileceğinin akılda tutulması, mümkün ise akciğer lezyonuna preoperatif dönemde tanı konulması aksi halde FS deneyimi yüksek bir merkezde opere edilmesi karşılaşılabilecek sorunları minimum düzeye indirecek gibi görünmektedir. Yine postoperatif dönemde trakeostomili hastalara yoğun solunum egzersizi, solunum havasının nemlendirilmesi, sık aspirasyon yapılması, modifiye spirometre kullanımı ve gereğinde bronkoskopik aspirasyondan kaçınılması gereken uygulamalardır.

### Kaynaklar

1. Bertrand D, Righini C, Ferretti G, Brambilla C, Moro-Sibilot D. Early diagnosis of bronchial carcinoma after head and neck cancer. *Rev Mal Respir* 2008;25(5):559-68.
2. Rennemo E, Zätterström U, Boysen M. Impact of second primary tumors on survival in head and neck cancer: An analysis of 2,063 cases. *Laryngoscope* 2008;118(8):1350-6.
3. Griffioen GH, Louie AV, De Bree R, et al. Second primary lung cancers following a diagnosis of primary head and neck cancer. *Lung Cancer* 2015;88(1):94-9.
4. Ding N, Zhou N, Zhou M, Ren GM. Respiratory cancers and pollution. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015;19(1):31-7.

5. Ellis L, Coleman MP, Rachet B. The impact of life tables adjusted for smoking on the socio-economic difference in net survival for laryngeal and lung cancer. *Br J Cancer* 2014;8(1):195-202.
6. Overstreet S, Parekh KR, Gross TJ. Cardiopulmonary exercise testing after laryngectomy: A connection conundrum. *Respir Med Case Rep* 2015;12(16):11-4.
7. Hess M.M, Schwenk R.A, Frank W, Loddenkemper R. Pulmonary function after total laryngectomy. *Laryngoscope* 1999;109(9):988-94.
8. Toman H, Şahin H, Kiraz HA, Ömür D, Erbaş M. Trakeostomisi olan bir hastada çift lümenli tüp ile tek akciğer ventilasyonu. *GKDA Derg* 2013;19(1):49-50.
9. Choi WA, Park JH, Kim DH, Kang SW. Cough assistance device for patients with glottis dysfunction and/or tracheostomy. *J Rehabil Med* 2012;44(4):351-4.
10. Gao Y, Wang L, Zhang D. Second primary lung cancer in laryngeal cancer patients: Report on 36 cases. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2001;23(4):341-3.
11. Shih CK, Kuo YW, Lu IC, Hsu HT, Chu KS, Wang FY. Application of a double-lumen tube for one-lung ventilation in patients with anticipated difficult airway. *Acta Anaesthesiol Taiwan* 2010;48(1):41-4.
12. Neustein SM. The use of bronchial blockers for providing one-lung ventilation. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009;23(6):860-8.
13. Vretzakis G, Theodorou E, Mikroulis D. Endobronchial blockade through a tracheostomy tube for lung isolation. *Anesth Analg* 2008;107(5):1644-5.
14. Yaney LL. Double-lumen endotracheal tube for one-lung ventilation through a fresh tracheostomy stoma: A case report. *AANA J* 2007;75(6):411-5.
15. Lim HK, Ahn HS, Byon HJ, Lee MH, Cha YD. Clinical experience of one lung ventilation using an endobronchial blocker in a patient with permanent tracheostomy after total laryngectomy. *Korean J Anesthesiol* 2013;64(4):386-7.
16. Masamune T, Matsukawa T, Ookawa I, Sasuga M, Tamaki F, Kumazawa T. Double-lumen tracheostomy tube (Tracheopart) used in two patients for one-lung ventilation. *Masui* 2004;53(12):1418-20.
17. Tan AK. Incentive spirometry for tracheostomy and laryngectomy patients. *J Otolaryngol* 1995;24(5):292-4.
18. Lorenz KJ, Maier H. Pulmonary rehabilitation after total laryngectomy using a heat and moisture exchanger (HME). *Laryngorhinootologie* 2009;88(8):513-22.
19. Lee SC, Park JH, Kang SW, Kim DH, Song SH. External control of exhalation for cough assistance: A method for patients with glottis dysfunction and/or tracheostomy. *Arch Phys Med Rehabil* 2009;90(8):1402-7.



## Osteopontin levels do not increase in gestational diabetes mellitus

### Gestasyonel diabetes mellitusta osteopontin seviyeleri artmaz

Ali Saklamaz<sup>1</sup> Muhittin Akyıldız<sup>2</sup> Esin Kasap<sup>3</sup> Hakan Cengiz<sup>4</sup>

<sup>1</sup>İzmir Medical Park Hospital, Clinic of Endocrinology and Metabolism, İzmir, Turkey

<sup>2</sup>Salihli Private Hospital, Clinic of Biochemistry, Manisa, Turkey

<sup>3</sup>İzmir Private Hayat Hospital, Clinic of Gynecology and Obstetrics, İzmir, Turkey

<sup>4</sup>Dokuz Eylül University, Institute of Health Sciences, Department of Molecular Medicine, İzmir, Turkey

#### Abstract

**Aim:** Osteopontin (OPN) has recently been considered as a marker of coronary artery disease. The aim of this study is to evaluate OPN levels and investigate their correlation with the high sensitivity-CRP (hs-CRP) levels in patients with gestational diabetes mellitus (GDM), an increased state of insulin resistance.

**Materials and Methods:** Fifty-four GDM patients and 40 healthy pregnant patients were included in this study. Biochemical tests for lipid profile, fasting blood glucose, oral glucose tolerance test, OPN, HOMA-IR and hs-CRP were done at 24<sup>th</sup> gestational week. Serum levels of OPN were measured by enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs), serum hs-CRP levels were measured by particle association turbidometric assay.

**Results:** Gestational week, age, BMI of two groups were similar ( $p > 0.05$ ). The GDM group had significantly higher fasting, and post-load (1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> hour) blood glucose, HbA1c, fasting insulin and HOMA-IR levels than those of the healthy group. Except triglyceride levels, the lipid profiles of two groups were not significantly different. The GDM group had higher triglyceride levels than the control group ( $p < 0.05$ ). The OPN levels were  $3.6 \pm 2.2$  ng/mL in the GDM and  $3.4 \pm 2.6$  ng/mL in the control groups ( $p > 0.05$ ). The hs-CRP levels were  $0.94 \pm 0.8$  mg/dL,  $0.57 \pm 0.5$  mg/dL in the GDM and control groups, respectively ( $p < 0.05$ ). There was no correlation between the OPN and hs-CRP levels ( $r = 0.080$ ;  $p = 0.442$ ). In GDM the patients are experiencing rapid metabolic changes, so these metabolic changes may not affect the level of OPN.

**Conclusion:** OPN levels were not significantly increased in GDM patients.

**Keywords:** Gestational diabetes mellitus, HOMA-IR, hs-CRP, osteopontin.

#### Öz

**Amaç:** Osteopontin (OPN) son zamanlarda koroner arter hastalığının bir belirteci olarak düşünülmektedir. Bu çalışmada, insulin direncinin arttığı bir durum olan gestasyonel diabetes mellituslu (GDM) hastalarda, OPN seviyelerini ve bunun sensitif CRP (hs-CRP) seviyeleri ile korelasyonunu incelemek istedik.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 54 GDM ve 40 sağlıklı hamile alındı. 24. Gebelik haftasında kan lipid düzeyleri, oral glukoz yükleme testi, OPN, HOMA-IR, hs-CRP düzeyleri için kan tahlilleri yapıldı. Serum OPN düzeyleri ELISA, hs-CRP düzeyleri parçacık ilişkili turbidimetrik test ile ölçüldü.

**Bulgular:** Her iki grubun gestasyonel haftası, yaş, VKI benzerdi ( $p > 0.05$ ). GDM grubunda açlık glukoz, OGTT te 1 ve 2. saat kan glukoz, HbA1c, açlık insulin, HOMA-IR değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek saptandı. Trigliserid seviyeleri dışında lipid profillerinde her iki grupta anlamlı fark saptanmadı. GDM grubunda kontrol grubuna göre trigliserid seviyeleri daha yüksek saptandı ( $p < 0.05$ ). GDM grubunda OPN seviyesi  $3.6 \pm 2.2$  ng/mL, kontrol grubunda  $3.4 \pm 2.6$  ng/mL saptandı ( $p > 0.05$ ). GDM ve kontrol gruplarında hs-CRP seviyeleri sırasıyla  $0.94 \pm 0.8$  mg/dL,  $0.57 \pm 0.5$  mg/dL saptandı ( $p < 0.05$ ). OPN ve hs-CRP seviyelerinde anlamlı korelasyon saptanmadı ( $r = 0.080$ ;  $p = 0.442$ ). Gestasyonel diyabette hastalar hızlı metabolik değişiklikler yaşadığı için metabolik değişiklikler OPN seviyesini etkilemeyebilir.

**Sonuç:** GDM'lu hastalarda OPN seviyelerinde anlamlı artış saptanmamıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Gestasyonel diabetes mellitus, HOMA-IR, hs-CRP, osteopontin.

Corresponding Author: Ali Saklamaz

İzmir Medical Park Hospital, Clinic of Endocrinology and Metabolism, İzmir, Turkey

Received: 25.08.2016

Accepted: 15.11.2016

## Introduction

Gestational diabetes mellitus (GDM) is a transient carbohydrate metabolism disturbance in pregnancy. GDM is observed in 1-10% of pregnancies (1). Up to 24 weeks of pregnancy, various hormonal changes affecting insulin resistance lead to the emergence of GDM. GDM may be defined as early-onset type 2 DM in insulin resistance (1). GDM leads to a variety of risks for the fetus and the mother during pregnancy (2). Pregnants with GDM have an 18-50% risk of developing type 2 DM within 5 years after parturition (3). Cardiovascular disorders, hypertension, dyslipidemia and metabolic syndrome can also develop years after onset of GDM (4).

According to experimental and epidemiological studies, the association between serum acute phase proteins with type 2 DM, metabolic syndrome, obesity and coronary heart disease has been proven (5). Chronic inflammatory conditions developing in these diseases may cause acute-phase response (6). Studies performed in healthy population have indicated that the inflammatory biomarkers like CRP and plasminogen activator inhibitor-1 are independent predictors of coronary artery diseases (CAD) (7). In the pathophysiology of GDM, insulin resistance and chronic subclinical inflammation may lead to acute phase response (8). In this study, the GDM mothers were expected to have higher levels of hs-CRP than the control mothers.

Osteopontin (OPN) is a protein compound which is secreted by many cells (9). The role of OPN has been revealed in many cellular, humoral and metabolic mechanisms (9,10). Therefore, OPN also has an important role in atherosclerosis, vascular calcification and remodeling (11). However in a recently published study, it was reported that in a young population without any CAD symptoms, OPN levels were not associated with the vascular markers of subclinical atherosclerosis (12). In another report, OPN levels were correlated with fasting blood glucose levels and increased in obese/overweight individuals (13). Stenczer et al. (14) reported that preeclampsia patients who had serious endothelial injury had demonstrated higher fibronectin, and osteopontin levels. Pregnant patients who develop insulin resistance in the first trimester have a higher risk of becoming preeclamptic later in pregnancy (15). Recently, Winhofer et al. (16) have reported that the serum OPN levels were lower in GDM group than the control group, but the correlation between serum OPN levels and the insulin sensitivity/secretion was not statistically significant. After all, we could not find adequate number of literature studies about the significance of OPN levels in GDM.

## Materials and Methods

This prospective study included 54 GDM patients and also 40 healthy pregnant as control group (overall age range, 18-34 years) at their 24 - 28 weeks of gestation who presented to our endocrinology and obstetrics clinics between April 2012 and March 2015. Patients with any of the following criteria were excluded from the study: History of smoking; abnormal blood pressure, previously diagnosed thyroid or pituitary disease; CAD; diabetes mellitus; chronic renal failure; rheumatic disease; and recent history of psychiatric disorders. Blood samples were drawn once for the measurement of OPN, hs-CRP, lipid profile, HOMA-IR levels, after the patients with established diagnosis of GDM, gave their informed consent for the study.

A 2-hour oral glucose tolerance test (OGTT) was performed using 75 g glucose after 8 hours of fasting. OGTT equal or above reference values (fasting: 92 mg/dL, 1-h: 180 mg/dL, and 2-h: 153 mg/dL) indicated presence of GDM (17).

Medical ethics committee of our university approved the study. The researchers declared that they had complied with the World Medical Association *Declaration of Helsinki*: Ethical principles for medical *research* involving *human* subjects. The written and informed consent forms were provided for all patients.

### *Biochemical parameters*

Serum glucose, triglyceride, total and HDL-cholesterol levels were determined using enzymatic procedures, and serum insulin was measured with chemiluminescent methods. Serum LDL levels were calculated using the Friedwald formula. Serum levels of OPN were measured by enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) (Human Osteopontin Platinum ELISA BMS2066 / BMS2066TEN eBioscience Kit; normal range 2.30-75.24 ng/mL). High- sensitivity CRP (hs-CRP) levels were measured by particle-enhanced turbidometric immunoassay (normal range 0.03-2.76 mg/dL) (Cobas Integra C-Reactive Protein Latex, Roche Diagnostics, Indianapolis, USA). HbA1c was measured from blood samples by the turbidometric inhibition immunoassay test method (Roche COBAS Autoanalysis 6000, USA) (18).

Firstly, serum insulin and fasting glucose levels were measured, then the insulin resistance was calculated using the homeostasis model assessment (HOMA) based on the following formula (19).

$$\text{HOMA-IR} = \frac{[\text{fasting plasma insulin } (\mu\text{U/mL})] \times [\text{fasting plasma glucose (mmol/L)}]}{22.5}$$

### *Statistical analyses*

Statistical analyses were performed using the Rstudio software (version 0.98.501). The Kolmogorov-Smirnov test was done to analyze the normality of data. All

numerical variables with a normal distribution were expressed as mean±standard deviation. For comparison between the parameters of GDM and control groups the independent sample t-test was used. Nonhomogeneous data were analyzed using the Mann-Whitney U test. The Pearson correlation test was used to assign the association between OPN and hs-CRP levels.

## Results

The characteristics of the groups are shown in Table-1. There was no significant difference in age, BMI and gestational week between the groups.

**Table-1.** Demographic Characteristics of Patients (n=94).

	GDM Group (n=54)	Control Group (n=40)	p
Age (years)	32.6 ± 5.3	29.2±4.7	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28.6 ± 4.3	25.9 ± 3.8	NS
Gestational week	24.9 ± 3.2	25.5 ± 2.3	NS

GDM: Gestational diabetes mellitus, NS: Non-significant. Values are given as mean ± SD (standard deviation)

**Table- 2.** Results of the Study

	GDM Group (n=50)	Control Group (n=40)	p
Fasting blood glucose*	94.8±16.7	80.2±6.1	<0.001
Fasting insulin (µU/mL)	12.8 ± 5.4	7.2 ± 3.1	<0.001
HOMA-IR	3.06 ± 1.4	1.5 ± 0.7	<0.001
Post load glucose* (1 <sup>st</sup> hour)	200.4±49.6	143.6±29.6	<0.001
Post load glucose* (2 <sup>nd</sup> hour)	161.7±42.0	114.8±22.6	<0.001
HbA1c (%)	5.6±0.6	5.0±0.4	<0.001
Total cholesterol*	238.9 ± 54.8	220.1 ± 36.6	0.062
Triglyceride*	197.3 ± 84.6	145.7 ± 56.5	≤0.001
LDL-cholesterol*	138.6 ± 40.2	131.7 ± 31.4	0.363
HDL-cholesterol*	64.2 ± 16.4	63.1 ± 18.3	0.769
Osteopontin (ng/mL)	3.6±2.2	3.4±2.6	0.666
hs-CRP*	0.94±0.8	0.57±0.5	0.004

GDM: Gestational diabetes mellitus, SD: Standard deviation, hs-CRP: High-sensitivity C-reactive protein, \*: (mg/dL)

As shown in Table-2, women with GDM had statistically significantly higher fasting glucose, 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> post load glucose, and HbA1c levels than women in the healthy group.

Significant intergroup differences were also found as for fasting insulin, HOMA-IR and triglyceride levels (p<0.05). Total, LDL, HDL-cholesterol levels were not significantly different between groups. There was no statistically significant difference in serum OPN levels between the groups. The hs-CRP levels were significantly higher in the GDM group compared with the control group. There

was no statistically significant correlation between the OPN and hs-CRP levels (r=0.080; p=0.442).

## Discussion

The fasting and post load glucose, HbA1c, fasting insulin, and HOMA-IR levels were statistically significantly higher in the GDM group. Because GDM occurs as a result of the progressive advancement of insulin resistance, blood glucose, and insulin levels were expected to be higher than those of the healthy group. Significant increases in fasting insulin levels and HOMA-IR were determined. Metabolic parameters of women with GDM that were comparable to those observed in obesity and type 2 DM (20).

Lipid profiles of the two groups were not significantly different except triglyceride levels. In pregnancy, total cholesterol and triglyceride levels are expected to increase, but the ranges are variable according to various studies performed (21-23). High levels of triglyceride and low levels of HDL-cholesterol are typical findings of metabolic syndrome and diabetes mellitus. Insulin resistance and GDM, may lead to the development of higher triglyceride levels in the GDM group.

In our study, the hs-CRP level in the GDM group was significantly higher than that of the healthy group. The hs-CRP is accepted as a risk factor for atherosclerosis, myocardial infarction and stroke (24). C-reactive protein secreted from liver has an important role in immune response. The hs-CRP activates many inflammatory processes. In human endothelial cells, hs-CRP stimulates adhesion proteins like vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), E-selectin and monocyte chemo-attractant protein-1 (MCP-1) (5). Also in human monocytes hs-CRP stimulates the production of tissue factor that has a role in extrinsic coagulation pathway (24). Retnakaran et al. (8) reported that the obesity is the factor that influences the CRP levels in GDM patients. In another report, the patients who previously had GDM also had higher levels of CRP (25). Even after GDM, chronic inflammation and thus the CAD risk probably continue. Bo et al. (26) reported that post-GDM women had higher levels of E-selectin, intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), interleukin-6 (IL-6), hs-CRP and IMT (intima media thickness) than the controls. Thus, these studies have led to the conclusion that GDM patients will have an increased risk of cardiovascular disease in the future (26).

OPN is a glycoprotein and acts as a multifunctional pro-inflammatory cytokine. It is secreted from activated T cells, NK cells, dendritic cells and monocytes/macrophages. OPN plays an important role in the physiologic and pathologic events including angiogenesis, apoptosis, inflammation, wound healing and tumor metastasis (27, 28). OPN levels

increase in chronic inflammation, and it may have a function in the pathogenesis of atherosclerosis (29). Nakamachi et al. (30) reported that PPR $\alpha$  agonists suppress OPN expression in macrophage cell cultures and decrease OPN levels in type 2 diabetic patients. In conclusion, all these information suggest the possible role of OPN in macrophage-derived inflammatory process. In another paper, the authors reported that in pre-eclamptic patients OPN concentrations increased in association with extensive endothelial injury (14). Yan et al. (31) reported higher OPN levels in type 2 diabetic patients and demonstrated the existence of an independent association with the presence and severity of nephropathy and CAD. In another article, Ahmad et al. (13) reported that IL-8 plays a significant role in the secretion of plasma OPN levels. They also noticed that IL-8 and OPN levels increased in correlation with insulin resistance in obese patients (13). In a large-scale study conducted in young adults, OPN was shown not to be of interest regarding vascular markers of subclinical atherosclerosis (12). In another study, OPN was suggested to be the first indicator of coronary artery calcification in asymptomatic CAD in patients with type 2 DM (32). Despite contradictory publications, in an article involvement of OPN in insulin resistance, obesity, chronic inflammation, such as CAD has been demonstrated (33). As indicated in this paper, in spite of favourable changes in insulin resistance, levels of OPN increased in bariatric surgery (33). In this study, increased OPN levels were correlated with the increased osteocalcin and C-telopeptide levels (33). The association of OPN with insulin/glucose levels and atherosclerosis has been reported in an experimental study (34). As demonstrated in that study, an increase in blood glucose levels activates NFAT (Nuclear Factor of Activated T-cell) which leads to an increase in OPN mRNA (34). A similar study was done previously by Winhofer et al (16). In that study, lower OPN levels were detected in patients with GDM compared with the control group, and any correlation could not be found between OPN and insulin levels/secretion (16). The authors also reported that OPN levels had increased during

postpartum period (16). The authors concluded that OPN might have local importance and it is not an underlying factor in the development of insulin resistance in GDM patients. Correlation between OPN, and CRP/hs-CRP levels was also reported. In our study we reported that OPN levels were not different in GDM group than the healthy group and there was no correlation with the hs-CRP levels. We did not study the postpartum OPN levels, so we do not know any postpartum effect on OPN levels. The important role of OPN in vascular calcification has been shown in insulin resistance, obesity, and chronic inflammation in atherosclerosis. In GDM or bariatric surgery, patients are experiencing rapid metabolic changes. So these metabolic changes may not affect the level of OPN. However, in chronic diseases such as type 2 Diabetes or CAD, blood OPN levels may be correlated with the disease duration.

The limitations of our study were as follows: More significant results could be obtained if greater number of patients could be investigated in a longer study period. And also if a group of diabetic patients who were not pregnant could be enrolled in the study; then more meaningful results could be reported. If the weight gain during pregnancy had been considered, there might have been statistically significant correlation with the OPN. We could have obtained highly significant results, if we could evaluate OPN levels during postpartum period.

### Conclusion

OPN has recently been considered as a marker for the risk of CAD. We found a significant increase in serum hs-CRP levels but no significant increase in OPN levels in the GDM which increase insulin resistance and where metabolic changes are rapid. There is a need for studies involving more patients and postpartum period. OPN levels do not significantly increase in GDM patients.

The authors declare that they have not any conflicts of interest.

### References

1. Jovanovic L, Pettitt DJ. Gestational diabetes mellitus. *JAMA* 2001;286(20):2516-8.
2. Dennedy MC, Dunne F. The maternal and fetal impacts of obesity and gestational diabetes on pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2010;24(4):573-89.
3. Kaufmann RC, Schleyhahn FT, Huffman DG, Amankwah KS. Gestational diabetes diagnostic criteria: Long-term maternal follow-up. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172 (2 Pt 1):621-5.
4. Akinci B, Celtik A, Genc S, et al. Evaluation of postpartum carbohydrate intolerance and cardiovascular risk factors in women with gestational diabetes. *Gynecol Endocrinol* 2011;27(5):361-7.
5. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: Associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: A potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(4):972-8.
6. Stern MP. Diabetes and cardiovascular disease. The "common soil" hypothesis. *Diabetes* 1995; 44(4):369-74.

7. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342(12):836-43.
8. Retnakaran R, Hanley AJ, Raif N, Connelly PW, Sermer M, Zinman B. C-reactive protein and gestational diabetes: The central role of maternal obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(8):3507-12.
9. Scatena M, Liaw L, Giachelli CM. Osteopontin. A multifunctional molecule regulating chronic inflammation and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27(11):2302-9.
10. Kahles F, Findeisen HM, Bruemmer D. Osteopontin: A novel regulator at the cross roads of inflammation, obesity and diabetes. *Mol Metab* 2014;3(4):384-93.
11. Tousoulis D, Siasos G, Maniatis K, et al. Serum osteoprotegerin and osteopontin levels are associated with arterial stiffness and the presence and severity of coronary artery disease. *Int J Cardiol* 2012;167(5):1924-8.
12. Wendelin-Saarenhovi M, Oikonen M, Loo BM, et al. Plasma osteopontin is not associated with vascular markers of subclinical atherosclerosis in a population of young adults without symptoms of cardiovascular disease. The cardiovascular risk in young finns study. *Scand J Clin Lab Invest* 2011;71(8):683-9.
13. Ahmad R, Al-Mass A, Al-Ghawas D, et al. Interaction of osteopontin with IL-18 in obese individuals: Implications for insulin resistance. *PLoS One* 2013;8(5):e63944.
14. Stenczer B, Rigo J, Prohaszka Z, et al. Plasma osteopontin concentrations in preeclampsia - is there an association with endothelial injury? *Clin Chem Lab Med* 2010;48(2):181-7.
15. Hauth JC, Clifton RG, Roberts JM, et al. Maternal insulin resistance and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2011;204(4):327 e321-6.
16. Winhofer Y, Kiefer FW, Handisurya A, et al. Ctx (crosslaps) rather than osteopontin is associated with disturbed glucose metabolism in gestational diabetes. *PLoS One* 2012;7(7):e40947.
17. Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, et al. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care* 2010;33(3):676-82.
18. Tiniakos DG, Yu H, Liapis H. Osteopontin expression in ovarian carcinomas and tumors of low malignant potential (Imp). *Hum Pathol* 1998;29(11):1250-4.
19. Rossner SM, Neovius M, Montgomery SM, Marcus C, Norgren S. Alternative methods of insulin sensitivity assessment in obese children and adolescents. *Diabetes Care* 2008;31(4):802-4.
20. Catalano PM, Kirwan JP, Haugel-de Mouzon S, King J. Gestational diabetes and insulin resistance: Role in short- and long-term implications for mother and fetus. *J Nutr* 2003;133(5 Suppl 2):1674S-83S.
21. Brizzi P, Tonolo G, Esposito F, et al. Lipoprotein metabolism during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181(2):430-4.
22. Wiznitzer A, Mayer A, Novack V, et al. Association of lipid levels during gestation with preeclampsia and gestational diabetes mellitus: A population-based study. *Am J Obstet Gynecol* 2009;201(5):482 e481-8.
23. Piechota W, Staszewski A. Reference ranges of lipids and apolipoproteins in pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1992;45(1):27-35.
24. Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998;351(9096):88-92.
25. Heitritter SM, Solomon CG, Mitchell GF, Skali-Ounis N, Seely EW. Subclinical inflammation and vascular dysfunction in women with previous gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(7):3983-8.
26. Bo S, Valpreda S, Menato G, et al. Should we consider gestational diabetes a vascular risk factor? *Atherosclerosis* 2007;194(2):e72-9.
27. Naldini A, Leali D, Pucci A, et al. Cutting edge: Il-1beta mediates the proangiogenic activity of osteopontin-activated human monocytes. *J Immunol* 2006;177(7):4267-70.
28. Yu M, Liu Q, Yi K, Wu L, Tan X. Effects of osteopontin on functional activity of late endothelial progenitor cells. *J Cell Biochem* 2011;112(7):1730-6.
29. Momiya Y, Ohmori R, Fayad ZA, et al. Associations between plasma osteopontin levels and the severities of coronary and aortic atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2010;210(2):668-70.
30. Nakamachi T, Nomiya T, Gizard F, et al. PPAR-alpha agonists suppress osteopontin expression in macrophages and decrease plasma levels in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2007;56(6):1662-70.
31. Yan X, Sano M, Lu L, et al. Plasma concentrations of osteopontin, but not thrombin-cleaved osteopontin, are associated with the presence and severity of nephropathy and coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol* 2010;9:70.
32. Berezin AE, Kremzer AA. Circulating osteopontin as a marker of early coronary vascular calcification in type two diabetes mellitus patients with known asymptomatic coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2013;229(2):475-81.
33. Riedl M, Vila G, Maier C, et al. Plasma osteopontin increases after bariatric surgery and correlates with markers of bone turnover but not with insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(6):2307-12.
34. Nilsson-Berglund LM, Zetterqvist AV, Nilsson-Ohman J, et al. Nuclear factor of activated t cells regulates osteopontin expression in arterial smooth muscle in response to diabetes-induced hyperglycemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30(2):218-24.

## **Candida türlerinde biyofilm oluşumunun modifiye mikropalak ve modifiye XTT redüksiyon yöntemleri ile saptanması**

Detection of biofilm formation in *Candida* species with modified microplate and modified XTT reduction methods

Uğur Tüzüner<sup>1</sup> Ramazan İnci<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Viroloji Bilim Dalı, Konya, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

### **Öz**

**Amaç:** İnvaziv girişimlerin artışı, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, immünsüpresif tedavilerin yaygınlaşması, kemik iliği baskılanması ve nötropeni gibi faktörler, ciddi fungal enfeksiyonların, özellikle *Candida* enfeksiyonlarının sıklığını arttırmaktadır. Bu artış kandidaların virülans faktörlerine dikkati çekmiştir. Biyofilm oluşturma kapasitesi önemli virülans faktörlerinden biridir. Çalışmamızda klinik örneklerden soyutlanan *Candida* türlerinde iki farklı yöntem ile biyofilm oluşumunu saptamayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Laboratuvarında 2012-2014 yıllarına ait çeşitli klinik örneklerden soyutlanmış ve stoklanmış 216 *Candida* izolatı kullanıldı. Biyofilm oluşumunu saptamak için modifiye mikropalak ve modifiye XTT redüksiyon yöntemleri, istatistiksel değerlendirmeler için ki-kare testi kullanıldı.

**Bulgular:** İncelenen kandidalarda modifiye mikropalak yöntemiyle %19.4 (n=42), XTT redüksiyon yöntemiyle %22.7 (n=49) biyofilm pozitifliği saptandı. Biyofilm pozitifliği mikropalak yöntemi ile; *Candida albicans*'ların %12.5'inde (n=16), *Albicans Dışı Candida*'ların (ADC) %29.5'inde (n=26), XTT redüksiyon yöntemi ile; *Candida albicans*'ların %15.6'sında (n=20), ADC'lerin %32.9'unda (n=30) saptandı. Oranlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (ki-kare=11.246; p=0.024). Biyofilm pozitifliği her iki yöntem ile en çok *Candida tropicalis* izolatlarında (13/30 ve 12/30) saptandı.

**Sonuç:** Çalışmamızda elde edilen verilere göre, modifiye XTT redüksiyon yönteminin biyofilm oluşumunu daha iyi saptadığı ve *Candida tropicalis* suşlarının daha fazla biyofilm oluşturduğu sonucuna vardık.

**Anahtar Sözcükler:** *Candida*, biyofilm, XTT, *C.tropicalis*.

### **Abstract**

**Aim:** Increasing of invasive procedures, use of broad-spectrum antibiotics, widespread use of immunosuppressive therapy, bone marrow suppression and factors such as neutropenia is increasing the frequency of serious fungal infections; especially of *Candida*. This increase was noted to candida virulence factors. Biofilm forming capacity is an important virulence factor. In our study, we aimed to determine the biofilm formation of *Candida* species isolated from clinical specimens, by two different methods.

**Materials and Methods:** In this study 216 *Candida* isolates which were identified and stocked from several clinical specimens which have been sent to Ege University, Medical Microbiology Department, Mycology Laboratory were used between 2012-2014 years. Modified microplate and modified XTT reduction methods have been used for determining the biofilm formation and chi-square test was used for statistical evaluations.

**Results:** The biofilm formation rate of *Candida* species was found to be 19.4% (n=42) with microplate method and 22.7% (n=49) with XTT reduction method. Biofilm formation was detected in 12.5% (n=16) of *Candida albicans* and 29.5% (n=26) of Non *Albicans Candida* (NAC) species with microplate method. However by using XTT reduction method biofilm formation detected in 15.6% (n=20) of *Candida albicans* and in %32.9 (n=30) of NAC species. The difference between ratios was statistically relevant (chi-square=11.246; p=0.024). Biofilm formation detected most frequently in *Candida tropicalis* strains (13/30 and 12/30) by the two methods used.

Yazışma Adresi: Uğur Tüzüner

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Viroloji Bilim Dalı, Konya, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 06.10.2016 Kabul Tarihi: 20.12.2016

**Conclusion:** On the basis of data obtained by the study, we concluded that modified XTT reduction method is identifying better the biofilm formation and *Candida tropicalis* strains formed more biofilm.

**Keywords:** *Candida*, biofilm, XTT, *C.tropicalis*.

## Giriş

*Candida* türleri insan mikrobiyota üyesi mikro-organizmalardır. Bazı hazırlayıcı faktörlerin varlığında kandidozlara neden olurlar. *Candida* türleri, sistemik mikoz etkenleri arasında en sık görülenleridir. Çok sayıda olan *Candida* türlerinden ancak bazıları insanda enfeksiyon etkenidir. En sık görülen kandidoz etkeni *Candida albicans*'tır (1).

Tanı ve tedaviye yönelik yapılan invaziv girişimlerin artışı, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, organ nakilleri veya başka nedenlerle sık başvuru olan güçlü immünsüpresif tedavilerin yaygınlaşması, malign hastalıklar nedeni ile verilen antikanser ilaçların neden olduğu kemik iliği baskılanması ve nötropeni gibi faktörler, ciddi fungal enfeksiyonların sıklığını arttırmaktadır (2). Bu artış araştırmacıların dikkatini kandidaların proteaz, esteraz, fosfolipaz ve biyofilm gibi virülans faktörlerine çekmiştir (3).

Kandidalar damar içi kateterler ve diğer medikal araçların yüzeyi ile temas ettiklerinde polisakkarit yapıda kompleks bir tabaka oluştururlar. Bu tabakaya biyofilm adı verilir. Biyofilmin en yeni tanımı ise; canlı veya cansız bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri organik bir ekzopolisakkarit matriks içine gömülü ve hareketsiz olarak birbirine, bir katı yüzeye veya bir ara yüzeye geri dönüşümsüz olarak tutunmuş halde yaşayan mikro-organizmaların oluşturduğu topluluktur (4).

Biyofilm oluşturma kapasitesi önemli virülans faktörlerinden biridir. Bu yüzden biyofilm oluşturan *Candida* türleri karşımıza; antifungal direnç, kronik enfeksiyon, yabancı cisim enfeksiyonları gibi klinisyenlerin karşılaşmak istemediği tablolara çıkabilir. Bakterilerin ürettiği biyofilmin enfeksiyonlarla ilişkisine dair çok sayıda çalışma varken, mantarlarla ilgili bilgiler kısıtlıdır. Bu nedenle kandidalardaki biyofilm yapısının anlaşılması, neden olduğu hastalıkların tedavisi ve izlemi için önem taşır (5).

Biyofilmlerin içindeki kandidaların antifungal ilaçlara daha dirençli olmasının birçok nedeni vardır. Bunlardan en önemlisi antifungal ilaçların biyofilm matriksine iyi penetre olamamasıdır. Ayrıca direnç gelişiminde biyofilm içindeki hücrelerin daha yavaş üremesinin ve biyofilme bağlı hücrelerin yüzeyindeki değişikliklerin rol oynadığı düşünülmektedir (6,7).

Biyofilm oluşumunu incelemek için kullanılan birçok yöntem vardır. Modifiye tüp adherans (8), mikroplak (9), Kongo kırmızılı beyin-kalp infüzyon agar (9,10), glukozlu sıvı sabouraud agar ve glukozlu beyin-kalp infüzyon sıvısı (9), XTT redüksiyon (11), MTT tuzu ile görüntüleme (12), konfokal laser mikroskop ile

görüntüleme (13), taramalı elektron mikroskop ile görüntüleme (14) gibi yöntemler tek başına ya da kombine şekilde kullanılmaktadır.

Hastalık etkeni olarak soyutlanan kandidaların biyofilm oluşturma özelliklerinin bilinmesi hastalığın izlenmesi ve tedavinin yönlendirilmesi yönünden önem taşır. Bu çalışmada amaç; klinik örneklerden soyutlanan *Candida* türlerinde modifiye mikroplak ve modifiye XTT redüksiyon yöntemleri ile biyofilm oluşumunu ve *Candida* türlerine göre biyofilm oluşturma derecelerini saptamaktır.

## Gereç ve Yöntem

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden (farklı zaman aralıklarında farklı yöntemler kullanılarak); 1) Klasik yöntemler, 2) *API 20C AUX*, 3) *VITEK® MS* ile tür düzeyinde tanımlanmış, 2012-2014 yıllarına ait, boncuklu stok besiyerlerinde stoklanmış *Candida* izolatları kullanıldı. İzolatlar, her hastadan tek örnek alınarak stoklanmıştır. Stoklar tekrar üretilirken, boncuklar önce sıvı Sabouraud buyyona atıldı. 24 saat 35°C'de inkübasyon sonrasında sıvı Sabouraud buyyonda üreme olanlardan Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) besiyerine pasajları yapıldı. Üretilen mayaların çoğunluğu (177/216) kan ve kateter ucundan, geri kalanı ise (39/216) diğer klinik örneklerden (idrara, BOS, biyopsi ve solunum yolu örnekleri) soyutlanan izolatlardı. Çalışmaya alınan mayaların türlere göre dağılımı: *C. albicans*: 128/216 (%59.3); *C. tropicalis*: 30/216 (%13.9); *C. glabrata*: 29/216 (%13.4); *C. parapsilosis*: 22/216 (%10.2); *C. krusei*: 7/216 (%3.2) idi. Çalışmada kontrol köken olarak, *C. albicans* (ATCC 10231), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. krusei* (ATCC 6258) kullanıldı.

### Modifiye mikroplak yöntemi

Kandida izolatları SDA besiyerine pasajlandıktan sonra 24 saat 35°C'de inkübe edildi. Son konsantrasyonunda %8 glukoz içeren Sabouraud dekstroz buyyon (SDB) hazırlandı. Her bir tüpe 2 ml konulup otoklavda basınçlı buhar ile steril edildi. SDA'dan bir öze dolusu maya kolonisi alınarak %8 glukozlu SDB içine inoküle edildi. 35°C'de 24 saat inkübasyon sonrası etüvden çıkarılan tüpler 5 saniye vorteksledi. %8 glukozlu SDB ile 1/40 oranında ( $10^7$  maya hücresi/ml = Mc Farland 4) dilüe edildi. U tabanlı, 96 kuyucuklu, steril, polistiren plaklara; her örnek için üç kuyucuk olacak şekilde 200 µl maya süspansiyonu pipetlendi. Her plakta pozitif kontrol amacıyla üç kuyucuğa standart kökenle aynı uygulamalarla hazırlanmış maya süspansiyonu, negatif kontrol amacıyla altı kuyucuğa boş besiyeri konuldu.

Plaklar kapakları kapatılarak 35°C'de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası kuyucuklar üç kere steril Phosphate Buffered Saline (PBS) ile yıkandı, ters çevrilerek kurutuldu.

Yöntemin bu kısmından sonrasında her iki yöntem için farklı basamaklar uygulanmıştır. Modifiye mikroplak yönteminde yıkanıp kurutulmuş plaklar %1'lik kristal viyole ile 15 dakika boyandı. PBS ile yıkama işlemi tekrarlandıktan sonra fiksasyon için her bir kuyucuğa 200µl etanol-aseton (80:20 vol/vol) eklendi. ELISA Mikroplak okuyucu cihazda (*Organon Teknika Mikrowell System*<sup>®</sup>) 620 nm dalga boyunda kuyucukların optik dansiteleri saptandı.

Değerlendirmede optik dansite sonucuna göre kantitatif skala kullanıldı. İzolatların her biri için çalışılan üç kuyucuğun OD ortalaması alındı. Çıkan değer ≤ 1 ise negatif; > 1 pozitif olarak değerlendirildi (15).

#### Modifiye XTT redüksiyon yöntemi

Bu yöntemde ortak sonrasında XTT (2,3-Bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilid) (*Cayman*<sup>®</sup>) son konsantrasyonu 1 mg/mL olacak şekilde PBS içinde çözündürüldü. Hazırlanan solüsyon 0.22 µm'lik filtreden geçirilerek sterilize edildi, alikotlanıp çalışma yapılana kadar ışık görmeyecek şekilde -80°C'de saklandı. Menadione (*Sigma Aldrich*<sup>®</sup>) (0.4 mM/aseton içinde hazırlanmış) solüsyonu da her çalışmadan hemen önce hazırlandı ve 0.22 µm'lik filtreden geçirilip sterilize edilerek çalışmaya alındı. Yıkanmış ve kurumuş kuyucukların her birine, XTT ve Menadione yirmiyeye bir oranında olacak şekilde; 79 µL PBS, 20 µL XTT ve 1 µL Menadione solüsyonu aktarıldı. Plaklar 35°C'de karanlıkta 3 saat inkübe edildikten sonra, ELISA Mikroplak okuyucu cihazda (*Organon Teknika Mikrowell System*<sup>®</sup>) 492 nm dalga boyunda kuyucukların optik dansiteleri saptandı.

Değerlendirmede optik dansite sonucuna göre kantitatif skala kullanıldı. İzolatların her biri için çalışılan üç kuyucuğun OD ortalaması alındı. Çıkan değer ≤0.1 ise negatif; >0.1 ise pozitif olarak değerlendirildi (16).

Çalışmadan elde edilen sonuçlar *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS<sup>®</sup> 16.0 for Windows) veri tabanına işlendi. Oranlar arasındaki farkların istatistiksel açıdan değerlendirilmesi için *Ki-kare testi* kullanıldı.

#### Bulgular

Yöntemlere göre kandidaların biyofilm oluşturma özellikleri incelendiğinde modifiye mikroplak yöntemiyle %19.4'nün (n=42), XTT redüksiyon yöntemiyle %22.7'sinin (n=49) biyofilm oluşturduğu saptandı. Mikroplak yöntemiyle; *C. albicans*'ların %12.5'inin (n=16), *ADC*'ların %29.5'inin (n=26) biyofilm oluşturduğu, XTT redüksiyon yöntemiyle; *C. albicans*'ların %15.6'sının (n=20), *ADC*'ların %32.9'unun (n=30) biyofilm oluşturduğu görüldü (Tablo-1). Biyofilm oluşturma oranları açısından, XTT redüksiyon ve

mikroplak yöntemleri arasındaki fark, ayrıca *C. albicans* ve *ADC*'lar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $\chi^2=11.246$ ;  $p= 0.024$ ). Her iki yöntemle de en fazla biyofilm oluşturma oranı *ADC*'lardan olan *C. tropicalis*'e (13/30 ve 12/30) aitti.

**Tablo-1.** Biyofilm Oluşturan *Candida*'ların Yöntemlere Göre Dağılımı.

<i>Candida</i> türleri	Biyofilm deneylerinde uygulanan Modifiye Yöntemler	
	Mikroplak (%)	XTT Redüksiyon (%)
<i>C. albicans</i>	16/128 (12.5)	20/128 (15.6)
<i>ADC</i> 'lar	26/88 (29.5)	29/88 (32.9)

$\chi^2=11.246$ ;  $p= 0.024$ ; *ADC*: *Albicans* dışı *Candida*

#### Tartışma

Kandidalar fırsatçı mantar enfeksiyonları etkenlerindedir. Sistemik ve yüzeysel kandidozlar son yıllarda artış göstermiştir. Kandidozlardan, aynı zamanda mikrobiyota üyesi de olan *C. albicans* sorumlu olarak sıklıkla soyutlanırken, son yıllarda *ADC* türlerine bağlı enfeksiyonlar sık görülmektedir (17). Kandidozların artmasında konağa bağlı faktörlerin (bağışık engellilik, steroid ve antibiyotik tedavisi, vb.) yanısıra, etkenlere bağlı virülans faktörleri de çok önemlidir (18).

Yaptığımız çalışmada özellikle; klinik kökenli *Candida* türlerinde biyofilm oluşumunu ve derecesini saptamak, biyofilm oluşumunu en hızlı, objektif ve ucuz yöntemle gösterebilmek hedeflendi. *Candida*'larla yapılan biyofilm çalışmaları çoğu kez klinik örneklerden soyutlanan izolatlarla yapılmıştır (14). Çalışmamızda da kan kültürlerinden ve diğer klinik örneklerden soyutlanan *Candida* izolatlarında biyofilm oluşumu araştırılmıştır. Uygulaması kolay, değerlendirmesi objektif ve ucuz bir yöntem olması nedeniyle modifiye mikroplak ve modifiye XTT redüksiyon biyofilm araştırma yöntemleri seçilmiştir. Bu iki yöntemin kullanıldığı çeşitli çalışmalar da vardır (19-21). Biyofilm konusunda yapılan çalışmalarda altın standart yöntem henüz netleşmemiştir. Ancak, altın standart olarak uygulanabilecek yöntemlerden bahsedilmektedir. XTT redüksiyon yöntemi de bunlardan biridir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada mikroplakta XTT redüksiyon yönteminden, uygulama kolaylığı, iki saat gibi kısa bir sürede sonuç vermesi, sonuçların objektif olarak değerlendirilmesi ve tekrarlanabilir olması nedeniyle biyofilm varlığının saptanmasında uygun bir yöntem olarak bahsedilmiştir. Ancak, maliyetinin benzer yöntemlere göre daha yüksek olduğunun altı çizilmiştir (22).

HIV enfeksiyonu olan hastaların ağız sürüntülerinden soyutlanan kandidalarla, XTT redüksiyon ve mikroplak yöntemleri kullanılarak yapılan bir çalışmada kökenlerde mikroplak ile saptanan biyofilm oluşum oranının XTT redüksiyon yöntemi ile saptanandan daha fazla olduğu, ancak bu sonuca rağmen XTT redüksiyon yönteminin,



mikroplak yöntemine göre daha güvenilir olduğu vurgulanmıştır (23).

Altta yatan hastalıkları farklı olan ve ayrıca HIV enfeksiyonu da olan kandidemili hastalardan soyutlanan 126 farklı *Candida* izolatında; mikroplak ve XTT redüksiyon yöntemi ile biyofilm oluşumunun ve virülansla ilişkilerinin gösterildiği çalışmada *C. albicans* izolatlarında biyofilm oluşumu daha fazla saptanmıştır. Biyofilm oluşumu görülen izolatların çoğunun antifungallere dirençli olduğu; özellikle persistan hastalıklarda biyofilm yapımının kandidalar için önemli bir virülans faktörü olduğu vurgulanmıştır (24).

Yapılan birçok çalışmada ADC izolatlarında biyofilm oluşumunun *C. albicans* izolatlarına göre daha fazla olduğu belirtilmiştir. Bu izolatlar arasında en çok biyofilm pozitifliği *C. tropicalis* türlerinde saptanmıştır (13,14, 25, 26).

Biyofilm oluşturan izolatlarla enfekte olanlarda hastanede yatış süresi, toplam tedavi ücreti ve mortalite anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu hastaların antifungal tedavide biyofilmlere daha yüksek etkili antifungallere ihtiyaç duyduğu da belirtilmiştir (13). Tüm bu çalışmalarda olduğu gibi çalışmamızda da biyofilm oluşumu en fazla olan *Candida* türü *C. tropicalis* olarak saptanmıştır.

Türkiye’de yapılan çalışmaların çoğunluğu modifiye tüp adherans yöntemin kullanıldığı çalışmalardır (27-29). Bunların çoğunda *Candida* türlerindeki biyofilm oluşumlarına bakıldığında ADC izolatlarında biyofilm pozitifliğinin *C. albicans* izolatlarına göre belirgin şekilde daha fazla olduğunu saptanmıştır (27,28).

Klinik örneklerden soyutlanan 116 *Candida* izolatında modifiye mikroplak yöntemi ile biyofilm oluşumunun incelendiği çalışmada, izolatların 33’ünün (%28) biyofilm oluşturduğu ayrıca kan kültür örneklerinden soyutlanan izolatlarda biyofilm oluşturma oranının daha yüksek olduğu saptanmıştır (%33). ADC izolatlarında (%41) biyofilm oluşturma oranı *C. albicans* izolatlarına göre (%23) daha yüksek bulunmuştur (30). Çalışmamızda da kan kültürlerinden soyutlanan ADC türlerinde daha çok biyofilm pozitifliği saptanmıştır. Bu sonucu çalışmamızda kan kültürlerinden soyutlanan izolatların çoğunlukta olmasına bağlayabiliriz. Yaptığımız çalışmayla uyumlu olarak bu çalışmada da modifiye mikroplak yöntemiyle en fazla biyofilm oluşumu *C. tropicalis* izolatlarında saptanmıştır.

### Sonuç

Kandidemi ve katetere bağlı enfeksiyonlarda sıklıkla *Candida* türleri soyutlanmaktadır. *Candida* enfeksiyonlarının patogeneğinde virülans faktörlerinden biri olan biyofilmin önemli olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Çalışmamız sonunda, Modifiye XTT redüksiyon yönteminin biyofilm oluşumunu daha iyi saptadığı ve ADC türlerinden *C. tropicalis* suşlarının daha fazla biyofilm oluşturduğu kanaatine vardık. Bu sonuç benzer çalışmaların sonuçları ile uyumludur. Ayrıca biyofilm oluşumunu saptamak amacıyla kullanılan modifiye mikroplak ve modifiye XTT redüksiyon yöntemleri, uygulaması kolay, değerlendirmesi objektif ve ucuz yöntemlerdir.

### Kaynaklar

1. Tümbay E. *Candida* türleri. In: Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara: Güneş Kitabevi; 1999:1081-86.
2. Arens MQ, Swierkosz EM. Taxonomy and classification of fungi, In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (ed), Manual of Clinical Microbiology Vol 2. 9th ed, Washington DC: ASM Press: 2007:1721-27.
3. Çerikcioğlu N, Sancak B. Mantarların genel özellikleri ve tanı yöntemleri. In: Wilke AT, Söyletir G, Doğanay M (eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008:2391.
4. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev 2002;15(2):167-93.
5. Kojic EM, Darouiche RO. *Candida* infections of medical devices. Clin Microbiol Rev 2004;17(2):255-67.
6. Hawser SP, Douglas LJ. Resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents in vitro. Antimicrob Agents Chemother 1995;39(9):2128-31.
7. Jabra-Rizk MA, Falkler WA, Meiller TF. Fungal biofilms and drug resistance. Emerg Infect Dis 2004;10(1):14-9.
8. Pfaller M, Davenport D, Bale M, et al. Development of the quantitative microtest for slime production by coagulase-negative staphylococci. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1988;7(1):30-3.
9. Hilmioğlu S, İlik M, Çavuşoğlu C, Aydemir Ş, Tümbay E. *Candida* izolatlarında slaym (slime) üretiminin üç ayrı yöntemle gösterilmesi ve slaym üretiminin kristal viyole reaksiyonu ile ilişkisi. İnfeksiyon Derg 1999;13(2):183-6.
10. Arslan U, Fındık D. Klinik örneklerden izole edilen *Candida albicans* türü maya mantarlarında virülans faktörlerinin (proteinaz, slime ve fosfolipaz) in-vitro araştırılması. İnfeksiyon Derg 2003;17(4):471-81.
11. Roehm NW, Rodgers GH, Hatfield SM, et al. An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. J Immunol Met 1991;142(2):257-65.
12. Krom BP, Cohen JB, Feser GEM, et al. Optimized candidal biofilm microtiter assay. J Microbiol Met 2007;68(2):421-3.
13. Silva WJ, Gonçaves LM, Seneviratne J, et al. Exopolysaccharide matrix of developed *Candida albicans* biofilms after exposure to antifungal agents. Braz Dent J 2012;23(6):716-22.

14. Pannanusorn S, Fernandez V, Römling U. Prevalence of biofilm formation in clinical isolates of *Candida* species causing bloodstream infection. *Mycoses* 2013;56(3):264-72.
15. Toledo-Arana A, Valle J, Solano C, et al. The enterococcal surface protein, Esp, is involved in *Enterococcus faecalis* biofilm formation. *Appl Environ Microbiol* 2001;67(10):4538-45.
16. Thein ZM, Samaranayake YH, Samaranayake LP. In-vitro biofilm formation of *Candida albicans* and non-*Albicans Candida* species under dynamic and anaerobic conditions. *Arch Oral Biol* 2007;52(8):761-7.
17. Kayabaş Ü, Aygen B. Fungal sepsis. *Hast İnfeks Derg* 2009;13(2):129-35.
18. Yıldırım M, Mumcuoğlu İ, Kurşun Ş, et al. Enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *Candida albicans* ve ADC suşlarındaki bazı virülans faktörlerinin karşılaştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2009;39(1):62-8.
19. Li X, Yan Z, Xu J. Quantitative variation of biofilms among strains in natural populations of *Candida albicans*. *Microbiology* 2003;149(Pt 2):353-62.
20. Peeters E, Nelis HJ, Coenye T. Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. *J Microbiol Meth* 2008;72(2):157-65.
21. Peters BM, Ward RM, Rane HS, et al. Efficacy of ethanol against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* polymicrobial biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57(1):74-82.
22. Aslan H, Gülmez D. Investigation of the correlation between biofilm forming ability of urinary *Candida* isolates with the use of urinary catheters and change of antifungal susceptibility in the presence of biofilm. *Mikrobiyol Bul* 2016;50(2):256-65.
23. Jin Y, Yip HK, Samaranayake YH, Yau JY, Samaranayake LP. Biofilm-forming ability of *Candida albicans* is unlikely to contribute to high levels of oral yeast carriage in cases of human immunodeficiency virus infection. *J Clin Microbiol* 2003;41(7):2961-7.
24. Hasan F, Xess I, Wang X, et al. Biofilm formation in clinical *Candida* isolates and its association with virulence. *Microbes and Infect* 2009;11(8-9):753-61.
25. Tumbarello M, Posteraro B, Trecarichi EM, et al. Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. *J Clin Microbiol* 2007;45(6):1843-50.
26. Ferreira AV, Prado CG, Carvalho RR, et al. *Candida albicans* and non-*C. albicans Candida* species: Comparison of biofilm production and metabolic activity in biofilms, and putative virulence properties of isolates from hospital environments and infections. *Mycopathologia* 2013;175(3-4):265-72.
27. Satılmış ÖK, Akkaya Y, Ergin Ç, Kaleli İ. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* spp izolatlarında slime faktör üretimi. *Pam Tıp Derg* 2011;4(1):25-9.
28. Yakupoğulları Y, Toraman ZA. Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Candida* izolatlarında slime faktörü üretiminin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2004;34(3):178-81.
29. Ozkan S, Kaynak F, Kalkanci A, Abbasoglu U, Kustimur S. Slime production and proteinase activity of *Candida* species isolated from blood samples and the comparison of these activities with minimum inhibitory concentration values of antifungal agents. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005;100(3):319-24.
30. Demirbilek M, Timurkaynak F, Can F, Azap Ö, Arslan H. Hastane Kaynaklı *Candida* Türlerinde Biyofilm Oluşumu ve Antifungal Duyarlılık Paternleri. *Mikrobiol Bul* 2007;41(2):261-9.

## Meme kanseri kök hücrelerinde elajik asit ile indüklenmiş miRNA'ların ifadesi ve elajik asidin apoptoz üzerine etkisi

Ellagic acid induced expression of miRNAs in breast cancer stem cells and effect of ellagic acid on apoptosis

Hasan Onur Çağlar<sup>1</sup> Sunde Yılmaz Süslüer<sup>2</sup> Şebnem Kavaklı<sup>3</sup> Cumhuriyet<sup>2</sup>  
Biray Ertürk<sup>4</sup> Ferda Özkınay<sup>4</sup> Ayfer Haydaroğlu<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>4</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>5</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Östrojen bağımlı meme kanseri tümör oluşumunda etkili miRNA'lar elajik asit (EA) uygulaması ile baskılanmaktadır. Ancak, EA uygulamasından sonra meme kanseri kök hücrelerindeki (MKKH) miRNA'ların ifade profillerinin düzenlenmesi hala belirsizdir. Bu çalışmada, MKKH'lerde EA-indüklenmiş apoptozun gösterilmesi ve EA uygulamasından sonra değişen miRNA ifade profilinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** EA'nın MKKH'lerdeki sitotoksik etkisi WST-1 testi ile incelendi. EA uygulamasından sonra apoptoz ve hücre döngüsü analizleri flow sitometri ile yapıldı. EA uygulamasından sonra, MKKH'lerin miRNA ifade profilleri RT-PCR miRNA array ile tanımlandı.

**Bulgular:** MKKH'ler üzerinde EA'nın sitotoksik etkisi saptandı. 48. ve 72. saatlerde EA'nın IC50 konsantrasyonu 24.8 µM'di. EA, MKKH'lerde apoptozu indüklemedi. Bununla beraber, EA'nın 24., 48. ve 72. saat uygulamalarında S fazı bloğu gözlemlendi. Toplamda 84 miRNA geninin 76'sının ifade profili belirlendi. hsa-miR-125b-1-3p'nin ifadesi EA uygulanmasıyla 3.59 kat arttı. Let-7 ve miR-200 aileleri dahil diğer tüm miRNA'ların ifade profili EA uygulaması nedeniyle azalış gösterdi.

**Sonuç:** Bu çalışmada, EA'nın MKKH'de apoptozu etkilemediği ve hsa-miR-125b-1-3p'in ifadesini artırırken, başta hsa-miR-485-5p ve hsa-miR-328-3p olmak üzere diğer miRNA'ların ifadesinde düşmeye neden olduğu görüldü. Anormal miRNA ifade profili nedeniyle MKKH'lerin EA uygulamasına direnç gösterebileceği düşünüldü.

**Anahtar Sözcükler:** Elajik asit, meme kanseri kök hücreleri, miRNA, apoptoz.

### Abstract

**Aim:** miRNAs which are associated with estrogen dependent tumorigenesis of breast cancer are suppressed by ellagic acid (EA) treatment. However, modulation of expression profiles of miRNAs in breast cancer stem cells (BCSCs) after EA treatment is still unclear. In this study, it was aimed to show EA-induced apoptosis in BCSCs and to determine altered expression profiles of miRNAs after EA treatment.

**Materials and Methods:** Cytotoxic effects of EA on BCSCs were examined by WST-1 reagent test. Apoptosis and cell cycle analysis after EA treatment were detected by flow cytometry analysis. After EA treatment, miRNA expression profiles of BCSCs were determined by RT-PCR miRNA array.

**Results:** Cytotoxic effect of EA on BCSCs was found. IC50 concentration of EA at 48th and 72nd hours was 24.8 µM. EA did not induce apoptosis in BCSCs. In addition, S phase arrest was observed at 24th, 48th, 72nd hours of EA treatment. Expression profiles of 76 of totally 84 miRNA genes were detected. Expression of hsa-miR-125b-1-3p was increased as 3.59 folds by EA treatment. Expression profiles of all the others miRNAs, including members of Let-7 and miR-200 families, showed a decrease due to EA treatment.

Yazışma Adresi: Hasan Onur Çağlar

Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 08.09.2016 Kabul Tarihi: 14.12.2016

**Conclusion:** In this study, it was observed that EA leads to upregulated expression of hsa-miR-125b-1-3p in contrast to downregulated expression of all other miRNAs, especially hsa-miR-485-5p and hsa-miR-328-3p, and does not induce apoptosis in BCSCs. It was suggested that BCSCs may show resistance to EA treatment due to aberrant expression profiles of miRNAs.

**Keywords:** Ellagic acid, breast cancer stem cells, miRNAs, apoptosis.

## Giriş

Meme kanseri kadınlar arasında en sık gözlenen kanserlerden biridir. Solunum yolu ve akciğer kanserlerinden sonra, meme kanseri kadınlar arasında kanser ilişkili ölümlerin başında yer almaktadır (1). Meme kanseri tümörleri uygulanan tedaviye karşı direnç gösterebilmektedir (2-4). Direnç oluşumu ile birlikte, meme kanseri hastalarında tümör yalnızca primer bölge ile sınırlı kalmamakta ve farklı bölgelere metastaz yapabilmektedir (5). Meme kanserinin insidans ve mortalite oranlarının yüksek olması ayrıca tedavi etkinliğindeki sınırlılıklar nedeniyle yeni kimyasal ajanlarının araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bitkisel doğal fenolik bileşiklerin kanser hücreleri üzerindeki bölünmeyi durdurucu etkisi, bu tür bileşiklerin uygulanan mevcut kanser tedavisine ek olarak kullanılabilme potansiyeline dikkat çekmektedir.

Elajik asit (*ellagic acid*, EA) *Myrciaria cauliflora*, *Juglans regia*, *Terminalia chebula*, *Sanguisorba officinalis*, *Punica granatum* gibi bitkilerin yaprak, meyve ve tohumlarından elde edilebilen fenolik bir bileşiktir (6-10). Bitkilerde ikincil metabolit olarak oluşan elajitaninlerin (*ellagitannins*) hidrolizi sonucu oluşan EA, anti-inflamatuar ve anti-oksidan özelliklere sahiptir (11-13). Birçok çalışma, EA içeren bitki ekstraktlarının birçok farklı kanser hücresi için proliferasyonu baskılayıcı bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (6,10). EA'nın MCF-7 meme kanseri hücrelerine uygulanması apoptozu indüklediği gibi hücre döngüsünü de bloke etmektedir (14). Meme kanseri hücrelerinde, EA TGF- $\beta$ /Smads ve PI3K/AKT/mTOR sinyal yolları ile ilişkili genlerin ifadesini yeniden düzenleyerek hücre bölünmesine etki etmektedir (14-16). Hücre bölünmesini baskılayıcı özelliğine ek olarak, EA vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörünün aktivesini inhibe ederek meme kanseri tümör hücrelerinin göçünü ve yeni damar oluşumunu engellemektedir (17). Bir kimyasal bileşiğin etkisi tümör dokusu içerisindeki farklı popülasyonlara göre değişebilmektedir. EA'nın etkinliği *in vitro* ve *in vivo* olarak meme kanseri hücrelerinde gösterilmiş olmasına rağmen meme kanseri kök hücrelerindeki etkinliği hala belirsizdir.

Kanser kök hücreleri, tümör dokusu içerisinde oldukça az bir oranda bulunan ve kök hücre benzeri davranış sergileyen hücrelerdir (18). Kanser hücrelerine kıyasla, kanser kök hücrelerinin immün sistemi baskılanmış farelerdeki tümör oluşturma kapasitesi daha yüksektir. Hücre döngüsü, DNA onarımı, ilaç metabolizması gibi

çeşitli hücresel mekanizmalarla ilişkili genlerin ifadesi kanser kök hücreleri ve kanser hücreleri arasında farklılıklar göstermektedir (18,19). Hücre sinyal yolları ile ilişkili gen ifadelerinin kanser kök hücrelerinde yeniden düzenlenmesi, tedavi ajanlarına karşı daha fazla direnç gözlenmesine neden olmaktadır (18,19). Bu nedenle, konvansiyonel kanser tedavisine ek olarak kullanılacak ajanların kanser kök hücreleri üzerindeki etkinliğinin araştırılması gereklidir.

Hücre sinyal yolları ile ilişkili genlerin ifadesi çeşitli mekanizmalar yoluyla yeniden düzenlenmektedir. miRNA'lar 11~22 nükleotid uzunluğundaki protein kodlamayan RNA molekülleridir. miRNA'lar hedefindeki mRNA'ların 3'UTR bölgesine bağlanarak protein ürününe dönüşmesini engellemektedir. Protein kodlayan genlerin ifade kontrolünde rol oynayan miRNA genleri, normal meme dokusu ve meme kanseri hücreleri arasında ifade farklılıkları sergilemektedir (19). Bununla birlikte, bu farklılık meme kanser hücreleri ve kanseri kök hücreleri arasında da gözlenmektedir (20). Meme kanseri kök hücrelerinde, hücre apoptozunu indükleyici ve hücre bölünmesini inhibe eden miRNA ifadelerinin azaldığı bilinmektedir (21). Fare meme karsinogenez modelinde, EA'nın östrojen ilişkili tümör oluşumunda etkili olan anormal miRNA ifadelerini tersine çevirdiği gösterilmiştir (22). EA'nın meme kanseri kök hücrelerindeki miRNA ifadesini nasıl düzenlediği henüz bilinmemektedir. Meme kanseri kök hücrelerinde sinyal yollarının farklı düzeydeki aktivasyonu, EA'nın bu hücrelerdeki miRNA ifadesi üzerinde daha farklı bir etki oluşturmaya neden olabilir. Bu çalışma, EA uygulamasına bağlı olarak meme kanseri kök hücrelerindeki miRNA ifade değişimlerini ortaya çıkartmayı amaçlamıştır.

## Gereç ve Yöntem

### Hücre kültürü

İnsan kökenli meme kanseri kök hücreleri 75 cm<sup>2</sup>lik flask içerisinde direkt kültüre hazır bir şekilde *CelProgen* firmasından (San Pedro, CA, USA) temin edildi. Temin edilen meme kanseri kök hücreleri CD113, CD44, SSEA3/4, Oct-4, alkalın fosfataz ve aldehid dehidrogenaz gibi kök hücre belirteçleri bakımından pozitif özellik göstermektedir (*CelProgen*, Kat No: 36102-29-T75, San Pedro, CA, USA). Meme kanseri kök hücrelerinin kültürü için serum ve diğer büyüme faktörlerini içeren *Human Breast Cancer Stem Cell Complete Growth Media* ortamı (*CelProgen*, San Pedro, CA, USA) kullanıldı. Meme kanseri kök hücreleri %5

CO<sub>2</sub> içeren nemli atmosferde 37°C sıcaklıkta inkübe edildi.

#### *WST-1 testi ile sitotoksitenin belirlenmesi*

EA'nın, meme kanseri kök hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi için WST-1 testi (Boster Biological Technology, CA, USA) kullanıldı. Çalışma öncesinde 96'lık kuyucuklu plakalara hücreler her bir kuyuda 10.000 hücre olacak şekilde aktarıldı. EA'nın, meme kanseri kök hücreleri üzerindeki sitotoksitesi doz ve zaman bağımlı olarak ölçüldü. EA (50 mg, Fluka, Sigma, USA) 165 µL DMSO içerisinde çözülerek 1M ana stok hazırlandı. EA'nın farklı konsantrasyonları (100 µM-1,6 µM) 24, 48 ve 72 saat boyunca meme kanseri kök hücrelerine uygulandı. İnkübasyon süresi dolduğunda, hücrelere WST-1 karışımından 10 µL eklendi. Bir saat boyunca kuyucuklu plakalar inkübatörde inkübe edildi. WST-1 ajanı ile inkübasyondan sonra, örneklerin 450 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri ELISA okuyucu (Thermoscientific, Multiskan FC, Finland) ile alındı. Referans dalga boyu 620 nm olarak belirlendi. EA'nın uygulanmadığı hücrelerden elde edilen absorpsiyon değerleri kontrol olarak veri normalizasyonunda kullanıldı.

#### **Flow sitometri ile apoptozun belirlenmesi**

Flow sitometri ile apoptozun belirlenmesi için meme kanseri kök hücreleri 6'lı kuyucuklu plakalara her bir kuyusunda 100.000 hücre olacak şekilde ekildi. EA için saptanan IC<sub>50</sub> konsantrasyonu apoptoz çalışmasında hücrelere uygulandı. EA uygulanmayan hücreler ise kontrol grubu olarak kullanıldı. EA uygulanan ve uygulanmayan hücreler tripsin ile kaldırılarak steril falkon tüplerine alındı. Tripsin inaktivasyonu için tüplere serum içeren ortam eklendi. Hücreler 1000 g'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi ve süpernatant alındı. Hücreler 1X PBS ile iki kez yıkandıktan sonra örnekler 1X bağlanma tamponu eklendi. Bağlanma tamponu çekilmeden, örnekler 5 µL Annexin-V/PE eklendi (BD bioscience, pharmingen, USA). Örnekler 15 dakika boyunca oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildi. Örnekler 1 saat içerisinde flow sitometride (BD Accuri C6 flow cytometry, Becton–Dickinson, USA) okundu. Analiz için *Cell Quest Software* (Becton-Dickinson, USA) yazılımı kullanıldı.

#### **Hücre döngüsünün belirlenmesi**

Meme kanseri kök hücreleri 6'lı kuyucuklu plakalara her bir kuyuda 100.000 hücre olacak şekilde ekildi. Hücre döngüsünün belirlenmesinde, EA'nın belirlenen IC<sub>50</sub> konsantrasyonu hücrelere uygulandı. EA uygulanmayan hücreler kontrol olarak kullanıldı. Hücreler tripsin ile kaldırılarak steril falkon tüpüne alındı ve tripsin inaktivasyonu için serum içeren ortam eklendi. Hücre barındıran falkon tüpleri 300 g'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Geride kalan hücre pelleti üzerine 1 mL yıkama tamponu eklenerek örnekler yıkandı. Santrifüj ve yıkama basamakları tekrarlandı. Yıkama işlemi

tamamlandıktan sonra, hücrelere 125 µL A solüsyonu eklendi. Örnekler oda sıcaklığında 10 dakika boyunca inkübe edildi. A solüsyonu örneklerden çekilmeden, 100 µL B solüsyonu eklendi ve inkübasyon basamağı tekrarlandı. 100 µL soğuk (2-8 °C arasında) C solüsyonu örnekler eklenerek buzdolabında (+4 °C) inkübe edildi. Örnekler flow sitometride 3 saat içerisinde okutuldu.

#### *miRNA ifadesinin belirlenmesi*

EA'nın saptanan IC<sub>50</sub> konsantrasyonu 72 saat uygulanan ve herhangi bir uygulamaya maruz bırakılmayan meme kanseri kök hücrelerinden total RNA izolasyonu yapıldı. Total RNA izolasyonu için *Qiagen miRNeasy* mini kit (Qiagen, Hilden, Germany) kullanıldı. Deney basamakları üretici firmanın protokolüne göre gerçekleştirildi. EA uygulanan ve uygulanmayan hücrelerden izole edilen total RNA miktarı *Thermo Nanodrop 1000* spektrofotometre (Thermo Scientific, Wilmington, USA) ile ölçüldü. İzole edilen total RNA'ların yalnızca olgun miRNA'ları cDNA'ya sentezlendi. Total RNA örneklerindeki olgun miRNA'ların cDNA'ya çevrimi için *miScript II reverse transcriptase RT kit* (Qiagen, Hilden, Germany) kullanıldı. cDNA sentez basamağında reaksiyon içeriği ve deney basamakları üretici firmanın protokolüne göre gerçekleştirildi. cDNA sentezini gerçekleştirmek için örnekler 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Ters transkriptaz (*revers transcriptase*) enziminin inaktivasyonu için sıcaklık 95°C'ye yükseltildi ve örnekler 5 dakika boyunca inkübe edildi.

Olgun miRNA'lardan cDNA kalıpları elde edildikten sonra RT-PCR array aşamasına geçildi. EA uygulamasına bağlı olarak gözlenecek miRNA ifade profili değişimi *miScript miRNA PCR Array Human Breast Cancer* (kat no: MIHS-109Z, Qiagen, Germany) ile tanımlandı. RT-PCR array kuyucuklu plakaları meme kanseri ile ilişkili fonksiyonu bilinen 84 miRNA'ya göre tasarlandı. Her bir kuyucuk farklı bir miRNA'ya ait PCR primerini içermektedir. PCR reaksiyon karışımı 1.375 mL 2X Quanti Tect SYBR Green PCR, 0.275 mL 10X miScript Universal solüsyonu, 1 mL RNase içermeyen su ve 40 µL cDNA ile hazırlandı. PCR karışımı hazırlandıktan sonra 96 kuyucuklu plakalara aktarıldı. Ardından RT-PCR reaksiyonu başlatıldı. RT-PCR reaksiyonunun ısı koşulları Tablo-1'de yer almaktadır. Veri analizinde 2<sup>-ΔΔCt</sup> formülü kullanıldı. *SNORD61*, *SNORD68*, *SNORD72*, *SNORD95*, *SNORD96A* ve *RNU6-2* miRNA genleri normalizasyon için kontrol genleri olarak seçildi. İfade profili saptanan miRNA'ların sinyal yolları içerisindeki ortak etkisi *DIANA miRPath v2.0* veri tabanı ile incelendi (23). Kullanılan veri tabanı, *Tarbase* veri tabanı üzerinden olası miRNA-mRNA ilişkisini göstermekle birlikte miRNA hedefindeki sinyal yollarını da KEGG veri tabanı üzerinden sergilemektedir (23). Çoklu miRNA sayısının ortak hedef aldığı sinyal yolağına ilişkin p değeri, veri tabanı tarafından Fisher'in kombine olasılık yöntemi (*Fisher's*

combined probability method) ile bulundu (23). p değeri 0.05'den küçük olan sinyal yolağı-miRNA sayısal etkileşimi anlamlı olarak kabul edildi.

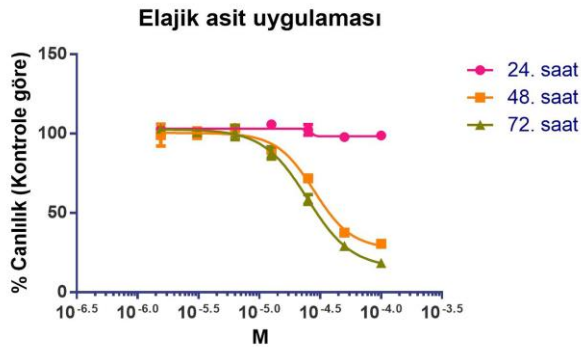
**Tablo-1.** RT-PCR İçin Uygulanan Isı Koşulları

Basamak	Süre	Sıcaklık
Ön inkübasyon	15 dakika	95°C
<b>Döngü (45X)</b>		
Denatürasyon	15 saniye	94°C
Bağlanma	30 saniye	55°C
Sentez	30 saniye	70°C

## Bulgular

### Elajik asidin sitotoksik etkisi

EA'nın 100 µM, 50 µM, 25 µM, 12.5 µM, 6.25 µM, 3.125 µM ve 1.6 µM'lık konsantrasyon aralıklarındaki sitotoksik etkisi (24, 48 ve 72 saatlik) meme kanseri kök hücre hattında araştırılmıştır. İlk 24 saatlik uygulamada, EA'nın meme kanseri kök hücreleri üzerinde her hangi bir sitotoksik etkisi bulunmadı. Bununla birlikte, 48. ve 72. saatlerde meme kanseri kök hücreleri üzerinde sitotoksik etki gözlemlendi. EA'nın 48. ve 72. saatlerde saptanan IC<sub>50</sub> konsantrasyonu 24.8 µM'dır (Şekil-1).



**Şekil-1.** Elajik asidin meme kanseri kök hücrelerinde 24., 48. ve 72. saatlerdeki sitotoksik etkisi. Elajik asidin 48. ve 72. saatlerdeki IC<sub>50</sub> konsantrasyonu 24.8 µM'dır.

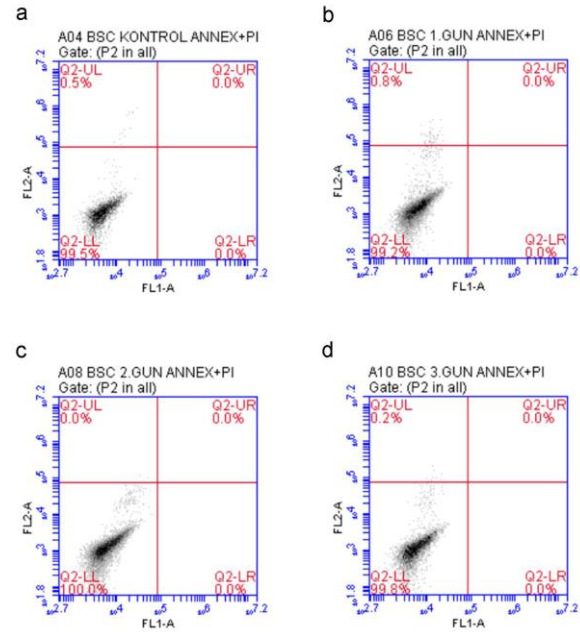
### Elajik asit apoptozu indüklemeyiz

Meme kanseri kök hücrelerine 25 µM EA uygulanarak 24, 48 ve 72. saatlerdeki apoptotik hücre yüzdeleri flow sitometri ile ölçüldü. EA uygulanmayan kontrol grubunda canlı hücre yüzdesi %99.5 iken apoptotik hücre yüzdesi %0.5 olarak saptandı. 25 µM EA uygulanan meme kanseri kök hücrelerinde 1. gün, 2. gün ve 3. gün sonunda canlı hücre yüzdeleri sırasıyla %99.2, %100 ve %99.8 olarak saptandı. EA meme kanseri kök hücrelerinde apoptozu indüklememektedir (Şekil-2).

### Elajik asit S fazı bloğu etkenidir

Hücre döngüsünün belirlenmesinde 25 µM EA 24, 48 ve 72 saatlik zaman periyodlarıyla meme kanseri kök hücrelerine uygulanmıştır. EA uygulanmayan hücreler

kontrol grubu olarak belirlendi. EA uygulanan hücrelerin G1 evresi yüzde oranı azalırken S evresi yüzde oranı arttı. Kontrol grubunda hücrelerin S evresi yüzdesi %14.5 iken, EA uygulanan hücrelerde 1. gün, 2. gün ve 3. gün sonunda S evresi yüzdeleri sırasıyla %26.8, %28.5 ve %35.3 olarak saptandı. EA'nın meme kanseri kök hücrelerinde S evresi bloğuna neden olduğu bulundu (Şekil-3).



**Şekil-2.** Elajik asit uygulamasının 1. gün (b), 2. gün (c) ve 3. gün (d)deki apoptotik etkisi. Elajik asit uygulanmayan meme kanseri kök hücreleri (a) kontrol grubu olarak kullanıldı. Elajik asidin apoptozu indükleyici etkisi gözlemlenmedi.

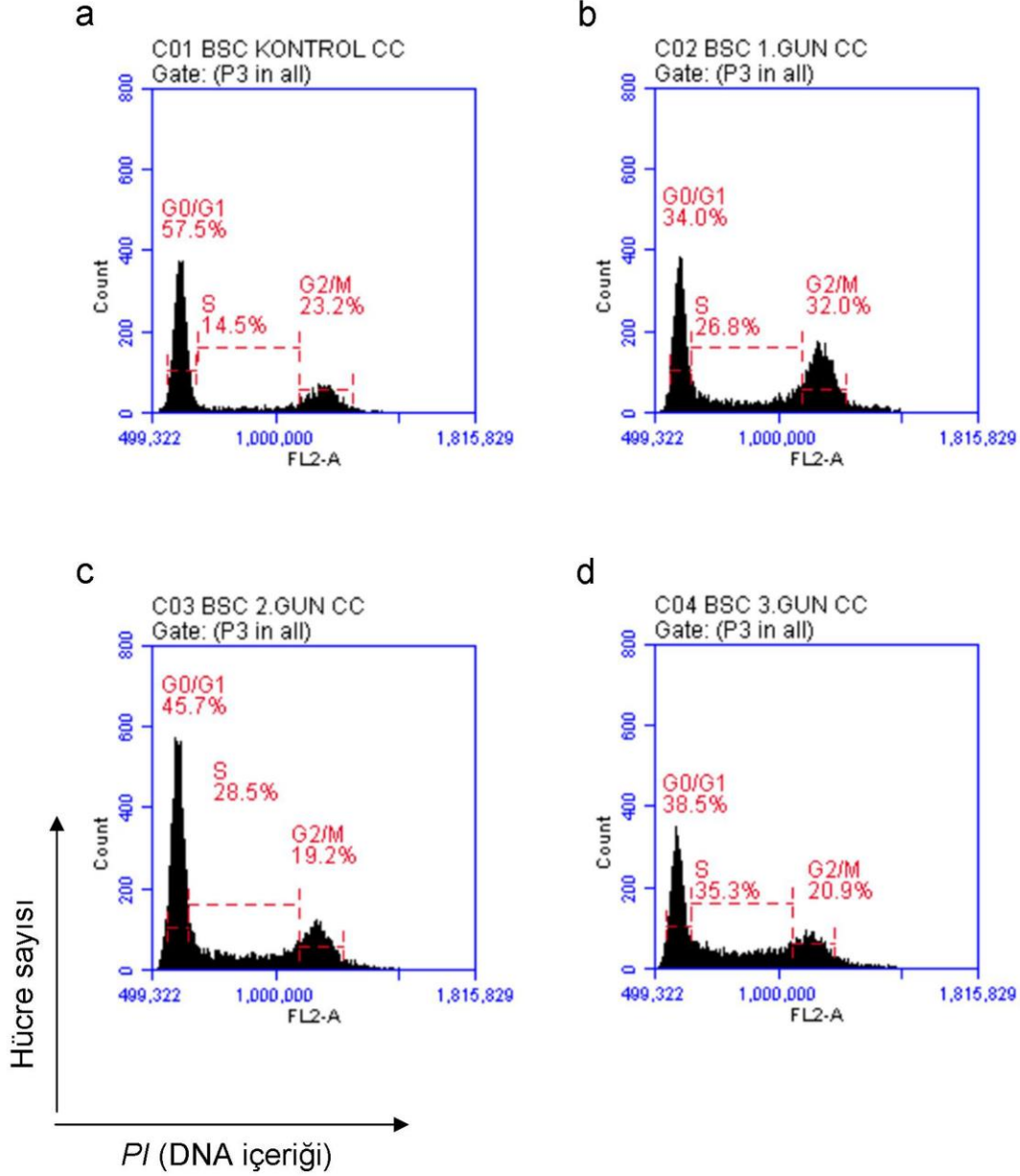
### Elajik asit uygulaması sonrası değişmiş miRNA ifade profili

Yirmi beş µM EA uygulanan meme kanseri kök hücrelerinde 72 saat sonrasında elde edilen miRNA ifade profili saptanmıştır. EA uygulanmayan hücreler ise kontrol olarak kullanılmıştır. hsa-miR-1, hsa-miR-182-5p, hsa-miR-200a-3p, hsa-miR-29b-3p, hsa-miR-429, hsa-miR-548c-3p, hsa-miR-607 ve hsa-miR-96-5p miRNA genlerinin ifadesi saptanamadı. Bu nedenle 84 miRNA geninin 76'sının ifade profili saptandı. Bu miRNA genlerinden yalnızca hsa-miR-125b-1-3p'nin ifadesinde artış gözlemlendi.

EA uygulamasına bağlı olarak hsa-miR-125b-1-3p'nin ifadesi 3,59 katlık artış gösterdi. Diğer miRNA genlerinin tamamında ifade azalışı saptandı. hsa-miR-485-5p ve hsa-miR-328-3p miRNA genlerinin en fazla azalan ifadeye sahip olduğu saptandı. miRNA genlerinin listesi ve EA uygulaması sonrası oluşan ifade profilleri Şekil-4'de verilmiştir. İfade azalışı gösteren miRNA'ların (10 kat ve üstü ifade azalışı) hedefindeki sinyal yollarının belirlenmesinde DIANA miRPath v2.0 veri tabanı kullanıldı. Veri analizi için endotelial büyüme faktörü

(hsa04012), kanser ilişkili (hsa05200), hücre döngüsü (hsa04115), p53 (hsa04115), insülin reseptör (hsa04910) ve TGF-beta sinyal (hsa04350) yolları seçildi. Veri tabanında incelenen miRNA genlerinin 36'sından 17'sinde kanser ilişkili sinyal yolağındaki

genleri hedeflendiği saptandı ( $p=0.0000534$ ). Biyoinformatik analize ilişkin veriler Şekil-5 ve Şekil-6'da sunulmuştur.



**Şekil-3.** Elajik asidin meme kanseri kök hücrelerinde hücre döngüsü üzerine yaptığı etki. Elajik asit uygulanmayan hücreler (a) kontrol olarak kullanıldı. Elajik asidin 24 saat (b), 48 saat (c) ve 72 saat (d) uygulandığı çalışmada S fazı hücre yüzdeleri artmıştır.

a

hsa-let-7a-5p	hsa-miR-10a-5p	hsa-miR-141-3p	hsa-miR-181b-5p	hsa-miR-19b-3p	hsa-miR-21-5p	hsa-miR-27a-3p	hsa-miR-495-3p
hsa-let-7b-5p	hsa-miR-10b-5p	hsa-miR-145-5p	hsa-miR-181c-5p	hsa-miR-200b-3p	hsa-miR-210-3p	hsa-miR-27b-3p	hsa-miR-497-5p
hsa-let-7c-5p	hsa-miR-125b-5p	hsa-miR-148a-3p	hsa-miR-181d-5p	hsa-miR-200c-3p	hsa-miR-212-3p	hsa-miR-29a-3p	hsa-miR-613
hsa-let-7d-5p	hsa-miR-125b-1-3p	hsa-miR-152-3p	hsa-miR-186-5p	hsa-miR-202-3p	hsa-miR-214-3p	hsa-miR-29c-3p	hsa-miR-7-5p
hsa-let-7e-5p	hsa-miR-128-3p	hsa-miR-155-5p	hsa-miR-18a-5p	hsa-miR-203a	hsa-miR-22-3p	hsa-miR-31-5p	hsa-miR-93-5p
hsa-let-7f-5p	hsa-miR-129-5p	hsa-miR-15a-5p	hsa-miR-193b-3p	hsa-miR-204-5p	hsa-miR-222-3p	hsa-miR-328-3p	hsa-miR-98-5p
hsa-let-7g-5p	hsa-miR-130a-3p	hsa-miR-15b-5p	hsa-miR-195-5p	hsa-miR-205-5p	hsa-miR-223-3p	hsa-miR-340-5p	
hsa-let-7i-5p	hsa-miR-130b-3p	hsa-miR-16-5p	hsa-miR-199b-3p	hsa-miR-206	hsa-miR-25-3p	hsa-miR-424-5p	
hsa-miR-100-5p	hsa-miR-132-3p	hsa-miR-17-5p	hsa-miR-199a-5p	hsa-miR-20a-5p	hsa-miR-26a-5p	hsa-miR-485-5p	
hsa-miR-107	hsa-miR-140-5p	hsa-miR-181a-5p	hsa-miR-19a-3p	hsa-miR-20b-5p	hsa-miR-26b-5p	hsa-miR-489-3p	

b

-1,44	-22,08	-7,92	-9,95	-5,79	-21,78	-7,18	-10,16
-3,77	-13,04	-8,66	-4,48	-1,92	-21,18	-2,58	-9,68
-23,50	-12,77	-2,59	-9,41	-20,89	-25,36	-6,94	-29,75
-11,51	3,59	-18,70	-9,48	-1,91	-1,28	-7,59	-13,59
-1,34	-4,91	-8,78	-5,44	-14,67	-17,20	-20,60	-18,06
-1,85	-11,35	-16,28	-8,25	-12,77	-15,61	-71,74	-6,52
-17,57	-27,00	-24,00	-2,32	-12,77	-25,90	-9,35	
-2,42	-4,87	-31,23	-21,93	-8,84	-16,28	-37,65	
-10,44	-28,14	-12,25	-1,28	-4,24	-5,56	-91,43	
-27,00	-3,08	-6,04	-8,37	-3,15	-3,42	-6,25	

Azalış Artış

Şekil-4. miRNA ifadelerinin elajik asit 72 saat uygulamasından sonra meme kanseri kök hücrelerindeki ifade profilleri. Kırmızı renk ifade azalışını, yeşil renk ise ifade artışını temsil etmektedir.

Sinyal yollarında hedeflenen gen sayısı

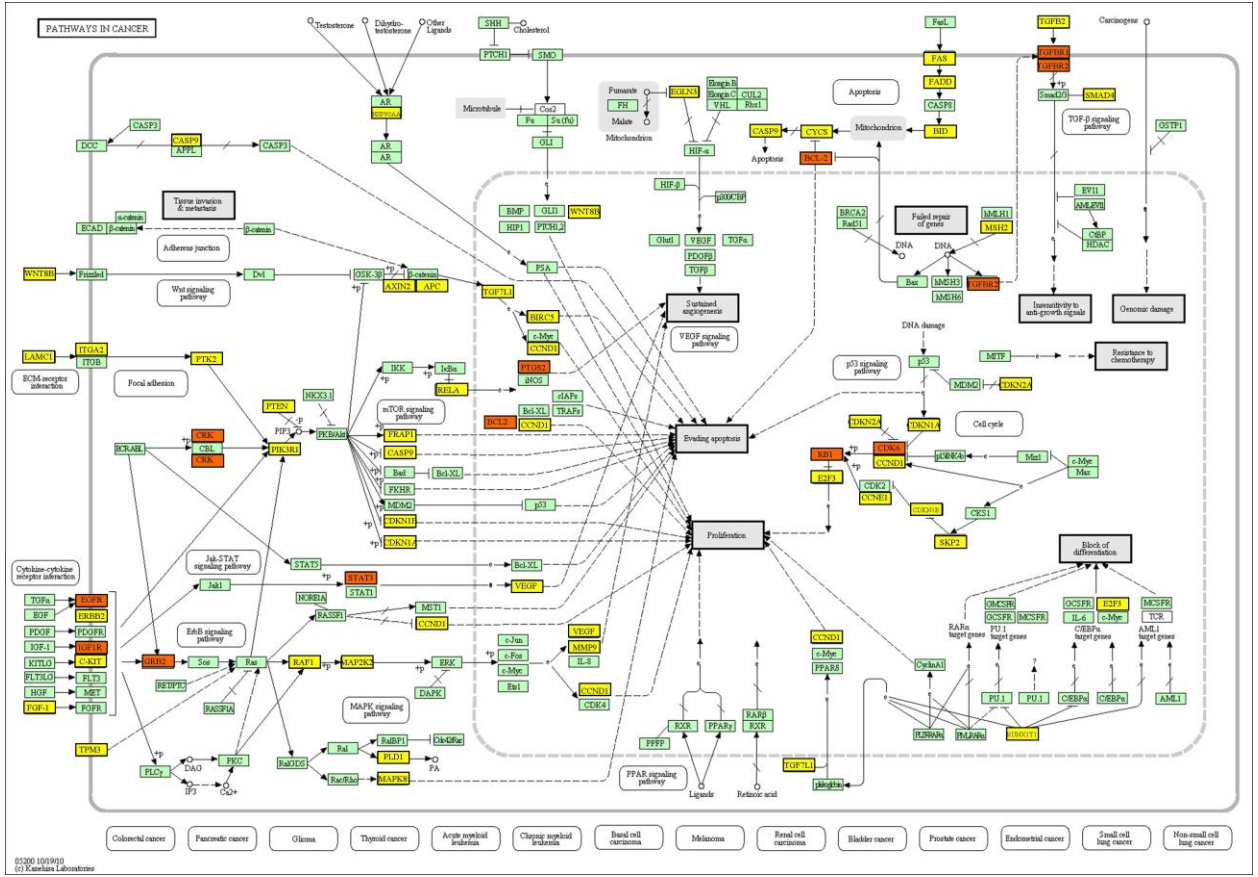
miRNA

	I	II	III	IV	V	VI
hsa-let-7d-5p	2	2	1			2
hsa-miR-107	1	1	1			
hsa-miR-10a-5p	2	3	1		3	1
hsa-miR-125b-5p	1	2	1			
hsa-miR-132-3p	2	5	3	2	1	1
hsa-miR-15a-5p		1				
hsa-miR-15b-5p		1				
hsa-miR-16-5p	7	22	13	7	12	8
hsa-miR-17-5p	1	2	2	1		
hsa-miR-200c-3p	1	1			1	
hsa-miR-205-5p	2	1	2			1
hsa-miR-21-5p	3	18	6	10	7	6
hsa-miR-212-3p		1	3	1		
hsa-miR-22-3p		2	2	1	1	1
hsa-miR-222-3p	1	2	2			
hsa-miR-7-5p	8	12	1	1	8	2
hsa-miR-93-5p	1	8	4	2	4	3

Sinyal yolağı (KEGG pathway database)	P değeri	miRNA
I. ErbB (EGF) sinyal yolağı (hsa04012)	0,0000119	11
II. Kanser ilişkili sinyal yolağı (hsa05200)	0,0000534	17
III. Hücre döngüsü (hsa04110)	0,0003888142	14
IV. p53 sinyal yolağı (hsa04115)	0,00369382	10
V. İnsülin reseptör ilişkili sinyal yolağı (hsa04910)	0,005266395	8
VI. TGF-beta sinyal yolağı (hsa04350)	0,01245914	9

Şekil-5. On kat ve üstü ifade azalışı sergileyen miRNA'ların hedeflediği sinyal yolağı. Şekilde mor kutucuk içerisindeki rakamlar her bir miRNA'nın belirtilen sinyal yolağı içerisindeki protein sentezleyen hedef gen sayısını vermektedir. Bazı miRNA'lar sentez yolağı içerisinde birden fazla mRNA'yı hedefleyebilmektedir. Şekildeki p değeri listedeki sinyal yolağı ve sinyal yolağını hedefleyen miRNA sayısı ilişkisini belirtmektedir.





**Şekil-6.** Elajik asit uygulamasına bağlı olarak ifadesi azalan miRNA'ların kanser ilişkili sinyal yolağı (hsa05200) içerisindeki gen hedefleri. Yeşil renk genlerin miRNA hedefi olmadığını göstermektedir. Sarı renk, sinyal yolağındaki genin analiz edilen miRNA'lardan sadece birinin hedefi olduğunu göstermektedir. Turuncu renk, sinyal yolağındaki genin analiz edilen miRNA'lardan birden fazlasının hedefi olduğunu göstermektedir.

## Tartışma

Çeşitli çalışmalarda, bitkisel kökenli doğal bir fenolik molekül olan EA'nın hücreler üzerinde anti-oksidan ve anti-inflamatuar etkilere sahip olduğu vurgulanmaktadır (11,13,24). EA ve diğer fito-kimyasalları içeren bitki ekstraktları meme kanseri hücrelerinde bölünmeyi durdurmakta ve apoptozu indüklemektedir (10,14). Ekstrakt içeriklerinin HPLC metodu ile incelenmesi, EA'nın diğer moleküllere göre daha fazla bulunduğunu ortaya çıkarmıştır (6,25). EA'nın tek başına meme kanseri hücrelerine uygulandığı çalışmalarda da hücre döngüsünün baskılandığı ve apoptozun meydana geldiği bildirilmiştir (14). Meme kanseri hücrelerinin aşırı bölünmesinden sorumlu aromataz ve telomeraaz enzimlerinin aktiviteleri de EA tarafından düşürülmektedir (26,27). Buna ilaveten, EA meme kanseri tümör modelinde hücre göçü ve yeni damar oluşumunu engellemektedir (17). EA meme kanseri hücreleri üzerinde kemopreventif ajan etkisi göstermesine rağmen, ilaç direnci mekanizmasına sahip meme kanseri kök hücreleri üzerindeki etkisi farklı veya sınırlı olabilir.

Bu çalışmada, EA'nın meme kanseri kök hücreleri üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. EA'nın 24, 48 ve 72 saat boyunca uygulandığı sitotoksik deneyinde, 24. saatte herhangi bir sitotoksik etki saptanmadı. Meme kanseri kök hücrelerinde uygulama zamanının artmasına bağlı olarak EA'nın sitotoksik etki gösterdiği bulundu. 48. ve 72. saatlerdeki IC<sub>50</sub> konsantrasyonu 24,8 µM olarak saptandı. Chen ve ark. (14), EA'nın ilk 24 saat içerisinde MCF-7 meme kanseri hücreleri için sitotoksik (IC<sub>50</sub> = 66.18 µM; 20 µg/mL) etkiye sahip olduğunu bildirmiştir. Dai ve ark. (28), wnt-1 genini içeren fare meme tümör virüsü (*mouse mammary tumor virus*) yardımıyla fare meme kanseri kök hücresi elde etmişlerdir. Fare meme kanseri kök hücrelerinde ise, EA 24. saatte sitotoksik etki oluşturmamasına karşın 48. ve 72. saatlerde sitotoksik etki oluşturmuştur (28). Bu bakımdan, EA meme kanseri hücreleri ve meme kanseri kök hücreleri arasında farklı sitotoksik etkiye sahip olabilir. Chen ve ark. (14), çalışmasına benzer bir şekilde, Dai ve ark. (28) da EA'nın fare meme kanseri kök hücrelerinde apoptozu ve G0/G1 hücre bloğunu artırmasının sitotoksik etkiye neden olduğunu savunmaktadır.

Bu çalışmada, saptanan IC<sub>50</sub> konsantrasyonundaki EA meme kanseri kök hücrelerine 24, 48 ve 72 saat uygulandıktan sonra apoptoz ve hücre döngüsü analizi yapıldı. Sitotoksik konsantrasyon uygulanmasına rağmen, meme kanseri kök hücrelerinin apoptotik hücre yüzdesinde artış meydana gelmedi. Bununla birlikte, EA'nın hücre döngüsünü S fazında durdurduğu saptandı. Dai ve ark. (28) aksine, EA'nın apoptozu indüklediği ve sadece hücre döngüsünde etkili olduğu saptandı. Dai ve ark. (28), sitotoksite dışındaki diğer çalışmalarını, nar bitkisinden elde edilen bitki ekstraktını fare meme kanseri kök hücrelerine uygulayarak gerçekleştirmiştir. EA'nın bitki ekstraktı içerisindeki farklı fito-kimyasallar ile sinerjistik etki gösterdiği bilinmektedir (29,30). Dolayısıyla, EA'nın tek başına meme kanseri kök hücreleri üzerinde apoptotik etkisi olmayabilir. Bu çalışmadan elde edilen veriler, EA'nın meme kanseri kök hücrelerinde sitotoksik etkisinin değil sitostatik etkisi olabileceğini göstermektedir.

Hüresel farklılaşma, hücre invazyonu ve göçü, ilaç direnci, apoptozis ve kök hücre özelliklerinin korunması gibi birçok farklı mekanizmada miRNA'lar hedefindeki genlerin ifadesini düzenleyerek rol oynamaktadır (31-35). miRNA'ların ifadesi meme kanseri hücreleri ve meme kanseri kök hücreleri arasında farklılıklar sergilemektedir (20). Bu nedenle, meme kanseri kök hücrelerindeki miRNA'ların anormal ifadeleri EA'nın etkinlik farklılığının bir nedeni olabilir. EA'nın 72 saat uygulanmasına bağlı olarak meme kanseri ilişkili miRNA'ların ifade profilleri saptandı. EA uygulamasına bağlı olarak sadece hsa-miR-125b-1-3p'nin ifadesi artış gösterdi. Diğer miRNA genlerinin tamamında ise ifade azalışı saptandı. İfadesi 10 kat ve üstü azalış sergileyen 36 miRNA'nın hedefledikleri sinyal yolları DIANA miRPath v2.0 veri tabanı ile incelendi. Bioinformatik inceleme sonucunda, 36 miRNA'dan 11'inin ErbB sinyal yolağı (p=0.0000119), 17'sinin kanser ilişkili sinyal yolağı (p=0.0000534), 14'ünün hücre döngüsü (p=0.00038), 10'unun p53 sinyal yolağı (p=0.0036), 8'inin insülin reseptör sinyal yolağı (p=0.0052) ve 9'unun TGF-β sinyal yolağındaki (p=0.012) ilişkili genleri hedeflediği saptandı.

Let-7 ailesi miRNA'ların kötü prognoz gösteren meme kanseri hastalarında daha düşük ifade edildiği bulunmuştur (36). Kanser kök hücreleri, tümör içerisindeki diğer hücre popülasyonlarına göre Let-7 ailesi miRNA'ları daha düşük düzeyde ifade etmektedir (20). Bununla birlikte, Let-7 ailesi miRNA'ların düşmesi normal meme kanseri hücrelerini kanser kök hücrelerine transforme etmektedir (37,38). Let-7 ailesine ait miRNA'lar *Oct4*, *Sox2*, *Nanog* ve *Tcf3* gibi genlerin mRNA ifadelerini düzenleyerek kök hücrelerin farklılaşmasını düzenlemektedir (39). Yapılan bu çalışmada, let-7 ailesine ait tüm olgun miRNA'ların (let-7a-5p, let-7b-5p, let-7c-5p, let-7d-5p gibi) ifadesi EA'ya bağlı olarak düşmüştür. EA, Let-7 ailesi miRNA'ların ifadesini düşürerek meme kanseri kök

hücre özelliklerinin korunmasına neden olabilir. Let-7 miRNA'ları siklin D1 ifadesini baskılayarak Akt1'in fosforilasyonunu azaltmaktadır (40). Bu nedenle, Let-7 radyasyon ile indüklenmiş tümör baskılanmasını arttırmaktadır (40). EA'nın Let-7 ailesine ait olgun miRNA'ların ifadelerini düşürmesi ayrıca radyoterapiye karşı direncin oluşmasında da etkili olabilir.

TGF-β sinyal yolağı, ErbB sinyal yolağı gibi diğer sinyal yollarıyla ilişkili bir biçimde epitelyal-mezenkimal geçiş, apoptoz, hücre göçü ve metastazda rol oynamaktadır (41). miRNA-200 ailesi (miR-200a/b/c) miRNA'ların TGF-β sinyal yolağını düzenleyerek hücre transformasyonu, hücre proliferasyonu, hücre göçü, tümör büyümesi ve metastaz üzerinde güçlü baskılayıcı etkileri olduğu gösterilmiştir (42). miRNA-200 ailesi üyelerinin meme kanserinde epitelyal mezenkimal geçiş mekanizmasının baskılayıcıları olduğu bilinmektedir. miRNA ailesi üyelerinin ifadesi, kök hücre fonksiyonunun devamlılığının korunabilmesi için meme kanseri kök hücrelerinde düşüktür (21,43-45). Bu çalışmada, EA uygulaması meme kanseri kök hücrelerinde miRNA-200 aile üyesi olan miR-200b-3p ve miR-200c-3p'nin ifadelerini düşürmüştür. EA'nın meme kanseri kök hücrelerindeki genel etkisi kanser kök hücre özelliklerinin korunmasını sağlamak olabilir. Kanser kök hücreleri, tümör dokusu içerisindeki diğer alt popülasyonlara göre kemoterapi ajanlarına daha fazla direnç oluşturduğu bilinmektedir. miR-200c, miR-27a, miR-181a, miR-328 ve miR-145 hücrelerde direnç mekanizmasından sorumlu ATP bağlayan kaset proteinleri ABCB1 ve ABCG2'yi baskılamaktadır (34). Bu çalışmada, bu miRNA'ların olgun formlarının ifadesi EA'ya bağlı olarak düşmüştür.

## Sonuç

Bu çalışmada, EA'nın meme kanseri kök hücrelerindeki miRNA ifade değişimleri üzerine etkisi ilk kez gösterilmiştir. EA meme kanseri hücrelerinde etkili olsa da aynı etkiye meme kanseri kök hücreleri üzerinde sahip değildir. EA meme kanseri kök hücrelerini farklılaşmadan koruyabileceği gibi bu hücreleri kemoterapi ve radyo terapiye karşı daha dirençli bir hale getirebilir. Bu nedenle, kanser tedavisi gören meme kanseri hastalarında günlük diyetle EA içeren besinlerin çıkartılması önerilebilir.

## Çıkar çatışması

Yazarlar bu çalışma ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması olmadığını belirtmektedir.

## Açıklamalar

Bu çalışma finansal olarak EBİLTEM-TTO teknoloji transfer ofisi proje destek birimi tarafından desteklenmiştir (proje numaraları: 13-KSUAM-001 ve 13-KSUAM-002). Belirtilen projeler Ege Üniversitesi Kanserle Savaş Araştırma ve Uygulama Merkezi (KSUAM) adına desteklenmiştir.

## Kaynaklar

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 2015;65(1):5-29.
2. Liu H, Liu Y, Zhang JT. A new mechanism of drug resistance in breast cancer cells: Fatty acid synthase overexpression-mediated palmitate overproduction. *Mol Cancer Ther* 2008;7(2):263-70.
3. Barok M, Joensuu H, Isola J. Trastuzumab emtansine: Mechanisms of action and drug resistance. *Breast Cancer Res* 2014;16(2):209.
4. Hayes EL, Lewis-Wambi JS. Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer: An overview of the proposed roles of noncoding RNA. *Breast Cancer Res* 2015;17:40.
5. Weigelt B, Peterse JL, van 't Veer LJ. Breast cancer metastasis: Markers and models. *Nat Rev Cancer* 2005;5(8):591-602.
6. Lee J, Kim YS, Lee J, et al. Walnut phenolic extract and its bioactive compounds suppress colon cancer cell growth by regulating colon cancer stemness. *Nutrients* 2016;8(7):E439.
7. Ambigaipalan P, de Camargo AC, Shahidi F. Phenolic compounds of pomegranate byproducts (outer skin, mesocarp, divider membrane) and their antioxidant activities. *J Agric Food Chem* 2016;64(34):6584-604.
8. Hacke AC, Granato D, Maciel LG, et al. Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) seeds: Chemical characterization and extraction of antioxidant and antimicrobial compounds. *J Food Sci* doi: 10.1111/1750-3841.13405.
9. Saleem A, Husheem M, Harkonen P, Pihlaja K. Inhibition of cancer cell growth by crude extract and the phenolics of *Terminalia chebula* retz. fruit. *J Ethnopharmacol* 2002;81(3):327-36.
10. Wang Z, Loo WT, Wang N, et al. Effect of *Sanguisorba officinalis* L on breast cancer growth and angiogenesis. *Expert Opin Ther Targets* 2012;16 (Suppl 1):79-89.
11. Guruvayoorappan C, Kuttan G. (+)-Catechin inhibits tumour angiogenesis and regulates the production of nitric oxide and TNF- $\alpha$  in LPS-stimulated macrophages. *Innate Immunity* 2008;14(3):160-74.
12. Iniguez-Franco F, Soto-Valdez H, Peralta E, Ayala-Zavala JF, Auras R, Gamez-Meza N. Antioxidant activity and diffusion of catechin and epicatechin from antioxidant active films made of poly(L-lactic acid). *J Agric Food Chem* 2012;60(26):6515-23.
13. Siraj MA, Shilpi JA, Hossain MG, et al. Anti-inflammatory and antioxidant activity of *Acalypha hispida* leaf and analysis of its major bioactive polyphenols by HPLC. *Adv Pharm Bull* 2016;6(2):275-83.
14. Chen HS, Bai MH, Zhang T, Li GD, Liu M. Ellagic acid induces cell cycle arrest and apoptosis through TGF- $\beta$ /Smad3 signaling pathway in human breast cancer MCF-7 cells. *Int J Oncol* 2015;46(4):1730-8.
15. Shi L, Gao X, Li X, et al. Ellagic acid enhances the efficacy of PI3K inhibitor GDC-0941 in breast cancer cells. *Curr Mol Med* 2015;15(5):478-86.
16. Zhang T, Chen HS, Wang LF, et al. Ellagic acid exerts anti-proliferation effects via modulation of Tgf- $\beta$ /Smad3 signaling in MCF-7 breast cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15(1):273-6.
17. Wang N, Wang ZY, Mo SL, et al. Ellagic acid, a phenolic compound, exerts anti-angiogenesis effects via VEGFR-2 signaling pathway in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012;134(3):943-55.
18. Dawood S, Austin L, Cristofanilli M. Cancer stem cells: Implications for cancer therapy. *Oncology (Williston Park)* 2014;28(12):1101-7.
19. Salvador MA, Birnbaum D, Charafe-Jauffret E, Ginestier C. Breast cancer stem cells programs: enter the (non)-code. *Brief Funct Genomics* 2016;15(3):186-99.
20. Yu F, Yao H, Zhu P, et al. Llet-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells. *Cell* 2007;131(6):1109-23.
21. Shimono Y, Mukohyama J, Nakamura S, Minami H. MicroRNA regulation of human breast cancer stem cells. *J Clin Med* doi: 10.3390/jcm5010002.
22. Munagala R, Aqil F, Vadhanam MV, Gupta RC. MicroRNA 'signature' during estrogen-mediated mammary carcinogenesis and its reversal by ellagic acid intervention. *Cancer Lett* 2013;339(2):175-84.
23. Vlachos IS, Kostoulas N, Vergoulis T, et al. DIANA miRPath v.2.0: Investigating the combinatorial effect of microRNAs in pathways. *Nucleic Acids Res* 2012 [cited 04 Sept 2016]. Available from: <http://nar.oxfordjournals.org/content/40/W1/W498.long>
24. Atta Ur R, Ngounou FN, Choudhary MI, et al. New antioxidant and antimicrobial ellagic acid derivatives from *Pteleopsis hylodendron*. *Planta Med* 2001;67(4):335-9.
25. Venkataramanamma D, Aruna P, Singh RP. Standardization of the conditions for extraction of polyphenols from pomegranate peel. *J Food Sci Technol* 2016;53(5):2497-503.
26. Adams LS, Zhang Y, Seeram NP, Heber D, Chen S. Pomegranate ellagitannin-derived compounds exhibit antiproliferative and antiaromatase activity in breast cancer cells in vitro. *Cancer Prev Res* 2010;3(1):108-13.
27. Strati A, Papoutsis Z, Lianidou E, Moutsatsou P. Effect of ellagic acid on the expression of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) alpha+beta+transcript in estrogen receptor-positive MCF-7 breast cancer cells. *Clin Biochem* 2009;42(13-14):1358-62.
28. Dai Z, Nair V, Khan M, Ciolino HP. Pomegranate extract inhibits the proliferation and viability of MMTV-Wnt-1 mouse mammary cancer stem cells in vitro. *Oncol Rep* 2010;24(4):1087-91.
29. Kumar D, Basu S, Parija L, et al. Curcumin and ellagic acid synergistically induce ROS generation, DNA damage, p53 accumulation and apoptosis in HeLa cervical carcinoma cells. *Biomed Pharmacother* 2016;81(1):31-7.
30. Mertens-Talcott SU, Percival SS. Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in human leukemia cells. *Cancer Lett* 2005;218(2):141-51.
31. Garofalo M, Croce CM. Role of microRNAs in maintaining cancer stem cells. *Adv Drug Deliv Rev* 2015;81:53-61.
32. Ali Hosseini Rad SM, Bavarsad MS, Arefian E, Jaseb K, Shahjehani M, Saki N. The Role of microRNAs in Stemness of Cancer Stem Cells. *Oncol Rev* 2013;7(1):e8.
33. Zhou N, Mo YY. Roles of microRNAs in cancer stem cells. *Front Biosci (Schol Ed)* 2012;1(4):810-8.
34. Gomes BC, Rueff J, Rodrigues AS. MicroRNAs and cancer drug resistance. *Methods Mol Biol* 2016;1395:137-62.
35. Chen W, Zhou S, Mao L, et al. Crosstalk between TGF- $\beta$  signaling and miRNAs in breast cancer metastasis. *Tumour Biol* 2016;37(8):10011-9.

36. Hu X, Guo J, Zheng L, et al. The heterochronic microRNA let-7 inhibits cell motility by regulating the genes in the actin cytoskeleton pathway in breast cancer. *Mol Cancer Res* 2013;11(3):240-50.
37. Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. An epigenetic switch involving NF-kappaB, Lin28, Let-7 MicroRNA, and IL6 links inflammation to cell transformation. *Cell* 2009;139(4):693-706.
38. Iliopoulos D, Hirsch HA, Wang G, Struhl K. Inducible formation of breast cancer stem cells and their dynamic equilibrium with non-stem cancer cells via IL6 secretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(4):1397-402.
39. Melton C, Judson RL, Blelloch R. Opposing microRNA families regulate self-renewal in mouse embryonic stem cells. *Nature* 2010;463(7281):621-6.
40. Sun H, Ding C, Zhang H, Gao J. Let7 miRNAs sensitize breast cancer stem cells to radiation-induced repression through inhibition of the cyclin D1/Akt1/Wnt1 signaling pathway. *Mol Med Rep* 2016 doi: 10.3892/mmr.2016.5656
41. Zhao B, Chen YG. Regulation of TGF-beta Signal Transduction. *Scientifica* 2014;2014:874065.
42. Humphries B, Yang C. The microRNA-200 family: small molecules with novel roles in cancer development, progression and therapy. *Oncotarget* 2015;6(9):6472-98.
43. Gill JG, Langer EM, Lindsley RC, et al. Snail and the microRNA-200 family act in opposition to regulate epithelial-to-mesenchymal transition and germ layer fate restriction in differentiating ESCs. *Stem cells* 2011;29(5):764-76.
44. Wang G, Guo X, Hong W, et al. Critical regulation of miR-200/ZEB2 pathway in Oct4/Sox2-induced mesenchymal-to-epithelial transition and induced pluripotent stem cell generation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110(8):2858-63.
45. Shimono Y, Zabala M, Cho RW, et al. Downregulation of miRNA-200c links breast cancer stem cells with normal stem cells. *Cell* 2009;138(3):592-603.

## Erektıl disfonksiyonlu diabetes mellitus olgularında penil Doppler ultrasonografi bulguları

Penile Doppler ultrasound findings in diabetic patients with erectile dysfunction

Namık Kemal Altınbaş<sup>1</sup> Nurullah Hamidi<sup>2</sup> Cemil Yağcı<sup>1</sup>

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

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

### Öz

**Amaç:** Penil Doppler ultrasonografi (US) incelemesi istenen erektil disfonksiyon şikayeti bulunan diabetes mellitus tanılı hastalarda US bulgularının erektil fonksiyon skorlama testi ile karşılaştırılarak değerlendirilmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Penil Doppler US incelemesi yapılan 27 hasta prospektif yürütülen bu çalışmaya dahil edildi. Hastalara US ünitesinde, penil kavernoöz cisme papaverin enjeksiyonunu takiben Doppler US yapılarak penil kan akımı değerlendirildi. Pik sistolik akım hızı, diyastol sonu hız kaydedilerek Doppler US tanısı belirlendi. Ereksiyon düzeyi, ereksiyon sertlik derecelendirme skalasına göre 4 puan üzerinden değerlendirildi. Erektıl fonksiyon için IIEF-5 (erektil fonksiyon uluslararası indeksi) anketi ile skorlama yapıldı ve SHIM (erkekler için seksüel sağlık envanteri) seviyesi belirlendi. Elde edilen Doppler US tanıları ile SHIM seviyeleri karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Çalışma dahilinde 27 hasta mevcuttu. Hastaların yaş ortalaması 55.74±9.02 (aralık 39-70) idi. Hastaların 21'inde (%78) anormal penil Doppler US bulguları elde edildi. Hastalar Doppler US bulgularına göre normal (n=6), arteriyel yetmezlik için sınırda (n=2), arteriyel yetmezlik (n=5) ve venöz yetmezlik (n=14) olarak sınıflandırıldı. Penil Doppler incelemesine bağlı olarak hiçbir hastada komplikasyon gelişmedi. Ereksiyon sertliği iki hasta hariç diğerlerinde tam düzeyde değildi. En düşük ereksiyon sertlikleri ve IIEF-5 skorları arteriyel problem durumunda gözlemlendi.

**Sonuç:** Erektıl disfonksiyon şikayeti bulunan diabetes mellitus tanılı hastalarda vasküler problem oranı yüksektir ve çalışmamızda özellikle venöz yetmezlik daha sık olarak gözlenmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Diabetes mellitus, erektil disfonksiyon, IIEF-5 anketi, penil Doppler US.

### Abstract

**Aim:** To evaluate the correlation between penile Doppler ultrasound (US) findings and erectile function scoring test in patients with diabetes mellitus requested penile Doppler US examination and suffering from erectile dysfunction.

**Materials and Methods:** Twenty-seven patients who underwent penile Doppler US were recruited to this prospective study. Penile blood flow following intracavernosal papaverine injection using Doppler US was evaluated in the ultrasound unit. The peak systolic velocity and end-diastolic velocity were recorded and the diagnosis according to Doppler US was determined. Erection score according to Erection Hardness Grading Scale was evaluated, which ranked the scores from 1 to 4. A scoring for erectile function was performed with the International Index of Erectile Function (IIEF-5), and the Sexual Health Inventory for Men (SHIM) was defined. Doppler US findings were compared with SHIM scales.

**Results:** There were a total of 27 patients with a mean age of 55.74±9.02 (39-70) years. Among these patients, 21 (78%) had abnormal penile Doppler US findings. According to Doppler US findings, patients were classified as normal (n=6), borderline for arterial insufficiency (n=2), arterial insufficiency (n=5), and venous insufficiency (n=14). No complications were detected in any of the patients due to penile Doppler US evaluation. Erection was not completely enough except in 2 patients. The lowest erection hardness and the lowest IIEF-5 scores were detected in the patients with arterial problems.

**Conclusion:** The rate of vascular problems in diabetic men with erectile dysfunction is high and venous insufficiency was found to be more often in our study.

**Keywords:** Diabetes mellitus, erectile dysfunction, IIEF-5 questionnaire, penile Doppler US.

## Giriş

Ereksiyon, gerçek anlamda en azından bir duyu-sal-motor-sinir-hormonal-vasküler-psikososyal-kültürel ve kişilerarası bir olay olarak tanımlanmıştır (1). Eretil fonksiyonun bozulması altta yatan hipertansiyon, kardiyovasküler hastalık, periferik damar hastalığı ve diğer nörolojik ve endokrinolojik bozuklara işaret ediyor olabilir (2). Diabetes mellitus (DM) da eretil disfonksiyona (ED) neden olabilen önemli bir sağlık sorunudur. Vasküler ve/veya nörojenik tutulum ya da diğer etkiler ile kısa ya da uzun dönemde uç organ hasarlarına neden olabilmekte olup, gelişebilen ED da bu hastaların yaşam konforunu olumsuz yönde etkileyen önemli sorunlardan birisidir.

Eretil disfonksiyon olasılığı, diyabetik erkeklerde olmayanlara kıyasla 2-4 kat daha fazladır. Diyabetik hastalarda ED, diyabetik olmayan erkeklerden 10-15 yıl önce ortaya çıkmaktadır (3,4). Diyabetik erkeklerde ED un daha ciddi olduğu ve daha kötü yaşam kalitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (5). Medikal tedaviye cevap da diyabetik olmayan hastalara kıyasla daha düşüktür (6). Diyabetik erkeklerde ED gelişim mekanizması olarak kavernoöz arterlerde endotelial hasar, mikroanjyopati (7) ve otonom nöropati (8) gibi nedenler tanımlanmıştır (9).

Renkli ve spektral penil Doppler US, ED'li hastaların değerlendirilmesinin önemli bir parçasıdır. Fonksiyonel anatominin bazal değerlendirmesini ve vazoaktif medikasyona cevaptaki dinamik değişikliklerin gerçek zamanlı ölçümünü sağlar (10). Penil Doppler US, ED araştırmasında kavernoöz arter akım dinamiklerinin ölçümünü sağlar. İlk uygulandığı 1985 yılından bu yana tanınan amaçlı olarak kullanılmaktadır (11).

IIEF (eretil fonksiyon uluslararası indeksi) anketi ile skorlama, seksüel olarak aktif erkeklerde eretil disfonksiyon taraması için kullanılmaktadır (12). Bu anketin farklı toplumlar için çeşitli dillere çevrilmiş uzun (IIEF-15) ve kısa (IIEF-5) versiyonları mevcuttur (12-14). IIEF, klinik çalışma ortamında, katılımcıların seksüel fonksiyonlarını değerlendirmek için güvenilir ve geçerli bir araç olarak kullanılmaktadır (14-15).

Bu çalışmada ED şikayeti bulunan, DM tanılı erkek hasta grubunda elde edilen Doppler US bulguları ile SHIM seviyelerinin karşılaştırılarak sunulması amaçlandı.

## Gereç ve Yöntem

### Hasta seçimi

Eretil disfonksiyonu bulunan ve penil Doppler US incelemesi için üroloji tarafından hastanemiz US ünitesine Nisan 2016 ile Eylül 2016 tarihleri arasında yönlendirilen hastalardan DM tanılı 27 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalar işlem ve çalışma hakkında

bilgilendirildi. Hastalardan işlem için onam formu ve çalışma için aydınlatılmış gönüllü olur formu onayları alındı. Çalışmamız için kurumumuzdan etik kurul onayı alındı.

### Penil Doppler ultrasonografi

Ultrasonografi incelemeleri 9L-D lineer prob ile donanımlı *Logiq S7 Expert* (GE Healthcare, Milwaukee, WI) US cihazı kullanılarak tüm hastalar için deneyimli tek bir radyolog tarafından gerçekleştirildi. Ultrasonografi ünitesindeki bir odada steril şartlar altında ve US kılavuzluğunda tek penil kavernoöz cisme insülin iğnesi ile 2 ml (60 mg) papaverin enjeksiyonu sonrası penil gri-skala US ve kavernoöz arterlerden radiks düzeyine yakın proksimal alanlardan 30-60 derece örneklem aralığı gözetilerek uygun açıda penil renkli ve spektral Doppler US incelemeleri yapıldı. Gri skala US bulguları ve spektral Doppler bulguları [pik sistolik akım hızı (PSV), diyastol sonu hız (EDV)] kaydedildi. Rutin penil gri skala US işlemi sırasında transduser, ventral ve dorsal yüze transvers ve longitudinal yerleştirilerek kavernoöz cisimler ve spongiöz cisim vizualize edildi. Proksimal, orta ve distal kesimler değerlendirildi. Olası plak yapıları, intrakavernoöz lezyonlar ve üretral patolojiler ile dorsal penil damar anomalileri tarandı. İşlem 20. dakikada alınan spektral Doppler ölçümlerinin ardından sonlandırıldı. Hastalar işlem sonrası gelişebilecek priapizm gibi komplikasyonlara karşı bilgilendirilerek ilgili üroloji doktoruna yönlendirildi.

İlk 10 dakikada PSV düzeyine bakılarak arteriyel yeterlilik değerlendirildi. PSV değeri 30 cm/sn'nin üzerinde olduğunda arteriyel yeterliliğin bulunduğu, 25-30 cm/sn arasında çıktığında arteriyel yetmezlik için sınırda olduğu kabul edildi. 10-20. dakikalar arasında EDV düzeyi göz önüne alınarak venöz yeterlilik değerlendirildi. İnceleme sürecinde bazal hattın altında EDV değerleri elde edildiğinde ya da 20. dakikada EDV değeri 5 cm/sn'nin altına düştüğünde venöz yeterliliğin bulunduğu kabul edildi. 20. dakika sonrası EDV değeri 5 cm/sn'nin üzerinde olan hastalar venöz yetmezlik olarak değerlendirildi (11,16,17).

Ayrıca penil Doppler US sonrası 20. dakikadaki penil ereksiyon durumu kaydedildi. Ereksiyon düzeyi ereksiyon sertlik derecelendirme skalasına (Erection Hardness Grading Scale - EHGS) göre yapıldı. Penil boyut artışı var ancak sertlik yok ise grade 1, sertleşme var ancak penetrasyon için yeterli değilse grade 2, penetrasyon için yeterli sertleşme var ancak tam sert değilse grade 3 ve tam sertleşme var ve tümüyle rijit ise grade 4 olarak değerlendirildi (6,18).

### IIEF-5 ve SHIM

Üroloji doktoru tarafından, hastalarda eretil fonksiyonun değerlendirilmesi için IIEF-5 (eretil

fonksiyon uluslararası indeksi) anketi ile skorlama yapıldı ve SHIM (erkekler için seksüel sağlık envanteri) seviyeleri belirlendi. Hastalar son 6 aydaki durumları için IIEF-5 anketi ile ereksiyon güven düzeyi, ereksiyon sertliği, ereksiyon idame sıklığı, ereksiyon idame gücü ve memnuniyet düzeyi olmak üzere 5 konuda sorgulandı. Her başlık, düşük puan kötü seksüel fonksiyonu temsil etmek üzere 1'den 5'e kadar puanlandı. Böylece IIEF-5 skoru, düşük skorlar artmış erektil disfonksiyonu göstermek üzere, 5 ile 25 arasında değişim gösterdi. IIEF-5 skoru 5-7 arasında olanlar ciddi ED, 8-11 arası olanlar orta ED, 12-16 arası olanlar hafif-orta ED, 17-21 arası olanlar hafif ED ve 22-25 arası olanlar ED yokluğu olarak değerlendirildi.

#### *İstatistiksel analiz*

İstatistiksel değerlendirme amacı ile hasta yaşını içeren temel veriler ile ereksiyon sertlik düzeyi, PSV ve EDV'yi içeren penil Doppler US bulguları ve elde olunan Doppler US tanısı, IIEF-5 skoru ile SHIM seviyesi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistik verileri oluşturuldu. İstatistiksel analizler *Excel* (Version 14.6.8, Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) ve *SPSS* (Version 20, IBM Corporation, Armonk, NY, USA) yazılımı ile değerlendirildi. *SPSS* yazılımı kullanılarak Doppler tanısına göre grup dağılımı normal olmayan bağımsız gruplar arasındaki ortancalar *Kruskal-Wallis* testi ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

#### **Bulgular**

Çalışma dahilinde 27 diyabetik erkek hasta mevcuttu. Hastaların yaş ortalaması 55.74±9.02 yıl (aralık 39-70) idi. Hastaların glikozile hemoglobin (HbA1c) ortalama düzeyleri %9.75±2.15 (aralık 5.3-15.4) idi (Laboratuvar normal referans aralığı % 4-6.5).

Hastaların 21'inde (%78) anormal penil Doppler US bulguları elde edildi. Hastalar Doppler US bulgularına göre normal (n=6), arteriyel yetmezlik için sınırdaki (n=2), arteriyel yetmezlik (n=5) ve venöz yetmezlik (n=14) olarak sınıflandırıldı (Şekil-1). Her bir grup için ereksiyon dereceleri, IIEF-5 skorları ve SHIM seviyeleri ile ortalama PSV (cm/s) ve EDV (cm/s) değerleri Tablo-1 de verildi.

Hiçbir hastada penil Doppler US işlemine bağlı komplikasyon gelişmedi. Gri-skala ile yapılan

değerlendirmede bir hastada peyroni plağı saptandı. Hasta grubunda DM tanısına ek olarak hipertansiyon, hiperlipidemi, koroner ve periferik arter hastalıkları, kardiyak ritim bozukluğu, son dönem böbrek yetmezliği görülen diğer problemler arasındaydı.

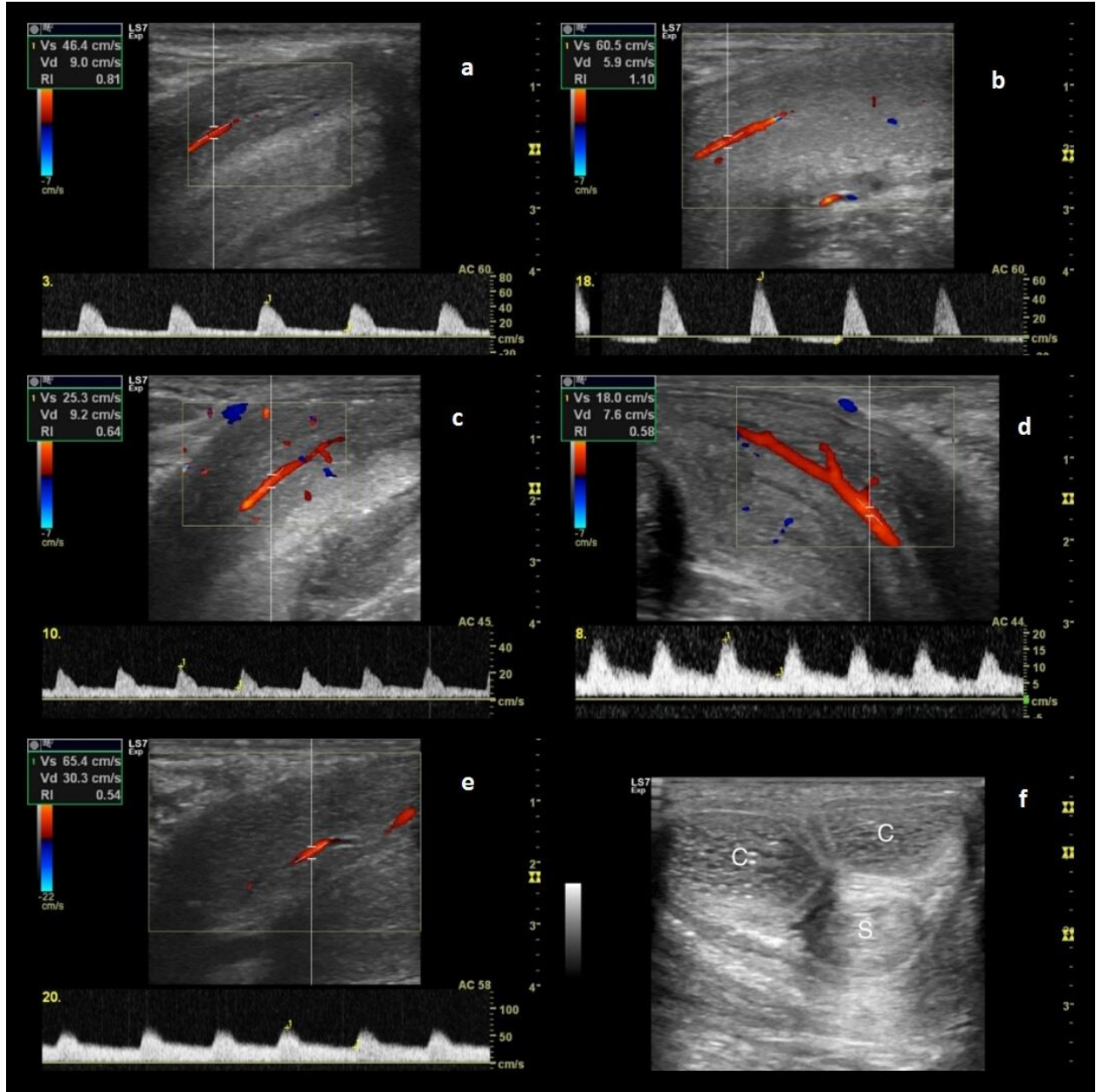
Hastalar, fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) enzim inhibitörlerine verdikleri yanıtlara göre yeterli cevap (n=7), kısmi cevap (n=3), cevapsızlık (n=14) ve ilacı kullanamama (n=3) (kardiyak ritim bozukluğu gibi medikal nedenlerden dolayı) şeklinde dört grupta incelendi. Doppler US bulgularına göre elde edilen her grupta her cevaptan mevcuttu. Örneğin venöz yetmezlik grubundaki 14 hastanın 9'unda cevapsızlık, birinde kısmi, üçünde yeterli cevap ve birinde de ilacı kullanamama durumu kaydedildi.

Ereksiyon sertlik seviyesi iki hastada tam düzeyde saptanmış olup bu hastalar Doppler bulgularına göre normal, IIEF-5 skorlarına göre ise biri 16 (hafif-orta ED) diğeri 19 (hafif ED) skoruna sahip idi. Diğer hastalarda ereksiyon tam düzeyde değildi. Ereksiyon sertliği Doppler bulgularına göre venöz yetmezlikli hastalarda çoğunlukla grade 3 (12/14), arteriyel problemi olan hastalarda çoğunlukla grade 1 ve 2 düzeyinde saptandı. En düşük ereksiyon sertlikleri ve IIEF-5 skorları arteriyel problem durumunda gözlemlendi (Tablo-1).

IIEF-5 skoru ile Doppler US bulguları karşılaştırıldığında en düşük IIEF-5 skorlarının arteriyel yetmezlik saptanan hastalarda kaydedildiği görüldü (Tablo-1).

Doppler tanısına göre oluşan 4 bağımsız grup (normal, arteriyel yetmezlik için sınırdaki, arteriyel yetmezlik ve venöz yetmezlik) arasındaki hasta yaşı, ereksiyon düzeyi, IIEF-5 skoru, SHIM, Vmax ve Ved değerleri arasında yapılan karşılaştırmaya göre yaş hariç diğer değerlerde gruplar arasında anlamlı düzeyde fark olduğu görüldü (Tablo-2).

Biri Doppler bulgusuna göre arteriyel yetmezlik, diğeri venöz yetmezlik tanısı alan iki hastaya penil protez uygulandı. Hastalara tek parçalı penil protez implantasyonu gerçekleştirildi. Bir hasta implantasyon sonrası gelişen yara yeri enfeksiyonu nedeni ile hospitalize edilerek medikal tedavi aldı.



**Şekil-1.** Üçüncü dakikada PSV 46.4 cm/sn, 18. dakikada EDV -5.9 cm/sn ölçülen hastada **normal** PDUS bulguları mevcuttur. 56 yaşındaki bu hastanın IIEF-5 skoru 16, SHIM seviyesi hafif-orta ED, ereksiyon sertliği grade 4 düzeyinde olup DM'ye hiperlipidemi eşlik etmektedir (a,b). Onuncu dakikada PSV 25.3 cm/sn ölçülen hastada **arteriyel yetmezlik için sınırdan** PDUS bulguları mevcuttur. 64 yaşındaki bu hastanın IIEF-5 skoru 7, SHIM seviyesi ciddi ED, ereksiyon sertliği grade 1 düzeyinde olup DM'a prostatektomi öyküsü eşlik etmektedir (c). Sekizinci dakikada PSV 18 cm/sn ölçülen hastada **arteriyel yetmezlik** ile uyumlu PDUS bulguları mevcuttur. 56 yaşındaki bu hastanın IIEF-5 skoru 7, SHIM seviyesi ciddi ED, ereksiyon sertliği grade 1 düzeyinde olup DM'a hipertansiyon ve retinopati eşlik etmektedir (d). Yirminci dakikada EDV 30.3 cm/sn ölçülen hastada **venöz yetmezlik** ile uyumlu PDUS bulguları mevcuttur. 69 yaşındaki bu hastanın IIEF-5 skoru 16, SHIM seviyesi hafif-orta ED, ereksiyon sertliği grade 3 düzeyinde olup yeni tanı almış olan DM'ye hipertansiyon ve TUR ameliyatlı BPH eşlik etmektedir. Penil spongiöz cisim (S) ödemi de inceleme esnasında not edilmiştir (e,f).

PSV: Pik sistolik akım hızı, EDV: Diyastol sonu hızı, PDUS: Penil Doppler ultrasonografi, IIEF: Erektile Fonksiyon Uluslararası İndeksi (International Index of Erectile Function), ED: Erektile disfonksiyon, SHIM: Erkekler için Seksüel Sağlık Envanteri (Sexual Health Inventory for Men), TUR: Transüretral rezeksiyon, BPH: Benign prostat hipertrofisi, C: Kavernoöz cisim, S: Spongiöz cisim.



**Tablo-1.** PDUS Tanısına Göre Her Bir Grup İçin Ereksiyon Dereceleri, IIEF-5 Skorları ve SHIM Seviyeleri İle Ortalama PSV (cm/s) ve EDV (cm/s) Değerleri.

		Ereksiyon Derecesi (1-4)				IIEF-5 Skoru (ortalama±SD)	SHIM					PSV (cm/s) (ortalama±SD)	EDV (cm/s) (ortalama±SD)
		1	2	3	4		1	2	3	4	5		
Penil Doppler Sınıflaması	Normal (n=6)	1	1	2	2	18.5±2.07			1	4	1	52.75±10.76	-3.28±5.9
	Arteriyel yetmezlik için borderline (n=2)	1	1			10±4.24	1		1			28.6±1.98	6.3±3.25
	Arteriyel Yetmezlik (n=5)	2	3			7.8±1.64	3	2				19.06±2.58	6.96±1.47
	Venöz Yetmezlik (n=14)		2	12		14.43±3.2		2	7	5		53.07±19.15	8.8±6.27

**PDUS:** Penil Doppler ultrasonografi, **IIEF:** Erektel Fonksiyon Uluslararası İndeksi (International Index of Erectile Function), **SHIM:** Erkekler için Seksüel Sağlık Envanteri (Sexual Health Inventory for Men), **PSV:** Pik sistolik akım hızı, **EDV:** Diastol sonu hız.

**Tablo-2.** Doppler Tanısına Göre Oluşan 4 Bağımsız Grup (Normal, Arteriyel Yetmezlik İçin Sınırdaki, Arteriyel Yetmezlik ve Venöz Yetmezlik) Arasındaki Hasta Yaşı, Ereksiyon Düzeyi, IIEF-5 Skoru, SHIM, PSV ve EDV Değerleri Arasında Yapılan Karşılaştırma.

	Penil Doppler Sınıflaması				P değeri
	Normal	Arteriyel yetmezlik için borderline	Arteriyel Yetmezlik	Venöz Yetmezlik	
Yaş	55.67±9.42	55.5±12.02	62±7.18	53.57±9.02	.269
Ereksiyon Düzeyi	2.83±1.17	1.5±0.71	1.6±0.55	2.86±0.36	.006
IIEF-5 Skoru	18.5±2.07	10±4.24	7.8±1.64	14.43±3.2	.001
SHIM	4±0.63	2±1.41	1.4±0.55	3.21±0.70	.001
PSV	52.75±10.76	28.6±1.98	19.06±2.58	53.07±19.15	.001
EDV	-3.28±5.9	6.3±3.25	6.96±1.47	8.8±6.27	.003

IIEF: Erektel Fonksiyon Uluslararası İndeksi (International Index of Erectile Function), SHIM: Erkekler için Seksüel Sağlık Envanteri (Sexual Health Inventory for Men), PSV: Pik sistolik akım hızı, EDV: Diastol sonu hız.

## Tartışma

Hiperglisemi, dokular üzerinde çeşitli mekanizmalarla hasara neden olmaktadır. Hastalık ilerledikçe doku hasarı ve vasküler hasar ciddi komplikasyonlara yol açmaktadır. Nöropati, vasküler hastalık, nefropati ve retinopati gibi DM ile ilişkili kronik komplikasyonlar söz konusudur (19). ED da bu komplikasyonlar arasında özel bir ilgiyi hak etmektedir. Çalışmamızda izlenen yüksek orandaki (%78) anormal Doppler sonucu, ED şikayeti bulunan DM hastalarında vasküler etiolojinin önemini göstermektedir.

Erkeklerde en sık seksüel problem ED'dur. Çok uluslu, 27839 genel erkek popülasyonu üzerinde yapılan bir çalışmada ED prevalansı 20-30 yaş arasında %8, 70-75 yaş düzeyinde %37 olmak üzere genel ED prevalansı %16 olarak saptanmıştır (20). Diyabetik erkeklerde ise ED prevalansı yaş ile progresif olarak artmakta olup 20-24 yaş aralığında %6, 55-59 yaş aralığında %52 düzeyinde bildirilmektedir (21). Ancak literatürde penil Doppler US tanısına göre verilmiş oranlara rastlamadık. Bizim çalışmamızda ED'li diyabetik erkeklerin yaklaşık %78'inde (21/27) anormal penil Doppler US bulguları elde edildi. Penil Doppler US tanısına göre hastaların

%22'si (6/27) normal, %7'si (2/27) arteriyel yetmezlik için sınırdaki, %19'u (5/27) arteriyel yetmezlik ve %52'si (14/27) venöz yetmezlik olarak saptandı.

Birçok güncel çalışmada hipertansiyon, koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği ve DM'nin içinde bulunduğu birçok komorbid durumun erektil disfonksiyon ile ilişkisi gösterilmiştir. Bununla beraber kardiyovasküler ve antihipertansif ilaçlar da ED gelişimine neden olabilmektedir. Tiazid tip diüretikler, aldosteron reseptör blokörleri, β-adrenerjik reseptör blokörleri bu ilaçlardandır (22). Çalışma grubumuzdaki hastalarda hipertansiyon, hiperlipidemi, koroner ve periferik arter hastalıkları, kardiyak ritim bozukluğu ve son dönem böbrek yetmezliği görülen diğer problemlerdi. Bunların tedavilerinde kullanılan ilaçları da ED gelişimi için olası risk olarak ele alabiliriz.

Ayrıca bu komorbid hastalıklar, tedavi için kullanılan çeşitli ilaçlar ya da DM'de özellikle kronik süreçte gelişebilen diğer hasarların da ED gelişimine katkısı göz önüne alındığında ED gelişim sürecinin hastadan hastaya değişim gösteren bir durum olduğu kabul edilebilir. Bu nedenle Doppler tanıların ve IIEF skorlarına göre ED seviyelerinin bizim çalışmamızda da

olduğu gibi çeşitlilik göstermesi beklenen bir durum olacaktır.

Penil Doppler US, ED'nin değerlendirilmesinde değerli bir yöntemdir. Ancak penil kavernoöz cisime papaverin enjeksiyonu nedeniyle gelişebilen priapizm komplikasyonu ve penil fibrozis gelişimi söz konusudur.

Yapılan bir retrospektif çalışmada, papaverinin intrakorporeal enjeksiyonu ile penil Doppler US incelemesi yapılmış 672 hastanın 18'inde (%2.68) priapizm gelişmiş olduğu ve priapizm gelişen hastaların gelişmeyenlere kıyasla daha genç bir grubu temsil ettiği saptanmıştır. Yazarlar priapizm gelişim insidansının düşük olduğunu ve konservatif yaklaşımlarla başarı ile yönetildiğini belirtmişlerdir (23). Bazı çalışmalarda kavernoöz arterde akım yokluğunun gelişmesi, Doppler sonrası ilk saatte PSV değerinin 66 cm/s ya da daha fazla olması, beraberinde EDV'nin 0 cm/s olması priapizm için prediktif olarak belirtilmiştir (24,25). Priapizm gelişen hastaların Doppler değerleri incelendiğinde genel olarak anormal akım parametreleri (arteriyel ya da venöz yetmezlik) göstermedikleri değerlendirilebilir. Çalışmalarda belirtilmemiş olsa da bu durumda papaverin enjeksiyonu sonrası inceleme sürecinde gelişen ereksiyon sertlik derecelerinin de genel olarak tam olmuş olabileceği düşünülebilir. Çalışma grubumuzda ereksiyon sertlik seviyesi iki hastada tam düzeyde saptanmış olup bu hastalar Doppler bulgularına göre normal idi. Diğer hastalarda ereksiyon tam düzeyde değildi. Penil Doppler US

işlemine bağlı olarak hiçbir hastada priapizm de dahil herhangi bir komplikasyon gelişmedi. Enjeksiyon sonrası penil Doppler US incelemesi yapılan hastalardan özellikle tam ereksiyon sertlik düzeyi gelişen, anormal Doppler bulgusu vermeyen hastalarda (arteriel ya da venöz yetmezlik) priapizm açısından daha dikkatli olunması gerektiğini düşünüyoruz.

Çalışmamızın limitasyonu olarak, mevcut hasta grubumuzun DM'li olsalar da diyabet tipi, eşlik eden hastalık çeşitliliği, glisemik kontrol durumu, kullanmakta oldukları tedaviler, hastalık süreleri gibi çok sayıda faktör açısından heterojen bir grubu temsil etmekte olduğunu belirtebiliriz. Ancak literatürdeki çoğu çalışmada olduğu gibi bu çeşitliliğin tamamen ekarte edilmesi mümkün görünmemektedir.

### Sonuç

Diyabetik erkeklerde ED'nin ciddiyetinin diyabetin süresi, hasta yaşının ilerlemesi, kötü glisemik kontrol ve mikrovasküler komplikasyonların gelişimi ile arttığı bilinmektedir. Diyabetik erkeklerde ED, kompleks ve multifaktöriyel bir süreç olarak gözükmemektedir. Bizim çalışmamızda literatüre ek olarak diyabetik erkeklerde ED'nin sebebi olarak vasküler kökenin ve özellikle venöz yetmezlik alt tipinin yüksek oranda görüldüğü saptandı. Çalışmamız mevcut bulgularıyla Türkçe literatüre sağladığı katkı açısından değerlidir, ancak konuyla ilgili daha net sonuca varılması açısından daha geniş vaka serili, çok merkezli çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

### Kaynaklar

1. Williams SK, Melman A. Novel therapeutic targets for erectile dysfunction. *Maturitas* 2012;71(1):20-7.
2. Cohen SD. The challenge of erectile dysfunction management in the young man. *Curr Urol Rep* 2015;16(12):84.
3. Lewis RW. Epidemiology of erectile dysfunction. *Urol Clin North Am* 2001;28(2):209-16.
4. Binmoammar TA, Hassounah S, Alsaad S, Rawaf S, Majeed A. The impact of poor glycaemic control on the prevalence of erectile dysfunction in men with type 2 diabetes mellitus: A systematic review. *JRSM Open* 2016;7(3):1-10.
5. Penson DF, Latini DM, Lubeck DP, Wallace KL, Henning JM, Lue TF. Do impotent men with diabetes have more severe erectile dysfunction and worse quality of life than the general population of impotent patients? Results from the Exploratory Comprehensive Evaluation of Erectile Dysfunction (ExCEED) database. *Diabetes Care* 2003;26(4):1093-9.
6. Goldstein I, Lue TF, Padma-Nathan H, Rosen RC, Steers WD, Wicker PA. Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. Sildenafil Study Group. *N Engl J Med* 1998;338(20):1397-404.
7. Mäkimattila S, Yki-Järvinen H. Endothelial dysfunction in human diabetes. *Curr Diab Rep* 2002;2(1):26-36.
8. Chitale K. Type 1 and type 2 diabetic-erectile dysfunction: Same diagnosis (ICD-9), different disease? *J Sex Med* 2009;6(Suppl 3):262-8.
9. Kirilmaz U, Guzel O, Aslan Y, Balci M, Tuncel A, Atan A. The effect of lifestyle modification and glycemic control on the efficiency of sildenafil citrate in patients with erectile dysfunction due to type-2 diabetes mellitus. *Aging Male* 2015;18(4):244-8.
10. Gupta N, Herati A, Gilbert BR. Penile Doppler ultrasound predicting cardiovascular disease in men with erectile dysfunction. *Curr Urol Rep* 2015;16(3):16.
11. Lue TF, Hricak H, Marich KW, Tanagho EA. Vasculogenic impotence evaluated by high-resolution ultrasonography and pulsed Doppler spectrum analysis. *Radiology* 1985;155(3):777-81.
12. Rosen RC, Riley A, Wagner G, Osterloh IH, Kirkpatrick J, Mishra A. The international index of erectile function (IIEF): A multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction. *Urology* 1997;49(6):822-30.
13. Rosen RC, Cappalleri JC, Smith MD, Lipsky J, Pena BM. Development and evaluation of an abridged, 5-item version of the International Index of Erectile Function (IIEF-5) as a diagnostic tool for erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 1999;11(6):319-26.
14. Dargis L, Trudel G, Cadieux J, Villeneuve L, Prévaille M, Boyer R. Validation of the International Index of Erectile Function (IIEF) and presentation of norms in older men. *Sexologies* 2013;22(1):e20-e26.
15. Rosen RC, Cappalleri JC, Gendrano N 3rd. The international index of erectile function (IIEF): A state-of-the-science review. *Int J Impot Res* 2002;14(4):226-44.

16. Fitzgerald SW, Erickson SJ, Foley WD, Lipchik EO, Lawson TL. Color Doppler sonography in the evaluation of erectile dysfunction. *Radiographics* 1992;12(1):3-17.
17. Pereira JA, Bilhim T, Rio Tinto H, Fernandes L, Martins Pisco J, Goyri-O'Neill J. Radiologic anatomy of arteriogenic erectile dysfunction: A systematized approach. *Acta Med Port* 2013;26(3):219-25.
18. Aslan Y, Tuncel A, Aydin O, Balci M, Karabulut E, Atan A. The association between Erection Hardness Grading Scale and International Index of Erectile Function in men with erectile dysfunction treated with sildenafil citrate. *Urol Int* 2011;86(4):434-8.
19. Defeudis G, Gianfrilli D, Di Emidio C, et al. Erectile dysfunction and its management in patients with diabetes mellitus. *Rev Endocr Metab Disord* 2015;16(3):213-31.
20. Rosen RC, Fisher WA, Eardley I, Niederberger C, Nadel A, Sand M. The multinational Men's Attitudes to Life Events and Sexuality (MALES) study: I. Prevalence of erectile dysfunction and related health concerns in the general population. *Curr Med Res Opin* 2004;20(5):607-17.
21. McCulloch DK, Campbell IW, Wu FC, Prescott RJ, Clarke BF. The prevalence of diabetic impotence. *Diabetologia* 1980;18(4):279-83.
22. Chrysant SG. Antihypertensive therapy causes erectile dysfunction. *Curr Opin Cardiol* 2015;30(4):383-90.
23. Kilic M, Serefoglu EC, Ozdemir AT, Balbay MD. The actual incidence of papaverine-induced priapism in patients with erectile dysfunction following penile colour Doppler ultrasonography. *Andrologia* 2010;42(1):1-4.
24. Secil M, Arslan D, Goktay AY, Esen AA, Dicle O, Pirnar T. The prediction of papaverine induced priapism by color Doppler sonography. *J Urol* 2001;165(2):416-8.
25. Metaweia B, El-Nashar AR, Gad-Allah A, Abdul-Wahab M, Shamloul R. Intracavernous papaverine/phentolamine-induced priapism can be accurately predicted with color Doppler ultrasonography. *Urology* 2005;66(4):858-60.

## Son ütücü olarak çalışan bir olguda spinal aksesuar sinir hasarına bağlı kanat skapula A case of spinal accessory nerve palsy with winged scapula as a result of ironing

Azize Serçe Özgür Zeliha Karaahmet Eda Gürçay Ece Ünlü Aytül Çakıcı

Sağlık Bakanlığı Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği, Ankara, Türkiye

### Öz

Spinal aksesuar sinir (SAS), 11. kranial sinir olup trapezius kasının pür motor innervasyonunu sağlar. Hastalarda SAS yaralanması nedeni ile omuz ağrısı, kas kuvvetsizliği ve kanat skapula gelişebilir. SAS hasarına bağlı gelişen kanat skapula nadir görülür. Tanısı elektromiyografi (EMG) ile konulmaktadır, ayırıcı tanı ve ek patolojiler açısından ultrasonografi (USG)'ye başvurulabilmektedir. Son yıllarda ise non-invaziv, ucuz, kullanım kolaylığı olan bir yöntem olması nedeniyle USG'nin periferik sinirlerin görüntülenmesinde kullanımı artmaktadır. Bu yazıda, kanat skapula gelişmiş son ütücü olarak çalışan bir hasta EMG ve USG bulguları eşliğinde tartışılmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Spinal aksesuar sinir, elektromiyografi, ultrasonografi.

### Abstract

*Spinal accessory nerve (SAN) which is the 11. cranial nerve, provides motor innervation of the trapezius muscle. Shoulder pain, muscle weakness and winged scapula can be developed in patients with SAN injury. Winged scapula which is caused by SAN damage is rare. The diagnosis is confirmed with electromyography (EMG), ultrasonography (USG) can be referenced in terms of differential diagnosis and additional pathologies. In recent years, because of being non-invasive, inexpensive, user-friendliness method, the use of USG is increasing to view of the peripheral nerves. Herein, a patient with winged scapula who was employed as a making ironing was discussed by the EMG and USG findings.*

**Keywords:** Spinal accessory nerve, electromyography, ultrasonography.

### Giriş

Kanat skapula (skapula alata) sıklıkla skapulotorasik stabilize edici kaslar olan serratus anterior, trapezius ve rhomboid kasların disfonksiyonuna bağlı gelişen, skapula medial kenarının torakstan uzaklaşması ile karakterize bir klinik durumdur (1,2). Skapulohumeral ritmin bozulmasına bağlı omuz kas gücünde azalma, eklem hareket açıklıklarında azalma, kozmetik problemler, periskapular kaslarda gerginlik ve spazma bağlı ağrıya neden olabilir (3,4).

Trapezius paralizisine bağlı gelişen skapular kanatlanma oldukça nadir bir durum olup Spinal aksesuar sinir (SAS) yaralanmalarına bağlı gelişir. Etkilenen omuzda düşüklük vardır ve kanatlanma omuz abduksiyonu ve dirence karşı aktif eksternal rotasyon ile belirginleşir.

Ağır yük torbası taşıma, travma ve sporla ilişkili yaralanmalara bağlı gelişebileceği gibi sıklıkla servikal lenf doku diseksiyonu ve kitle eksizyonu gibi cerrahiler sırasında iatrojenik olarak görülür (4,5). Donner ve Kline (6) tarafından yapılan bir çalışmada SAS hasarı olan olguların %71 iatrojenik, %24 travma ile ilişkili olduğu görülmüştür. Spontan veya idiyopatik olan olgular ise son derece nadirdir.

Burada tekrarlayan travma sonrası SAS hasarı gelişen bir olgu ultrasonografi (USG) ve elektrofizyoloji eşliğinde sunulmaktadır.

### Olgu Sunumu

Yirmi bir yaşında erkek hasta yaklaşık bir yıldır olan sağ omuz ağrısı ve düşüklüğü yakınması ile başvurdu. Omuz ağrısının özellikle abduksiyon ve aktivite sırasında arttığını belirtti. Uyuşma karıncalanma yakınması yoktu. Ek bir hastalığı, travma, ilaç kullanım, cerrahi öyküsü ve aile öyküsünde özellik yoktu. Dominant eli sağ olan hastanın 4 yıldır ütücü olarak çalıştığı öğrenildi. Hastanın fizik muayenesinde omuzlar arasında asimetri, sol omzunda düşüklük, trapezius kasının üst bölümünde atrofi ve omuz abduksiyonu ile belirgin hale gelen, istirahatte kaybolan sağ tarafta kanat skapulası

Yazışma Adresi: Özgür Zeliha Karaahmet

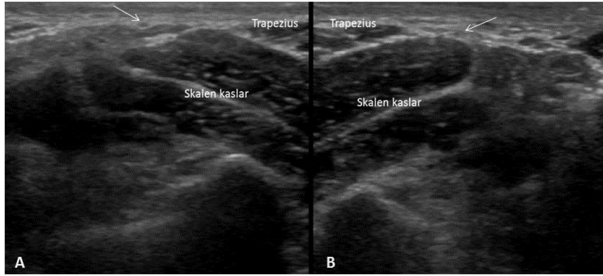
Sağlık Bakanlığı Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği, Ankara, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 11.07.2016 Kabul Tarihi: 05.09.2016

mevcuttu. Nörolojik muayenesinde sağ trapezius kasının motor fonksiyonu +3/5 idi. Kranial sinir muayenesi, *sternocleidomastoideus* (SCM) ve diğer kas kuvvetleri normaldi. Rutin hemogram, biyokimya tetkikleri, vitamin B12 düzeyi, tiroid fonksiyon testleri, omuz, servikal ve akciğer direkt grafileri normaldi.

Elektromiyografi (EMG)'sinde sağ üst ekstremitte median ve ulnar sinir motor ve duyu iletim çalışmaları normaldi. İğne EMG'de sağ SCM, deltoid, supraspinatus, infraspinatus, serratus anterior, levator skapula ve romboid major kasları normal olarak değerlendirildi. Sağ trapezius kası üst, orta ve alt kısımlarında spontan aktivite, hafif kasıda polifazik motor ünite potansiyellerinde artış ve tam kasıda interferans paterninde seyrelme tespit edildi.

Hastanın interskalen bölgedeki transvers USG görüntülerinde semptomlarının olduğu sağ tarafta skalen posterior kasının ön kenarında SAS'ın ödematöz, hipoekojen ve genişlemiş olduğu görüldü. Sol tarafta ise SAS normal ekojenite ve boyutta izlendi (Şekil-1).



**Şekil-1.** Sağ tarafta kanat skapulası ve düşük omuzu olan bir hastanın interskalen bölgedeki transvers ultrason görüntüleri. Skalen posterior kasının ön kenarında okla gösterilen aksesuar sinir ödematöz, hipoekojen ve genişlemiş olarak izlenmektedir (A). Karşı tarafta, aksesuar sinir normal ekojenite ve boyuttaki izlenmektedir (B).

Hastaya yapılan tetkiklerle SAS hasarı tanısı konulduktan sonra elektrik stimülasyonu, aşamalı olarak aktif asistif ve rezistif egzersiz programı önerildi ve 4 hafta sonra tetkiklerinin yeniden yapılması amacıyla kontrole çağırıldı. Kontrolüne gelmeyen hastaya telefonla ulaşıldı. Ağrısının azaldığını fakat sol omuzundaki düşüklük ve omuzlar arasında asimetri yakınmasının hala devam ettiğini belirtti.

Hastadan tıbbi verilerinin yayınlanabileceğine ilişkin yazılı onam belgesi alındı.

### Tartışma

Trapezius kas paralizisi sıklıkla nörojenik olup SAS hasarına bağlı gelişir. Sinirin yüzeysel seyretmesi, posterior

servikal bölge travmaları, servikal lenf nodu diseksiyonu ve kitle eksizyonu sırasında yaralanmasına daha yatkın yapar. Boyun cerrahisi sırasında meydana gelen SAS hasarı son yıllarda yeni tekniklerin gelişmesi nedeniyle azalmıştır (4). Spontan veya idiyopatik olarak nadiren görülmekle birlikte meslek hastalığı olarak da marangoz, araba tamircisi, kaynakçı ve terzilerde tanımlanmış olgular vardır (4).

Kanat skapula dinamik veya statik olabilir. Osteokondroma, skolyoz, konjenital muskuler distrofi, postravmatik kontraktür ve iatrojenik sebeplere bağlı gelişebilen statik kanat skapulada istirahat halinde kanatlaşma görülür. Dinamik kanat skapulada ise skapula hareket ile belirgin hale gelir, istirahatte patoloji görülmez (7). Uzun torasik sinir hasarı nedeniyle oluşan serratus anterior kas zayıflığı medial skapulada kanatlanmaya yol açar. Kanatlanma hasta kollarını fleksiyona getirirken belirginleşir. Bizim olgumuzda olduğu gibi trapezius kas yetmezliğinde ise omuz düşüklüğü olur ve kol abduksiyonda iken belirginleşen lateral kanatlanma mevcuttur.

Fizyopatolojisinde tekrarlayan travmalara bağlı olarak sinirde nöropraksi geliştiği düşünülmektedir. Kasın fasyasında fibrozis ve mikrovasküler yetmezlik ve buna bağlı olarak da nöropati gelişmektedir (1). Tanısında EMG altın standart olup, kompresif sendromlar dahil farklı periferik nörolojik durumların tanımlanması ve sinir hasarını göstermesi açısından çok önemlidir (1).

USG son yıllarda periferik sinirlerin görüntülenmesinde sıklıkla kullanılan maliyeti düşük, taşınabilir, non-invaziv, kontraendikasyonu olmayan bir yöntem olup klinisyene etiyoloji ve ek patolojilere yönelik bilgiler de verir (8,9). Bizim olgumuzda SAS hasarı EMG ile tespit edildikten sonra USG ile değerlendirildi ve kompresyona bağlı gelişen nöropatilerde görülen sıkışmanın proksimalinde sinirde ödem ve çap değişikliği görüldü, ek patoloji saptanmadı.

SAS hasarına bağlı gelişen kanat skapula nadir görülmekle birlikte hastanın üst ekstremitte fonksiyonlarını kısıtlayan ve etiyolojisi çok çeşitli olabilen bir klinik durumdur. Birçok hastalığı taklit edebilmesi tanısını zorlaştırabilir ve tanının gecikmesine yol açabilir (10). Doğru tanı için öncelikle iyi bir klinik muayene gereklidir. Elektromiyografik ve ultrasonografik incelemeler tanıyı doğrulamak için oldukça faydalıdır. Bu olguyu sunmaktaki amacımız ultrasonun periferik sinir görüntülemesinde kullanımının giderek arttığını vurgulamak ve USG konusundaki gelişmeler arttıkça bu konudaki çalışmaların artacağını, hatta EMG yapılamayan durumlarda yerini alabileceğini belirtmekti.

## Kaynaklar

1. Silva JB, Gerhardt S, Pacheco I. Syndrome of fascial incarceration of the long thoracic nerve: Winged scapula. *Rev Bras Ortop* 2015;50(5):573-7.
2. Chillemi C, Franceschini V, Ippolito G, et al. Osteochondroma as a cause of scapular winging in an adolescent: A case report and review of the literature. *J Med Case Rep* 2013;23(7):220.
3. Gregory J, Galano MD, Louis U, et al. Surgical treatment of winged scapula. *Clin Orthop Relat Res* 2008;466(3):652-60.
4. Ryan MM, David EF. Scapular winging: Anatomical review, diagnosis and treatments. *Curr Rev Musculoskelet Med* 2008;1(1):1-11.
5. Karahmet OZ, Umay E, Ünlü E, Demir Ş, Çakıcı A. Iatrogenic winging scapula: A case report. *Turk J Phys Med Rehab* 2011; 57(2):348-50.
6. Donner TR, Kline DG. Extracranial spinal accessory nerve injury. *Neurosurgery* 1993;32(6):907-11.
7. Orth P, Anagnostakos K, Fritsch E, Kohn D, Madry H. Static winging of the scapula caused by osteochondroma in adults: A case series. *J Med Case Rep* 2012;25(6):363.
8. Ali ZS, Pisapia JM, Ma TS, Zager EL, Heuer GG, Khoury V. Ultrasonographic evaluation of peripheral nerves. *World Neurosurg* 2015;15(1):1347-9.
9. Bianchi S. Ultrasound of the peripheral nerves. *Joint Bone Spine* 2008;75(6):643-9.
10. Akgun K, Aktas I, Terzi Y. Winged scapula caused by a dorsal scapular nerve lesion: A case report. *Arch Phys Med Rehabil* 2008;89(10):2017-20.

## Primary hyperoxaluria

### Primer hiperoksalüri

Elçin Aydın<sup>1</sup> Tülay Öztürk Atasoy<sup>2</sup> Mehmet Argın<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Başkent University Faculty of Medicine, Department of Radiology, İzmir, Turkey

<sup>2</sup>Ümraniye Training and Research Hospital, Clinic of Radiology, İstanbul, Turkey

<sup>3</sup>Ege University Faculty of Medicine, Department of Radiology, İzmir, Turkey

#### Abstract

Hyperoxaluria is characterized by nephrolithiasis and nephrocalcinosis caused by supersaturation of calcium oxalate in the urine. Deposits of calcium oxalate can lead to kidney damage, kidney failure, and injury to other organs. Herein, we report a case of primary hyperoxaluria which is a serious though rare condition, can be suspected on the basis of the renal features. Radiological skeletal changes, which are also rather specific, may also share some features with renal osteodystrophy.

**Keywords:** Hyperoxaluria, nephrolithiasis, nephrocalcinosis.

#### Öz

*Hiperoksalüri nefrolitiazis ve nefrokalsinozis ile karakterize, idrardaki kalsiyum oksalatın süpersatürasyonu sonucu oluşur. Kalsiyum oksalat depozitleri böbrek hasarı, böbrek yetmezliği ve diğer organlarda hasarlanmaya neden olabilir. Burada nadir de olsa ciddi bir durum arz eden, renal özellikleri açısından şüphelenilebilen primer hiperoksalüri vakasını sunduk. Radyolojik iskelet değişiklikleri oldukça spesifik olmakla birlikte renal osteodistrofi ile benzer özellikler taşıyabilir.*

**Anahtar Sözcükler:** Hiperoksalüri, nefrolitiazis, nefrokalsinozis.

#### Introduction

Primary hyperoxaluria is a rare condition that causes kidney stones by supersaturation of calcium oxalate in the urine. Deposits of calcium oxalate can lead to kidney damage, kidney failure, and injury to other organs. Primary hyperoxaluria is caused by the deficiency of an enzyme that normally prevents the buildup of oxalate. There are two types of primary hyperoxaluria, distinguished by the enzyme that is deficient. Primary hyperoxaluria is an autosomal recessive disorder and causing urinary precipitation of calcium oxalate, resulting in urolithiasis and often nephrocalcinosis. Progressive renal insufficiency with uremia frequently occurs in childhood or early adulthood. Early diagnosis and conservative treatment can improve long term prognosis of patient (1).

#### Case Report

A 21 year old male patient with a five year history of end stage renal insufficiency was in the kidney transplantation plan. The laboratory tests revealed high liver enzymes. The abdominal ultrasonography was normal except for the small and hyperechoic kidneys. The urine proline, citrulline and oxalic acid levels were high. Plain radiographs of the extremities and axial skeleton were obtained for further evaluation. Plain radiographs revealed diffuse sclerotic densities of the bony structures. There were diffuse multiple lytic lesions with ill-defined borders at the diaphysis of both proximal femurs (Figure 1a-d).

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

#### Discussion

Hyperoxaluria is characterized by nephrolithiasis and nephrocalcinosis caused by supersaturation of calcium oxalate in the urine. Primary hyperoxaluria type 1 and 2 (PH1 and PH 2) are rare autosomal recessive disorders with defective glyoxalate metabolism in the liver resulting in increased oxalate production (1). Secondary hyperoxaluria is due to reduced excretion, excessive

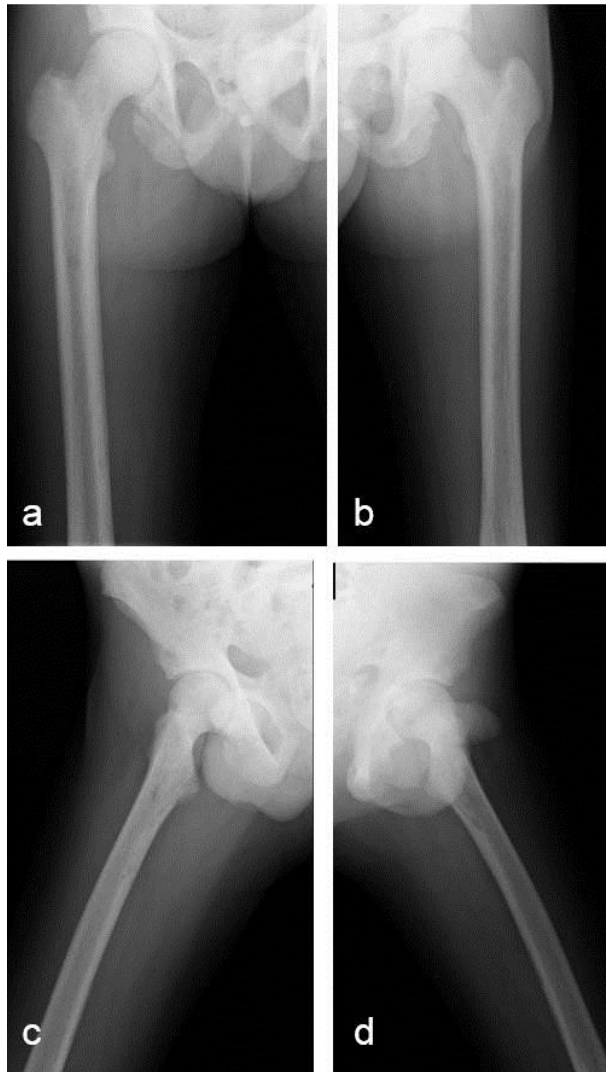
Corresponding Author: Elçin Aydın

Başkent University Faculty of Medicine, Department of Radiology, İzmir, Turkey

Received: 15.07.2016

Accepted: 08.09.2016

dietary intake or increased gut absorption of oxalate (2). Idiopathic hyperoxaluria has no known associated gene defect. In PH1 hepatic deficiency or mistargeting of alanine glyoxylate aminotransferase (AGT) leads to loss of glyoxylate amination to glycine. The accumulated glyoxylate is oxidized to oxalate which cannot be further metabolized and is therefore mainly excreted by the kidney (hyperoxaluria).



**Figure-1. a-d.** Diffuse multiple lytic lesions with an ill-defined border at the both of the proximal femur.

This leads urinary precipitation of calcium oxalate, resulting in urolithiasis and often nephrocalcinosis. Progressive renal insufficiency with uremia frequently occurs in childhood or early adulthood. Although early

diagnosis and conservative treatment can improve long term prognosis of patients (3,4). If end stage renal disease is reached the only curative therapy of PH1 remains combined liver kidney transplantation (5). Preemptive liver transplantation can also cure the metabolic defect in PH1 and may prevent oxalate deposition if performed early enough (6). With declining renal function, high blood levels of oxalate result in deposition of oxalate crystals in other organs, such as bone and bone marrow. Bone tissue is a common site of calcium oxalate crystal deposition but the radiologic appearance of bone involvement has been described in very few reports (7). Moreover the respective role of oxalate crystal deposition and uremic hyperparathyroidism in the genesis of bone lesions is undefined. The earliest specific radiographic skeletal features of oxalosis are fine transverse lines of increased bone density, located symmetrically in the areas of rapid growth, presumably related to crystal precipitation in the site where cartilage normally calcifies (8). These findings are most prominent in areas of hematopoietic rather than fatty marrow and other highly vascularized areas, where blood oxalic acid levels are greater. Increased bone density may also involve the upper and lower end plate of the vertebral bodies. Another manifestation of skeletal oxalate deposition is the radiopaque rim or alternating lucent and dense bands that can be observed in flat bones, mainly of the pelvic girdle, epiphyseal nuclei (target-like epiphyses), tarsal bones, and patella, with the narrow radiolucent rim representing the less involved bone. Precipitation of oxalate crystals in the marrow spaces induces chronic inflammatory granulomatous response, with giant and mononucleated cells around the clusters of crystals, followed by bone resorption. It is difficult to distinguish the changes due to oxalate deposition from that cause by secondary hyperparathyroidism. Diffuse demineralization, "ruger jersey" bone structure, thinned cortices, and subperiosteal bone resorption are reasonably attributed to hyperparathyroidism, but some bone resorption may also be caused by granulomatous reaction around clusters of oxalate crystals, and pathological fractures may occur because of both conditions (9). The diagnosis of PH1 with systemic oxalosis, which is a serious though rare condition, can be suspected on the basis of the renal features. Radiological skeletal changes, which are also rather specific, may also share some features with renal osteodystrophy.



## References

1. Danpure CJ. Genetic disorders and urolithiasis. *Urol Clin North Am* 2000;27(2):287-99.
2. Alkhunaizi A, Chan L. Secondary oxalosis: A cause of delayed recovery of renal function in the setting of acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1996;7(11):2321-6.
3. Cochat P, Basmaison O. Current approaches to the management of primary hyperoxaluria. *Arch Dis Child* 2000;82(6):470-3.
4. Bensman A, Legendre C, Palomera S, Thervet E, Kreis H. How to treat primary oxalosis? *Nephrol Dial Transplant* 1995;11(2):394-5.
5. Jamieson NV. The European Primary Hyperoxaluria Type 1 Transplant Registry Report on the results of combined liver and kidney transplantation for primary hyperoxaluria 1984-1994. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10(8):33-7.
6. Cochat P, Sharer K. Should liver transplantation be performed before advanced renal insufficiency in primary hyperoxaluria type1? *Pediatr Nephrol* 1993;7(2):212-3.
7. Ring E, Wendler H, Ratschek M, Zobel G. Bone disease of primary hyperoxaluria in infancy. *Pediatr Radiol* 1989;20(1):131-3.
8. Wiggelinkhuizen J, Fisher RM. Oxalosis of bone. *Pediatr Radiol* 1982;12:307-9.
9. Day DL, Scheinman JI, Mahan J. Radiological aspects of primary hyperoxaluria. *AJR* 1986;146(2):395-401.

**Yüksek sosyoekonomik düzeyli aile bebeklerinde amebiasis: İki olgu****Amebiasis in families with high socioeconomic level: Two cases**

Aslı Aslan

Zafer Kurugöl

Güldane Koturoğlu

Şule Gökçe

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

**Öz**

Amebiasis *Entamoeba histolytica*'nın neden olduğu paraziter bir hastalıktır. Dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerinde endemiktir ve dünya nüfusunun % 10'unun *E. histolytica* ile enfekte olduğu düşünülmektedir. Çocukluk çağında sık görülür, ancak erken bebeklik döneminde semptomatik enfeksiyon oldukça nadirdir ve bebeklerdeki mortalite oranı oldukça yüksektir. Düşük sosyoekonomik düzey ve kötü sanitasyon koşullarının amipli dizanteri riskini arttırdığı bilinmektedir. Endemik bölgelerde, emzirme ve farklı sosyoekonomik durumlar bebekleri *E. histolytica* enfeksiyonundan korumamaktadır. Bu yazıda 4.5 ve 1.5 aylık sosyoekonomik düzeyi yüksek çevrede büyüyen, sadece anne sütü ile beslenen iki infant polikliniğimize kanlı mukuslu dışkılama ile başvurdu ve intestinal amebiasis ön tanısı ile yatırıldı. Dışkı incelemelerinde amip trofozoit ve kisti saptandı. ELISA yöntemi ile adezin antijeni pozitif bulundu. Hastalara 50 mg/kg/gün olacak şekilde oral metranidazol tedavisi başlandı. Bu yazıda, infantil dönemde çok nadir görülen semptomatik amibiyazisli 2 olgu, hastalığa dikkat çekme amacıyla sunulmuştur.

**Anahtar Sözcükler:** Amip, infant, sosyoekonomik düzey.

**Abstract**

*Amebiasis is a parasitic infection caused Entamoeba histolytica. The parasitic infection is endemic in tropical and subtropical regions of the world accounting 10% of people. Although amoebic dysentery is common in childhood, symptomatic infection in early infancy is quite rare and the mortality in infancy is high. Low socioeconomic status and poor sanitation conditions are known to increase the risk of amoebic dysentery. In endemic areas, breast-feeding and different socioeconomic status do not protect infants from Entamoeba histolytica infection. In this article, two infants 4.5 and 1.5-month-old girls who grew up in families of high socioeconomic level and who were fed with only breast milk came to our polyclinic with bloody stool and mucous diarrhea were hospitalized with the suspicion of intestinal amebiasis. Fecal examinations were revealed amebic trophozoites and cysts. The adhesine antigens investigated by ELISA method were positive. Oral metronidazole treatment was started with a dose of 50 mg/kg/day. In this paper, two cases of symptomatic intestinal amebiasis, which is rarely seen among infants, has been presented in order to draw attention to infantile amebiasis.*

**Keywords:** Amebiasis, infant, socioeconomical level.

**Giriş**

Amebiasis, *Entamoeba histolytica*'nın oral yoldan alınması sonucu ortaya çıkan paraziter bir hastalıktır. Paraziter enfeksiyonlara sekonder gelişen ölüm nedenleri arasında sıtma ve şistozomiazisten sonra üçüncü sırada yer alır (1). Dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerinde endemiktir ve dünya nüfusunun % 10'unun *E. histolytica* ile enfekte olduğu düşünülmektedir.

Amipli dizanteri, *E. Histolytica*'nın bağırsak duvarında yaratmış olduğu iltihabi reaksiyon sonucu bol sulu sümüklü kanlı dışkılama, karın ağrısı, bulantı, ateş, halsizlik ile seyreden bir tablodur. Amebiasis bütün dünyada yaygın bir hastalıktır. Dünya nüfusunun % 10'undan fazlası *E. Histolytica* ile enfektedir ve yaklaşık 500 milyon insanın *E. histolytica* veya *E. dispar* taşıdığı düşünülmektedir. Özellikle gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde her yıl 50.000-100.000 arasında, özellikle 5 yaş altı çocuklarda amebiazise bağlı ölümler görülebilmektedir (2,3). Çocuklarda 2-3 yaş, erişkinlerde ise 40 yaş olmak üzere iki tepe insidans bildirilmektedir (4). Erken bebeklik döneminde ise semptomatik enfeksiyon oldukça nadirdir ve mortalite oranı oldukça yüksektir. Düşük sosyoekonomik düzey ve kötü sanitasyon koşullarının amipli dizanteri riskini arttırdığı

Yazışma Adresi: Şule Gökçe

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 25.07.2016 Kabul Tarihi: 24.11.2016

bilinmektedir. Ancak nadiren de olsa hijyeni iyi, yüksek sosyoekonomik düzeyli ailelerde de amipli dizanteri görülebilmektedir.

Bu olgu sunumunda sadece anne sütü ile beslenen sosyoekonomik düzeyi yüksek çevreye sahip iki bebekteki semptomatik intestinal amebiazis konuya dikkat çekmek amacıyla sunulmuştur.

## Olgu Sunumu

### Olgu 1

Dört buçuk aylık kız bebek, Nisan 2014 tarihinde İzmir'in Bornova ilçesinden Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi pediatri polikliniğine 5 gün önce başlayan kanlı ve az miktarda mukuslu dışkılama nedeniyle başvurdu. Olguda eşlik eden ateş ve kusma öyküsü yoktu. Kırk haftalık gebelikten spontan yolla doğan olgunun özgeçmişinde özellik yoktu. Anne ve babası üniversite mezunu, ailenin sosyokültürel durumu iyi idi. Annede meme başı çatlağı mevcuttu. Hasta sadece anne sütü ile besleniyordu. Musluk suyu alımı tanımlanmıyordu, ancak emzik kullanımı mevcuttu. Bebek bakımı anne tarafından veriliyordu.

Fizik muayenesinde ağırlığı: 5650 gr (25-50p) boyu: 63 cm (90p), baş çevresi: 44 cm (75-90p) saptandı. Sistemik bakıları olağan olguda anal fissür izlenmedi. Laboratuvar incelemesinde tam kan sayımı ve kanama diyatez testleri olağandı. Dışkı kültüründe üreme saptanmadı. Dışkı mikroskopisinde amip trofozoit ve kistleri saptandı. Dışkıda ELİSA yöntemi ile adhezin antijeni pozitif bulundu. Metronidazol 40 mg/kg/gün dozunda 7 gün süre ile oral olarak başlanan hastada tam iyileşme gözlemlendi.

### Olgu 2

Kırk dokuz günlük kız bebek, Eylül 2014 tarihinde Muğla'nın Bodrum ilçesinden günde 5 kez olan bol miktarda yeşil ve mukuslu ve 1 kez kanlı dışkılama yakınması ile başvurdu. 40 haftalık gebelikten spontan yolla doğan olgunun özgeçmişinde, babada 1 ay önce geçirilmiş amipli dizanteri öyküsü vardı. Olgunun anne ve babası üniversite mezunu, ailenin sosyoekonomik ve kültürel düzeyi iyi idi. Bebek sadece anne sütü ile besleniyordu, biberon ve emzik kullanımı yoktu. Bebek bakımı anne tarafından veriliyordu.

Fizik muayenesinde ağırlığı 4300 g (10-25 p) boyu 54 cm (10-25 p), baş çevresi 37 cm (25-50 p). Sistemik bakıları olağan olguda anal fissür izlenmedi. Tam kan sayımı olağandı. Kanama diyatez testleri, alerji tetkikleri ve dışkıda parazit incelemesi negatif saptandı. Dışkıda ELİSA yöntemi ile adhezin antijeni pozitif bulundu. Metronidazol 40 mg/kg/gün dozunda 7 gün süre ile oral olarak başlanan hastada tam iyileşme gözlemlendi. Evde yaşayan diğer aile üyelerine tarama yapıldı, negatif olarak sonuçlandı.

Hastaların yasal vasilerinden tıbbi verilerinin yayınlanabileceğine ilişkin yazılı onam belgesi alındı.

## Tartışma

*Entamoeba histolytica*'nın başlıca konağı insandır. Bulaşıcılık genelde besin aracılığı ile daha az olarak da kontamine su aracılığı ile olur. Oral-anal seks, kolonik irrigasyon aletleri ile direkt bulaş nadir bulaş yollarındandır. Bulaşma, parazitin olgun kist formunun besin ve sularla alınması ile başlar. Enfekte olanların %90'ından fazlası semptom olmadan günde 15 milyon kisti aylarca dışkı yoluyla atarlar ve bu durum hastalığın bulaşmasında önemli rol oynamaktadır.

Asemptomatik bireylerde gelişmekte olan ülkelerin amebiasis prevalansı %1-21'dir. Yüksek insidans oranları; Uzak Doğu, orta ve güney Amerika, Hindistan, güney ve batı Afrika'da bildirilmiştir (5). Bu bölgelerde antikor prevalansı %50'nin üzerindedir. Endüstriyel bölgelerde ise *Entamoeba histolytica* için yüksek risk grubu; homoseksüel erkekler, göçmenler, endemik bölgelere seyahat edenler, HIV (+)'ler ve laboratuvar çalışanlarıdır. Gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanlar yüksek prevalans nedeniyle daha erken yaşta enfekte olurlar. Örneğin Meksika'da 5-9 yaşları arasında serolojik prevalans %11 iken, Meksika'nın bazı endemik bölgelerinde bu oran %80'lere ulaşmaktadır (6).

Türkiye'de amip prevalansı %0.4 ile %18.4 arasında bildirilmiş olup, Güney ve Güneydoğu bölgelerinde endemiktir (7). Amebiasis prevalansı ile ilgili eski yayınlarda, morfolojik olarak aynı olan *E. dispar* ile ayırımı yapılmadığı için prevalans ile ilgili yorum yapmak zordur. Türkiye'de kolonizasyon oranı gecekonduda yaşayan ve kötü sosyoekonomik düzeye sahip popülasyonda % 50'lere ulaşırken, ilköğretim öğrencileri arasında *Entamoeba histolytica* / *E. dispar* prevalansı çeşitli yayınlarda % 0.4 ile %34.4 gibi farklı değerlerde bildirilmiştir (8).

Amebiasis, *Entamoeba histolytica*'nın sıklıkla kontamine yiyecek ve su ile alımı ile gelişir. Bu nedenle özellikle anne sütü ile beslenen küçük bebeklerde amebiasis gelişmesi nadirdir. Küçük bebeklerde görülen hastalık tabloları genellikle düşük sosyoekonomik düzeye sahip ailelerde, malnütrisyon ve immun yetmezlik (hücresel immun yetmezlik) ile ilişkilidir. Literatürde bildirilen az sayıdaki olgu genellikle yüksek insidansa sahip ülkelerde, anne sütü dışında musluk suyu kullanımına sekonder gelişen amipli dizanteri olgularındadır (9,10). Endemik bölgelerde musluk suyu kullanımı bebekler için bulaş kaynağı olabilmektedir. İlk olgumuz sadece anne sütü alıyordu. Bu nedenle hastadaki emzik kullanımının bulaş neden olabileceği düşünüldü. İkinci olguda ise yakın zamanda amipli dizanteri geçirmiş olan babanın bebek için bulaş kaynağı olduğu düşünülmüştür.

Her ne kadar amipli dizanteri özellikle gelişmekte olan ülkelerde yaygın bir halk sağlığı sorunu ise de, yüksek

sanitasyon koşulları olan ve sadece anne sütü ile beslenen küçük bebeklerde de amipli dizanteri görülebılır. Bu nedenle mukuslu ve kanlı dışkı ile başvuran infantlarda aile koşulları ne olursa olsun *Entamoeba histolytica*'nın etken olabileceği unutulmamalıdır.

#### Kaynaklar

1. Walsh JA. Amebiasis in the world. Arch Invest Med 1986;17(1):385-94.
2. Tanyüksel M, Tachibana H, Petri WA. Amebiasis, an emerging disease. In: Scheld WM, Craig WA, Hughes JM (eds). Emerging Infections 5. ASM Press, Washington DC. 2001;12:197-209.
3. Petri WA. Recent advances in amebiasis. Crit Rev Clin Lab Sci 1996;33(1):1-37.
4. Kimura K, Stopen M, Reeder MM, Moncada R. Amebiasis: Modern diagnostic imaging with pathological and clinical correlation. Semin Roentgenol 1997;32(4):250-75.
5. Stauffer W, Abd-Alla M, Ravdin JI. Prevalence and incidence of Entamoeba histolytica infection in South Africa and Egypt. Arch Med Res 2006;37(2):266-75.
6. Caballero-Salcedo A, Viveros-Rogel M, Salvatierra B, et al. Seroepidemiology of amebiasis in Mexico. Am J Trop Med Hyg 1994;50(4):412-21.
7. Değirmenci A, Sevil N, Guneř K, Yolasığmaz A, Turgay N. Ege Üniversitesi Tıp Fakóltesi Hastanesi Parazitoloji laboratuvarında 2005 yılı boyunca saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazitol Derg 2007;31(2):133-8.
8. Tař Cengiz Z, Çiçek M, Akbayram S, Yılmaz H. Intestinal parasites detected in Süphan Primary schoolchildren in Van. Türkiye Parazitol Derg 2009;33(4):294-301.
9. Magon P. Neonatal amoebiasis. Indian J Pediatr 2010;77(8):903-7.
10. Zibaei M, Firoozeh F, Azarگون A. Infantile amoebiasis: A case report. Case Rep Infect Dis 2012;article ID:614398.

**Rotator manşet rüptürünün nadir bir nedeni: Subakromial osteokondrom****An uncommon cause of rotator cuff rupture: Subacromial osteochondroma**

Mesut Tahta Eyüp Çağatay Zengin Tuğrul Bulut Cihan Aslan Muhittin Şener

Katip Çelebi Üniversitesi, İzmir Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, İzmir, Türkiye

**Öz**

Osteokondrom, sık görülen ve genellikle uzun kemiklerin metafizyel bölgelerinde gelişen benign bir kemik tümörüdür. Skapular tutulum ise nadirdir. Bu çalışmada, 1 yıldır devam eden omuz ağrısı ile gelen 66 yaşında kadın hasta sunulmuştur. Hastanın omuz eklemi hareket açıklığında, özellikle abduksiyonda azalma mevcuttu. Direkt grafi, BT ve MRG ile değerlendirilen hastada rotator manşet ruptüre ile birlikte subakromial osteokondrom tespit edildi. Transakromial mini açık insizyonla osteokondrom total eksize edilip rotator manşet onarıldı. Ameliyat sonrası 19. ayda, hastanın omuz eklem hareketleri ağrısız ve eklem hareket açıklığı artmıştı. Subakromial bölgede nadir görülmesine rağmen osteokondrom, rotator manşet rüptürüne sebep olabilir. Tedavide gecikme olması halinde ilgili yırtığın genişleyebileceği unutulmamalı, erken eksizyonun önemi göz önünde bulundurulmalıdır.

**Anahtar Sözcükler:** Rotator manşet rüptürü, osteokondrom, omuz, akromion.

**Abstract**

*Osteochondroma is frequently seen benign bone tumour and generally develops in the metaphyseal sections of long bones. Scapular involvement is rare. In this paper, a 66-year old female is presented with shoulder pain which had been ongoing for 1 year. The range of movement of the shoulder joint had decreased. Shoulder abduction was especially painful. From examinations of direct radiographs, CT and MRI, rotator cuff rupture was determined associated with subacromial osteochondroma. With a transacromial approach, the osteochondroma was excised and the cuff was repaired. At postoperative 19th month, the patient had a pain-free shoulder with increased range of motion. Although rarely seen in the subacromial region, osteochondroma may cause a rotator cuff rupture. It must not be forgotten that if treatment is delayed the tear will widen, and the importance of early excision should be kept in mind.*

**Keywords:** Rotator cuff rupture, osteochondroma, shoulder, acromion.

**Giriş**

Rotator manşet rüptürü, genellikle orta ve ileri yaşta görülen, ana semptomları ağrı ve eklem hareket açıklığında azalma olan, sık görülen bir dejeneratif tendon yaralanması olup nadiren travmaya bağlıdır (1). Genellikle anterolateral akromion ventral yüzü, korakoakromial ligaman ya da distal klavikulanın ventral yüzünün neden olduğu mekanik irritasyon sonucu oluşur (2). Öte yandan osteokondroma, non-ossifiye fibromu takip eden en sık görülen ikinci benign kemik tümörüdür ve sıklıkla uzun kemiklerin metafizyel kısımlarında gelişir (3). Skapula tutulumu ise nadir olup %3-4 civarındadır (4). Böyle bir tablo nadir de olsa rotator manşet rüptürüne sebep olabilir ve bu durum, literatürde sınırlı sayıda bildirilmiştir (5).

Bu çalışmada subakromial bölgede ihmal edilmiş geniş çaplı osteokondroma bağlı oluşan rotator manşet rüptürünü sunmayı amaçladık.

**Olgu Sunumu**

Altmış altı yaşında ev hanımı olan kadın hasta, sol omzunda yaklaşık 1 yıldır devam eden ağrı ve son 6 ayda artan hareket kısıtlılığı şikayeti ile başvurdu. Daha önce başka bir merkezde çeşitli medikal tedaviler ve fizik tedavi gördüğünü ancak şikayetlerinde herhangi bir gerileme olmadığını bildirmekteydi. Hastadan daha önce grafi istenmemiş. Yakın zamanlı travma öyküsü de bulunmamaktaydı. Gece terlemeleri ve yakın zamanda belirgin kilo kaybı olmamıştı ve ailesinde kanser öyküsü bulunmamaktaydı. Boyu 1.63 m, kilosu 88 kg, vücut kitle indeksi 33.1 idi. Omuzunda ısı artışı, kızarıklık yoktu ve nörovasküler muayenesi doğaldı. Dışarıdan gözle görülür bir deformitesi yoktu. Omuz aktif abduksiyonu yaklaşık 70 dereceye kadardı, fleksiyon 90 derece, dış rotasyon 30 derece ve 10 dereceden daha az iç rotasyon mevcuttu. Neer ve Hawkins testleri pozitif

Yazışma Adresi: Mesut Tahta

Katip Çelebi Üniversitesi, İzmir Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, İzmir, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 02.11.2016 Kabul Tarihi: 14.12.2016

olarak değerlendirildi. Omuzda instabilite bulgusu yoktu. Hastanın diğer bölgelerinde benzer şikayeti ve anlamlı fizik muayene bulgusu yoktu. Direkt radyografide subakromial bölgede akromiona bağlı halde kemik dansitesinde kitle görülen hastaya BT ve MRG çekildi (Şekil-1).



**Şekil-1.** Subakromial osteokondromun MRG koronal görüntüsü.

Başka bölgesinde benzer bulguya rastlanmayan hastada, değerlendirmeler sonucunda akromion distal-posterior kısmına bağlı yaklaşık 1 mm kıkırdak şapka kalınlığı olan geniş pediküllü tekli osteokondrom ile uyumlu 15x25x40 mm boyutlarında kitle tespit edildi. Osteokondromun kemik iliği ile akromionun kemik iliği devamlılık göstermekteydi. Buna ek olarak, supraspinatus ve infraspinatus ortak tendonda tam kat rüptür tespit edildi. Kitlenin büyüklüğü nedeniyle artroskopik olarak çıkarılmasının oldukça zor olacağı düşünüldüğü için mini açık transakromial yaklaşım tercih edilerek ameliyat edildi. Deltoid lifleri ayrıldıktan sonra kitle ortaya çıkarıldı. Eklem tarafında kıkırdak doku bulunan kitle görüldü ve pedikülü ile birlikte tek parça olarak eksize edildi. Subakromial dekompresyon yapıldı. Supraspinatus'un tamamının, infraspinatus'un ise kısmi tam kat rüptürününün tedavisi, 3 adet ankor kullanılarak çift sıra onarım şekline yapıldı. Patoloji raporu osteokondrom olarak bildirildi. Ameliyat sonrası 1. günde 30 derece abduksiyon yastığında dirsek ve el bileği egzersizleri başlanan hastaya kademeli olarak omuz

egzersizleri verildi. Ameliyat sonrası 3. ayda hastanın ağrısında belirgin azalma mevcuttu. Aynı süre içinde, hastanın ameliyat edilen omzu tam eklem hareket açıklığına kavuştu. Ameliyat sonrası 19. ayına kadar olan izleminde, hastada rekürrens görülmedi.

Hastadan tıbbi verilerinin yayınlanabileceğine ilişkin yazılı onam belgesi alındı.

### Tartışma

Rotator manşet rüptürünün subakromial osteokondroma bağlı geliştiğini bildirdiğimiz olgu, literatürde nadir bildirilen olgulardandır. Günlük ortopedi ve travmatoloji pratiğinde bu durumun nadir görülmeyle birlikte akıldan bulundurulmasının önemli olduğu kanaatindeyiz.

Osteokondromlar, bursite bağlı ağrı, kozmetik sorunlar, mekanik iritasyon, ya da çalışmamızdaki hastada olduğu gibi rotator manşet rüptürü gibi durumlara sebep olmadığı sürece genellikle asemptomatikler ve asemptomatik oldukları sürece takip edilebilir, ağrılı durumlarda ise medikal tedavi desteği eklenebilir (2,6). Genellikle uzun kemiklerin metafizlerinde görülmesiyle birlikte skapulanın en sık görülen benign tümördür (7). Skapular osteokondromlar çoğunlukla skapulanın ventral yüzeyinde görülür ve ağrılı bursit, skapular krepitasyon ya da skapular yalancı kanatlanmaya sebep olabilir (8,9). Çalışmamızdaki hastada ise tablo, kanaatimizce mekanik iritasyon temelinde öncelikle omuz sıkışma sendromu ile başlamıştır. Sorunun kaynağının osteokondroma bağlı kitle olduğu tespit edilmeden medikal tedavi ve fizik tedavi gibi uygulamalarla kaybedilen zaman içinde durumun rotator manşet rüptürüne ilerlediğini düşünmekteyiz. Bu hususta hastaya hiç grafi çekilmemesinin de tedavideki gecikmeye etkisinin olduğu kanaatindeyiz. Skapular osteokondromun semptomatik tedavisinde başarı elde edilemezse tedavi total eksizyon olmalıdır (4). Literatürde genellikle açık eksizyon tercih edilse de artroskopi yardımlı eksizyon uygulanmış olgular da mevcuttur. Fukunaga ve ark. (9), skapular krepitasyona sebep olan bir subakromial osteokondromu artroskopi yardımlı eksize ettiklerini yayınlamışlardır. Çalışmalarında kitlenin boyutları 18x15x10 mm olarak, çalışmamızdaki kitlenin boyutlarının neredeyse beşte biri büyüklüğünde olduğunu bildirmişlerdir. Kitle küçüldükçe artroskopi yardımlı tekniklerin kullanılabilirliği de artmaktadır ancak bunun tam sınırı henüz kesin sınırlarla çizilememekle birlikte kitlenin lokalizasyonuna da bağlıdır. Bu bağlamda benzer bir çalışması olan Kumar ve ark. (4), skapulanın superomedial köşesinde kostal tarafta gelişen bir osteokondromun eksizyonunu lokalizasyonunun riskli olması nedeniyle artroskopi yardımlı teknik kullanarak yapmışlardır. Rekürrens %2 gibi nadir görülse de genellikle yetersiz eksizyona bağlıdır (10). Bu nedenle kitlenin pedikülü ile birlikte tamamının çıkarılması önemlidir. Çalışmamızdaki hastada da kitlenin tamamı pedikülü ile birlikte çıkarılmış

ve erken dönemde değerlendirilmiş olsa da rekürrens görülmemiştir.

Sonuç olarak, subakromial alanda nadiren görülse de osteokondromlar rotator manşet rüptürüne sebep

olabilmektedir. Tedavideki gecikmenin yırtığı genişleteceği unutulmamalı, erken total eksizyon ile tedavi edilmelidir.

#### Kaynaklar

1. Balke M, Schmidt C, Dedy N, Banerjee M, Bouillon B, Liem D. Correlation of acromial morphology with impingement syndrome and rotator cuff tears. *Acta Orthop* 2013;84(2):178-83.
2. Bigliani LU, Levine WN. Subacromial impingement syndrome. *J Bone Joint Surg Am* 1997;79(12):1854-68.
3. Frost NL, Parada SA, Manoso MW, Arrington E, Benfanti P. Scapular osteochondromas treated with surgical excision. *Orthopedics* 2010;33(11):804.
4. Kumar N, Ramakrishnan V, Johnson GV, Southern S. Endoscopically-assisted excision of scapular osteochondroma. *Acta Orthop Scand* 1999;70(4):394-6.
5. Ciftlak A, Akgün U, Bulut T, Aslan C, Mete BD, Sener M. Subacromial osteochondroma: A rare cause of impingement syndrome. *Int J Surg Case Rep* 2015;6(C): 126-8..
6. Neer CS II. Anterior acromioplasty for the chronic impingement syndrome in the shoulder: A preliminary report. *J Bone Joint Surg Am* 1972;54(1):41-50.
7. Cleeman E, Auerbach JD, Springfield DS. Tumors of the shoulder girdle: A review of 194 cases. *J. Shoulder Elbow Surg* 2005;14(5):460-5.
8. Fukunaga S, Futani H, Yoshiya S. Endoscopically assisted resection of a scapular osteochondroma causing snapping scapula syndrome. *World J Surg Oncol* 2007;22(5):37
9. Van Riet RP, Van Glabbeek F. Arthroscopic resection of a symptomatic snapping subscapular osteochondroma. *Acta Orthop Belg* 2007;73(2):252-4.
10. Unni KK. Osteochondroma. In: Unni KK (ed). *Dahlin's Bone Tumors: General Aspects and Data on 11,087 Cases*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996:11-23.

**Asemptomatik mediastinal dev kavernöz hemanjiom****Asymptomatic mediastinal giant cavernous hemangioma**

Yeliz Erol Tarık Yağcı Ahmet Üçvet Soner Gürsoy

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Cerrahisi Kliniği, İzmir, Türkiye

**Öz**

Anterior mediastende kavernöz hemanjiomlar nadir görülür ve tüm mediastinal tümörlerin %0.5'inden daha azını oluşturmaktadır. En sık semptomları dispne, öksürük ve göğüs ağrısıdır. Erişkinde mediastende genellikle kavernöz tip hemanjiom görülür. Asemptomatik bir mediastinal kitle nedeniyle kliniğimizde opere olan ve patolojik inceleme sonucu kavernöz hemanjiom olarak bildirilen olgu literatür eşliğinde sunuldu.

**Anahtar Sözcükler:** Kavernöz hemanjiom, mediasten.

**Abstract**

*Cavernous hemangioma is a rare tumour of anterior mediastinum and comprises less than 0.5% of all mediastinal tumours. The most common symptoms are dyspnea, cough and chest pain. Usually cavernous type hemangioma is seen in adults mediastinum. The patient operated in our clinic due to asymptomatic mediastinal mass and reported to be a cavernous hemangioma is presented under the light of the literature.*

**Keywords:** Cavernous hemangioma, mediastinum.

**Giriş**

Mediastinal hemanjiomlar nadir tümörler olup en sık semptomları dispne, öksürük ve göğüs ağrısıdır. Asemptomatik mediastinal kitle nedeniyle kliniğimizde opere olan ve patoloji sonucu kavernöz hemanjiom olarak bildirilen olgu literatür eşliğinde sunuldu.

**Olgu Sunumu**

Yirmi beş yaşında erkek hastanın, iş yeri taraması sırasında çekilen akciğer grafisinde patolojik görünüm saptanmış (Şekil-1a). Bilgisayarlı tomografisinde, ön mediastende orta hattın hemen solunda yaklaşık 70x49 mm boyutlu, içerisinde yağ dansitesinde ve yumuşak doku dansitesinde alanlar ve milimetrik boyutlu kalsifik odaklar izlenen lobüle konturlu solid görünümde kitlesel lezyon olduğu rapor edilmiş (Şekil-1b). Polikliniğimizde başvuran hasta yatırıldı.

PET-BT'de, anterior mediasten sol kesiminde yerleşimli, paraaortik alandan parakardiyak seviyeye dek uzanan, birbirine komşu multinodüler yapılardan oluşan

iç kesiminde kalsifiye alanlar gözlenen, heterojen dansiteli kitlesel lezyonda mediastinal vasküler yapılar ile eş ve minimal artmış düzeylerde 18F-FDG tutulumu izlendiği (SUV<sub>max</sub> 2.3) rapor edildi. MR incelemesinde anterior mediastende timik orjinli ve benign görünümdeki lezyonun vasküler yapılara invazyon oluşturmadığı, periferik kistik komponentleri mevcut olduğu, multinodüler dağılım gösterdiği ve arada yağ doku komponentleri içerdiği bildirildi. Radyolojik ön tanı olarak timolipoma ya da germ hücreli tümör öngörüldü. Germ hücreli tümör ve lenfatik malignitelere yönelik yapılan biyokimyasal tetkiklerde β-HCG, α-fetoprotein, hemogram normal değerlerde idi. Hastaya tanı ve tedavi amaçlı cerrahi önerildi. Sol videotorakoskopik eksplorasyonda, mediastinal alandan apikal ve hiler bölgeye uzanan, perikard, üst lob apikal segment, hiler bölge, apikal göğüs duvarına sıkı yapışıklıkları olan, sert, yaklaşık 13 cm çapında kitle izlendi. Anterior mini torakotomi ile 4. interkostal aralıktan girildi. Kitle keskin ve künt diseksiyonla çevre dokulardan frenik sinir korunarak total olarak eksize edildi. Patolojik inceleme sonucu kitle, 13x9x4 cm boyutlarında çaplı kavernöz hemanjiom olarak bildirildi. Postoperatif sorunu olmayan hasta 5. günde çıkarıldı (Şekil-1c). Postoperatif 3. ayında kontrol BT ile değerlendirildi. Kontrol BT'de rezidü kitle ya da nüks olmadığı görüldü (Şekil-1d).

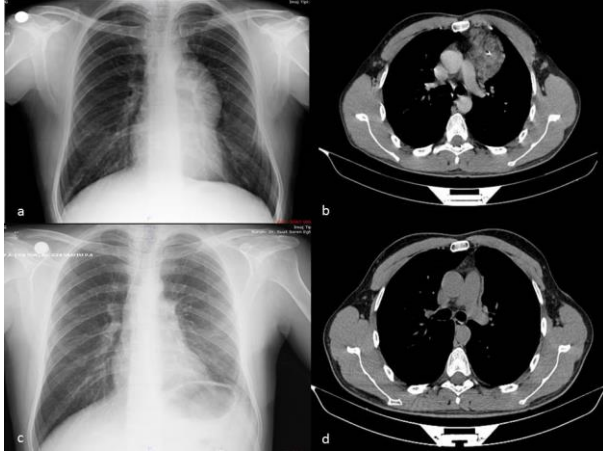
Yazışma Adresi: Yeliz Erol

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Cerrahisi Kliniği, İzmir, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 30.12.2016 Kabul Tarihi: 19.01.2017



Hastadan tıbbi verilerinin yayınlanabileceğine ilişkin yazılı onam belgesi alındı.



**Şekil-1.** a.Preoperatif akciğer grafisi, b. Preoperatif BT'de ön mediastinal kitle görünümü, c. Postoperatif akciğer grafisi, d. Postoperatif BT.

### Tartışma

Anterior mediastende kavernöz hemanjiom nadirdir ve tüm mediastinal tümörlerin %0.5'inden daha azını oluştururlar (1). Erişkinde mediastende genellikle kavernöz tip

hemanjiom görülür (2). Kavernöz hemanjiomlar anterior veya posterior mediastende lokalize olabilirler. En sık lokalize olduğu yer anterior mediastendir. Yamazaki ve ark. (3), Japonya'da son 50 yılda 51 mediastinal hemanjioma vakası bildirilmişler.

Mediastinal hemanjiomlarda en sık dispne, öksürük ve göğüs ağrısı semptomları görülürken olgumuzda olduğu gibi asemptomatik de olabilirler. Hemanjiomlarda genel olarak tedavi yöntemleri; gözlem ve spontan iyileşmeyi beklemek, steroid, sklerozan ajan enjeksiyonu veya krioterapi ile lezyonun destrükte edilmesi ve cerrahi eksizyondur. Mediastinal hemanjiomlarda ise genellikle büyük boyutlara ulaşip bası semptomları oluşturması nedeniyle takip uygun değildir. Ayrıca solid büyüme paterni, büyük boyutlara ulaşması ve infiltratif büyüme şekli nedeniyle malignite ile karıştırılabilir. Mediastinal hemanjioma genellikle bası semptomları ile bulgu veren benign tümörlerdir ve seçkin tedavi yöntemi cerrahi eksizyondur. Literatüre bakıldığında nadir görülen ve büyük boyutlara ulaşan mediastinal hemanjiomlar, olgumuzda da olduğu gibi cerrahi olarak eksize edilmiştir.

### Kaynaklar

1. Cohen AJ, Sbaschnig RJ, Hochholzer L, Lough FC, Albus RA. Mediastinal hemangiomas. Ann Thorac Surg 1987;43(6):656-9.
2. Moran CE, Suster S. Mediastinal hemangioma: A study of 18 case s with emphasis on the spectrum of morphological features. Human Pathol 1995;26(4):416-21.
3. Yamazaki A, Miyamoto H, Saito Y, Matsuzawa H, Sakao Y, Anami Y. Cavernous hemangioma of the anterior mediastinum: Case report and 50-year review of Japanese cases. Jpn J Thorac Cardiovasc Surg 2006;54(5):221-4.

**Teikoplaninin indüklediği nöbet**

## Teikoplanin induced seizure

Bayram Yeşil

Mustafa Kaplan

Orhan Coşkun

Volkan Gökbulut

Ferhat Bacaksız

Erkin Öztaş

Ertuğrul Kayaçetin

Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Gastroenteroloji Kliniği, Ankara, Türkiye

**Öz**

Elli altı yaşında erkek hasta karaciğer nakli sonrası anastomoz darlığı ve kolanjit tanısı ile kliniğimize başvurdu. Hastaya perkütan transhepatik kolanjiografi (PTK) yapıldı. Kolanjit tanısı ile imipenem başlandı. Ancak ateş ve beyaz küre değerinde yükseklik olması üzerine imipenem tedavisinin 10. gününde teikoplanin eklendi. İlaç başladıktan bir gün sonra tonik klonik epileptik nöbetleri oldu. Kranial bilgisayarlı tomografi (BT), elektroensefalografi (EEG) ve kranial magnetik rezonans görüntüleme (MRG) çekildi. Sadece MRG'de kronik iskemik değişiklikler saptandı. Laboratuvar analizinde kan sodyum 124 mEq/L saptanan hastaya replasman tedavisi yapıldı. Hastaya levetiracetam başlandı. Epileptik atakları tekrarlayan hastada metabolik asidoz gelişti ve entübe edildi. Teikoplanin verilmesinden hemen sonra başlaması ve diğer etiyolojik faktörlerin dışlanması nedeniyle nöbetlerin teikoplanine bağlı olabileceği düşünüldü ve hastanın ilacı kesildi. İlaç kesilmesi sonrası nöbetler kesildi. Ancak ventilatöre bağlı pnömoni gelişen hasta exitus oldu. Enfekte ve teikoplanin alan bir hastada nöbet varlığında ilaca bağlı nöbet akılda tutulmalıdır.

**Anahtar Sözcükler:** Epilepsi, metisilin dirençli *staphylococcus aureus* (MRSA), teikoplanin.

**Abstract**

Fifty six years old male patient admitted to our clinic with cholangitis due to anastomosis stricture after liver transplantation. Percutaneous transhepatic cholangiography (PTK) was performed and imipenem was started. Teicoplanin was added to treatment at 10th day because of fever and elevated WBC. Tonic clonic epileptic seizures was developed 1 day after the teicoplanin was started. Cranial CT, MRI and EEG is performed. Only chronic ischemic changes was seen in MRI. At laboratory analysis, serum sodium level was 124 mEq/L and was corrected. Levetiracetam was started. The patient was intubated because of metabolic acidosis due to repeated epileptic seizures. Because of seizures started after teikoplanin and that we could not find any etiologic factor, we thought that seizure was induced by teicoplanin. The drug was stopped and seizures ended. But the patient died due to ventilator associated pneumonia. Teicoplanin induced seizure must be kept in mind in infected patients with seizures.

**Keywords:** Epilepsy, meticilline resistant *staphylococcus aureus* (MRSA), teicoplanin.

**Giriş**

Epileptik nöbet, beyin disfonksiyonu sonucu ortaya çıkan ani bir davranış değişikliği olarak tanımlanabilir ve nöbetler serebral kortekste nöronal ağların elektriksel aşırı aktivitesinden kaynaklanır, etiyolojide ilaçlarında içinde bulunduğu birçok faktör yer almaktadır. Teikoplanin metisilin dirençli *staphylococcus aureus* (MRSA) ve *enterococcus faecalis* dahil gram-pozitif bakterilere bağlı ciddi enfeksiyonların tedavi ve profilaksisinde kullanılan, vankomisine benzer spektrumda semisentetik glikopeptid antibiyotiktir.

Bakteriyel hücre duvarının sentezinin inhibe ederek etki gösterir. Literatürde farelerde teikoplanine bağlı nöbet gelişebileceğini gösteren çalışmalar bulunmasına rağmen (1-3), insanda teikoplaninin indüklediği nöbet vakası bulunmamaktadır. Bu çalışmada, karaciğer nakli sonrası anastomoz darlığı ve takipte kolanjit gelişen bir hastada teikoplanin başlanmasını takiben nöbet gelişen bir olguyu sunuyoruz.

**Olgu Sunumu**

Bir buçuk yıl önce kriptojenik karaciğer sirozu nedeniyle karaciğer nakli yapılan 56 yaşında erkek hasta sarılık ve karın ağrısı şikayeti ile dış merkezde acil servise başvurmuş. Hastanın laboratuvar değerlerinde karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik olması üzerine abdominal ultrasonografi çekilmiş. Safra yollarında genişleme tespit edilen hastada anastomoz darlığı düşünülerek

Yazışma Adresi: Bayram Yeşil

Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Gastroenteroloji Kliniği, Ankara, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 16.01.2017 Kabul Tarihi: 02.02.2017

endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi (ERCP) yapılması kararı alınmış ancak yapılamadığından perkütan transhepatik kolonjiografi (PTK) için tarafımıza yönlendirilmiş. Laboratuvar değerlerinde beyaz küre sayısı  $5.9 \times 10^3/uL$ , C-reaktif protein (CRP) 78 mg/L, aspartat aminotrasferaz (AST) 17 U/L, alanin transaminaz (ALT) 12 U/L, alkalen fosfataz (ALP) 264 U/L, gamaglutamil transferaz (GGT) 90 U/L, total bilirubin 3mg/dL, direkt bilirubin 2 mg/dL ve kronik karaciğer yetmezliğine bağlı serum sodyum değeri 126 mEq/L saptandı. Fizik muayenede sağ üst kadranda hassasiyet mevcuttu. Hastanemizde hastaya perkütan işlem yapılarak drenaj sağlandı. Kolanjiti olan hastaya imipenem 4x500 mg tedavisi verildi. Karaciğer nakli nedeniyle tacrolimus 2 mg ve ursodeoksikolik asit 1 g alan hastanın tedavisine devam edildi. İzleminde bilirubin değerleri geriledi ancak ateşi ve beyaz küre değerlerinde yükseklik olması üzerine imipenem tedavisinin 10. gününde tedavisine teikoplanin 2x400 mg yükleme dozunu takiben 1x400 mg eklendi. Bilinen epilepsi hikayesi olmayan hastada ilaç başlandıktan bir gün sonra tonik klonik epileptik nöbetleri oldu. 5 mg diazepam ile nöbeti yatıştı. Nöroloji uzmanının önerisi ile kranial bilgisayarlı tomografi (BT) çekildi. Akut patoloji saptanmadı. Elektrolit bozukluğu için kan değerlerine bakıldı. Siroza bağlı kronik hiponatremik olan hastanın kan sodyum değeri 124 mEq/L bulundu ve akut hiponatremiyi dışlamak için replasman tedavisi yapıldı. Diğer elektrolitleri normaldi. Ayrıca nöroloji uzmanı tarafından levetiracetam 500 mg 2x1 başlandı. Ancak nöbetlerin devam etmesi üzerine elektroensefalografi (EEG) ve kranial magnetik rezonans görüntüleme (MRG) çekildi. EEG normal saptandı. MRG'de ise kronik iskemik değişiklikler saptandı. Sürekli epileptik atakları olan hastada metabolik asidoz gelişti. Levetiracetam

dozu artırılmasına rağmen nöbetleri devam eden hasta metabolik asidozu nedeniyle entübe edildi. Hastanın nöbetlerinin teikoplanin hemen başlanmasından sonra başlaması ve diğer etiyolojik faktörlerin dışlanması nedeniyle nöbetlerin teikoplanine bağlı olabileceği düşünüldü ve ilacı sonlandırıldı. İlaç kesilmesi sonrası nöbetler kesildi. Ancak takipte pnömonisi gelişen hasta exitus oldu.

Hastadan tıbbi verilerinin yayınlanabileceğine ilişkin yazılı onam belgesi alındı.

### Tartışma

Epileptik nöbet, beyin disfonksiyonu sonucu ortaya çıkan ani bir davranış değişikliği olarak tanımlanabilir ve nöbetler serebral kortekste nöronal ağların elektriksel aşırı aktivitesinden kaynaklanır (4). Epilepsi öyküsü olmayan hastalar sıklıkla akut tıbbi veya nörolojik hastalık veya yaralanma (inme, travmatik beyin hasarı, menenjit, anoksik ensefalopati, vb.) ortaya çıkması durumunda nöbet geçirirler (5). Nöbetler birçok ilacın yan etkisi olarak da meydana gelebilir. Yeni ortaya çıkmış nöbetlerin % 6'sının ve status epileptikus vakalarının % 9'unun ilaçlara ait yan etki olarak ortaya çıktığı tahmin edilmektedir (6). Teikoplanin bir glikopeptid antibiyotiktir ve etki mekanizması ve antibakteriyel spektrumunda vankomisine çok benzemektedir. Başta MRSA olmak üzere gram pozitif bakteriyel enfeksiyonda sıklıkla kullanılmaktadır. Bilinen yan etkileri hepatotoksisite, nefrotoksisite, iştih kaybı, agranülositoz olmakla birlikte, intraventriküler uygulamada da nöbet gelişebileceği belirtilmiştir (1,2). Ancak iv uygulama sonrası nöbet gelişimini ilk kez biz bildiriyoruz. Septik ve enfekte ve teikoplanin alan bir hastada nöbet varlığında ilaca bağlı nöbet akılda tutulmalı ve ilaç hemen kesilmelidir.

### Kaynaklar

1. Takechi K, Fujiwara A, Watanabe Y, Kamei C. Participation of GABA-ergic system in epileptogenic activity induced by teicoplanin in mice. *Epilepsy Res* 2009;84(2-3):127-34.
2. Takechi K, Ishikawa T, Kamei C. Epileptogenic activity induced by teicoplanin and effects of some antiepileptics in mice. *J Pharmacol Sci* 2008;107(4):428-33.
3. Rahman MA, Ago J, Matsumoto N, Ishikawa T, Kamei C. Epileptogenic activity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) antibiotics in rats. *Bio and Pharm Bul* 2006;29(10):2035-40.
4. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, et al. ILAE official report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia* 2014;55(4):475-82.
5. Beghi E, Carpio A, Forsgren L, et al. Recommendation for a definition of acute symptomatic seizure. *Epilepsia* 2010;51(4):671-5.
6. Pesola GR, Avasarala J. Bupropion seizure proportion among new-onset generalized seizures and drug related seizures presenting to an emergency department. *J Emerg Med* 2002;22(3):235-9.



## ANAHTAR SÖZCÜKLER DİZİNİ

- Deneyim, komplikasyon, laparoskopi, öğrenme eğrisi, 1  
Hematopoetik kök hücre mobilizasyonu, lenfoma, yetersiz mobilizasyon, risk faktörleri, 6  
Pediatrik, magnetik rezonans görüntüleme, magnetizasyon transfer, 11  
Biyostatistik dersi, dış hekimliği, lisans eğitimi, 17  
Sağlık hizmeti, yaşam kalitesi, kas-iskelet sorunları, 24  
Kontakt lens, sert gaz geçirgen kontakt lens, keratokonus, 29  
Lafora hastalığı, progresif miyoklonik epilepsi, 34  
Anjiyomiyolipom, adölesan dönemdeki renovasküler hipertansiyon, böbrek tümörleri, 37  
Charcot-Marie-Tooth hastalığı, herediter nöropati, 40  
Antifosfolipid antikor, adrenal yetmezlik, adrenal hemoraji, 43  
Uterus unikornis, rudimenter horn, akut batın, dismenore, mülleryan anomali, endometriozis, 46  
Verrusiform ksantom, ksantom, verrüköz karsinom, skrotum, 49  
Pelvik yetmezlik kırığı, radyoterapi, 52  
Ağır aplastik anemi, allojeneik kök hücre nakli, sağkalım, graft versus host hastalığı, graft yetmezliği, 57  
Diferansiye tiroid kanserleri, prognostik faktörler, cinsiyet, 62  
Karotis plak, plak dansitesi, BT anjiyografi, 66  
Demir eksikliği anemisi, tiroid hormonu, çocuk, 72  
Tirozin kinaz inhibisyonu, diyabetes mellitus, testis, deneysel çalışma, 77  
Bariatrik cerrahi, obezite, sleeve gastrektomi, 82  
Jüvenil miyastenia gravis, ptozis, strabismus, oftalmopleji, 86  
Ailevi hiperkolesterolemi, lipoprotein aferezi, LDL-kolesterol, ksantom, 88  
Medulloblastom, pontoserebellar açığı, ekstraaksiyel, 91  
Tiroglossal duktus kisti, tiroglossal kanal, papiller karsinom, 93  
Duloksetin, hiponatremi, genç erkek hasta, somatik semptomlar, 96  
Akçaağaç şurubu idrar hastalığı, yenidoğan, yönetim, 99  
Simetrik ve asimetrik hücre bölünmesi, polarite, motilite, hücre iskeleti, 102  
Mukopolisakkaridoz, Morquio sendromu, spinal, manyetik rezonans görüntüleme, 111  
Tiroid karsinomu, papiller tiroid karsinomu karsinom, folliküler variant, Doppler, 115  
Siyatik sinir hasarı, elektromiyografi, 124  
Migren, sosyodemografik özellikler, klinik özellikler, Ağrı, 128  
Folik asit, meningomyelose, nöral tüp defekti, yenidoğan, 135  
Konjenital yüksekte scapula, Woodward prosedürü, Sprengel deformitesi, 140  
Yapıştırıcı koklama, aritmi, atriyal flutter, genç, 145  
Miyazis, enfestasyon, hastane kaynaklı, açık yara, 148  
Rabdomyoliz, zehirlenme, çocuk, özkıyım, 151  
Sertoli hücreli adenom, androjen duyarsızlık sendromu, 154  
Pirinç tanesi cisimcikleri, omuz, subakromiyal bursa, 157  
Multipl endokrin neoplazi tip 2B, medüller tiroid karsinomu, 160  
Kalsifikasyon, bilgisayarlı tomografi, troklear aparat, orbita, 163  
Larinks ve akciğer malignitesi, trakeostomi, entübasyon güçlüğü, 168  
Gestasyonel diyabetes mellitus, HOMA-IR, hs-CRP, osteopontin, 173  
Candida, biyofilm, XTT, C.tropicalis, 178  
Elajik asit, meme kanseri kök hücreleri, miRNA, apoptoz, 183  
Diyabetes mellitus, erektil disfonksiyon, IIEF-5 anketi, penis Doppler US, 193  
Spinal aksesuar sinir, elektromiyografi, ultrasonografi, 200

Hiperoksalüri, nefrolitiazis, nefrokalsinozis, 203

Amip, infant, sosyoekonomik düzey, 206

Rotator manşet rüptürü, osteokondrom, omuz, akromion, 209

Kavernöz hemanjiom, mediasten, 212

Epilepsi, metisilin dirençli staphylococcus aureus (MRSA), teikoplanin, 215

---

**KEYWORDS INDEX**

---

Experience, complication, laparoscopy, learning curve, 1  
Hematopoietic stem cell mobilization, lymphoma, poor mobilization, risk factors, 6  
Pediatric, magnetic resonance imaging, magnetization transfer, 11  
Biostatistics course, dentistry, undergraduate education, 17  
Healthcare, musculoskeletal disorders, quality of life, 24  
Contact lens, rigid gas permeable contact lens, keratoconus, 29  
Lafora disease, progressive myoclonic epilepsy, 34  
Angiomyolipoma, renovascular hypertension in adolescence, renal neoplasms, 37  
Charcot-Marie-Tooth disease, hereditary neuropathy, 40  
Antiphospholipid antibody, adrenal insufficiency, adrenal hemorrhage, 43  
Unicornuate uterus, rudimentary horn, acute abdomen, dysmenorrhea, Müllerian anomaly, endometriosis, 46  
Verruciform xanthoma, xanthoma, verrucous carcinoma, scrotum, 49  
Pelvic insufficiency fracture, radiotherapy, 52  
Severe aplastic anemia, allogeneic stem cell transplantation, survival, graft versus host disease, graft failure, 57  
Differentiated thyroid cancer, prognostic factors, gender, 62  
Carotid plaque, plaque density, CT angiography, 66  
Iron deficiency anemia, thyroid hormone, child, 72  
Tyrosine kinase inhibition, diabetes mellitus, testis, experimental study, 77  
Bariatric surgery, obesity, sleeve gastrectomy, 82  
Juvenile myasthenia gravis, ptosis, strabismus, ophthalmoplegia, 86  
Familial Hypercholesterolemia, lipoprotein apheresis, LDL-cholesterol, xanthoma, 88  
Medullablastoma, pontocerebellar angle, extraaxial, 91  
Thyroglossal duct cyst, thyroglossal duct, papillary carcinoma, 93  
Duloxetine, hyponatremia, young male patient, somatic symptoms, 96  
Maple syrup urine disease, newborn, management, 99  
Symmetric and asymmetric cell division, polarity, motility, cell skeleton, 102  
Mucopolysaccharidosis, Morquio syndrome, spinal, magnetic resonance imaging, 111  
Thyroid carcinoma, papillary thyroid carcinoma, follicular variant, Doppler, 115  
Sciatic nerve injury, electromyography, 124  
Migraine, sociodemographic features, clinic features, Ağrı, 128  
Folic acid, meningomyelocele, neural tube defect, neonate, 135  
Congenital high scapula, Woodward procedure, Sprengel's deformity, 140  
Glue sniffing, arrhythmia, atrial flutter, adolescent, 145  
Myiasis, infestation, hospital acquired, open wound, 148  
Rhabdomyolysis, poisoning, pediatric, suicide, 151  
Sertoli cell adenoma, androgen insensitivity syndrome, 154  
Rice bodies, shoulder, subacromial bursa, 157  
Multiple endocrine neoplasia type 2B, meduller thyroid carcinoma, 160  
Calcification, computed tomography, trochlear apparatus, orbit, 163  
Larynx and pulmonary malignancy, tracheostomy, intubation difficulty, 168  
Gestational diabetes mellitus, HOMA-IR, hs-CRP, osteopontin, 173  
Candida, biofilm, XTT, *C.tropicalis*, 178  
Ellagic acid, breast cancer stem cells, miRNAs, apoptosis, 183  
Diabetes mellitus, erectile dysfunction, IIEF-5 questionnaire, penile Doppler US, 193  
Spinal accessory nerve, electromyography ultrasonography, 200

Hyperoxaluria, nephrolithiasis, nephrocalcinosis, 203

Amebiasis, infant, socioeconomical level, 206.

Rotator cuff rupture, osteochondroma, shoulder, acromion, 209

Cavernous hemangioma, mediastinum, 212

Epilepsy, methicillin resistant staphylococcus aureus (MRSA), teicoplanin, 215



**YAZAR DİZİNİ  
(AUTHOR INDEX)**

- Açıkgöz Eda, 77  
Adalı Yasemen, 34  
Adalı Yasemin, 102  
Akarca Funda Karbek, 96  
Akçam Tevfik İlker, 168  
Akıncı Orhan, 157  
Akkuş Selami, 24  
Aksekili Hatice, 24  
Aksu Kenan, 43  
Aktuğ Hüseyin, 102  
Aktuğ Hüseyin, 77  
Akyıldız Mehmet Mahir, 115  
Akyıldız Muhittin, 173  
Alanyalı Senem, 52  
Alioğlu Bülent, 72  
Alkan Berat Meryem, 24  
Allahverdi Tülay Diken, 82  
Almuradova Elvina, 160  
Alpay Hayrettin Cengiz, 93  
Altınbaş Namık Kemal, 193  
Anuk Turgut, 82  
Ardıçoğlu Özge, 24  
Argın Mehmet, 203  
Argın Mehmet, 52  
Aslan Aslı, 206  
Aslan Cihan, 209  
Atalay Sevgi, 24  
Atamaz Funda Çalı, 52  
Atasoy Tülay Öztürk, 203  
Avşar Fatih, 82  
Aydın Elçin, 11  
Aydın Elçin, 111  
Aydın Elçin, 203  
Aygıt Ebru Demet, 40  
Aygıt Ebru Demet, 86  
Azar Ramazan, 148  
Bacaksız Ferhat, 215  
Bahadır Burak, 91  
Bahçeci Mithat, 62  
Başataç Cem, 1  
Baştu Ercan, 46  
Bayraktar Selen, 88  
Bozabalı Sibel, 145  
Bozan Aykut, 93  
Bozkaya Halil, 66  
Bozkurt Sinem, 24  
Bulut Tuğrul, 209  
Bülbül Erdoğan, 163  
Can Levent, 88  
Canda Ebru, 111  
Cengiz Hakan, 173  
Conkar Seçil, 37  
Coşkun Orhan, 215  
Çağlar Hasan Onur, 183  
Çakan Alpaslan, 168  
Çakıcı Aytül, 200  
Çakıcı Fatma Aytül, 124  
Çakır İhsan, 86  
Çakmur Hülya, 82  
Çallı Cem, 111  
Çetinkalp Şevki, 160  
Çetinkalp Şevki, 43  
Çınar Celal, 66  
Çiçek Mehmet Çağatay, 1  
Çoker Mahmut, 111  
Çoker Mahmut, 88  
Çome Selen, 96  
Demir Gokhan, 29  
Demir Kenan, 77  
Demirpençe Mustafa, 62  
Demirpolat Gülen, 163  
Demirpolat Gülgün Kavukçu, 115  
Dönmez Ayhan, 6  
Dural Özlem, 46  
Duran Özge, 52  
Ehi Yusuf, 34  
Eraslan Cenk, 11  
Eraslan Cenk, 111  
Erdoğan Mehmet, 160  
Erdoğan Mehmet, 43  
Ergönül Ayşe Gül, 168  
Eroğlu Ümit, 91  
Erol Yeliz, 212  
Ersoy Esen, 17  
Ertan Cem, 96  
Ertan Tamer, 148  
Ertan Yeşim, 115  
Ertürk Biray, 183  
Fidan Fatma, 24  
Gergerlioglu Nursadan, 154  
Gezgin İnan, 34  
Göde Sercan, 93  
Gökbulut Volkan, 215  
Gökçe Şule, 206  
Gökyiğit Birsan, 86  
Görgel Ahmet, 62  
Güler Ayşe, 66  
Günay Hüseyin, 140  
Gündüz Cumhuriyet, 183  
Gürçay Eda, 124  
Gürçay Eda, 200  
Gürel Çevik, 102  
Gürsoy Soner, 212  
Hamidi Nurullah, 193  
Haydaroğlu Ayfer, 183  
Hüseyinoğlu Ürfettin, 34  
İnal Zeynep Ozturk, 154  
İçöz Recep Gökhan, 115  
İnal Aslı, 40  
İnal Aslı, 86  
İnci Ramazan, 178

Kale Yusuf, 99  
Kaplan Mustafa, 215  
Karaahmet Özgür Zeliha, 124  
Karaahmet Özgür Zeliha, 200  
Karabulut Gamze Öztürk, 86  
Karacan Can Demir, 151  
Karanis Meryem Ilkay, 154  
Karaoğlu Ece, 99  
Karatas Gonul, 29  
Karslı Pınar Bora, 124  
Kasap Esin, 173  
Kavaklı Şebnem, 183  
Kavurmacı Önder, 168  
Kayaçetin Ertuğrul, 215  
Kayıkçioğlu Meral, 88  
Keçeci Burçin, 52  
Kılıç Kubilay Doğan, 102  
Kitiş Ömer, 111  
Kocabaş Gökçen Ünal, 43  
Korhan Esra Akın, 162  
Korkmaz Tanzer, 96  
Koturoğlu Güldane, 206  
Köksal Neşet, 82  
Kucukosmanoglu Ilknur, 154  
Kurugöl Zafer, 206  
Kuşçu Gökçe Ceren, 102  
Kutbay Nilüfer Özdemir, 43  
Küçük Levent, 140  
Levent Erturk, 145  
Makay Özer, 115  
Merih Tepeoğlu, 49  
Mir Sevgi, 37  
Nart Deniz, 115  
Ocak Osman Bulut, 40  
Ocak Osman Bulut, 86  
Oğuz Sinan, 151  
Ok Atılğan Alev, 49  
Okçu Aylin Heper, 91  
Oltulu Fatih, 77  
Oran İsmail, 66  
Oruç Ayşe Uysal, 57  
Ozcelik Ferah, 29  
Öktem Gülperi, 77  
Özbek Süha Süreyya, 115  
Özcanyüz Burç, 140  
Özdedeli Kaan, 77  
Özdemir B. Handan, 49  
Özdemir Halil İbrahim, 66  
Özdemir Nail, 135  
Özdemir Senem Alkan, 135  
Özdil Ali, 168  
Özdil Berrin, 102  
Özer Esra Arun, 135  
Özgen Ahmet Gökhan, 160  
Özgen Gökhan, 43  
Özgürül Onur, 91  
Özışık Hatice, 43  
Özkardeş Hakan, 49  
Özkınay Ferda, 183  
Özlece Hatice Köse, 34  
Öztaş Erkin, 215  
Öztürk Tülay, 115  
Özyurek Arif Ruhi, 145  
Polat Ayşe, 93  
Saklamaz Ali, 173  
Saracoglu Basak, 29  
Sarıgöz Talha, 148  
Saygılı Füsün, 160  
Saygılı Füsün, 43  
Serçe Azize, 200  
Sevim Yusuf, 148  
Soyer Nur, 57  
Sözeri Betül, 37  
Suner Aslı, 17  
Sülü Barlas, 82  
Süslüer Sunda Yılmaz, 183  
Şener Muhittin, 209  
Şener Nuri, 11  
Şimşir Ilgın Yıldırım, 160  
Şirin Tuba Cerrahoğlu, 128  
Tahta Mesut, 209  
Taskapili Muhittin, 29  
Tombuloglu Murat, 6  
Tombuloğlu Murat, 57  
Topuz Ömer, 148  
Topuz Samet, 46  
Tosun Aliye, 24  
Tuna Hakan, 91  
Tunçyürek Müge, 115  
Turhan Kutsal, 168  
Tuygun Nilden, 151  
Tütüncüoğlu Pelin, 62  
Tüzüner Uğur, 178  
Uçar Sema Kalkan, 111  
Uğurlu Gülçin, 24  
Uğurlucan Funda Güngör, 46  
Ulger Zulal, 145  
Uysal Ayşegül, 77  
Üçvet Ahmet, 212  
Ünlü Ece, 124  
Ünlü Ece, 200  
Üstün Çağatay, 162  
Veral Ali, 115  
Vural Filiz, 57  
Yağcı Cemil, 193  
Yağcı Tarık, 212  
Yalaki Zahide, 72  
Yanık Bahar, 163  
Yaşa Cenk, 46  
Yavaşoğlu Altuğ, 77  
Yazarlı Esra, 72  
Yazıcı Alper, 163  
Yazıcı Havva, 111  
Yeşil Bayram, 215  
Yılmaz Akçay Eda, 49  
Yılmaz Asu Fergün, 6  
Yılmaz Hamiyet, 62  
Yiğittürk Gürkan, 77  
Yılmaz İhsan, 29  
Yürekli Banu Şarer, 43  
Yüzbaş Pelin, 11  
Zengin Eyüp Çağatay, 209

## 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.

Ege Tıp Dergisi, makalelerin Atıf-Gayri Ticari-Aynı Lisansla Paylaş 4.0 Uluslararası (CC BY-NC-SA 4.0) lisansına uygun bir şekilde paylaşılmasına izin verir.

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.

Dergiye gönderilen tüm yazılar iThenticate programı ile taranır. Editör ya da Yayın Kurulu Üyesi, yayın koşullarına uymayan yazıları yayınlamamak, düzeltmek üzere yazar(lar)ı geri göndermek, biçimce düzenlemek veya reddetmek yetkisine sahiptir. Editör ya da Yayın Kurulu Üyesi, uygun gördüğü yazıyı incelenmek üzere danışman(lar)ı gönderir. Gerekli olduğu durumlarda, yazar(lar)dan düzeltme istenebilir. Yazardan düzeltme istenmesi, yazının yayımlanacağı anlamına gelmez. Bu düzeltmelerin en geç 21 gün içinde tamamlanıp dergiye 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)ı ait olup Editör ve Yayın Kurulu üyelerinin 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](http://www.tdk.gov.tr)), teknik terimler için Türk Tıp Terminolojisinden ([www.tipterimleri.com](http://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. Gerekirse 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 ve Yayın Kurulu üyelerinin 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."*

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](http://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 basılamadığından, "*Hastadan (ya da yasal vasisinden) tıbbi verilerinin yayınlanabileceğine 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](http://www.egetipdergisi.com.tr) adresine gönderilir.

*Örijinal 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 bölümden oluşmalı, 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](http://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, 2<sup>nd</sup> 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](http://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](http://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](mailto:editor@egetipdergisi.com.tr)

Web adresi : [www.egetipdergisi.com.tr](http://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.

Ege Journal of Medicine enables the sharing of articles according to the Attribution-NonCommercial-Share Alike 4.0 International (CC BY-NC-SA 4.0) license.

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 new submissions to Ege Journal of Medicine are screened using iThenticate plagiarism checker software. The 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, Editor or Editorial Board members send 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 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 Editor or Editorial Board members 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](http://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](http://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](http://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:

- Submissions should be doubled-spaced and typed in Arial 10 points.
- All pages should be numbered consecutively in the top right-hand corner, beginning with the title page.
- The title page should not include the names and institutions of the authors.
- 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](http://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](http://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](http://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](mailto:editor@egetipdergisi.com.tr)

Website : [www.egetipdergisi.com.tr](http://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](http://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. Gerekirse 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 ve Yayın Kurulu üyelerinin 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	Tarih	ORCID ID*	İmza
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				

\*Tüm yazarların, ORCID (Open Researcher and Contributor ID) bilgisi eklenmelidir. Bu numara <http://orcid.org> adresinden ücretsiz edinilebilir.





**EGE JOURNAL OF MEDICINE  
COPYRIGHT TRANSFER FORM**

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

Corresponding author's;

Name, surname:		
Address:		
Phone:	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 Editor or Editorial Board members, 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 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	Date	ORCID ID*	Signature
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				

\*All the authors should add ORCID (Open Researcher and Contributor ID) information. This 16-digit number can be taken freely from <http://orcid.org>.

