

**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: 61

Sayı / Issue: 2

Haziran / June 2022

Sayfa / Pages: 133-309

**Baş Editör / Editor-in-Chief**

Okan BİLGE - Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı / Dept. of Anatomy, İzmir, Türkiye

**Editörler / Editors**

Ayşegül AKGÜN - Nükleer Tıp Anabilim Dalı / Dept. of Nuclear Medicine, İzmir, Türkiye

Raika DURUSOY - Halk Sağlığı Anabilim Dalı / Dept. of Public Health, İzmir, Türkiye

Yusuf ÖZBEL - Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı / Dept. of Medical Parasitology, İzmir, Türkiye

Gülgün KAVUKÇU - Radyodiagnostik Anabilim Dalı / Dept. of Radiodiagnostics, İzmir, Türkiye

Yiğit UYANIKGİL - Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı / Dept. of Histology and Embryology, İzmir, Türkiye

Pervin KORKMAZ EKREN - Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı / Dept. of Chest Diseases, İzmir, Türkiye

İlkbek GÜNÜŞEN - Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı / Dept. of Anesthesiology and Reanimation, İzmir, Türkiye

Ahmet Özgür YENİEL - Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı / Dept. of Obstetrics and Gynecology, İzmir, Türkiye

**Biyoistatistik Uzmanları / Biostatisticians**

Timur KÖSE - Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı / Ege University Faculty of Medicine, Department of Biostatistics and Medical Informatics, İzmir, Türkiye

Mehmet N. ORMAN - Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı / Ege University Faculty of Medicine, Department of Biostatistics and Medical Informatics, İzmir, Türkiye

**Bilimsel Danışma Kurulu / Scientific Advisory Board**

**Andy J. Francis**  
Hershey, USA

**Mark J. Sedler**  
New York, USA

**Sherif A. M. Shazly**  
Assiut, Egypt

**Ala-Eddin Al Moustafa**  
Doha, Qatar

**Marija Milic**  
Priština, Kosova

**Siva Santosh Kumar Pentapati**  
Bhubaneswar, India.

**Alp Can**  
Ankara, Türkiye

**Mehmet Turgut**  
Aydın, Türkiye

**Susana Biasutto**  
Cordoba, Argentina

**Ammad Ahmad Farooqi**  
Lahore, Pakistan

**Metin Özdemirli**  
Washington D.C, USA

**Şükrü Emre**  
Izmir, Türkiye

**Bülent Özpolat**  
Texas, USA

**Mustafa Çıkkırıkçioğlu**  
Geneva, Switzerland

**Tarik Tihan**  
California, USA

**Eduardo Weruaga Prieto**  
Salamanca, Spain

**Natasa Katanic**  
Belgrade, Serbia

**Theodore G. Troupis**  
Athens, Greece

**Fahri Şahin**  
Izmir, Türkiye

**Ioannis Koutelidakis**  
Thessaloniki, Greece

**Ulvi Bayraktutan**  
Nottingham, UK

**Hossein Samadi Kafil**  
Tabriz, Iran

**Özer Makay**  
Izmir, Türkiye

**Ümit Ali Kayışlı**  
Tampa Florida, USA

**J. Patrick Barbet**  
Paris, France

**Reza Rahbarghazi**  
Tabriz, Iran

**Utku Yavuz**  
Göttingen, Germany

**Jose A. Karam**  
Texas, USA

**Serap Arbak**  
Istanbul, Türkiye

**Valeri Zakhartchenko**  
Munche, Germany

**Juzar Ali**  
New Orleans, USA

**Sergii Cherenko**  
Kyiv, Ukraine

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Hülya SEZGİN, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayın Bürosu, Bornova 35100, İzmir, Türkiye

**Telefon / Phone** : +90 232 390 31 03

**E-posta / E-mail** : egedergisi35@gmail.com

**Web adresi / URL** : www.egetipdergisi.com.tr / www.dergipark.gov.tr/etd

T.C. Kültür ve Turizm Bakanlığı / *Republic of Turkey Ministry of Culture and Tourism*  
Sertifika / *Certificate* No. 52149

**Basım / Press**


Ege Üniversitesi Basım ve Yayınevi  
Merkez Kampüs Bornova -İzmir  
Tel: 0 232 342 12 52  
E-posta: [basimveyayinevisbm@mail.ege.edu.tr](mailto:basimveyayinevisbm@mail.ege.edu.tr)


**Basım Tarihi / Date of Press**

30.06.2022

Yıllık abone creti 100 TL, tek sayı bedeli 25 TL'dir.  
*The annual subscription fee is 100 TL, the single issue fee is 25 TL.*

Abone ve tek sayı istekleri için [egedergisi35@gmail.com](mailto:egedergisi35@gmail.com) adresine mesaj gönderebilir ya da  
0 (232) 3903103 / 0 (232) 3903186 numaralı telefonları arayabilirsiniz.  
*For annual subscription or single issue requests, you may mail to [egedergisi35@gmail.com](mailto:egedergisi35@gmail.com) or  
you may call +902323903103 / +902323903186*

Bu sayıda yer alan tm 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 ARTICLES

**Kan kültüründe bakterilerin hızlı tanısı ve duyarlılıklarının saptanması***Rapid diagnosis of bacteria and determination of sensitivity in blood culture*

Münevver Kayın Dinç      Volkan Özenci      Sabire Şöhret Aydemir      133

**Evaluation of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 RNA in tear specimens of hospitalised patients with confirmed novel Coronavirus disease 2019***Hastanede yatan yeni Coronavirus 2019 hastalarının gözyaşı örneklerinde Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 RNA'larının değerlendirilmesi*Nilüfer Zorlutuna Kaymak      Gizem Doğan Gökçe  
Mehmet Engin Tezcan      Serap Demir Tekol      139**The predictive role of preoperative full blood count markers and the De-Ritis ratio in the diagnosis of testicular tumor***Preoperatif tam kan sayımı belirteçleri ve De-Ritis oranının testis tümörünün tanısındaki prediktif yeri*Hakan Bahadır Haberal      Kubilay Sarıkaya      Fahri Erkan Sadioğlu  
Muhammed Arif İbiş      Çağrı Şenocak      Ömer Faruk Bozkurt      145**Applicability of endoscopic submucosal dissection after unsuccessful endoscopic mucosal resection in colorectal laterally spreading tumors: a single center experience***Kolorektal lateral yayımlı tümörlerde başarısız endoskopik mukozal rezeksiyon sonrası endoskopik submukozal diseksiyonun uygulanabilirliği: tek merkez deneyimi*

Abdullah Murat Buyruk      Ayten Livaoğlu      Aydın Aktaş      151

**Nüks gelişen vulvar skuamöz hücreli kanser hastalarında prognostik faktörler ve nüksün toplam sağ kalıma etkisi***Prognostic factors in patients with recurrent squamous cell carcinoma of the vulva and the influence of recurrence to the overall survival*

Fatih Dinçer      Gülşah Selvi Demirtaş      Mehmet Gökçü      Muzaffer Sancı      159

**The effect of demographic features on survival in patients with gastric cancer***Mide kanserli hastaların demografik özelliklerinin sağ kalıma etkisi*

Andaç Karadeniz      Mehmet Bilici      Melih Şimşek      166

**Literature analysis with four years of experience in the burn unit***Yanık ünitesinde dört yıllık tecrübe ile literatür analizi*

Ahmet Hikmet Şahin      Murat Sabri Yılmaz      173

**Comparison of laparoscopic and open surgery in obese patients with endometrial cancer**

*Endometrium kanserli obez hastalarda laparoskopik ve açık cerrahinin karşılaştırılması*

Ceren Sancar Nuri Yıldırım Ahmet Bilgi Sevki Gokulu  
Levent Akman Mustafa Coşan Terek Ahmet Aydın Özaran 177

**Tubeovaryan apseli hastalarda sistemik inflamatuvar belirteçlerin medikal tedavi başarısızlığını öngörmedeki yeri**

*The role of systemic inflammatory markers in prediction of medical treatment failure in patients with tubo-ovarian abscess*

Sezin Ertürk Aksakal Huriye Güvenç Saçını Şadımın Kiykac Altınbaş  
Ömer Lütfi Tapısız Yaprak Engin-Üstün 184

**Nesofilcon A versus etafilcon A on the ocular comfort levels in patients with short non-invasive break-up time: A prospective comparative study**

*Kısa gözyaşı kırılma zamanı olan hastalarda etafilcon A ve nesofilcon A'nın oküler konfor seviyeleri açısından kıyaslanması: prospektif karşılaştırmalı çalışma*

Aysegül Penbe Raziye Dönmez Gün 192

**Does COVID-19 pandemic change hand hygiene compliance among the medical students and residents? A comparative study from a university hospital**

*COVID-19 Pandemisi tıp öğrencilerinin ve uzmanlık öğrencilerinin el hijyenine uyumunu değiştiriyor mu? Bir üniversite hastanesinden karşılaştırmalı çalışma*

Özlem Coşkun Işıl İrem Budakoğlu Yavuz Selim Kiyak 202

**Kraniyal manyetik rezonans görüntüleme istenilen olguların retrospektif özellikleri**

*Retrospective features of cases with cranial magnetic resonance imaging*

Hilal Aydın Selçuk Yazıcı Ezgi Özden Gülen Demirpolat 209

**Efficacy of metformin on protein profile in breast tumor cells by assessment in vitro and in silico analysis**

*In vitro ve in silico analizi ile metforminin meme tümörü hücrelerinde protein profili üzerindeki etkinliği*

Güven Yenmiş Nail Beşli 215

**Pediatric sudden sensorineural hearing loss: etiology, prognostic factors and treatment**

*Çocuklarda ani sensorinöral işitme kaybı: etiyoloji, prognostik faktörler ve tedavi sonuçları*

Abdulhalim Aysel Abdullah Dalğış Togay Müderris Fatih Yılmaz  
Görkem Atsal Hayal Boyacıoğlu Özgür Özdemir Şimşek Enver Altaş 225

**Ponatinib ve Türkiye'de yetişen bazı endemik bitki ekstraktlarının meme kanseri hücreleri üzerindeki etkileri**

*Combinational effects of ponatinib and some Turkish endemic plant extracts on breast cancer cells*

Çağla Kayabaşı Çığır Biray Avcı Sunde Yılmaz Süslüer Tuğçe Balcı Okcanoğlu  
Besra Özmen Yelken Cansu Çalışkan Kurt Bakiye Göker Bağca Cenk Durmuşkahya  
Hüsniye Kayalar Ahmet Özbilgin Cumhur Gündüz 232



- Fuchs heterokromik iridosiklit hastalarında kornea biyomekaniği ve kornea değerlendirilmesi**  
*Corneal biomechanics and cornea assessment in Fuchs heterochromic iridocyclitis patients*  
Semir Yarımada Cumali Değirmenci Melis Palamar  
Suzan Güven Yılmaz Halil Ateş 244
- Hepatit-B virüs ilişkili hepatosellüler karsinomda tümöral glipikan 3 mRNA seviyesinin diagnostik ve prognostik biyobelirteç olabilme potansiyelinin entegratif transkriptomik meta-analiz ve biyoinformatik ile değerlendirilmesi**  
*Evaluation of tumoral glypican 3 mRNA level as a diagnostic and prognostic biomarker for hepatitis-b virus-associated hepatocellular carcinoma by an integrative transcriptomic meta-analysis and bioinformatics*  
Sevcan Atay 249
- Miyelodisplastik sendrom hastalığında P53 polimorfizmlerinin önemi**  
*Importance of p53 gene polymorphisms in myelodysplastic syndrome disease*  
Bahar Vatansever Duygu Aygüneş Jafari Hale Güler Kara  
Ege Sevinç Burçin Kaymaz Gülay Alp  
Fahri Şahin Güray Saydam Buket Kosova 259
- Could diabetes mellitus be a risk factor for postoperative hypoparathyroidism?**  
*Diabetes mellitus postoperatif hipoparatiroidizm için bir risk faktörü olabilir mi?*  
Bülent Can Zubeyr Said Ağaç Zeynep Çetin 269
- Perinatal trends and birth outcomes of Syrian refugee and turkish women**  
*Suriyeli mülteci ve türk kadınlarının perinatal eğilimleri ve obstetrik sonuçları*  
Alper İleri Can Ata Hande İleri  
Suna Yıldırım Karaca Ayşe Rabia Şenkaya 276
- Akut iskemik serebrovasküler olay geçiren hastalarda aritmi sıklığının holter elektrokardiyografi ile değerlendirilmesi**  
*Evaluation of arrhythmia frequency by holter electrocardiography in patients with acute ischemic cerebrovascular events*  
Mehmet Kış Tuncay Güzel 284
- İkinci basamak devlet hastanesinde tek ürolog tarafından gerçekleştirilen ürolojik laparoskopik prosedürler ve sonuçları**  
*Urological laparoscopic procedures and results performed by a single urologist in a secondary state hospital*  
Tuncer Bahçeci 291

---

**OLGU SUNUMLARI**  
*CASE REPORTS*

---

**Evaluation of the effects of neoadjuvant chemotherapy on probably benign breast lesions with MRI: Report of two cases**

*Neoadjuvan kemoterapinin olası benign meme lezyonları üzerindeki etkilerinin MRG ile değerlendirilmesi: İki olgu sunumu*

Özge Aslan      Ayşenur Oktay      Levent Yeniay      298

**Nadir görülen bir pnömotoraks olgusu: katamenial pnömotoraks**

*A rare pneumothorax case: catamenial pneumothorax*

Hasan Yavuz      Ayşegül Çevik Ergönül      Tevfik İlker Akçam      Ufuk Çağırıcı      302

---

**GÖRÜNTÜ SUNUMLARI**  
*IMAGE PRESENTATIONS*

---

**COVID-19 olgusunda karotis arterde tromboemboli**

*Carotid arterial thromboembolism in a patient with COVID-19*

Aida Taghiyeva      Celal Çınar      İsmail Oran      306

**Extremely rare coronary artery anomaly: Left main coronary artery originating from the non-coronary sinus**

*Oldukça nadir bir koroner arter anomalisi: Non-koroner sinüsten çıkan sol ana koroner arter*

Cihat Pınarcı      Selen Bayraktaroğlu      309

## Kan kültüründe bakterilerin hızlı tanısı ve duyarlılıklarının saptanması

### *Rapid diagnosis of bacteria and determination of sensitivity in blood culture*

Münevver Kayın Dinç<sup>1</sup> Volkan Özenci<sup>1</sup> Sabire Şöhret Aydemir<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Buca Seyfi Demirsoy Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir, Türkiye

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

### ÖZ

**Amaç:** Kan dolaşımı enfeksiyonu olan hastalarda; etkenin kısa sürede tanımlanması ve uygun antimikrobiyal tedavi uygulanması, morbidite ve mortalitenin azaltılması bakımından oldukça önemlidir. Bu çalışmada, kan kültüründen doğrudan tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması için geliştirilen yeni bir yöntemin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** BacT/Alert 3D sisteminde pozitif sinyal veren kan kültürü örneklerinden yıkama ve santrifüj işlemleri ile bakteriyel çökelti elde edildi. Bu çökeltiden Vitek MS kullanılarak tanımlama yapıldı, ardından VITEK 2 otomatize sisteminde doğrudan antibiyotik duyarlılık testi çalışıldı. Sonuçlar standart yöntem ile karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Tanımlama işlemi 80 kan kültürü örneğinde gerçekleştirildi. Doğrudan tanımlama işleminde 73 örnek tanımlandı ve bunlardan 72'si (%90) standart yöntemle uyumlu olarak sonuçlandı. Doğrudan antibiyotik duyarlılık testlerinin %97,9 oranında uyumlu olduğu saptandı. Değerlendirilen 635 antibiyotik duyarlılık sonucu içinde; 10'unda büyük hata, 3'ünde küçük hata olduğu görüldü.

**Sonuç:** Kan kültürü örneklerinden çalışmada uygulanan prosedürler kullanılarak 24 saat içinde, maliyetli reaktifler ya da uzun işlem süresine gereksinim olmadan, standart uygulama sonuçlarına benzer bir şekilde tanımlama ve antibiyotik duyarlılık sonucu elde edilebileceği görülmüştür.

**Anahtar Sözcükler:** Kan kültürü; MALDI-TOF MS; Doğrudan tanımlama.

### ABSTRACT

**Aim:** In patients with bloodstream infection; identifying the causative agent in a short time and applying appropriate antimicrobial therapy is very important in terms of reducing morbidity and mortality. In this study, it was aimed to evaluate a new method developed for direct identification and antibiotic susceptibility testing from blood culture.

**Materials and Methods:** Bacterial pellet was obtained from blood culture samples that showed positive signals in the BacT/Alert 3D system by washing and centrifugation. Identification was made from this pellet using Vitek MS, followed by direct antibiotic susceptibility testing in the VITEK 2 automated system. The results were compared with the standard method.

**Results:** Identification was performed on 80 blood culture samples. In the direct identification process, 73 samples were identified, of which 72 (90%) resulted in agreement with the standard method. Direct antibiotic susceptibility tests were found to be compatible with a rate of 97.9%. Among the evaluated 635 antibiotic susceptibility results; it was observed that 10 of them had major errors and 3 of them had minor errors.

**Conclusions:** Using the procedures applied in the study from blood culture samples, without the need for costly reagents or long processing time, it has been observed that identification and antibiotic susceptibility results can be obtained within 24 hours, similar to standard results.

**Keywords:** Blood culture; MALDI-TOF MS; Direct identification.

Sorumlu yazar: Münevver Kayın Dinç  
Buca Seyfi Demirsoy Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir,  
Türkiye  
E-posta: drmunevverkayin@gmail.com  
Başvuru tarihi: 13.09.2021 Kabul tarihi: 08.11.2021

## GİRİŞ

Standart yöntemler ile kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olan mikroorganizmaların tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılık testlerinin sonuçları 48 saat veya daha uzun süre almaktadır. Sepsis şüphesi olan hastadan kan kültürü alındıktan hemen sonra, hastalara ampirik ve genellikle geniş spektrumlu antimikrobiyal tedavi başlanmakta ve bu tedavi etiyolojik ajan tanımlanmaya ve antibiyotik duyarlılık testleri sonuçlanmaya kadar devam eder. Geniş spektrumlu antimikrobiyallerle yanlış ve sürekli tedavi; ilaç toksisitesine, antimikrobiyal ilaç direncine, hastanede artan yatış süresine, hastalar ve sağlık sistemi için ek maliyetlere yol açmaktadır (1). Bu nedenle, ampirik tedaviden hedefe yönelik tedaviye zamanında geçebilmek için kan dolaşımı enfeksiyonuna neden olan mikroorganizmaları hızlı tanımlayan etkili uygulamaları belirlemek önemlidir.

Kan dolaşımı enfeksiyonuna neden olan patojenin doğru tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılık testi (ADT), klinik mikrobiyoloji laboratuvarı tarafından gerçekleştirilen en önemli iki konudur. Kan dolaşımı enfeksiyonlarında etkili antibiyotik tedavisine kadar geçen süre hem morbidite hem de mortaliteyi azaltmada önemli bir belirleyicidir (2). Ampirik antimikrobiyal tedaviye, klinik durum ve epidemiyolojik faktörler rehberlik edebilirken; en etkin antimikrobiyal tedavi ise tanımlama ve ADT'ye dayanır. Gram boyama ampirik antimikrobiyal tedavide yol gösterici olabilmekle birlikte, intrinsek dirençli bakterileri ayırt etmede yeterli olamamaktadır.

Matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon-çuş süresi kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS), daha hızlı ve daha doğru tanımlama sağladığı için klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılmaktadır (3). Geleneksel tanımlama testlerine benzer şekilde, MALDI-TOF MS ile tanımlamada katı besiyerinde üreyen mikroorganizmalar kullanılır. Pozitif kan kültürlerinden mikroorganizmaların doğrudan tanımlanmasına yönelik çeşitli yöntemler geliştirilmektedir. Bunlar genellikle kan kültürü örneğinde bulunan kan bileşenlerinin giderilmesi ve ardından mikroorganizmanın santrifüj veya filtrasyon yoluyla ayrılması ve konsantrasyonu işlemlerine dayanır (4).

Pozitif kan kültüründen santrifüj sonrasında elde edilen çökeltiden MALDI-TOF MS kullanılarak yapılan tanımlamayı standart yöntemde katı besi yerinde üreyen kolonilerden yapılan tanımlama ile karşılaştırdık. Daha sonra çökeltiden doğrudan ADT çalışarak, koloniden yapılan ADT ile uyumunu değerlendirdik.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### 1. Kan kültürü örnekleri

Mevcut çalışmadaki kan kültürleri, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde takip edilen hastalardan; Haziran ve Eylül 2018 tarihleri arasında BacT/Alert Standard Aerobic (SA), Standard Anaerobic (SN) veya (Pediatric Fastidious Antimicrobial Neutralization) PF plus şişelerinde toplandı ve BacT/Alert 3D (bioMérieux, St. Laurent, Quebec) otomatize kan kültür cihazında inkübe edildi. Gram boyamada monomikrobiyal olduğu görülen 80 kan kültürü örneği çalışmaya alındı.

### 2. Standart uygulanan mikroorganizma tanımlama işlemi

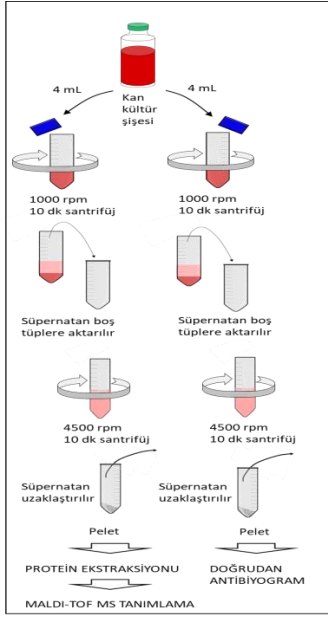
Tüm kan kültürü şişeleri, %5 koyun kanlı agar ve EMB agar (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) besi yerlerine pasajlandı. Plaklar 35 °C'de inkübe edildi, 24. ve 48. saatlerde incelendi. İnkübasyonun ardından, katı besiyerlerinde gelişen mikroorganizmalar Vitek MS sisteminde (bioMérieux, Inc., Durham, NC, ABD) tanımlandı. İzolatlar hedef plaka üzerine yayıldı, ardından 1 µL a-siyano-4-hidroksisinnamik asit (CHCA) matrisi uygulandı ve MALDI-TOF MS ile tanımlamadan önce kurumaya bırakıldı. Tanımlama sonuçları MYLA yazılımında analiz edildi.

### 3. Kan kültüründen doğrudan bakteriyel çökelti elde edilmesi

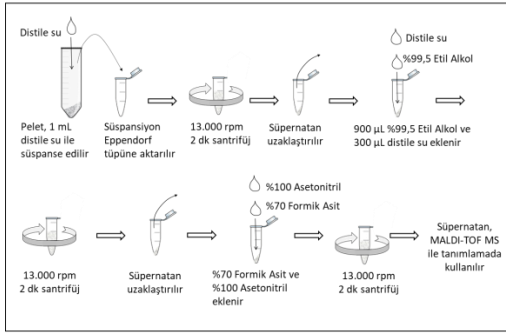
Pozitif kan kültürü şişelerinden 4'er mL kan, 10 mL'lik 2 ayrı steril tüpe aktarıldı ve 1000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi. Oluşan süpernatant iki ayrı steril tüpe aktarılıp 4500 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi (Şekil-1). Tüplerde oluşan çökeltilerden biri doğrudan tanımlama işleminde, diğeri doğrudan antibiyotik duyarlılık testinde kullanıldı.

### 4. Kan kültüründen doğrudan tanımlama işlemi

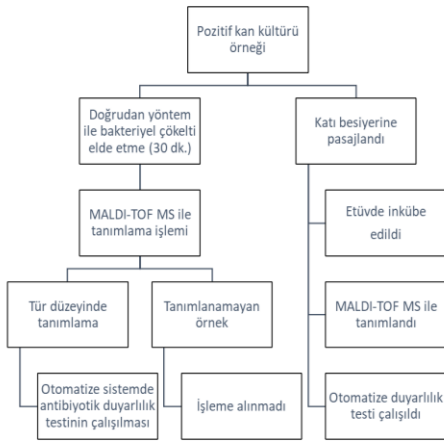
Bakteriyel çökelti 1 mL steril distile su ile süspansiyon edildi ve süspansiyon 2 mL'lik Eppendorf tüpüne aktarıldı. Süspansiyon 13.000 rpm devirde 2 dakika santrifüj edildi. Oluşan çökeltiye protein ekstraksiyon işlemi uygulandı (Şekil-2). Çökelti 900 µL %99,5 etanol ile süspansiyon edilerek presipite edildi, üzerine 300 µL steril distile su eklendi. Süspansiyon 13.000 rpm devirde 2 dakika santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra çökelti 20-50 µL %70 formik asit ve 100 µL asetonitril ile süspansiyon edildi ve 13.000 rpm devirde 1 dakika santrifüj edildi. Süpernatant Vitek MS hedef plakası üzerine yayılıp kurumaya bırakıldı. Ardından 1 µL CHCA eklenip, kuruduktan sonra Vitek MS ile tanımlandı (Şekil-3).



**Şekil-1.** Kan kültürü şişesinden doğrudan tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testinde kullanılan çökeltinin elde edilmesi.



**Şekil-2.** Doğrudan tanımlamada uygulanan protein ekstraksiyon işlemi.



**Şekil-3.** Pozitif kan kültürü şişelerinden doğrudan tanımlama ve doğrudan antibiyotik duyarlılık testi ile Standart Yaklaşım için iş akış şeması.

## 5. Kan kültüründen doğrudan antibiyotik duyarlılık testi

Bakteriyel çökelti ile 0,5 McFarland yoğunluğunda süspansiyon oluşturuldu. Bu süspansiyondan AST-P640 (Gram-pozitif), AST-N325 ve AST-N326 (Gram-negatif) kartları kullanılarak VITEK 2 (bioMérieux, Inc., Durham, NC, ABD) otomatize sisteminde antibiyotik duyarlılık testleri çalışıldı.

## 6. Standart yöntemde kan kültüründen antibiyotik duyarlılık testi

Pozitif sinyal veren kan kültürü örneklerinden katı besiyerlerine yapılan pasajlarda gelişen kolonilerden 0,5 McFarland yoğunluğunda süspansiyon hazırlandı ve VITEK 2 otomatize sisteminde antibiyotik duyarlılıkları çalışıldı.

## 7. Etik ve İstatistik

Bu çalışma, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinden (17-TIP-026), çalışma özellikleri açısından yazılı bilgilendirilmiş onamın gerekli olmadığı deneysel bir çalışma olarak onay aldı. Çalışma veri tabanında hiçbir kişisel bilgi yer almadı.

Kategorik değişkenler, uygun görüldüğünde Ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldı ve  $<0.05$ 'lik bir p değeri anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

### 1. Doğrudan ve geleneksel yaklaşımlar kullanarak yapılan MALDI-TOF MS tanımlamasının karşılaştırılması

Çalışmaya, 51 Gram-pozitif ve 29 Gram-negatif bakteri olmak üzere toplam 80 pozitif kan kültürü dahil edildi. Vitek MS, 72 (%90) bakteriyel çökeltide organizmaları tür düzeyinde doğru bir şekilde tanımladı. Tanımlanmayan 7 izolat esas olarak Gram-pozitif organizmaları (7 izolatın 6'sı), bunlardan 3'ü *S. epidermidis* idi. Bir izolat da standart uygulamada *S. epidermidis* olarak tanımlanırken, doğrudan kan kültüründen yapılan tanımlamada *S. paucimobilis* olarak tanımlandı.

### 2. Doğrudan ve standart yaklaşımlar kullanılarak antimikrobiyal duyarlılık test sonuçlarının değerlendirilmesi

Kan kültüründen doğrudan elde edilen çökeltiden 72 izolatta (28'i Gram-negatif, 44'ü Gram-pozitif) ADT çalışıldı ve standart yöntemde katı besi yerinde üreyen koloniler kullanılarak yapılan ADT ile karşılaştırıldı (Tablo-1). Antibiyotik duyarlılığını test etmek için toplam 635 antibiyotik değerlendirildi. Kan kültüründen doğrudan ADT sonucunda 622 (%97,9) antibiyotiğin duyarlılığı rutinde kullanılan standart yöntem ile uyumlu olarak sonuçlandı. Gram-negatif bakteriler için 288 antibiyotik test edildi, 277 'si (%96,2)

standart yöntem ile uyumlu bulundu (Tablo-2). Gram-pozitif bakteriler için 347 antibiyotik test edildi ve 345'i (%99,4) uyumlu sonuçlandı (Tablo-3).

**Tablo-1.** Pozitif kan kültürlerinden doğrudan tanımlama yöntemi kullanılarak elde edilen sonuçlar.

Bakteri türü	Tanımlanan izolat sayısı		
	Uyumlu	Uyumsuz	Toplam
<i>S. epidermidis</i>	16	4	20
<i>S. hominis</i>	16	2	18
<i>K. pneumoniae</i>	9	-	9
<i>S. haemolyticus</i>	7	1	8
<i>E. coli</i>	7	1	8
<i>E. cloacae</i>	4	-	4
<i>E. faecalis</i>	3	-	3
<i>P. mirabilis</i>	3	-	3
<i>E. faecium</i>	2	-	2
<i>P. aeruginosa</i>	2	-	2
<i>P. putida</i>	1	-	1
<i>A. ursingii</i>	1	-	1
<i>A. hydrophilia</i>	1	-	1
Toplam	72	8	80

**Tablo-2.** Kan kültüründen doğrudan antibiyotik duyarlılık testinde Gram-negatif basillerin duyarlılık profilleri

Antibiyotik	Major hata sayısı	Minor hata sayısı	Uyum	Toplam
Ampisilin	-	-	23	23
Amoksisilin/klavulanik asit	-	-	23	23
Piperasilin/tazobaktam	2	-	26	28
Seftriakson	2	-	21	23
Sefepim	-	-	28	28
Seftazidim	2	-	2	4
Ertapenem	-	-	23	23
Meropenem	-	1	27	28
Amikasin	2	2	24	28
Gentamisin	-	-	28	28
Siprofloksasin	-	-	28	28
Tigesiklin	-	-	24	24
Toplam	8	3	277	288

**Tablo-3.** Kan kültüründen doğrudan antibiyotik duyarlılık testinde Gram-pozitif kokların duyarlılık profilleri

Antibiyotik	Major hata sayısı	Minor hata sayısı	Uyum	Toplam
Ampisilin	-	-	5	5
Sefoksitin	-	-	39	39
Oksasilin	-	-	39	39
Gentamisin	-	-	44	44
Siprofloksasin	-	-	44	44
Linezolid	-	-	44	44
Vankomisin	1	-	43	44
Teikoplanin	1	-	43	44
Tigesiklin	-	-	44	44
Toplam	2	-	345	347

*Staphylococcus spp.* için oksasilin, sefoksitin, gentamisin, siprofloksasin, vankomisin, teikoplanin, linezolid ve tigesiklin duyarlılıkları çalışıldı. *Enterococcus spp.* için ampisilin,

gentamisin, siprofloksasin, vankomisin, teikoplanin, linezolid ve tigesiklin duyarlılığı bakıldı. Gram-negatiflerde Tablo-2'de listelenen antibiyotiklerin yanında *Pseudomonas spp.* için seftazidim duyarlılığı da çalışıldı.

Çalışmada antibiyotik duyarlılık testinde çok büyük hatalarla karşılaşılma. İncelenen 635 antibiyotik duyarlılığında 13 küçük veya büyük hata ile %97,9'luk bir uyum olduğu görüldü ( $p>0.05$ ). Sadece sınırlı sayıda duyarlılık hatası bulundu ve tüm çoklu ilaç direnç modelleri rutin testlere benzer sonuçlar verdi. Doğrudan antibiyotik duyarlılık testindeki hata oranlarının ISO 20776-2 standartlarına göre (büyük hata oranı  $\leq\%3$ , çok büyük hata oranı  $\leq\%3$ ) kabul edilebilir sınırlarda olduğu görüldü.

## TARTIŞMA

MALDI-TOF MS, mikroorganizmaları hızlı ve güvenilir bir şekilde tanımlama yeteneği ile klinik mikrobiyoloji laboratuvarında rutin kullanıma girmiş durumda ve bu teknolojiyi kullanmak için birçok yenilikçi yöntem geliştirilmektedir (5-8). Burada incelenen kan kültürlerinde doğrudan tanımlama ile mikroorganizma tanımlama süresi 24 saat kadar kısaltılmakta ve doğrudan antibiyotik duyarlılık sonuçları hasta tedavisinde kılavuz görevi görmektedir (9).

Bu çalışmada, doğrudan tanımlama prosedürünü; katı besiyerine pasajlanmış kültürlerden yapılan MALDI-TOF MS tanımlamasıyla karşılaştırdık. Daha önce yayınlanmış yöntemlerle karşılaştırıldığında, özellikle bir filtrasyon yönteminin aksine bir peletleme prosedürünün kullanılması; hem satın alınacak daha az ekipman olduğu hem de kullanımlar arasında daha az sterilizasyon gerekeceği anlamına gelmektedir.

Pozitif kan kültürlerinden, %57,4 ile %87 arasında değişen tür düzeyinde tanımlama ile MALDI-TOF MS'te birden fazla doğrudan tanımlama yöntemi önerilmiştir (7,10-11). Çalışmamızda açıklanan doğrudan pelet yönteminin performansı rapor edilen aralıklardan daha iyi sonuç vermiştir.

Yayınlanmış prosedürlerde yaygın olarak bulunan, Gram-negatif bakterilere kıyasla Gram-pozitif bakterilerde uyumlu tanımlama oranlarının daha düşük olması bizim de karşılaştığımız bir bulgudur. Doğrudan yöntemle tanımlanamayan Gram-pozitif bakteriler, katı besiyerine pasajlardan Koagülaz-negatif stafilkoklar olarak tanımlandı. Tanımlama yapılamayan bu örneklerde kültür plağında az

sayıda koloni elde edildi, bu da şişede düşük miktarda canlı bakteri yükü olduğunu göstermektedir. MALDI-TOF MS tanımlaması için gereken minimum bakteri yoğunluğunun 10<sup>6</sup> CFU/mL olduğu gösterilmiştir ve bu yoğunlukta bir pelet üretmek için işleme alınan örnek miktarını arttırmak etkili olabilir.

Pozitif kan kültüründen doğrudan antibiyogram yaklaşımı kullanılarak yürütülen otomatize ADT, bakterilerin direnç profillerini hızla belirlemek için güvenilir bir yöntemdir. Pasajlama ve subkültür adımının çıkarılması, aynı gün içinde duyarlılık sonuçlarının alınmasını sağlamıştır.

Kan kültüründe üreyen mikroorganizmaların hızlı bir şekilde tanımlanması umut vericidir ancak kan kültürü şişeleri, kan ve üreme ortamının makro moleküllerini içerdiği için işlem öncesinde hazırlık yapılması gereklidir. Makro moleküllerin giderilmesi için kademeli santrifüj, kan hücrelerinin seçici lizisi (örneğin: su, amonyum klorür, saponin, sodyum dodesil sülfat kullanılarak), serum separatör tüp ve filtrasyon gibi malzemeler kullanılabilir (12). Pozitif kan kültürü örneklerine ön işlemler uygulanarak MALDI-TOF MS'te tanımlama süresi bir gün veya daha fazla azaltılabilir (13).

Kan kültüründen doğrudan tanımlamada bakteriyel çökelti elde etmek için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Azrad ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptıkları çalışmada separatör jelli tüp kullanılmıştır. Kan kültürü örneği bir kez 3000 rpm'de santrifüj edilmiş ve jelin üzerinde biriken bakteriyel çökelti kullanılmıştır. Bu yöntem çalışma süresini ve işlem sayısını azaltmakla birlikte çalışılan 186 örneğin 81'i (%43,5) doğru bir şekilde tanımlanmıştır (6).

Lin ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptıkları çalışmada, çalışmamıza benzer şekilde çökelti elde etme aşamasında kimyasal madde kullanılmamıştır. Kan kültürü örneğinden 1,5 mL alınıp 600 g'de 10 saniye santrifüj ettikten sonra oluşan süpernatanı 3000 g'de bir dakika santrifüj etmişlerdir. Ardından, protein ekstraksiyon işlemi uygulamadan, oluşan çökeltiyi MALDI-TOF hedef plakasına aktararak tanımlamışlardır. Çalışmalarında 324 örneğin 186'sı (%57,4) doğru olarak tanımlanmıştır. Kullanılan örnek miktarının az olması ve santrifüj sürelerinin kısalığı tanımlama oranlarını azaltmış olabilir. Aynı çalışmada çökelti elde ettikten sonra lizis solüsyonu ekleyerek MALDI-TOF MS kullanarak tanımlama yaptıklarında, doğru tanımlama oranları %81,8'e yükselmiştir. Çalışmada lizis solüsyonu kullanılması işlem sayısını arttırmakta ve ek maliyete yol açmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda çökelti elde etme aşamasında

kimyasal madde kullanılmadı ve daha az işlem basamağı ile sonuç elde edilmeye çalışıldı (7).

Pozitif kan kültüründen antibiyotik duyarlılığını doğrudan test etmek için Höring ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptıkları çalışmada kademeli santrifüj ve serum separatör tüp kullanılması karşılaştırılmıştır. Serum separatör tüp ve kademeli santrifüj yöntemlerinde sırasıyla %98,4 ile %98,3 oranında uyumlu sonuç elde edilmiş, anlamlı bir fark görülmemiştir. Serum separatör tüp kullanıldığında bakteriyel çökelti elde etmek için 10 dakikalık santrifüj uygulanmışken; kademeli santrifüj işleminde ilk aşamada düşük devirde 5 dakika, ikinci aşamada yüksek devirde 10 dakika santrifüj uygulanmıştır. Antibiyotik duyarlılığının doğrudan ölçülmesinde serum separatör tüp kullanılması, çalışmamızda kullandığımız kademeli santrifüje göre daha kısa sürede tamamlanmıştır (14).

López-Pintor ve arkadaşlarının 2019 yılında yayınlanan çalışmalarında bakteriyel çökeltiden MALDI-TOF MS ile tanımlama ve ardından antibiyotik duyarlılık testi çalışılmıştır. Çalışmamızdan farklı olarak, bu çalışmada 1 mL örnek kullanılmış ve SDS eklenerek kan hücrelerinin lizisi hedeflenmiştir. Yalnızca gram-negatif üremelerin alındığı çalışmada tanımlama oranları %88,5 olarak sonuçlanmıştır. Bu çalışmada da en fazla hata beta-laktam grubu antibiyotiklerde saptanmıştır (15).

Bu çalışmada, kan kültürü örneğinin alınma işleminden yaklaşık 24 saat sonra, pahalı reaktifler veya uzun çalışma sürelerine gereksinim olmadan, doğru bir tanımlama ve antibiyotik duyarlılık sonucu elde edilebileceği görülmüştür.

## SONUÇ

Bu prosedürün pozitif kan kültürlerinin neredeyse %90'ında güvenilir bir tanımlama sağlaması ve katı besiyerinden yapılabildiği kıyasla daha hızlı ADT sonucu elde edilmesi, bu yöntemin değişen mikrobiyoloji uygulamaları üzerinde olumlu etkisi olabileceğini göstermektedir. Ayrıca bu yaklaşımlar, antimikrobiyal dirençli mikroorganizmalarla enfekte hastaların zamanında izolasyonu yoluyla enfeksiyon önleme ve kontrol girişimlerini iyileştirirken; uygun antibiyotiklerin hızlı ve uygun kullanımı yoluyla hasta yönetimini büyük ölçüde etkileme potansiyeline sahiptir. Şu anda, bu müdahalenin antimikrobiyal reçeteleme üzerindeki etkisini belirlemek için daha fazla araştırmaya gereksinim bulunmaktadır.

**Çıkar çatışması:** Çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## Kaynaklar

1. Kadri SS, Lai YL, Warner S, Strich JR, Babiker A, Ricotta EE, et al. Inappropriate empirical antibiotic therapy for bloodstream infections based on discordant in-vitro susceptibilities: a retrospective cohort analysis of prevalence, predictors, and mortality risk in US hospitals. *Lancet Infect Dis*. 2021 Feb; 21 (2): 241-251. doi: 10.1016/S1473-3099 (20) 30477-1. Epub 2020 Sep 8. PMID: 32916100
2. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 2006; 34: 1589–96.
3. Sauer S, Kliem M. Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8: 74–82.
4. Ferroni A, Suarez S, Beretti JL, Dauphin B, Bille E, Meyer J, et al. Real-time identification of bacteria and *Candida* species in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 1542–8.
5. Buchan BW, Riebe KM, Ledebor NA. Comparison of the MALDI Biotyper system using Sepsityper specimen processing to routine microbiological methods for identification of bacteria from positive blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 346–52.
6. Azrad M, Keness Y, Nitzan O, Pastukh, Tkhawko, Freidus V, et al. Cheap and rapid in-house method for direct identification of positive blood cultures by MALDI-TOF MS technology. *BMC Infect Dis*. 2019 Jan 18; 19 (1): 72. doi: 10.1186/s12879-019-3709-9.
7. Lin JF, Ge MC, Liu TP, Chang SC, Lu JJ. A simple method for rapid microbial identification from positive monomicrobial blood culture bottles through matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Microbiol Immunol Infect*. 2018 Oct; 51 (5): 659-665. doi: 10.1016/j.jmii.2017.03.005. Epub 2017 Jun 30.
8. Hannah Tanner, Jason T. Evans, Savita Gossain, Abid Hussain. Evaluation of three sample preparation methods for the direct identification of bacteria in positive blood cultures by MALDI-TOF. *BMC Res Notes*. 2017; 10: 48. doi: 10.1186/s13104-016-2366-y.
9. Pan H, Li W, Li R, Li Y, Zhang Y, Sun E. Simple Sample Preparation Method for Direct Microbial Identification and Susceptibility Testing From Positive Blood Cultures. *Front Microbiol*. 2018 Mar 20; 9: 481. doi: 10.3389/fmicb.2018.00481.
10. Maelegheer K., Nulens E. Same-day identification and antibiotic susceptibility testing on positive blood cultures: a simple and inexpensive procedure. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2017) 36: 681–687 DOI 10.1007/s10096-016-2849-8.
11. Rodríguez-Sánchez B, Sánchez-Carrillo C, Ruiz A, Marín M, Cercenado E, Rodríguez-Crèixems M, Bouza E. Direct identification of pathogens from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Jul; 20 (7): O421-7. doi: 10.1111/1469-0691.12455.
12. Fothergill A, Kasinathan V, Hyman J, Walsh J, Drake T, Wang YF. Rapid identification of bacteria and yeasts from positive Bact/ALERT blood culture bottles by using a lysis-filtration method and MALDI-TOF mass spectrum analysis with SARAMIS database. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 805–9.
13. Clerc O, Prod'homme G, Vogne C, Bizzini A, Calandra T, Greub G. Impact of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry on the clinical management of patients with gram-negative bacteremia: a prospective observational study. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 1101–7.
14. Höring S, Massarani A, Löffler B, Rödel J. Rapid antibiotic susceptibility testing in blood culture diagnostics performed by direct inoculation using the VITEK®-2 and BD Phoenix™ platforms. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* (2019) 38: 471–478. doi.org/10.1007/s10096-018-03445-3.
15. López-Pintor J, Navarro-San Francisco C, Sánchez-López J, García-Caballero A, Bobadilla R, Morosini M. Direct antimicrobial susceptibility testing from the blood culture pellet obtained for MALDI-TOF identification of Enterobacteriales and *Pseudomonas aeruginosa*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* doi.org/10.1007/s10096-019-03498-y.



## Evaluation of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 RNA in tear specimens of hospitalised patients with confirmed novel Coronavirus disease 2019

*Hastanede yatan yeni Coronavirus 2019 hastalarının gözyaşı örneklerinde Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 RNA'larının değerlendirilmesi*

Nilüfer Zorlutuna Kaymak<sup>1</sup> Gizem Doğan Gökçe<sup>2</sup>  
Mehmet Engin Tezcan<sup>3</sup> Serap Demir Tekol<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Health Sciences University, Kartal Dr. Lütfi Kırdar City Hospital, Eye Clinic, Istanbul, Türkiye

<sup>2</sup> Balıkesir Gonen State Hospital, Eye Clinic, Balıkesir, Türkiye

<sup>3</sup> Health Sciences University, Kartal Dr. Lütfi Kırdar City Hospital, Department of Rheumatology, Istanbul, Türkiye

<sup>4</sup> Health Sciences University, Kartal Dr. Lütfi Kırdar City Hospital, Microbiology, Istanbul, Türkiye

### ABSTRACT

**Aim:** We aimed to detect the presence of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 RNA in the tears of patients with confirmed novel Coronavirus disease 2019.

**Materials and Methods:** This prospective study was performed at Health Science University Kartal Dr. Lutfi Kırdar City Hospital between 13-21 May 2020. Nasopharyngeal and tear samples of 15 patients with novel Coronavirus disease 2019 was performed for real-time polymerase chain reaction assay. Ocular and systemic signs and symptoms, chest computed tomographic scans, and results of laboratory blood tests as well as the drugs used for the treatment were noted and analyzed.

**Results:** Of the 15 patients nine (60%) were male and six (40%) were female. Mean age of the patients was 53.86±20.20 (21-89) years. Among them nine patients (60%) were positive for novel coronavirus disease 2019 on real-time polymerase chain reaction from nasopharyngeal specimens. None of the patients was positive for real-time polymerase chain reaction for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 in tear specimens. Only two of 15 patients had bilateral conjunctivitis. These two patients had positive results for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 on real-time polymerase chain reaction from nasopharyngeal swabs.

**Conclusion:** In this study Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 RNA could not be detected in the tear samples of the patients with confirmed novel Coronavirus disease 2019 with or without ocular symptoms and signs.

**Keywords:** COVID-19, SARS-CoV-2, conjunctivitis, ocular manifestations, RT-PCR.

### ÖZ

**Amaç:** Yeni Coronavirus 2019 hastalarının gözyaşlarında Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 RNA'sının varlığını tespit etmeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Bu prospektif çalışma Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi'nde 13-21 Mayıs 2020 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Real-time polimeraz zincir reaksiyonu testi için yeni Coronavirus 2019 hastalığı olan 15 hastanın nazofarengal ve gözyaşı örnekleri alındı. Oküler ve sistemik belirti ve bulgular, göğüs bilgisayarlı tomografi taramaları ve tedavi için kullanılan ilaçların yanı sıra laboratuvar testlerinin sonuçları kaydedildi.

Corresponding author: Nilüfer Zorlutuna Kaymak  
Health Sciences University, Kartal Dr. Lütfi Kırdar City  
Hospital, Eye Clinic, Istanbul, Türkiye  
E-mail: n\_zorlutuna@yahoo.com

Application date: 02.05.2021 Accepted: 11.11.2021

**Bulgular:** Onbeş hastanın dokuzu (60%) erkek, altısı (40%) kadındı. Hastaların ortalama yaşı 53.86±20.20 (21-89) idi. Dokuz hastanın (60%) nazofarengeal örneklerinde yeni Coronavirus 2019 hastalığı için real-time polimeraz zincir reaksiyon testi pozitif. Hiçbir hastanın gözyaşı örneğinde Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 real-time polimeraz zincir reaksiyon testi pozitif değildi. Onbeş hastanın sadece ikisinde bilateral konjonktivit mevcuttu. Bu iki hastanın nazofarengeal örneklerinde Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 real-time polimeraz zincir reaksiyon testinin sonucu pozitif.

**Sonuç:** Bu çalışmada oküler belirti ve bulgusu olsun ya da olmasın yeni Coronavirus 2019 hastalarının gözyaşı örneklerinde Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 RNA tespit edilememiştir.

**Anahtar Sözcükler:** COVID-19, SARS-CoV-2, konjonktivit, oküler bulgular, RT-PCR.

## INTRODUCTION

Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) causes novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). The disease quickly spread throughout the world after it originated in Wuhan, China in December 2019 (1, 2). On 11th March 2020, World Health Organization (WHO) declared the disease a pandemic (3). After initial emerge in China, travel related cases started appearing from all over the world. The first case in Turkey was recorded on March 11, 2020. At the time of writing this study 148, 399, 311 people have been infected by the virus globally and there have been 3, 131, 077 deaths. In Turkey these numbers are 4,667, 281 and 38.711 respectively (4). The COVID-19 pandemic has not been controlled and continues to threaten the human-life in all over the world. The disease still doesn't have an effective treatment and the vaccination program conducted in the world have not reached the sufficient number of people; therefore understanding the transmission routes and preventing the transmission of the disease remains the only and crucial way of preventing the disease.

The main route of transmission is known to be through contact of mucous membranes of the eyes, nose and mouth with respiratory droplets or fomites. Viral RNA has been found in the nasopharyngeal tract, saliva, tears, urine and feces of the patients (5). Transmission via airborne respiratory droplets are well-recognized. The other ways of transmission have been discussed in many studies, but have not been elucidated yet.

The aim of our study was to evaluate the presence of SARS-CoV-2 RNA in tears of patients with confirmed COVID-19 and to describe the clinical spectrum of ocular and systemic symptoms together with nasopharyngeal and tear swab samples.

## MATERIALS and METHODS

This prospective interventional study was performed at a tertiary COVID-19 pandemic

clinic. Fifteen patients with confirmed COVID-19, with or without ocular symptoms who were hospitalized at Kartal Dr. Lütfi Kırdar City Hospital between 13<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> May 2020 were included in the study. Suspect and probable cases and critically ill patients were excluded. The clinical diagnosis of COVID-19 were made through two different approaches. The patients with positive real-time polimeraz chain reaction (RT-PCR) for SARS-COV-2 were accepted as COVID-19 or the patients with negative RT-PCR got COVID-19 diagnosis, if they fulfilled all three clinical criteria including having fever and/or respiratory symptoms, compatible chest imaging findings and decreased lymphocyte count with normal or decreased white blood cell count. The disease was classified as mild and severe. Patients with mild pneumonia, oxygen saturation between 90-94% on room air and  $\geq 24$  breaths/minute respiratory rate were diagnosed as having mild disease while patients with pneumonia and at least one of the followings including: oxygen saturation  $< 90\%$  on room air,  $> 30$  breaths/minute respiratory rate, severe respiratory distress were diagnosed as having severe disease. Nasopharyngeal and tear samples were taken on the first day of admission from all patients. Before collecting the first samples, we recorded the time of onset of symptoms and the antiviral drugs used for each patient. A single ophthalmologist (GDG) posted for COVID duty collected both samples. Nasopharyngeal samples were taken according to World Health Organization (WHO) protocol. The tear specimens were taken randomly from one eye of the patients without ocular symptoms. In patients having ocular symptoms tears samples were taken from the affected eye if one eye is affected or from any of the affected eyes randomly if both eyes are affected. Tear samples were collected with sterile swabs placed in the lower fornix for ten seconds. We didn't use topical anesthesia during the procedure. The tips of the swab sticks were broken off and put into a viral transport media kit (VTM- Innomed). All necessary precautions were taken in order to prevent the spread of infection. Nazopharyngeal and tear specimens were stored

at 4 °C and sent to Kartal Dr. Lütfi Kırdar City Hospital laboratory as soon as possible. Viral RNA was extracted from all samples with High Pure Viral RNA Kit (Roche Life Science) by following instructions as described in manufacturer's protocol. Extracted RNA was tested by RT-PCR targeting SARS-CoV-2-specific RdRp (RNA-dependent RNA polymerase) gene fragment (Biospeedy, SARS-CoV-2 qPCR Detection Kit). RT-PCR analyses was performed with CFX96 Touch RT-PCR Detection System (Bio-Rad).

This study was approved by both Kartal Dr. Lütfi Kırdar City Hospital Local Research Ethics Committee and Turkish Health Ministry. It was conducted accordingly to the Helsinki Declaration. Signed informed consent was obtained from patients before the collection of each samples.

## RESULTS

Fifteen patients were evaluated with an average age of  $53.86 \pm 20.20$  (21-89) years. Out of 15 patients nine (60%) were male and six (40%) were female. Nasopharyngeal RT-PCR samples were positive in nine (60%) of the 15 patients and negative in six (40%) of the 15 patients. Tear samples were negative in all of the 15 patients. The mean time of the onset of the systemic symptoms by the time of sampling was  $2.53 \pm 2.21$  (1-8) days. The average day for hospitalization was  $6.73 \pm 3.65$  (2-15) days. Two patients had Alzheimer disease. Because of the impaired mental functions of these patients, a detailed history could not be obtained about their symptoms. At the time of sampling the most common systemic symptoms were coughing in eight patients (53.33%), dyspnea in eight patients (53.33%), fatigue in six (40.00%) patients, and fever in four (26.66%) patients. The other symptoms were arthralgia, headache, diarrhea, nausea and loss of appetite. Two of 15 patients had ocular manifestations consistent with bilateral conjunctivitis including redness, itching and burring. One of the patients with conjunctivitis had Alzheimer disease. These two patients had positive RT-PCR from nasopharyngeal swabs. None of our patients experienced ocular symptoms as the first manifestation of COVID-19. Among 15 patients nine (60%) had moderate disease while six (40%) patients had severe. None of them were critically ill. Demographic features, clinical profiles and laboratory results of the patients are shown in Table-1.

## DISCUSSION

SARS-CoV-2 may occur at the ocular surface by direct inoculation of the conjunctiva from infectious droplets, transition of the virus through the nasolacrimal duct from the respiratory tract or the lacrimal gland infection and viral shedding

(6). Also the affinity of SARS-COVs to angiotensin converting enzyme-2 (ACE-2) which is known to be the cell receptor for these viruses makes them possible to infect ocular structures. The human conjunctiva and cornea express ACE-2 receptor, theoretically which SARS-CoV-2 can bind and cause infection (7).

Recently, some studies have been conducted to detect the virus on the ocular surface of patients with COVID-19. The studies detecting SARS-CoV-2 nucleotides in tear films of patients with COVID-19 show different positivity rate ranging from 0% to 57.1% (8-19). In our study, we used conjunctival swabs to obtain tear samples of 15 COVID-19 patients and we could not show the presence of viral RNA in tears of these patients. In the study of Deng et al. on 114 patients, all of the ocular samples were negative (9). Similarly, Seah et al. could not detect viral RNA in tear samples of their patients (8). Different from our study they collected a total of 64 tear samples from 17 patient's both eyes with one week intervals. They used Schirmer strip to obtain the samples. All tear samples were negative while nasopharyngeal swab samples continued to show positive results. They claimed that the role of the lacrimal duct as a passageway for the virus may be wrong.

On the other hand some studies report positive SARS-CoV-2 RT-PCR results in tear samples of COVID-19 patients. In a study including 30 patients Xia et al. collected two samples from each patient at 2-3 days interval. Two conjunctival samples from one patient who also had conjunctivitis yielded positive (3.3%) (11). Zhang et al. reported that among 72 patients confirmed by SARS-CoV-2 RT-PCR, two patients had conjunctivitis and SARS-CoV-2 RT-PCR were positive in ocular samples in one of these patients (1.3%) (12).

On the contrary Kaya et al., Arora et al. and Azzolini et al. reported a relatively higher positive rates of 16%, 24% and 57.1% respectively (10, 13, 14). Different from other studies Arora et al. collected tear samples via conjunctival swab plus Schirmer's test strips, only conjunctival swab and only Schirmer's test strips in group 1, 2 and 3 with positive results of 11 (14.7%), 11 (14.7%) and 7 (9.3%) patients in these groups respectively. They took samples from both eyes. 18 (24%) of 75 patients and 29 (12.9%) of 225 samples showed positive tear RT-PCR results. Five patients had positive RT-PCR results with all of the methods and 12 patients showed positive results with one of the methods (14). Seah et al. also used Schirmer's test methods while the other authors used conjunctival swab technique (8). Arora et al. claimed that conjunctival swab is the gold standart technique for collecting tear samples.

The different results between these studies can be explained with the differences in sampling time, sampling method, number of samples taken, the expert taken the sample, the patient's compliance as well as the viral load and viral transmission to tears which vary from one patient to another.

We collected nasopharyngeal and tear samples on the first day of admission from all patients. In our study the mean time of the onset of the systemic symptoms by the time of sampling was  $2.53 \pm 2.21$  (1-8) days. The viral load seems to fall in the following weeks of symptoms (20). Arora et al. performed ocular sampling within 48 hours of confirmatory nasopharyngeal swabs. Also Karimi from Iran took samples on the first day of admission when the viral load is thought to be high and found positivity rate of 7% in tear samples. They claimed that racial variation and differences and the variation in virus subtypes in different regions may contribute the positive rates (15). Ziad et al. reported that in tracheal aspirates SARS-CoV-2 concentration was higher than the nasopharyngeal sample (21). This sampling result shows that viral load differs in different parts and secretions. Table-2 shows the results of studies including ocular manifestations,

nasopharyngeal and ocular samples of the patients with COVID-19.

Liang et al. estimate the viral load is proportional to the severity of the disease (22). In our study, RT-PCR of nasopharyngeal sample results was positive in nine (60%) of 15 patients. Among these patients four were severe and five were moderate while two of the patients with negative PCR were severe and four moderate. In the study of Wu et al., 28 of 38 patients had positive results from the nasopharyngeal samples. Among them four had moderate, two had severe and six had critical disease. Tear samples showed positive results in two patients with critical disease (23). In a study from Wuhan, of the 121 patients analysed, three patients had positive results in tears, with two of them classified as severe/critical disease and another classified as mild/moderate (20).

Due to the low virus concentration in non-inflamed structures, ocular involvement is essential for viral shedding in tears. Many studies have indicated variable presentations of COVID-19 patients including ocular manifestations with laboratory reports. Guangfa Wang, a Chinese doctor, first reported that he was infected via ocular secretions. Before onset of pneumonia, he complained of redness of the eyes (24).

**Table-1.** Demographic features, clinical profiles and laboratory results of the patients with COVID-19.

No	Sex	Age	Systemic symptoms	Ocular symptoms	Severity of the disease/ oxygen saturation	Tear sample results	Nasopharyngeal sample results	Systemic disease
1	F	48	coughing, dyspnea, joint pain, loss of appetite	none	severe spO <sub>2</sub> <90	Negative	Positive	one kidney
2	M	62	coughing, dyspnea, fatigue	none	severe spO <sub>2</sub> <90	Negative	Positive	hypertension
3	F	76	dyspnea, headache, fatigue	none	moderate spO <sub>2</sub> >90	Negative	Negative	hypertension
4	M	32	coughing, dyspnea	none	moderate spO <sub>2</sub> >90	Negative	Negative	none
5	F	44	coughing	none	moderate spO <sub>2</sub> >90	Negative	Negative	focal segmental glomerulosclerosis , rheumatoid arthritis
6	M	21	coughing, dyspnea,diarrhea	none	severe spO <sub>2</sub> <90	Negative	Negative	testicular cancer
7	M	40	fever, joint pain	redness, itching, burring	moderate spO <sub>2</sub> >90	Negative	Positive	diabetes mellitus, hypertension, trombocytopenia, chronic hepatitis B
8	F	56	coughing	none	moderate spO <sub>2</sub> >90	Negative	Positive	diabetes mellitus, hypertension, Crohn disease
9	F	84	fatigue, loss of appetite	redness, itching, burring	moderate spO <sub>2</sub> >90	Negative	Positive	Alzheimer disease, chronic heart failure
10	M	46	dyspnea, nausea	none	severe spO <sub>2</sub> <90	Negative	Negative	asthma
11	M	77	dyspnea, fever, fatigue, loss of appetite	none	severe spO <sub>2</sub> <90	Negative	Positive	hypertension, chronic lymphocytic leukemia
12	F	89	dyspnea	none	severe spO <sub>2</sub> <90	Negative	Positive	Alzheimer disease, hypertension, cerebrovascular occlusive disease
13	M	57	coughing, fever, headache, fatigue	none	moderate spO <sub>2</sub> >90	Negative	Positive	hypertension
14	M	35	fatigue	none	moderate spO <sub>2</sub> >90	Negative	Positive	leukemia
15	M	41	coughing, fever	none	moderate spO <sub>2</sub> >90	Negative	Negative	

**Table-2.** Results of studies including ocular manifestations, nasopharyngeal and ocular samples of the patients with COVID-19.

Publication	Number of patients	Number of nasopharyngeal swabs/positive results	Ocular sampling method	Number of ocular swabs/positive results	Number of patients with positive ocular swabs and positive nasopharyngeal swabs	Number of patients with ocular manifestations	Number of patients with positive ocular swabs and having ocular manifestations	Other features
Kaya et al (13). Turkiye	32	32/16	Conjunctival swab	32/5	3	0	0	
Karimi et al (15). Iran	43	43/30	Conjunctival swab	43/3	3	1	1	
Atum et al (17). Turkiye	40	Not specified	Conjunctival swab	40/3	Not specified	10	1	
Xia et al (11). China	30	They collected sputum sample	Conjunctival swab	60/2	They collected sputum sample	1	1	They collected sputum sample
Zhang et al (12). China	72	72/72	Conjunctival swab	72/1	1	2	1	
Zhou et al (16). China	121	121/121	Conjunctival swab	121/3	3	8	1	
Arora et al (14). India	78	75/75	Conjunctival swab, schirmer's strip	225/29	18	0	0	They collected tear samples via 2 methods and grouped the patients into 3
Kumar et al (19). India	45	45/45	Conjunctival swab	45/1	1	0	0	
Seah et al (8). Singapore	17	17/17	Schirmer's strip	64/0	0	0	0	Samples from both eyes at varying time points
Azzolini et al (10). Italy	91	91/58	Conjunctival swab	91/52	15	NA	NA	
Kocamiş et al (18). Turkiye	45	45/45	Conjunctival swab	45/1	1	0	0	

Cheema et al. reported a 29 year old female presenting with keratoconjunctivitis as the main symptom of COVID-19 (25). In a study of 1099 patients with confirmed COVID-19, nine patients (0.8%) had conjunctival manifestations (26). Zhou et al. reported ocular symptoms in eight (6.6%) out of 121 patients including itching, redness, tearing, discharge and foreign body sensation. Of the three (2.5%) patients with positive sample results in tears, one had symptoms while the other two were asymptomatic (20). Three studies from Turkey evaluated conjunctival swab PCR results in patients with COVID-19. Atum et al. collected tears samples from 40 patients with confirmed COVID-19 and three (7.5%) were positive. Ten of the patients had conjunctivitis and of the 10 patients only one had positive conjunctival sample result (17). Other study from Turkey, Kaya et al. evaluated SARS-CoV-2 in tears of 32 patients. Their patients did not have ocular manifestations. Five (16%) patients yielded positive tear PCR results (13). Out of 45 confirmed COVID-19 patients Kocamiş et al. reported that conjunctival swab was positive in only one patient (2.22%) and none of the 45 patients had ocular signs and symptoms (18).

RT-PCR have some limitations in its use in ocular samples. Low concentrations of viral RNA in ocular secretions, as well as a possible limited duration of viral shedding may contribute to false negative reports (9). Difficulty in collecting

adequate amount of tear sample also contributes to negative results. These studies indicate that SARV-CoV-2 RNA can be shown in very small percentage of COVID-19 patients; however these results don't eliminate the transmission of the virus through ocular tissues and secretions. Collecting a tear sample at the same time with the nasopharyngeal sample may contribute to the diagnosis of the disease by increasing the probability of detecting the virus. In addition physicians must be suspicious that tears of patients may be infective despite the absence of ocular manifestations.

These study have some limitations including small sample size, only one time sampling, absence of detailed ocular examination as well as absence of a control group. Further studies are necessary to evaluate the presence and role of novel Coronavirus in COVID-19 disease.

## CONCLUSION

Although the results of our study suggest that the risk of SARS-CoV-2 transmission through tears is extremely low; the potential for the SARS-CoV-2 for conjunctival transmission is worth further exploration. The negative tear RT-PCR results should be re-evaluated with multiple samplings done at varied intervals.

**Conflict of interest:** The authors have no conflict of interest.

## REFERENCES

1. Huang C., Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395 (10223): 497-506.
2. Fu L, Wang B, Yuan T, Chen X, Ao Y, Fitzpatrick T, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: A systematic review and meta-analysis. *J Infect* 2020; 80 (6): 656-65.
3. World Health Organization. Origin of SARS-CoV-2 (26 March 2020) <https://www.who.int/health-topics/coronavirus/who-recommendations-to-reduce-risk-of-transmission-of-emerging-pathogens-from-animals-to-humans-in-live-animal-markets>
4. [Worldometers.info/coronavirus/\[updated27.4.2021\]](https://www.worldometers.info/coronavirus/). Available from: [worldometers.info/coronavirus/ #countries](https://www.worldometers.info/coronavirus/#countries)
5. Mackenzie JS, Smith DW. COVID-19: a novel zoonotic disease caused by a coronavirus from China: what we know and what we don't. *Microbiol Aust* 2020;MA 20013. Online ahead of print.
6. Seah I, Agrawal R. Can the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) affect the eyes? A review of Coronaviruses and ocular implications in humans and animals. *Ocul Immunol Inflamm* 2020; 28 (3): 391-5.
7. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically-proven protease inhibitor. *Cell* 2020; 181 (2): 271-80.
8. Seah IYJ, Anderson DE, Kang AEZ, Wang L, Rao P, Young BE, et al. Assessing viral shedding and infectivity of tears in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) patients. *Ophthalmology*. 2020; 127 (7): 977-9.
9. Deng C, Yang Y, Chen H, Chen W, Chen Z, Ma K, et al. Ocular detection of SARS-CoV-2 in 114 cases of COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: an observational study (2719/2020). Preprints. 3543587.
10. Azzolini C, Donati S, Premi E, Baj A, Siracusa C, Genoni A, et al. SARS-CoV-2 on ocular surfaces in a cohort of patients with COVID-19 from the Lombardy Region, Italy. *JAMA Ophthalmol* 2021 Mar 4: e205464. Doi:10.1001/jamaophthalmol.2020.5464. Online ahead of print.
11. Xia J, Tong J, Liu M, Shen Y, Guo D. Evaluation of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection. *J Med Virol* 2020; 92 (6): 589-94.
12. Zhang X, Chen X, Chen L, Deng C, Zou X, Liu W, et al. The evidence of SARS-CoV-2 infection on ocular surface. *Ocul Surf* 2020; 18 (3): 360-2.
13. Kaya H, Caliskan A, Okul M, Sari T, Akbudak İH. Detection of SARS-CoV-2 in tears and conjunctival secretions of Coronavirus disease 2019 patients. *J Infect Dev Ctries* 2020; 14 (9): 977-81.
14. Arora R, Goel R, Kumar S, Chhabra M, Saxena S, Manchanda V, et al. Evaluation of SARS-CoV-2 in tears of patients with moderate to severe COVID-19. *Ophthalmology*. 2021; 128 (4): 494-503.
15. Karimi S, Arabi A, Shahraki T, Safi S. Detection of severe acute respiratory syndrome Coronavirus-2 in the tears of patients with Coronavirus disease 2019. *Eye (Lond)*. 2020; 34 (7): 1220-3.
16. Zhou Y, Duan C, Zeng Y, Tong Y, Nie Y, Yang Y, et al. Ocular findings and proportion with conjunctival SARS-COV-2 in COVID-19 patients. *Ophthalmology*. 2020; 127 (7): 982-3.
17. Atum M, Boz AAE, Cakır B, Karabay O, Koroglu M, Ogutlu A, et al. Evaluation of conjunctival swab PCR results in patients with SARS-CoV-2 infection. *Ocul Immunol Inflamm* 2020; 28 (5): 745-8.
18. K, Aşıkgarip N, Hızmalı L, Sezgin FM, Şahin Y. Evaluation of nasopharyngeal and conjunctival swab samples of hospitalised patients with confirmed COVID-19. *Ocul Immunol Inflamm* 2021; 1-4.
19. Kumar KK, Sampritha UC, Akshata AP, Karishma A, Chandraprabha S, Neeraja TG, et al. Ophthalmic manifestations in the COVID-19 clinical spectrum. *Indian J Ophthalmol* 2021;69(3):691-4.
20. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hog Z, et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N Engl J Med* 2020; 382 (12): 1177-9.
21. Memish ZA, Al- Tawfiq JA, Makhdoom HQ, Assiri A, Alhakeem RF, Albarrak A, et al. Respiratory tract samples, viral load, and genome fraction yield in patients with Middle East respiratory syndrome. *J Infect Dis* 2014; 210: 1590-4.
22. Liang L, Wu P. There may be virus in conjunctival secretions of patients with COVID-19. *Acta Ophthalmol* 2020; 98 (3): 223.
23. Wu P, Duan F, Luo C, Liu Q, Qu X, Liang L, et al. Characteristics of ocular findings of patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Hubei Province, China. *JAMA Ophthalmol* 2020; 138 (5): 575-8.
24. Yan A. Chinese expert who came down with Wuhan coronavirus after saying it was controllable thinks he was infected through his eyes China: South China morning post. <https://www.scmp.com/news/china/article/3047394/chinese-expert-who-came-downwuhan-coronavirus-after-saying-it-was>. 2020.
25. Cheema M, Aghazadeh H, Nazarali S, Ting A, Hodges J, McFarlane A, et al. Keratoconjunctivitis as the initial medical presentation of the novel coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Can J Ophthalmol* 2020; 55 (4): 125-9.
26. Guan W-J, Ni Z-Y, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China. *N Engl J Med* 2020; 382 (18): 1708-20.

## The predictive role of preoperative full blood count markers and the De-Ritis ratio in the diagnosis of testicular tumor

*Preoperatif tam kan sayımı belirteçleri ve De-Ritis oranının testis tümörünün tanısındaki prediktif yeri*

Hakan Bahadır Haberal

Kubilay Sarıkaya

Fahri Erkan Sadioğlu

Muhammed Arif İbiş

Çağrı Şenocak

Ömer Faruk Bozkurt

Department of Urology, Ankara Kecioren Training and Research Hospital, Ministry of Health - University of Health Sciences, Ankara, Türkiye

### ABSTRACT

**Aim:** To determine the value of neutrophil-lymphocyte ratio (NLR), platelet-lymphocyte ratio (PLR), lymphocyte-monocyte ratio (LMR), systemic immune-inflammation (SII) index and De-Ritis ratio, which are among preoperative whole blood and biochemical parameters, in the diagnosis of testicular tumor.

**Materials and Methods:** The data of patients who underwent inguinal orchiectomy for testicular tumor in our clinic between October 2010 and December 2019 and patients who underwent varicocelectomy, as a control group, were retrospectively analyzed. Patients with missing data, under 18 years of age or with additional morbidity were excluded from the present study. Prediction values for NLR, PLR, LMR, SII index and De-Ritis ratio were determined and the value of these parameters in the diagnosis of testicular tumor was examined.

**Results:** Thirty-four (14.1%) patients underwent inguinal orchiectomy while 207 (85.9%) patients underwent varicocelectomy in the present study. The median age of the patients during surgery was 27 (23-32) years. The number of patients with seminoma, mixt germ cell tumor, yolk sac tumor and embryonal carcinoma was 18 (52.9%), 12 (35.3%), 3 (8.8%) and 1 (2.9%), respectively. It was determined that 61.8% of the patients with testicular tumors were in the T2 stage and 35.3% had metastasis. The cut-off values for NLR, PLR, LMR and SII index were determined as 1.76, 133.43, 7.81 and 571.63, respectively. There was no statistically significant cut-off value for De-Ritis ratio ( $p = 0.183$ ). The only significant factor for predicting testicular tumor was SII index in multivariate analysis ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** SII index is a predictive factor that can be used in the diagnosis of testicular tumor.

**Keywords:** Inflammation, cancer, lymphocyte count, neutrophil count, testicular tumor.

### ÖZ

**Amaç:** Preoperatif tam kan ve biyokimyasal parametrelerden nötrofil-lenfosit oranı (NLO), trombosit-lenfosit oranı (TLO), lenfosit-monosit oranı (LMO), sistemik immün-inflamasyon (SII) indeksi ve De-Ritis oranının testis tümörü tanısındaki yerinin belirlenmesi.

**Gereç ve Yöntem:** Ekim 2010 ile Aralık 2019 tarihleri arasında kliniğimizde testis tümörü nedeniyle inguinal orşiektomi yapılan hastaların ve kontrol grubu olarak varikoselektomi yapılan hastaların verileri retrospektif olarak incelendi. Verileri eksik olan, 18 yaşın altında olan veya ek morbiditesi olan hastalar çalışma dışında bırakıldı. NLO, TLO, LMO, SII indeksi ve De-Ritis oranı için kestirim değerleri belirlendi ve bu parametrelerin testis tümörü tanısındaki yeri incelendi.

Corresponding author: Hakan Bahadır Haberal  
Department of Urology, Ankara Kecioren Training and  
Research Hospital, Ministry of Health - University of Health  
Sciences, Ankara, Türkiye

E-mail: [bahadirhaberal@gmail.com](mailto:bahadirhaberal@gmail.com)

Application date: 18.08.2021

Accepted: 11.11.2021

**Bulgular:** Çalışmaya dahil edilen hastaların 34'ünü (%14,1) testis tümörlü hastalar, 207'sini (%85,9) varikoselektomi yapılan hastalar oluşturmaktaydı. Hastaların ameliyat esnasındaki ortalama yaşlarının 27 (23-32) yıl olduğu görüldü. Testis tümörlü hastaların 18'inde (%52,9) seminom, 12'sinde (%35,3) mikst germ hücreli tümör, 3'ünde (%8,8) yolk sac tümörü ve 1'inde (%2,9) embriyonel karsinom izlendi. Testis tümörlü hastaların %61,8'inin T2 evresinde ve %35,3'ünde metastaz olduğu belirlendi. NLO, TLO, LMO ve SII indeksi için sırasıyla kestirim değerleri 1,76, 133,43, 7,81 ve 571,63 olarak belirlendi. De-Ritis oranı için istatistiksel olarak anlamlı bir kestirim değeri bulunamadı ( $p=0.183$ ). Çok değişkenli analiz yapıldığında, sadece SII indeksinin testis tümörünün öngörülmesinde anlamlı olduğu görüldü ( $p<0.001$ ).

**Sonuç:** SII indeksi testis tümörü tanısında kullanılabilecek prediktif bir faktördür.

**Anahtar Sözcükler:** İnflamasyon, kanser, lenfosit sayısı, nötrofil sayısı, testis tümörü.

## INTRODUCTION

Testicular tumor is the most common malignancy in the male population aged 15-40 years, with an increasing incidence over the last 30 to 40 years (1). Testicular germ cell tumors account for approximately 90-95% of all testicular tumors. Conventionally used tumor markers for the diagnosis of germ cell testicular tumors include alpha fetoprotein (AFP), beta human chorionic gonadotropin (bHCG), and lactate dehydrogenase (LDH). However, currently, studies are ongoing to reveal different markers other than these (2).

It is believed that inflammatory conditions may have a role in the development of malignancy (3). Therefore, hematological and biochemical parameters have been used for diagnostic and prognostic purposes in various cancers. For this purpose, various parameters have been created from complete blood and biochemical data. These parameters primarily consist of neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR), and lymphocyte-to-monocyte ratio (LMR) (4, 5). In 2014, Hu et al. defined the systemic immune-inflammation (SII) index by evaluating complete blood parameters together (6). The De-Ritis ratio was first described in 1957 and has been shown to be useful in the diagnosis of viral hepatitis (7). Studies in the literature have shown that the De-Ritis ratio can also be used for diagnostic and prognostic purposes in different malignancies (8, 9).

In the literature, there is no sufficient data regarding studies diagnostically evaluating hematological and biochemical parameters together in testicular tumors (10-12). Therefore, this study we aimed to evaluate preoperative hematological and biochemical parameters together to determine their role in the diagnosis of testicular tumor.

## MATERIALS and METHODS

The data of patients who underwent inguinal orchiectomy for a testicular tumor in Kecioren Training and Research Hospital between October 2010 and December 2019 were retrospectively analyzed. Patients who underwent inguinal varicocelelectomy in the same period were included in the study as the control group. Patients with missing data, under 18 years of age, using immunosuppressive drugs, having liver-related diseases or liver metastases were excluded from the study. This study was approved by ethics committee (Kecioren Research and Training Hospital, Clinical Research Ethics Committee, 2012-KAEK-15/2239, 23.02.2021).

At the time of diagnosis, patients with testicular tumors were evaluated using thoraco-abdominopelvic computed tomography for the presence of metastasis. Patients' age, tumor size, and preoperative AFP, bHCG, and LDH values were recorded. The complete blood parameters of neutrophil count and percentage, lymphocyte count and percentage, monocyte count, and platelet count were obtained from the preoperative examinations of the patients performed in the past preoperative 2 weeks. These data were used to calculate NLR, PLR, LMR, SII index, and De-Ritis ratio. The SII index was calculated using the following formula:  $\text{platelet count} \times \text{NLR}$  ( $\text{SII}=\text{PxNLR}$ ) (6). The De-Ritis ratio was calculated using the following formula:  $\frac{\text{aspartate aminotransferase (AST)}}{\text{alanine aminotransferase (ALT)}}$  (7).

Patients with a testicular tumor and patients who underwent varicocelelectomy were compared in terms of blood parameters. Subgroup analysis was performed in patients with testicular tumors; and metastatic and non-metastatic patients were compared in terms of blood parameters. Statistical Package for the Social Sciences



(SPSS) version 24.0 (IBM Corp.) software was used for statistical analysis of the data. The distribution of data was evaluated by the Kolmogorov-Smirnov test. The Mann-Whitney U test was used for analysis of the quantitative data, and the median and interquartile range were used to present the data. The predictive values of blood parameters were calculated using receiver operating characteristics (ROC) curves. Parameters that were found to be significant in univariate analysis were analyzed by multivariate analysis. Binary logistic regression analysis backward stepwise technique was used for multivariate analysis. The level of statistical significance was set at  $p < 0.05$ .

## RESULTS

Of the patients included in the study, 34 (14.1%) had a testicular tumor and 207 (85.9%) had undergone varicocelectomy. The median age of the patients during surgery was 27 (23-32) years. The median testicular tumor size was 45 (range, 30-70) mm. Demographics and preoperative clinical data of patients were given in Table-1. Considering the pathologies of the patients operated for a testicular tumor, 18 patients (52.9%) had seminoma, 12 patients (35.3%) had a mixed germ cell tumor, 3 patients (8.8%) had a

yolk sac tumor, and 1 patient (2.9%) had embryonal carcinoma. Of the patients with a testicular tumor, 61.8% (n=21) had T2 stage disease and 35.3% (n=12) had metastasis.

The testicular tumor group had significantly higher median NLR, median SII index, and median PLR than the varicocelectomy group ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p = 0.014$ , respectively). The varicocelectomy group had a significantly higher median LMR ( $p < 0.001$ ). The testicular tumor group had a numerically higher median De-Ritis ratio, but the difference was not statistically significant ( $p = 0.183$ ).

The threshold values of NLR, PLR, LMR, and SII index were 1.76, 133.43, 7.81, and 571.63, respectively. The De-Ritis ratio did not have a statistically significant threshold value ( $p = 0.183$ ) (Table-2) (Figure-1). The multivariate analysis revealed that only the SII index was significant in predicting testicular tumor ( $p < 0.001$ ) (Table-3).

Patients with metastasis at the time of diagnosis and non-metastatic patients were compared in terms of blood parameters. There is no statistically significant difference between the groups in terms of NLR, PLR, LMR, De-Ritis ratio and SII index ( $p = 0.631$ ,  $p = 0.826$ ,  $p = 0.466$ ,  $p = 0.296$ ,  $p = 0.423$ , respectively).

**Table-1.** Demographics and preoperative clinical data of patients.

Surgery Type (N, %)	Varicocelectomy	207 (85.9)
	Inguinal Orchiectomy	34 (14.1)
Age, years, median (IQR)		27 (9)
Neutrophil count, ( $10^3/\mu\text{L}$ ), median (IQR)		4.2 (1.8)
Lymphocyte count, ( $10^3/\mu\text{L}$ ), median (IQR)		2.3 (0.7)
Platelet count, ( $10^3/\mu\text{L}$ ), median (IQR)		229 (77)
Monocyte count, ( $10^3/\mu\text{L}$ ), median (IQR)		0.5 (0.2)
ALT, U/L, median (IQR)		20 (13)
AST, U/L, median (IQR)		21 (7)

**Table-2.** Sensitivity, specificity and threshold values of NLR, PLR, LMR, SII Index and De-Ritis Ratio.

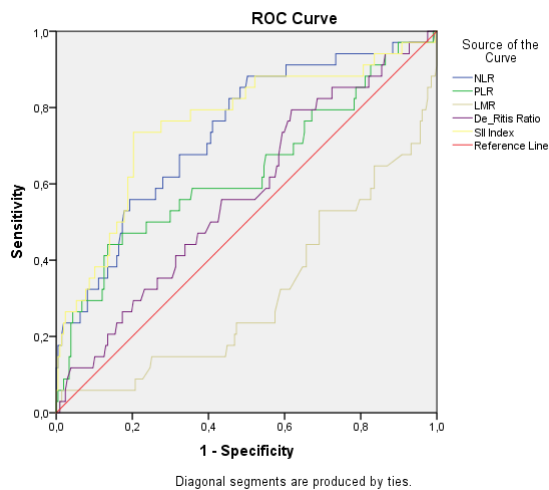
	Threshold Value	Sensitivity (%)	Specificity (%)	95% CI	p
NLR	1.76	88.2	49.8	0.734 (0.642-0.826)	<0.001
PLR	133.43	44.1	86.5	0.631 (0.518-0.745)	0.014
LMR	7.81	5.9	98.6	0.311 (0.210-0.413)	<0.001
SII Index	571.63	73.5	79.7	0.759 (0.663-0.856)	<0.001
De-Ritis Ratio	0.893	79.4	38.2	0.571 (0.469-0.673)	0.183

NLR: neutrophil-lymphocyte ratio, PLR: platelet-lymphocyte ratio, LMR: lymphocyte-monocyte ratio, SII: systemic immune-inflammation.

**Table-3.** Multivariate analysis for factors predicting testicular tumor.

	<b>Testicular Tumor Risk</b>	
	<b>OR (95%CI)</b>	<b>p</b>
<b>NLR</b>	2.111 (0.543-8.203)	0.281
<b>PLR</b>	1.598 (0.635-4.024)	0.320
<b>LMR</b>	4.469 (0.519-38.505)	0.173
<b>SII Index</b>	10.913 (4.740-25.122)	<0.001

OR: Odds ratio, NLR: neutrophil–lymphocyte ratio, PLR: platelet–lymphocyte ratio, LMR: lymphocyte–monocyte ratio, SII: systemic immune-inflammation.



**Figure-1.** Receiver operating characteristic (ROC) curves for the neutrophil–lymphocyte ratio (NLR), platelet–lymphocyte ratio (PLR), lymphocyte-monocyte ratio (LMR), systemic immune-inflammation (SII) index and De-Ritis ratio against testicular tumor risk.

## DISCUSSION

In this cross-sectional study, the univariate analysis revealed that NLR, PLR, LMR, and SII index were correlated with testicular tumor development. In multivariate analysis, only the SII index was an independent prognostic factor. However, we could not find any correlation between the De-Ritis ratio and testicular tumor. Subgroup analysis was performed in patients with testicular tumors, but it was observed that the presence of metastases did not make any difference in terms of parameters.

Today, local and systemic inflammation is known to be one of the important parameters in cancer development (3, 13). The process of tumoral inflammation is also critical for angiogenesis and invasion. While low lymphocyte count is associated with cellular immunity disorder, elevated levels of neutrophil are correlated with

growth factors and chemokines associated with angiogenesis (14, 15). For these reasons, various inflammatory markers have been found to be associated with progression in different cancers. These markers are primarily composed of NLR, LMR, PLR, albumin-to-globulin ratio, and AST-to-platelet ratio (4, 5, 16, 17). Various studies have shown that these markers may have prognostic significance in testicular tumors (10, 11, 18). In line with the current literature, the univariate analysis in our study revealed that high NLR and PLR, and low LMR were significant in predicting testicular tumors, and threshold values were obtained for these parameters. The multivariate analysis showed that these factors did not retain a level of significance. The reason for this was thought to be due to the fact that the SII index, which includes all these factors in a holistic way, was significant in the multivariate analysis.

The SII index was developed by Hu et al. in 2014 (6). Their study showed that the SII index was prognostic for recurrence and survival in patients with hepatocellular carcinoma. When the literature is reviewed, the SII index has been evaluated in different cancers and has been shown to be prognostic for treatment response and survival (19, 20). In testicular tumors, a high SII index has been shown to be associated with a poor prognosis (11, 21, 22). In parallel with this, the SII index was also found to be higher in testicular tumor patients in our study. We are of the opinion that the SII index including the combination NLR and PLR, which are other important complete blood parameters, makes this marker a significant prognostic marker. A comprehensive interpretation by looking at a single marker makes it more valuable. The limited number of testicular tumor patients prevented us from carrying out prognostic evaluations in terms of stages. Therefore, the significance of the SII index on the basis of stage

could not be evaluated in the present study. A comparison was made only in terms of the presence of metastases, and it was determined that there was no difference between the groups. The De-Ritis ratio was first defined in 1957 and was initially used for viral hepatitis (7). However, it has been reported in the literature that it is a prognostic factor in solid organ tumors such as nasopharyngeal, liver, bladder, and renal cell carcinoma (23-25). Considering the relationship between testicular tumor and the De-Ritis ratio, there are conflicting results in the literature. In their studies, Guner et al. and Gorgel et al. showed that a high De Ritis ratio was associated with a poor prognosis, on the contrary, the study of Olcucu et al. found no significant correlation between the De-Ritis ratio and testicular tumor stage (12, 26, 27). Our study also showed no significant correlation between the De Ritis ratio and testicular tumor development. The smaller number of our testicular tumor patients than the above mentioned studies may have been effective in this result. Studies including a higher number of patients are needed to elucidate the relationship between the De-Ritis ratio and testicular tumor.

The major limitations of our study are its single-center and retrospective design. Secondly, the

relatively small number of patients in the testicular tumor group is another limitation of our study. Although the complete blood and biochemical data of the patients were obtained from the preoperative data, non-inclusion of other acute phase reactants in the study can be considered another limitation. The small number of high stage patients prevented us from making a stage-based evaluation in patients with testicular tumors. Despite the current limitations, we believe that the evaluation of different markers together increased the value of our study, contributed to the existing literature, and gave an idea for future studies.

## CONCLUSION

The SII index, one of the hematological parameters, is an independent predictive factor that can be used for the diagnosis of testicular tumors. The fact that it is an inexpensive examination and is routinely evaluated before surgery is considered its important advantage. Prospective studies with larger patient populations will contribute to our knowledge on this subject.

**Conflict of interest:** Authors declared no conflict of interest.

## References

1. Park JS, Kim J, Elghiatty A, Ham WS. Recent global trends in testicular cancer incidence and mortality. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97: e12390.
2. Leao R, Ahmad AE, Hamilton RJ. Testicular Cancer Biomarkers: A Role for Precision Medicine in Testicular Cancer. *Clin Genitourin Cancer*. 2019; 17: e176-e83.
3. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008; 454: 436-44.
4. Han X, Liu S, Yang G, et al. Prognostic value of systemic hemato-immunological indices in uterine cervical cancer: A systemic review, meta-analysis, and meta-regression of observational studies. *Gynecol Oncol*. 2021; 160: 351-60.
5. Templeton AJ, McNamara MG, Seruga B, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2014; 106: dju124.
6. Hu B, Yang XR, Xu Y, et al. Systemic immune-inflammation index predicts prognosis of patients after curative resection for hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2014; 20: 6212-22.
7. De Ritis F, Coltorti M, Giusti G. An enzymic test for the diagnosis of viral hepatitis; the transaminase serum activities. *Clin Chim Acta*. 1957; 2: 70-4.
8. Knittelfelder O, Delago D, Jakse G, et al. The AST/ALT (De Ritis) Ratio Predicts Survival in Patients with Oral and Oropharyngeal Cancer. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10.
9. Su S, Liu L, Li C, Zhang J, Li S. Prognostic Role of Pretreatment De Ritis Ratio (Aspartate Transaminase/Alanine Transaminase Ratio) in Urological Cancers: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2020; 10: 1650.
10. Arda E, Arikan G, Akdere H, Akgul M, Yuksel I. Predictive and prognostic impact of preoperative complete blood count based systemic inflammatory markers in testicular cancer. *Int Braz J Urol*. 2020; 46: 216-23.

11. Imamoglu GI, Eren T, Baylan B, Karacin C. May High Levels of Systemic Immune-Inflammation Index and Hematologic Inflammation Markers Suggest a Further Stage in Testicular Tumours? *Urol Int.* 2019; 103: 303-10.
12. Olcucu MT, Karamik K, Yilmaz K, Okuducu Y, Cakir S, Ates M. Preoperative Inflammation Markers and De Ritis Ratio in Predicting Clinical Presentation and Prognosis of Patients with Testicular Germ Cell Tumors. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2020; 30: 1041-6.
13. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000; 100: 57-70.
14. Ding PR, An X, Zhang RX, et al. Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts risk of recurrence following curative resection for stage IIA colon cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2010; 25: 1427-33.
15. Kusumanto YH, Dam WA, Hospers GA, Meijer C, Mulder NH. Platelets and granulocytes, in particular the neutrophils, form important compartments for circulating vascular endothelial growth factor. *Angiogenesis.* 2003; 6: 283-7.
16. Solanki SL, Kaur J, Gupta AM, et al. Cancer related nutritional and inflammatory markers as predictive parameters of immediate postoperative complications and long-term survival after hepatectomies. *Surg Oncol.* 2021;37:101526.
17. Wei C, Yu Z, Wang G, Zhou Y, Tian L. Low Pretreatment Albumin-to-Globulin Ratio Predicts Poor Prognosis in Gastric Cancer: Insight From a Meta-Analysis. *Front Oncol.* 2020; 10: 623046.
18. Ilktac A, Dogan B, Ersoz C, Akcay M, Akbulut H. The relationship of neutrophil to lymphocyte ratio with testicular cancer. *Int Braz J Urol.* 2020; 46: 101-7.
19. Huang Y, Gao Y, Wu Y, Lin H. Prognostic value of systemic immune-inflammation index in patients with urologic cancers: a meta-analysis. *Cancer Cell Int.* 2020; 20: 499.
20. Ji Y, Wang H. Prognostic prediction of systemic immune-inflammation index for patients with gynecological and breast cancers: a meta-analysis. *World J Surg Oncol.* 2020; 18: 197.
21. Chovanec M, Cierna Z, Miskovska V, et al. Systemic immune-inflammation index in germ-cell tumours. *Br J Cancer.* 2018; 118: 831-8.
22. Fankhauser CD, Sander S, Roth L, et al. Systemic inflammatory markers have independent prognostic value in patients with metastatic testicular germ cell tumours undergoing first-line chemotherapy. *Br J Cancer.* 2018; 118: 825-30.
23. Kang M, Shin SJ, Sung HH, et al. Clinical Significance of Pre-to-Postoperative Dynamics of Aspartate Transaminase/Alanine Transaminase Ratio in Predicting the Prognosis of Renal Cell Carcinoma after Surgical Treatment. *Dis Markers.* 2020; 2020: 8887605.
24. Wu J, Chen L, Wang Y, Tan W, Huang Z. Prognostic value of aspartate transaminase to alanine transaminase (De Ritis) ratio in solid tumors: a pooled analysis of 9,400 patients. *Onco Targets Ther.* 2019; 12: 5201-13.
25. Wu J, Li S, Wang Y, Hu L. Pretreatment Aspartate Aminotransferase-to-Alanine Aminotransferase (De Ritis) Ratio Predicts the Prognosis of Nonmetastatic Nasopharyngeal Carcinoma. *Onco Targets Ther.* 2019; 12: 10077-87.
26. Gorgel SN, Akin Y, Koc EM, Kose O, Ozcan S, Yilmaz Y. Impact of increased aspartate aminotransferase to alanine aminotransferase (De Ritis) ratio in prognosis of testicular cancer. *Investig Clin Urol.* 2019; 60: 169-75.
27. Guner E, Seker KG, Arikan Y, Huseynov C, Sam E, Ozdal OL. The utility of De Ritis Ratio in predicting prognosis in testicular cancer. *Aktuelle Urol.* 2020; 51: 285-9.

## Applicability of endoscopic submucosal dissection after unsuccessful endoscopic mucosal resection in colorectal laterally spreading tumors: a single center experience

*Kolorektal lateral yayımlı tümörlerde başarısız endoskopik mukozal rezeksiyon sonrası endoskopik submukozal diseksiyonun uygulanabilirliği: tek merkez deneyimi*

Abdullah Murat Buyruk

Ayten Livaoğlu

Aydın Aktaş

Trabzon Kanuni Training and Research Hospital, Trabzon, Türkiye

### ABSTRACT

**Aim:** Endoscopic mucosal resection might technically be unsuccessful (interrupted endoscopic mucosal resection) in some cases when treating large colorectal laterally spreading tumors. In the literature, data on the outcomes of the endoscopic submucosal dissection method in endoscopic mucosal resection interrupted tumors are lacking. In this study, we evaluated the results of patients who underwent endoscopic submucosal dissection for endoscopic mucosal resection interrupted laterally spreading tumors.

**Materials and Methods:** Between February 2019 and April 2021, 8 patients with endoscopic mucosal resection interrupted colorectal laterally spreading tumors underwent endoscopic submucosal dissection. The primary endpoint was en bloc, R0, and curative resection rates of endoscopic submucosal dissection.

**Results:** In all cases, endoscopic submucosal dissection was successfully completed. The mean tumor size was 61.5 mm (35–100 mm). The rate of en bloc resection, R0 resection and curative resection was 100%, 87.5% and 87.5% respectively. Intra-procedural perforation occurred in 1 patient (12.5%) and was successfully treated with clip application. Delayed bleeding occurred in 1 patient (12.5%), and was successfully treated with endoluminal hemostasis. Furthermore, histopathological examination revealed that laterally spreading tumors in 4 patients (50.0%) had submucosal invasion. Surgical resection was performed after endoscopic submucosal dissection in 1 patient owing to the presence of deep submucosal invasion.

**Conclusion:** Endoscopic submucosal dissection is an effective and relatively safe method in endoscopic mucosal resection interrupted colorectal laterally spreading tumors.

**Keywords:** Interrupted endoscopic mucosal resection, endoscopic submucosal dissection, laterally spreading tumors.

### Öz

**Amaç:** Geniş kolorektal lateral yayımlı tümörlerin tedavisinde endoskopik mukozal rezeksiyon bazı durumlarda teknik olarak başarısız (tamamlanmamış endoskopik mukozal rezeksiyon) olabilir. Endoskopik mukozal rezeksiyon tamamlanmamış tümörlerde endoskopik submukozal diseksiyon yönteminin uygulanabilirliği ile ilgili literatürde kısıtlı veri mevcuttur. Biz bu çalışmada tamamlanmamış endoskopik mukozal rezeksiyon sonrasında endoskopik submukozal diseksiyon uyguladığımız kolorektal lateral yayımlı tümörlü hastaların sonuçlarını analiz ettik.

**Gereç ve Yöntem:** Şubat 2019- Nisan 2021 tarihleri arasında endoskopik mukozal rezeksiyon tamamlanmamış kolorektal lateral yayımlı tümörlerde endoskopik submukozal diseksiyon uygulanan 8 hasta çalışmaya dahil edildi. Primer sonlanım noktası olarak endoskopik submukozal diseksiyon ile en bloc, R0 ve küratif rezeksiyon oranlarına bakıldı.

Corresponding author: Abdullah Murat Buyruk  
Trabzon Kanuni Training and Research Hospital,  
Trabzon, Türkiye

E-mail: amuratbuyruk@gmail.com

Application date: 14.08.2021 Accepted: 15.11.2021

**Bulgular:** Tüm hastalarda endoskopik submukozal diseksiyon başarı ile tamamlandı. Ortalama tümör çapı 61,5 mm (35-100 mm) idi. En bloc, R0 ve küratif rezeksiyon oranları sırayla %100, %87,5 ve %87,5'dü. Uygulama esnasında perforasyon bir (%12,5) hastada görüldü ve klip uygulanarak tedavi edildi. Gecikmiş kanama bir (%12,5) hastada izlendi ve endoluminal hemostaz sağlandı. Histopatolojik incelemede lateral yayımlı tümörlerin dördünde (%50,0) submukozal invazyon izlendi. Derin submukozal invazyon nedeniyle bir hastada endoskopik submukozal diseksiyon sonrasında cerrahi rezeksiyon uygulandı.

**Sonuç:** Endoskopik mukozal rezeksiyon tamamlanmamış kolorektal lateral yayımlı tümörlerde endoskopik submukozal diseksiyon etkili ve oldukça güvenilir bir yöntemdir.

**Anahtar Sözcükler:** Başarısız endoskopik mukozal rezeksiyon, endoskopik submukozal diseksiyon, lateral yayımlı tümör.

## INTRODUCTION

Piecemeal resection of large colorectal laterally spreading tumors (LST; up to 130 mm in size) with endoscopic mucosal resection (EMR) is technically possible; nevertheless, the development of residue or recurrence is the major problem observed in up to 55% cases in the follow-up period (1). Technically, it is difficult to repeat the application of EMR in residual or recurrent lesions because of the dense submucosal fibrosis (2–4). Endoscopic submucosal dissection (ESD) is the recommended salvage treatment procedure in these lesions as it can provide en bloc resection despite the presence of submucosal fibrosis (5).

Although large LSTs can be treated by EMR, it may fail (EMR interrupted) in some cases, such as those with positive non-lifting sign, poor endoscope operability, difficult locations (i.e., involvement of ileocecal valve or appendiceal orifice or the extension of the rectum to the dentate line), assessed as high risk for submucosal invasive cancers after commencing EMR, anesthetic reaction (1, 2). Similar to residual or recurrent lesions, severe submucosal fibrosis is an expected finding in EMR interrupted tumors (2). However, apart from residual or recurrent lesions, there is no consensus in the literature about the treatment of EMR interrupted tumors.

In this study, we aimed to demonstrate the feasibility of ESD in EMR interrupted colorectal LSTs.

## MATERIALS and METHODS

Between February 2019 and April 2021, a total of 8 colorectal LSTs in 8 patients who had a history of interrupted EMR underwent en bloc resection with ESD were eligible for inclusion. Interrupted EMR was defined as the termination of EMR owing to various reasons

including positive non-lifting sign, extension to the anal canal, or depressed appearance.

En bloc resection of lesions that could not be achieved with ESD and local residual/recurrent lesions were not included in the study. ESD indications were evaluated according to the Japan Gastroenterological Endoscopy Society guideline (5). Written consents were obtained from all participants

Pre-ESD assessment:

All lesions were initially detected using conventional methods and were then examined using the narrow band imaging (NBI) system without magnification to evaluate endoscopic surface, vascular features and color (NICE [NBI International Colorectal Endoscopic] classification) (6). Lesion size and location was noted. Cecum, ascending colon and transverse colon as right colon, descending colon and sigmoid colon were defined as left colon. LSTs were also classified according to the LST classification (4).

ESD equipment and procedure:

All ESDs were carried out by a single operator (A.M.B.) experienced in colorectal ESD. The procedures were performed under conscious sedation using intravenous midazolam and fentanyl or deep sedation with propofol. All ESDs were performed using Olympus equipment (Olympus Exera processors and 180–190 series endoscopes). Carbon dioxide insufflation was used for all procedures. Sodium hyaluronate acid with a small amount of methylene blue dye was used for the injection into the submucosal layer. According to the appearance of the submucosal layer, mild fibrosis was grouped as F0 (no fibrosis) or F1 (submucosal layer appears blue transparent), and severe fibrosis was grouped as F2 (severe fibrosis; submucosal layer looks like a white muscle layer) (7). A small size type transparent hood (ST hood) (Fujifilm, Japan) was used for all ESDs. ESD was

performed using a 1.5-mm long Flush knife (DK2620J-B15S; FTS, Tokyo, Japan) powered by a high-frequency electrosurgical unit (VIO 200D, ERBE Elektromedizin, Tübingen, Germany). Pocket-creation method was used during ESD (8). In cases where adequate elevation could not be achieved owing to intense submucosal fibrosis, traction was applied with the multi-loop method (9).

Intra-procedural bleeding was defined as bleeding lasting longer than 60 seconds during ESD. Post-procedural bleeding was defined as a decrease in hemoglobin value >2 g/dL with rectal bleeding after ESD compared to the preoperative value. It was grouped as intraoperative perforation if occurs during ESD and delayed perforation if occurs after ESD (10). No clip was applied to the ESD ulcer after dissection. Procedure time was calculated as the time between injection and complete dissection.

#### Histopathological examination:

Histological findings were reported according to the Vienna classification (11). According to the Japanese Classification, pathological diagnoses were T1a when the invasion depth was <1,000 µm and T1b when the depth invasion depth 1,000 µm (12). En bloc resection was defined as resection in one piece. R0 resection was defined horizontal and vertical margins free from any type of neoplasia. Curative resection was described as en bloc resection with negative vertical (the invasion depth <1,000 µm) and lateral margins, without lymphovascular infiltration (13). Additional surgery was recommended when these criteria were not met.

#### Follow-up evaluation:

Control colonoscopies were planned at 3 and 12 months after ESD. Biopsy specimens were not routinely taken from the ESD scar unless there was a suspicion of recurrence in the control colonoscopy.

#### Measured outcomes:

The primary endpoint of our study was to evaluate en bloc, R0 and curative resection rates of ESD in EMR interrupted LSTs. Secondary endpoints were submucosal fibrosis frequency, the rate of traction method requirement, ESD-related complication rates, and histopathological correlation after EMR-ESD.

## RESULTS

ESD was applied to 8 colorectal LSTs with EMR interrupted. Patient details are outlined in Table-1, 2. The female ratio was 25% (2/8).

The median age of the patients was 62.5 years (48–83 years). The mean period from the interrupted EMR to ESD was 18 days (1–90 days). Interrupted EMR was caused by positive non-lifting sign in 5 lesions, technical failure due to flat structure and extension to the anal canal in 2 lesions, and technical failure due to depressed appearance in 1 lesion. Mean size (the maximum diameter) of resected tumors was 61.5 mm (35–100 mm). 6/8 (75%) of LSTs were granular (LST-G) and all LST-G lesions were mixed (LST-GM). One of the non-granular LST (LST-NG) was pseudo-depressed (LST-NG-PD) type. Four lesions were in the rectum, 1 lesion was in the left colon and 3 lesions were in the right colon. The 2 lesions in the rectum were also extending to the anal canal. All LSTs were evaluated as NICE type 2. The non-lifting sign was positive in 6/8 (75%) of the lesions. Severe fibrosis was observed in 7/8 (87.5%) of LSTs. Traction method (12.5%) was only used in one patient. The en bloc resection, the R0 resection and the curative resection rates were 100%, 87.5% and 87.5% respectively (Table-3). The mean procedure duration is 134 minutes (25–300 minutes) (Table-2). Intra-procedural perforation (2 × 2 mm) was observed as a complication in 1 patient (12.5%). It was closed with metal clips. Delayed bleeding was observed in one patient (12.5%). The bleeding complication was controlled by monopolar hemostatic forceps with soft coagulation (Table-3). In the histopathological examination, 1 LST was diagnosed as traditional serrated adenoma, 1 as tubulovillous adenoma with high-grade dysplasia, 2 as carcinoma in situ, and 4 as adenocarcinoma (T1). Of the T1 tumors, 3 were evaluated as T1a and 1 as T1b (Table-2). Right hemicolectomy was performed for T1b LST. No residual tumor and metastatic lymph node were observed in the pathological examination of the specimen. Comparison histopathology after EMR and ESD showed that results were correlated in only 2 LSTs (25%). Mean follow-up for all patients was 15.5 (3–26) months (Table-2). No recurrence was observed in the 3rd-month and 1st-year colonoscopies of 6 patients with a follow-up period longer than 1 year. Except for the patient who underwent surgery, no recurrence was observed in the 3rd-month control colonoscopy of the other patient with a follow-up period of less than 1 year.

**Table-1.** Clinicopathological features.

Variables	EMR interrupted tumors (n=8)
Sex, male/female (n)	6/2
Age (year), mean (range)	62.5±4.89 (48-83)
Time period from EMR to ESD (day), mean (range)	18 (0-90)
Location (n)	
Right colon	3
Left colon	1
Rectum	4
Tumor size (mm), mean (range)	61.5 (35-100) mm
LST subtype (n)	
LST-G	6
LST-NG	2
Submucosal fibrosis (n)	
Mild (F0/F1)	1
Severe (F2)	7
Final histopathologic diagnosis (n)	
LGD	0
HGD	1
Tis	2
T1a (<1,000 µm)	3
T1b (1,000 µm≤)	1
TSA	1

EMR, endoscopic mucosal resection; ESD, endoscopic submucosal dissection; LST, lateral spreading tumor; LST-G, lateral spreading tumor granular; LST-NG, lateral spreading tumor non-granular; LGD, low grade dysplasia; HGD, high grade dysplasia; Tis, diminutive intramucosal invasive.

**Table-2.** Endoscopic submucosal dissection for the treatment of endoscopic mucosal resection interrupted lateral spreading tumors: patient characteristics and outcomes.

Patient#	Age, years	Sex	LST type	Site	Tumor size, mm	EMR-ESD interval, day	ESD time, minutes	Resection	Pathological findings	Complication
1	77	M	NG-F	SC	35x20	1	25	En bloc	T1a	None
2	48	M	G-M	AC	50x45	15	150	En bloc	T1b	None
3	55	M	G-M	C	45x37	0	140	En bloc	Tis	None
4	61	M	G-M	R	95x75	30	300	En bloc	T1a	Minor perforation
5	57	M	G-M	R	100x65	90	170	En bloc	T1a	None
6	83	F	G-M	R-DL	70x62	7	180	En bloc	TSA	None
7	56	F	G-M	R-DL	55x40	10	70	En bloc	HGD	None
8	63	M	NG-PD	HF	42x35	40	40	En bloc	Tis	Delayed bleeding

M, male; F, female; EMR, endoscopic mucosal resection; ESD, endoscopic submucosal dissection; LST-G-NM, Laterally spreading tumor, granular-nodular mixed; LST-NG-F, Laterally spreading tumor non-granular-flat elevated; LST-NG-PD, Laterally spreading tumor non-granular-pseudo depressed; SC, sigmoid colon; AC, ascending colon; C, caecum; R, rectum; R-DL, rectum involving the dentate line; HF, hepatic flexure; HGD, high grade dysplasia; Tis, diminutive intramucosal invasive.



**Table-3.** Endoscopic submucosal dissection (ESD) outcomes.

Variables	Salvage ESD performed (n=8)
Procedure time (min), mean (range)	134±83.7(25-300)
En bloc resection (n, %)	8 (100)
R0 resection (n, %)	7 (87.5)
Curative resection (n, %)	7 (87.5)
Complication (n, %)	2 (25)
Postoperative bleeding	1 (12.5)
Intraoperative perforation	1 (12.5)
Delayed perforation	0

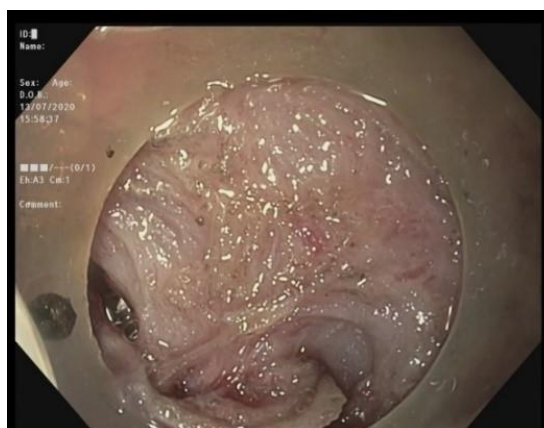
EMR, endoscopic mucosal resection; ESD, endoscopic submucosal dissection.

## DISCUSSION

Considering that colorectal ESD provides high en bloc resection rate (84–95%) and low recurrence risk (0-2%), it is an ideal treatment option for LSTs larger than 2 cm (5, 14). JGES guideline stated that another important indication of ESD is local residual or recurrent tumors following endoscopic resection (ESD or EMR) (5). ESD efficacy and safety in the treatment of colorectal local residual or recurrent tumors has been shown in many studies (2). However, unlike residual or recurrent lesions, there is only one study on the applicability of ESD treatment in EMR interrupted tumors (2). In the case series of Tanaka et al. that included 21 patients who underwent ESD for EMR interrupted tumors, en bloc, R0, curative resection rates were 86%, 86%, and 76%, respectively. The mean LST size in this study was 22 mm (6–30 mm) (2). Our study is important as it is the second study in which EMR interrupted tumors were treated with ESD. In our case series, the en bloc, R0 and curative resection rates were similar (100%, 87.5%, and 87.5%, respectively) although the mean size of the tumors was almost 3 times larger. In this respect, it has been shown that ESD can be a salvage treatment even if the lesion diameter is large in EMR interrupted LSTs (Figure 1-5). The JGES guideline does not recommend biopsy sampling in the differentiation adenoma/adenocarcinoma prior to colorectal endoscopic resection to prevent development of submucosal fibrosis (5). Biopsy sampling before treatment may increase the risk of fibrosis and has limited the diagnostic benefits (sensitivity, specificity and diagnostic accuracy rates of 36.6%, 90.5%, and 54.8%, respectively) (15).



**Figure-1.** 100 × 65 mm LST-GM type lesion covering ¼ of the lumen in the rectum.

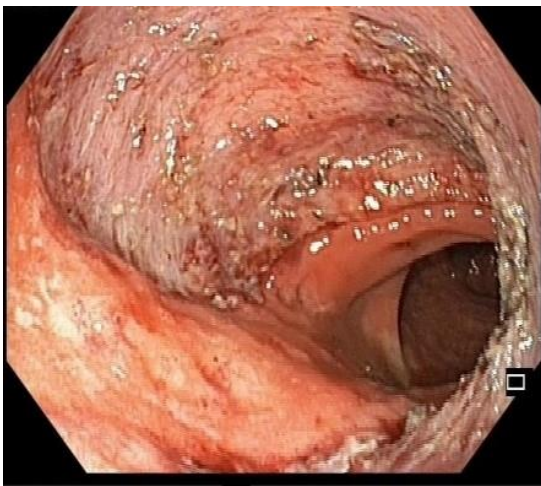


**Figure-2.** The lesion referred for ESD had a history of multiple biopsy and incomplete resection with EMR. LST, which had severe submucosal fibrosis during ESD.

Submucosal fibrosis is an expected condition in the presence of residue or recurrence after EMR/ESD or similarly in tumors with interrupted EMR (2).



**Figure-3.** LST was resected en bloc with ESD.



**Figure-4.** No complication was observed after ESD.



**Figure-5.** No recurrence was observed at the 3rd-month control colonoscopy after ESD.

In our case series, severe submucosal fibrosis was observed in most of the patients (87.5%). In addition, the correlation between the tissues removed by EMR with the final histopathology after ESD was examined and the diagnosis did not change in only 2 patients (25%). Therefore, our study showed that partial resection with EMR causes severe submucosal fibrosis and tissue samples obtained with EMR mostly did not reflect the lesion overall.

Guidelines recommend chromoendoscopy to predict deep submucosal invasion when planning treatment before endoscopic resection (5, 16, 17). The introduction of chromoendoscopy methods has enabled the in vivo diagnosis of LSTs; therefore, submucosal fibrosis that may occur after unnecessary biopsies and/or mucosal resections can be prevented. In this study, it was observed that none of the patients referred for ESD underwent chromoendoscopic examination prior to EMR. In our study, all lesions were found to be NICE type 2 in the chromoendoscopy evaluation before ESD, and curative resection was achieved in all but one patient. In conclusion, this study showed that chromoendoscopy rather than biopsy or tissue sampling by EMR is more critical in the treatment decision in colorectal LSTs with EMR interruption. In addition, this study reiterates that chromoendoscopic methods should be used more widely by therapeutic endoscopists.

Reportedly, the most common cause of interrupted EMR etiology is positive non-lifting sign. The non-lifting sign is a rapid and practical method for evaluating submucosal invasion. EMR is contraindicated in colorectal tumors with positive non-lifting sign owing to the risk of submucosal invasion. However, non-lifting sign has a specificity of 98.4% for T1b, while sensitivity (61.5) is low (18). Therefore, the non-lifting sign is insufficient to differentiate between resectable T1a tumors and T1b tumors. Severe submucosal fibrosis is also one of the conditions in which the non-lifting sign is positive (19). In our case series, although the most common cause of interrupted EMR etiology was non-lifting sign, T1b was observed in only 1 patient in the non-lifting sign etiology.

In the presence of severe submucosal fibrosis in the ESD procedure, the separation of the muscle and the submucosal layer during submucosal dissection becomes difficult, leading to prolongation of the procedure and an increased risk of complications (15, 20). Recently, with the development of ESD techniques (Pocket-creation method, traction methods), injection knives and caps developed for submucosal fibrosis such as ST hoods, ESD has become easier and safer in LSTs with severe submucosal fibrosis (2, 8, 9, 21). Apart from submucosal fibrosis in interrupted EMR tumors, one of the technical difficulties of ESD is tissue defects in the middle and/or margin of the lesion. In this respect, there may be difficulty in orientation during submucosal dissection or the existing tissue defect may be perceived as ESD-related mucosal damage. As we demonstrated in the present study, repetitive submucosal injections with a knife in areas where integrity is lost due to tissue defect and dissection of the non-fibrosis primarily area will help find the correct incision line. ESD was technically successful in all cases with the equipment and treatment strategy preferred in our series. Intra-procedural minor perforation was observed in only 1 patient, which was treated with an endoclip.

The present study has several limitations. Our study included a limited number of cases and all ESDs were carried out by a single experienced operator. The included tumors in our cases were technically difficult, and the results may not be relevant if the technique is

carried out by inexperienced endoscopists. Another negative aspect about the results of this study were based on the fibrosis in the endoscopic findings during the ESD. Histologic evaluation is often more objective than clinical evaluation. Another shortcoming of the study is the short follow-up period after ESD. Because of the previous history of resection with snare, even if the lesion was resected en bloc with ESD, it should be considered as a piecemeal resection. In addition, there may be tissues that cannot be sent to pathology during the previously performed EMR. Therefore, prospective studies evaluating long-term follow-ups that can assess recurrence are needed. In addition, there is no clear opinion about the optimal time to ESD application after incomplete EMR intervention. The ESD application time interval in our study is quite wide. Thus, multicenter, prospective studies are needed.

In conclusion, ESD in EMR interrupted LSTs is technically difficult, but it is very effective method when applied by experienced endoscopists.

#### **Statement of Ethics**

The authors have no ethical conflicts to disclose. All patients gave their written consent.

**Conflict of interest statement:** The authors have no conflicts (financial, professional, or personal) to declare.

#### **References**

1. Moss A, Williams SJ, Hourigan LF, et al. Long-term adenoma recurrence following wide-field endoscopic mucosal resection (WF-EMR) for advanced colonic mucosal neoplasia is infrequent: results and risk factors in 1000 cases from the Australian Colonic EMR (ACE) study. *Gut*. 2015; 64 (1): 57-65.
2. Tanaka H, Oka S, Tanaka S, et al. Salvage endoscopic submucosal dissection for local residual/recurrent colorectal tumor after endoscopic resection: Large multicenter 10-year study. *Digestive Endoscopy*. 2021; 33 (4): 608-15.
3. Rahmi G, Tanaka S, Ohara Y, et al. Efficacy of endoscopic submucosal dissection for residual or recurrent superficial colorectal tumors after endoscopic mucosal resection. *Journal of Digestive Diseases*. 2015; 16 (1): 14-21.
4. Kuroki Y, Hoteya S, Mitani T, et al. Endoscopic submucosal dissection for residual/locally recurrent lesions after endoscopic therapy for colorectal tumors. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2010; 25 (11): 1747-53.
5. Tanaka S, Kashida H, Saito Y, et al. JGES guidelines for colorectal endoscopic submucosal dissection/endoscopic mucosal resection. *Digestive Endoscopy*. 2015; 27 (4): 417-34.

6. Hayashi N, Tanaka S, Hewett DG, et al. Endoscopic prediction of deep submucosal invasive carcinoma: validation of the Narrow-Band Imaging International Colorectal Endoscopic (NICE) classification. *Gastrointestinal Endoscopy*. 2013; 78 (4): 625-32.
7. Makino T, Kanmura S, Sasaki F, et al. Preoperative classification of submucosal fibrosis in colorectal laterally spreading tumors by endoscopic ultrasonography. *Endoscopy International Open*. 2015; 03 (04): 363-7.
8. Sakamoto H, Hayashi Y, Miura Y, et al. Pocket-creation method facilitates endoscopic submucosal dissection of colorectal laterally spreading tumors, non-granular type. *Endoscopy International Open*. 2017; 05 (02): 123-9.
9. Suzuki Y, Tanuma T, Nojima M, et al. Comparison of dissection speed during colorectal ESD between the novel Multiloop (M-loop) traction method and ESD methods without traction. *Endoscopy International Open*. 2020; 08 (07): 840-7.
10. Kim ER, Chang DK. Management of Complications of Colorectal Submucosal Dissection. *Clinical Endoscopy*. 2019; 52 (2): 114-9.
11. Tominaga K, Fujinuma S, Endo T, Saida Y, Takahashi K, Maetani I. Efficacy of the revised Vienna Classification for diagnosing colorectal epithelial neoplasias. *World Journal of Gastroenterology*. 2009; 15 (19): 2351-6.
12. Hashiguchi Y, Muro K, Saito Y, et al. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2019 for the treatment of colorectal cancer. *International Journal of Clinical Oncology*. 2020; 25 (1): 1-42.
13. Tseng M-Y, Lin J-C, Huang T-Y, et al. Endoscopic Submucosal Dissection for Early Colorectal Neoplasms: Clinical Experience in a Tertiary Medical Center in Taiwan. *Gastroenterology Research and Practice*. 2013:891565.1-7.
14. Ma MX, Bourke MJ. Endoscopic submucosal dissection in the West: Current status and future directions. *Digestive Endoscopy*. 2018; 30 (3). 310-20.
15. Kuroha M, Shiga H, Kanazawa Y, et al. Factors Associated with Fibrosis during Colorectal Endoscopic Submucosal Dissection: Does Pretreatment Biopsy Potentially Elicit Submucosal Fibrosis and Affect Endoscopic Submucosal Dissection Outcomes? *Digestion*. 2021; 102 (4): 590-8.
16. Pimentel-Nunes P, Dinis-Ribeiro M, Ponchon T, et al. Endoscopic submucosal dissection: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. *Endoscopy*. 2015; 47 (09): 829-54.
17. Rutter MD, Chattree A, Barbour JA, et al. British Society of Gastroenterology/Association of Coloproctologists of Great Britain and Ireland guidelines for the management of large non-pedunculated colorectal polyps. *Gut*. 2015; 64 (12): 1847-73
18. Kobayashi N, Saito Y, Sano Y, et al. Determining the treatment strategy for colorectal neoplastic lesions: endoscopic assessment or the non-lifting sign for diagnosing invasion depth? *Endoscopy*. 2007; 39 (08): 701-5.
19. Han KS, Sohn DK, Choi DH, et al. Prolongation of the period between biopsy and EMR can influence the nonlifting sign in endoscopically resectable colorectal cancers. *Gastrointestinal Endoscopy*. 2008; 67 (1): 97-102.
20. Kaosombatwattana U, Yamamura T, Limsrivilai J, et al. Preoperative endoscopic predictors of severe submucosal fibrosis in colorectal tumors undergoing endoscopic submucosal dissection. *Endoscopy International Open*. 2019; 07 (04): 421-30.
21. Harada H, Nakahara R, Murakami D, et al. Saline-pocket endoscopic submucosal dissection for superficial colorectal neoplasms: a randomized controlled trial (with video). *Gastrointestinal Endoscopy*. 2019; 90 (2): 278-87.



## Nüks gelişen vulvar skuamöz hücreli kanser hastalarında prognostik faktörler ve nüksün toplam sağ kalıma etkisi

*Prognostic factors in patients with recurrent squamous cell carcinoma of the vulva and the influence of recurrence to the overall survival*

Fatih Dinçer Gülşah Selvi Demirtaş

Mehmet Gökçü Muzaffer Sancı

Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Jinekolojik Onkoloji Bölümü, İzmir, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Nüks gelişmiş olan vulvar kanser hastalarında birçok faktörün etkisi araştırılmıştır. Çalışmamızda nüks gelişen ve gelişmeyen skuamöz hücreli vulvar kanserli hastalarda klinik ve patolojik faktörlerin karşılaştırılması ve nüksün toplam sağ kalıma olan etkisini araştırmayı hedefledik.

**Gereç ve Yöntem:** İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Jinekolojik Onkoloji Kliniği'nde 1995 - 2018 yılları arasında opere olmuş ve takipleri hastanemizde olan vulvar kanserli hastaların dosyaları retrospektif olarak tarandı. Hastalar nüks gelişmiş ve gelişmemiş olarak iki gruba ayrıldı. Yaş, evre, tümör boyutu, tümörün orta hat durumu, tümörün lokalizasyonu, yapılan operasyon, cerrahi sınır, tümörün invazyon derinliği, metastatik lenf nodu varlığı, adjuvan tedavi değişkenleri açısından gruplar karşılaştırıldı ve nüksün sağ kalıma olan etkisi araştırıldı.

**Bulgular:** Yaş, evre, tümör boyutu, tümörün orta hat durumu, tümörün lokalizasyonu, yapılan operasyon, cerrahi sınır, tümörün invazyon derinliği, metastatik lenf nodu varlığı, adjuvan tedavi gibi değişkenler vulvar kanserli hastalarda nüks gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Nüks ile toplam sağ kalım arasında da bir korelasyon bulunmadı.

**Sonuç:** Literatürde belirtilen birçok prognostik faktör çalışmamızda nüks açısından anlamlı bulunmamış olup, toplam sağ kalım açısından da nüks olan ve olmayan grup arasında bir fark saptanmamıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Vulvar kanser, nüks, sağ kalım.

### ABSTRACT

**Aim:** The effects of many factors have been investigated in vulvar cancer patients with recurrence. In our study, we aimed to compare clinical and pathological factors and investigate the effect of recurrence on overall survival in patients with recurrent and non-recurrent squamous cell vulvar cancer.

**Materials and Methods:** The files of vulvar cancer patients who were operated in İzmir Tepecik Education and Research Hospital Gynecological Oncology Clinic between 1995 and 2018 and were followed up in our hospital were retrospectively reviewed. Patients were divided into two groups, with and without recurrence. The groups were compared in terms of age, stage, tumor size, midline status of the tumor, localization of the tumor, operation, surgical margin, depth of tumor invasion, presence of metastatic lymph node, adjuvant therapy variables and the effect of recurrence on survival was investigated.

**Results:** Variables such as age, stage, tumor size, midline status of the tumor, localization of the tumor, operation, surgical margin, tumor invasion depth, presence of metastatic lymph node, adjuvant therapy were not found to be statistically significant in terms of recurrent patients with vulvar cancer. There was also no correlation between recurrence and overall survival.

Sorumlu yazar: Gülşah Selvi Demirtaş  
Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Jinekolojik Onkoloji  
Bölümü, İzmir, Türkiye  
E-posta: drg.selvi@gmail.com  
Başvuru tarihi: 20.05.2021 Kabul tarihi: 25.11.2021

**Conclusion:** Many prognostic factors mentioned in the literature were not found to be significant in terms of recurrence in our study, and no difference was found between the groups with and without recurrence in terms of overall survival.

**Keywords:** Vulvar cancer, recurrence, survival.

## GİRİŞ

Vulvar kanserler jinekolojik kanserlerin yaklaşık olarak %3-5 ini oluştururlar (1). Skuamöz hücreli kanser en sık görülen tipidir (2). En önemli prognostik faktör inguinal lenf nodu tutulumudur (3). Birçok hastada cerrahi tedavi sıklıkla tercih edilen yöntemdir. Ancak cerrahi müdahale tümör eğer klitorise anüs ve vajinaya yakın ise morbidite ilişkili olabilmektedir (4). Klitoris, vajina ve anüse yakın lezyonlarda öncelikle neoadjuvan radyoterapi tercih edilir. Cerrahi tedavide ise en az 8 mm tümör marjini ile tümörün çıkarılması lokal nükslerin önlenmesi açısından önerilmektedir (5). Vulvar skuamöz hücreli kanserlerde tedavi sonrası nüks yaklaşık olarak %25 hastada meydana gelmektedir (6). Lokal nükslerin çoğu ilk 2 yıl içerisinde meydana gelmektedir. Çalışmamızda kliniğimizde opere olmuş ve lokal, inguinal ve sistemik olarak nüks gelişmiş skuamöz hücreli vulvar kanser hastalarında başta tümör cerrahi sınırı olmak üzere yaş, evre, tümör boyutu, tümörün orta hat durumu, tümörün lokalizasyonu, yapılan operasyon, tümörün invazyon derinliği, metastatik lenf nodu varlığı, adjuvan tedavi gibi prognostik faktörler ve nüksün sağ kalıma olan etkisinin araştırılması hedeflenmiştir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Jinekolojik Onkoloji kliniğinde skuamöz hücreli vulvar kanser tanısı ile opere olmuş ve takipleri kliniğimizde olan hastaların dosyaları retrospektif olarak taranmıştır. Tüm ameliyatlar kliniğimizde jinekolog onkologlar tarafından ve histopatolojik değerlendirmeler hastanemiz patolojileri tarafından yapılmıştır. Hastalar kliniğimizde ilk iki yıl üç ayda bir, sonraki 3 yılda ise 6 ayda bir kontrol edilmişlerdir. Tüm kontrollerde hastalar detaylı olarak jinekolojik muayene edilmiş ve gerekli tüm görüntüleme yöntemleri ile değerlendirilmişlerdir. Hastaların kontrolleri sırasında nüks şüphesinde doğrulama biyopsisi ve görüntüleme tetkikleri istenerek klinik ve patolojik değerlendirme yapılmıştır. Bu hastalar jinekolojik onkoloji konseyinde medikal onkoloji, patoloji, radyasyon onkolojisi, radyoloji uzmanları ile birlikte değerlendirilmiştir. Çalışma 2020/10-8

nolu etik kurul onayı almış olup, araştırma ve yayın etiğine uyulmuştur.

Hastalar lokal, inguinal ve sistemik nüks gelişmiş olanlar nüks grubu ve nüks gelişmeyen grup ise diğer grup olarak ayrıldı. Hasta grupları yaş, evre, tümör boyutu, tümörün orta hat durumu, tümörün lokalizasyonu, yapılan operasyon, cerrahi sınır, tümörün invazyon derinliği, metastatik lenf nodu varlığı, adjuvan tedavi gibi değişkenler kullanılarak karşılaştırıldı. Kategorize edilen değişkenler SPSS 22. sürüm programı kullanılarak analiz edildi. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar ve ortalamaların karşılaştırılması ki kare testi, independent T test kullanılarak yapıldı. Nüks gelişimi açısından risk faktörleri binary logistic regresyon analizi yapılarak değerlendirildi. Sağ kalım analizleri Kaplan-Meier metodu kullanılarak değerlendirildi. Çalışma ile ilgili olarak hastane etik kurulunun onayı bulunmaktadır.

## SONUÇLAR

Kliniğimizde 1995 ve 2018 yılları arasında opere olmuş toplam 98 hastanın dosyası arşivden tarandı. Bu hastaların 64 skuamöz hücreli kanser tanılı olanları çalışmaya dahil edildi. Diğer histopatolojik tanılı olan hastalar ise çalışma dışı bırakıldı. Hastalara ait yaş, operasyon tipi, nüks, evre, tümör lokalizasyonu, tümör çapı, cerrahi sınır, lenfovasküler invazyon (LVSI), adjuvan tedavi, nüks lokalizasyonu, nüks tedavileri incelendi (Tablo-1).

Pozitif cerrahi sınır tümörün spesmen sınırı ve veya 8 mm'e ye kadar alanda varlığı olarak tanımlanmıştır. Altmış dört skuamöz hücreli vulva kanseri tanılı hastanın 17'sinde lokal, inguinal ve sistemik nüks gelişmiş olup 47 hastada takip süresinde nüks saptanmamıştır. Nüks saptanan ve saptanmayan hasta grupları tümör boyutu, invazyon derinliği, cerrahi sınır açısından değerlendirildi (Tablo-2).

Nükslerin 10'u lokal, 4'ü inguinal ve 3' ü sistemik nüks idi. İki grup yaş, evre, tümör boyutu, tümörün orta hat durumu, tümörün lokalizasyonu, yapılan operasyon, cerrahi sınır, tümörün invazyon derinliği, metastatik lenf nodu varlığı, adjuvan tedavi gibi değişkenler açısından karşılaştırıldı (Tablo-3).

**Tablo-1.** Hastaların genel özellikleri.

	n (%)	95% CI	Ortalama ± SS
Yaş	90 (100%)		65,5±11,2
Operasyon			
Sadece Tümör Eksizyonu	7 (7,8%)	2,2-13,3	
Tümör Eksizyonu+Unilateral Lenf Nodu Eksizyonu	8 (8,9%)	3,3-15,6	
Tümör Eksizyonu+Bilateral Lenf Nodu Eksizyonu	75 (83,3%)	75,6-90,0	
Nüks			
Var	26 (28,9%)	20,0-38,9	
Yok	64 (71,1%)	61,1-80,0	
Evre			
1	54 (60,0%)	48,9-71,1	
3	34 (37,8%)	27,8-48,9	
4	2 (2,2%)	0,0-5,6	
Tümör Lokalizasyonu			
Orta Hattan <2 cm	83(92,2%)	86,7-97,8	
Orta Hattan >2cm	7 (7,8%)	2,2-13,3	
Tümör Çapı			3,04±1,42
Cerrahi Sınır			
Pozitif	24 (26,7%)	17,8-35,6	
Negatif	66 (73,3%)	64,4-82,2	
Cerrahi sınır (mm)			5,71±5,03
LVSI			
Yok	78 (86,7%)	78,9-93,3	
Var	12 (13,3%)	6,7-21,1	
Adjuvan Tedavi			
Yok	31 (34,4%)	25,6-43,3	
Var	59 (65,6%)	56,7-74,4	
Nüks Lokalizasyonu			
Lokal	14 (53,8%)	34,6-73,1	
İnguinal	9 (34,6%)	15,4-53,8	
Sistemik	3 (11,5%)	0-23,1	
Nüks Tedavisi			
Cerrahi	4 (15,4%)	3,8-30,8	
RT	6 (23,1%)	7,7-38,5	
KRT	2 (7,7%)	0-19,2	
KT	9 (34,6%)	15,4-53,8	
Cerrahi+KRT	5 (19,2%)	7,7-34,6	

LVSI: Lenfovasküler alan invazyonu

RT: Radyoterapi

KRT: Kemoterapi

**Tablo-2.** Nüks olan ve olmayan grupların karşılaştırılması.

	Nüks Var Ortalama ± SS	Nüks Yok Ortalama ± SS	P (2 -tailed)
Tümör Çapı (cm)	3,23±1,42	2,98±1,39	0,45
Invazyon Derinliği(mm)	6,40±5,71	4,39±4,50	0,03
Cerrahi Sınır Mesafesi(mm)	4,53±5,28	6,18±4,88	0,16

Independent T- test. p<0,05 anlamlı. .SS: Standart sapma.

**Tablo-3.** Hastaların klinik ve patolojik karakteristikleri ve nüks durumu ile ilişkileri.

	Toplam (n)	Nüks Var (n:17)	NüksYok (n:47)	P Değeri
Yaş (ortalama)				
50 yaş altı	7 (%10,9)	0(%0)	7 (10,9)	P=0,10
50 yaş üstü	57 (%89,1)	17(%29,8)	40(%70,2)	
Evre				
EVRE 1 -2	41(%64,1)	9 (%52,9)	32(%68,1)	P=0,265
EVRE 3 -4	23(%35,9)	8(%47,1)	15(%31,9)	
Tümör Boyutu Ortalama				
≤ 4cm	59 (%92,2)	16(%27,1)	43(%72,9)	P=0,59
>4 cm	5(%7,8)	1(%20)	4(%80)	
Tümör Cerrahi Sınır				
8mm ve altında	41(%64,1)	9(%22)	32(%78)	P=0,265
8 mm üstünde	23(%35,9)	8(%34,8)	15(%65,2)	
Tümör İnvazyon Derinliği				
1 mm ve altı	12(%36,4)	2(%16,7)	10(%83,3)	P=0,67
2 mm ve üstü	21(%63,6)	6(%28,6)	15(%71,4)	
Metastatik Lenf Nodu Varlığı	23(%35,9)	8(%34,8)	15(%65,2)	P=0,37
Metastatik lenf nodu yokluğu	41(%64,1)	9(%22,0)	32(%78,0)	
Adjüvan Tedavi				
Tedavisiz İzlem	22(%34,4)	4(%18,2)	18 (%81,8)	
Sadece RT	24(%37,5)	9(%37,5)	15(%62,5)	P=0,29
RT ve KT	18(%28,1)	4(%22,2)	14(%77,8)	

Hastaları yaş ortalamaları  $64,6 \pm 11,2$  idi. Nüks gelişen grupta yaş ortalaması  $67 \pm 11,9$  iken nüks gelişmeyen grupta  $63,7 \pm 11,9$  idi. Her iki grup 50 yaş altı ve üstü olarak nüks açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı ( $p=0,10$ ). Hastaların cerrahi evrelemesi 2009 FIGO evrelemesine göre yapıldı. 41 hasta evre 1, 25 hasta evre 3, 2 hasta evre 4 tanılı idi. Evre 1 ve 2 erken evre olarak evre 3 ve 4 ise ileri evre olarak gruplandırıldı. Nüks varlığı açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı ( $p=0,265$ ).

Ortalama tümör çapı  $2,8 \pm 1,6$  cm ve ortalama invazyon derinliği  $5,3 \pm 5,4$  mm idi. Nüks gelişen grup ile gelişmeyen grup tümör boyutu (4 cm ve altı, 4 cm üstü), tümörün invazyon derinliği (1mm ve altı, 1mm üstü) ve tümör orta hat durumu (orta hatta, orta hattan uzakta) ve tümör lokalizasyonuna (klitorise yakın, orta hatta 2 cm den daha yakın, orta hattan 2 cm daha uzakta)

göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı ( $p=0,59$ ,  $p=0,67$ ,  $p=0,65$ ,  $p=0,84$ ).

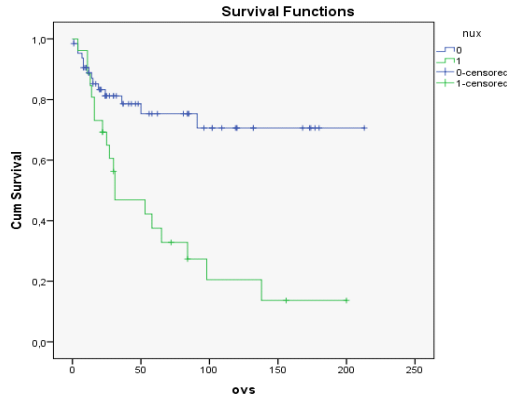
Dosya kayıtlarından patolojik verilerde cerrahi sınır değerleri 52 hastada değerlendirilebildi. Ortalama cerrahi sınır  $4,4 \pm 5,17$  mm idi. Cerrahi sınır 8 mm olarak gruplandırıldığında nüks olan ve olmayan gruplar arasında anlamlılık saptanmadı ( $p=0,265$ ).

Cerrahi olarak hastaların üçüne radikal lokal eksizyon, birine radikal vulvektomi, 45'ine radikal vulvektomi ve bilateral inguinal lenf nodu diseksiyonu, yedisine radikal vulvektomi unilateral lenf nodu diseksiyonu, bir hastaya radikal vulvektomi bilateral lenf nodu diseksiyonu ve pelvik lenf nodu diseksiyonu, yedi hastaya ise simple vulvektomi bilateral lenf nodu diseksiyonu uygulanmıştır. Cerrahi tedavide lenf nodu diseksiyonu yapılan ve yapılmayan gruplar nüks açısından karşılaştırıldığında anlamlılık saptanmamıştır ( $p=0,43$ ).



Yirmi üç hasta cerrahiden sonra tedavisiz olarak izlenmiştir. On üç hasta adjuvan tedavi olarak cerrahi bölgeye radyoterapi, sekiz hasta ise hem cerrahi hem de inguinal bölgeye radyoterapi almıştır. Kemoradyoterapi alan hasta sayısı ise 17 idi. Gruplar sadece cerrahi, cerrahi tedavi ve radyoterapi, cerrahi ve kemoradyoterapi alanlar olarak nüks açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık saptanmadı ( $p=0,29$ ).

Nüksün sağ kalıma etkisine bakıldığında, toplam sağ kalım süresini etkilemediği saptanmıştır ( $p=0,571$ ) (Şekil-1).



Şekil-1. Nüksün sağkalıma etkisi ( $p=0,00$ ).

## TARTIŞMA

Vulvar kanserlerin çok sık olarak karşımıza gelmemesi nedeni ile bu kanserlerle ilgili geniş randomize çalışma sayısı azdır. Çalışmamızda nadir olan bu hastalığın nüks gelişen ve gelişmeyen gruplarında başta cerrahi sınır olmak üzere birçok prognostik faktör değerlendirilmiştir. Nüks oranı literatürde bildirilen nüks oranı ile uyumlu olarak saptanmıştır (7, 8). Nükslerin çoğu takipte ilk 2 yılda meydana gelmektedir (8). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak nüks ortalama  $19 \pm 7,5$  ayda meydana gelmiştir. Nüks gelişen hastalar birçok klinik ve histopatolojik faktör açısından retrospektif olarak değerlendirmiştir. Hastalara uygulanan adjuvan tedavi, tümör boyutu, lenf nodu pozitifliği ve cerrahi sınır pozitifliğine göre belirlenmiştir.

Literatürde nodal tutulum en önemli prognostik faktör olarak bildirilmekle birlikte nodal tutulumun nüksü belirlemede ki rolü net değildir (7, 9, 10). Çalışmamızda metastatik lenf nodu açısından nüks olan ve olmayan gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır. Cerrahi sınır özellikle lokal nükslerde birçok çalışmada en önemli faktör olarak belirtilmiştir (11, 12, 4). Çalışmamızda ise

başta cerrahi sınır 8 mm olarak değerlendirildiğinde istatistiksel olarak lokal inguinal ve sistemik olarak tüm nükslerde bir korelasyon bulunmamıştır. Baiocchi ve arkadaşları da çalışmamız ile benzer olarak cerrahi sınır uzaklığı ile lokal rekürrenste bir ilişki saptamamışlardır (13). Birçok yayında da cerrahi tedavide tümör cerrahi sınır mesafesi en az 8 mm olarak önerilmektedir (14, 15). Minar ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 8 mm tümör cerrahi sınır uzaklığını lokal nüks gelişmesinde ana prognostik faktör olarak saptamışlardır (16). Heaps ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada 8 mm altındaki cerrahi sınır mesafesinde % 50 oranında lokal nüks oranı saptamışlardır (11). Chan ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada ise 8 mm patolojik cerrahi sınırdaki lokal nüks saptamamışlardır (4). 8 mm altındaki cerrahi sınır mesafesine sahip hastalarda %23 oranında lokal nüks bildirmişlerdir. Groenen ve arkadaşları da bizim çalışmamızda olduğu gibi lokal nüks ile 8 mm değeri açısından bir fark bulamamışlardır (17).

Adjuvan tedavilerin cerrahi sınır ile birlikte değerlendirildiği bir çalışmada ise Viswanathan ve arkadaşları nüks oranlarını 1cm, 1cm altında ve pozitif sınırlı hastalarda sırası ile 37% 63%, 82% olarak saptamışlardır (5). Çalışmamızda ise nüks ile adjuvan tedaviler karşılaştırıldığında tedavisiz izlem, sadece radyoterapi, radyoterapi ve kemoterapi alan gruplar arasında anlamlılık saptanmamıştır.

Tümör boyutu olarak Baiocchi ve arkadaşları 4 cm ve altı tümör boyutu ile 4 cm ve üstü tümör boyutlu hastaları cerrahi sınır açısından karşılaştırdıklarında korelasyon saptamamışlardır ( $p=0,59$ ) (13). Bizim çalışmamızda da tümör boyutu ile nüks açısından istatistiksel bir ilişki saptanmamıştır. Te grootenhuis ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da lokal nüks ile tümör boyutu arasında bir ilişki saptanmamıştır (7). Woelber ve arkadaşları 102 hasta içeren çalışmalarında cerrahi tümör mesafesinin sağ kalıma etkisinin olmadığını saptamışlardır (18). Karataslı ve arkadaşları yaş, tümör çapı, cerrahi sınır lenf nodu durumu ve adjuvan tedavinin hastaliksız sağ kalıma etkisinin olmadığını saptamışlardır (19).

Diğer prognostik faktörler incelendiğinde, Podratz ve arkadaşlarının çalışmasında klinik evre, pozitif inguinal nod ve tümör çapı prognostik faktör olarak belirtmiş fakat hasta yaşı bu faktörlere dahil edilmemiştir (20). Boyce ve arkadaşları ise

sadece evreyi prognostik faktör olarak almışlardır (21). Çalışmamızda ise yaş, evre, tümör boyutu, tümörün orta hat durumu, tümör invazyon derinliği ve adjuvan tedavi nüks açısından prognostik faktör olarak saptanmamıştır.

Çalışmamızın temel kısıtlılığı örneklem sayısının azlığı ve retrospektif bir çalışma olmasıdır. Çalışmamız literatürde yer alan prognostik faktörlerin tümünün birlikte değerlendirildiği bir çalışma olup bu anlamda literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

## SONUÇ

Çalışmamız nüks gelişiminde araştırılmış olan prognostik faktörleri birlikte değerlendirmesi açısından literatürdeki birçok çalışmadan farklı olup değerlendirilen prognostik faktörlerin nükste etkisinin olmadığı ve nüks gelişen hastaların toplam sağ kalımlarında da bir fark olmaması açısından farklı sonuçları olan çalışmadır. Sonuç olarak çalışmamızda her ne kadar nüks açısından literatürde değerlendirilen prognostik faktörlerin tamamı değerlendirilmiş olup istatistiksel anlamda bir korelasyon bulamasak da kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar arasında çıkar çatışmaması bulunmamaktadır.

## Kaynaklar

1. de Hullu JA, van der Zee AG. Surgery and radiotherapy in vulvar cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2006; 60 (1): 38–58.
2. Hacker NF, Eifel PJ, van dV. Cancer of the vulva. *Int J Gynaecol Obstet* 2012; 119 (2): 90-6.
3. Baiocchi G, Silva Cestari FM, Rocha RM, Lavorato-Rocha A, Maia MB, Cestari LA, et al. Prognostic value of the number and laterality of metastatic inguinal lymph nodes in vulvar cancer: revisiting the FIGO staging system. *Eur J Surg Oncol* 2013; 39 (7): 780–5.
4. Chan JK, Sugiyama V, Pham H, Gu M, Rutgers J, Osann K, et al. Margin distance and other clinico-pathologic prognostic factors in vulvar carcinoma: a multivariate analysis. *Gynecol Oncol* 2007; 104 (3): 636-41.
5. Viswanathan AN, Pinto AP, Schultz D, Berkowitz R, Crum CP. Relationship of margin status and radiation dose to recurrence in post-operative vulvar carcinoma. *Gynecol Oncol* sept 2013; 130 (3): 545-9.
6. Gadducci A, Tana R, Barsotti C, Guerrieri ME, Genazzani AR. Clinico-pathological and biological prognostic variables in squamous cell carcinoma of the vulva. *Crit Rev Oncol Hematol* 2012; 83 (1): 71-83.
7. Te Grootenhuys NC, Pouwer AFW, de Bock GH, Hollema H, Bulten J, et al. Prognostic factors for local recurrence of squamous cell carcinoma of the vulva: A systematic review. *Gynecol Oncol*. 2018; 148 (3): 622–31.
8. Maggino T, Landoni F, Sartori E, Zola P, Gadducci A, Alessi C, et al. Patterns of recurrence in patients with squamous cell carcinoma of the vulva. A multicenter CTF Study. *Cancer*. 2000; 89 (1): 116–22.
9. Woelber L, Eulenburg C, Choschzick M, Kruell A, Peterson C, Giesecking F, et al. Prognostic role of lymph node metastases in vulvar cancer and implications for adjuvant treatment. *Int J Gynecol Cancer*. 2012; 22 (3): 503–8.
10. Woelber L, Kock L, Giesecking F, Peterson C, Trillsch F, Choschzick M, et al. Clinical management of primary vulvar cancer. *Eur J Cancer*. 2011; 47 (15): 2315–21
11. Heaps JM, Fu YS, Montz FJ, Hacker F, Berek JS. Surgicale pathologic variables predictive of local recurrence in squamous cell carcinoma of the vulva. *Gynecol Oncol* 1990; 38: 309–14.
12. de Hullu JA, Hollema H, Lolkema S, Boezen M, Boonstra H, Burger MP, et al. Vulvar carcinoma. The price of less radical surgery. *Cancer* 2002; 95: 2331–8.
13. Baiocchi G, Mantoan H, de Brot L, Badiglian-Filho L, Kumagai LY, Faloppa CC, et al. How important is the pathological margin distance in vulvar cancer? *Eur J Surg Oncol*. 2015; 41 (12): 1653-8.
14. National Dutch guideline gynaecologic tumors; Vulvar carcinoma. 2015. <http://www.oncoline.nl>.
15. National Cancer Institute. Vulvar cancer treatment. 2015. <http://www.cancer.gov/types/vulvar/h>.

16. Minar L, Felsing M, Cihalova M, Zlamal F, Bienertova-Vasku J. Vulvar cancer recurrence an analysis of prognostic factors in tumour free pathological margins patients group. *Ginekol Pol.* 2018; 89 (8): 424-31
17. Groenen SM, Timmers PJ, Burger CW. Recurrence rate in vulvar carcinoma in relation to pathological margin distance. *Int J Gynecol Cancer* 2010; 20: 869–73.
18. Woelber L, Choschzick M, Eulenburg C, Hager M, Jaenicke F, Giesecking F, et al. Prognostic value of pathological resection margin distance in squamous cell cancer of the vulva. *Ann Surg Oncol* 2011; 18 (13): 3811–8.
19. Karataşlı V, Erkılınç S, Çakır İ, Can B, Karadeniz T, Gökçü M, et al. The effect of lymph node metastasis on overall survival and disease-free survival in vulvar cancer patients. *Ginekol Pol.* 2020; 91 (2): 62-7.
20. Podratz KC, Symmonds RE, Taylor WF. Carcinoma of the vulva: analysis of treatment failures. *Am J Obstet Gynecol.* 1982; 143: 340–51.
- 21.. Boyce J, Fruchter RG, Kasambilides E, Nicastrì AD, Sedlis A, Remy JC. Prognostic factors in carcinoma of the vulva. *Gynecol Oncol.* 1985;20:364–377. doi: 10.1016/0090-8258(85)90218-5.

## The effect of demographic features on survival in patients with gastric cancer

### *Mide kanserli hastaların demografik özelliklerinin sağ kalıma etkisi*

Andaç Karadeniz Mehmet Bilici Melih Şimşek

Hınıs State Hospital, Erzurum, Türkiye

#### ABSTRACT

**Aim:** This study aimed to investigate the relationship between some demographic and clinical factors and survival in patients with gastric cancer.

**Materials and Methods:** We retrospectively evaluated the records of 252 gastric cancer patients followed up in the medical oncology department between 01.01.2016 and 10.01.2020. Gastric lymphoma, gastrointestinal stromal tumor, and neuroendocrine tumor were excluded. Factors evaluated in the study included age, sex, urban/non-urban residence, admitting complaints, smoking history, Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) score, stage at diagnosis, histological subtype, surgical history, tumor location, grade, diameter and macroscopic view of tumor, metastatic lymph node ratio, chemotherapy regimens, febrile neutropenia, post-chemotherapy radiological reports, chemoradiotherapy (CRT) history and survival after diagnosis.

**Results:** Mean overall survival (OS) time was significantly shorter in patients with weight loss ( $p<0.001$ ), high ECOG score ( $p<0.001$ ), radiological progression ( $p<0.001$ ), advanced cancer stage ( $p<0.001$ ) and tumor grade ( $p=0.024$ ). Mean OS was longer in patients who received chemotherapy compared to those who did not at stage 4 ( $p<0.001$ ). Mean OS was significantly longer in patients who underwent gastrectomy and received adjuvant CRT compared to those who did not ( $p<0.001$ ). Mean OS was shorter in patients with a metastatic lymph node ratio over 30% ( $p<0.001$ ) and those with tumor diameter larger than 3 cm ( $p=0.02$ ).

**Conclusion:** In this study, survival time was associated with advanced stage, ECOG score, weight loss, radiological progression, high tumor grade, history of gastrectomy and adjuvant CRT, metastatic lymph node ratio  $>30\%$ , tumor diameter  $>3$  cm and presence of palliative chemotherapy in terminal patients.

**Keywords:** Demographic characteristics, chemotherapy, gastric cancer, radiotherapy.

#### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmada, mide kanserine yönelik çok sayıda demografik özellik ve klinik faktörün sağkalıma etkisini araştırmayı hedefledik.

**Gereç ve Yöntem:** 01.01.2016-10.01.2020 tarihleri arasında takip edilen, mide kanseri tanılı 252 hastanın kayıtları retrospektif olarak değerlendirildi. Mide lenfoması, gastrointestinal stromal tümör ve nöroendokrin tümör tanılı hastalar çalışmaya alınmadı. Tanıdaki yaş, tanı tarihi, cinsiyet, kırsalda ya da şehirde ikamet özellikleri, tanı sonrası yaşam süreleri, başvuru yakınması, sigara öyküsü, Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performans skoru, tanıdaki evre, histolojik alt tip, operasyon öyküsü ve tipi, tümöre ait grade ve çap, makroskopik tümör görüntüsü ve lokalizasyonu, metastatik lenf nodu yüzdesi, kemoterapi (KT) protokolleri, febril nötropeni, KT sonrası kontrol PET-BT raporları ve kemoradyoterapi (KRT) öyküsü gibi faktörler değerlendirildi.

**Bulgular:** Kilo kaybı ( $p<0,001$ ), yüksek ECOG skoru ( $p<0,001$ ), kontrol PET-BT'de progresyon ( $p<0,001$ ), ileri evre ( $p<0,001$ ), yüksek grade tümör ( $p=0,024$ ) varlığında ortalama genel sağkalım (GSK) süresi anlamlı oranda kısaydı.

Corresponding author: Andaç Karadeniz

Hınıs State Hospital, Erzurum, Türkiye

E-mail: andac.karadeniz@hotmail.com

Application date: 12.07.2021

Accepted: 29.11.2021

*Gastrektomi ve adjuvan KRT varlığında GSK süreleri daha uzundu (p<0,001). Evre 4 hastalıkta; palyatif KT alan hastaların GSK süreleri KT almayanlara göre daha uzundu (p<0,001). Metastatik lenf nodu oranı %30'un üzerinde olanlarda ortalama GSK süresi, anlamlı derecede kısaydı (p<0,001). Tümör çapı 3 cm'den fazla olanlarda GSK süresi daha kısaydı (p=0,02).*

**Sonuç:** *Çalışmamızda; evre, ECOG skoru, kilo kaybı yakınması, kontrol PET-BT'de progresyon olması, yüksek evre, gastrektomi öyküsü, metastatik lenf nodu oranının %30'un üzerinde olması, tümör çapının 3 cm'den fazla olması, adjuvan KRT öyküsü, terminal dönem hastalarda palyatif amaçlı da olsa KT varlığının GSK süresi ile ilişkili olduğu saptandı.*

**Anahtar Sözcükler:** *Demografik özellikler, kemoterapi, mide kanseri, radyoterapi.*

## INTRODUCTION

Gastric cancer is the fifth most frequently diagnosed cancer and the third leading cause of cancer death world-wide. Its incidence is twice as high in males as in females. Because it typically manifests nonspecific symptoms, gastric cancer is often diagnosed at an advanced stage. Early surgical intervention may be curative but more than two-thirds of cases present with locally advanced or metastatic disease. Chemotherapy was shown to be superior to the best supportive therapy in metastatic gastric cancer and prolonged overall survival (OS) in randomized trials (1, 2).

High intake of fried food, processed or smoked meat, fish, and alcohol; low intake of fruits, vegetables, milk and vitamin A, excessive salt intake and *Helicobacter pylori* infection are involved in the etiology of gastric cancer (3-7). Distal gastric cancer is twice as common in patients with a low socioeconomic status, while proximal gastric cancer is more common in patients with a high socioeconomic status (8, 9).

Adenocarcinoma is the most common histological subtype in gastric cancer (95%). Half of the remaining 5% are lymphomas and the other half are rare tumors such as squamous cell carcinoma, leiomyosarcoma, carcinoid tumor and adenoacanthoma. Adenocarcinomas can be ulcerated (75%), polypoid (10%), diffuse scirrous (10%), or superficial mucosal (5%) (10-12).

Curative treatment in gastric cancer consists of surgical resection of the primary tumor and regional lymph nodes. Extent of disease, surgical method and patient selection are important determinants of outcomes (13). High mortality in gastric cancer is due to advanced stage at diagnosis. The 5-year OS rate is 70-75% in patients who undergo complete resection at stage 1, while this rate decreases to 35% at stage 2 (14). Surgery, chemotherapy, radiotherapy (RT), and targeted treatments are

used in gastric cancer. Single-agent or combined therapies can be administered according to disease stage. The favorable impact of multimodal treatment on OS has become evident over time (15, 16).

The primary objective of this study was to examine the relationship between demographic characteristics and OS in gastric cancer patients. Secondary objectives were to investigate the effects of various clinical and epidemiological parameters and different chemotherapy regimens on OS.

## MATERIALS and METHODS

This article is based on research conducted for the author's medical specialization thesis. The study was conducted in accordance with the tenets of the Helsinki Declaration, patient rights regulations, ethical guidelines, and was approved by the local ethics committee.

We retrospectively evaluated the records of 252 patients over 18 years of age who were diagnosed as having gastric cancer with no synchronous tumors and were followed up in the medical oncology department between 01.01.2016 and 10.01.2020. Patients with gastric lymphoma, gastrointestinal stromal tumor and neuroendocrine tumor were not included. Age at diagnosis, date of diagnosis, sex, area of residence (urban/non-urban), smoking history, admitting complaints, Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance score, stage at diagnosis, chemotherapy protocols, chemotherapy-related febrile neutropenia, post-chemotherapy positron emission tomography-computed tomography (PET-CT) findings, RT history, tumor location, size, histological subtype and macroscopic appearance, surgical history and procedure type, metastatic lymph node ratio and OS were evaluated. Response to chemotherapy was assessed according to the Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) version 1.1. The patients' ECOG

performance scores were retrieved from their records. OS was calculated as the time from date of diagnosis to date of death for non-surviving patients and from date of diagnosis to the last outpatient visit for surviving patients. SPSS version 22.0 (IBM Corp, Armonk, NY) software was used for statistical evaluation and analysis.

OS analysis was performed using Kaplan-Meier test and comparisons were made using Log-Rank analysis. To compare the means of two groups, independent t test was used when the groups of 30 or more and Mann-Whitney U test was used for groups of fewer than 30. The chi-square test was used for comparisons of categorical variables between groups. Data related to quantitative variables were expressed using mean  $\pm$  standard deviation and median (minimum-maximum), while number and percentage (%) were used to express data pertaining to qualitative variables. Shapiro-Wilk test was used to test quantitative variables for normal distribution. Independent variables that showed a significant association with OS were investigated using a multivariate Cox regression model. A p value less than 0.05 was accepted as statistically significant.

## RESULTS

The study included a total of 252 patients. The demographic and clinical characteristics of the patients are shown in Table-1. The patients' median age was 61.6 years (28-97 years) and the mean OS time was  $31.2 \pm 2.4$  months (18 days-72 months). Of the patients included in the study, 148 (58.7%) died and 104 (41.3%) survived.

Of the 111 patients who underwent surgery, 96 (86.4%) had a significant number of countable lymph nodes resected ( $\geq 15$ ) and 31 patients (28%) had a metastatic lymph node ratio of 30% or higher. Mean OS time was  $54.1 \pm 5.3$  months among those with a metastatic lymph node ratio below 30% and  $26.9 \pm 2.4$  months in those with a metastatic lymph node ratio above 30% ( $p < 0.001$ ).

Tumor diameter data was not available for 11 patients (4.3%). Maximum tumor diameter was  $\leq 3$  cm in 77 patients (30.5%) and  $> 3$  cm in 164 patients (65.2%) (range, 0.6-15 cm). There was a statistically significant relationship between maximum tumor diameter and OS ( $p = 0.02$ ). Mean OS time was  $40.9 \pm 4.7$  months in patients

with a maximum tumor diameter  $\leq 3$  cm and  $26.1 \pm 1.9$  months in those with a maximum tumor diameter  $> 3$  cm.

In terms of degree of differentiation, tumors were evaluated as grade 1 in 10 patients (9%), grade 2 in 60 patients (54%), and grade 3 in 41 patients (37%). A significant relationship was detected between grade and OS ( $p = 0.02$ ). The mean OS time was  $59.5 \pm 4.2$  months in surgical patients who had grade 1 tumors, compared to  $33.2 \pm 2.6$  months in patients with grade 3 tumors.

The mean OS time of the patients with progression/relapse reported in the PET-CT report was  $22.4 \pm 2.1$  months while the mean OS time of the patients with complete cure reported in the PET-CT report was  $62.6 \pm 1.3$  months. It was determined that the mean OS time of the patients with progression in the control PET-CT report was statistically shorter ( $p < 0.001$ ).

Febrile neutropenia occurred in 59 (23.4%) of the patients and was most commonly associated with the FLOT, FOLFOX, and FOLFIRI chemotherapy regimens. There was no significant relationship between the development of febrile neutropenia and OS ( $p = 0.982$ ).

The mean OS time was  $33.4 \pm 1.9$  months among 69 patients who received adjuvant chemoradiotherapy and  $17.7 \pm 2.2$  months in those who did not receive adjuvant chemoradiotherapy. Mean OS of patients receiving adjuvant chemoradiotherapy was statistically significantly longer ( $p < 0.001$ ).

Comparison of stage 4 patients who did and did not receive chemotherapy revealed a statistically significant relationship. Mean OS time was  $4.8 \pm 1.01$  months in the 13 patients (18.8%) not treated with chemotherapy and  $10.4 \pm 0.7$  months in the 54 patients (78.2%) who received chemotherapy ( $p < 0.001$ ). Chemotherapy information was not available for 2 patients (2.8%) with stage 4 cancer. We also grouped the stage 4 patients who received chemotherapy according to chemotherapy regimen for OS analysis. The patients were grouped as those who received CAPEOX ( $n = 10$ , 14.9%), EOX ( $n = 10$ , 14.9%), FLOT ( $n = 10$ , 14.9%), carboplatin-paclitaxel ( $n = 10$ , 14.9%), and other ( $n = 14$ , 20.8%). There was no statistically significant relationship between chemotherapy regimen and mean OS in these stage 4 patients ( $p = 0.874$ ).

**Table-1.** Clinical and demographic characteristics of the patients.

Parameter		Patient number (n = 252)	Median overall survival (months)	P value
Disease stage	Stage 0	1	42.0±0	<0.001
	Stage 1	24	68.8±3	
	Stage 2	66	46.6±4.8	
	Stage 3	92	19.9±1.2	
	Stage 4	69	9.2±0.6	
Chemotherapy Type	None	31	24.3±4.8	<0.001
	Neoadjuvant	17	41.1±1.7	
	Adjuvant	55	36±2.1	
	Neoadjuvant + Adjuvant	34	33.9±2.3	
	Palliative	114	16.9±1.7	
Surgery	None	141	15.8±1.4	<0.001
	Total	73	37.8±1.7	
	Subtotal/Distal	38	45.3±5.3	
Radiotherapy	None	179	17.7±2.2	<0.001
	Local	73	33.4±1.9	
ECOG Score at Diagnosis	0, 1, 2	161	41.4±2.7	<0.001
	3, 4	68	9.8±1.9	
Weight loss	Yes	38	14.1±1.9	<0.001
	No	214	30.9±3.1	
Age (years)	≤65	160	30.2±3.4	0.743
	>65	92	30.8±3.3	
Primary Site	Cardia/Esophagogastric	103	25.3±1.7	0.166
	Corpus	36	36.9±5.1	
	Antrum	75	31.9±3.6	
	Pyloric	14	25.6±4.6	
Main Groups of Chemotherapy Regimens at All Stages as First Line Treatment	None	31	23.8±5.3	0.006
	Oxaliplatin + 5-FU* based regimens	53	29.5±2.5	
	Irinotecan based regimens	11	20.7±2.6	
	Docetaxel + 5-FU based regimens	66	29.5±4.6	
	Epirubicin + 5-FU based regimens	42	21.5±2.3	
	Other regimens**	29	21.2±2.7	
Sex	Female	86	29.1±3.4	0.398
	Male	166	32±3.1	
Smoking	Yes	114	31.5±3.3	0.057
	No	111	30±2.9	

\*5-FU: 5-Fluorouracil

\*\*Other regimens include carboplatin, cisplatin, calcium folinate, paclitaxel, trastuzumab or bevacizumab.

## DISCUSSION

Gastric cancer is the fifth most common cancer and the third leading cause of cancer mortality worldwide, despite its decreasing incidence in recent decades. Moreover, there is a sex-specific disparity in gastric cancer incidence. Incidence rates are 2-fold higher in men than in women

worldwide (17). In Turkey, the incidence of gastric cancer was reported as 9.6/100,000 in men and 5.7/100,000 in women (18). Tuncer et al. determined the male to female ratio to be 1.6:1 in a study conducted in the Van Lake basin between 1994 and 2000 (19). In the present study, the male to female ratio was 1.9:1.

Several studies have shown that gastric cancer patients with ECOG performance scores of 0 or 1 have a better prognosis than patients with performance scores of 2 or higher (20-22). Consistent with the literature, we observed a significant decrease in OS with higher ECOG performance score.

Tumor stage is the most important prognostic factor in gastric cancer. Numerous studies have demonstrated the marked effect of stage on OS (23-26). Similarly, we detected a highly significant relationship between disease stage and OS in this study.

Ock et al. reported that weight loss at the time of diagnosis and in the first month of palliative chemotherapy were associated with poorer prognosis in patients with advanced gastric cancer (27). Similarly, we identified a statistically significant relationship between admitting complaints of weight loss and shorter OS.

OS was significantly longer in patients who received adjuvant chemoradiotherapy. Smalley et al. also demonstrated significantly better OS in the adjuvant chemoradiotherapy group in their randomized phase 3 trial (28).

In the present study, findings of progression or regression on control PET-CT were strongly associated with mean OS. Mean OS time was  $22.4 \pm 2.1$  months in patients with findings of progression/recurrence on PET-CT and  $62.6 \pm 1.3$  months in patients with complete response. Our study is consistent with the literature in this respect (29).

We found that the mean OS time was  $54.1 \pm 5.3$  months among patients with a metastatic lymph node ratio below 30% and  $26.9 \pm 2.4$  months in those with a ratio of 30% or higher. Similar to the literature, there was a highly significant relationship between metastatic lymph node ratio and OS (30).

Many studies have reported that performing R0 resection results in long OS time (31, 32). In accordance with the literature, we also found that when gastrectomy could be performed, the mean OS was significantly longer. In addition, higher tumor grade in operated patients was associated with significantly shorter OS. This result was also consistent with the literature (33).

In our patient population, there was a statistically significant relationship between maximum tumor diameter and OS. There are also reports in the literature that tumor diameter is an independent prognostic factor in gastric cancer (34).

Febrile neutropenia occurred in 59 patients in this study, and the most common causes were the chemotherapy regimens FLOT, FOLFOX, and FOLFIRI. However, we observed no statistically significant difference in OS between patients with and without febrile neutropenia. Nardi et al. reported that DCF and FLOT were the regimens most commonly associated with grade 3-4 hematologic toxicity (35). Febrile neutropenia may be less common in our clinic because we administer prophylactic granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) after the DCF regimen.

Catalano et al. showed that palliative chemotherapy had a favorable effect on mean OS in metastatic gastric cancer in their study of 625 patients, but observed no significant difference in OS among chemotherapy regimens (36). The outcomes of metastatic cases in the present study are consistent with the literature (1, 36, 37).

## CONCLUSION

In conclusion, the parameters statistically associated with shorter mean OS in patients with gastric cancer were advanced disease stage at diagnosis, high ECOG performance score, history of weight loss, detection of progression on PET-CT, high tumor grade, inability to perform gastrectomy, metastatic lymph node ratio greater than 30% and tumor diameter greater than 3 cm. Parameters associated with longer mean OS were history of adjuvant chemoradiotherapy and palliative chemotherapy at stage 4 patients.

Limitations of our study include its retrospective design, the lack of a standard surgical approach due to patients presenting from different centers and insufficient follow-up due to socioeconomic limitations and adverse climatic conditions related to the geography in our region. More extensive studies with larger patient samples are needed.

**Conflict of interest:** The authors declared no conflict of interest.



## References

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018 Nov; 68 (6): 394-424.
2. Avital I, Stojadinovic A, Pisters PWT, Kelsen DP, Willett CG. Cancer of the Stomach. In: DeVilbitt VT, Lawrence TS, Rosenberg SA (editors). *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Wolters Kluwer Health; 2011. p946.
3. Zhu H, Yang X, Zhang C et al. Red and processed meat intake is associated with higher gastric cancer risk: a meta-analysis of epidemiological observational studies. *PloS one* 2013; 8 (8): e70955.
4. Tsugane S, Sasazuki S. Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence. *Gastric cancer* 2007; 10 (2): 75-83.
5. Shikata K, Kiyohara Y, Kubo M et al. A prospective study of dietary salt intake and gastric cancer incidence in a defined Japanese population: the Hisayama study. *Intl J Cancer* 2006; 119 (1): 196-201.
6. Peleteiro B, Lopes C, Figueiredo C, Lunet N. Salt intake and gastric cancer risk according to *Helicobacter pylori* infection, smoking, tumour site and histological type. *BMJ* 2011; 104 (1): 198-207.
7. Machida-Montani A, Sasazuki S, Inoue M et al. Association of *Helicobacter pylori* infection and environmental factors in non-cardia gastric cancer in Japan. *Gastric Cancer* 2004; 7 (1): 46-53.
8. Barker D, Coggon D, Osmond C, Wickham C. Poor housing in childhood and high rates of stomach cancer in England and Wales. *BMJ* 1990; 61 (4): 575.
9. Powell J, McConkey C. Increasing incidence of adenocarcinoma of the gastric cardia and adjacent sites. *BMJ* 1990; 62 (3): 440.
10. Akdogan RA, Aslan M. Mide Tümörleri. Özden A, Sahin B, Yılmaz U (editors). *Gastroenteroloji. Türk Gastroenteroloji Vakfı*, Ankara 2002;107-12 (in Turkish).
11. Göksel S, Topuz E, Aykan NF. Mide kanserinde etyoloji, patogenezi ve patoloji. *İstanbul Onkoloji Enstitüsü Yayınları* 1998: 181-6 (in Turkish).
12. Kubba A, MacIntyre I. Gastric cancer distal to the cardia—prevention or cure? *Sur Onc* 1997; 6 (2): 111-24.
13. Catalano V, Labianca R, Beretta GD, Gatta G, de Braud F, Van Cutsem E. Gastric cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009;71(2):127-64.
14. Agboola O. Adjuvant treatment in gastric cancer. *Cancer Treat Rev* 1994; 20 (3): 217-40.
15. Siewert JR, Feith M, Werner M, Stein HJ. Adenocarcinoma of the esophagogastric junction: results of surgical therapy based on anatomical/topographic classification in 1,002 consecutive patients. *Ann Surg* 2000; 232 (3): 353-61.
16. Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J et al. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *N Engl J Med* 2001; 345 (10): 725-30.
17. Li WY, Han Y, Xu HM et al. Smoking status and subsequent gastric cancer risk in men compared with women: a meta-analysis of prospective observational studies. *BMC Cancer* 19, 2019: 377.
18. Yalcin S. Gastric cancer in Turkey—a bridge between west and east. *GCR* 2009; 3 (1): 29.
19. Tuncer İ, Uygan İ, Kösem M, Özen S, Uğraş S, Türkdoğan K. The Demography and Histopathologic Characteristics Of Upper Gastrointestinal Cancers Appeared in Van and Its Vicinity. *Van Tıp Dergisi* 2001; 8 (1): 10 (in Turkish).
20. Yücel B, Kılıçkap S, Lehimcioğlu Y, Erdiş E, Akkaş EA, Şalk M. Prognostic factors that affect the survival of gastric cancer. *Cumhuriyet Medical Journal* 2012; 34 (2): 173-82.
21. Altınbaş M, Hepşen S, İmamoğlu İ et al. Death Reasons and Factors That Affect on Survival of Cancer Patients. *Sakarya Tıp Dergisi* 2015; 5 (1): 5-9 (in Turkish).
22. Psaltopoulou T, Ntanas-Stathopoulos I, Tzanninis IG et al. Physical Activity and Gastric Cancer Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin J Sport Med* 2016; 26 (6) :445-64.
23. Bando E, Yonemura Y, Taniguchi K, Fushida S, Fujimura T, Miwa K. Outcome of ratio of lymph node metastasis in gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2002; 9 (8): 775-84.

24. Sun Z, Zhu GL, Lu C et al. The impact of N-ratio in minimizing stage migration phenomenon in gastric cancer patients with insufficient number or level of lymph node retrieved: results from a Chinese mono-institutional study in 2159 patients. *Ann Oncol* 2009; 20 (5): 897-905.
25. Kitamura K, Yamaguchi T, Taniguchi H et al. Analysis of lymph node metastasis in early gastric cancer: rationale of limited surgery. *J Surg Oncol* 1997; 64 (1): 42-7.
26. Sasako M, McCulloch P, Kinoshita T, Maruyama K. New method to evaluate the therapeutic value of lymph node dissection for gastric cancer. *BMJ* 1995; 82 (3): 346-51.
27. Ock CY, Oh DY, Lee J et al. Weight loss at the first month of palliative chemotherapy predicts survival outcomes in patients with advanced gastric cancer. *Gastric Cancer* 2015:8.
28. Smalley SR, Benedetti JK, Haller DG et al. Updated analysis of SWOG-directed intergroup study 0116: a phase III trial of adjuvant radiochemotherapy versus observation after curative gastric cancer resection. *J Clin Oncol* 2012; 30 (19): 2327-33.
29. Sun L, Su XH, Guan YS et al. Clinical role of 18F fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography in post-operative follow up of gastric cancer: initial results. *World J Gastroenterol* 2008; 14 (29), 4627–32.
30. Nelen SD, van Steenberg LN, Dassen AE, van der Wurff AA, Lemmens ve, Bosscha K. The lymph node ratio as a prognostic factor for gastric cancer. *Acta Oncologica* 2013; 52: 1751-9.
31. Bozzetti F, Bonfanti G, Audisio RA et al. Prognosis of patients after palliative surgical procedures for carcinoma of the stomach. *Surg Gynecol Obstet* 1987; 164 (2): 151-4.
32. Boddie A, McMurtrey M, Giacco G, McBride C. Palliative total gastrectomy and esophagogastrectomy a reevaluation. *Cancer* 1983; 51 (7): 1195-200.
33. Medina-Franco H, Heslin MJ, Cortes-Gonzalez R. Clinicopathological characteristics of gastric carcinoma in young and elderly patients: a comparative study. *Ann Surg Oncol* 2000; 7 (7): 515-9.
34. Adachi Y, Oshiro T, Mori M, Maehara Y, Sugimachi K. Tumor size as a simple prognostic indicator for gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol* 1997; 4 (2): 137-40.
35. Nardi M, Azzarello D, Maisano R et al. FOLFOX-4 regimen as fist-line chemotherapy in elderly patients with advanced gastric cancer: a safety study. *J Chemother* 2007; 19 (1): 85-9.
36. Catalano V, Graziano F, Santini D et al. Second-line chemotherapy for patients with advanced gastric cancer: who may benefit? *Br J Cancer* 2008; 99 (9): 1402-07.
37. Wagner AD, Grothe W, Haerting J, Kleber G, Grothey A, Fleig WE. Chemotherapy in advanced gastric cancer: a systematic review and meta-analysis based on aggregate data. *J Clin Oncol* 2006; 24 (18): 2903-09.

## Literature analysis with four years of experience in the burn unit

### *Yanık ünitesinde dört yıllık tecrübe ile literatür analizi*

Ahmet Hikmet Şahin<sup>1</sup> Murat Sabri Yılmaz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Balıkesir University, Faculty of Medicine Department of Pediatric Surgery, Balıkesir, Türkiye

<sup>2</sup> Balıkesir City Hospital, Balıkesir, Türkiye

#### ABSTRACT

**Aim:** Burn is a particular form of trauma that can occur with physical and/or chemical factors, affect all systems of organism, and be seen in all ages and genders. In our study, a retrospective analysis was made on the data of children treated in our burn unit over 4 years.

**Materials and Methods:** The data of 266 patients hospitalized in the Pediatric Surgery Clinic's burn unit between January 2017 and December 2020 were obtained retrospectively from the hospital information management system.

**Results:** In four years, the number of patients who were evaluated was 266. Ninety-seven of these patients are girls, and 169 of them are boys. The average age of all patients is 2.86 years. (Average: 2.92 for girls, 2.81 for boys).

**Conclusion:** Patient treatments are customized according to the depth and width of the burn. With an approach specific to each child, individualized treatment plans, which consider the quality of life of the child and parents, will increase the effectiveness of the treatment. Individualized treatment plans, with specific approaches towards each child in consideration of the quality of life of the child and/or their parents, would increase the effectiveness of the treatments.

**Keywords:** Burn, burn unit, hospitalization.

#### Öz

**Amaç:** Yanık, fiziksel ve kimyasal faktörlerle oluşabilen, tüm organizma sistemlerini etkileyen, her yaş ve cinsiyette görülebilen özel bir travma şeklidir. Çalışmamızda yanık ünitemizde 4 yıl süreyle tedavi gören çocukların verilerinin analizi yapılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Ocak 2017-Aralık 2020 tarihleri arasında Çocuk Cerrahisi Kliniği yanık ünitesinde yatan 266 hastanın verileri hastane bilgi yönetim sisteminden geriye dönük olarak elde edildi.

**Bulgular:** Dört yılda değerlendirilen hasta sayısı 266'dır. Bu hastaların 97'si kız, 169'u erkektir. Tüm hastaların yaş ortalaması 2,86'dır. (Ortalama: kızlar için 2,92, erkekler için 2,81).

**Sonuç:** Hasta tedavileri yanığın derinliğine ve genişliğine göre kişiye özeldir. Her çocuğa özgü bir yaklaşımla, çocuğun ve ebeveynlerin yaşam kalitesini göz önünde bulunduran bireyselleştirilmiş tedavi planları tedavinin etkinliğini artıracakı düşünülmüştür.

**Anahtar Sözcükler:** Yanık, yanık ünitesi, hastane yatışı.

#### INTRODUCTION

The skin, which forms a barrier that protects the body from infection and prevents heat and fluid loss, is the organism's largest organ. If this barrier is removed, it makes the organism unprotected (1).

Burn is a particular form of trauma that can occur with physical and/or chemical factors, can affect all system of organism systems, and can be seen in all ages and genders (2).

Corresponding author: Ahmet Hikmet Şahin  
Balıkesir University, Faculty of Medicine Department of  
Pediatric Surgery, Balıkesir, Türkiye  
E-mail: drhikmet.sahin@gmail.com  
Application date: 01.06.2021 Accepted: 30.11.2021

In the USA, 270,000-300,000 people per million are exposed to burns every year, and 60,000-80,000 people are hospitalized due to burns and/or related complications. According to some studies, children under the age of 15 constitute at least 40% of the cases followed up in the hospital due to burns. In the USA, 66% of the patients admitted to the hospital due to burn caused by hot water are children under five years old (3,4). It was aimed to analyze the data of the cases treated in the burn unit between January 2017 and December 2020.

## MATERIALS and METHODS

The data of 266 patients, which were hospitalized in the burn unit affiliated to the Pediatric Surgery Clinic, between January 2017 and December 2020 were obtained retrospectively from the hospital information management system.

The burn unit is a separate area with 10 rooms, a hepafilter mechanism planned for burn treatment in the construction phase, and two treatment rooms.

Hand, face, and perineum burns, more than %5 body surface area (BSA) and 2nd- degree superficial burns, electrical burns and burns under 2 years of age were determined as hospitalization indications. All 3rd-degree burns, more than %15 BSA and 2nd-degree deep burns, inhalation burns, and burn patients with comorbid diseases were referred to advanced centers.

The treatment of patients hospitalized in the burn unit varies depending on the depth and severity of the burn. For each patient, pain management, calculations and resuscitation of fluid deficit, closed dressing of the burn area, daily dressing changes, periodic wound culture, infection control, and nutrition are planned separately.

Lund and Browder's method was used in calculating the burned area. On the other hand, Shriner's formula was used to calculate the fluid deficit. The aim is to start the patient's enteral nutrition as soon as possible.

Written consent was obtained from families/relatives for the research. The study was approved by the Balikesir University Clinical Research Ethics Committee (Approval Decision no: 2021/256).

## RESULTS

Over four years, 266 patients were hospitalized. Ninety-seven of these patients were female, and 169 of them were male. The average age of the patients were 2.86 years. (Average: 2.92 years for girls, 2.81 years for boys).

Burn causes are shown in Table-1. The most common cause of burns was hot water (n=208). The following factors were flame (n=28) and hot oil (n=19).

Burnt areas and percentages are shown in Table-2. The most common area of burns was head (n=63) and body (n=63). Multiple areas (n=47), hip burns (n=34), hand burns (n=30), foot burns (n=29) were also observed.

The average hospitalization period of a patient was 11.98 days. The discharge types of the patients are shown in Table-3. Two hundred and eleven patients were discharged with full recovery, and 5 patients were referred to a more advanced center on the field.

**Table-1.** Distribution of burn causes.

Factor	N
Hot water	208
Flame	28
Hot oil	19
Warm milk	7
Hot tomato paste	3
Electricity	1
<b>Total</b>	<b>266</b>

**Table-2.** Area and percentage of burns.

Burn area	Number	Burn percentage
Head	63	8
Body	63	15
Multi-area	47	IS
Hip	34	15
Hand	30	5
Foot	29	10
<b>Total</b>	<b>266</b>	<b>11.33</b>

**Table-3.** Type of discharge.

Type of discharge	Number
Full recovery	211
Referring to the advanced unit	5
Treatment refusal	20
Partial recovery	30
<b>Total</b>	<b>266</b>

## DISCUSSION

As seen in studies conducted at different times in different locations in Turkey, hot water is the most common cause of burns, and children under 2 years of age are the most affected (5). Aktaş defined that burn, which is not a localized case that only affects the skin, is a pervasive trauma that affects the whole organism and determines the prognosis with its physiopathological effects (1).

Burn causes hypovolemia, infection, deformities, organ loss, and even death by causing physiological changes in the tissue (4). The circumference of the burn wound and the degree of local blood supply determines the integrity of the cellular response. Injury on the human skin due to heat occurs in two stages. The first one is the injury caused by heat that occurs immediately with cell damage. Çetinkale stated that the second one is the delayed injury due to cell death resulting from progressive dermal ischemia (3).

The gender and age distributions of the patients evaluated are compatible with the literature. The majority of our patients are male children (%63.53), and their average age is 2.86 years. After 2 years of age, children who enter the process defined as the "oral period" developmentally act with curiosity and reach mobility that can easily escape the attention of their parents, causing an increase in home accidents (6).

It is compatible with the literature for hot water to be seen as the leading cause of burns. Hot water is frequently used at home for reasons such as warming, cooking, bathing and it was seen that there are no mechanisms in place to prevent the contact children under the age of 2 could have with hot water around the house; especially in lower socio-economic households.

The frequent occurrence of burn trauma in these areas indicates that the burn develops after the child tries to reach the burn factor above the head level. Locations of the most common burnt areas are compatible with the literature indicating that the burn occurs following the child's curiosity to reach a burn factor above head level. The absence and/or weakness of mechanisms in place from preventing curiosity-based burns suggests that it, by itself, is a cause as well. Treatment methods of patients hospitalized due

to burns were planned according to the width and depth of the burn area. The most critical treatment factors are warm baths at the time of the first hospitalization, making the child feel that they are in a safe-clean-warm environment, giving medication to reduce pain, and relieving the family's anxiety and the child (6).

Above mentioned method led the way to no gastrointestinal complications. The effort on trying to prevent wound infections in accordance with daily burnt area observations, periodic culture swabs and necessary consultations with pediatric infectious diseases; was successful with an antibiotics-based treatment.

The planned construction of the burn unit from the very beginning, the starting of the staff after in-service training, cooperation with hospital psychologists to avoid problems in relations with patients and their relatives, daily use of wound care products for each patient, the periodic visits of social workers to the unit and the presence of other pediatric subspecialists to be consulted when needed are the reasons for the high success of treatment.

Özer and Vural stated that burn-in childhood is severe trauma, and requires a multidisciplinary approach in order to reduce the risk of complications and have both the child and the parents return to their best functional state possible (7). After the burn, a severe decrease in the quality of life of children was observed (2). The hospitalization of a child and their parents requires them to trust the people who take on the responsibility of their treatment and they need to feel that they are being treated in a suitable environment which affects the quality of life of the child and in retrospect has a positive effect on the success rate of the treatment.

Consequently, child burns are primarily due to hot water in boys around the age of 2. Mostly, 2nd-degree superficial burns are seen on the head and body. Making individualized treatment plans considering the child's quality of life and parents with an approach specific to each child will increase the effectiveness of treatment.

**Conflict of interest:** The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

## References

1. Aktaş H, Ünal E, Gülhan NF. Approach to Pain in the Burn Patient. H.Ü. Faculty of Health Sciences Journal 2016; 3 (3): 47-57.
2. Çetin C and Tuna Z. Quality of Life of Burn Patients and Factors Affecting Quality of Life. Faculty of Health Sciences Nursing Journal 2010; 17 (2): 1-12.
3. Çetinkale O. Burn Wound and Treatment. I.Ü. Cerrahpaşa Medical School Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri 2001; No: 67 s.107-117.
4. Çıkman M, Çandar M, Kandış M, et al. Retrospective Analysis of Forensic Burns Admitted to Our Clinic: 4 Years of Experience. Düzce Medical School Journal 2011; 13 (3): 29-33.
5. Özkaya NK, Alğan S, Akkaya H. Evaluation and Treatment of the Burned Patient. Ankara Medical Journal 2014; 14 (4): 170 -175.
6. Şahin AH. Burn wound and treatment. Balıkesir. Yakın Kitabevi; 2021. ISBN: 978-975-2493-71-1.
7. Vural F and Özer GÖ. The Effect of Childhood Age Characteristics on Burns and Care Recommendations for Children with Burns. Dokuz Eylül University Nursing Faculty Electronic Journal 2018; 11 (3): 257-260.

## Comparison of laparoscopic and open surgery in obese patients with endometrial cancer

### *Endometrium kanserli obez hastalarda laparoskopik ve açık cerrahinin karşılaştırılması*

Ceren Sancar

Nuri Yıldırım

Ahmet Bilgi

Sevki Gokulu

Levent Akman

Mustafa Coşan Terek

Ahmet Aydın Özşaran

Ege University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Division of Gynaecologic Oncology, Izmir, Türkiye

#### ABSTRACT

**Aim:** The aim of the study is to compare the results of total laparoscopic hysterectomy and total abdominal hysterectomy in obese women with endometrial cancer (EC).

**Materials and Methods:** Patients with endometrial cancer whose BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> and who were undergone total laparoscopic hysterectomy (n=68) or total abdominal hysterectomy (n=161) were included in the study. Demographic and histopathological features, disease-free survival and overall survival of the patients were recorded. All these data of laparoscopy and laparotomy patients were compared with each other.

**Results:** No significant difference was observed between two groups in terms of stage, tumor grade, histology, lymph node dissection rate and number of removed lymph nodes. Cardiovascular diseases were more common in laparotomy group (p=0.002). ASA (American Society of Anesthesiologists) score was higher in laparotomy group (p=0.001). Perioperative and postoperative complications were similar in both groups. The operation time was significantly longer and postoperative hospital stay was significantly shorter in the laparoscopy group (p<0.0001). There was no significant difference between two groups in disease-free survival and overall survival. The overall survival rate was 90.7% in the laparoscopy group and 95.1% in the laparotomy group (p = 0.789).

**Conclusion:** Our results showed that in obese patients with EC, laparoscopy had similar oncological outcomes with laparotomy and was also more beneficial for patients in terms of a shorter hospital stay.

**Keywords:** Laparoscopy, laparotomy, endometrial carcinoma, obesity, comorbidity.

#### ÖZ

**Amaç:** Çalışmanın amacı endometrial kanserli obez hastalarda total laparoskopik histerektomi ve total abdominal histerektomi sonuçlarının karşılaştırılmasıdır.

**Gereç ve Yöntem:** Vücut kitle oranı  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> olan endometrial kanserli hastalardan total laparoskopik histerektomi (n=68) ve total abdominal histerektomi (n=161) uygulanmış olanlar çalışmaya dahil edildi. Hastaların demografik ve histopatolojik özellikleri, hastalıksız sağ kalım ve toplam sağ kalım süreleri kaydedildi. Laparoskopi ve laparotomi grubunun verileri birbirleri ile karşılaştırıldı.

Corresponding author: Ceren Sancar  
Ege University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Division of Gynaecologic Oncology, Izmir, Türkiye  
E-mail: [cerensancar@gmail.com](mailto:cerensancar@gmail.com)  
Application date: 01.05.2021 Accepted: 07.12.2021

**Bulgular:** İki grup arasında, evre, tümör derecesi, histoloji, lenf nodu diseksiyonu yapılma oranı ve çıkarılan lenf nodu sayısı açısından anlamlı fark görülmedi. Kardiyovasküler hastalıklar laparotomi grubunda belirgin fazla izlendi ( $p=0,002$ ). ASA (Amerikan Anestezistler Derneği) skoru laparotomi grubunda daha yüksek idi ( $p=0,001$ ). Peroperatif ve postoperatif komplikasyonlar laparotomi ve laparoskopi gruplarında benzer idi. Laparotomi grubunda; operasyon süresi belirgin kısa iken, postoperatif hastanede yatış süresi laparoskopi grubuna göre belirgin artmış idi ( $p<0,0001$ ). İki grup arasında hastalısız sağ kalım ve genel sağ kalım süreleri açısından belirgin fark saptanmadı. Laparoskopi grubunda genel sağ kalım %90,7 iken, laparotomi grubunda %95,1 saptandı ( $p=0,789$ ).

**Sonuç:** Sonuçlarımız endometrial kanserli obez hastalarda laparoskopinin laparotomi ile benzer onkolojik sonuçlara sahip olmakla birlikte hastanede kalış süresindeki kısalık ile hastalar için daha konforlu olduğunu gösterdi.

**Anahtar Sözcükler:** Laparoskopi, laparotomi, endometrial kanser, obezite, komorbidite.

## INTRODUCTION

The most prevalent gynecologic malignancy in Turkey is endometrial cancer (EC). The incidence of EC is 9.8 cases per 100.000 (1). Endometrial cancer is usually seen after menopause in women (2, 3). Because postmenopausal bleeding is usually the first and early symptom, 75 percent of patients can be found out at an early stage (3, 4). Hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy is the accepted treatment for endometrial cancer (5). Lymph node sampling (pelvic and paraaortic/pelvic) is carried out for staging (6).

Endometrial cancer is related to obesity, and patients who have endometrial cancer are mostly obese. Surgery is difficult and risky because of raised comorbidity rate and technique problems in obese patients. In open surgery to reach the pelvic organs is difficult, and the morbidity rate, especially wound infection, is increased in the postoperative period. (7, 8). Minimally invasive surgery has emerged in these patients. Although some authors support that obesity is one of the relative contraindications for laparoscopic surgery (9), surgical site infection risk reduction, short hospitalization time, and early recovery led this technique to be advantageous for obese patients.

This study compared total laparoscopic hysterectomy and total abdominal hysterectomy outcomes in obese women with endometrial cancer. We tried to identify oncological outcomes, especially the safety and complications of these methods for these patients.

## MATERIALS and METHODS

The patients' records after endometrial cancer surgery between 2010 and 2017 at the Obstetrics and Gynecology Department of a University School of Medicine were retrospectively reviewed from the clinic's database. We got informed consent from the patients. The principles of

Helsinki Declaration 2008's were used as a guideline for this study (10). The Faculty of Medicine Research Ethics Committee approved this study with the decision number of 18-9/55. We identified 231 patients whose body mass index (BMI)  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> and included them in the study. Patients whose final pathology was revealed other than endometrial adenocarcinoma and who had a synchronous tumor of the genitourinary tract were excluded. Laparotomy was performed in 161 of these patients, and laparoscopy was performed in 68 patients. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) staging method was used for the patients who underwent laparotomy and laparoscopy (11). Sentinel lymph node mapping procedures weren't used. TLH procedure is basically performed according to the classification system described by Harry Reich (12). As an important point, we used open entry technique, took all specimens out of the vagina, did not use morcellation technique and sutured vaginal cuff using laparoscopic technique.

Two groups were defined as laparotomy and laparoscopy. All patients' records were examined, and their demographic characteristics such as age, parity, BMI, and menopause status were recorded. All patients were evaluated for having comorbidities like diabetes mellitus (DM), hypertension (HT), cardiovascular disease, endometriosis, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), a history of thromboembolism or renal disorder. ASA scores of all patients were recorded. Operative time, postoperative hemoglobin (Hgb) and hematocrit (Htc) decline, perioperative complications (intestinal system injury, urinary system injury, bleeding, conversion), and postoperative complications (infection, urinary system complications, intestinal system complications) were recorded.

Histology, grade, stage, lymph node dissection rate and the count of removed lymph nodes were



recorded. Postoperative hospital stay was recorded. The follow-up reports were used to calculate each patient's overall survival and disease-free survival times. Both of the data from the laparoscopy and laparotomy patients were compared.

### Statistical Analysis

The continuous variables were compared using Mann-Whitney U tests, while the nominal variables were compared using Chi-Square or Fisher's exact tests. For survival analysis, Kaplan-Meier method was used.

P values that resulted from two-sided tests were considered to designate a statistically significant difference if they were <0.05. SPSS version 15.0 (Chicago, Illinois, United States) was used for statistical analyses.

### RESULTS

The laparotomy group had 161 patients and the laparoscopy group had 68 patients. The laparotomy group had a higher average age and parity. The BMI, on the other side, did not differ between the two groups. The comorbidities like HT, DM, endometriosis, COPD, history of thromboembolism, and renal disorder, had similar rates in the two groups ( $p>0.05$ ). However, in the laparotomy group, cardiovascular disease rate was higher ( $p=0.03$ ) (Table-1). Moreover, the laparotomy group's ASA score was statistically higher than the laparoscopy group's ( $p=0.001$ ). There were no differences between the two groups in terms of intraoperative complication rates ( $p=0.515$ ). One bowel injury and two blood transfusions were recorded in the laparotomy group. A patient in the laparoscopy group had to be converted to laparotomy due to increased

partial carbon dioxide pressure in the Trendelenburg position. Histologic subtype, stage and grade of disease are similar in the two groups ( $p=0.398$ ,  $0.213$  and  $0.284$ , respectively). In both groups, the rate of lymphadenectomy was similar ( $p=0.380$ ) (laparotomy group %59.62, laparoscopy group %66.17). Moreover, no significant difference was found between the two groups in terms of the number of removed lymph nodes and metastatic lymph nodes ( $p=0.299$  and  $0.813$ , respectively) (Table-2).

The rates of postoperative complications did not differ between the two groups ( $p=0.144$ ). In the laparotomy group, one ileus, one re-laparotomy and three blood transfusions were recorded. In the laparoscopy group, two patients were admitted to the hospital within 90 days. Postoperative hemoglobin decrease was observed at the same rate in each group ( $p=0.125$ ). The laparotomy group had a significantly shorter operation time ( $p<0.0001$ ). The laparotomy group had a significantly longer stay in the hospital after surgery ( $p<0.0001$ ), detailed in Table-3. Wound infection and chylous acid were not recorded in either group during the follow-up period.

There is no difference for adjuvant therapy between the two groups, neither in radiotherapy ( $p=0.864$ ) nor in chemotherapy ( $p=0.744$ ).

Disease-free survival for five years was 95.1% in the laparotomy group and 94.5% in the laparoscopy group ( $p=0.747$ ). Overall survival for five years was 93.7% in the laparotomy group and 90.7% in the laparoscopy group ( $p=0.789$ ). Differences were not statistically significant (Table-2).

**Table-1.** Clinical data in patients with endometrial cancer.

	Laparotomy (n = 161)	Laparoscopy (n = 68)	P value
Age (median, range)	61.89 (39-83)	56.18 (35-76)	<0.001
Parity (median, range)	2.8 (0-14)	2.22 (0-8)	0.013
BMI (median, range)	36.58 (30-65)	35.8 (30-56)	0.491
Previous surgery (n, %)	37 (23.0)	12 (17.6)	0.481
Hypertension (n, %)	82 (50.9)	28 (41.2)	0.195
Diabetes mellitus (n, %)	50 (31.1)	15 (22.1)	0.2
Renal disorders (n, %)	2 (1.2)	1 (1.5)	1
Endometriosis (n, %)	3 (1.9)	0 (0)	0.557
COPD (n, %)	3 (1.9)	0 (0)	0.557
History of thromboembolism (n, %)	6 (3.7)	1 (1.5)	0.677
Cardiovascular diseases (n, %)	24 (14.9)	1 (1.5)	0.002

**Table-2.** Histopathological parameters of the patients.

	Laparotomy (n:161)	Laparoscopy (n:68)	P value
FIGO Stage			0.213
Ia	95 (59 %)	47 (69.11 %)	
Ib	34 (21.11 %)	9 (13.23 %)	
II	13 (8.07 %)	4 (5.88 %)	
IIIa	3 (1.86 %)	3 (4.41 %)	
IIIb	1 (0.62 %)	0	
IIIc	11 (6.83 %)	4 (5.88 %)	
IVa	1 (0.62 %)	0	
IVb	3 (1.86 %)	1 (1.47 %)	
Tumor Grade			0.284
I	53 (32.91 %)	20 (29.41 %)	
II	70 (43.47 %)	43 (63.23 %)	
III	38 (23.6 %)	5 (7.35 %)	
Histology			0.398
Endometrioid	97 (60.24 %)	45 (66.17 %)	
Serous	8 (4.96 %)	1 (1.47 %)	
Clear-cell	4 (2.48 %)	0	
Mixed	34 (21.11 %)	18 (26.47 %)	
Carcinosarcoma	7 (4.34 %)	1 (1.47 %)	
Others	11 (6.83 %)	3 (4.41 %)	
LN dissection			0.380
(+)	96 (59.62 %)	45 (66.17 %)	
(-)	65 (40.37 %)	23 (33.82 %)	
Number of Dissected Lymph Nodes			0.299
1-5	11 (11.45 %)	10 (22.22 %)	
6-10	50 (52.08 %)	11 (24.44 %)	
11-15	15 (15.62 %)	14 (31.11 %)	
16-20	9 (9.37 %)	8 (17.77 %)	
21-25	4 (4.16 %)	0	
26-30	3 (3.12 %)	1 (2.22 %)	
31-35	2 (2.08 %)	1 (2.22 %)	
36-40	1 (1.04 %)	0	
41-45	1 (1.04 %)	0	
Number of Metastatic Lymph Nodes			0.813
0	83 (86.45 %)	41 (91.11 %)	
1-5	12 (12.5 %)	4 (8.88 %)	
6-10	1 (1.04 %)	0	
11-15	0	0	
16-20	1 (1.04 %)	0	
Follow-up period (months)	68 (7-120)	59 (7-79)	0,438
Disease-free survival (5-year)	95.1%	94.5%	0.747
Overall survival (5-year)	93.7%	90.7%	0.789

**Table-3.** Clinical data in patients with endometrial cancer.

	Laparotomy (n = 161)	Laparoscopy (n = 68)	P value
Operation time (min) (Median, range)	155.43 (50-330)	186,91 (120-300)	<0,001
Postoperative hospital stay (day) (Median, range)	6,01(1-14)	4,35 (0-8)	<0,001

## DISCUSSION

Obesity puts women at risk for endometrial cancer and raises surgical complications due to technological difficulties and comorbidities. Particularly, cardiovascular diseases as comorbidity lead the surgeon to laparotomy as a surgical approach. The aim of this study was to compare the results of laparoscopic and open surgery in obese patients with endometrial carcinoma. Wang et al. reported a meta-analysis that included studies comparing laparoscopy and laparotomy in endometrial carcinoma patients. Obesity was not a criterion in the studies of the meta-analysis. The meta-analysis showed total laparoscopic hysterectomy was related to lower risks of total complications ( $p=0,002$ ), major complications ( $p=0,042$ ), and postoperative complications ( $p=0,003$ ). However, there was no noticeable difference in the risk of intraoperative complications ( $p=0,919$ ) and mortality (13). It was showed laparoscopic surgery is beneficial for patients with endometrial carcinoma, but obesity was not evaluated separately. Since our study was a retrospective study, it was apparent that there was bias in patients' selection. In our study, patients in the laparotomy group had significantly more comorbidities. Nevertheless, there is another fact that it is challenging to operate more complicated patients with comorbidities by laparoscopy. In this context, it is not easy to design a randomized study. Studies randomly designed with a higher number of patients, if possible, might better elucidate us in terms of complications in obese patients with endometrial cancer.

Obesity has been shown to increase intraoperative and postoperative complications in studies comparing obese and non-obese patients with endometrial cancer. Bouwma et al. reported in a systematic review that conversion to laparotomy was remarkably higher in obese patients; also, wound infection and antibiotic use were more common in open surgery. Laparoscopic surgery in obese patients was related to less complication rate (14). Consequently, recently published articles indicate that laparoscopic surgery is safe in these obese patients (15, 16).

As the previous studies reported, laparotomy prolonged hospital stay, and laparoscopy accelerated the patients' return to daily life (17-21). All these studies show that minimally invasive surgery can be used in patients with endometrial cancer for their comfort.

Some studies have compared robotic surgery, laparoscopy and laparotomy (22-25). In a study by Chan et al. laparoscopic and robotic surgery had fewer complications and shorter hospitalization than open surgery in morbidly obese patients with endometrial cancer. The complication rate of robotic surgery was higher than laparoscopic surgery, but it was not statically significant. This study's limitations were the minimally invasive procedures performed only in early-stage diseases and evaluated only the short-term results (26). According to a review by Shemshedini et al., complications are rare when endometrial carcinoma is treated with minimally invasive surgery. Also, robotics is a better option than laparoscopy if high adipose tissue would limit appropriate dissection (27).

In our study number of patients with late-stage disease is similar in laparoscopy and laparotomy groups. However, since many studies included patients with early-stage endometrial cancer, the advantages or harms of laparoscopy in late-stage disease could not be determined (28, 29). In many studies, surgeons do not prefer laparoscopic approach in late-stage disease. Simultaneously, inadequate Trendelenburg position because of comorbidity and limited movement due to adipose tissue are the reasons why laparoscopy is not preferred. We think that these difficulties can be ignored in laparoscopic surgeries performed by experienced surgeons.

Although the number of patients with late-stage disease is similar in laparoscopy and laparotomy groups, a small number of these patients is our study's limitation. Therefore, outcomes of laparoscopic surgery in late-stage disease could not be demonstrated. With further studies including a larger sample size of patients with late-stage endometrial carcinoma, laparoscopy benefits will be more clearly demonstrated.

## CONCLUSION

There is a higher risk for obese women to develop endometrial carcinoma. The surgical technique of standard procedure that includes hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy in obese patients affects perioperative and postoperative morbidity. With more practice, laparoscopic surgery does not increase surgery-related morbidity. Also, it has postoperative advantages like shorter hospitalization and faster resuming full activity fast, without any negative effect on oncological outcomes.

**Conflict of interest:** There is no conflict of interest.

## References

1. 2014 Cancer Incidences in Turkey. Available from: <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/kanser-istatistikleri/yillar/495-2014-yili-turkiye-kanser-istatistikleri.html>
2. Tangjitgamol S, Manusirivithaya S, Srijaipracharoen S, et al. Endometrial cancer in Thai women: clinico-pathological presentation and survival. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2010; 11 (5):1267-72.
3. Saso S, Chatterjee J, Georgiou E, Ditri AM, Smith JR, Ghaem-Maghami S. Endometrial cancer. *BMJ*. 2011 Jul 6; 343:d3954.
4. Salani R, Backes FJ, Fung MF, et al. Posttreatment surveillance and diagnosis of recurrence in women with gynecologic malignancies: Society of Gynecologic Oncologists recommendations. *Am J Obstet Gynecol*. 2011 Jun; 204 (6): 466-78.
5. Hacker NF. Uterine cancer. In: Berek JS, Hacker NF, eds. *Practical gynecologic oncology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000: 407–55.
6. Mikuta JJ. International Federation of Gynecology and Obstetrics. Staging of endometrial cancer 1988. *Cancer* 1993; 71: 1460–63.
7. Krebs HB, Helmkamp F. Transverse periumbilical incision in the massively obese patient. *Obstet Gynecol* 1984; 63: 241–5.
8. Pitkin RM. Abdominal hysterectomy in obese women. *Surg Gynecol Obstet* 1976; 142:532–6.
9. Gomel V, Taylor PJ. Indications and contraindications of diagnostic laparoscopy. In: Gomel V, Taylor PJ, editors. *Diagnostic and operative gynaecologic laparoscopy*. 1<sup>st</sup> ed. St. Louis (MO): Mosby-Year Book; 1995. p. 68–70.
10. Puri KS, Suresh KR, Gogtay NJ, Thatte UM. Declaration of Helsinki, 2008: implications for stakeholders in research. *J Postgrad Med*. 2009; 55 (2):131-4.
11. FIGO stages—1988 revision (Announcement). *Gynecol Oncol* 1989; 135: 125-6.
12. Reich, Harry<sup>a,b</sup> Total laparoscopic hysterectomy: indications, techniques and outcomes, *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*: August 2007; 19 (4): 337-44.
13. Wang HL, Ren YF, Yang J, Qin RY, Zhai KH. Total laparoscopic hysterectomy versus total abdominal hysterectomy for endometrial cancer: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013; 14(4):2515-9.
14. Bouwman F, Smits A, Lopes A, et al. The impact of BMI on surgical complications and outcomes in endometrial cancer surgery--an institutional study and systematic review of the literature. *Gynecol Oncol*. 2015 Nov; 139 (2): 369-76.
15. Gehrig PA, Cantrell LA, Shafer A, Abaid LN, Mendivil A, Boggess JF. What is the optimal minimally invasive surgical procedure for endometrial cancer staging in the obese and morbidly obese woman? *Gynecol Oncol* 2008; 111: 41–5.
16. Eltabbakh GH, Piver MS, Hempling RE, Recio FO. Laparoscopic surgery in obese women. *Obstet Gynecol* 1999; 94 (5 Pt 1): 704–8.
17. Obermair A, Manolitsas TP, Leung Y, Hammond IG, McCartney AJ. Total laparoscopic hysterectomy versus total abdominal hysterectomy for obese women with EC. *Int J Gynaecol Cancer* 2005; 15: 319-24.
18. Eltabbakh GH, Shamonki MI, Moody JM, Garafano LL. Hysterectomy for obese women with EC: laparoscopy or laparotomy? *Gynecol Oncol* 2000; 78: 329-35.
19. Helm CW, Arumugam C, Gordinier ME, et al. Laparoscopic surgery for EC: increasing body mass index does not impact postoperative complications. *J Gynecol Oncol* 2011; 22: 168-76.
20. Santi A, Kuhn A, Gyr T. Laparoscopy or laparotomy? A comparison of 240 patients with early-stage EC. *Surg Endosc* 2010; 24: 939-43.
21. Manolitsas TP, McCartney AJ. Total laparoscopic hysterectomy in the management of endometrial carcinoma. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2002; 9: 54-62.
22. Corrado G, Vizza E, Cela V, et al. Laparoscopic versus robotic hysterectomy in obese and extremely obese patients with endometrial cancer: A multi-institutional analysis. *Eur J Surg Oncol*. 2018 Dec; 44 (12): 1935-41.

23. Barnett JC, Judd JP, Wu JM, Scales CD Jr, Myers ER, Havrilesky LJ. Cost comparison among robotic, laparoscopic and open hysterectomy for endometrial cancer. *Obstet Gynecol.* 2010 Sep; 116 (3): 685-93.
24. Seamon LG, Cohn DE, Henretta MS, et al. Minimally invasive comprehensive surgical staging for endometrial cancer: Robotics or laparoscopy? *Gynecol Oncol.* 2009 Apr; 113 (1): 36-41.
25. Gala RB, Margulies R, Steinberg A, et al; Society of Gynecologic Surgeons Systematic Review Group. Systematic review of robotic surgery in gynecology: robotic techniques compared with laparoscopy and laparotomy. *J Minim Invasive Gynecol.* 2014 May-Jun; 21 (3):353-61.
26. Chan JK, Gardner AB, Taylor K, et al. Robotic versus laparoscopic versus open surgery in morbidly obese endometrial cancer patients - a comparative analysis of total charges and complication rates. *Gynecol Oncol.* 2015 Nov; 139 (2): 300-5.
27. Shemshedini T, Pradhan TS, Pua TL, Tedjarati SS. The roles and limitations of robotic surgery for obese endometrial cancer patients: a common challenge in gynecologic oncology. *J Robot Surg.* 2015 Jun; 9 (2): 109-16.
28. Bijen CB, Briët JM, de Bock GH, Arts HJ, Bergsma-Kadijk JA, Mourits MJ. Total laparoscopic hysterectomy versus abdominal hysterectomy in the treatment of patients with early stage endometrial cancer: a randomized multicenter study. *BMC Cancer.* 2009 Jan15; 9: 23.
29. Mourits MJ, Bijen CB, Arts HJ, et al. Safety of laparoscopy versus laparotomy in early-stage endometrial cancer: a randomised trial. *Lancet Oncol.* 2010 Aug; 11 (8): 763-71.

## **Tuboovaryan apseli hastalarda sistemik inflamatuvar belirteçlerin medikal tedavi başarısızlığını öngörmedeki yeri**

*The role of systemic inflammatory markers in prediction of medical treatment failure in patients with tubo-ovarian abscess*

Sezin Ertürk Aksakal

Huriye Güvenç Saçıntı

Şadıman Kiykac Altınbaş

Ömer Lütfi Tapısız

Yaprak Engin-Üstün

Jinekoloji/Ürojinekoloji Kliniği, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara, Türkiye

### **ÖZ**

**Amaç:** Tuboovaryan apse (TAO) olgularında sistemik inflamatuvar belirteçler ve Aspartate aminotransferaz/Platelet Index (APRI) skorun medikal tedavi başarısızlığını öngörmede yeri olup olmadığı araştırıldı.

**Gereç ve Yöntem:** Ağustos 2016 – Ekim 2020 tarihleri arasında TOA tanısı ile yatırılarak tedavi edilen 240 hasta çalışmaya dâhil edildi. Hastaların demografik ve klinik özellikleri, tanı anında bakılan C-Reaktif protein (CRP), Nötrofil lenfosit oranı (NLR), Platelet lenfosit oranı (PLR) ve APRI skoru dosya kayıtlarından elde edildi. Sadece medikal (n=74) tedavi alan veya cerrahi tedavi gereken hastalarda (n=166) bu parametrelerin medikal tedavi başarısızlığını öngörmedeki yerleri araştırıldı.

**Bulgular:** Cerrahi tedavi alan hastaların sadece medikal tedavi alanlara göre ortalama yaşı ( $40,95 \pm 6,96$  ve  $38,09 \pm 7,69$ ), apse boyutu ( $67,57 \pm 19,86$  mm ve  $52,78 \pm 16,63$  mm), CRP değeri ( $140,61 \pm 110,88$  ve  $75,24 \pm 36,64$  mg/L), beyaz küre ( $13818,86 \pm 5445,80$  ve  $11845,31 \pm 4424,39$   $\mu$ L), nötrofil ( $11146,81 \pm 5284,83$  ve  $9242,03 \pm 4278,60$   $\mu$ L) ve NLR değeri ( $9.52 \pm 6.88$  ve  $6.64 \pm 6.30$ ) anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Receiver Operating Characteristics (ROC) eğrisi analizi (95% 0,531-0,682) ile CRP'nin  $>11,57$  olmasının %63,3 sensitivite, %55,4 spesifite ile medikal tedavi başarısızlığını öngördüğü saptandı.

**Sonuç:** NLR, PLR ve APRI skoru cerrahi tedavi gereksinimini öngörmede etkisizdir. CRP başvuru anında cerrahi tedavi gereksinimini belirlemek adına kullanılabilir bir belirteçtir.

**Anahtar Sözcükler:** Tuboovaryan apse, nötrofil lenfosit oranı, platelet lenfosit oranı, APRI skoru.

### **ABSTRACT**

**Aim:** Aimed to evaluate the role of systemic inflammatory markers and Aspartate aminotransferase to Platelet Ratio Index (APRI) score in predicting medical treatment failure in patients with Tubo-ovarian abscess (TOA).

**Materials and Methods:** Patients (n=240) hospitalized with a diagnosis of TOA between August 2016 - October 2020 were included in the study. Patients' demographic and clinical characteristics and mean C-Reactive protein (CRP) level, neutrophil-lymphocyte ratio (NLR), platelet-lymphocyte ratio (PLR) and APRI score measured on admission were also recorded. The role of these parameters was investigated in predicting medical treatment failure in patients who only received medical treatment or who needed surgical treatment.

Sorumlu yazar: Sezin Ertürk Aksakal  
Jinekoloji/Ürojinekoloji Kliniği, Sağlık Bilimleri Üniversitesi,  
Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma  
Hastanesi, Ankara, Türkiye  
E-posta: drsezer@gmail.com  
Başvuru tarihi: 20.08.2021      Kabul tarihi: 07.12.2021



**Results:** The mean age ( $40.95 \pm 6.96$  vs.  $38.09 \pm 7.69$ ), abscess size ( $67.57 \pm 19.86$  mm vs.  $52.78 \pm 16.63$  mm), CRP level, ( $140.61 \pm 110.88$  vs.  $75.24 \pm 36.64$  mg/L), white blood cell count ( $13818.86 \pm 5445.80$  and  $11845.31 \pm 4424.39$   $\mu$ L), neutrophil count ( $11146.81 \pm 5284.83$  and  $9242.03 \pm 4278.60$   $\mu$ L) and NLR ( $9.52 \pm 6.88$  and  $6.64 \pm 6.30$ ) of patients who received surgical treatment were significantly higher than those who received only medical treatment. In receiver operating characteristics (ROC) analysis area under the curve (AUC) 0.607 was statistically significant for CRP with a cut-off value of 11.57 to predict medical treatment failure (95% 0.531-0.682, sensitivity 63.3%, specificity 55.4%).

**Conclusion:** NLR, PLR and APRI score are ineffective in predicting the need for surgical treatment. CRP could be used as a marker in predicting the need for surgical treatment in patients with TOA.

**Keywords:** Tubo-ovarian abscess, neutrophil to lymphocyte ratio, platelet to lymphocyte ratio, APRI score.

## GİRİŞ

Tubeoovaryan apse (TOA) özellikle reproduktif dönemde görülen, yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen ciddi bir klinik tablodur. Sıklıkla pelvik inflamatuvar hastalığın (PID) bir komplikasyonu olarak gelişir (1). Enfeksiyon sıklıkla tuba ve overleri tutar, bazen tabloya mesane, barsak gibi diğer pelvik organlar da eşlik edebilir. Risk faktörleri çoklu seksüel eş, geçirilmiş PID öyküsü, eşte PID öyküsü, 15- 25 yaş olarak rapor edilmiştir (2,3).

Hastaların tedavisinde antibiyoterapi ve bazı durumlarda antibiyoterapi + cerrahi tedavi protokolleri uygulanabilmektedir. Yapılan çalışmalarda abse çapı 7 cm'nin altında, antibiyotik tedavisine yeterli yanıt alınan ve premenopozal hastaların sadece antibiyotik tedavisi ile düzeldiği gösterilmiştir (4, 5). Apse çapı 7 cm üzerinde, multiloküle ve rüptür bulguları olan, antibiyotik tedavisine yanıtız hastalarda cerrahi drenaj gerekmektedir. Ancak yine de hangi hastaların cerrahi tedavi gereksinimi olacağı net bilinmemektedir (5, 6).

Nötrofil lenfosit oranı (NLR), Platelet lenfosit oranı (PLR) son yıllarda bazı hastalıkların takip ve tanısında kullanılabilen sistemik inflamatuvar belirteçlerdir (7-9). Aspartate aminotransferaz / Platelet (APRI) Index skoru kolayca hesaplanabilen, karaciğerdeki inflamasyonun şiddetini göstermek için tanımlanmış olsa da birçok inflamatuvar süreci öngörmeye bir belirteç olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (10-12).

Bu çalışmada TOA tanılı hastaların hastaneye ilk kabulünde rutin olarak alınan kan örneklerinden beyaz küre, nötrofil sayımı, C-Reaktif Protein (CRP), NLR, PLR, gibi parametreler ile bu alanda çalışılmamış olan APRI skorun cerrahi tedavi gereksinimini öngörmeye yeri olup olmadığının değerlendirilmesi amaçlandı.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde Ağustos 2016 – Ekim 2020 arasında TOA tanısı ile yatırılarak medikal (n=74) ve/veya cerrahi tedavi (n=166) alan 240 hasta çalışmaya dâhil edildi. Çalışma için hastanemiz yerel etik kurul onayı alındı (2021, 03/05/05). Hastanenin takip ve tedavi protokolünden çıkan hastalar, tanı ve tedavisine dış merkezde başlanıp hastanemizde tedavi sürecine devam eden hastalar ve immunsupresif ilaç kullanan hastalar çalışma dışında tutuldu.

Çalışmaya alınan hastaların yaşı, gebelik ve doğum sayıları, doğum şekli, korunma şekli, vücut kitle indeksi (BMI), sigara kullanımı, sistemik hastalık öyküsü, geçirilmiş operasyon öyküsü kaydedildi. Ayrıca uygulanan tedavi şekli (Medikal veya medikal+cerrahi), operasyon tipi (laparoskopik, laparotomi) apse boyutu, lokalizasyonu (unilateral, bilateral), apse paterni (multiloküle, uniloküle, kompleks) ve tanı anında bakılan laboratuvar parametreleri [Aspartat aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), CRP, beyaz küre sayısı, platelet sayısı, nötrofil ve lenfosit sayıları] dosya kayıtlarından elde edildi.

### TOA tanı kriterleri

TOA tanısı pelvik ağrı, servikal ya da vajinal mukopürülan akıntı, pelvik muayenede servikal uterin ya da adneksiyal hassasiyete eşlik eden ultrasonografik/manyetik rezonans ile kompleks adneksiyal kitle görülmesi ile konuldu. Beyaz küre, CRP yüksekliği ve vücut sıcaklığının  $38,3^{\circ}\text{C}$  ve üzeri ölçülmesi ek kriterler olarak kaydedildi.

### TOA Tedavi protokolü

Hastanemiz jinekoloji kliniği protokolü gereği hastalar yatışı esnasında tam kan sayımı, CRP, tam idrar tetkiki (tit), biyokimya (üre, kreatinin,

AST, ALT) tetkikleri ile değerlendirilmektedir. Tüm hastalara Centers for Disease Control and Prevention (CDC) kılavuzuna göre 150 mg Gentamisin yükleme dozu takiben Gentamisin (80 mg/kg-iv) + Klindamisin (900 mg-iv) 8 saatte bir tedavi protokolü başlanmaktadır (13). Gūnaşırı pelvik muayene, tam kan sayımı (CBC) ve CRP takibi, haftalık ultrasonografik apse boyutlarının ölçümü ile hastalar takip edilmektedir. Medikal tedavi klinik düzelme olana kadar intravenöz, sonrasında Doksisisiklin 500 mg + Metranidazol 500 mg 12 saat arayla oral olacak şekilde 14 gün devam etmektedir. Yetmiş iki saat antibiyotik tedavisi sonrası yeni başlayan ya da persistan ateş, abdominopelvik ağrı, CRP ve beyaz küre yüksekliği, kitle boyutlarında büyüme veya sepsis bulguları görülmesi durumunda medikal tedavi başarısız kabul edilmektedir. Medikal tedavi başarısızlığı durumunda antibiyotik tedavisine ek olarak laparoskopik veya laparotomik cerrahi ile drenaj yapılmaktadır. Medikal tedaviye postoperatif klinik düzelme gözlenene kadar devam edilmektedir.

#### **NLR, PLR ve APRI skor hesaplanması**

Nötrofil/lenfosit oranı (NLR): absolut nötrofil sayısının, Absolut lenfosit sayısına bölünmesi ile Platelet/Lenfosit oranı (PLR); Absolut platelet sayısının, absolut lenfosit sayısına bölünmesi ile hesaplandı. APRI skoru ise AST/ AST için normal aralığın üst limiti/platelet sayısı ( $10^9/L$ ) $\times$ 100 formülü ile hesaplandı. AST için laboratuvar üst sınırı 40 U/L olarak kabul edildi.

Bu çalışmada medikal tedavi ile regrese olan veya cerrahi tedavi gereken TOA olgularının hastaneye ilk kabulde değerlendirilen hematolojik ve biyokimyasal belirteçlerin tedaviye yanıtı ve cerrahi tedavi gereksinimini öngörmedeki etkileri incelendi.

#### **İstatistiksel Analiz**

Sürekli değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama ve standart sapma ile medyan, minimum ve maksimum değerler, kategorik değişkenlerin tanımlanmasında ise frekans (n) ve yüzde (%) değerleri verildi. Sürekli değişkenlerin normallik varsayımları Kolmogorov Smirnov testi ile incelendi Medikal ve cerrahi tedavi alan hastalar arasında sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney testi, kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler ise Ki kare analizi ile incelendi.

Tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren değişkenleri belirlemek için çok değişkenli lojistik regresyon analizi

(multiple logistic regression analysis) yapıldı. Tedavi şeklinin öngörülebilirliğini belirlemek için bağımsız değişkenler olarak CRP, beyaz küre, Neutrofil ve NLR değeri alındı Tedavi şeklini tahmin etmede istatistiksel olarak anlamlı değişkenlerin optimal kesme değerlerini (optimal cut off values) belirlemek için Receiver Operating Characteristics (ROC) eğrisi analizi kullanıldı. Optimal kesme değeri Youden's indeksine (duyarlılık + özgüllük-1) göre belirlendi. Bütün analizlerde IBM SPSS.23 programı ve MedCalc. kullanılmış ve anlamlılık düzeyi olarak  $p < 0.05$  değeri kabul edildi.

#### **BULGULAR**

Çalışmaya, medikal tedavi alan 74 hasta (%30,8) ve cerrahi tedavi alan 166 hasta (%69,2) olmak üzere toplam 240 hasta dâhil edildi. Tablo-1'de gösterildiği gibi, cerrahi tedavi alan hastaların ortalama yaşı ( $40,95 \pm 6,96$ ), medikal tedavi alan hastalara göre ( $38,09 \pm 7,69$ ) anlamlı olarak daha yüksek bulundu ( $p=0.008$ ). Benzer olarak, cerrahi tedavi alan hastaların ortalama apse boyutu ( $6,57 \pm 19,86$  mm), medikal tedavi alan hastalara göre ( $52,78 \pm 16,63$  mm) anlamlı olarak daha yüksekti ( $p < 0.001$ ).

Tedavi şekli ile apse paterni arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu ( $p=0.021$ ) ve çoklu karşılaştırma testi medikal tedavi alan hastalarda uniloküler apse oranının (%29.7), cerrahi tedavi alan hastalara göre (%14.5) anlamlı olarak daha yüksek olduğunu gösterdi. Buna karşın, tedavi şekli ile sigara kullanımı, diyabet, geçirilmiş operasyon öyküsü, pyosalpenks varlığı, apse lokalizasyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $p > 0.05$ ). Tedavi şekli ile doğum şekli, korunma şekli ve operasyon tipi arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığı ki kare analizinin varsayımları (assumptions) karşılanmadığı için incelenemedi (Tablo-1).

Cerrahi tedavi uygulanan 166 hastanın tamamına apse drenajı yapıldı ve Douglas boşluğuna bir adet hemovac dren yerleştirildi. Dren ortalama 4. günde çekildi. Apsenin drenajına ek olarak %89,8'i (n=149) laparoskopik bilateral salpenjektomi, %7,2'si (n=12) laparotomik bilateral salpanjektomi, %1,3'ü (n=3) total laparoskopik histerektomi + bilateral salpenjektomi, %1,2 (n=2) hasta ise total abdominal histerektomi + bilateral salpenjektomi ile tedavi edildi. Tedavi şekli hastanın yaşı, fertilitate arzusu, tekrar apse gelişimini önleme isteği, batın içi yapışıklık derecesi, geçirilmiş cerrahi öyküsü, laparoskopi için kontrendikasyon olan durumlar göz önüne



alınarak belirlendi. Ayrıca piyosalpinks varlığı cerrahi tedavi kolunda %43,2 olarak saptanmasına rağmen bu olguların tamamına salpenjektomi uygulandı. Salpenjektomi kararı tüm hastaların onamı alınarak hastaların yaşı, fertilité arzusu olmaması, over kanseri profilaksisi ve apse nüksünü önlemeye yönelik olarak verildi. Tablo-2'de gösterildiği gibi, cerrahi tedavi alan hastaların ortalama CRP değeri, beyaz küre değeri, nötrofil değeri ve NLR değeri medikal tedavi alan hastalara göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Elde edilen bu bulgulara karşın, cerrahi ve medikal tedavi alan hastaların Tablo-

2'de gösterilen diğer parametreleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ). Tablo-3'te gösterildiği gibi, çok değişkenli lojistik regresyon analizi sonucuna göre hastaların CRP değerinin yükselmesi cerrahi tedavi alma ihtimalini 1.008 kat artırmaktadır (95 % CI 1.003 - 1.012). Buna karşın, beyaz küre sayısı, nötrofil sayısı ve NLR değerinin tedavi şeklini anlamlı bir şekilde öngörmediği saptandı ( $p>0.05$ ). Tablo-4'te gösterildiği gibi CRP'nin kesme puanı  $>11.57$  (sensitivite %63,3, spesifite %55,4) olarak bulundu ve ROC eğrisi Şekil-1'de gösterildi.

**Tablo-1.** Medikal ve cerrahi tedavi alan hastaların sosyodemografik ve klinik özelliklerinin karşılaştırılması.

	Medikal Tedavi n=74	Cerrahi Tedavi n=166	p
<b>Yaş</b> (Ort.±SS)	38,09 ± 7,69	40,95 ± 6,96	<b>0,008</b>
<b>Gebelik</b> Ort. (Min. - Mak.)	3,00 (,00 - 10,00)	2,50 (,00 - 8,00)	0,331
<b>Doğum</b> Ort. (Min. - Mak.)	2,00 (,00 - 5,00)	2,00 (,00 - 7,00)	0,222
<b>VKİ</b> (kg/m <sup>2</sup> )(Ort.±SS)	26,11 ± 3,90	25,12 ± 1,03	0,871
<b>Doğum şekli</b> n (%)			
SVD	56 (76,7)	128 (78,5)	
CS	11 (15,1)	25 (15,3)	
SVD/CS	6 (8,2)	10 (6,1)	
<b>Korunma şekli</b> n(%)			
Yok	31(41,9)	95 (57,2)	
OKS	0 (0,0)	1 (0,6)	
RİA	32 (43,2)	61 (36,7)	
BTL	2 (2,7)	0 (0,0)	
Kondom	7 (9,5)	5 (3,0)	
Diğer	2 (2,7)	4 (2,4)	
<b>Sigara kullanımı</b> n(%)	12 (16,2)	18 (10,8)	0,245
<b>Diabetes Mellitus</b> n(%)	7 (9,5)	9 (5,4)	0,268
<b>Geçirilmiş operasyon öyküsü</b> n(%)	27(36,5)	55 (33,1)	0,613
<b>Apse boyutu</b> (mm) (Ort±SS)	52,78 ± 16,63	67,57 ± 19,86	<b>&lt;0,001</b>
<b>Apse paterni</b> n (%)			
Uniloküler	22 (29,7)	24 (14,5)	
Multiloküler	24 (32,4)	63 (38,0)	<b>0,021</b>
Kompleks	28 (37,8)	79 (47,6)	
<b>Apse lokalizasyonu</b> n (%)			
Unilateral	66 (89,2)	137(82,5)	0,187
Bilateral	8 (10,8)	29 (17,5)	
Piyosalpinks varlığı n (%)	42 (56,8)	32 (43,2)	0,916

VKİ; Vücut Kitle İndeksi, SVD; Spontan vajinal doğum, C/S; Cesaryen seksio, OKS; Oral kontraseptif, RİA; Rahim içi Araç, BTL; Bilateral tubal ligasyon

**Tablo-2.** Tedavi şekline göre inflamatuvar belirteçlerin ve laboratuvar bulguların dağılımı.

	Medikal Tedavi n=74 ort± ss	Cerrahi Tedavi n=166 ort ±ss	p
Beyaz küre( $\mu\text{L}$ )	11845,31 ± 4424,39	13818,86 ± 5445,80	<b>&lt;0,008</b>
Platelet( $10^3/\text{mm}^3$ )	359,88 ± 132,06	395,80 ± 143,15	0,078
Nötrofil( $\mu\text{L}$ )	9242,03 ± 4278,60	11146,81 ± 5284,83	<b>0,008</b>
Lenfosit( $\mu\text{L}$ )	1808,78 ± 692,15	1753,58 ± 620,12	0,688
CRP(mg/L)	75,24 ± 36,64	140,61 ± 110,88	<b>&lt;0,001</b>
PDW (%)	45,61 ± 38,80	45,20 ± 13,64	0,176
<b>NLR</b>	6,64 ± 6,30	9,52 ± 26,88	<b>0,030</b>
PLR	0,40 ± 0,18	0,82 ± 0,34	0,190
APRI	0,08± ,07	0,06 ± ,03	0,240

CRP: C-Reaktif protein, PDW: Platelet Dağılım Genişliği, NLR: Nötrofil/Lenfosit Oranı PLR: Platelet/Lenfosit oranı, APRI: Aspartate aminotransferase to Platelet Ratio Index

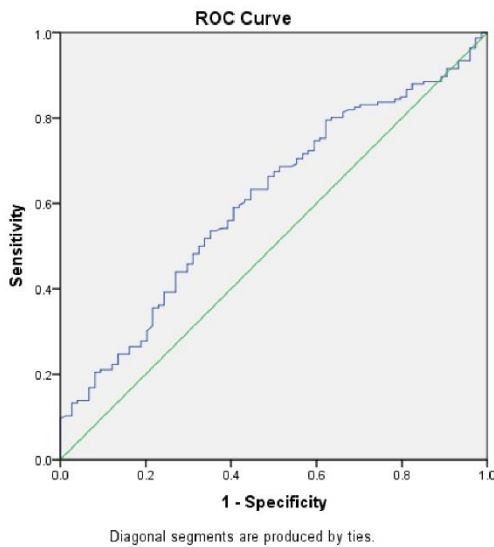
**Tablo-3.** Tedavi şekli için çok değişkenli lojistik regresyon analizi.

Değişken	Odds ratio (95 % CI)	p
CRP	1,008 (1,003 - 1,012)	.001
Beyaz küre	1,000 (1,000 - 1,000)	.980
Nötrofil	1,000 (1,000 - 1,000)	.887
NLR	1,000 (.980 - 1,020)	.968

CRP: C-Reaktif protein, PDW: Platelet Dağılım Genişliği, NLR: Nötrofil/Lenfosit Oranı

**Tablo-4.** Tedavi Şeklını Öngörmde CRP'nin kesme puanı (Cut off value).

	Kesme puanı (Cut off value)	AUC	95 % CI	Sensitivite (%)	Spesifite (%)	PPV	NPV	P değeri
CRP	>11.57	.607	.531-.682	63.3	55.4	76.1	40.2	.006

**Şekil-1.** Tedavi şeklini öngörmde CRP'nin ROC eğrisi.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada TOA tanılı hastalarda cerrahi tedavi gereken hastaların yaşının anlamlı yüksek olduğu, abse boyutunun daha büyük olduğu, multiloküle yapının daha fazla görüldüğü saptanmıştır. Ayrıca tanı anında bakılan beyaz küre, nötrofil sayısı, ortalama CRP değeri ve NLR oranı da cerrahi tedavi gereken hastalarda anlamlı yüksek bulundu. CRP'nin >11,57 olmasının %63,3 sensitivite ve %55,4 spesifite ile cerrahi tedavi gereksinimini öngördüğü saptandı.

TOA, hem yoğun antibiyotik ve/veya cerrahi tedavi gerektirmesi hem de nadir de olsa ölümlerle sonuçlanan ciddi septik tabloya sebep olmasından dolayı erken tanı ve tedavi edilmesi gereken bir hastalıktır. Postmenapozal dönemde görüldüğünde %30-40 oranında malignite eşlik edebileceğinden postmenapozal hastalarda

cerrahi drenaj + biyopsi yapılması önerilmektedir (14, 15).

TOA'lı hastalarda medikal tedavi başarısızlığını inceleyen birçok çalışma bulunmaktadır. Chan ve ark. apse boyutu 7,5 cm üzerinde ve BMI yaklaşık 25 kg/m<sup>2</sup> üzerinde olan olgularda başarısızlık olduğu bildirmişlerdir (16). Dewitt ve ark. ise 128 TOA hastasını değerlendirmiş, 8 cm'nin üzerinde hospitalizasyon, komplikasyon ve cerrahi ihtiyacın arttığını saptamışlardır (17). Bir başka çalışma ise beyaz küre sayısı 16000/µL üzerinde ve apse boyutu 5.18 cm'den büyükse medikal tedavinin başarısız olduğu yayınlamıştır (18). Yaş, apse boyutu, başvuru anındaki lökosit sayısı ve bilateraliteyi içeren bir skorlama sistemi hazırlayan Folks ve ark.'ı cerrahi tedaviyi yüksek olasılıkla öngördüklerini bildirmişlerdir (19). Yaş, apse boyutu ve beyaz küre sayısının medikal tedavi başarısızlığını yüksek oranda gösterdiği bildiren başka çalışmalarda bulunmaktadır (19-23). Ancak Karaca ve ark.'nın 144 hastayı içeren çalışmasında yaş, apse boyutu, CRP, sedimentasyon, beyaz küre ve prokalsitonin seviyelerinin cerrahi tedaviyi öngörmedeki yeri araştırılmış ve hiç bir parametrenin cerrahi tedaviyi öngörmediği bildirilmiştir (24). Çalışmaların hepsi retrospektif dizayn edilmiş ve kısıtlı sayıda hasta içerdiğinden çalışmalar arası farklılık saptanmış olabilir. Çalışmamızda cerrahi tedavi gereken hastaların yaşı daha büyük, apse boyutu ve multiloküler olma oranı, beyaz küre, nötrofil sayısı, ortalama CRP düzeyleri medikal tedavi alan hastalardan daha yüksek idi. Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak sadece CRP'nin >11.57 olmasının cerrahi tedaviyi %63.3 sensitivite ve %55.4 spesifite ile öngördüğü saptandı.

Son yıllarda popularite kazanan NLR ve PLR'nin obstetrik (25-27) ve jinekolojik (28-30) bir çok hastalığı ve tedavi başarısını öngörmedeki yeri araştırılmıştır. TOA 'lı hastalarda cerrahi tedaviye gidişi öngörmede NLR ve PLR'yi değerlendiren az sayıda çalışma bulunmaktadır. Biler ve ark. NLR için 6, PLR için 165 cut off alındığında NLR' nin %71 sensitivite, %74 spesifite ile ve PLR'nin %74 sensitivite, %65 spesifite ile medikal tedavi başarısını öngörmede kullanılabilecek parametreler olabileceğini vurgulamıştır (31).

Benzer şekilde Coskun ve ark. NLR cut off 6 alındığında %71 sensitivite ve %73 spesifite ile cerrahi tedavi gerektiğini saptamışlardır (32). Bir başka çalışmada da NLR %79,1 sensitivite, %57,0 spesifite ile cerrahi tedaviyi predikte etmiştir (33). Bu çalışmaların aksine Akselim ve ark. cerrahi tedaviyi öngörmede, beyaz küre, platelet, CRP, NLR, PLR, lenfosit-monosit oranı (LMR) gibi birçok hematolojik parametreyi değerlendirmiş ve bu parametrelerden sadece CRP 'nin 143,5 mg/L cut off alınarak %63.8 sensitivite, %71,1 spesifite ile medikal tedavi başarısızlığını öngördüğünü bildirmiştir (34). Benzer şekilde literatürde en fazla hasta sayısına sahip çalışmada İnal ve ark. da cerrahi tedaviyi öngörmede NLR, PLR, CRP, sedimentasyon ve diğer hematolojik parametreleri karşılaştırmışlar ve 24.4 cut off değeri ile CRP' nin (%67,7 sensitivite, %76,5 spesifite), lökosit sayısının ve sedimentasyonun cerrahiye öngördüğünü saptamışlardır (35). Çalışmamızda başta NLR, PLR ve yani bir markır olan APRI skoru olmak üzere birçok inflamatuvar parametre değerlendirilmiş ve sadece CRP' nin cerrahi tedavi gereksinimini öngördüğü saptanmıştır.

Çalışmamızın retrospektif dizaynı kısıtlayıcı özelliğidir. Fazla sayıda hasta içermesi, çalışmanın tek merkezde yapılmış olması ve tüm hastaların aynı ekip tarafından tedavi edilmiş olması çalışmanın güçlü yanındır. Ayrıca NLR, PLR ve APRI skorun bir arada değerlendirildiği ilk çalışma olması açısından da çalışma önem arz etmektedir.

## SONUÇ

TOA gibi hayatı tehdit edebilecek hastalarda tedavi şeklini öngörmek ve tedaviyi kişiselleştirmek önemlidir. Bu hastalarda cerrahi tedaviyi başvuru anında belirlemek kolay değildir. Çalışmamızda NLR, PLR, CRP ve APRI skoru gibi birçok inflamatuvar belirteç medikal tedavi başarısızlığını öngörmede araştırılmış, sadece CRP bu konuda kullanılabilecek bir belirteç olarak saptanmıştır. Bu konuda kesin konuşabilmek adına prospektif geniş serili randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

## Kaynaklar

1. Granberg S, Gjelland K, Ekerhovd E. The management of pelvic abscess. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2009; 23: 667-8.
2. Lee NC, Rubin GL, Grimes DA. Measures of sexual behavior and the risk of pelvic inflammatory disease. *Obstet Gynecol* 1991; 77: 425-30.
3. Weström L. Incidence, prevalence, and trends of acute pelvic inflammatory disease and its consequences in industrialized countries. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 138:880-92.
4. Wiesenfeld HC, Sweet RL. Progress in the management of tuboovarian abscesses. *Clin Obstet Gynecol* 1993; 36: 433-44.
5. Dewitt J, Reining A, Allsworth JE, Peipert JF. Tuboovarian abscesses: is size associated with duration of hospitalization & complications? *Obstet Gynecol Int* 2010; 2010:847041.
6. Fouks Y, Cohen A, Shapira U, Solomon N, Almog B, Levin I. Surgical Intervention in Patients with Tubo-Ovarian Abscess: Clinical Predictors and a Simple Risk Score. *J Minim Invasive Gynecol* 2019; 26: 535-43.
7. Yildirim M, Turkyilmaz E, Avsar A, F: Preoperative Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Has a Better Predictive Capacity in Diagnosing Tubo-Ovarian Abscess. *Gynecol Obstet Invest* 2015; 80: 234-9.
8. Torun S, Tunc BD, Suvak B et al. Assessment of neutrophil-lymphocyte ratio in ulcerative colitis: A promising marker in predicting disease severity. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 2012; 36: 491-7.
9. Lee J, Park J, Lee HJ et al. Original Articles Preoperative Hematological Parameters for Predicting Ovarian Torsion in Patients with Mature Cystic Teratoma. *Int J Womens Health*. 2021; 13: 317-26.
10. Tolunay HE, Kahraman NÇ, Varlı EN et al. First-trimester aspartate aminotransferase to platelet ratio index in predicting intrahepatic cholestasis in pregnancy and its relationship with bile acids: A pilot study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2021; 256:114-17.
11. De Matteis C, Cariello M, Graziano G, et al. AST to Platelet Ratio Index (APRI) is an easy-to-use predictor score for cardiovascular risk in metabolic subjects. *Sci Rep*. 2021; 11 (1): 14834.
12. Polyzos S.A, Goulis DG, Kountouras J, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome: assessment of non-invasive indices predicting hepatic steatosis and fibrosis. *Hormones* 2014; 13: 519–31
13. Centers For Disease Control and Prevention, Sexually Transmitted Disease Infectious Treatment Guidelines, 2021 (cited 2021 July 22) Available from: <https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/toc.htm>
14. Protopapas AG, Diakomanolis ES, Milingos SD, et al. Tubo-ovarian abscesses in postmenopausal women: gynecological malignancy until proven otherwise? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 114:203.
15. Chan GMF, Fong YF, Ng KL. Tubo-ovarian abscesses: epidemiology and predictors for failed response to medical management in an Asian population. *Inf D Obstet Gynecol* 2019:4161394.
16. DeWitt J, Reining A, Allsworth EJ, Peipert FJ. Tuboovarian abscesses: is size associated with duration of hospitalization and complications? *Obstet Gynecol Int* 2010: 847041
17. Farid H, Lau TC, Karmon AE, Styer AK. Clinical characteristics associated with antibiotic treatment failure for Tuboovarian abscesses. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2016; 5120293.
18. Fouks Y, Cohen A, Shapira U, Solomon N, Almog B, Levin I. Surgical Intervention in Patients with Tubo-Ovarian Abscess: Clinical Predictors and a Simple Risk Score. *J Minim Invasive Gynecol*. 2019; 26 (3): 535-43.
19. Gözüküçük, M., Yıldız, E.G. Is it possible to estimate the need for surgical management in patients with a tubo-ovarian abscess at admission? A retrospective long-term analysis. *Gynecol Surg* 2021; 18: 14
20. Güngördük K, Guzel E, Asicioğlu O et al. Experience of tubo-ovarian abscess in western Turkey. *Int J Gynaecol Obstet*. 2014; 124: 45–50.
21. Akkurt MÖ, Yalçın SE, Akkurt İ, et al. The evaluation of risk factors for failed response to conservative treatment in tubo-ovarian abscesses. *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2015; 16 (4): 226-30.
22. Topçu HO, Kokanalı K, Güzel AI et al. Risk factors for adverse clinical outcomes in patients with tubo-ovarian abscess, *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2015; 35: (7): 699-702
23. Uyar I, Gulhan I, Sipahi M, Cetin F, Hanhan HM, Ozeren M. Risk factors for surgery in patients with tubo-ovarian abscess. *Arch Gynecol Obstet* 2012; 286, 973–5
24. Karaca K, Ozkaya E, Kurek Eken M et al. Serum procalcitonin levels together with clinical features and inflammatory markers in women with tubo-ovarian abscess for discriminating requirements for surgery for full recovery, *J of Obstet and Gyn*, 2018; 38: 6, 818-21

25. Ata N, Kulhan M, Kulhan NG, Turkler C. Can neutrophil-lymphocyte and platelet-lymphocyte ratios predict threatened abortion and early pregnancy loss? *Ginekol Pol* 2020; 91 (4); 210–5
26. Kang Q, Li W, Yu N, et al. Predictive role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in preeclampsia: A metaanalysis including 3982 patients. *Pregnancy Hypertension* 2020; 20: 111-8
27. Caglayan EK, Engin-Ustun Y, Gocmen AY et al. Is there any relationship between serum sirtuin-1 level and neutrophil-lymphocyte ratio in hyperemesis gravidarum? *J of Perinat Med.* 2016; 44 (3): 315-20.
28. Topcu HO, Guzel AI, Ozer I et al. Comparison of neutrophil/lymphocyte and platelet/ lymphocyte ratios for predicting malignant potential of suspicious ovarian masses in gynecology practice. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014; 15, 6239-41.
29. Covali R, Socolov D, Pavaleanu I, Carauleanu A, Socolov R. Platelet Indices in Uterine Leiomyoma Compared with other Major Gynecological Diseases. *J Adv Med Med Res* 2020; 32 (24), 164-76.
30. Cakmak B, Gulucu S, Aliyev N, Ozsoy Z, Nacar M, Koseoglu D. Neutrophil-lymphocyte and platelet-lymphocyte ratios in endometrial hyperplasia. *Obstet Gynecol Sci.* 2015; 58 (2): 157-61.
31. Aydın F, Biler A, Taner CE, Ertaş İE. Tubo-ovaryan apse tanılı olgularda tedavi öncesi nötrofil/lenfosit ve platelet/lenfosit oranları medikal tedavi başarısını predikte eder mi? *Kocaeli Tıp Dergisi.* 2018; 7: 165–71.
32. Çoşkun B, Şimşir C. Evaluation of risk factors predicting surgical treatment in tuboovarian abscess cases. *Medical Science and Discovery*, 2019; 6 (10): 235-40.
33. Alay I, Kaya C, Karaca I, et al. The effectiveness of neutrophil to lymphocyte ratio in prediction of medical treatment failure for tubo-ovarian abscess. *J Obstet Gynaecol Res* 2019; 45: 1183–9.
34. Akselim B, Karaşin SS, Demirci A, Üstünyurt E. Can antibiotic treatment failure in tubo-ovarian abscess be predictable? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2021; 258; 253-57
35. Inal ZO, Inal HA, Gorkem, U. Experience of Tubo-ovarian abscess: a retrospective clinical analysis of 318 patients in a single tertiary Center in Middle Turkey. *Surg infect*, 2018; 19 (1): 54-60.

## Nesofilcon A versus etafilcon A on the ocular comfort levels in patients with short non-invasive break-up time: A prospective comparative study

*Kısa gözyaşı kırılma zamanı olan hastalarda etafilcon A ve nesofilcon A'nın oküler konfor seviyeleri açısından kıyaslanması: prospektif karşılaştırmalı çalışma*

Aysegul Penbe

Raziye Dönmez Gün

Kartal Dr. Lutfi Kırdar Training and Research Hospital, Ophthalmology Department, Istanbul, Türkiye

### ABSTRACT

**Aim:** The aim of the study was to compare the two different hydrogel daily disposable contact lenses (HyDDCLs) satisfaction levels in patients with meibomian gland dysfunction (MGD) and allergic conjunctivitis accompanied with short noninvasive tear break-up time (NIBUT).

**Material and Methods:** Fifty patients who had no history of contact lens and had short NIBUT were included to the study into two groups: allergic conjunctivitis findings (group 1) and MGD findings (group 2). All patients used both etafilcon A and nesofilcon A, respectively. The OSDI (Ocular Surface Disease Index) and CLDEQ-8 (Contact Lens Dry Eye Questionnaire- 8) tests were performed by the patients for each lens and the mean scores were compared. In addition, the decisions of all patients regarding the continued use of each lens were questioned.

**Results:** The mean of total scores of OSDI and CLDEQ-8 were statistically lower in nesofilcon A, significantly. The mean scores of the all OSDI subscales and the CLDEQ-8 subscales of dryness, discomfort, blurred vision and closing eyes were lower in nesofilcon A. Four patients (8%) were not satisfied by any of the lenses. 36 (72%) patients preferred nesofilcon A and remaining 10 (20%) patients preferred etafilcon A to continue.

**Conclusion:** Due to the hydrophilic structure and low modulus of the HyDDCLs, the satisfaction rate was found to be higher in the study group (92%). HyDDCLs could be a suitable option in cases where ocular surface diseases are accompanied. Hydrogel material with higher water content offers better comfort levels at the end of the day.

**Keywords:** allergic conjunctivitis, contact lens discomfort, dry eye disease, hydrogel daily disposable contact lenses, meibomian gland dysfunction.

### ÖZ

**Amaç:** Meibomian bez disfonksiyonu (MBD) ve alerjik konjonktivit ile birlikte kısa noninvaziv gözyaşı kırılma zamanı (NIBUT) olan hastalarda iki farklı hidrojel günlük tek kullanımlık kontakt lensin (HyDDCL) oküler konfor seviyelerinin karşılaştırılması.

**Gereç ve Yöntem:** Kontakt lens kullanımı öyküsü olmayan ve NIBUT'si kısa olan 50 hasta alerjik konjonktivit (grup 1) ve MBD (grup 2) bulgularına göre iki gruba alındı. Tüm hastalar sırasıyla hem etafilcon A hem de nesofilcon A kullandı. Hastalara her bir lens için OSDI (Ocular Surface Disease Index) ve CLDEQ-8 (Contact Lens Dry Eye Questionnaire-8) testleri yapıldı ve ortalama puanlar karşılaştırıldı. Ayrıca tüm hastaların her bir lensin kullanımına devam edilmesi ile ilgili kararları sorgulandı.

Corresponding author: Aysegul Penbe  
Kartal Dr. Lutfi Kırdar Training and Research Hospital,  
Ophthalmology Department, Istanbul, Türkiye  
E-mail: [dr.aysegulp@gmail.com](mailto:dr.aysegulp@gmail.com)  
Application date: 10.09.2021 Accepted: 12.12.2021

**Bulgular:** OSDI ve CLDEQ-8 testlerinden elde edilen toplam puanların ortalaması nesofilcon A için istatistiksel olarak anlamlı derece daha düşüktü. Nesofilcon A için OSDI'nin tüm alt ölçeklerinin ve CLDEQ-8 testindeki kuruluk, rahatsızlık, bulanık görme ve gözlerin kapanması alt ölçeklerinin ortalama puanları daha düşüktü. Otuz altı (%72) hasta kullanıma devam etmek üzere nesofilcon A'yı tercih ederken kalan 10 (%20) hasta devam etmek için etafilcon A'yı tercih etti. Dört hasta ise (%8) her iki lensten de memnun kalmadı.

**Sonuç:** HyDDCL'lerin hidrofilik yapısı ve düşük modülüsleri nedeniyle, etafilcon A ve nesofilcon A için memnuniyet oranı çalışma grubunda (%92) oldukça yüksek bulunmuştur. Bu nedenle oküler yüzey hastalıklarının eşlik ettiği durumlarda HyDDCL'ler uygun bir seçenek olabilir. Daha yüksek su içeriğine sahip hidrojel materyal varlığında oküler konfor seviyeleri çok daha iyi olmaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Allerji konjonktivit, hidrojel günlük kullan-at kontakt lens, kontakt lens konforsuzluğu, kuru göz hastalığı, meibomian bez disfonksiyonu.

## INTRODUCTION

Ocular allergy and dry eye disease (DED) are two different clinical entities affecting the ocular surface and resulting early break-up time in tear film that their clinical manifestations include partly overlapping signs and symptoms with accompanying each other's. In most cases, increased ocular osmolarity in ocular allergy patients causes an increase in evaporation and tear film instability over the cornea and DED symptoms (1). Soft contact lenses (CLs) will inevitably cause or promote ocular surface abnormalities such as DED, meibomian gland dysfunction (MGD) and allergic conjunctivitis in regular users (2). According to the 2017 Tear Film and Ocular Surface Society Dry Eye Workshop II (TFOS DEWS II), contact lens-related dry eye is listed in the iatrogenic subtype category (3).

Preferring the suitable contact lens modalities in the patient group who already had DED and ocular allergy findings. For CL practitioners it is a challenging work to prevent the progression of the disease into more advanced stages. Patients with ocular surface disorders are already prone to present with complications like contact lens related- dry eye and CL related-papillary conjunctivitis (4).

Daily disposable contact lens (DDCL) modalities offer patients the convenience of minimal maintenance and greater satisfaction with no need for the "chemistry set" of cleaning (5). So, it would be appropriate to choose DDCLs instead of conventional monthly or bi-weekly wear CLs to avoid ocular irritations connected to storage solutions for patients with ocular allergies and DED (6). The other important issue is to prefer the right contact lens material. With the advantages of high oxygen permeability, DDCLs

in silicone hydrogel materials have become more and more popular in recent times (7). However, hydrogel (Hy) DDCLs still could be a suitable option because of their soft and hydrophilic structures in this patient group. The mechanical complications were reported in lower rates for HyCLs, and these unwanted events seem to be linked to the higher modulus and more hydrophobic behavior of silicon hydrogel contact lenses (SiHyCLs). The friction quantity known to be closely related to the mechanical complications and it is always less for HyCLs than for SiHyCLs (8). Moreover, it was reported that there had been an increase in allergic reactions in the eye with the increased use of SiHy CLs for extended wear (3, 4). So, it may be considered that HyCLs in daily disposable modalities, which are softer and have fewer mechanical effects on the ocular surface, could be a better option in the group of patients with ocular surface abnormalities.

In this study, it was aimed to find the ocular surface comfort levels of two HyDDCLs; nesofilcon A (Biotrue® One Day; Bausch & Lomb incorporated, Rochester, Ny, USA) and etafilcon A (Acuvue Moist® 1-Day; Vistakon, Jacksonville, Fl, USA) accompanied by two different subjective comfort tests in the patient groups with MGD and allergic conjunctivitis. The ocular surface disease index (OSDI) scores and contact lens dry eye questionnaire-8 (CLDEQ-8) test scores were used to compare these two different HyDDCLs comfort levels.

## MATERIALS and METHODS

### Patient Recruitment

This prospective study was conducted at Kartal Dr. Lutfu Kirdar City Hospital with fifty participants who visited the contact lens department between

March and August 2020. Patients had no history and experience of CLs underwent a detailed ophthalmic examination before deciding upon the appropriate CL to apply. With the manifest distance correction, monocular best corrected visual acuity (BCVA), monocular contact lens corrected visual acuity (CLVA), spherical, cylindrical and keratometry measurements were noted. In brief, the subjects who were at least 18 years of age, with refractive errors between +4.00 Diopters (D) to -8.00 D, needed no or minimal (<0,50 D) cylindrical refractive corrections, flat and steep keratometry readings were between 40.23 D to 46.65 D were evaluated with further ocular surface parameters for the study group.

### ***The Ocular Surface Monitoring***

The tear film stability checked with the average noninvasive break up time (aNIBUT) scores by the Sirius Sheimpflug Camera and the Placido disc topography system (CSO, Italy) and as well as the Schirmer test results. Patients with Schirmer values more than 10 mm (means no lack of tear secretion volume) and the aNIBUT under 10 seconds (means tear film instability) was diagnosed as evaporative type DED according to the TFOS DEWS II pathophysiology report and included to the study group. Patients with aNIBUT between 5-10 seconds were considered as mild DED, while those below 5 seconds were classified as advanced DED (9).

The two major ocular surface diseases accompanying to short aNIBUT in young population were detected (10). While the patients with Meibomian gland dysfunction (MGD) suggested as Group 1, the patients with allergic conjunctivitis findings were included to Group 2.

The patients who had MGD, which is the most common etiology of the evaporative type DED, were detected with the morphologic changes in the Meibomian orifices and gland acini observed by biomicroscopy (9). The anterior and posterior blepharitis finding were also recorded. These patients were recommended medical treatment for 4 weeks with tetracycline pomade, artificial tear drop, sulfacetamide sodium and prednisolone acetate combination drop with oral doxycycline 100 mg for 8 weeks before contact lens fitting.

The patients who had limbal/bulbar hyperemia with/or conjunctival papillae in the anterior segment examination were diagnosed as seasonal/perennial ocular allergy and selected

for group 2. They were evaluated in to two activity groups for the treatment requirement. The patients who had only papillary formation in their tarsal conjunctiva without any ocular hyperemia were considered as inactive ocular allergy. On the other hand, the presence of papillae and hyperemia simultaneously were accepted as an indicator of active ocular allergy and medical treatment recommended until the hyperemia was disappeared (11). But the patients who had some of the classic clinical signs of severe seasonal/perennial conjunctivitis like conjunctival chemosis, eyelid edema of both of the eyes were excluded from the study because of the impropriety of CL using without long-time treatment in this patient population. Also, the patients who had clinical signs of vernal/atopic keratoconjunctivitis and severe DED like corneal staining over 2 mm length, 25% width and limbal vascularization were excluded from the study (12).

Overall, patients who had short aNIBUT and had at least one of the signs of allergic conjunctivitis or MGD were included in this study for trying two different Hy DDCLs. After treatment of the ocular surface diseases the aNIBUT was recorded and compared to the initial scores.

### ***Contact Lens Fitting and Subjective Evaluating Procedure***

Two different HyDDCLs were used in the patients with MGD and ocular allergy, at a suitable diopter with randomized sorting, respectively. One of these HyDDCLs was etafilcon A (1-Day ACUVUE® MOIST, in 8.5 base curve, 14.2 mm diameter, 58% water content, 25.5 Dk/t, 0.31 MPa modulus) and the other was nesofilcon A (Biotrue® Oneday, in 8.6 mm base curve, 14.2 mm total diameter, 78% water content and 42 Dk/t, 0.50 MPa modulus).

The CL movement on the cornea was controlled by a push-up test. When the patient had no complaints of discomfort and the lens was in an acceptable position on the ocular surface, the first HyDDCL was prescribed, and all the patients underwent an ocular examination after four weeks. At the control visit, they attended the clinic while wearing their CLs; OSDI and CLDEQ-8 questionnaires were translated into Turkish using standard forward and back translation methods as suggested and conducted to all participants (13).

The patients were given a 1-week washout period after using the first CL before starting to



use the second one. Four weeks after using the second HyDDCL, ophthalmic examination, OSDI and CLDEQ-8 tests were repeated. Actually, OSDI identifies the severity of ocular surface diseases in a quantitative manner from 100 of the total score (14). It includes 3 sections and 12 items asking for discomfort symptoms (section 1), functional limitations (section 2) and environmental factors (section3). The OSDI scores before and after contact lens fitting were noted and compared to each other for assessing the HyDDCLs effects to the ocular surface. On the other hand, CLDEQ-8 test was used for the contact lens related satisfaction levels with measuring the irritating symptoms linked to the contact lens usage during all day from 37 of the total score. CLDEQ-8 test is useful to assess the frequency and severity of CL-related discomfort, dryness, blurred vision, closing eye and removing lens with scores that grade each response.

The exclusion criteria were listed as any inflammatory systemic disease, pregnancy, ocular surgery, ocular trauma, severe corneal fluorescein staining, corneal limbal vascularization, ocular surface irregularity, use of topical or systemic drugs, and need of astigmatic refractive correction over -0.50 D.

All the patients were informed about the procedure, and informed consent was obtained according to the Declaration of Helsinki. This study was approved by the local ethics committee (2019/514/148/20; 27.02.2019)

### **Statistical Analysis**

Descriptive statistics of the data are shown with mean  $\pm$  standard error (M  $\pm$  SEM). IBM SPSS Statistics version 22.0 software was used for data analysis. The significance level was accepted as  $p < 0.05$ . The appropriateness of the data with regard to normal distribution was evaluated by q-q plot, histogram, and the Shapiro-Wilk test. Statistical significance control of the differences between two HyDDCLs variables was performed with t-test and Wilcoxon paired two-sample test in dependent groups.

### **RESULTS**

A cohort of fourteen males and thirty-six females with a mean age of  $22.08 \pm 0.90$  years was recruited. The mean spherical refractive error was  $-3.37 \pm 0.8$  D. The average of mean keratometry was  $44.24 \pm 1.2$  D.

Table-1 shows results of the initial ocular surface examinations of the all study groups. The initial mean of the aNIBUT was  $5.2 \pm 1.27$  seconds, and the mean Schirmer test value was  $15 \pm 3.14$  mm. After treatment for MDG in group 1, the mean aNIBUT increased from  $4.23 \pm 0.16$  seconds to  $7.54 \pm 1.12$  seconds and then they started to use HyDDCLs. Also, the mean aNIBUT showed improvement ( $6.65 \pm 1.61$  seconds to  $7.92 \pm 1.44$  seconds) after allergic conjunctivitis treatment.

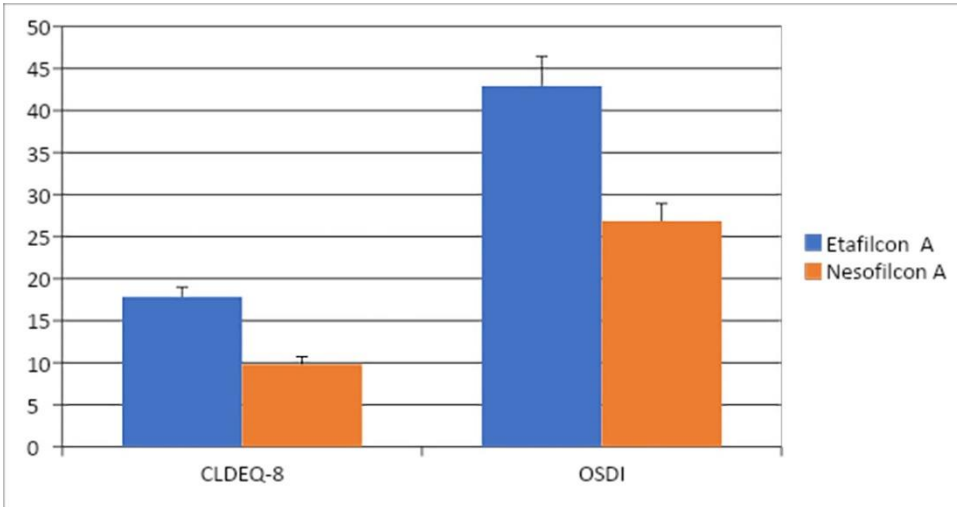
Before starting the use of HyDDCLs, the mean of the OSDI score was  $24.54 \pm 2.60$  and the mean score of OSDI was slightly higher in group 1 according to group 2 ( $p=0.125$ ). After four weeks of contact lens usage, for etafilcon A, the mean OSDI scores was slightly higher in group 1 ( $44.31 \pm 4.23$ ) than group 2 ( $39.94 \pm 2.67$ ) ( $p=0.063$ ). For nesofilcon A, the mean score of OSDI was  $27.64 \pm 3.71$  in group 1 and  $25.84 \pm 4.23$  in group 2, respectively ( $p=0.786$ ).

For all patients in the study group, the mean of the total score on the OSDI questionnaire for the etafilcon A was significantly higher than nesofilcon A ( $p=0.002$ ) (Figure-1, Table-2).

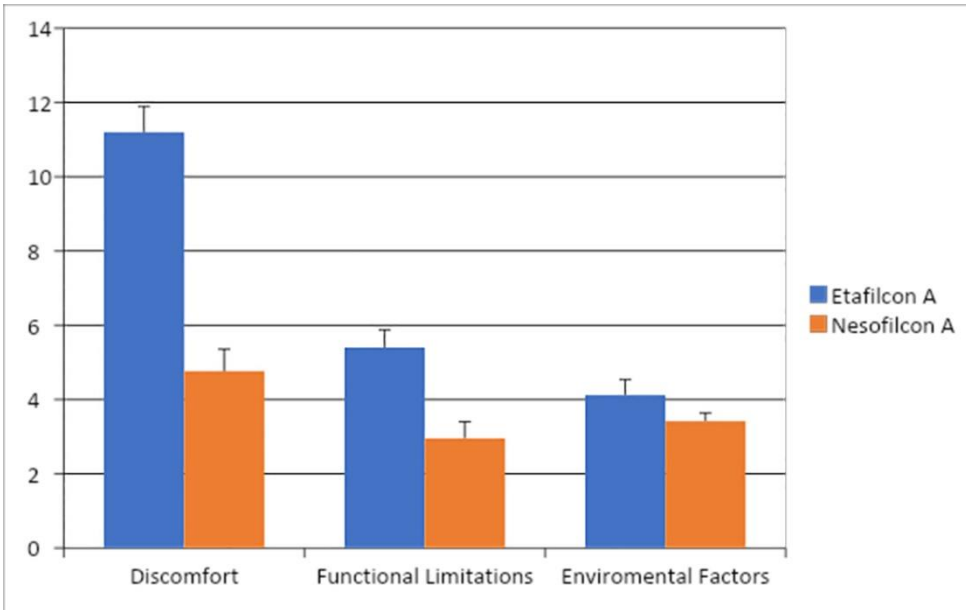
When the OSDI scores evaluated in three sections; the mean scores of the subscales of discomfort and functional limitations were statistically significantly lower for nesofilcon A. The mean score of the subscale of environmental factors was slightly lower in nesofilcon A, but the difference was statistically insignificant (Table-2, Figure-2).

On the other hand, the mean scores of the CLDEQ-8 questionnaire for etafilcon A was statistically significantly higher than for the nesofilcon A scores ( $p<0.001$ ) (Figure-1). Thus, the mean of total OSDI scores had a significant positive correlation with total CLDEQ-8 mean scores ( $r=0.640$ ,  $p<0.002$ , Spearman's correlation test). Similarly, in the analysis of dryness and discomfort subscales, the mean score of nesofilcon A were lower than etafilcon A. The mean of subscales of blurred vision and closing eyes scores were also lower in nesofilcon A, but these differences were not statistically significant ( $p \geq 0.05$ ). By contrast, the mean score of the removing-lens subscale was lower in etafilcon A than nesofilcon A. (Table-2, Figure-3)

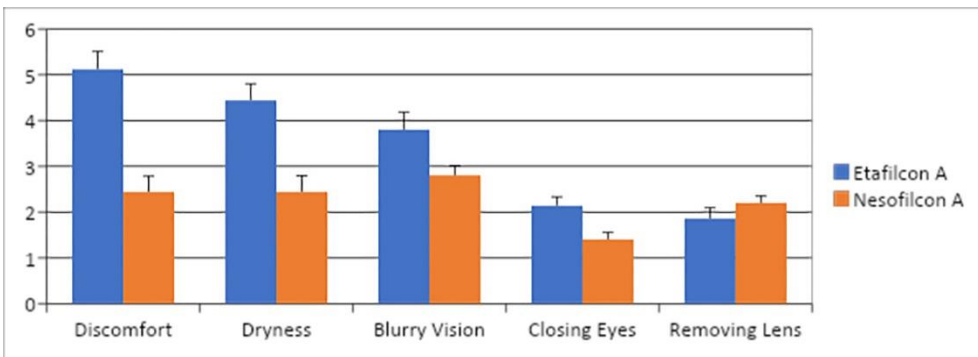
After two periods of using HyDDCLs, 4 patients (8%) were not satisfied with either etafilcon A or nesofilcon A.



**Figure-1.** The comparisons of mean score of CLDEQ-8 and OSDI for two HyDDCLs



**Figure-2.** The comparisons of mean score of the OSDI subscales for two HyDDCLs



**Figure-3:** The comparisons of mean score of CLDEQ-8 subscales for two HyDDCLs

**Table-1.** The initial ocular findings of the study group.

Total (N)	Parameters	N (50)	% (100)
aNIBUT/s	<b>5 -10</b>	32	64.0
	<b>5 ≤</b>	18	36.0
Group 1 (22)	<b>MGD</b>	22	44.0
	<b>MGD + Hyperemia</b>	8	16.0
	<b>MGD- Hyperemia</b>	14	28.0
	<b>aNIBUT/s; 5 ≤</b>	13	26.0
	<b>aNIBUT/s; 5 -10</b>	9	18.0
	Group 2 (28)	<b>Papillae in conjunctiva</b>	28
<b>Papillae + Hyperemia</b>		12	24.0
<b>Papillae - Hyperemia</b>		16	32.0
<b>aNIBUT/s; 5 ≤</b>		5	10.0
<b>aNIBUT/s; 5 -10</b>		23	46.0
<b>Schirmer</b>		<b>≥ 10 mm</b>	50

Abbreviations: NIBUT: Meibomian gland dysfunction; Noninvasive tear break-up time

**Table-2:** The comparisons of the two questionnaires for two HYDDCLs for all patient in the study group.

	Contact lenses		p value *
	Etafilcon A	Nesofilcon A	
OSDI	<b>Total Score</b>	<b>Total Score</b>	
	42.92±3.53	26.84±2.10	<b>0.002</b>
	<b>Discomfort</b>	<b>Discomfort</b>	
	11.20±0.69	4.76±0.60	<b>&lt;0.001</b>
	<b>Functional Limitations</b>	<b>Functional Limitations</b>	
	5.40±0.48	2.96±0.44	<b>0.006</b>
CLDEQ-8	<b>Environmental Factors</b>	<b>Environmental Factors</b>	
	4.12±0.41	3.42±0.22	0.085
	<b>Total Score</b>	<b>Total Score</b>	
	15.80±1.18	9.80±0.92	<b>&lt;0.001</b>
	<b>Discomfort</b>	<b>Discomfort</b>	
	5.12±0.39	2.44±0.34	<b>&lt;0.001</b>
	<b>Dryness</b>	<b>Dryness</b>	
	4.44±0.36	2.44±0.35	<b>0.001</b>
	<b>Blurred Vision</b>	<b>Blurred Vision</b>	
	3.2±3.8	2.40±0.2	0.086
<b>Closing Eyes</b>	<b>Closing Eyes</b>		
1.8±0.19	1.3±0.15	0.062	
<b>Removing Lens</b>	<b>Removing Lens</b>		
1.86±0.14	2.2±0.23	<b>0.027</b>	

\*Numbers in bold are significant ( $p < 0.05$ ), Wilcoxon t test. Abbreviations: CLDEQ-8: Contact lens dry eye questionnaire-8 item; OSDI: Ocular surface disease index

They decided not to use of either of them due to dryness and/or discomfort at the end of the day. By contrast, 36 of the remaining 46 patients preferred nesofilcon A, and the remaining 10 patients decided to continue with etafilcon A.

In the patients who had less than 5 seconds of aNIBUT (serious DED) before CL fitting procedure (%36), 16 of the 18 patients chose to wear nesofilcon A, while the remaining 2 patients decided not to wear any contact lenses further. Twenty-two (44%) of the 32 patients (64%) with more than 5 seconds of aNIBUT (moderate DED) preferred to wear nesofilcon A, although, 2 patients preferred to wear neither nesofilcon A nor etafilcon A. Thus, aNIBUT was greater than 5 seconds in 10 patients (20%) who selected etafilcon A.

Sixteen patients of group 2 (32%) had papillary formation in conjunctiva without bulbar hyperemia (inactive ocular allergies); 11 of them (22%) preferred nesofilcon A, while the other 5 (10%) had decided to continue with etafilcon A. 12 patients (24%) who had active ocular allergies and one of them chose not to continue wear either of the two lenses; 9 patients preferred nesofilcon A, and the other 2 chose etafilcon A for further usage. During the study period, none of the mechanical or inflammatory complications associated with contact lens wearing was observed in the patient groups.

## DISCUSSION

Dry-eye disease and allergic conjunctivitis are two common and multifactorial conditions resulting with tear film instability that affect quality of life negatively. Although, contact lens wearing is a well-described predisposing factor for both entities. In this study, the aim was to demonstrate the subjective patient satisfaction of two different HyDDCLs in patients with decreased tear film stability.

Studies that have investigated the relationship between ocular allergy and DED suggest that the first can predispose the second (9). TFOS DEWS II recently included allergic conjunctivitis among the "probable" (limited information-either not published or published in other than peer-reviewed journals) risk factors for DED (15). In ocular allergic conditions, the tear film is rich in inflammatory cytokines, mediators and neuro-mediators that can maintain chronic inflammation and result diffuse abnormality of the meibomian glands, terminal duct obstruction and/or qualitative/quantitative changes in the glandular secretion. By this way, MGD is reported as a

feature of allergic eye disease and may be a source of DED (16). This may result in alterations of the tear film and aNIBUT, symptoms of eye irritation, clinically apparent inflammation (17). The total scores of the two ocular surface comfort tests after contact lens wearing were found higher in group 1 (MDG) than group 2 (allergic conjunctivitis). The mean score of the initial aNIBUT was lower in group 1 than group 2. Therefore, a significant negative correlation was found with aNIBUT levels and both of the test scores. So, the contact lens-related comfort level is more closely related to tear film stability than the type of ocular surface disease.

Both DED and allergic conjunctivitis have a potential to adversely affect the use of contact lenses. These two conditions may occur after the use of contact lenses in people who have not previously had ocular allergy and/or DED, called CLIDE (contact lens-induced dry-eye) (18). The severity of the disease may increase enough to require discontinuation of contact lens use in patients who already had ocular allergy, DED and/or CLADE (contact lens-associated dry-eye) (19, 20). Meibomian glands can also be affected by CL use. Expressibility, number of plugged and expressible orifices, can be adversely affected during the first 2 years of CL wear (21).

Choosing the suitable CL wearing modality for patients with ocular surface problems, such as ocular allergy and DED, is quite troublesome. The CL itself will adversely affect the ocular surface and may increase the severity of the disease in these patients (22). It would be appropriate to prefer CLs for daily wear to avoid solution-related corneal complications and the risk of lipid deposition (23). Actually, higher ocular inflammatory responses, as indicated by higher tear cytokine concentrations and higher conjunctival epithelial metaplasia, were found in wearers of reusable contact lenses than in DDCL wearers. The other management strategies that have been shown to have some degree of effectiveness in patients with ocular surface disease include using lenses with internal wetting agents, topical moisturizing eye drops and limitation of lens wearing time (24).

The most appropriate CL material that presents comfort with safety to patients with ocular surface abnormalities is not always the one. SiHyCLs with their high oxygen permeability may help to maintain the healthy homeostasis of the corneal epithelium and endothelium. But the high

modulus of silicon material, due to the hydrophobic character, leads to more friction on the ocular surface, resulting in more frequent mechanical complications (8, 25). Recent studies have revealed that symptomatic corneal infiltrative events were detected at a higher rate in the SiHyCL group than in the HyCL group (3.4% for Hy extended wear (EW) and 7.2% for SiHy EW8) (26). These results may be explained by the higher lubricity of HyCLs, often attributed to their high water content (affording greater oxygen permeability), high water permeability, low elastic modulus, and their ability to promote a water film at the sliding interface (27). In this context, DDCLs in hydrogel material were preferred for patients with short aNIBUT accompanying by MGD or perennial/seasonal ocular allergies. The rate of preferring to continue with at least one of the HyDDCLs that the patients had tried during the study period was very high (92%). The reasons for failure, as expressed by 8% of study participants, were annoying ocular sensations, such as dryness and discomfort related to CLs and the initial aNIBUT was very low for these patients (3.2s-2.1s).

Although the high-water content in the HyCLs has a better effect on ocular comfort for full-time wearers, with increasing evaporation at the end of the day, the HyCLs may cause to increased dryness of the ocular surface and vision loss by pulling water into them. The success of stabilizing the water component in the contact lens against evaporation appears to be the main parameter determining end-of-day comfort (28). Nesocon A (Biotrue® ONE day) was one of the HyDDCLs in the study has 78% water content throughout and a surface that retains water, like the natural tear film, by retarding evaporation. The polymer-bound Surface Active Macromer (SAM) Poloxamer 407 increases in concentration at the surface, forming a permanent component of the lens material (29). The other HyDDCLs, etafilcon A (Acuvue Moist), has a lower water content (58%) and consequently lower oxygen transmissibility. A recent study that compared these two lenses measured water loss over 16 hours of wear, and while the etafilcon A lens continued to lose water (6%) over the 16 hours of wear, the nesocon A lens' water loss was consistently below 2% over the course of the day (30). Likewise, the mean scores of two ocular surface comfort tests (OSDI and CLDEQ-8) were found to be lower for the nesocon A ( $p < 0.002$ ). Similarly, most of the discomfort subscale scores were found to be higher for etafilcon A, could be

linked to the higher modulus of the lens material than nesocon A (0.31/0.50MPa) (26) (Table-2).

The low level of dehydration results in a stable tear film over the front surface of the lens, and this characteristic maintains clear visual acuity in patients who complain of blurry vision subsequent to lens dehydration when performing tasks such as working at the computer, driving at night, or being exposed to dry environments (30). Thus, the mean score of the functional limitation subscale of OSDI was obviously lower for nesocon A than for etafilcon A ( $p = 0.006$ ), as with the other two subscales of OSDI discomfort and environmental factors. Additionally, for all subscales of CLDEQ-8, the mean scores were clearly higher in etafilcon A, except the subscale on removing the lens. The high modulus of the CLs could be an advantage during removal. All patients with serious DED and active ocular allergy at the beginning, preferred to continue with nesocon A, and their scores of both tests suggested that nesocon A was more comfortable for patients with severe ocular surface disease.

Although there is no significant difference between group 1 and group 2 in terms of OSDI and CLDEQ-8 scores of the two HyDDCLs used in the study, the scores for etafilcon A were slightly higher in group 1. The ocular comfort levels with etafilcon A were lower in the patients with MGD who had higher baseline OSDI scores and shorter NIBUT. In this context, the baseline OSDI and NIBUT scores can be considered as one of the significant parameters affecting the contact lens-related discomfort levels for etafilcon A. However, the scores obtained from nesocon A practices were quite close in both study groups and patient satisfaction was higher than etafilcon A regardless of baseline OSDI and NIBUT scores.

At the end of the study, 80% of patients stated that they would continue with nesocon A, while 12% reported that they were more satisfied with etafilcon A. The fact that nesocon A is more comfortable for patients with ocular surface problems may also be related to the fact that nesocon A is one of the thinnest (0.10 mm) high water-content Hy DDCLs in the market (31).

### **Study Limitations**

The main limitations of the present study are the small sample size and the use of two lenses only in hydrogel material. Further studies with more patients and different lenses including silicone hydrogel materials with longer-term follow-up are needed for confirmation of these outcomes.

## CONCLUSION

The present study has shown that DDCLs in hydrogel materials are a convenient option for patients with ocular surface disease, such as MGD and allergic conjunctivitis. Contact lenses that are more resistant to dehydration due to their

high water-content may provide better comfort, vision quality and satisfaction in long term users.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest regarding this original research.

## References

1. Hom, M.M., A.L. Nguyen and L. Bielory, Allergic conjunctivitis and dry eye syndrome. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 2012. 108 (3): p. 163-6.
2. Garcia-Posadas, L., L. Contreras-Ruiz, L. Soriano-Romani, D.A. Dartt and Y. Diebold, Conjunctival Goblet Cell Function: Effect of Contact Lens Wear and Cytokines. *Eye Contact Lens*, 2016. 42 (2): p. 83-90.
3. Gomes, J.A.P., D.T. Azar, C. Baudouin, N. Efron, M. Hirayama, J. Horwath-Winter, et al., TFOS DEWS II iatrogenic report. *Ocul Surf*, 2017. 15 (3): p. 511-38.
4. Tagliaferri, A., T.E. Love and L.B. Szczotka-Flynn, Risk factors for contact lens-induced papillary conjunctivitis associated with silicone hydrogel contact lens wear. *Eye & contact lens*, 2014. 40 (3): p. 117-22.
5. Efron, N., P.B. Morgan, C.A. Woods and T.I.C.L.P.S. Consortium, An international survey of daily disposable contact lens prescribing. *Clinical and Experimental Optometry*, 2013. 96 (1): p. 58-64.
6. Igarashi, T., M. Kobayashi, C. Yaguchi, C. Fujimoto, H. Suzuki and H. Takahashi, Efficacy of Rebamipide Instillation for Contact Lens Discomfort With Dry Eye. *Eye & contact lens*, 2018. 44 Suppl 2 (2): p. S137-S142.
7. Varikooty, J., M.M. Schulze, K. Dumbleton, N. Keir, C.A. Woods, D. Fonn, et al., Clinical performance of three silicone hydrogel daily disposable lenses. *Optom Vis Sci*, 2015. 92 (3): p. 301-11.
8. Dumbleton, K., Noninflammatory silicone hydrogel contact lens complications. *Eye Contact Lens*, 2003. 29(1 Suppl): p. S186-9; discussion S190-1, S192-4.
9. Bron, A.J., C.S. de Paiva, S.K. Chauhan, S. Bonini, E.E. Gabison, S. Jain, et al., TFOS DEWS II pathophysiology report. *Ocul Surf*, 2017. 15 (3): p. 438-510.
10. Chen, L., L. Pi, J. Fang, X. Chen, N. Ke and Q. Liu, High incidence of dry eye in young children with allergic conjunctivitis in Southwest China. *Acta Ophthalmol*, 2016. 94 (8): p. e727-e30.
11. Bielory, L., L. Delgado, C.H. Katelaris, A. Leonardi, N. Rosario and P. Vichyanoud, ICON: Diagnosis and Management of Allergic Conjunctivitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2019.
12. Wolffsohn, J.S., R. Arita, R. Chalmers, A. Djalilian, M. Dogru, K. Dumbleton, et al., TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. *Ocul Surf*, 2017. 15 (3): p. 539-74.
13. Quittner, A.L., S. Sweeny, M. Watrous, P. Munzenberger, K. Bearss, A.G. Nitza, et al., Translation and Linguistic Validation of a Disease-Specific Quality of Life Measure for Cystic Fibrosis. *Journal of Pediatric Psychology*, 2000. 25 (6): p. 403-14.
14. Schiffman, R.M., M.D. Christianson, G. Jacobsen, J.D. Hirsch and B.L. Reis, Reliability and Validity of the Ocular Surface Disease Index. *Archives of Ophthalmology*, 2000. 118 (5): p. 615-21.
15. Stapleton, F., M. Alves, V.Y. Bunya, I. Jalbert, K. Lekhanont, F. Malet, et al., TFOS DEWS II Epidemiology Report. *Ocul Surf*, 2017. 15 (3): p. 334-65.
16. Mathers, W.D. and M. Billborough, Meibomian gland function and giant papillary conjunctivitis. *Am J Ophthalmol*, 1992. 114 (2): p. 188-92.
17. Knop, E., N. Knop, T. Millar, H. Obata and D.A. Sullivan, The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. *Investigative ophthalmology & visual science*, 2011. 52 (4): p. 1938-78.
18. Molina, K., A.D. Graham, T. Yeh, M. Lerma, W. Li, V. Tse, et al., Not All Dry Eye in Contact Lens Wear Is Contact Lens-Induced. *Eye Contact Lens*, 2019.
19. Kojima, T., Contact Lens-Associated Dry Eye Disease: Recent Advances Worldwide and in Japan. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2018. 59 (14): p. DES102-DES108.

20. Tagliaferri, A., T.E. Love and L.B. Szczotka-Flynn, Risk factors for contact lens-induced papillary conjunctivitis associated with silicone hydrogel contact lens wear. *Eye Contact Lens*, 2014. 40 (3): p. 117-22.
21. Alghamdi, W.M., M. Markoulli, B.A. Holden and E.B. Papas, Impact of duration of contact lens wear on the structure and function of the meibomian glands. *Ophthalmic & physiological optics : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)*, 2016. 36 (2): p. 120-31.
22. Saliman, N.H., P.B. Morgan, A.S. MacDonald and C. Maldonado-Codina, Subclinical Inflammation of the Ocular Surface in Soft Contact Lens Wear. *Cornea*, 2019.
23. Chao, C., F. Stapleton, M.D.P. Willcox, B. Golebiowski and K. Richdale, Preinflammatory Signs in Established Reusable and Disposable Contact Lens Wearers. *Optom Vis Sci*, 2017. 94 (11): p. 1003-8.
24. Peterson, R.C., J.S. Wolffsohn, J. Nick, L. Winterton and J. Lally, Clinical performance of daily disposable soft contact lenses using sustained release technology. *Cont Lens Anterior Eye*, 2006. 29 (3): p. 127-34.
25. Dumbleton, K., Adverse events with silicone hydrogel continuous wear. *Cont Lens Anterior Eye*, 2002. 25 (3): p. 137-46.
26. Chalmers, R.L., S.B. Hickson-Curran, L. Keay, W.J. Gleason and R. Albright, Rates of adverse events with hydrogel and silicone hydrogel daily disposable lenses in a large postmarket surveillance registry: the TEMPO Registry. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015. 56 (1): p. 654-63.
27. Ngai, V., J. Medley, L. Jones, J. Forrest and J. Teiehroeb, Friction of contact lenses: silicone hydrogel versus conventional hydrogel, in *Tribology and Interface Engineering Series*. 2005, Elsevier. p. 371-9.
28. Schafer, J., R. Steffen, T. Vaz and W. Reindel, Comparing on eye dehydration and corneal staining of three daily disposable contact lenses in a low humidity environment. *Contact Lens and Anterior Eye*, 2012. 35: p. e12.
29. Schafer, J., R. Steffen, W. Reindel and J. Chinn, Evaluation of surface water characteristics of novel daily disposable contact lens materials, using refractive index shifts after wear. *Clin Ophthalmol*, 2015. 9: p. 1973-9.
30. Schafer, J., R. Steffen, T. Vaz and W. Reindel, Comparing on eye dehydration and corneal staining of two high water hydrogel contact lenses in a low humidity environment. *Optom Vis Sci*, 2011. 88: p. e.
31. Saxon, J., M.J. Rah and W.T. Reindel, Satisfaction of astigmatic patients with toric nesofilcon A contact lenses. *Clin Optom (Auckl)*, 2019. 11: p. 1-10.

## Does COVID-19 pandemic change hand hygiene compliance among the medical students and residents? A comparative study from a university hospital

*COVID-19 Pandemisi tıp öğrencilerinin ve uzmanlık öğrencilerinin el hijyenine uyumunu değiştiriyor mu? Bir üniversite hastanesinden karşılaştırmalı çalışma*

Özlem Coşkun İşıl İrem Budakoğlu Yavuz Selim Kıyak

Department of Medical Education and Informatics, Gazi University Faculty of Medicine, Ankara, Türkiye

### ABSTRACT

**Aim:** We aimed to find out if there is statistically significant difference in self-reported hand hygiene compliance among Year-5 medical students, Year-6 medical students, and residents in Gazi University Faculty of Medicine between right before and after the first confirmed case of COVID-19 in Türkiye.

**Materials and Methods:** Two cross-sectional surveys were carried out to reveal self-reported hand hygiene compliance among participants right before and after the first confirmed case of COVID-19 in Türkiye. Participants were Year-5 and Year-6 medical students and residents in Gazi University Faculty of Medicine. Convenience sampling was used. There were 833 participants in total. The survey form consists of 10 items that were constituted by examining World Health Organization guidelines on hand hygiene. The compliance scores before and after the first confirmed case were compared by performing T-Test.

**Results:** Out of 10 items, there was significant difference in Year-5 medical students', Year-6 medical students' and residents' self-reported hand hygiene compliance scores between before and after the first confirmed case of COVID-19 in 6 items, 10 items, and 8 items, respectively ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** Significant increase in hand hygiene compliance was found right after the COVID-19 outbreak when it compared to before. The main factor behind the improvement would be extremely high levels of perceived risk created by outbreak.

**Keywords:** Hand hygiene, COVID-19, SARS-COV-2, medical students, residents COVID-19.

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmada, Türkiye'de tespit edilen ilk COVID-19 vakasından hemen önce ve sonra, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem 5 tıp öğrencileri, Dönem 6 tıp öğrencileri ve tıpta uzmanlık öğrencilerinin el hijyenine uyumlarına yönelik beyanlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Kesitsel tipte gerçekleştirilmiş olan bu çalışmada, Türkiye'de resmî olarak saptanan ilk COVID-19 vakasından hemen önce ve sonra, katılımcıların el hijyenine yönelik beyana dayalı uyumlarını ortaya çıkarmak için iki anket uygulanmıştır. Çalışmanın katılımcıları, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem 5 ve Dönem 6 öğrencileri ve tıpta uzmanlık öğrencileridir. Uygunluk örnekleme yöntemi kullanılmıştır. Toplam katılımcı sayısı 833'tür. El hijyeni sağlama ile ilgili 10 madde içeren anket formu, Dünya Sağlık Örgütü tarafından geliştirilmiş olan el hijyenine dair rehberi incelenerek oluşturulmuştur. İlk vakadan önceki ve sonraki uyum puanları, T testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Corresponding author: Özlem Coşkun  
Department of Medical Education and Informatics, Gazi  
University Faculty of Medicine, Ankara, Türkiye  
E-mail: drozlemcoskun@gmail.com  
Application date: 31.08.2021 Accepted: 13.11.2021



**Bulgular:** 10 maddede Dönem 5 ve Dönem 6 tıp öğrencilerinin ve tıpta uzmanlık öğrencilerinin el hijyenini sağlamaya yönelik beyana dayalı puanlarında, resmî olarak ilk kez tespit edilen COVID-19 vakasından önce ve sonra sırasıyla altı, on ve sekiz maddede anlamlı farklılık vardı ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Öncesiyle karşılaştırıldığında, COVID-19 salgınının hemen sonrasında katılımcıların el hijyenine uyum beyanında anlamlı artış olduğu saptanmıştır. Söz konusu artışın sebebi, COVID-19 salgınının yarattığı çok yüksek düzeydeki risk algısı olabilir.

**Anahtar Sözcükler:** El hijyeni, COVID-19, SARS-COV-2, tıp öğrencileri, uzmanlık öğrencileri.

## INTRODUCTION

Hand hygiene plays an essential role to prevent communicable diseases and hospital-acquired infections. Data demonstrates that hand hygiene enables us to reduce the transmittance of pathogens between patients as well as to lower infection rates and healthcare costs (1, 2). In spite of its importance, observational studies show that hand hygiene compliance among healthcare workers are mostly below 50% (3). The compliance rates are low and it is considered a universal problem (4, 5). Furthermore, medical students have a lack of information problem that may cause non-compliance (6). World Health Organization is aware of the gap and organizes campaigns to support hand hygiene improvement globally (7).

Hand hygiene compliance would be considered more vital during COVID-19 (SARS-COV-2) outbreak since the virus transmitted person-to-person and spread rapidly with severe effects (8, 9). As of 24/11/2020, global results of COVID-19 are more than 57 million confirmed cases and 1.5 million deaths (10). A United Nations chief expressed that "COVID-19 is the worst crisis since World War II as deaths surge" (11). It brings to mind that this huge crisis may coerce ordinary people into changing the way they live and increase their hand washing compliance same as happened during SARS outbreak in 2003 (12), influenza pandemic in 2009 (13), and MERS outbreak in 2014 (14). Likewise, the routines of healthcare workers would be affected. It may be possible to recognize the increase of hand hygiene compliance among medical students as during SARS outbreak in 2003 (15).

The aim of this study is to find out if there is a statistically significant difference in self-reported hand hygiene compliance among Year-5 medical students, Year-6 medical students, and residents in Gazi University Faculty of Medicine between right before and after the first confirmed case of COVID-19 in Türkiye.

The hypotheses of the study are as follows:

H01: There is no statistically significant difference in Year-5 medical students' self-reported hand

hygiene compliance scores between before and after the first confirmed case of COVID-19.

H02: There is no significant difference in Year-6 medical students' self-reported hand hygiene compliance scores between before and after the first confirmed case of COVID-19.

H03: There is no significant difference in residents' self-reported hand hygiene compliance scores between before and after the first confirmed case of COVID-19.

## MATERIAL AND METHODS

### Study Setting

The study was carried out at Gazi University Faculty of Medicine, Ankara, Türkiye. The faculty offers a 6-year educational program for undergraduate medical education. A 1000-bed tertiary teaching hospital is used in clinical years as well as in residency. After the first confirmed case of COVID-19, medical students were at their home due to the fact that undergraduate medical education was turned completely into distance education. At the same time, residents were actively working in clinics.

### Study Design

The study consists of a comparison of two cross-sectional surveys that were carried out right before and after the first confirmed case of COVID-19 in Türkiye with 833 participants in total.

Before the First Confirmed Case: We had started to collect data to evaluate hand hygiene compliance of Year-5 and Year-6 medical students and residents in our medical faculty on December 10, 2019 without awareness of COVID-19 outbreak. By using an anonymous online survey form, we asked 10 questions to the participants to reveal their self-reported hand hygiene compliance and discuss the results to evaluate it under the context of role-modelling. These 10 questions were constituted by examining WHO guidelines on hand hygiene in healthcare (16). They answered the questions by using 5-point Likert type items (1: Never 5: Always). The survey form does not include any question that might indicate the participants'

identity (such as age and gender) so that they express their compliance without any concern. When we were collecting data, COVID-19 outbreak has started at the end of 2019 in China but there was no confirmed case of COVID-19 in Turkiye for a while (17). Officials announced the first case of COVID-19 on 10/03/2020 (18). We ceased the data collection process immediately due to the unusual circumstance that is created by the atmosphere of the first confirmed case and related high level precautions in the country. 122 Year-5 medical students, 116 Year-6 medical students, and 125 residents had filled the survey until that day. Cronbach's Alpha levels were 0.89, 0.88, 0.82 for Year 5, Year 6, and residents, respectively. We used the data collected before the first confirmed case to only evaluate role-modelling effect by not depending on COVID-19 outbreak. It is a separate research independent of this study because of its original aim and different context (19).

**After the First Confirmed Case:** Right after the first confirmed case of COVID-19 that were announced in Turkiye, on 10/03/2020, we removed the survey. We added only a question to the residents' form that asks whether they participated in any hand hygiene education in 2020. We did not change the other parts as well as Year-5 and Year-6 medical students' survey forms. The survey forms have been sent to the Year-5 and Year-6 medical students and residents in our faculty by using online environment in the same way that we had sent before the first confirmed case. The data were collected between 31/03/2020 and 24/04/2020. 211 Year-5 medical students, 135 Year-6 medical students, and 124 residents have filled the form. Cronbach's Alpha levels were 0.85, 0.79, 0.78 for Year-5, Year-6, and residents, respectively.

### **Eligibility**

Convenience sampling method was used. There were around 340 students in Year-5 and Year-6 both, and 590 medical residents. We calculated that the sample size should be more than 105 for both of the Year-5 and Year-6 students, and 120 for residents (confidence level: 95%, margin of error: 8%, Raosoft Sample Size Calculator). We reached medical students and residents by posting the link of the forms to their communication groups on the internet. There were no eligibility criteria to participate in the study other than being Year-5 or Year-6 medical student or resident in our faculty. Although the first and the second population was the same, the participants likely not to be exactly the same

in both surveys. We did not match the participants.

### **Data Analysis**

The statistical analysis was carried out by using SPSS v.22.0 for Windows (Chicago, IL, USA). We considered data as interval data, coherent with expert recommendations. Sullivan and Artino suggest that "Parametric tests tend to give "the right answer" even when statistical assumptions—such as a normal distribution of data—are violated, even to an extreme degree. Thus, parametric tests are sufficiently robust to yield largely unbiased answers that are acceptably close to "the truth" when analyzing Likert scale responses." (20). In the guidance of this, Independent-Samples T-Test has been performed since the participants in two groups (before-after) highly likely are not exactly the same. The 2-tailed 0.05 alpha level was used as a cut-off value of statistical significance.

### **Ethical Considerations**

Participation was voluntary. Ethics Committee of Gazi University had approved the study (code: 2019-394).

## **RESULTS**

The mean scores of self-reported hand hygiene compliance of Year-5 medical students, Year-6 medical students, and residents before and after the first confirmed case of COVID-19 as well as the significance of the differences are reported in (Table-1).

Results revealed that;

- There was statistically significant difference in 6 items out of 10 between scores of Year-5 medical students before and after the first confirmed case. Therefore, hypothesis H01 is rejected in 6 items.
- There was statistically significant difference in 10 items out of 10 between scores of Year-6 medical students before and after the first confirmed case. Therefore, hypothesis H02 is rejected in 10 items.
- There was statistically significant difference in 8 items out of 10 between scores of residents before and after the first confirmed case. Therefore, hypothesis H03 is rejected in 8 items.

Out of 124 residents who filled the survey form after the first confirmed case, 56 (45.2%) of them stated that they participated in a hand hygiene education while 68 (54.8%) of them did not. There was no statistically significant difference between them ( $p>0.05$ ).

**Table-1.** Mean scores and significance of differences between before and after the first confirmed case of COVID-19 in the country.

	Year-5 Medical Students		Year-6 Medical Students		Residents		Significant Differences			
	Before (N=122)	After (N=211)	p	Before (N=116)	After (N=135)	p		Before (N=125)	After (N=124)	p
I perform hand hygiene procedures;										
1. Before touching a patient.	4.30 ± 0.68	4.50 ± 0.69	<b>0.011*</b>	4.05 ± 0.65	4.38 ± 0.58	<b>&lt;0.001*</b>	4.06 ± 0.76	4.53 ± 0.60	<b>&lt;0.001*</b>	<b>Before: Y5-Y6, Y6-R, Y5-R After: Y6-R</b>
2. After touching a patient.	4.47 ± 0.74	4.77 ± 0.51	<b>&lt;0.001*</b>	4.46 ± 0.59	4.70 ± 0.50	<b>0.001*</b>	4.35 ± 0.75	4.82 ± 0.38	<b>&lt;0.001*</b>	<b>After: Y6-R</b>
3. Before touching a patient, even before wearing the gloves.	3.89 ± 0.87	4.10 ± 1.03	0.065	3.38 ± 0.94	3.66 ± 0.96	<b>0.022*</b>	3.40 ± 1.10	4.01 ± 1.03	<b>&lt;0.001*</b>	<b>Before: Y5-Y6, Y6-R, Y5-R After: Y5-Y6, Y6-R</b>
4. When put off the gloves after touching a patient.	4.14 ± 0.85	4.40 ± 0.86	<b>0.009*</b>	4.06 ± 0.91	4.59 ± 0.60	<b>&lt;0.001*</b>	4.31 ± 0.82	4.67 ± 0.62	<b>&lt;0.001*</b>	<b>After: Y5-Y6, Y6-R</b>
5. After touching patient surroundings.	3.95 ± 0.93	4.12 ± 0.94	0.117	3.47 ± 0.96	4.14 ± 0.82	<b>&lt;0.001*</b>	3.86 ± 0.92	4.27 ± 0.86	<b>&lt;0.001*</b>	<b>Before: Y5-Y6</b>
6. When there are observable excretions or secretions on my hands.	4.69 ± 0.63	4.87 ± 0.42	<b>0.002*</b>	4.60 ± 0.69	4.93 ± 0.27	<b>&lt;0.001*</b>	4.68 ± 0.65	4.88 ± 0.41	<b>0.004*</b>	None
7. Before clean/aseptic procedure. (surgical interventions, peripheral or central intravenous catheterization, urethral catheterization, endotracheal intubation etc.)	4.75 ± 0.50	4.86 ± 0.49	0.068	4.55 ± 0.67	4.75 ± 0.55	<b>0.012*</b>	4.69 ± 0.60	4.82 ± 0.54	0.077	<b>Before: Y5-Y6</b>
8. After invasive intervention.	4.66 ± 0.65	4.82 ± 0.49	<b>0.011*</b>	4.54 ± 0.71	4.88 ± 0.32	<b>&lt;0.001*</b>	4.76 ± 0.44	4.93 ± 0.26	<b>&lt;0.001*</b>	<b>After: Y5-R</b>
9. Before touching invasive device.	4.61 ± 0.62	4.69 ± 0.62	0.279	4.34 ± 0.73	4.65 ± 0.60	<b>&lt;0.001*</b>	4.57 ± 0.60	4.62 ± 0.71	0.565	<b>Before: Y5-Y6</b>
10. After touching invasive device.	4.57 ± 0.64	4.75 ± 0.57	<b>0.009*</b>	4.42 ± 0.67	4.81 ± 0.42	<b>&lt;0.001*</b>	4.64 ± 0.56	4.81 ± 0.50	<b>0.009*</b>	None

## DISCUSSION

We have carried out two surveys on hand hygiene compliance. The first one was before the first confirmed case of COVID-19 in Türkiye. Before that day, strict precautions across the country were not taken yet (such as closed schools and lockdown) (18). The second survey was the same as the first one and conducted after the announcement of the first confirmed case. We compared the data and found that self-reported hand hygiene compliance of Year-5 medical students, Year-6 medical students, and residents after the first confirmed case of COVID-19 is higher than their compliance before. In Year-5 medical students, the number of items that have significant difference was less than Year-6 students and residents. It may be due to the fact that Year-5 students have limited clinical experience than Year-6 students and residents therefore they could not have developed their professional identity as much as other participant groups as well as they have not realized the importance of hand hygiene in the clinical environment.

In our study, there generally was a significant increase in self-reported hand hygiene compliance. The finding is in line with the findings of the study that found a significant improvement in hand washing practice of medical students after the SARS epidemic in Hong Kong (15). Several other studies have shown similar results. A study found that there is "higher awareness of hand hygiene during influenza seasons" and "influenza season is an independent predictor of increased hand hygiene adherence" among healthcare workers (21). Another study shown that hand hygiene compliance among healthcare workers significantly higher during the H1N1 pandemic influenza in 2009 but a year later compliance levels were lower than previous years (22). A study conducted in Brazil during influenza pandemic in 2009 has slightly different results that hand hygiene compliance was not higher than before the pandemic but the use of alcohol based hand rub was increased (23).

In the light of all these studies, it can be concluded that hand hygiene and hand washing compliance have become stronger during outbreak periods. Several factors could have influenced hand hygiene compliance. First, it could be an effect of educational activities on infection control during outbreak times. In our study, however, there was no significant

difference regards to participation to hand hygiene education. Nevertheless, we cannot underestimate the role of hidden curriculum that occurs in the clinical environment ceaselessly. Second, medical students and residents might heighten their awareness of hand hygiene due to the perceived threat that is caused by COVID-19 outbreak. It is known that the Turkish students were aware of the threat of the pandemic (24). According to a study that analyzed the data of self-reported hand hygiene compliance among final year medical students in the Netherlands, however, hand hygiene compliance is not associated with risk perception (25) while another study conducted in community in Saudi Arabia during MERS outbreak found that "mean anxiety level was significantly associated with hand washing practice after coughing" (14). We can infer that extremely high levels of perceived risk during outbreaks would be seen as exceptional for hand hygiene compliance since outbreaks are extraordinary time periods. While the hand hygiene compliance among healthcare workers was high in early times of the pandemics, the observed decrease as time progressed (26) is another sign of that. Hand hygiene cannot be maintained by force of threats since the sustainability of hand hygiene compliance "require role models and culture change around infection control" (27).

There are several limitations of this study. First and foremost, our study is based on self-reported compliance, which is susceptible to social desirability bias (28), not on observational data. We aimed to reduce the risk of social desirability bias by excluding any kind of identity information, other than being Year-5 or Year-6 medical student or resident, from the survey form. However, we realize that there is still a potential bias that could limit the validity of study. Moreover, the data without demographic characteristics, such as age and gender, is a limitation to interpret the results. A second limitation of this study is that it included only Year-5 and Year-6 medical students and residents. Reactions of other medical students (Year-1 to Year-4) might be different. As another limitation we must mention that the conclusions arose from this study reflects only scope of our faculty and culture. It should be studied with other medical faculties and cultures to generalize. The long term impact of the COVID-19 pandemic to hand hygiene compliance among medical students and residents may also be studied.

## CONCLUSIONS

We surveyed our Year-5 and Year-6 medical students and residents on their hand hygiene compliance before and after the first confirmed case of COVID-19 in Türkiye. Significant increase in hand hygiene compliance was found right after the COVID-19 outbreak when it compared to before. The main factor behind the improvement would be extremely high levels of perceived risk created by the outbreak. Even though, to improve

hand hygiene compliance, we cannot maintain a risk-centered approach since this method is not sustainable due to its unhealthiness. We may need more to focus on role-models and building a culture that promotes infection control.

**Conflict of interest:** None.

**Acknowledgements:** We thank to medical students and residents of Gazi University Faculty of Medicine.

## References

1. Cummings KL, Anderson DJ, Kaye KS. Hand hygiene noncompliance and the cost of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010; 31 (4): 357-64.
2. Srigley JA, Furness CD, Gardam M. Interventions to improve patient hand hygiene: a systematic review. *J Hosp Infect* 2016; 94 (1):23-9.
3. Hugonnet S, Pittet D. Hand hygiene—beliefs or science?. *J Clin Microbiol Infect* 2000; 6 (7): 348-54.
4. Erasmus V, Daha TJ, Brug H, et al. Systematic review of studies on compliance with hand hygiene guidelines in hospital care. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010; 31 (3): 283-94.
5. Kingston L, O'Connell NH, Dunne CP. Hand hygiene-related clinical trials reported since 2010: a systematic review. *J Hosp Infect* 2016; 92 (4): 309-20.
6. Graf K, Chaberny IF, Vonberg RP. Beliefs about hand hygiene: A survey in medical students in their first clinical year. *Am J Infect Control* 2011; 39 (10): 885–8.
7. Saito H, Timurkaynak F, Borzykowski T, et al. "It's in Your Hands—Prevent Sepsis in Health Care"; 5th May 2018 World Health Organization (WHO) SAVE LIVES: Clean Your Hands Campaign. *Klimik Dergisi* 2018; 31 (1): 2-3.
8. Lotfinejad N, Peters A, Pittet D. Hand hygiene and the novel coronavirus pandemic: the role of healthcare workers. *J Hosp Infect* 2020; 105 (4): 776-7.
9. Siordia Jr, JA. Epidemiology and Clinical Features of COVID-19: A Review of Current Literature. *J Clin Virol* 2020; 127. DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104357
10. World Health Organization. COVID-19 Weekly Epidemiological Update 24 November 2020. Accessed 25 November 2020. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update---24-november-2020>
11. BBC. Coronavirus: Greatest test since World War Two, says UN chief. Accessed 21 April 2020. Available from: <https://www.bbc.com/news/world-52114829>
12. Fung IC, Cairncross S. How often do you wash your hands? A review of studies of hand-washing practices in the community during and after the SARS outbreak in 2003. *Int J Environ Health Res* 2007; 17 (3): 161-83.
13. Miao YY, Huang JH. Prevalence and associated psychosocial factors of increased hand hygiene practice during the influenza A/H1N1 pandemic: findings and prevention implications from a national survey in Taiwan. *Trop Med Int Health* 2012; 17 (5): 604-12.
14. Al Najjar NS, Attar LM, Farahat FM, Al Thaqafi A. Psychobehavioural responses to the 2014 Middle East respiratory syndrome-novel corona virus [MERS CoV] among adults in two shopping malls in Jeddah, western Saudi Arabia. *East Mediterr Health J* 2016; 22 (11): 817-23.
15. Wong TW, Tam WWS. Handwashing practice and the use of personal protective equipment among medical students after the SARS epidemic in Hong Kong. *Am J Infect Control* 2005; 33 (10): 580-6.
16. Boyce J, Chartier Y, Chraïti M, et al. WHO guidelines on hand hygiene in health care. Geneva: World Health Organization 2009.
17. Ulu Kilic A, Kara F, Alp E, Doganay M. New threat: 2019 novel Coronavirus infection and infection control perspective in Türkiye. *North Clin Istanbul* 2020; 7 (2): 95–8.
18. Demirbilek Y, Pehlivan Türk G, Özgüler ZÖ, Alp Meşe E. COVID-19 outbreak control, example of ministry of health of Türkiye. *Turk J Med Sci* 2020; 50 (SI-1): 489-94.

19. Coşkun Ö, Kiyak YS, Şık Ş, Toksöz F, Can A, Budakoğlu İ. Tıp Öğrencilerinin ve Tıpta Uzmanlık Öğrencilerinin El Hijyenine Bakışları [Views of Medical Students and Medical Specialty Trainees on Hand Hygiene]. *Klimik Dergisi* 2020; 33 (2): 153-6.
20. Sullivan GM, Artino Jr AR. Analyzing and interpreting data from Likert-type scales. *J Grad Med Educ* 2013; 5 (4): 541-2.
21. Fulchini R, Kohler P, Kahlert CR, et al. Hand hygiene adherence in relation to influenza season during 6 consecutive years. *Am J Infect Control* 2018; 46 (11): 1311-4.
22. Labarca J, Zambrano A, Niklitschek S, et al. H1N1 pandemic influenza impact on hand hygiene and specific precautions compliance among healthcare workers. *J Hosp Infect* 2011; 79 (2): 177-9.
23. Dos Santos RP, Konkewicz LR, Nagel F, et al. The 2009 H1N1 influenza a pandemic and hand hygiene practices in a hospital in the South of Brazil. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010; 31 (12): 1313-5.
24. Çalışkan F, Mıdık Ö, Baykan Z, et al. The knowledge level and perceptions toward COVID-19 among Turkish final year medical students. *Postgrad Med* 2020; 132 (8): 764-72.
25. Erasmus V, Otto S, De Roos E, et al. Assessment of correlates of hand hygiene compliance among final year medical students: a cross-sectional study in the Netherlands. *BMJ Open* 2020; 10:e029484. doi: 10.1136/bmjopen-2019-029484
26. Moore LD, Robbins G, Quinn J, Arbogast JW. The impact of COVID-19 pandemic on hand hygiene performance in hospitals. *Am J Infect Control* 2021; 49 (1): 30-3.
27. Kaur R, Razee H, Seale H. Facilitators and barriers around teaching concepts of hand hygiene to undergraduate medical students. *J Hosp Infect* 2014; 88 (1): 28-33.
28. Furnham, A. Response bias, social desirability and dissimulation. *Personal Individ Differ* 1986; 7 (3):385-400.

## Kraniyal manyetik rezonans görüntüleme istenilen olguların retrospektif özellikleri

### *Retrospective features of cases with cranial magnetic resonance imaging*

Hilal Aydın<sup>1</sup> Selçuk Yazıcı<sup>2</sup> Ezgi Özden<sup>2</sup> Gülen Demirpolat<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Nöroloji Bölümü, Balıkesir, Türkiye

<sup>2</sup> Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hastalıkları Bölümü, Balıkesir, Türkiye

<sup>3</sup> Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmada, poliklinik koşullarında kraniyal manyetik rezonans görüntüleme istenilen 0-18 yaş aralığındaki hastaların tanı profillerini ortaya çıkarmayı ve kraniyal görüntüleme sonuçlarını cinsiyete ve yaş gruplarına göre değerlendirmeyi hedefledik.

**Gereç ve Yöntem:** Ağustos 2019-Mart 2021 tarihleri arasında Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi çocuk nöroloji ile çocuk sağlığı ve hastalıkları polikliniklerinde çeşitli endikasyonlar ile kraniyal manyetik rezonans görüntüleme istenen 0-18 yaş arasındaki hastaların dosyaları retrospektif olarak incelendi. Yaş, cinsiyet, ana yakınma ve nöroradyolojik görüntüleme sonuçlarına hastane kayıtlarından ulaşıldı. Veriler üç ayrı yaş grubuna ( 0-6, 7-12, 13-18) ayrıldı.

**Bulgular:** 313 olgunun kraniyal manyetik rezonans görüntülemesi incelendi. Hastaların ortalama yaşı  $9.35 \pm 4.89$  (4 ay-17 yıl) yıl idi. 164 (%52,4) erkek, 149 (%47,6) kız cinsiyet idi. 0-6 yaş grubunda 82 (%26,2), 7-12 yaş 104 (%33,2) ve 13-18 yaş grubunda 127 (%40,6) olgu mevcuttu. En sık kraniyal manyetik rezonans görüntüleme istem sebepleri; 106 (%33,9) olgu ile nöbet/epilepsi, 65 (%20,8) olgu ile baş ağrısı, 28 (%8,9) olgu ile nöromotor retardasyon idi. 200 (%63,9) olgunun kraniyal görüntülemesi normalken, 113 olgunun (%36,1) sonucu anormal olarak değerlendirildi. En sık saptanan anormal bulgular intrakraniyal kitle (%2,5), nonpsesifik beyaz cevher lezyonu (%5,1), intrakraniyal kist (%5,7), sinüzit (%9,2), hidrosefali/hidransefaliydi (%2,6). Kraniyal görüntüleme bulgularının normal veya anormal olması açısından yaş grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.73$ ), aynı açıdan cinsiyetler arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p=0.007$ ).

**Sonuç:** Çalışmamız, pediatri pratiğinde kraniyal MRG istem endikasyonları ve sonuçlarını içeren bir araştırma olması ve bu hastalarda tanısal profil oluşturması nedeni ile önem arz etmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Kraniyal manyetik rezonans görüntüleme, poliklinik, tanı, endikasyon.

### ABSTRACT

**Aim:** In this study, we aimed to reveal the diagnostic profiles of 0-18 years aged patients, for whom cranial magnetic resonance imaging is requested in outpatient settings, and to evaluate the cranial imaging results according to gender and age groups.

**Materials and Methods:** The files of patients aged 0-18 years who were requested cranial magnetic resonance imaging for various indications, between August 2019 and March 2021, in Balıkesir University, Faculty of Medicine pediatric neurology and pediatric health and diseases outpatient clinics were reviewed retrospectively.

Sorumlu yazar: Hilal Aydın  
Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve  
Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Nöroloji Bölümü,  
Balıkesir, Türkiye  
E-posta: drhilalaydin@gmail.com  
Başvuru tarihi: 17.09.2021 Kabul tarihi: 13.12.2021

Age, gender, main complaint and neuroradiological imaging results were obtained from hospital records. Data were divided for three different age groups (0-6, 7-12, 13-18).

**Results:** Cranial magnetic resonance imaging of 313 cases were analyzed. The mean age of the patients was  $9.35 \pm 4.89$  (4 months-17 years) years. There were 164 (52.4%) boys and 149 (47.6%) girls. There were 82 (26.2%) cases in the 0-6 years age group, 104 (33.2%) in the 7-12 years age group and 127 (40.6%) in the 13-18 years age group. The most common reasons for requesting cranial magnetic resonance imaging were as; seizure/epilepsy in 106 (33.9%) cases, headache in 65 (20.8%) cases, and neuromotor retardation in 28 (8.9%) cases. While the cranial imaging of 200 (63.9%) cases was normal, the results of 113 (36.1%) cases were evaluated as abnormal. The most common abnormal findings were intracranial mass (2.5%), nonspecific white matter lesion (5.1%), intracranial cyst (5.7%), sinusitis (9.2%) and hydrocephalus/hydrancephaly (2.6%). When age groups were compared in terms of showing normal or abnormal cranial imaging findings, no statistically significant difference was found ( $p=0.73$ ), but a statistically significant difference was found between the genders in the same respect ( $p=0.007$ ).

**Conclusion:** Our study is important for including cranial MRI request indications and results in pediatric practice and it creating a diagnostic profile in these patients.

**Keywords:** Cranial magnetic resonance imaging, outpatient clinic, diagnosis, indication.

## GİRİŞ

Merkezi sinir sistemi, yaşam döngüsü içinde çeşitli hastalıklardan etkilenebilmektedir (1). Klinik pratikte santral sinir sistemi anatomisini ve patolojilerini değerlendirmek için birçok görüntüleme yöntemi kullanılmaktadır (2). Kranial manyetik rezonans görüntülemesi (MRG), pediatrik nöroloji pratiğinde en sık kullanılan görüntüleme yöntemlerinden birisidir. MRG, noninvaziv bir tanısal yöntem olup hastalar için diğer görüntüleme yöntemlerine göre belirgin bazı avantajlar sağlar (3). Beyin MRG, başlıca yüksek görüntü kalitesi, donanım ve sekanstaki belirgin gelişmeler, radyasyon maruziyetin olmaması, multiplanar görüntüleme imkanı sağlaması ve yüksek kontrast çözünürlük özelliği sunması sebebiyle tercih edilmektedir (4). MRG, posterior fossada yer kaplayan lezyonların, kortikal displazinin, akut iskeminin, serebrovasküler anormalliklerin saptanmasında bilgisayarlı tomografiye (BT) göre daha sensitiftir (5). Çocuklarda MRG çekimi için yaygın endikasyonlar; beyin ve omurganın gelişimsel anormallikleri, nörodejeneratif bozukluklar, tümörler, enfeksiyonlar ve inflamasyonlardır (6). Çocuklarda MRG kullanımı sıklığı detaylı olarak araştırılmamış olsa da, özellikle nöroradyoloji çalışmalarında MRG kullanımının arttığını öne süren yayınlar mevcuttur (7, 8).

Bu çalışmada, pediatri pratiğinde kranial görüntülemesi yapılan olguların istem endikasyonları ve saptanılan bulgular ile cinsiyetler ve yaş grupları arasındaki farklılıkların karşılaştırılması amaçlandı.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada Ağustos 2019-Mart 2021 tarihleri arasında Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi çocuk nöroloji ile çocuk sağlığı ve hastalıkları polikliniği tarafından çeşitli endikasyonlar nedeniyle kranial manyetik rezonans görüntülemesi istenen 0-18 yaş arasındaki hastaların dosyaları retrospektif olarak incelendi. Yaş, cinsiyet, ana yakınma ve nöroradyolojik görüntüleme sonuçlarına hastane kayıtlarından ulaşıldı. Veriler üç ayrı yaş grubuna (0-6, 7-12, 13-18) ayrıldı.

MR grafileri ve sonuç raporları hastanemiz PACS (Radyolojik görüntüleme ve arşivleme sistemi) sistemi taranarak elde edildi ve değerlendirildi. MRG istem nedenleri hastane bilgi yönetim sisteminden elde edilen ön tanımlara göre tespit edildi. Hastaların kranial MRG bulguları normal ve anormal olarak ikiye ayrıldı. Kranial görüntüleme bulguları eksik olan veya MRG çekimi hastanemiz dışında başka bir merkezde yapılmış olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

## İstatiksel Analizler

Çalışmamızda veriler için demografik ve tanımlayıcı istatistiksel analiz kullanılmış olup istatistiksel değerlendirme SPSS 23 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) programı ile gerçekleştirildi. Betimleyici değişkenler ortalama  $\pm$ standart sapma olarak tanımlandı, frekans değişkenler sayı ve yüzdesi ile belirtildi. Normal dağılıma uymayan bağımlı gruplardan elde edilmiş kategorik veriler Mann-Whitney U testi kullanılarak analiz edildi. P değeri  $<0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Çalışma için yerel etik kuruldan izin alındı (Etik kurul izin no: 2021/161).



## BULGULAR

Çalışmada, Ağustos 2019-Mart 2021 tarihleri arasında çocuk nöroloji ile çocuk sağlığı ve hastalıkları polikliniğine başvuran 313 olguya ait kraniyal MRG sonuçları incelendi. Çalışmada yer alan hastaların ortalama yaşı  $9.35 \pm 4.89$  (4 ay-17 yıl) yılı. 164 (%52,4) erkek, 149 (%47,6) kız cinsiyet idi. 0-6 yaş grubunda 82 (%26,2), 7-12 yaş grubunda 104 (%33,2) ve 13-18 yaş grubunda 127 (%40,6) olgu mevcuttu.

En sık MRG istem nedenleri: nöbet/epilepsi (n=106, %33,9), baş ağrısı (n=65, %20,8), nöromotor retardasyon (n=28, %8,9), senkop (n=17, %5,4), baş dönmesi (n=14, %4,5), görme patolojileri (n=13, %4,2) ve yürüyüş bozukluklarıydı (n=12, %3,8) (Tablo-1).

İki yüz (%63,9) olgunun kraniyal görüntülemesi normalken, 113 olgununki (%36,1) anormal olarak değerlendirildi. En sık saptanan anormal bulgular intrakraniyal kitle (%2,5), nonspesifik beyaz cevher lezyonu (%5,1), intrakraniyal kist (%5,7), sinüzit (%9,2) ve hidrosefali/hidransefaliydi (%2,6) (Tablo-2). Kraniyal MRG'de anormal bulgular yaş gruplarına

göre incelendiğinde; 0-6 yaş grubunda en sık hidrosefali/hidransefali ve kafa şekil anomalisi, 7-12 yaş grubunda en sık intrakraniyal kitleler ve kortikal displaziler, 7-12 yaş grubunda en sık nonspesifik beyaz cevher lezyonları, kraniyal kistler, sinüzit ve sinus retansiyon kistleri saptandı. Kraniyal MRG'de anormallik saptanma oranı 0-6 yaş grubunda %29, 7-12 yaş grubunda %35 ve 7-12 yaş grubunda ise %49'du. Yaş grupları kraniyal görüntüleme bulgularının normal veya anormal olması açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0.73) (Tablo-3).

Kraniyal MRG'de anormallik saptanma oranı erkeklerde %43,3, kızlarda ise %28,2'di. İntrakraniyal kitleler, kortikal displazi, nonspesifik beyaz cevher lezyonu, kraniyal kistler, hidrosefali, gliotik odak, sinüzit ve sinus retansiyon kisti; en sık kız cinsiyette rastlanırken, kafa şekil anomalisi en sık erkek cinsiyette izlendi. Cinsiyetler arasında kraniyal görüntüleme bulgularının normal veya anormal olması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0.007) (Tablo-4).

**Tablo-1.** Kraniyal MRG istenilen hastaların demografik özellikleri ve istem nedenleri.

<b>Cinsiyet n (%)</b>	
Kız	149 (%47,6)
Erkek	164 (%52,4)
Yaş Ortalaması (SD)	$9.36 \pm 4.89$ (4 ay-17 yıl)
<b>Yaş Grupları n(%)</b>	
0-6 yaş	82 (%26,2)
7-12 yaş	104 (%33,2)
13-18 yaş	127 (%40,6)
Nöbet	106 (%33,9)
Baş dönmesi	14 (%4,5)
Baş ağrısı	65 (%20,8)
Nöromotor Retardasyon	28 (%8,9)
Güçsüzlük	6 (%1,9)
Görme Patolojileri	13 (%4,2)
Mikrosefali/Makrosefali	11 (%3,5)
Hareket Bozukluğu	10 (%3,2)
Nörokutanöz Hastalıklar	6 (%1,9)
Travma	6 (%1,9)
Febril Konvulziyon	2 (%0,6)
Puberte precox/tarda	2 (%0,6)
Fasiyal Paralizisi	6 (%1,9)
Yürüyüş Bozuklukları	12 (%3,8)
DEHAB	4 (%1,3)
Senkop	17 (%5,4)
Diğer	5 (%1,6)
DEHAB; Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu	

**Tablo-2.** Kraniyal MRG bulguları.

Intrakraniyal Kitle	8 (%2,5)
Kanama	2 (%0,6)
Kortikal Displazi	5 (%1,6)
Nonspesifik Beyaz Cevher Lezyonu	16 (%5,1)
Kortikal Atrofi	1 (%0,3)
Kist	18 (%5,7)
Hidrocefali/Hidransefali	8 (%2,6)
Kafa şekil anomalisi	3 (%1)
Chiari Malformasyonu	1 (%0,3)
Boş Sella	1 (%0,3)
Gliotik Odak	5 (%1,6)
Sinüzit	29 (%9,2)
Sinus retansiyon kisti	7 (%2,2)
Asimetrik ventrikül	1 (%0,3)
Corpus Callosum Disgenezisi	1 (%0,3)
Diğer	7 (%2,2)
Normal	200 (%63,9)

**Tablo-3.** Kraniyal MRG bulgularının normal ve anormal olma açısından cinsiyetlere göre dağılımı.

Kraniyal MRG bulguları	Erkek n (%)	Kız n (%)	p
Normal	93 (56,7)	107 (71,3)	0.007
Anormal	71 (43,3)	42 (28,2)	

MRG; Manyetik Rezonans Görüntüleme

**Tablo-4.** Kraniyal MRG bulgularının normal ve anormal olma açısından yaş gruplarına göre dağılımı.

Kraniyal MRG bulguları	0-6 yaş grubu n (%)	7-12 yaş grubu n (%)	13-18 yaş grubu n (%)	p
Normal	53 (64,6)	69 (61,5)	78 (61,4)	0.73
Anormal	29 (35,4)	35 (38,5)	49 (38,6)	

MRG; Manyetik Rezonans Görüntüleme

## TARTIŞMA

Bu çalışmada çocuk nöroloji ve çocuk sağlığı ve hastalıkları polikliniklerinde en sık kraniyal MRG istem endikasyonlarının nöbet geçirme, baş ağrısı, nöromotor retansiyon ve senkop olduğu görüldü. En sık saptanan anormal MRG bulguları

sinüzit, intrakraniyal kist ve nonspesifik beyaz cevher lezyonlarıydı. Çalışmamızdaki vurgulayıcı özellik ise; cinsiyetler arasında kraniyal görüntüleme bulgularının normal veya anormal olması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmasıydı. Cinsiyet ile MRG bulguları

arasında farklılık bulunmasının hastaların tanı dağılımı ile ilgili olduğu düşüncesindeyiz.

Literatürde, çocuk acil servis ve çocuk nöroloji polikliniklerine travma dışı en sık başvuru nedenlerinin nöbet ve baş ağrısı olduğu bildirilmiştir (9, 10). Barış ve ark. (11) acil serviste erişkin hastalarda kraniyal BT nontravmatik istem nedenlerinin en sık serebrovasküler olay (%23,7), genel durum bozukluğu (%15,8), baş ağrısı (%6,6) ve kanama (%5,4) olduğunu bildirmişlerdir. Özkaya ve ark. (12) nontravmatik nedenlerle çocuk acil servise başvuran ve santral sinir sistemi görüntülemesi (kraniyal MRG, beyin BT, transfontanel ultrasonografi ve spinal MRG) yapılan 513 çocukta en sık santral sinir sistemi görüntüleme nedenlerini nöbet, bilinç değişikliği, baş ağrısı ve ventrikuloperitoneal şant malfonksiyonu olarak tespit etmişlerdir (12). Çalışmamızda en sık kraniyal MRG istem nedenleri nöbet (%33,9), baş ağrısı (%20,8), nöromotor retardasyon (%8,9), senkop (%5,4) ve baş dönmesi (%4,5) idi.

Baş ağrısı, çocuklarda ve ergenlerde sık görülen sorundur. Baş ağrısı, 13-19 yaş grubundaki erkeklerin yaklaşık %59'unu ve kızların %84'ünü etkiler (13). Baş ağrısı olan olguların %66'sının en az bir kez BT ya da MRG çekti oldukleri saptanmıştır (14). Literatürde baş ağrısı nedeni ile kraniyal MRG çekilen olgularda anormallik saptanma oranı %21-40 arasında değişmektedir (15-17). Baş ağrısı için görüntüleme yapılan bireylerin %40'ında sinus anormallikleri, nonspesifik beyaz cevher anormallikleri, araknoid kistler, pineal kistler, venöz anjiomlar ve Chiari malformasyonları gibi nonspesifik anormalliklerin olduğu bildirilmiştir (16). Gürkaş ve ark. (15) baş ağrısı olan olguların çekilen kraniyal MRG'sinde en sık saptanan anormalliklerin nonspesifik beyaz cevher anormallikleri (%10), genişlemiş perivasküler boşluk (%4), araknoid kist (%4), asimetric ventrikül (%3,9), Chiari malformasyonu tip 1/serebellar tonsil ektopi (%2,9), sinüzit (%4,1) olduğunu bildirmişlerdir. Martens ve ark. (18) baş ağrısı şikâyeti ile başvuran 209 olgunun kraniyal MRG'ında en sık saptanan anormal bulguları; sinüzit (%7,2), pineal kist (%2,4), araknoidal kist ve Chiari malformasyonu (%1,9), nonspesifik sinyal artışı (%1), hipofiz büyümesi (%0,5), enflamatuvar lezyon (%0,5), serebral iskemi (%0,5) ve serebral kist (%0,5) olarak saptamışlardır. Alae ve ark. (19) baş ağrısı şikâyeti olan 5-15 yaş arasındaki 81 çocuğun MRG'sini inceledikleri çalışmada grafilerin %49,4 oranında normal olduğunu saptamışlardır, Anormal bulgu olarak en sık pansinüzit (%17,3),

ikinci sıklıkta yüksek sinyalli beyaz cevher lezyonu (%9,9) ve üçüncü sırada da boş sella (%7,4) bulgularını saptadıklarını belirtmişlerdir. Kalnin ve ark. (20) ilk kez nöbet geçiren çocukların kraniyal MR görüntülerinde %31 oranında anormallik saptamışlardır ve en fazla görülen anormalliklerin lökomalazi ve ventrikuler genişleme olduğunu bildirmişlerdir. Xuan ve ark. (21) parsiyel epilepsisi olan 1-6 yaş arası 112 çocuğun kraniyal MRG'ında %34,8 oranında anormallik [kortikal lezyon (%4,5), beyaz cevher lezyonları (%8,9), ensefalomalazi (%0,9), hacim kaybı (%1,8), genişlemiş ventrikül (%8) ve çeşitli anormallikleri (%10,7)] saptamışlardır. Özkaya ve ark. (12) çalışmasında, kraniyal MR grafileri %55,8 oranında normal olarak değerlendirilmiştir. Anormal bulgular olarak en sık sinüzit (%7,6) saptanmışken diğer bulguları [yumuşak doku şişliği (%0,2), kraniyal kemikte fraktür (%0,4), hidrosefali (%5,5), intrakraniyal kanama (%2,1), araknoid kist (%1), Chiari malformasyonu (%3,5), Dandy Walker anomalisi (%1,2), adenoid vejetasyon (%1,2), mastoidit (%1,2), infarkt (%1,2), iskemik beyin hasarı (%0,4), intrakraniyal kitle (%2,3), leptomeningeal kontrastlanma (%1,5), SSS enfeksiyonu (%0,8), mega sisterna magna (%0,2), ensefalomalazik alanlar (%1,5), corpus callosum agenezisi (%0,6), gliozis (%2,1) oldukça düşük oranlarda saptamışlardır (12). Bizim çalışmamızda ise en sık saptanan anormal kraniyal MRG bulguları; sinüzit (%9,2), nonspesifik beyaz cevher lezyonu (%5,1), intrakraniyal kist (%5,7), hidrosefali/hidransefali (%2,6) ve intrakraniyal kitle (%2,5) idi. En az saptanan anormal kraniyal MRG bulguları; asimetric ventrikül (%0,3), boş sella (%0,3), kortikal atrofi (%0,3), corpus callosum disgenезisi (%0,3) idi. Aycan, 15 olguyu içeren kraniostozisli vaka serisinde erkek cinsiyetin (%75) daha baskın olduğunu saptamıştır (22). Bizim çalışmamızda da kafa şekil anomalisi en sık erkek cinsiyette izlendi.

2020 yılında başlayan Covid-19 pandemisi nedeniyle çocuk nöroloji ile çocuk sağlığı ve hastalıkları polikliniğine başvuran hasta sayısının sınırlı olması nedeniyle hasta dağılımının muhtemelen etkilenmiş olması, her gruba düşen anormal vaka sayısının azlığı nedeniyle alt gruplar arasında istatistiksel karşılaştırma yapılamaması, tüm MRG'lerin aynı merkezde çekilmiş olmasına rağmen değerlendirmenin farklı radyologlar tarafından yapılmış olması sonuçlar üzerine etki etmiş olabilir ve bu durumlar da çalışmamızın kısıtlılıklarını oluşturmaktadır.

## SONUÇ

Çalışmamız, pediatri pratiğinde kraniyal MRG istem endikasyonları ve sonuçlarını içeren bir

araştırma olması ve bu hastalarda tanısal profil oluşturması nedeni ile önem arz etmektedir.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

## Kaynaklar

1. Duyn JH. Study of brain anatomy with high-field MRI: recent progress. *Magn Reson Imaging* 2010; 28 (8): 1210-5.
2. Baker LC. Atlas SW, Afendulis CC. Expanded use of imaging technology and the challenge of measuring value. *Health Aff (Millwood)* 2008; 27 (6): 1467-78.
3. Gooden CK. Anesthesia for magnetic resonance imaging. *Curr Opin Anaesthesiol* 2004 Aug; 17 (4): 339-42.
4. Trost MJ, Robison N, Coffey D, et al. Changing trends in brain imaging technique for pediatric patients with ventriculoperitoneal shunts. *Pediatr Neurosurg* 2018; 53 (2): 116-20.
5. Lateef TM, Kriss R, Carpenter K, et al. Neurologic complaints in young children in the ED: when is cranial computed tomography helpful? *Am J Emerg Med* 2012 Oct; 30 (8): 1507-14.
6. Kammer B, Pfluger T, Schubert MI, et al. Magnetic resonance imaging of pediatric patients. In: Reimer P., Parizel P.M., Stichnoth FA. (eds) *Clinical MR Imaging*. 1999 Springer, Berlin, Heidelberg.
7. Ohana O, Soffer S, Zimlichman E, et al. Overuse of CT and MRI in paediatric emergency departments. *Br J Radiol* 2018 May; 91 (1085): 20170434.
8. Scheinfeld MH, Moon JY, Fagan MJ, et al. MRI usage in a pediatric emergency department: an analysis of usage and usage trends over 5 years. *Pediatr Radiol* 2017 Mar; 47 (3): 327-32.
9. Tütüncü Toker R, Bodur M, Özmen A, et al. Travma dışı nörolojik yakınma ile çocuk acil polikliniğine başvuran hastaların değerlendirilmesi. *Güncel Pediatri* 2020; 18 (3): 434-43.
10. Aydın H, Bucak İ. Yeni kurulan bir çocuk nöroloji polikliniğine başvuran ilk 1000 hastanın retrospektif değerlendirilmesi. *Balıkesir Medical Journal* 2021;5 (1): 54-9.
11. Barış M, Cantürk A, Karabay N. Acil servisten istenen beyin BT tetkiklerinin retrospektif analizi: klinik ön tanı ve sonuç karşılaştırması. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2020; 34 (2): 103-10.
12. Özkaya AK, Kamaşak T, Mutlu M, et al. Çocuk acilde travma dışı nedenlerle santral sinir sistemi görüntülemeleri. *F.Ü.Sağ.Bil.Tıp.Derg* 2019; 33 (2): 107 – 13.
13. Zwart JA, Dyb G, Holmen TL, et al. The prevalence of migraine and tension-type headaches among adolescents in Norway. The Nord-Trøndelag Health Study (Head-HUNT-Youth), a large population-based epidemiological study. *Cephalalgia* 2004 May; 24 (5): 373-9.
14. Okagaki JF. Practice parameter: The utility of neuroimaging in the evaluation of headache in patients with normal neurologic examinations, *Neurology*1994; 44 (7): 1353.
15. Gurkas E, Karalok ZS, Taskın BD, et al. Brain magnetic resonance imaging findings in children with headache. *Arch Argent Pediatr* 2017 Dec 1; 115 (6): 349-55.
16. Pavone P, Conti I, Le Pira A, et al. Primary headache: role of investigations in a cohort of young children and adolescents. *Pediatr Int* 2011 Dec; 53 (6): 964-7.
17. Yılmaz Ü, Çeleğen M, Yılmaz TS, et al. Childhood headaches and brain magnetic resonance imaging findings. *Eur J Paediatr Neurol* 2014 Mar; 18 (2): 163-70.
18. Martens D, Oster I, Gottschling S, et al. Cerebral MRI and EEG studies in the initial management of pediatric headaches. *Swiss Med Wkly* 2012 Jul 10; 142.
19. Alaei A, Abbaskhanian A, Azimi M, et al. Investigating Brain MRI findings in children with headache. *Iran J Child Neurol* 2018 Summer; 12 (3): 78-85.
20. Kalnin AJ, Fastenau PS, deGrauw TJ, et al. Magnetic resonance imaging findings in children with a first recognized seizure. *Pediatr Neurol* 2008 Dec; 39 (6): 404-14.
21. Minh Xuan N, Khanh Tuong T, Quang Huy H, et al. Magnetic resonance imaging findings and their association with electroencephalogram data in children with partial epilepsy. *Cureus* 2020; 12 (5): e7922.
22. Aycan A. Kraniyosinostozis: Ardışık 15 vakanın analizi ve tedavisi. *Van Tıp Dergisi* 2018; 25 (2): 150-4.

## Efficacy of metformin on protein profile in breast tumor cells by assessment in vitro and in silico analysis

*In vitro ve in silico analizi ile metforminin meme tümörü hücrelerinde protein profili üzerindeki etkinliği*

Güven Yenmiş<sup>1</sup> Nail Beşli<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Biruni University, Istanbul, Türkiye

<sup>2</sup> Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, University of Health Sciences, Istanbul, Türkiye

### ABSTRACT

**Aim:** This study aimed to uncover the varieties in protein profiles of Met in breast tumor (BT) cells by assessment of in vitro and in silico analysis.

**Materials and Methods:** Here, the cells obtained from mastectomy patients were cultured, the effective Met-dose was determined as 25 mM through cell viability and BrdU tests. Protein identification in the breast tumor cells was implemented by employing LC-MS/MS technology.

**Results:** The expression of SSR3, THAP3, FTH1, NEFM, ANP32A, ANP32B, KRT7 proteins was significantly decreased whereas the GARS protein increased in the 25 mM Met group compared to the Non-Met (0 mM) control group. In silico analysis, we analyzed the probable interactions of all these proteins with each other and other proteins, to evaluate the analysis of the larger protein network, and which metabolic pathway proteins are involved in.

**Conclusion:** The stated proteomics analysis in our study proposes a better understanding of the prognosis of breast cancer and future studies to investigate the effect of metformin in this field on proteomic pathways in other sorts of cancer.

**Keywords:** Breast tumor cell, mass spectrometry, metformin, network analysis, protein networks.

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmada, meme tümörü (BT) hücrelerinde Met'in protein profillerindeki çeşitlerin in vitro ve in silico analizleri değerlendirilerek ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Burada mastektomi hastalarından elde edilen hücreler kültürlendi, hücre canlılığı ve BrdU testleri ile etkin Met-doza 25 mM olarak belirlendi. Göğüs tümörü hücrelerinde protein tanımlaması, LC-MS/MS teknolojisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

**Bulgular:** Proteomik analiz sonuçlarına göre, Non-Met (0 mM) kontrol grubuna kıyasla 25 mM Met grubunda SSR3, THAP3, FTH1, NEFM, ANP32A, ANP32B, KRT7 proteinlerinin ekspresyonu önemli ölçüde azalırken GARS proteininin ekspresyonu arttı. Silico analizde tüm bu proteinlerin birbirleriyle ve diğer proteinlerle olası etkileşimlerini analiz ederek daha büyük protein ağının analizini ve hangi metabolik yolak proteinlerinin rol oynadığını değerlendirdik.

**Sonuç:** Çalışmamızda belirtilen proteomik analizler, meme kanserinin prognozunun daha iyi anlaşılmasını ve metforminin diğer kanser türlerinde proteomik yollar üzerindeki etkisini araştırmak için gelecekteki çalışmaları önermektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Meme tümör hücresi, kütle spektrometrisi, metformin, ağ analizi, protein ağları.

Corresponding author: Nail Beşli  
Department of Medical Biology, Faculty of Medicine,  
University of Health Sciences, Istanbul, Türkiye  
E-mail: [beslinail@gmail.com](mailto:beslinail@gmail.com)  
Application date: 02.09.2021

Accepted: 29.12.2021

## INTRODUCTION

Breast cancer is the most commonly diagnosed cancer following lung cancer with a rate of 11.6% among women and is categorized as the leading cause of cancer death globally with 2,088,849 new cases and 626,679 deaths in 185 countries (1). Despite having several therapy protocols, the patients are prone to greater risk of recurrence or secondary disease development during the progression of the disease due to the multifactorial nature of the disease, thus, an early diagnosis of the disease and avoidance of risk factors are the main strategies for preventing breast cancer (2). Hormonal therapy, mastectomy, and radiation, and chemotherapy are the most widely preferred therapy strategies to improve the survival of breast cancer patients (3).

Metformin (Met), one of the oral antidiabetics biguanides known to lower the risk of breast cancer, has an advantage in diabetic breast cancer patients if periodically used, compared to the MET-free diabetes treatments (4). Although several studies have underlined the association between diabetes and the increased risk of breast cancer, epidemiologic studies suggest that Met elevates the incidence of cancer-related survival in patients with type 2 diabetes. Libby et al. (5) in 2009 and Currie et al. (6) in 2012, two independent research groups, reported that the patients having both diabetes and cancer, had higher survival rates if treated with MET compared to other antidiabetic drugs.

The potential anti-cancer and anti-tumoral effects of Met on breast cancer have been discussed in several studies. Met has been reported to inhibit lipogenesis (7) and hyperinsulinemia, which have pivotal roles in the development of numerous types of cancer, including breast and prostate cancers (8). There is also some evidence suggesting that Met could induce apoptosis in many cancer cell lines, such as endometrial and triple-negative breast cancers (TNBC) (9).

To better understand the mechanisms of Met in molecular cancer studies, the effect of Met on breast cancer is examined under two headings: AMPK-independent and AMPK-dependent (10).

Met activates the p53 through the AMPK-dependent pathway, thus, prevents cell growth and induces apoptosis (11). Moreover, it co-activates p53 and BAX (Bcl-2-associated X) proteins, triggering apoptosis via the ERK signaling pathway in MCF-7 cells (12). In the other approach, namely the AMPK-independent

mechanism, Met suppresses inflammation by hindering several mediators including COX-2, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-17, NF- $\kappa$ B (10). IL-6 was reported to take part in the growth and invasion of breast cancer through STAT3 and JAK pathways (13). Interestingly enough, Met has been shown to inhibit the pro-inflammatory mediators such as IL-17 and IL-6, blocking the activation of NF- $\kappa$ B, thus reducing tumor development (14), and similarly, the inflammatory response associated with the suppression of NF- $\kappa$ B activation in breast cancer cells. Recently, we reported that Met reduces the expression of MMP-2 and MMP-9 by blocking-translocating NF- $\kappa$ B from the cytosol to the nucleus and showing the anti-proliferative effect in MCF-7 cancer cells (15), and Met induces cell cycle arrest in primary breast cancer cells through upregulation of P53 whereas downregulation of cyclin D1 in an AMPK-independent pathway (16).

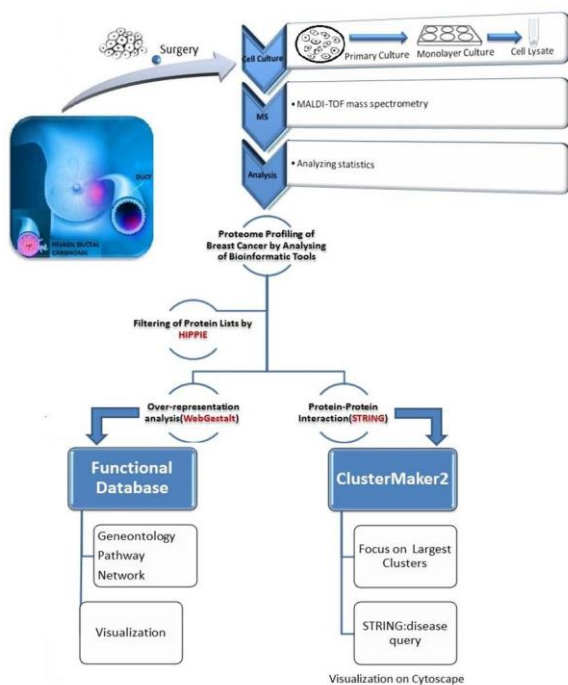
Exploring protein-protein interaction networks unveils and gives a solution to understand the molecular mechanisms and systems biology (17). The proteomics approaches based on mass spectrometry take a significant part in the visualization of these network studies through statistical quantification using bioinformatics tools, and elucidating drug pharmacokinetics, and identifying protein targets. The protein profile investigation is critical in revealing the function and interaction of proteins through the discovery of nascent proteins, drug development, and comparison with the previously identified information in databases to help recognize new target proteins.

In this paper, we explored the effect of Met on protein expression profiles in breast tumor cells using LC-MS/MS technology and provided the outcomes visually understandable by using the current proteomic databases and algorithms as shown workflow in Figure-1. Our results have offered a proteomic variability of Met, which also demonstrates therapeutic mechanisms and target proteins when applied to breast tumor cells and normal breast cells.

## MATERIALS and METHODS

### Experimental Medication and Dose Measurements

Metformin (1,1-Dimethylbiguanide hydrochloride) Molecular weight: 165.62 g/mol, H10000691. 100 mM metformin was prepared using 50 mL DMEM/F-12. The stock solution was stored at 4°C. Experimental doses (5, 10, 25 mM) were diluted from the prepared stock solution and measured in 24-well plates.



**Figure-1.** The study was composed of two main parts as in vitro and in silico analysis.

### Primer culture conditions

We acquired breast cancer cells from five human donors (aged 45–55) that underwent biopsies of breast tumors in the the Department of General Surgery of Cerrahpasa Faculty of medicine in Istanbul University. The acceptance criteria were being in the post-menopausal period and having breast cancer with estrogen and progesterone positivity but HER2 negativity. The patients with coexisting other cancers, any chronic diseases, or having any of the BRCA1 and BRCA2 gene mutations were discarded from the study. The protocol was approved by the Ethics Committee of Clinical Research Center of Cerrahpasa Faculty of medicine in Istanbul University, No:83045809- 604.01.02-257, 133). All of the experimental procedures were performed according to the Declaration of Helsinki. Informed consent was taken from all individual participants included in the study.

Breast tissues were cut in small slices, placed in cell culture flasks pre-coated with fetal calf serum, and incubated for 2 weeks in DMEM/F12 medium (Wisent Bioproducts, Quebec, Canada) supplemented with 10% fetal bovine serum (Wisent Bioproducts, Quebec, Canada), 100 U/mL penicillin (Wisent Bioproducts, Quebec, Canada), and 100 µg/mL streptomycin (Wisent Bioproducts, Quebec, Canada) at 37°C in 95% humidified air with 5% CO<sub>2</sub>. As the formation of

monolayers of primary cancer was observed in flasks, cells were subcultured every 7th-day using trypsin. The number of cells from the 3th-8th passages was calculated as 300 000 cells/ml.

### Determining the effective dose by cell viability and proliferation test

#### Proteomics Analysis

#### Sample preparation and protein extraction and for LC-MS/MS analysis

Cells planted for the protein analysis study were incubated for 24 h at 37°C by adding two doses of Met (0 mM and 25 mM). The dose optimization of Met was determined in our previous reports (16,18). At the end of 24 h, the medium on the cells was discarded, the cells were washed twice with PBS, trypsinized, re-washed 2 times with cold PBS, and the cell pellets were eventually transferred to + 4°C to be used within the study. For protein extraction, the cell pellet was mixed with the Universal Protein Extraction (UPX) Kit (Expedeon-44101) and the protease inhibitor cocktail (Thermo Sci.-87785). The samples were sonicated for 5x10 sec cycles and a 30-sec pause between these cycles. After sonication, the samples were kept on ice and cooled, and then boiled at 95 °C for 10 min through stirring at 1000 rpm. The samples were then centrifuged at 14,000 rpm for 10 min. The supernatants were discarded and the pellets were transferred to the new tubes. Peptide recovery was performed using FASP Protein Digestion Kit (Expedeon-44250) and the trypsin enzyme (Pierce-90057). Samples were then diluted with 0.1% formic acid so that the final concentration was 200 ng / µL. The samples were in turn transferred to the device-specific tubes.

#### LC-MS/MS analysis and data processing

Before the analysis, detector and calibration settings were conducted through the MassLynx program (V4.1-Waters), which is specific to the Xevo G2-XS Q-TOF (Waters) device on which the analysis was performed. The method was switched to SONAR and sensitivity mode and the tryptic peptides formed were fractionated with acetonitrile gradient on the HSS T3 column (Waters-186008818) according to their hydrophobicity. By increasing acetonitrile in the range of 5%-35%, the peptides were separated from the column and the result of electrospray ionization was analyzed in mass spectrometry. During the analysis, data were collected for peptides that could be identified in the m/z 50–1950. The amino acid sequence was gathered by implementing the MS and MS/MS functions over

0.7s periods. 100 fmol/ul Glu-1-fibrinopeptide B was operated as the lock mass calibrate.

### Statistical analysis

Human protein sequence information in the UniProt protein database was used for protein identification. Statistical analysis was performed using Progenesis QI-P software (Waters-2018). The relative expressional rate of proteins was filtered by ANOVA p-value  $\leq 0.05$  and protein expression variation with statistical significance was evaluated as minimum fold change  $>2$  in t-test statistical analysis. Glu-1-fibrinopeptide B peptide with m/z 785.8426 was set as a celebrant and normalization of the samples were conducted based on the total ion intensity. The power scores, which are calculated using Progenesis QI-P internal parameters, above 0.5 (50%) were admitted as a filter for multiple comparisons. For identified 8 proteins, please (see Table-1).

### Bioinformatics Analysis

#### Databases and Preprocessing steps

A list of proteins was generated from the Uniprot database (19) following the statistical evaluation of mass spectrometry results (Table-2). These proteins were subjected to Human Integrated Protein-Protein Interaction rEference (HIPPIE) to enrich and detect a potential protein network. The interaction type of Association, Physical, and Direct, and Colocalization, tissue as Breast - Mammary Tissue are filtered, and confidence level was set up to medium (0.63). HIPPIE (20) is a very useful tool as it combines many experimentally approved databases including BIOGRID (21), MINT (22), and IntAct (23) databases.

#### Over-representation Analysis

We subjected the official gene names of the protein list from the HIPPIE into the WebGestalt (24) (WEB-based Gene Set Analysis Toolkit). As

well known, the WebGestalt server is a common tool for the functional enrichment analysis of gene lists. We implemented an approach through geneontology and pathway analysis methods such as KEGG (25), Wikipathway (26), and Panther (27) which is namely the Over Representation Analysis (ORA) (28) to analyze the gene list in the WebGestalt. Illumina humanwg 6 v3 was selected as the Reference set, and all other advanced parameters were left at their default. Besides, GeneMANIA (29) was used to expand the gene list with functionally similar genes of the proteomics data.

#### String Database and Visualization on Cytoscape

We used the StringApp program (30), one of the most prominent data sources of networks being a Cytoscape application for both visualization and the analysis of protein networks on Cytoscape (31). Then, another Cytoscape application-the clusterMaker2 (32), that implements numerous clustering algorithms were used (clusterMaker2 version 1.3.1) to implement Markov clustering (MCL) (33), thus, to evaluate the protein network and determine the largest cluster. To run MCL on Cytoscape, the inflation value was set to 2.3, the array sources were adjusted to use the STRING confidence score, and MCL advance settings were left at their default. The *STRING: Disease query* tool was run to compare our result of protein network and output protein network of invasive ductal carcinoma. The *STRING Disease query* was set to the maximum of 240 proteins and a cut-off value of 0.50. Similarly, the confidence (score) cut-off value and maximum additional interactions were set to 0.50 and 0, respectively.

**Table-1.** Significantly changed protein description list.

Accession	Unique peptides	Anova (p)	Max fold change	Description
P41250	2	0.02256881	5.675406671	(GARS) Glycine tRNA ligase
Q9UNL2	1	0.03119226	15.91006341	(SSRG) Translocon-associated protein subunit gamma
Q8WTV1	1	0.03321887	9.442900878	(THAP3) THAP domain-containing protein 3
P02794	1	0.03579029	5.501142287	(FRIH) Ferritin heavy chain
P07197	4	0.04782681	41.2040797	(NFM )Neurofilament medium polypeptide
P39687;Q92688	3	0.04916017	15.86841797	(AN32A) Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member A
P08729	10	0.04952918	6.640075817	(K2C7) Keratin type II cytoskeletal 7



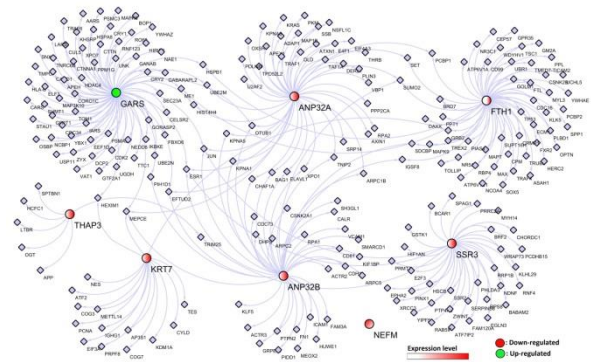
**Table-2.** The list of the proteins retrieved information from the Uniprot database.

Swiss-Prot Accession Number	Official gene names	Function	Sub-cellular localization	Pathology	Post-translational modification	Structure
P41250	GARS	Catalyzes the ATP-dependent ligation of glycine to the 3'-end of its like tRNA through the creation of a Gly-AMP	Cytoplasm, axon	Neurodegeneration, Neuropathy, Charcot-Marie-Tooth	Acetylation, Phosphorylation	X-ray, PDB:2PME
Q9UNL2	SSR3	Regulation of the retention of ER-localized proteins by binding Calcium to the ER membrane	Endoplasmic reticulum membrane	Mutations involved in many sorts of cancer	Phosphorylation, Acetylation	None
Q8WTV1	THAP3	To regulate the transcriptional activity of RRM is needs to be a part of a THAP1/THAP3-HCFC1-OGT complex.	Nuclear chromatin	Mutations associated with many types of cancer	Phosphorylation	The experimental structure is unavailable
P02794	FTH1	Possesses ferroxidase activity, takes a part in the delivery of iron to cells as well, and is essential for iron homeostasis.	Cytosol, Lysosome, Nucleus	Hemochromatosis type 5, and mutations in many cancer types	Acetylation	X-ray, PDB:1FHA
P07197	NEFM	It is a neurofilament containing three intermediate filament proteins.	Cytoskeleton	Mutations associated with many types of cancer	Acetylation, Methylation	The experimental structure is unavailable
P39687	ANP32A	Involved in several cellular processions, repression of transformation, inhibition of phosphatase 2A, regulation of mRNA and takes a part in the suppression of E4F1-mediated transcriptional.	Cytoplasm, Endoplasmic reticulum, Nucleus	Mutations associated with many sorts of cancer	Phosphorylation	X-ray, PDB:2JE0
Q92688	ANP32B	Working as a cell cycle factor in G1 to S phase and cell survival factor, a caspase-3 inhibitor as anti-apoptotic protein.	Nucleus	Mutations linked to many sorts of cancer	Acetylation	NMR, PDB:2ELL
P08729	KRT7	Involved in blocking interferon-linked interphase and stimulating DNA synthesis.	Cytoplasm, Nucleus	Mutations linked to many types of cancer	Dimethylation, Acetylation	X-ray, PDB:4XIF

## RESULTS

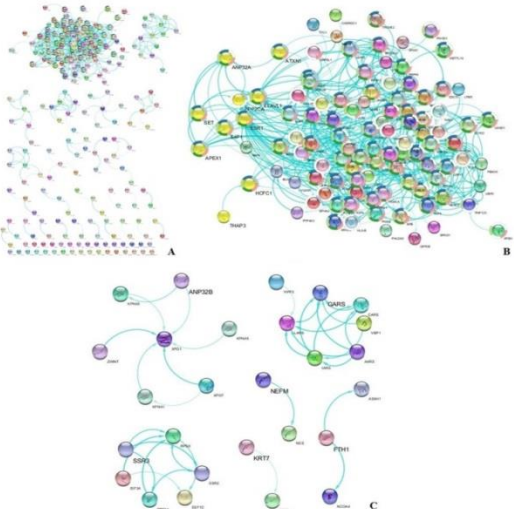
Our approaches in bioinformatics analysis are briefly presented in Figure-1. We expanded the protein list through statistically significant MS protein results, and 241 nodes and 270 edges with experimentally validated for functional enrichment analysis using the HIPPIE bioinformatics tool. Figure-2 represents the interaction through the source to the target protein. According to Figure-2, ANP32A, FTH1, THAP3, KRT7, ANP32B, NEFM, and SSR3 proteins were upregulated whereas GARS protein was downregulated under 25 mM Met-dose compared to Met-free breast tumor cells (see Figure-2).

We used MCL clustering to make the protein network easier to understand. In the largest cluster, String Functional analysis was acquired by Markov clustering. After performing clustering, we solely focused on determining whether there is interaction with the largest and small clusters of our downregulated proteins and GARS in Figure-3.

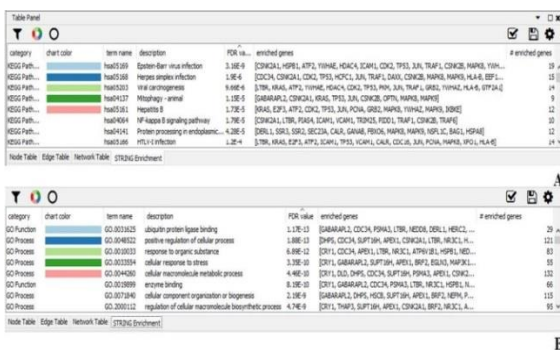


**Figure-2.** Enriched protein profiles in breast tumor cells with 25mM Met-dose compared to Met-free breast tumor cells. Only GARS protein (green node) was observed to be up-regulated, whereas the other red nodes show the down-regulated proteins ( $p < 0.05$ ).

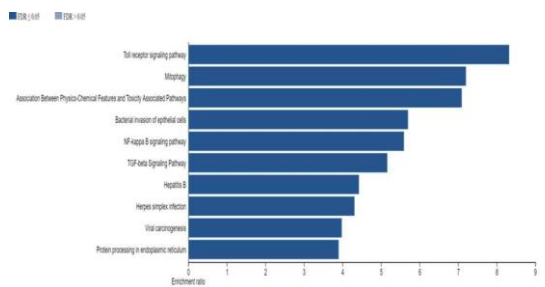
Among the down-regulated proteins, ANP32A and THAP3 are in the largest cluster, while other proteins are in small clusters and indicated in larger font sizes (see Figure-3).



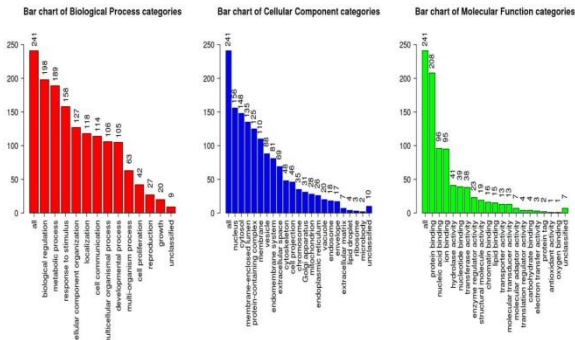
**Figure-3.** A. The visualization of the protein network related to breast cancer cells using Markov (MCL) in Cytoscape. B. The largest Cluster in the Network. C. The small clusters in the Network after performing the MCL. The names of proteins from the MS output are represented in larger font sizes (GARS, SSR3, THAP3, FTH1, NEFM, ANP32A, ANP32B, KRT7).



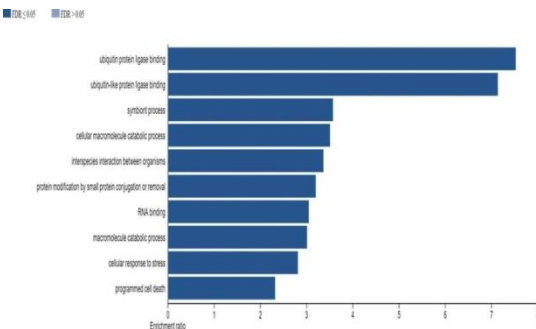
**Figure-4.** Functional enrichment analysis of the small and largest clusters acquired by using MCL clustering. A. KEGG pathway, B. Gene Ontology (GO Function, GO Process). FDR values are ranked significantly. The results were filtered by a redundancy cut-off value of 0.05 in the STRING enrichment table.



**Figure-5.** The WebGestalt result of GARS protein and the down-regulated proteins and their relationships with the pathways (KEGG, Wikipathway, Panther) in breast tumor cell at 25 mM Met-dose (FDR≤0.05).



**Figure-6.** Each Biological Process, Cellular Component, and Molecular Function category is represented by a red, blue, and green bar, respectively. The height of the bar represents the number of IDs in the user list and the category.

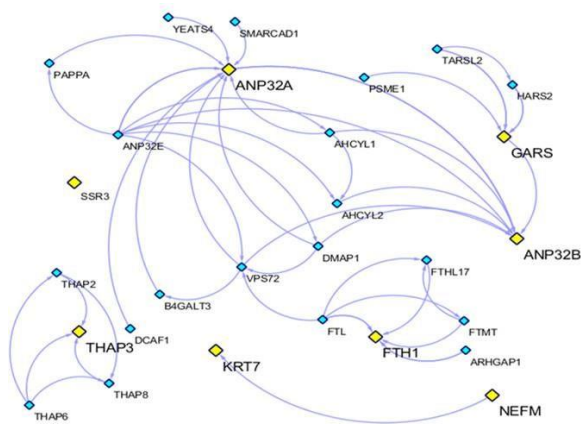


**Figure-7.** The WebGestalt result of GARS protein and the down-regulated proteins and their relationships with the Geneontology (Biological process and Molecular Function) in breast tumor cell at 25 mM Met-dose (FDR≤0.05).

We detected that functional enrichment analysis of Geneontology and Pathway from STRING and WebGestalt are the same description in the string enrichment table in Figure-4 and bar graphs in Figure-5 and Figure-7. Furthermore, we retrieved 100 proteins in the network associated with invasive ductal carcinoma by importing them from the STRING: disease database. Then, we identified both networks of enrichment protein in string query (240 nodes) and the disease network (240 nodes) in STRING by using the Merge Networks tool in Cytoscape. As a result of the network (not shown here), 6 proteins (ESR1, KRT7, TP53, JUN, KRAS, MAPK8) were found to be associated with the Disease network. As a last one, we summarized bar graphs in Figure-6 from our results as Geneontology categories in WebGestalt.

ESR1 and JUN have four edges (interaction) by GARS, ANP32B, ANP32A, and SSR3 proteins, whereas KRT7 has three edges by CYLD, ATF2, KDM1A; and THAP protein has three edges by APP, OGT, and LTBR. All of these proteins (ESR1, JUN, KRT7, CYLD, ATF2, KDM1A, APP, OGT, LTBR) are known to have roles in programmed cell death (see Figure-7). Besides, a total of 62 nodes from the network is related to programmed cell death (p-value: 1.1314e-10 in Figure-7). TRIM25 has two edges by SSR3 and THAP domain-containing 3 (THAP3), and is related to NF-kappa B signaling pathway. 10 nodes are involved in NF-kappa B signaling pathway (p-value: 0.000010805 in Figure-5). No interaction of NEFM was determined in the enriched proteomic profile of the Breast tumor cells although in vitro analysis NEFM was observed to be down-regulated in Met treated breast cancer group. Moreover, it takes part in Association Between Physico-Chemical Features and Toxicity Associated Pathways via Wikipathway database by nodes of ACTR2, ACTR3, AXIN1, FN1, GRB2, JUN, MAPK, PPP2CA in Figure-5 (p-value: 0.0000041950).

In the pathway analysis, we found mitophagy-associated proteins such as CSNK2A1, CSNK2B, GABARAPL2, JUNE, MAPK8, MAPK9, OPTN, TP53, and KRAS (GTPase KRas) nodes through KEGG (Figure-5) (p-value: 0.000003). According to the in vitro outcomes, down-regulated FTH1, and upregulated protein GARS had the most interactor nodes with these mitophagy-associated proteins. As summarized in Table-2, ANP32A is involved in several processes in the cell in addition to interacting physically with KRAS.



**Figure-8.** The functional enrichment (physical interaction, co-expression, shared protein domains) analysis in GeneMANIA. Yellow nodes in the network are the gene lists.

Moreover, as shown in Figure-8, the interaction of NEFM and KRT7 shared protein domains from PFAM. Figure 8 represents the expanded gene list with functionally similar genes of the proteomics data obtained using GeneMANIA (29). GARS and ANP32B proteins and KRT7 and NEFM proteins have direct interactions with each other. Similarly, ANP32A and ANP32B have not only a direct interaction but also shared protein domains. While SSR3 has no interactions or shared domains with these proteins, THAP3 is shown to have interactions with THAP family proteins but no other type of proteins (Figure-8).

## DISCUSSION

The widespread use of metformin worldwide and its efficiency on individuals need to be extensively figured out. Met has been accepted to have a relative safety profile compared to other antidiabetic drugs (6). Met possesses its cell growth inhibition ability through triggering apoptosis in cancer cells such as glioma and triple-negative breast cancer cells (34, 35). However, the full mechanism by which Met is beneficial to cancer treatment is not thoroughly understood yet. In this study, we employed primary breast cancer cell culture and protein extracts for proteomics processes to elucidate previously unreleased results behind metformin's beneficial effect on invasive ductal carcinoma treatment and protein-targeted studies in future studies.

Protein network theory is a pivotal method of choice to figure out the protein interaction and function, subcellular components in the cell to analyze the proteomics data. THAP3 is a subunit of a THAP1/THAP3-HCFC1-OGT complex that regulates the transcriptional activity of RRM1 which was approved to be a drug target in human protein atlas by the FDA (36).

Concerning the in vitro results, FTH1 and GARS proteins have the most interactor nodes with mitophagy-associated proteins. Mitophagy is specific autophagy, targeted for the degradation of mitochondria (37). Surprisingly, it is thought to play two roles in carcinogenesis depending on the tumor type and stage (38). In general, mitophagy targets to remove malfunctioning mitochondria to cope with oxidative stress and block carcinogenesis. Nevertheless, it can preserve cells from cell death and support the survival of tumor cells under unfavorable conditions such as insufficient nutrients or hypoxia (38). That is, as the level of mitophagy in

a cancer cell increases, the ROS ratio decreases and it becomes resistant to treatment with healthy mitochondria. During anti-cancer treatment, therefore, the decrease in the level of mitophagy makes it more sensitive to the treatment in the cancer cell. Thus, mitophagy appears to be a featured quality control factor in target-based prevention of cancer (39).

Down-regulated ANP32A protein, for example, is known to be part of various processes including physical interaction with the KRAS gene. KRAS considering the main target in anticancer drug discovery (40), takes a significant part in the regulation of cell proliferation and oncogenic events (41).

NEFM (Neurofilament medium polypeptide) is mostly a cytoplasmic protein expressed in CNS and peripheral nerves. Interestingly enough, although NEFM is known to be expressed in brain cells, it has the most value in fold change compared to the control (Met-free) group in our statistical conclusion. Tyanova et al. similarly reported high NEFM expression levels in Breast cancer proteomic data in Expression Atlas (42).

We need to determine the interactions of expressed proteins with each other to understand cellular function, thus, the system biology. The STRING database integrates known and predicted protein-protein interactions physically and functionally, collecting proteomics data from the public and visualizing them by scoring. STRING utilizes famous categorizing systems including Gene Ontology and KEGG for enrichment analysis (43).

## CONCLUSION

The molecular characterization of breast cancer has become revolutionary for therapeutic approaches. The fact that breast cancer has a multifactorial feature requires RNA and DNA analysis with its microarray and sequencing

techniques almost constantly in molecular size. The obvious advances in proteomic technologies have made substantial progress compared to the past and have now increased the profiling of clinical specimens and their accuracy in identification and quantification. Molecular characterization, such as proteomic profiling, will be of great importance for breast cancer person-oriented treatment, as it is target-oriented in developing existing therapy options. Although the mRNA profile is predominant in this characterization, analysis of high-tech proteome MS data provides a versatile approach to the protein profile of the disease, the classification of subtypes, application of protein-targeted therapies under system biology, and the effective treatment of the findings.

Here, we analyzed the change of metformin, which is relatively safe and effective compared to chemotropic agents, economically appropriate, to the protein profile in breast tumor cells. Our analysis supports the fact that metformin possesses anti-cancer features with changes in proteomic pathways on breast cancer. With the study findings we designed, metformin may contribute to its potential therapeutic effect in breast cancer treatment. However, metformin as a cancer-targeted agent and its mechanism of action in proteomic pathways requires further supportive investigations to be fully understood.

**Conflict of interest:** The authors declare that no conflict of interest.

## Funding Information

This study was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey-TUBITAK [Project No. 317S085] and Scientific Research Projects of Istanbul University [Project Number: 24066].

## Reference

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018; 68 (6): 394–424.
2. Lynch SM, Stricker CT, Brown JC, Berardi JM, Vaughn D, Domchek S, et al. Evaluation of a web-based weight loss intervention in overweight cancer survivors aged 50 years and younger. *Obes Sci Pract.* 2017; 3 (1): 83–94.
3. Lukong KE. Understanding breast cancer--The long and winding road. *BBA Clin.* 2017; 7: 64–77.
4. Bodmer M, Meier C, Krähenbühl S, Jick SS, Meier CR. Long-term metformin use is associated with decreased risk of breast cancer. *Diabetes Care.* 2010; 33 (6): 1304–8.

5. Libby G, Donnelly LA, Donnan PT, Alessi DR, Morris AD, Evans JMM. New users of metformin are at low risk of incident cancer: a cohort study among people with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2009; 32 (9): 1620–5.
6. Currie CJ, Poole CD, Jenkins-Jones S, Gale EAM, Johnson JA, Morgan CL. Mortality after incident cancer in people with and without type 2 diabetes: impact of metformin on survival. *Diabetes Care*. 2012; 35 (2): 299–304.
7. Bhalla K, Hwang BJ, Dewi RE, Twaddel W, Goloubeva OG, Wong K-K, et al. Metformin prevents liver tumorigenesis by inhibiting pathways driving hepatic lipogenesis. *Cancer Prev Res*. 2012; 5 (4): 544–52.
8. Pollak MN. Investigating metformin for cancer prevention and treatment: the end of the beginning. *Cancer Discov*. 2012;2(9):778–90.
9. Liu B, Fan Z, Edgerton SM, Deng XS, Alimova IN, Lind SE. Cell cycle (Georgetown, Tex.). *Cell Cycle*. 2009; 8 (13): 2031–40.
10. Faria J, Negalha G, Azevedo A, Martel F. Metformin and breast cancer: molecular targets. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2019; 1–13.
11. Thoreen CC, Sabatini DM. AMPK and p53 help cells through lean times. *Cell Metab*. 2005; 1 (5): 287–8.
12. Malki A, Youssef A. Antidiabetic drug metformin induces apoptosis in human MCF breast cancer via targeting ERK signaling. *Oncol Res Featur Preclin Clin Cancer Ther*. 2011; 19 (6): 275–85.
13. Deng X-S, Wang S, Deng A, Liu B, Edgerton SM, Lind SE, et al. Metformin targets Stat3 to inhibit cell growth and induce apoptosis in triple-negative breast cancers. *Cell cycle*. 2012; 11 (2): 367–76.
14. Najafi M, Cheki M, Rezapoor S, Geraily G, Motevaseli E, Carnovale C, et al. Metformin: Prevention of genomic instability and cancer: A review. *Mutat Res Toxicol Environ Mutagen*. 2018; 827: 1–8.
15. Besli N, Yenmis G, Tunçdemir M, Sarac EY, Dolugan S, Solakoluğlu S, et al. Metformin suppresses the proliferation and invasion through NF-κB and MMPs in MCF-7 cell line. *Turkish J Biochem*.
16. Yenmiş G, Beçsli N, Sarac EY, Emre FSH, İcSENOL K, KANIGÜR G. Metformin promotes apoptosis in primary breast cancer cells by downregulation of cyclin D1 and upregulation of P53 through an AMPK-alpha independent mechanism. *Turkish J Med Sci*. 2021; 51 (2): 826–34.
17. Yu H, Braun P, Yıldırım MA, Lemmens I, Venkatesan K, Sahalie J, et al. High-quality binary protein interaction map of the yeast interactome network. *Science* (80-). 2008; 322 (5898): 104–10.
18. Yenmis G, Sarac EY, Besli N, Soydas T, Tastan C, Kancagi DD, et al. Anti-cancer effect of metformin on the metastasis and invasion of primary breast cancer cells through mediating NF-κB activity. *Acta Histochem*. 2021; 123 (4): 151709.
19. Consortium TU. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge. *Nucleic Acids Res*. 2018; 47 (D1): D506–15.
20. Schaefer MH, Fontaine J-F, Vinayagam A, Porras P, Wanker EE, Andrade-Navarro MA. HIPPIE: Integrating protein interaction networks with experiment based quality scores. *PLoS One*. 2012; 7 (2): e31826.
21. Chatr-Aryamontri A, Breitkreutz B-J, Heinicke S, Boucher L, Winter A, Stark C, et al. The BioGRID interaction database: 2013 update. *Nucleic Acids Res*. 2012; 41 (D1): D816--D823.
22. Licata L, Briganti L, Peluso D, Perfetto L, Iannuccelli M, Galeota E, et al. MINT, the molecular interaction database: 2012 update. *Nucleic Acids Res*. 2011; 40 (D1): D857--D861.
23. Kerrien S, Aranda B, Breuza L, Bridge A, Broackes-Carter F, Chen C, et al. The IntAct molecular interaction database in 2012. *Nucleic Acids Res*. 2011; 40 (D1): D841--D846.
24. Liao Y, Wang J, Jaehnig EJ, Shi Z, Zhang B. WebGestalt 2019: gene set analysis toolkit with revamped UIs and APIs. *Nucleic acids research*. 2019; 47 (W1): W199-205.
25. Kanehisa M, Sato Y, Furumichi M, Morishima K, Tanabe M. New approach for understanding genome variations in KEGG. *Nucleic Acids Res*. 2019; 47 (D1): D590--D595.
26. Slenter DN, Kutmon M, Hanspers K, Riutta A, Windsor J, Nunes N, et al. WikiPathways: a multifaceted pathway database bridging metabolomics to other omics research. *Nucleic Acids Res*. 2018; 46 (D1): D661--D667.
27. Mi H, Dong Q, Muruganujan A, Gaudet P, Lewis S, Thomas PD. PANTHER version 7: improved phylogenetic trees, orthologs and collaboration with the Gene Ontology Consortium. *Nucleic Acids Res*. 2010; 38 (suppl\_1): D204--D210.
28. Khatri P, Sirota M, Butte AJ. Ten years of pathway analysis: current approaches and outstanding challenges. *PLoS Comput Biol*. 2012; 8 (2): e1002375.



29. Warde-Farley D, Donaldson SL, Comes O, Zuberi K, Badrawi R, Chao P, et al. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. *Nucleic Acids Res.* 2010; 38 (suppl\_2): W214–20.
30. Szklarczyk D, Morris JH, Cook H, Kuhn M, Wyder S, Simonovic M, et al. The STRING database in 2017: quality-controlled protein–protein association networks, made broadly accessible. *Nucleic Acids Res.* 2016; gkw937.
31. Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.* 2003; 13 (11): 2498–504.
32. Morris JH, Apeltsin L, Newman AM, Baumbach J, Wittkop T, Su G, et al. clusterMaker: a multi-algorithm clustering plugin for Cytoscape. *BMC Bioinformatics.* 2011; 12 (1): 436.
33. Enright AJ, Van Dongen S, Ouzounis CA. An efficient algorithm for large-scale detection of protein families. *Nucleic Acids Res.* 2002; 30 (7): 1575–84.
34. Isakovic A, Harhaji L, Stevanovic D, Markovic Z, Sumarac-Dumanovic M, Starcevic V, et al. Dual antiglioma action of metformin: cell cycle arrest and mitochondria-dependent apoptosis. *Cell Mol life Sci.* 2007; 64 (10): 1290.
35. Liu B, Fan Z, Edgerton SM, Deng X-S, Alimova IN, Lind SE, et al. Metformin induces unique biological and molecular responses in triple negative breast cancer cells. *Cell cycle.* 2009; 8 (13): 2031–40.
36. Uhlén M, Fagerberg L, Hallström BM, Lindskog C, Oksvold P, Mardinoglu A, et al. Tissue-based map of the human proteome. *Science (80-).* 2015; 347 (6220): 1260419.
37. Dorn GW, Kitsis RN. The mitochondrial dynamism-mitophagy-cell death interactome: multiple roles performed by members of a mitochondrial molecular ensemble. *Circ Res.* 2015; 116 (1): 167–82.
38. Cazzaniga M, Bonanni B. Relationship between metabolic reprogramming and mitochondrial activity in cancer cells. Understanding the anticancer effect of metformin and its clinical implications. *Anticancer Res.* 2015; 35 (11): 5789–96.
39. Vara-Perez M, Felipe-Abrio B, Agostinis P. Mitophagy in Cancer: A Tale of Adaptation. *Cells.* 2019; 8 (5): 493.
40. Zimmermann G, Papke B, Ismail S, Vartak N, Chandra A, Hoffmann M, et al. Small molecule inhibition of the KRAS–PDE $\delta$  interaction impairs oncogenic KRAS signalling. *Nature.* 2013; 497 (7451): 638–42.
41. Boyle KA, Van Wickle J, Hill RB, Marchese A, Kalyanaraman B, Dwinell MB. Mitochondria-targeted drugs stimulate mitophagy and abrogate colon cancer cell proliferation. *J Biol Chem.* 2018; 293 (38): 14891–904.
42. Tyanova S, Albrechtsen R, Kronqvist P, Cox J, Mann M, Geiger T. Proteomic maps of breast cancer subtypes. *Nat Commun.* 2016; 7 (1): 1–11.
43. Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D, Junge A, Wyder S, Huerta-Cepas J, et al. STRING v11: protein–protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res.* 2018; 47 (D1): D607–13.

## Pediatric sudden sensorineural hearing loss: etiology, prognostic factors and treatment

### *Çocuklarda ani sensörinöral işitme kaybı: etiyoloji, prognostik faktörler ve tedavi sonuçları*

Abdulhalim Aysel<sup>1</sup> Abdullah Dalğıç<sup>1</sup> Togay Müderris<sup>2</sup> Fatih Yılmaz<sup>1</sup>  
Görkem Atsal<sup>3</sup> Hayal Boyacıoğlu<sup>4</sup> Özgür Özdemir Şimşek<sup>5</sup> Enver Altaş<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Health Sciences University İzmir Bozyaka Health Research and Practice Center, The Clinic of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup> Department of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery, Bakırçay University, Çiđli Training and Research Hospital, İzmir, Türkiye

<sup>3</sup> Department of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery, Siirt State Hospital, Siirt, Türkiye

<sup>4</sup> Ege University Faculty of Science, Department of Statistics, İzmir, Türkiye

<sup>5</sup> Health Sciences University İzmir Tepecik Education and Research Hospital Konak, İzmir, Türkiye

<sup>6</sup> Private Clinic, İzmir, Türkiye

## ABSTRACT

**Aim:** Sudden sensorineural hearing loss (SSNHL) may have a negative impact on the language and psychological development of children, especially if it is not diagnosed early and treated promptly. This study were aimed to determine and compare the etiological factors, treatment outcomes and prognostic factors in the pediatric patients who were followed up with the diagnosis of SSNHL.

**Materials and Methods:** The files of 28 children were analyzed retrospectively. In pure tone audiometry, the average of pure tone thresholds of 500 Hz, 1000 Hz, 2000 Hz and 4000 Hz were accepted as pure tone averages (PTAV). Patients' recovery status was determined according to Siegel criteria. Audiometric curve types were evaluated as ascending, descending, and flat.

**Results:** The ages of patients with SSNHL was mean  $\pm$  SD 14.89  $\pm$  3.24 (min-max: 7 and 18). The pre-treatment PTAV was mean  $\pm$  SD 55.27  $\pm$  12.39 dB HL (min-max: 38.5 and 85.25 dB HL) and the PTAV after treatment was mean  $\pm$  SD 23.13  $\pm$  18.22 dB HL (min-max: 5 and 72.5 dB HL). Audiometric curve types were detected as descending curve (n: 11, 39.2%), ascending curve (n: 5, 17.9%), flat curve (n: 12, 44.9%). Eighteen (64.3%) patients had complete recovery, 8 (28.6%) patients had partial recovery, and 2 (7.1%) patients had no recovery after the treatment.

**Conclusion:** The response to treatment was found to be high. Descending audiometric curve type was found as a positive prognostic factor. Although the presence of tinnitus was a better prognostic factor than the presence of vertigo.

**Keywords:** Hearing loss, sudden hearing loss, prognosis, child, adolescent.

## ÖZ

**Amaç:** Geç teşhis edilen ve tedavi ile düzelmeyen ani sensörinöral işitme kaybı (ASNİK) çocukların dil ve psikolojik gelişimi üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olabilir, bu nedenle tanı konur konulmaz tedaviye başlanmalıdır. Bu çalışmanın amacı ASNİK ile takip ve tedavi edilen çocuk hastalarda etiyoloji, prognostik faktörlerin belirlenmesi ve tedavi sonuçlarının karşılaştırılmasıdır.

Corresponding author: Abdulhalim Aysel  
Health Sciences University İzmir Bozyaka Health Research  
and Practice Center, The Clinic of Otorhinolaryngology, Head  
and Neck Surgery, İzmir, Türkiye  
E-mail: ahalimaysel@gmail.com  
Application date: 15.09.2021 Accepted: 18.12.2021

**Gereç ve Yöntem:** ASNİK tanısı ile tedavi ve takip edilen 28 hasta çocuğun dosyaları retrospektif olarak incelendi. Pür ton odyometrisinde (PTO), 500 Hz, 1000 Hz, 2000 Hz ve 4000 Hz saf ton eşiklerinin ortalaması saf ses ortalaması (SSO) olarak kabul edildi. Hastaların iyileşme durumları Siegel kriterlerine göre belirlendi. Odyometrik eğri türleri artan, azalan ve düz tip olarak gruplara ayrıldı.

**Bulgular:** ASNİK'li hastaların yaşları 7 ile 18 arasında değişmekteydi (ortalama 14,89 ± 3,24). Tedavi öncesi SSO 55,27 ± 12,39 dB (min-maks: 38,5 ila 85,25 dB), tedavi sonrası SSO 23,13 ± 18,22 dB (min-maks: 5 ila 72,5 dB) idi. Odyometrik eğri türleri: azalan grup (n: 11, %39,2), yükselen grup (n: 5, %17,9), düz grup (n: 12, %44,9) şeklinde idi. Tedavi sonrası 18 (%64,3) hastada tam iyileşme, 8 (%28,6) hastada kısmi iyileşme saptanırken 2 (%7,1) hastada iyileşme olmadı.

**Sonuç:** Çalışmamızda sistemik steroid ile tedaviye yanıt oranı yüksek saptandı. Kulak çınlaması varlığı ve tedavi öncesi inen tip odyometrik eğri iyi prognoz faktörleri olarak saptandı.

**Anahtar Sözcükler:** İşitme kaybı, ani işitme kaybı, prognoz, çocuk, adolesan.

## INTRODUCTION

Sudden sensorineural hearing loss (SSNHL) is defined as a sensorineural hearing loss of 30 dB or greater over at least three consecutive frequencies occurring within three days and is accepted as an otorhinolaryngological emergency (1). The incidence of SSNHL is reported to be 5-20/100,000, but the actual incidence rate may be higher as patients do not apply to the hospital because of the high rate of spontaneous recovery (1). Although it can be seen in all age groups, it is rare in childhood and the elderly (1-3). Alexander and Harris (4) reported the incidence as 11/100,000 in children under 18 years of age and 27/100,000 in patients over 65 years of age. Most of the cases are unilateral; less than 2% of patients have bilateral hearing loss (3-6). A variety of diseases and factors have been proposed that may lead to SSNHL; while some of them can be revealed with anamnesis, physical examination and tests, specific etiologies can only be found in 10% of cases. When a precise etiology is not found despite proper investigation, it is called idiopathic SSNHL and 90% of the patients are idiopathic (7, 8).

Childhood is the period for the development of speech and language; therefore, without appropriate treatment, SSNHL can cause serious problems such as permanent hearing loss and can deeply impact the cognitive development of children, leading to psychiatric sequelae, which increase the burden on families and society.

The aim of this study was to determine and compare the etiology, laboratory results, prognostic factors and treatment outcomes in children with SSNHL, by evaluating the results of one of the largest pediatric SSNHL series in our country.

## MATERIALS and METHODS

### Study design and patients

Ethics committee approval was obtained for the study (Decision no: 01/05.09.2018). This study was carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. The files of 28 children, between the ages of 7-18 years who were admitted to our hospital with the diagnosis of SSNHL and followed up at least three months between January 2008 and December 2017 were retrospectively analyzed.

While patients with pre- and post-treatment third month pure tone audiometries were included to the study, patients with middle ear or retrocochlear pathology, autoimmune inner ear disease, Meniere's disease, syndromic or genetic hearing loss, history of ear surgery were excluded.

### Audiometric assessment

In pure tone audiometry, the average pure tone thresholds of 500 Hz, 1000 Hz, 2000 Hz and 4000 Hz were accepted as pure tone averages (PTAV). The severity of hearing loss was based on the PTA as follows;

1. 25-40 dB HL mild,
2. 41-55 dB HL mild-moderate,
3. 56-70 dB HL medium,
4. 71-90 dB HL severe.

Patients' recovery status was determined according to Siegel's criteria (9).

Three types of SSNHL was defined according to audiogram shape: ascending, descending and flat.

### Treatment protocols

All patients were treated with systemic steroids. Oral methylprednisolone was administered at a



dose of 1 mg/kg and tapered in 14 days. Patients who did not improve or had a PTA greater than 60 dB HL at the fifth-day control audiogram, were injected three doses (1 dose=0.5 ml=2 mg) of intratympanic dexamethasone solution (Dekort, DEVA Corporation, Istanbul, Turkiye) every other day if they tolerated the injection. Patients with a history of upper respiratory tract infection were tested for CMV, EBV, Mumps, Herpes viruses (HSV, VZV) and Influenza. An antiviral treatment was initiated in patients with positive viral serology.

### Statistical Analysis

Descriptive statistics were calculated for all variables, an association between the groups were evaluated using the Chi-square test. The Independent Samples t-test was used to compare the means of two independent groups and the nonparametric Mann-Whitney U test was applied to investigate continuous variable prognostic factors. All statistical analyses were performed using SPSS version 22.0 (IBM SPSS Statistics, Chicago, IL, USA). A p-value less than 0.05 was considered as statistically significant.

## RESULTS

### Patient characteristics

Twenty-eight children were treated with the diagnosis of SSNHL during the study period. Five patients had a possible etiologic factor; one had a history of acoustic trauma, one was treated with streptomycin for brucellosis, one had Type 1 Diabetes Mellitus (DM), two patients with a history of upper respiratory infection had positive viral serology. The remaining 23 patients (82.1%) were diagnosed as idiopathic SSNHL. The ages of patients with SSNHL was mean  $\pm$  SD 14.8  $\pm$  3.2 years (min-max: 7 and 18 years) (Table-1). The follow-up time was mean  $\pm$  SD 15.3  $\pm$  6.0

months (min-max: 3 and 26 months). The time passed from hearing loss and initiation of the treatment was mean  $\pm$  SD 2.7  $\pm$  1.7 days (min-max: 1 and 7 days) (Table-1).

Twelve of the patients were boys and 16 were girls. While the hearing loss was on the right side in 53.6% (n = 15) of the children, it was on the left side in 39.3% (n = 11). Hearing loss was bilateral in one of the patients (3.6%) (Table-2). Five patients (17.9%) had a history of upper respiratory tract infection. Eight patients had tinnitus and three patients had vertigo accompanying hearing loss (Table-2). The degrees of sensorineural hearing loss were; 10.7% (n=3) mild, 57.1% (n=16) mild-moderate, 28.6% (n=8) moderate, 3.6% (n=1) severe. Twenty-five patients received oral steroids, three patients received oral steroids + intratympanic steroids and three patients with positive viral serology received oral steroids + antiviral treatment. There was no improvement in two of 3 patients with vertigo and partial recovery was observed in one patient (Table-2). Of the eight patients with tinnitus, six had complete recovery, and two had partial recovery. Only one patient was treated with the diagnosis of bilateral SSNHL. The patient was a 17-year-old boy; pre-treatment PTA values were 44.75 dB HL for the right ear and 42.50 dB HL for the left ear. On the third month of the treatment, PTA values were 14 dB HL for the right ear and 13.50 dB HL for the left ear.

All patients underwent Magnetic Resonance Imaging (MRI) and internal acoustic canal dilatation was found in one patient. No other specific findings were observed in MRI's. Temporal bone computed tomography was also performed in 10 patients, and no pathological lesions were observed either.

**Table-1.** Descriptive analysis.

	Mean $\pm$ SD (Minimum-Maximum)
Age (years)	14.8 $\pm$ 3.2 (7-18)
Initial treatment time (day)	2.7 $\pm$ 1.7 (1-7)
Follow-up (month)	15.3 $\pm$ 6.0 (3-26)
PTA-pre (dB HL)	55.2 $\pm$ 12.4 (38.5-85.2)
PTA-post (dB HL)	23.1 $\pm$ 18.2 (5-72.5)

Standard deviation (SD), decibel (dB), hearing level (HL), pure tone averages (PTAV),

**Table-2.** Clinical characteristics and prognostic factors.

	Complete improvement (n=18)	Partial + No improvement (n=10)	P values
Age (years) Mean $\pm$ sd	15.67 $\pm$ 2.33	13.50 $\pm$ 4.25	0.208
Gender (Female: F, Male: M, n, %)	9 (50%), 9 (50%)	7 (70%), 3 (30%)	0.434
Side (R: Right, L: Left, B: Bilateral, n, %)	R= 9 (50%) L= 8 (44.4%) B=1 (5.6%)	R=6 (60%) L= 4 (40%) B=0 (0.0%)	0.540
Vertigo (n, %)	2 (11.1%)	1 (10%)	0.130
Tinnitus (n, %)	4 (22.2%)	4 (40%)	0.400
Ear fullness (n, %)	1 (5.6%)	2 (20%)	0.284
Initial treatment time (mean $\pm$ sd day)	2.78 $\pm$ 1.83	2.60 $\pm$ 1.43	0.960
Degree of hearing loss (mean $\pm$ sd)	1.17 $\pm$ 0.62	1.40 $\pm$ 0.84	0.480
PTAV pre (mean $\pm$ sd dB HL)	52.33 $\pm$ 11.07	60.58 $\pm$ 13.46	0.160

Pure tone averages (PTAV), standard deviation (sd), decibel (dB), hearing level (HL),

### Treatment outcomes

The pre-treatment PTAV was mean  $\pm$  SD 55.2  $\pm$  12.4 dB HL (38.5 and 85.2 dB HL), post-treatment PTAV was mean  $\pm$  SD 23.1  $\pm$  18.2 dB HL (min-max: 5 to 72.5 dB HL) (Table-1).

Eleven patients had a descending curve (39.2%), five patients had an ascending curve (17.9%) and 12 patients had flat curves (44.9%). Audiological outcomes revealed that descending audiogram type was positively associated with hearing recovery ( $p=0.017$ ).

According to the results of post-treatment PTA, which was performed at least three months after the treatment, 18 (64.3%) patients had complete recovery, eight (28.6%) patients had partial recovery, and two (7.1%) patients had no improvement (Table-2).

### Prognostic factors

We divided the patients into two groups; complete recovery and partial recovery + no improvement group according to Siegel's criteria. There was no significant difference between the groups in terms of age, gender and side ( $p>0.05$ ) (Table-2). In patients with tinnitus, response to treatment was better than patients with vertigo ( $p$

$= 0.022$ ,  $p=0,086$ , respectively). There was no statistical difference between treatment initiation time and treatment response rate ( $p> 0.05$ ) (Table-2). No improvement was observed in two of 3 patients who received intratympanic steroid injections.

Serologic tests were done in five patients with a history of upper respiratory tract infection, Cytomegalovirus (CMV) and Mumps IgM were positive in two patients. For these two patients, famciclovir was added to the systemic steroid treatment for one week. On the 10th day of treatment, the control audiogram showed complete recovery in both patients.

Of the 18 patients who showed complete recovery, four had tinnitus and two had vertigo. No accompanying symptoms were found in the rest of the patients. Of the eight patients who showed partial recovery, four had tinnitus and one had vertigo (Table-2). No significant difference was found between the complete recovery and partial and no improvement groups in terms of the presence of tinnitus and vertigo ( $p=0.400$  and  $p=0,130$ , respectively).

## DISCUSSION

The etiology and treatment of SSNHL have been discussed for many years and numerous different treatment protocols have been proposed in the literature (7, 8, 10, 11, 12). Although some studies reported that the recovery rate without treatment is over 50% in adult patients with sudden hearing loss (10, 11), it is clear that the treatment should be initiated as soon as the diagnosis is made in pediatric patients with SSNHL to avoid undesirable consequences.

Steroids, antioxidants, vasodilators and antivirals are commonly used for treatment, but the only agent whose efficacy is recognized worldwide, and proven to be effective, are steroids (11, 12). Although steroids are usually used systemically, intratympanic steroid administration which aims to avoid side effects of systemic steroid use by directing them to the target organ has been common in recent years (13, 14). The success rates of the intratympanic steroid administration (in combination with systemic steroid or as salvage therapy) varies widely so far (13, 14). Lim et al. (15) and Övet et al. (16) reported no significant difference between hearing results of the groups that received systemic oral steroid or combined therapy (steroid + intratympanic dexamethasone). We used intratympanic dexamethasone only in cases with inadequate or no response to oral steroids, but no improvement was observed in the hearing of two of 3 patients. However, the low number of patients prevents us from making a final judgment on the effectiveness of intratympanic steroid injection in pediatric patients.

Infectious, immunological, inflammatory causes and microcirculation insufficiency are the most important proposed etiological factors of SSNHL (14, 17, 18). Hereditary prothrombotic conditions that cause insufficiency of ear microcirculation by increasing blood viscosity such as diabetes and hypertension may lead to SSNHL (14, 17, 18). We also had a patient with Type 1 Diabetes Mellitus (DM), who had been receiving treatment for six years, and he showed partial recovery.

Pitaro et al. (19), in their study that included 19 patients with pediatric SSNHL, detected CMV in six patients and Epstein - Barr virus in one patient. They used antivirals in addition to oral steroids in serologically positive patients and achieved a complete recovery in one patient and partial recovery in four patients after the treatment. We only initiated, antiviral treatment in

two patients with positive viral serology with the recommendation of the infectious diseases physician. Complete recovery was achieved in both patients after treatment. Antivirals seem to be effective in addition to steroids if serology is positive in children.

Several studies have been performed on pediatric SSNHL in our country. Kızılay and Koca (3) reported complete recovery in only three (21.4%) children. No recovery was seen in 11 (79.6%) patients, which were all under 15 age. Their low recovery rate, which is lower than our results as well as the other studies reported in the literature, is probably due to the very high rate of profound hearing loss in their study group. Ten (71.4%) of their patients had total hearing loss, while two had mild to severe hearing loss.

Övet G. et al (16), divided 49 pediatric patients into two groups in the study comparing systemic steroid treatment alone with combined steroid treatment (systemic steroid + intratympanic steroid injection). 75.5% (37 patients) of their patients showed complete + partial recovery, with no significant difference between treatment modalities.

In their study investigating the prognostic effects of neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratios on pediatric SSNHL, Bulğurcu S. et al. (20) investigated 21 patients with idiopathic SSNHL under the age of 19 years. They reported complete + partial recovery in 12 (57.1%) patients, and neutrophil-lymphocyte ratio was a positive prognostic factor, similar to the results performed among adult patients with SSNHL. No significant difference was found for platelet to lymphocyte ratio in terms of recovery rates.

Overall (complete + partial + slight) recovery rates in pediatric SSNHL were reported between 21.4% and 75.5% in the literature (3, 16, 17, 20, 21). The overall recovery rate was 92.6% in our study population, which may be related to the low number of patients, absence of accompanying diseases, the high compliance rate of the patients to the treatment, as all the patients had completed the treatment and follow-up protocol, or to the early initiation of the treatment since all patients received treatment in the first seven days of the hearing loss.

Previous studies reported higher recovery rates in patients that received early initial treatment and ascending curve type of audiogram (21, 22). In contrast, higher recovery rates in pediatric

patients with descending curve type audiograms have also been reported (17). We did not find a significant impact of treatment initiation time on recovery rates but this is probably due to the initiation of the treatment in the early period of hearing loss in all of our patients. We also found that descending curve type is associated with better healing rates.

Skarzynski et al. (22) stated in their review that, while unilateral hearing loss, tinnitus, mild/moderate hearing loss, early beginning to treatment, ascending type pure tone audiometry configuration were positive prognostic factors, vertigo, bilateral hearing loss, delayed treatment, severe to profound hearing loss, descending type configuration of the audiogram were negative prognostic factors. Also, they reported that the most common etiological factor was idiopathic; viral infections, acoustic trauma, use of ototoxic drugs, rarely large vestibular aqueduct and congenital anomalies were also among etiologic factors. Another systematic review on the possible etiologies of SSNHL in adult patients showed that the etiology was idiopathic in 71% of cases (23). Similarly, most of the cases were idiopathic in our study. Also, even tinnitus was a better prognostic factor than vertigo in the current

study, both symptoms did not show any prognostic impact on recovery rates. This contradiction may be attributed to low number of patients in our study, but it must be kept in mind that tinnitus and vertigo are both subjective symptoms that are difficult to evaluate, especially in the pediatric population. One of the limitations of our study is the absence of patients receiving hyperbaric oxygen therapy.

## CONCLUSION

Sudden sensorineural hearing loss in children is a rare health condition and the current study is one of the largest series reported from our country. We found that the response to treatment with systemic steroid therapy was high in children and it can be said that those with tinnitus have a higher recovery rate than those with vertigo. Prospective studies with large patient cohorts are required to determine a definitive treatment protocol and prognostic factors in children with SSNHL.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

There are no financial conflicts of interest to disclose.

## References

1. Kenna MA. Acquired hearing loss in children. *Otolaryngol Clin North Am* 2015; 48 (6): 933–53. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2015.07.011>.
2. Tarshish Y, Leschinski A, Kenna M. Pediatric sudden sensorineural hearing loss: Diagnosed causes and response to intervention. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2013; 77 (4): 553–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2013.01.004>
3. Kizilay A, Koca ÇF. Pediatric sudden sensorineural hearing loss. *J Craniofac Surg* 2016; 27 (4): 364–6. <https://doi.org/10.1097/SCS.0000000000002630>.
4. Alexander TH, Harris JP. Incidence of sudden sensorineural hearing loss. *Otol Neurotol* 2013; 34 (9): 1586–9. <https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000000222>.
5. Chen K, Jiang H, Zong L, Wu X. Side-related differences in sudden sensorineural hearing loss in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2018; 114(11):5-8. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2018.08.022>.
6. Lu Y, Zhou L, Imrit TS, Liu A. Sudden Sensorineural Hearing Loss in Children: Clinical Characteristics, Etiology, Treatment Outcomes, and Prognostic Factors. *Otol Neurotol* 2019; 40 (4): 446-53. doi: 10.1097/MAO.0000000000002190.
7. Dedhia K, Chi DH. Pediatric sudden sensorineural hearing loss: Etiology, diagnosis and treatment in 20 children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2016; 88 (9): 208–12. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2016.07.003>
8. Stachler RJ, Chandrasekhar SS, Archer SM, et al. Clinical practice guideline: Sudden hearing loss. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2012; 146 (3): 135. <https://doi.org/10.1177/0194599812436449>.
9. Siegel L. The treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Otolaryngol Clin North Am* 1975; 8 (2): 467-73. PMID:1153209
10. Mattox DE, Simmons FB. Natural history of sudden sensorineural hearing loss. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1977; 86 (4 Pt 1):463–80. doi: 10.1177/000348947708600406.
11. Wei BP, Mubiru S, O'Leary S. Steroids for idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; 25 (1):CD003998. doi: 10.1002/14651858.CD003998.pub2.

12. Filipo R, Covelli E, Balsamo G, Attanasio G. Intratympanic prednisolone therapy for sudden sensorineural hearing loss: A new protocol. *Acta Otolaryngol.* 2010; 130 (11): 1209-13. <https://doi.org/10.3109/00016481003793766>
13. Toroslu T, Erdogan H, Caglar O, Guclu O, Derekoy FS. Comparison of Different Treatment Methods for Idiopathic Sudden Sensorineural Hearing Loss. *Turk Arch Otorhinolaryngol* 2018; 56 (4): 226-32. doi: 10.5152/tao.2017.2337
14. Psarommatis I, Ioannis P, Kontorinis G, Douniadakis D, Tsakanikos M. Pseudohypacusis: The most frequent etiology of sudden hearing loss in children. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2009; 266 (12): 1857–61. <https://doi.org/10.1007/s00405-009-0983-y>.
15. Lim HJ, Kim YT, Choi SJ, et al. Efficacy of 3 different steroid treatments for sudden sensorineural hearing loss: a prospective, randomized trial. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2013; 148 (1): 121–7. doi: 10.1177/0194599812464475.
16. Övet G, Alataş N, Güzelkara F. Sudden Pediatric Hearing Loss: Comparing the Results of Combined Treatment (Intratympanic Dexamethasone and Systemic Steroids) With Systemic Steroid Treatment Alone. *Otol Neurotol* 2016; 37 (6): 742-7. doi:10.1097/MAO.0000000000001077.
17. Kim JY, Han JJ, Sunwoo WS, et al. Sudden sensorineural hearing loss in children and adolescents: Clinical characteristics and age-related prognosis. *Auris Nasus Larynx* 2018; 45 (3): 447-55. doi: 10.1016/j.anl.2017.08.010.
18. Qian Y, Zhong S, Hu G, Kang H, Wang L, Lei Y. Sudden Sensorineural Hearing Loss in Children: A Report of 75 Cases. *Otol Neurotol* 2018; 39 (8): 1018-24. doi: 10.1097/MAO.000000000000189.
19. Pitaro J, Bechor-Fellner A, Gavriel H, Marom T, Eviatar E. Sudden sensorineural hearing loss in children: Etiology, management, and outcome. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2016; 82 (3): 34-7. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2015.12.022>.
20. Bulğurcu S, Dikilitaş B, Arslan İB, Çukurova İ. Neutrophil-to Lymphocyte and Platelet-to-Lymphocyte Ratios in Pediatric Patients with Idiopathic Sudden Hearing Loss. *J Int Adv Otol.* 2017; 13 (2): 217-20. <https://doi.org/10.5152/iao.2017.3404>.
21. Chung JH, Cho SH, Jeong JH, Park CW, Lee SH. Multivariate analysis of prognostic factors for idiopathic sudden sensorineural hearing loss in children. *Laryngoscope* 2015; 125 (9): 2209-15. <https://doi.org/10.1002/lary.25196>.
22. Skarzynski PH, Rajchel J, Skarzynski H. Sudden Sensorineural Hearing Loss in Children: A Literature Review. *Journal of Hearing Science* 2016; 6 (4): 9-18. DOI: <https://doi.org/10.17430/902762>
23. J.K. Chau, J.R. Lin, S. Atashband, R.A. Irvine, B.D. Westerberg, Systematic review of the evidence for the etiology of adult sudden sensorineural hearing loss, *Laryngoscope* 2010; 120 (5): 1011-21. DOI: 10.1002/lary.20873

## Ponatinib ve Türkiye’de yetişen bazı endemik bitki ekstraktlarının kombinasyonlarının meme kanseri hücreleri üzerindeki etkileri

### *Combinational effects of ponatinib and some Turkish endemic plant extracts on breast cancer cells*

Çağla Kayabaşı<sup>1</sup> Çığır Biray Avcı<sup>1</sup> Sunde Yılmaz Süslüer<sup>1</sup> Tuğçe Balcı Okcanoğlu<sup>2</sup>  
Besra Özmen Yelken<sup>3</sup> Cansu Çalışkan Kurt<sup>1</sup> Bakiye Göker Bağca<sup>4</sup> Cenk Durmuşkahya<sup>5</sup>  
Hüsniye Kayalar<sup>6</sup> Ahmet Özbilgin<sup>7</sup> Cumhuriyet Gündüz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Lefkoşa, KKTC

<sup>3</sup>İzmir Bakırçay Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>4</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

<sup>5</sup>İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Botaniği Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>6</sup>Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>7</sup>Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

## ÖZ

**Amaç:** Meme kanseri, dünya genelinde kadınlarda en yaygın gözlenen malignansidir. Bu nedenle mevcut tedavilerin eksiklerini giderebilecek yeni stratejilerin tanımlanmasına ihtiyaç vardır. Çalışmamızda meme kanseri hücrelerinin hedeflenmesinde kullanılacak yeni bitkisel kombinasyon terapileri tanımlamayı hedefledik. Bu amaçla, *Centaurea calolepis* (CCİ), *Origanum sipyleum* (OSM) ve *Phlomis lycia* (PLİ) bitki ekstraktlarının ponatinib ile kombinasyonlarının MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik, apoptotik, anti-proliferatif ve hücre döngüsü üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** MCF-7 hücrelerinde OSM, CCİ, PLİ ve ponatinibin sitotoksik etkileri xCELLigence ile gerçek-zamanlı olarak ölçüldü. Ponatinib ile CCİ (p-CCİ), OSM (p-OSM), PLİ (p-PLİ) kombinasyonlarının analizleri için medyan-etki denklemini kullanıldı. Apoptoz, proliferasyon, hücre döngüsü düzenlenmesi akım sitometride değerlendirildi.

**Bulgular:** MCF-7 hücrelerinde CCİ, OSM ve PLİ ekstraktlarının IC<sub>50</sub> dozları sırasıyla 48. saatte 59,5, 57, 44,2 µg/ml ve 72. saatte 51,6, 54,21, 42,52 µg/ml olarak hesaplandı. Kombinasyon analizi sonuçlarına göre 48. saatte p-CCİ additif, p-OSM ve p-PLİ ilımlı sinerjistik etki sergilemekteydi. Ponatinib ile indüklenen apoptozun, CCİ ve PLİ kombinasyonlarıyla anlamlı düzeyde arttığı belirlendi. CCİ ve PLİ uygulamaları MCF-7 hücreleri üzerinde ilımlı düzeyde anti-proliferatif etki sergilerken, proliferasyonu en belirgin düzeyde OSM ekstresinin baskıladığı saptandı. Proliferasyon sonuçları ile uyumlu olarak, en yüksek G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> tutulumu OSM uygulaması ile gözlemlendi. Kombine p-CCİ ve p-PLİ uygulamalarının ponatinibin anti-proliferatif etkisini anlamlı düzeyde arttırdıkları ve daha yüksek düzeyde G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> birikimine neden oldukları ortaya koyuldu.

**Sonuç:** Ponatinib ile CCİ, OSM, PLİ bitki ekstraktlarının kombinasyonları apoptozu indükleyerek, proliferasyonu baskılayarak ve hücre döngüsünün durdurarak meme kanserinde anti-kanser aktivitesi sergiledi. Belirlenen yüksek anti-kanser etkilerinin ışığında, Türkiye’de yetişen bu endemik bitki ekstraktları meme kanseri tedavisinde potansiyel strateji temsil edebilir.

**Anahtar Sözcükler:** Meme kanseri, ponatinib, bitki ekstresi, apoptoz, proliferasyon.

*Araştırmaya ait verilerin bir kısmı 27-30 Ekim 2013 tarihinde Aydın’da düzenlenen 13. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi’nde poster bildirisi olarak sunulmuştur.*

Sorumlu yazar: Çağla Kayabaşı  
Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,  
İzmir, Türkiye  
E-posta: kayabasicagla@gmail.com  
Başvuru tarihi: 25.09.2021 Kabul tarihi: 17.12.2021

## ABSTRACT

**Aim:** Breast cancer is the most common malignancy in women worldwide. Therefore, there is a need to define new strategies that can overcome the deficiencies of existing treatments. In our study, we aimed to define new herbal combination therapies that can be used to target breast cancer cells. For this purpose, we investigated the cytotoxic, apoptotic, anti-proliferative and cell cycle regulatory effects of *Centaurea calolepis* (CCI), *Origanum sipyleum* (OSM) and *Phlomis lycia* (PLI) plant extracts in combination with ponatinib on MCF-7 cells.

**Materials and Methods:** The cytotoxic effects of OSM, CCI, PLI and ponatinib on MCF-7 cells were measured in real time by xCELLigence. The median-effect equation was used for the analysis of combinations of ponatinib with CCI (p-CCI), OSM (p-OSM), PLI (p-PLI). Apoptosis, proliferation and cell cycle regulation were evaluated by flow cytometry.

**Results:** The  $IC_{50}$  doses of CCI, OSM and PLI extracts in MCF-7 cells were calculated as 59.5, 57, 44.2  $\mu\text{g/ml}$  at 48 hours and 51.6, 54.21, 42.52  $\mu\text{g/ml}$  at 72 hours, respectively. Combination analyses revealed that p-CCI was additive, p-OSM and p-PLI showed a moderate synergistic effect at 48<sup>th</sup> hours. It was determined that apoptosis induced by ponatinib was significantly increased with the combinations of CCI and PLI. CCI and PLI treatments exhibited moderate anti-proliferative effects on MCF-7 cells, while OSM extract suppressed proliferation most significantly. Consistent with the proliferation results, the highest  $G_0/G_1$  arrest was observed with OSM treatment. It was revealed that combined p-CCI and p-PLI treatments significantly increased the anti-proliferative effect of ponatinib and caused a higher level of  $G_0/G_1$  accumulation.

**Conclusion:** Combinations of ponatinib and CCI, OSM, PLI plant extracts exhibited anti-cancer activity in breast cancer with induction of apoptosis, suppression of proliferation and cell cycle arrest. In light of the high anti-cancer effects identified, extracts of these Turkish endemic plants may represent a potential strategy in the treatment of breast cancer patients.

**Keywords:** Breast cancer, ponatinib, plant extract, apoptosis, proliferation.

Some of the data belonging to the research were presented as a poster presentation at the 13th Medical Biology and Genetics Congress held in Aydın on 27-30 October 2013.

## GİRİŞ

Meme kanseri bozulmuş hücre proliferasyonu ile ilişkili heterojen bir hastalıktır (1). Dünya genelinde kadınlarda en yaygın gözlenen malignansidir ve kanser ilişkili ölümler arasında ikinci sırada yer almaktadır (2). Östrojen reseptörü (ÖR) spesifik genlerin ekspresyonunu düzenleyerek meme kanseri progresyonunda önemli rol oynar. Meme kanseri olgularının büyük bir yüzdesinin ÖR pozitifdir (3). Genç kadınlarda yaşlılara kıyasla daha agresif seyrettiği bilinen meme kanserinin tedavi protokolü hormon tedavisi, cerrahi müdahale, radyoterapi, immünoterapi ve kemoterapi uygulamalarını içermektedir (1, 4). Mevcut ilaçların en büyük dezavantajları zamanla gelişen direnç, yüksek toksisite, düşük seçiciliktir (1).

Ponatinib, kronik myeloid lösemi tedavisinde T315I-mutant BCR-ABL1'e karşı direncin üstesinden gelmek için tasarlanmış bir tirozin kinaz inhibitörüdür (5, 6). Ek olarak Src ailesi kinazları, c-Kit, platelet kaynaklı büyüme faktörü reseptörü alfa (PDGFR $\alpha$ ), vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü 2 (VEGFR2), fibroblast

büyüme faktörü reseptörü 1 (FGFR1) gibi kinazları da inhibe edebilmektedir (7). Disregüle FGFR, PDGFR, VEGFR meme kanseri için belirgin risk faktörleridir ve meme kanseri tedavisinde potansiyel hedef teşkil etmektedirler (8-10). Ponatinibin etkinliği meme, tiroid, yumurtalık, akciğer kanserleri dahil olmak üzere bu kinazların önemli rol oynadığı kanserler üzerinde değerlendirilmiştir (11). Ponatinibin meme kanseri tedavisinde potansiyel bir terapi olabileceği görüşü bildirilmiştir (12-14).

Tıbbi bitkiler birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Türkiye'ye özgü bitkilerden, Asteraceae familyası üyesi *Centaurea calolepis* Boiss. linoleik asit ve palmitik asit içermektedir (15). Anti-leishmanial aktivitesinin (16) yanı sıra anti-inflamatuar, antioksidan özelliklere de sahiptir (17). Batı Anadolu'ya endemik olan Labiatae familyası üyesi *Origanum sipyleum* L., tıbbi çay, gıda katkı maddesi ve uçucu yağ üretimi için kullanılmaktadır. Orta Anadolu'da baharat olarak, Batı Anadolu'da mide-bağırsak rahatsızlıklarını ve öksürüğü tedavi etmek, İç batı Anadolu'da soğuk algınlığı



tedavisi için kullanılmaktadır (18-20). *Origanum sipyleum* L. bitkisinin anti-inflamatuvar, anti-mikrobiyal ve antioksidan özelliğe sahip olduğu ortaya koyulmuştur (21). Labiatae familyası üyesi *Phlomis lycia* D. Don yapısında fenolik bileşikler bulundurmaktadır (22). Leishmania tedavisi (16) yanı sıra iştah açıcı olarak ve kabızlık, mide ağrısı, soğuk algınlığı, grip tedavilerinde kullanılmaktadır (23).

Meme kanserinin görülme sıklığının ve ölüm oranlarının yüksek seyretmesi nedeniyle hastalığın önlenmesinde kullanılabilecek veya mevcut tedavilerin eksiklerini giderebilecek yeni stratejilerin tanımlanmasına ihtiyaç vardır. Bu nedenle, meme kanseri olgularının büyük çoğunluğunu oluşturan ÖR pozitif grubunun hedeflenmesinde kullanılabilecek yeni bitkisel kombinasyon terapileri tanımlamayı hedefledik. Çalışmamızda, ülkemizde yaygın olarak bilinen ve medikal amaçla kullanılan endemik bitkilerden yararlanıldı. Bu doğrultuda *Centaurea calolepis* Boiss., *Origanum sipyleum* L. ve *Phlomis lycia* D. Don bitki ekstralarının ponatinib ile kombinasyonlarının MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik, apoptotik, anti-proliferatif ve hücre döngüsü üzerindeki etkileri araştırıldı.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Kimyasallar

Ponatinib (#S1490) Selleckchem (Houston, Teksas, ABD) firmasından satın alındı. Ponatinib final konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde dimetil sülfoksit ile çözülerek stok solüsyon hazırlandı. Ara stoklar, deney sırasında uygun medyum ile seyreltilerek taze olarak hazırlandı.

### Bitkilerin Toplanması, Ekstrelerin Elde Edilmesi ve Fitokimyasal Analizler

Çalışmamızda kullanılan *Centaurea calolepis* Boiss. infüzyon şeklinde hazırlanan su ekstresi (CCİ), *Origanum sipyleum* L. metanol ekstresi (OSM) ve *Phlomis lycia* D. Don infüzyon şeklinde hazırlanan su ekstresi (PLİ) TÜBİTAK 110S289 no'lu projeden sağlandı (16). Bitkilerin toprak üstü kısımlarının toplanması, ekstraların elde edilmesi ve fitokimyasal analizler önceden belirtildiği şekilde gerçekleştirildi (16). Özetle, Asteraceae familyası üyesi *Centaurea calolepis* Boiss. Antalya Elmalı (1100 m), Labiatae familyası üyesi *Origanum sipyleum* L. Manisa Spil Dağı (1050 m) ve Labiatae familyası üyesi *Phlomis lycia* D. Don Antalya Korkuteli (550 m) bölgelerinden toplandı. Bitki türleri Prof. Dr. Cenk Durmuşkahya (İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Orman Fakültesi,

Orman Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye) tarafından tanımlandı ve bitkilerin toplanan örnekler Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognози Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye'de saklandı. Bitki materyalleri, havada kurutulduktan sonra ince bir toz haline getirilmiştir. Metanol ekstraları, çözücü/bitki materyali oranının 15:1 olduğu 24°C'de 48 saat boyunca karıştırılarak maserasyon yoluyla hazırlandı. Su ekstraları %2'lik infüzyon şeklinde hazırlandı ve tüm ekstraksiyon çözücülerini Whatman filtre kağıdı no.1'den süzülür. Süzüntüler, 40°C'de bir döner buharlaştırıcıda alçak basınç altında kuruyana kadar buharlaştırıldı. Bakıyeler liyofilize edildi ve analiz edilene kadar vidalı kapaklı şişelerde -20°C'de saklandı. Ekstrelerde bulunan sekonder metabolitleri belirleyebilmek için (tanen, terpenoit, saponin, flavonoit, alkaloit, vb.) fitokimyasal tarama testleri gerçekleştirildi (16). Ekstreler final konsantrasyonları CCİ için 223 mg/ml, OSM için 43,4 mg/ml ve PLİ için 105,5 mg/ml olacak şekilde su ile sulandırıldı. Hücre kültürü çalışmaları öncesinde 0,2 µm por çaplı filtre kullanılarak sterilize edildi. Ara stoklar, deney sırasında uygun medyum ile seyreltilerek taze olarak hazırlandı.

### Hücre Kültürü

Hücre kültürü çalışmalarında, ÖR pozitif insan meme kanseri modeli olarak MCF-7 hücre hattı (Katalog No:HTB-22, ATCC, Manassas, ABD) kullanıldı. Hücreler %10 Fetal Sığır Serum, 2mM L-glutamin, 100U/mL penisilin, 0,1 mg/mL streptomisin içeren RPMI-1640 medyum (Biological Industries, Beit-Haemek, İsrail) içinde kültüre edildi (24). Hücreler 37°C'de, %95 nem ve %5 CO<sub>2</sub>'li etüvde inkübe edildi.

### Sitotoksosite Analizleri

Hücrelerin %50'sini öldüren (IC<sub>50</sub>) sitotoksik dozları gerçek-zamanlı hücre analiz sistemi (RTCA-xCELLigence, Roche, Berlin, Almanya) kullanılarak belirlendi. Sistem deneyler süresince her 15 dakika bir empedans kaydı gerçekleştirdi. Ponatinib ve bitki ekstralarının MCF-7 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkilerini belirlemek amacıyla hücreler, 96 kuyucuklu E-plaklara üç tekrarlı olarak ekildi (1×10<sup>5</sup> hücre/kuyucuk). İnkübasyon sonrasında hücreler, seyreltme faktörü 1:2 olacak şekilde ponatinib (3,13–100 µM) ve bitki ekstralarının (3,13–100 µg/ml) artan dozları ile 72 saat süresince muamele edildi. Sitotoksosite, "xCELLigence RTCA yazılımı" analiz programında sigmoidal doz-yanıt eğrisi ile [Y=bottom+(top-bottom)/(1+10<sup>[(LogIC<sub>50</sub>-X)×HillSlope])</sup>] hesaplandı (25).



## Kombinasyon Analizleri

MCF-7 hücreleri, 96-kuyucuklu E-plaklara  $1 \times 10^5$  hücre/kuyucuk olarak ekildi. Bitki ekstralarının  $IC_{50}$  değerleri doğrultusunda, ponatinib: CCl 1:10, ponatinib:OSM 1:11, ve ponatinib:PLI 1:10 oranlarında ( $\mu M$ : $\mu g/ml$ ) kombine edildi. Oranlar sabit tutulacak şekilde, 2 kat artan dozlar hücrelere 3 tekrarlı olarak uygulandı. Madde uygulanmayan kuyucuklar kontrol olarak kabul edildi. Madde uygulamasını takiben 48 ve 72. saatlerde, xCELLigence RTCA sistemindeki hücre indeksleri (HI) kullanılarak [%sitotoksosite=1-(HI<sub>doz</sub>/HI<sub>kontrol</sub>) $\times$ 100] formülüyle sitotoksosite yüzdeleri hesaplandı. Ponatinib ve bitki ekstraları arasındaki etkileşimler, medyan etki denklemine dayanan Calcosyn (Biosoft) yazılımı kullanılarak analiz edildi. Her etkilenen fraksiyonun ( $F_a$ ) maruz kaldığı dozlar (ED) ve bu dozlara ait kombinasyon indeksi (CI) ve ponatinib doz azaltma indeksi (DRI) hesaplandı. Kombinasyonlar, CI değerlerine göre sinerjistik (CI<0.9), additif (CI=0.9-1.1) ve antagonistik (CI>1.1) olarak tanımlandı (26).

## Apoptoz Analizleri

Ponatinib ile bitki ekstralarının kombinasyonlarının apoptotik etkileri akım sitometride (Accuri C6, Becton Dickinson) araştırıldı. MCF-7 hücreleri 6-kuyucuklu plaklara  $5 \times 10^5$  hücre/kuyucuk olacak şekilde ekildi ve 24 saat inkübe edildi. Sonrasında, hücreler 48 saat süresince ponatinib (5  $\mu M$ ), CCl (50  $\mu g/ml$ ), OSM (50  $\mu g/ml$ ), PLI (50  $\mu g/ml$ ), ponatinib (5  $\mu M$ ) ile CCl (50  $\mu g/ml$ ) kombinasyonu (p-CCl), ponatinib (5  $\mu M$ ) ile OSM (50  $\mu g/ml$ ) kombinasyonu (p-OSM) ve ponatinib (5  $\mu M$ ) ile PLI (50  $\mu g/ml$ ) kombinasyonu (p-PLI) ile muamele edildi. Madde uygulanmayan kuyucuklar kontrol olarak kabul edildi.

## Fosfatidilserin Eksternalizasyonu ve Membran Bütünlüğü Ölçümü

Apoptotik hücrelerdeki fosfatidilserin eksternalizasyonu ve membran bütünlüğü "FITC Annexin V Apoptosis Detection" Kit (BD Pharmingen, San Diego, CA, ABD) kullanılarak ölçüldü. Deney sonunda hücreler kit protokolüne uygun olarak Annexin V/PI ile boyanarak akım sitometride analiz edildi (27).

## Apoptotik DNA Fragmentasyonu Ölçümü

Apoptotik hücrelerde DNA fragmentasyonu "APO-DIRECT" Kit (BD Pharmingen) kullanılarak ölçüldü. Belirtilen dozlara maruz bırakılan hücreler kit protokolüne uygun olarak, %1 paraformaldehit ile fikse edildi ve %70 soğuk etanolde inkübe edildi. Yıkama basamaklarından

sonra reaksiyon tamponu, TdT enzimi ve FITC-dUTP içeren solüsyonda süspanse edildi. Reaksiyonun durdurulması sonrasında PI/RNase boyama tamponunda inkübe edilerek 3 saat içinde akım sitometride analiz edildi (28).

## Proliferasyon Analizi

MCF-7 hücrelerinin proliferasyon hızı karboksifloresan diasetat süksinimid ester (CFSE) boyama ile ölçüldü. MCF-7 hücreleri deney öncesinde 10  $\mu M$  CFSE (BD Pharmingen) ile boyandı. CFSE ile boyanmış MCF-7 hücreleri 6-kuyucuklu plaklara  $5 \times 10^5$  hücre/kuyucuk olacak şekilde ekildi ve 24 saat inkübe edildi. Sonrasında, hücreler 48 saat ponatinib, CCl, OSM, PLI, p-CCl, p-OSM ve p-PLI ile muamele edildi. Madde uygulanmayan kuyucuklar kontrol olarak kabul edildi. CFSE ile boyanmayan hücreler negatif kontrol, 100 ng/ml Colcemid (Biological Industries) ile muamele edilen hücreler pozitif kontrol olarak kabul edildi. Hücreler akım sitometriyle analiz edilerek yeşil floresan yoğunluğuna göre hücre proliferasyon hızı gösterildi (29).

## Hücre Döngüsü Analizi

Ponatinib ile bitki ekstralarının kombinasyonlarının hücre döngüsü üzerine etkileri akım sitometride araştırıldı. Bu amaçla MCF-7 hücreleri 6-kuyucuklu plaklara  $5 \times 10^5$  hücre/kuyucuk olacak şekilde ekildi ve 24 saat inkübe edildi. Sonrasında, hücreler 48 saat ponatinib, CCl, OSM, PLI, p-CCl, p-OSM ve p-PLI ile muamele edildi. Madde uygulanmayan kuyucuklar kontrol olarak kabul edildi. Deney sonunda hücreler, "Cycletest Plus DNA Reagent" Kit (BD Pharmingen) protokolüne uygun olarak hazırlandı ve akım sitometride analiz edildi (27).

## İstatistiksel Analizler

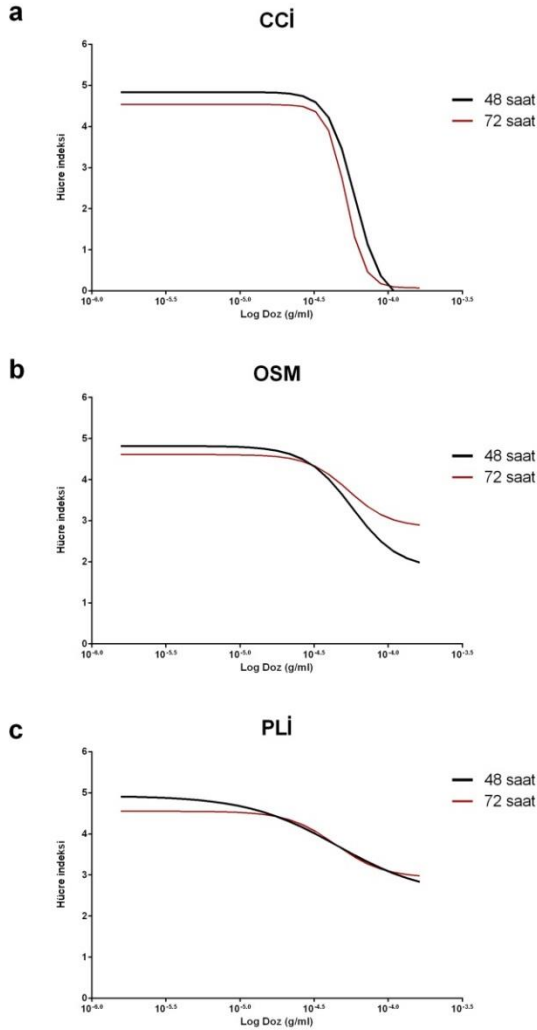
Hücre hatlarından ve kontrollerden elde ettiğimiz sonuçların istatistiksel olarak karşılaştırılması "GraphPad Prism" programı ile gerçekleştirildi. Gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü ANOVA varyans analizi ardından Tukey's post-hoc analizi yapılarak belirlendi. Anlamlılık değeri  $p < 0,05$  olarak alındı.

## BULGULAR

### Ponatinib ve Bitki Ekstrelerinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkileri

Ponatinib ve bitki ekstralarının MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri gerçek-zamanlı hücre analiz sistemi xCELLigence ile değerlendirildi. Önceki çalışmamızda belirttiği üzere, MCF-7 hücreleri için ponatinibin  $IC_{50}$

dozları 48. saatte 9,51  $\mu\text{M}$ , 72. saatte 4,59  $\mu\text{M}$  olarak hesaplandı (24). Flavonoit, tanen, antrazen içerdiği belirlenen CCİ (16) ekstresinin  $\text{IC}_{50}$  dozu 48. saatte 59,5  $\mu\text{g/ml}$ , 72. saatte 51,6  $\mu\text{g/ml}$  olarak hesaplandı (Şekil-1a). Terpenoit, flavonoit, tanen, antrazen içerdiği belirlenen OSM (16) ekstresinin  $\text{IC}_{50}$  dozu 48. saatte 57  $\mu\text{g/ml}$ , 72. saatte 54,2  $\mu\text{g/ml}$  olarak hesaplandı (Şekil-1b). Flavonoit, tanen, antrazen içerdiği belirlenen PLİ (16) ekstresinin  $\text{IC}_{50}$  dozu 48. saatte 44,2  $\mu\text{g/ml}$ , 72. saatte 42,5  $\mu\text{g/ml}$  olarak hesaplandı (Şekil-1c).



**Şekil-1. Bitki ekstralarının MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri.**

(a) *Centaurea calolepis* Boiss. infüzyon (CCİ), (b) *Origanum sipyleum* metanol (OSM) ve (c) *Phlomis lycia* infüzyon (PLİ) ekstralarının artan dozları hücreler ile 48 veya 72 saat boyunca kültüre edildi. Log(doz)-hücre indeksi eğrileri, xCELLigence ile hesaplandı. Sonuçlar, üç bağımsız deneyin ortalamalarıdır.

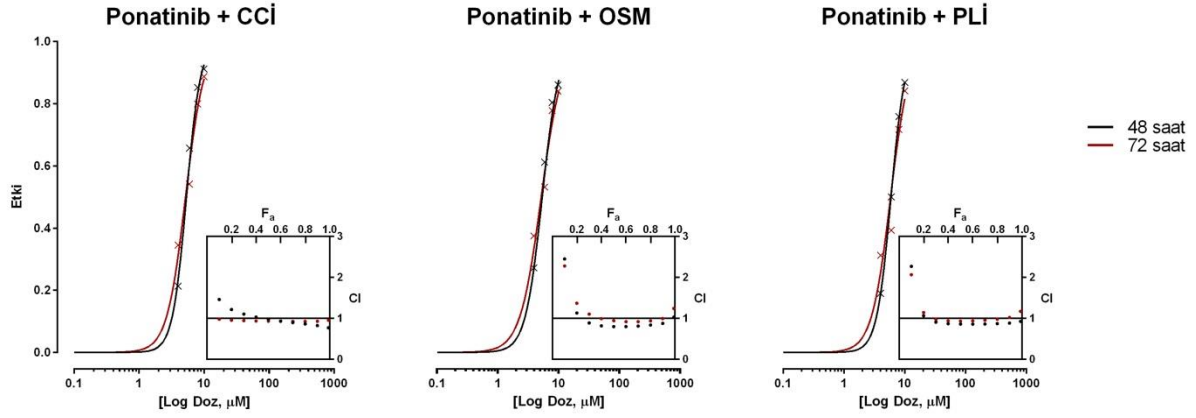
### Ponatinib ve Bitki Ekstrelerinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki Kombinasyonel Etkileri

Ponatinib ve bitki ekstralarının MCF-7 hücreleri üzerindeki kombinasyonel etkileri gerçek-zamanlı hücre analiz sistemi xCELLigence ile değerlendirildi ve Calculus yazılımında analiz edildi. Üç kombinasyona ait, ponatinib ile CCİ kombinasyonu (1:10,  $\mu\text{M}:\mu\text{g/ml}$ ), ponatinib ile OSM kombinasyonu (1:11,  $\mu\text{M}:\mu\text{g/ml}$ ), ve ponatinib ile PLİ kombinasyonu (1:10,  $\mu\text{M}:\mu\text{g/ml}$ ),  $\text{ED}_{50}$ ,  $\text{ED}_{70}$  ve  $\text{ED}_{90}$  dozları, bu dozlara ait CI ve ponatinib için DRI değerleri Tablo-1'de özetlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre 48. saatte ponatinib ile CCİ kombinasyonunun  $\text{ED}_{50}$  dozu additif etkiliyken, ponatinib ile OSM ve PLİ kombinasyonlarının  $\text{ED}_{50}$  dozları ılımlı sinerjistik etki sergilemekteydi (Şekil-2, Tablo-1). Yetmiş iki saat uygulamalarında ise her kombinasyon grubuna ait  $\text{ED}_{50}$  dozları additif etkili olarak belirlendi. MCF-7 hücrelerinde %50 populasyonu hedeflemek için gerekli ponatinib dozunun, CCİ kombinasyonu ile 1,312 kat, OSM kombinasyonu ile 1,319 kat ve PLİ kombinasyonu ile 1,184 kat azaldığı belirlendi (Tablo-1).

### Ponatinib ve Bitki Ekstrelerinin Kombinasyonlarının MCF-7 Hücreleri Üzerindeki Apoptotik Etkileri

Daha sonra, ılımlı sinerjistik/ additif etki gösterdiğini belirlenen kombinasyonların apoptotik etkileri değerlendirildi. MCF-7 hücrelerindeki erken/ geç apoptotik ve nekrotik hücreler Annexin V/PI boyama belirlendi. Tekli CCİ, OSM ve PLİ (50  $\mu\text{g/ml}$ ) uygulamalarının MCF-7 hücrelerinde kontrole kıyasla sırasıyla 2,7, 2,3 ve 2,8 kat apoptozu indüklediği saptandı. Ponatinib (5  $\mu\text{M}$ ) ile indüklenen 9,9 kat apoptoz, 50  $\mu\text{g/ml}$  CCİ veya PLİ kombinasyonlarıyla anlamlı düzeyde artmaktadır (Şekil-3).

Ayrıca, MCF-7 hücrelerinde indüklenen apoptoz DNA fragmentasyonu ölçümü ile incelendi. Tekli CCİ, OSM ve PLİ (50  $\mu\text{g/ml}$ ) uygulamalarının MCF-7 hücrelerinde anlamlı düzeyde DNA fragmentasyonuna neden olmasa da, p-CCİ, p-OSM ve p-PLİ kombinasyonlarının kontrole kıyasla sırasıyla 16,5, 92,5 ve 8,5 kat apoptozu indüklediği saptandı. Özellikle 50  $\mu\text{g/ml}$  CCİ ile birlikte uygulaması, 5  $\mu\text{M}$  ponatinib ile indüklenen apoptozu 5 kat arttırmaktadır (Şekil-4).



**Şekil-2. Ponatinib ile *Centaurea calolepis* Boiss. İnfüzyon, *Origanum sipyleum* metanol ve *Phlomis lycia* infüzyon ekstralarının MCF-7 hücreleri üzerindeki kombinasyonel etkileri.** Hücreler, 48 veya 72 saat boyunca artan kombinasyon konsantrasyonlarının varlığında kültürlendi. Log(doza)-etki eğrileri, xCELLigence ile elde edilen sonuçlar kullanılarak Calcsyn yazılımında hesaplandı. Sonuçlar, üç bağımsız deneyin ortalamalarıdır. İç grafikler, medyan etki analizi (Calcsyn) tarafından hesaplanan CI- $F_a$  grafiklerini göstermektedir.  $CI < 1$ ,  $CI = 1$  ve  $CI > 1$  değerleri sırası ile sinerjizm, additif ve antagonizmi ifade eder. CI, kombinasyon indeksi;  $F_a$ , etkilenen fraksiyon.

**Tablo-1. Ponatinib ve bitki ekstralarının MCF-7 hücreleri üzerindeki kombinasyonel etkileri.**

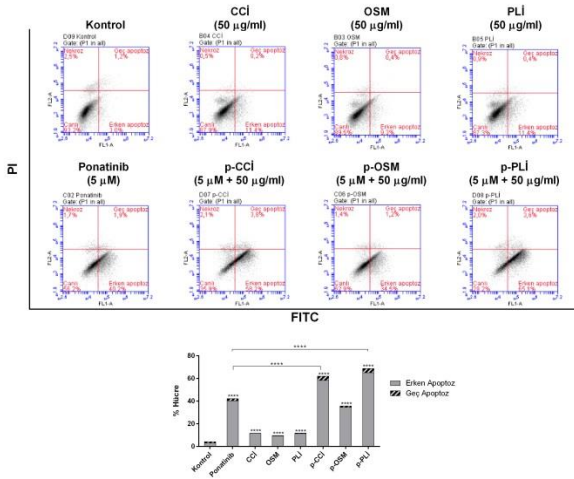
p:BE ( $\mu\text{M}:\mu\text{g/ml}$ )	Ponatinib inhibitör									
		dozu ( $\mu\text{M}$ )			CI değerleri			Ponatinib DRI değerleri		
		%50	%70	%90	%50	%70	%90	%50	%70	%90
p:CCİ (1:10)	48 s	5,35	6,59	9,21	0,975	0,895	0,822	1,312	1,316	1,322
	72 s	5,18	6,84	10,67	0,929	0,923	0,925	1,250	1,220	1,175
p:OSM (1:11)	48 s	5,32	6,95	10,67	0,796	0,810	0,877	1,319	1,248	1,141
	72 s	5,12	7,17	12,28	0,938	0,917	0,993	1,265	1,164	1,021
p:PLİ (1:10)	48 s	5,92	7,45	10,73	0,855	0,860	0,881	1,184	1,165	1,135
	72 s	5,83	7,89	12,78	0,928	0,951	1,020	1,111	1,059	0,981

MCF-7 hücreleri p:CCİ (1:10,  $\mu\text{M}:\mu\text{g/ml}$ ), p:OSM (1:11,  $\mu\text{M}:\mu\text{g/ml}$ ) ve p:PLİ (1:10,  $\mu\text{M}:\mu\text{g/ml}$ ) kombinasyonlarına 48 ve 72 saat süresince maruz kaldılar. İnhibitör konsantrasyonları xCELLigence ile elde edilen sonuçlar kullanılarak Calcsyn yazılımında hesaplandı.  $CI < 1$ ,  $CI = 1$  ve  $CI > 1$  değerleri sırası ile sinerjizm, additif ve antagonizmi göstermektedir. Etkilenen %50, %70 ve %90 fraksiyonlar için DRI değerleri, tek başına veya kombinasyon halinde kullanıldığında dozlar karşılaştırılarak ölçülmüştür. CI, kombinasyon indeksi; DRI, doz azaltma indeksi; p, ponatinib; BE, bitki ekstresi.

### Ponatinib ve Bitki Ekstrelerinin Kombinasyonlarının MCF-7 Hücreleri Üzerindeki Anti-proliferatif Etkileri

CCİ, OSM ve PLİ tekli uygulamalarının ve ponatinib ile kombinasyonlarının MCF-7 hücreleri üzerindeki anti-proliferatif etkileri CFSE boyama ile akım sitometride değerlendirildi. Ponatinibin MCF-7 hücre proliferasyon hızını kontrole kıyasla

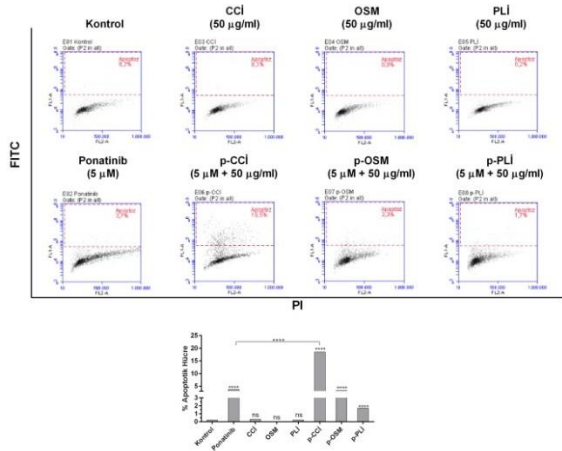
10 kat yavaşlattığı belirlendi. Tekli CCİ ve PLİ uygulamaları MCF-7 hücreleri üzerinde ılımlı düzeyde anti-proliferatif etki sergilerken, OSM uygulamasının en belirgin etkiyi göstererek proliferasyonu 4,8 kat baskıladığı saptandı (Şekil-5). Kombine p-CCİ ve p-PLİ uygulamalarının ponatinibin anti-proliferatif etkisini anlamlı düzeyde arttırdığı ortaya koyuldu (Şekil-5).



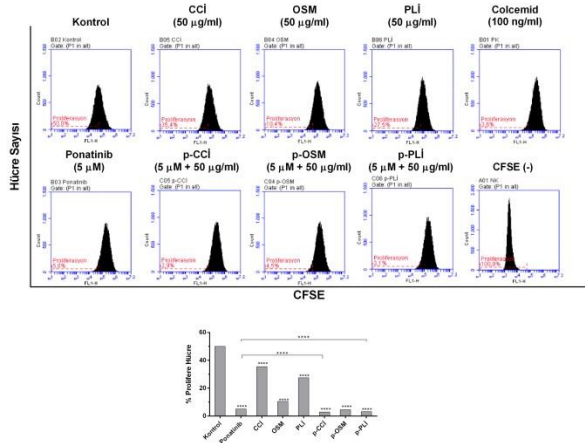
**Şekil-3. Ponatinib, CCI, OSM, PLI ve kombinasyonlarının MCF-7 hücreleri üzerindeki apoptotik etkileri.** MCF-7 hücreleri, ponatinib (5 µM), CCI (50 µg/ml), OSM (50 µg/ml), PLI (50 µg/ml) ile tekli ve kombinasyon halinde (p-CCI, p-OSM ve p-PLI) 48 saat süresince kültüre edildi. Apoptoz indüksiyonu, akım sitometri kullanılarak Annexin V/PI boyaması yoluyla ölçüldü. Barların üzerindeki yıldızlar (\*), kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı olan farklılıkları göstermektedir (\*\*\*\* p<0,0001). Annexin V-/PI-fraksiyonu canlı hücreleri, Annexin V+/PI-fraksiyonu erken apoptotik hücreleri, Annexin V+/PI+ fraksiyonu geç apoptotik hücreleri ve Annexin V-/PI+ fraksiyonu nekrotik hücreleri temsil etmektedir. İstatistiksel analizler, toplam apoptotik hücre sayısı kullanılarak yapıldı.

### Ponatinib ve Bitki Ekstrelerinin Kombinasyonlarının MCF-7 Hücre Döngüsü Üzerindeki Etkileri

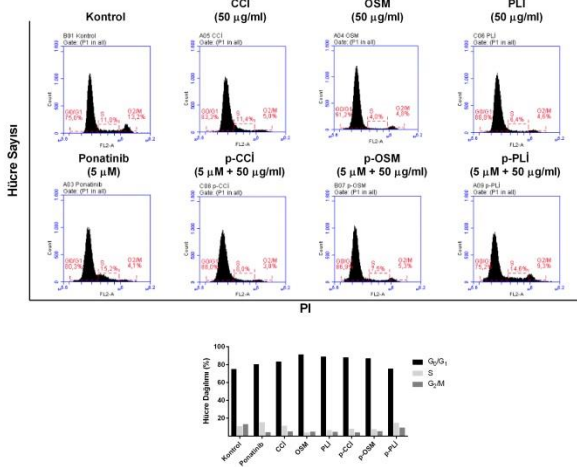
Hücre proliferasyonunu durdurduğunu belirlediğimiz CCI, OSM ve PLI tekli uygulamalarının ve ponatinib ile kombinasyonlarının MCF-7 hücre döngüsü düzenlenmesi üzerinde etkileri akım sitometride değerlendirildi. Ponatinibin anlamlı düzeyde G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> ve S tutulumuna neden olduğu belirlendi. CCI, OSM ve PLI uygulamaları 48 saatte MCF-7 hücrelerinin G<sub>1</sub>-S geçişini bloke etmekteydi. Anti-proliferasyon sonuçları ile uyumlu olarak, en belirgin G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> tutulumu OSM uygulaması sonrasında gözlemlendi (Şekil-6). Kombine p-CCI ve p-OSM uygulamaları tekli ponatinib uygulamasından daha yüksek düzeyde G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> birikimine neden olurken, bu birikime eşlik eden S ve G<sub>2</sub>/M fazlarında azalmalarını indüklemiştir. Kombine p-PLI uygulaması sonrasında gözlenen S birikimi ise tekli ponatinib uygulamasına göre anlamlı farklılık göstermemektedir (Şekil-6).



**Şekil-4. Ponatinib, CCI, OSM, PLI ve kombinasyonlarının MCF-7 hücrelerinde DNA fragmentasyonu üzerine etkileri.** MCF-7 hücreleri, ponatinib (5 µM), CCI (50 µg/ml), OSM (50 µg/ml), PLI (50 µg/ml) ile tekli ve kombinasyon halinde (p-CCI, p-OSM ve p-PLI) 48 saat süresince kültüre edildi. DNA fragmentasyonu gözlenen apoptotik hücre yüzdesi, akım sitometride ölçüldü. Barların üzerindeki yıldızlar (\*), kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı olan farklılıkları göstermektedir (\*\*\*\* p<0,0001, ns p>0,05).



**Şekil-5. Ponatinib, CCI, OSM, PLI ve kombinasyonlarının MCF-7 hücre proliferasyonu üzerine etkileri.** CFSE boyamasından sonra ponatinib (5 µM), CCI (50 µg/ml), OSM (50 µg/ml), PLI (50 µg/ml) ile tekli ve kombinasyon halinde (p-CCI, p-OSM ve p-PLI) 48 saat süresince kültüre edilen MCF-7 hücrelerinin proliferasyon hızları akım sitometride ölçüldü. Colcemid ile muamele edilmiş hücreler pozitif kontrol olarak ve negatif kontrol olarak CFSE ile boyanmamış hücreler negatif kontrol olarak kullanıldı. Barların üzerindeki yıldızlar (\*), kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı olan farklılıkları göstermektedir (\*\*\*\* p<0,0001).



**Şekil-6. Ponatinib, CCl, OSM, PLI ve kombinasyonlarının MCF-7 hücre döngüsü üzerindeki etkileri.** MCF-7 hücreleri, ponatinib (5 µM), CCl (50 µg/ml), OSM (50 µg/ml), PLI (50 µg/ml) ile tekli ve kombinasyon halinde (p-CCl, p-OSM ve p-PLI) 48 saat süresince kültüre edildi. Hücre döngüsü düzenlenmesi, akım sitometri kullanılarak DNA'nın PI ile boyanması yoluyla incelendi. Hücre döngüsünün G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, S ve G<sub>2</sub>/M fazlarında biriken hücrelerin yüzdesi belirlendi.

## TARTIŞMA

Meme kanserinin görülme sıklığının ve ölüm oranlarının yüksek seyretmesi nedeniyle (2), hastalığın önlenmesinde kullanılabilecek veya mevcut tedavilerin eksiklerini giderebilecek yeni stratejilerin tanımlanmasına ihtiyaç vardır. Ponatinib meme kanseri tedavisinde potansiyel bir *in vitro* terapi olsa da (13, 14, 24), ponatinibin kanser hastalarında ciddi yan etkilere neden olabildiği rapor edilmiştir (30). Kombinasyon terapileri, yanıtı ve tolere edilebilirliği arttırmak ve direnci azaltmak için rasyonel stratejiler olduğundan malignitelerde tedavi standardı haline gelmişlerdir. Bitkisel bileşiklerin ve bitki ekstraktlarının meme kanseri üzerindeki anti-kanser etkinliği yaygın olarak araştırılmaktadır (31-33). Bitkilerden elde edilen doğal ürünler sağkalım, bağışıklık ve yaşam kalitesi üzerinde faydalı etkilere ve daha güvenli profile sahip olabilir (34). Bu nedenle çalışmamız kapsamında, meme kanseri olgularının büyük çoğunluğunu oluşturan ÖR pozitif grubunun hedeflenmesinde gerekli ponatinib dozunu azaltabilecek, fitokimyasal ajanları içeren yeni *in vitro* kombinasyon terapileri tanımlamayı hedefledik.

Türkiye'de yetişen tıbbi bitkilerden *Centaurea calolepis* Boiss. anti-inflamatuar, antioksidan özelliklere sahiptir. *Centaurea calolepis*'in

sekonder metabolitlerinin meme kanseri dahil birçok solid tümör tipine karşı *in vitro* sitotoksikite sergilediği belirlenmiştir (17). Benzer şekilde çalışmamızda flavonoid, tanen, antrasen içeriğine sahip *Centaurea calolepis* infüzyon ekstresinin MCF-7 meme kanseri hücrelerinde doz ve zaman bağımlı olarak sitotoksik etkiye sahip olduğu belirlendi. Ayrıca hücre döngüsünün G<sub>1</sub>-S geçişini belirgin seviyede blokladığı, anti-proliferatif ve apoptotik etki sergilediği ortaya koyuldu. Çalışmamız *Centaurea calolepis* bitkisinin apoptotik ve anti-proliferatif etkinliğinin değerlendirildiği ilk araştırma olma niteliğindedir. Bununla birlikte, *Centaurea* cinsine ait farklı bitkilerle yapılan *in vitro* çalışmalar bulunmaktadır. Meme kanseri hücrelerinde *Centaurea bruguierana* ekstresinin apoptoza ve G<sub>1</sub> hücre döngüsü tutulumuna neden olduğu (35), *Centaurea cyanus* ekstresinin apoptoza ve subG<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub> hücre döngüsü tutulumuna neden olduğu gösterilmiştir (36). Ayrıca çalışmamızda, *Centaurea calolepis* su ekstresi uygulamasının meme kanseri hücre popülasyonununun %50'sini hedeflemek için gerekli ponatinib dozunu azalttığı (1,3 kat) belirlendi. Ponatinib tedavisinin yan etkilerinin (30) giderilmesinde uygulanan ponatinib dozunun azaltılmasının önemi büyüktür. Ponatinib ile kombinasyon halinde *Centaurea calolepis* ekstresi uygulanan hücrelerde, ponatinib ile indüklenen apoptozun, anti-proliferasyonun ve G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> hücre döngüsü tutulumunun oldukça belirgin düzeyde yükseldiği de ortaya koyuldu. *Centaurea albonitens* ekstresinin kombinasyonel anti-kanser etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada (37), farklı lösemi hücre modellerinde vinkristinin kemoterapötik duyarlılığını artırdığı belirlenmiştir. Bizim sonuçlarımızdan farklı olarak, *Centaurea albonitens* ekstresinin vinkristin aracılı apoptozu hücre döngüsü duraklamasına neden olmadan arttırdığı rapor edilmiştir.

Batı Anadolu'ya endemik *Origanum sipyleum* L. bitkisi anti-inflamatuar, antioksidan özelliklere sahiptir. *Origanum sipyleum* bitkisinin kolon kanserinde anti-proliferatif etkinlik sergilediği ortaya koyulmuştur (21). Çalışmamızda terpenoid, flavonoid, tanen, antrasen içeriğine sahip *Origanum sipyleum* metanol ekstresinin MCF-7 meme kanseri hücrelerinde doz ve zaman bağımlı olarak sitotoksik etkiye sahip olduğu belirlendi. Sitotoksik etkilerine ek olarak, ılımlı seviyede apoptozu indüklediği, belirgin olarak proliferasyonu baskıladığı ve ponatinibden daha



güçlü düzeyde G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> hücre döngüsü tutulumuna neden olduğu ortaya koyuldu. Literatürde *Origanum* cinsine ait farklı türlerle yapılan meme kanseri *in vitro* çalışmalar da mevcuttur. *Origanum majorana* etanol ekstresinin meme kanseri hücrelerinde apoptozu indüklemesinin yanında düşük dozlarda hücre döngüsünü G<sub>2</sub>/M fazında durdururken yüksek dozlarda sub-G<sub>0</sub> birikimine neden olduğu bildirilmiştir (38). Yine bizim sonuçlarımızla paralel olarak, *Origanum acutidens* ekstresinin meme kanserinde apoptozu indüklediği (39), liyofilize *Origanum vulgare* meme kanserinde apoptozu indüklediği ve sub-G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> birikimine neden olduğu rapor edilmiştir (40). Ayrıca *Origanum sipyleum* uygulamasının ponatinib etkinliği üzerindeki etkilerini araştırdığımızda, MCF-7 hücre popülasyonunun %50'sini hedeflemek için gerekli ponatinib dozunu azalttığı (1,3 kat) belirlendi. *Origanum sipyleum* kombinasyonu aracılığıyla gerekli ponatinib dozunun azalması, ponatinib tedavisinin yan etkilerinin azaltılmasına katkısı olacaktır. *Origanum vulgare* etanol ekstresinin kolon kanseri hücrelerinde 5-Flourourasil aracılı apoptozu arttırdığı ortaya koyulmuştur (41). *Origanum sipyleum* ekstresinin ponatinib ile indüklenen G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> tutulumunu güçlendirdiği ancak ponatinib indüklediği apoptozu arttırmadığı belirlendi. Sonuçlarımız, *Origanum sipyleum* MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerindeki anti-kanser özelliğini sitostatik etkilerle gösteriyor olabileceğini görüşünü desteklemektedir.

Flavonoit, tanen ve antrasen yapısında bileşikler içerdiği belirlenen *Phlomis lycia* D. Don infüzyon ekstresinin, çalışma kapsamındaki diğer ekstrelerle kıyasla MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerinde daha yüksek sitotoksik etkiye sahip olduğu belirlendi. Çalışmamız Türkiye'de kullanılan tıbbi bitkilerden biri olan *Phlomis lycia* türünün anti-kanser etkinliğinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bununla beraber literatürde *Phlomis* cinsine ait farklı türlerle yapılan meme kanseri *in vitro* çalışmalar da mevcuttur. Stojković ve ark. tarafından yapılan çalışmada *Phlomis fruticosa* L. metanol ekstresinin MCF-7 hücrelerinde zayıf anti-kanser etki (IC<sub>50</sub>: 454 µg/ml) sergilediği ortaya koyulmuştur (42). Sitotoksiste

sonuçlarımız türler arasındaki farklılığı ortaya koyar nitelikte olup, çalışmamızda MCF-7 hücrelerinde *Phlomis lycia* infüzyon ekstresi yüksek sitotoksik etkinliğe sahip olarak IC<sub>50</sub> dozu 42,5 µg/ml olarak belirlenmiştir. Yarmolinsky ve ark. yaptıkları çalışmada, *Phlomis viscosa* etanol ekstresinin MCF-7 hücre canlılığını doksorubisinden bile daha belirgin seviyede azalttığını ortaya koyarak, güçlü anti-kanser etkinliğe sahip olduğunu belirtmişlerdir (43). Bu bilgiyle uyumlu olarak çalışmamızda da, *Phlomis lycia* ekstresinin MCF-7 hücre döngüsünün G<sub>1</sub>-S geçişini belirgin seviyede blokladığı, anti-proliferatif ve apoptotik etki sergilediği ortaya koyuldu. *Phlomis* cinsi bitkilerden *Phlomis leucophracta* ile prostat kanserinde anti-kanser kombinasyon çalışması gerçekleştirilmiş ve *Phlomis leucophracta* ekstresinin paklitaksel ile kombinasyonunun sinerjistik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (25). Benzer şekilde çalışmamızda, *Phlomis Lycia*, ponatinib ile kombine uygulamasında, ponatinib apoptotik etkisini en yüksek seviyede arttıran bitki ekstresi olarak belirlendi. Buna ek olarak ponatinib anti-proliferatif etkisini de güçlendirdiği ortaya koyuldu.

## SONUÇ

Ponatinib ile *Centaurea calolepis* Boiss., *Origanum sipyleum* L. ve *Phlomis lycia* D. Don bitki ekstralarının kombinasyonları, *in vitro* apoptozun indüklenmesi, proliferasyonunun baskılanması ve hücre döngüsünün bloklanması ile MCF-7 ÖR pozitif meme kanseri hücre modelinde anti-kanser aktivitesi sergiledi. Belirlenen yüksek anti-kanser etkilerinin ışığında, Türkiye'de yetişen bu endemik bitki ekstralarının meme kanseri hastalarının tedavisinde potansiyel strateji temsil edebileceği görüşündeyiz.

## Açıklamalar

Çalışmaya ait proje bütçe desteği bulunmaktadır. Çalışmada kullanılan bitki ekstraları TÜBİTAK 110S289 no'lu projeden sağlanmıştır.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar bu makale için çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

## Kaynaklar

1. Arya GC, Kaur K, Jaitak V. Isoxazole derivatives as anticancer agent: A review on synthetic strategies, mechanism of action and SAR studies. *Eur J Med Chem* 2021; 221: 113511.
2. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* 2019; 69 (1): 7-34.
3. Lumachi F, Santeufemia DA, Basso SM. Current medical treatment of estrogen receptor-positive breast cancer. *World J Biol Chem* 2015; 6 (3): 231-9.
4. Eric I, Petek Eric A, Kristek J, Koprivicic I, Babic M. Breast Cancer in Young Women: Pathologic and Immunohistochemical Features. *Acta Clin Croat* 2018; 57 (3): 497-502.
5. Huang WS, Metcalf CA, Sundaramoorthi R, Wang Y, Zou D, Thomas RM, *ve ark*. Discovery of 3-[2-(imidazo[1,2-b]pyridazin-3-yl)ethynyl]-4-methyl-N-{4-[(4-methylpiperazin-1-yl)methyl]-3-(trifluoromethyl)phenyl}benzamide (AP24534), a potent, orally active pan-inhibitor of breakpoint cluster region-abelson (BCR-ABL) kinase including the T315I gatekeeper mutant. *J Med Chem* 2010; 53 (12): 4701-19.
6. Zhou T, Commodore L, Huang WS, Wang Y, Thomas M, Keats J, *ve ark*. Structural mechanism of the Pan-BCR-ABL inhibitor ponatinib (AP24534): lessons for overcoming kinase inhibitor resistance. *Chem Biol Drug Des* 2011; 77 (1): 1-11.
7. O'Hare T, Shakespeare WC, Zhu X, Eide CA, Rivera VM, Wang F, *ve ark*. AP24534, a pan-BCR-ABL inhibitor for chronic myeloid leukemia, potently inhibits the T315I mutant and overcomes mutation-based resistance. *Cancer Cell* 2009; 16 (5): 401-12.
8. Dickson C, Spencer-Dene B, Dillon C, Fantl V. Tyrosine kinase signalling in breast cancer: fibroblast growth factors and their receptors. *Breast Cancer Res* 2000; 2 (3): 191-6.
9. Jitariu AA, Raica M, Cimpean AM, Suciuc SC. The role of PDGF-B/PDGFR-BETA axis in the normal development and carcinogenesis of the breast. *Crit Rev Oncol Hematol* 2018; 131: 46-52.
10. Singh DD, Yadav DK. TNBC: Potential Targeting of Multiple Receptors for a Therapeutic Breakthrough, Nanomedicine, and Immunotherapy. *Biomedicines* 2021; 9 (8): 876
11. Musumeci F, Greco C, Grossi G, Molinari A, Schenone S. Recent Studies on Ponatinib in Cancers Other Than Chronic Myeloid Leukemia. *Cancers (Basel)* 2018; 10 (11): 430
12. Shao W, Li S, Li L, Lin K, Liu X, Wang H, *ve ark*. Chemical genomics reveals inhibition of breast cancer lung metastasis by Ponatinib via c-Jun. *Protein Cell* 2019; 10 (3): 161-77.
13. Kim S, You D, Jeong Y, Yoon SY, Kim SA, Lee JE. Inhibition of platelet-derived growth factor C and their receptors additionally increases doxorubicin effects in triple-negative breast cancer cells. *Eur J Pharmacol* 2021; 895: 173868.
14. Kim S, You D, Jeong Y, Yoon SY, Kim SA, Lee JE. Inhibition of platelet-derived growth factor receptor synergistically increases the pharmacological effect of tamoxifen in estrogen receptor alpha positive breast cancer. *Oncol Lett* 2021; 21 (4): 294.
15. Tekeli Y, Sezgin M, Aktumsek A, Ozmen Guler G, Aydin Sanda M. Fatty acid composition of six *Centaurea* species growing in Konya, Turkey. *Nat Prod Res* 2010; 24 (20): 1883-9.
16. Ozbilgin A, Durmuskahya C, Kayalar H, Ertabaklar H, Gunduz C, Ural IO, *ve ark*. Antileishmanial activity of selected Turkish medicinal plants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 2014;13(12):2047-55.
17. Erel SB, Karaalp C, Bedir E, Kaehlig H, Glasl S, Khan S, *ve ark*. Secondary metabolites of *Centaurea calolepis* and evaluation of cnicin for anti-inflammatory, antioxidant, and cytotoxic activities. *Pharm Biol* 2011; 49 (8): 840-9.
18. Baser K, Özek T, Kürkçüoğlu M, Tümen G. Composition of the essential oil of *Origanum sipyleum* of Turkish origin. *Journal of Essential Oil Research* 1992; 4 (2): 139-42.
19. Durmuşkahya C, Alp H, Hortooğlu ZS, Toktas Ü, Kayalar H. X-ray fluorescence spectroscopic determination of heavy metals and trace elements in aerial parts of *Origanum sipyleum* L from Turkey. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 2016; 15 (5): 1013-5.
20. Kargioğlu M, Cenkcı S, Serteser A, Evliyaoğlu N, Konuk M, Kök MŞ, *ve ark*. An ethnobotanical survey of inner-West Anatolia, Turkey. *Human Ecology* 2008; 36 (5): 763-77.

21. Zengin G, Ferrante C, Orlando G, Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, Recinella L, ve ark. Chemical profiling and pharmaco-toxicological activity of *Origanum sipyleum* extracts: Exploring for novel sources for potential therapeutic agents. *J Food Biochem* 2019; 43 (11): e13003.
22. Saracođlu İ, Harput Üş, Çaliş İ, Ogihara Y. Phenolic Constituents From *Phlomis Lycia*. *Turkish Journal Of Chemistry* 2002; 26 (1): 133-42.
23. Fakir H, Korkmaz M, Güller B. Medicinal Plant Diversity Of Western Mediterreanean Region In Turkey. *Journal Of Applied Biological Sciences* 2009; 3 (2): 33-43.
24. Okcanoğlu TB, Kayabaşı Ç, Süslüer SY, Gündüz C. The Relationship Between Long Non-Coding RNA Expressions and Ponatinib in Breast Cancer. *Cyprus Journal of Medical Sciences* 2019; 4 (2): 125-30.
25. Dogan Sigva ZO, Balci Okcanoglu T, Biray Avcı C, Yılmaz Susluer S, Kayabasi C, Turna B, ve ark. Investigation of the synergistic effects of paclitaxel and herbal substances and endemic plant extracts on cell cycle and apoptosis signal pathways in prostate cancer cell lines. *Gene* 2019; 687: 261-71.
26. Chou TC. Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method. *Cancer Res* 2010; 70 (2): 440-6.
27. Kayabasi C, Yelken BO, Asik A, Okcanoglu TB, Sogutlu F, Gasimli R, ve ark. PI3K/mTOR dual-inhibition with VS-5584 enhances anti-leukemic efficacy of ponatinib in blasts and Ph-negative LSCs of chronic myeloid leukemia. *Eur J Pharmacol* 2021; 910: 174446.
28. Gulla S, Lomada D, Araveti PB, Srivastava A, Murikinati MK, Reddy KR, ve ark. Titanium dioxide nanotubes conjugated with quercetin function as an effective anticancer agent by inducing apoptosis in melanoma cells. *Journal of Nanostructure in Chemistry* 2021: 1-14.
29. Mughees M, Wajid S, Samim M. Cytotoxic potential of *Artemisia absinthium* extract loaded polymeric nanoparticles against breast cancer cells: Insight into the protein targets. *Int J Pharm* 2020;586:119583.
30. Talbert DR, Doherty KR, Trusk PB, Moran DM, Shell SA, Bacus S. A multi-parameter in vitro screen in human stem cell-derived cardiomyocytes identifies ponatinib-induced structural and functional cardiac toxicity. *Toxicol Sci* 2015; 143 (1): 147-55.
31. Çelik Ta, Aslantürk Ös. *Carpobrotus acinaiformis* L. Metanol Ekstresinin Fitokimyasal Taraması ve Ekstrenin İnsan Metastatik Meme Kanseri (MCF-7) ve İnsan Kolon Kanseri (Caco-2) Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik ve Apoptotik Etkisinin Araştırılması. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*; 30 (2): 163-75.
32. Çağlar HO, Süslüer SY, Kavaklı Ş, Gündüz C, Ertürk B, Özkinay F, ve ark. Meme kanseri kök hücrelerinde elajik asit ile indüklenmiş miRNA'ların ifadesi ve elajik asidin apoptoz üzerine etkisi. *Ege Tıp Dergisi* 2017; 56 (4): 183-92.
33. Altundag Em, Becer E, Gencalp D, Vatanserver S. Kuersetin, Kurkumin Ve Kombinasyonlarının Meme Kanseri Hücre Hatları Üzerindeki Antiproliferatif Etkilerinin Araştırılması. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*; 44 (3): 424-36.
34. Yin SY, Wei WC, Jian FY, Yang NS. Therapeutic applications of herbal medicines for cancer patients. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 302426.
35. Nasr FA, Shahat AA, Alqahtani AS, Ahmed MZ, Qamar W, Al-Mishari AA, ve ark. *Centaurea bruguierana* inhibits cell proliferation, causes cell cycle arrest, and induces apoptosis in human MCF-7 breast carcinoma cells. *Mol Biol Rep* 2020; 47 (8): 6043-51.
36. Keyvanloo Shahrestanaki M, Bagheri M, Ghanadian M, Aghaei M, Jafari SM. *Centaurea cyanus* extracted 13-O-acetylsolstitialin A decrease Bax/Bcl-2 ratio and expression of cyclin D1/Cdk-4 to induce apoptosis and cell cycle arrest in MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines. *J Cell Biochem* 2019; 120 (10): 18309-19.
37. Bahmani F, Esmaeili S, Bashash D, Dehghan-Nayeri N, Mashati P, Gharehbaghian A. *Centaurea albonitens* extract enhances the therapeutic effects of Vincristine in leukemic cells by inducing apoptosis. *Biomed Pharmacother* 2018; 99: 598-607.
38. Al Dhaheri Y, Eid A, AbuQamar S, Attoub S, Khasawneh M, Aiche G, ve ark. Mitotic arrest and apoptosis in breast cancer cells induced by *Origanum majorana* extract: upregulation of TNF-alpha and downregulation of survivin and mutant p53. *PLoS One* 2013; 8 (2): e56649.
39. Tuncer E, Unver-Saraydin S, Tepe B, Karadayi S, Ozer H, Karadayi K, ve ark. Antitumor effects of *Origanum acutidens* extracts on human breast cancer. *J BUON* 2013; 18 (1): 77-85.



40. Kubatka P, Kello M, Kajo K, Kruzliak P, Vybohova D, Mojzis J, *ve ark*. Oregano demonstrates distinct tumour-suppressive effects in the breast carcinoma model. *Eur J Nutr* 2017; 56 (3): 1303-16.
41. Kamel KM, Khalil IA, Rateb ME, Elgendy H, Elhawary S. Chitosan-Coated Cinnamon/Oregano-Loaded Solid Lipid Nanoparticles to Augment 5-Fluorouracil Cytotoxicity for Colorectal Cancer: Extract Standardization, Nanoparticle Optimization, and Cytotoxicity Evaluation. *J Agric Food Chem* 2017; 65 (36): 7966-81.
42. Stojkovic D, Gasic U, Drakulic D, Zengin G, Stevanovic M, Rajcevic N, *ve ark*. Chemical profiling, antimicrobial, anti-enzymatic, and cytotoxic properties of *Phlomis fruticosa* L. *J Pharm Biomed Anal* 2021; 195: 113884.
43. Yarmolinsky L, Budovsky A, Ben-Shabat S, Khalfin B, Gorelick J, Bishitz Y, *ve ark*. Recent Updates on the Phytochemistry and Pharmacological Properties of *Phlomis viscosa* Poiret. *Rejuvenation Res* 2019; 22 (4): 282-8.

## Fuchs heterokromik iridosiklit hastalarında kornea biyomekaniği ve kornea değerlendirilmesi

### *Corneal biomechanics and cornea assessment in Fuchs heterochromic iridocyclitis patients*

Semir Yarımada                      Cumali Değirmenci                      Melis Palamar  
Suzan Güven Yılmaz                      Halil Ateş  
Ege Üniversitesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

#### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı Fuchs heterokromik iridosiklit (FHI) tanılı gözler ile sağlıklı diğer gözlerin kornealarının ve kornea biyomekanik özelliklerinin karşılaştırılmasıdır.

**Gereç ve Yöntem:** Fuchs heterokromik iridosiklit tanılı 14 göz (Grup 1) ve sağlıklı diğer gözler (Grup 2) çalışmaya dâhil edildi. Tüm hastalara detaylı bir oftalmolojik bakıyı takiben Ocular Response Analyzer korneal biyomekanik özellikler ve speküler mikroskopi ile santral korneal kalınlık (SKK), korneal endotel hücre dansitesi (KEHD) değerlendirildi.

**Bulgular:** En iyi düzeltilmiş görme keskinliği ve intraoküler basınç istatistiksel olarak benzerdi (p değerleri sırasıyla 0,077 ve 0,557). Korneal biyomekanik parametreleri olan korneal histerezis, korneal rezistans faktör, IOPcc ve IOPg değerleri her iki grupta istatistiksel olarak benzerdi (p değerleri sırasıyla; 0,521, 0,817, 0,980 ve 0,980 idi). Ortalama santral korneal kalınlık Grup 1'de 555,57±42,95 (467-626) mikron ve Grup 2'de 556,5±37,04 (480-623) mikron olarak saptandı (p=0,959). Ortalama korneal endotel hücre dansitesi Grup 1'de 2313±420,22 (1271-2717) ve Grup 2'de 2404,42±326,75 (1566-2834) hücre/mm<sup>2</sup> saptandı (p=0,626).

**Sonuç:** Sağlıklı gözler ile Fuchs Heterokromik İridosiklit tanılı gözler karşılaştırıldığında kornea biyomekanik parametreleri ve korneal endotel hücre dansitesi arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Bu sonuçlar literatürdeki birçok çalışma ile çelişmekte olup daha geniş vaka serileri ile yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Sözcükler:** Fuchs, kornea, üveit.

#### ABSTRACT

**Aim:** To evaluate cornea and corneal biomechanical properties of patients with Fuchs heterochromic iridocyclitis.

**Materials and Methods:** Fourteen FHI positive eyes (Group 1) and the contralateral healthy eyes (Group 2) were included. All patients underwent a detailed ophthalmic examination was performed. Also, Ocular Response Analyzer was used to detect corneal biomechanical properties, and specular microscopic evaluation for corneal endothelial cells count was performed.

**Results:** The mean best corrected visual acuity and intraocular pressure were statistically similar. (p values were 0.077 and 0.557, respectively). Corneal biomechanical properties including corneal hysteresis, corneal resistance factor, IOPcc and IOPg were not statistically significant. (p values were 0.521, 0.817, 0.980 and 0.980, respectively).

Sorumlu yazar: Cumali Değirmenci  
Ege Üniversitesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
E-posta: [cudegirmenci@yahoo.com](mailto:cudegirmenci@yahoo.com)  
Başvuru tarihi: 19.09.2021      Kabul tarihi: 27.12.2021

Mean central corneal thickness in Group 1 and 2 were 555.57±42.95 (467-626), 556.5±37.04 (480-623) micrometer, respectively. The difference was not statistically significant ( $p=0.959$ ). Mean corneal endothelial cell density of Group 1 and Group 2 were 2313±420.22 (1271-2717) and 2404.42±326.75 (1566-2834) cells/mm<sup>2</sup>, respectively. The difference was not statistically significant ( $p=0.626$ ).

**Conclusion:** Conflicting with the literature, no differences were detected in corneal biomechanical properties, central corneal thickness and corneal endothelial cell density in Fuchs Heterochromic Iridocyclitis positive eyes. However, more studies with increasing number of patients are still needed.

**Keywords:** Cornea, Fuchs, uveitis.

## GİRİŞ

Fuchs Heterokromik İridosiklit (FHİ), üveitlerin %2-3'ünden sorumlu, düşük dereceli ön segment inflamasyonu ile seyreden kronik bir patolojidir. Yaşamın 3. ve 4. dekadında daha sık görülür. Her iki cinsiyette eşit oranlarda görülen FHİ, %90 oranında tek taraflı seyretmektedir. Hastalar genellikle asemptomatik olup hastalık rutin göz muayeneleri sırasında saptanmaktadır. Semptomatik olan hastalarda en çok görülen şikâyetler uçuşma ve bulanık görmedir. Biyomikroskop ile yapılan muayenede kornea endotelinde küçük, beyaz, yıldız şeklinde ve homojen dağılım gösteren keratik presipitatlar izlenmektedir (1).

FHİ hastaları genellikle tedavi gerektirmeyen ön üveit ile karakterize olmakla birlikte hastalarda görmeyi tehdit eden katarakt, glokom gibi komplikasyonlar görülebilmektedir. Katarakt sıklığını %52-70,2 arasında bildiren çalışmalar mevcuttur (2, 3).

Glokom bu hasta grubunda %6,5-59 gibi farklı oranlarda saptanır ve tipik olarak tıbbi tedaviye dirençli olup genellikle cerrahi girişim gerektirmektedir (4).

Ocular response analyzer (ORA), kornea biyomekanik parametrelerini ve göz içi basıncını (GİB) ölçebilen bir cihazdır (5). ORA, korneaya uygulanan hava basıncına karşı korneanın vermiş olduğu cevap değerlendirilerek çalışmaktadır. ORA ile alınan ölçümler sonucunda 4 parametre elde edilir. Korneal histerezis (KH), korneanın mekanik deformasyona karşı gösterdiği cevaptır ve korneanın viskoelastik özelliğini yansıtmaktadır (6). Korneal rezistans faktör (KRF), korneanın sertliğini yansıtan bir parametredir ve korneal direncin bir göstergesidir (7). Korneal kompanze edilmiş göz içi basıncı (IOPcc), göz içi basıncına yansıyan korneal etkinin matematiksel olarak ortadan kaldırıldığı bir parametre iken son olarak Goldmann düzeltilmiş göziçi basıncı (IOPg), ortalama göz içi basıncını göstermektedir. ORA, keratokonus, pterijyum gibi patolojilerde ve keratokonus tedavisinde kullanılan penetran keratoplasti ve kollajen cross-linking sonrasındaki

korneal biyomekanik özelliklerdeki değişimi değerlendirmek için de kullanılabilen bir yöntemdir (8-11).

Speküler mikroskopi ise santral kornea kalınlığı, kornea endotel hücre sayısı, hücrelerin şekil ve büyüklüğünü değerlendiren standart bir görüntüleme yöntemidir. Kornea endotelini etkileyebilen durumlarda (katarakt cerrahisi, kornea distrofileri, ön segmenti ilgilendiren inflamatuvar patolojiler gibi) hastaların izleminde önemli bir yere sahiptir (12).

Bu çalışmanın amacı, FHİ olan gözlerde meydana gelen kornea biyomekanik parametrelerinin ORA yardımıyla değerlendirilmesi, speküler mikroskopi ile alınmış santral kornea kalınlığının ve kornea endotel hücre sayısının araştırılmasıdır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Üniversitemiz Uvea Birimi'ne başvuran ve FHİ tanısı konulan hastaların dosyaları retrospektif olarak tarandı. Hastaların klinik olarak aktif olmayan dönemlerinin tıbbi kayıtları incelendi. Saptanan 14 FHİ hastasının hasta gözleri Grup 1, sağlıklı karşı gözleri ise Grup 2 olarak gruplandırıldı. Grupların en iyi düzeltilmiş görme keskinliği (EİDGK), Goldmann aplanasyon tonometresi ile ölçülen göz içi basıncı değerleri, ön ve arka segment muayene bulguları kaydedildi. Ayrıca ORA (Reichert Ophthalmic Instruments, Depew, NY, USA) cihazı yardımıyla alınmış olan CH, CRF, IOPcc, IOPg değerleri ve speküler mikroskopi (NIDEK CEM-530, NIDEK CO., LTD, Japonya) yardımıyla elde edilmiş olan santral kornea kalınlığı (SKK) ve endotel hücre sayı ölçümleri değerlendirmeye alındı.

Ege Üniversitesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 15.05.2019 tarihinde 19-5.1T/63 numaralı onay alındı ve hastalardan onam formu alındı. Çalışmamız Helsinki Bildirgesi'ne uygun şekilde yürütüldü.

İstatistiksel analiz IBM SPSS 20 paket programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar için Mann Whitney U testi kullanıldı, demografik veriler Ki-Kare testi ile karşılaştırıldı. P değeri <0,05 anlamlı olarak kabul edildi.

**Tablo-1.** Çalışmaya dâhil edilen hastaların demografik verileri.

	Grup 1 (ortalama ± SD (min-maks))	Grup 2 (ortalama ± SD (min-maks))	P değeri
Yaş	42,35 ± 10,07 (24-57)	42,35 ± 10,07 (24-57)	
Cinsiyet n (%)			
Kadın	6 (%42,8)	6 (%42,8)	
Erkek	8 (%57,2)	8 (%57,2)	
Taraf n (%)			
Sağ	5 (%35,7)	6 (%42,8)	
Sol	9 (%64,3)	8 (%57,2)	
EİDGK (LogMAR)	0,18 ± 0,21 (0-0,7)	0,07 ± 0,18 (0-0,7)	0,077
GİB (mmHg)	14,57 ± 3,17 (12- 21)	14 ± 2,80 (10-19)	0,557
Lens			
Psödo-faki (katarakt cerrahisi olmuş)	8	0	p=0,001
Kristalin lens (katarakt cerrahisi olmamış)	6	14	

EİDGK: En iyi düzeltilmiş görme keskinliği, GİB: Göz içi basıncı.

**Tablo-2.** Gruplardan elde edilen veriler.

	Grup 1 (ortalama ± SD (min-maks))	Grup 2 (ortalama ± SD (min-maks))	P değeri
CH (mmHg)	9,71 ± 3,93 (3,4-20,1)	10,26 ± 2,30 (7,7-14,9)	0,521
CRF (mmHg)	10,24 ± 3,25 (5,3-19,1)	10,40 ± 2,29 (7,8-15)	0,817
IOPg (mmHg)	16,93 ± 7,96 (7,1-40,2)	15,86 ± 4,16 (8,5-26,4)	0,980
IOPcc (mmHg)	17,96 ± 9,40 (6,9 – 44,9)	16,43 ± 4,42 (9,1- 27,8)	0,980
SKK (mikron)	555,57 ± 42,95 (467-626)	556,5 ± 37,04 (480-623)	0,959
Endotel hücre sayısı (hücre/mm <sup>2</sup> )	2313 ± 420,22 (1271-2717)	2404,42 ± 326,75 (1566-2834)	0,626

CH: Korneal histerezis, IOPcc: Korneal kompanze edilmiş göz içi basıncı, IOPg: Goldmann ile doğrulanmış göz içi basıncı, CRF: Kornea rezistans faktörü, SKK: Santral korneal kalınlık.

## BULGULAR

Çalışmaya dâhil edilen hastaların ortalama yaşları 42,35 ± 10,07 (24-57) olarak tespit edildi. Grup 1'de ortalama EİDGK (LogMAR) 0,18 ± 0,21 (0-0,7), Grup 2'de 0,07 ± 0,18 (0-0,7) idi (p=0,077). Grup 1'de tüm gözlerde (%100) diffüz yıldız şekilli keratik presipitatlar, yedi (%50) hastada uçuşma, iki (%14,2) hastada cerrahi ile (bir hastaya trabekülektomi, bir hastaya Ex-Press tüp implantasyonu) tedavi edilmiş glokom saptandı. Grup 1'de GİB 14,57 ± 3,17 (12- 21) mmHg, Grup 2'de 14 ± 2,80 (10-19) mmHg olarak ölçüldü. GİB açısından gruplar arasındaki fark anlamlı değildi (p=0,557). Grup 1'de yer alan sekiz göz psödo-fakik, altı göz fakik iken Grup 2'de yer alan tüm gözler fakik idi (p=0,001) (Tablo-1).

Her iki grup gözde de anlamlı arka segment patolojisi saptanmadı. Gruplar arasında KH, KRF, IOPcc, IOPg, SKK, ortalama endotel hücre sayıları açısından anlamlı fark görülmedi (Tablo-2).

## TARTIŞMA

FHİ, kronik ve sıklıkla tek taraflı seyreden düşük dereceli bir ön segment inflamasyonudur. Katarakt, glokom ve kistoid makula ödemi gibi görmeyi tehdit edebilen komplikasyonlara neden olabilmektedir. Bu çalışmada FHİ hastalarında kornea ve korneal biyomekanik özellikler değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçların karşı sağlıklı gözlerden farklı olmadığı gösterilmiştir.

Üveit gibi ön segment inflamasyonuna neden olan durumlar korneada ve aköz hümörde yapısal

ve fonksiyonel değişiklikler meydana getirebilmektedir. Mocan ve arkadaşları yaptıkları bir çalışma ile FHİ hastalarında endotel hücre dansitesinde azalma olduğunu gözlemlemişlerdir (13). Alanko ve arkadaşları da benzer şekilde, FHİ hastalarında endotel hücre dansitesinde kontrol grubuna oranla %4,9 oranında azalma saptamışlardır (14). Szepessy ve arkadaşlarının 15 hastanın 30 gözünü dâhil ettikleri çalışmada ise FHİ olan gözlerde endotel hücre sayısı ve yanı sıra SKK'nın daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (15). Sen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da, FHİ olan gözlerin SKK'larının diğer gözler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha ince olduğunu bildirmişlerdir (16). Özdal ve arkadaşlarının, 51 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada ise FHİ olan gözlerde, yaşları uyumlu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SKK'da istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (17). Bu çalışmada ise SKK ve kornea endotel sayısının FHİ olan gözlerde sağlıklı karşı gözlerle göre sayısal olarak daha düşük olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı izlenmiştir. Bu sonuç hasta sayısının az olması ile ilişkilendirildi.

FHİ, sekonder glokoma neden olabilen bir patolojidir. Bu nedenle hastaların takibinde erken glokom tanısı görsel prognoz açısından önem arz etmektedir (18). Bu konuda yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde FHİ hastalarında glokom sıklığı %6,5-59 gibi geniş bir yelpazede görülmekte iken bu hastalarda genellikle trabekülektomi gibi cerrahi girişim ihtiyacı görülmektedir (4, 17, 19, 20). Bu çalışmada da literatür ile uyumlu olacak şekilde glokom sıklığı %14,2 olarak saptanmış ve tüm hastalara cerrahi girişim ihtiyacı doğmuştur.

FHİ gibi ön segment inflamasyonuna neden olabilen patolojilerin kornea biyomekaniğinde nasıl bir değişim gerçekleştirdiği konusunda tam bir uzlaşa sağlanamamıştır. Çankaya ve

arkadaşlarının yapmış olduğu oküler Behçet hastalığı olan gözler ile sağlıklı gözlerin karşılaştırıldığı çalışmada, KRF ve IOPg seviyeleri aktif oküler Behçet'i olan gözlerde daha yüksek bulunmakla birlikte, KH ve IOPcc değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (21). Turan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, rekürren anterior üveitli olgularda KH ve KRF'de istatistiksel olarak anlamlı düşüklük saptanmıştır. Bu değişikliklerin kronik inflamasyonun kornea elastisitesinde azalma meydana getirmesi sonucu olarak geliştiği düşünülmüştür (22). Ancak, Sen ve arkadaşlarının 38 FHİ'li göz ile 42 sağlıklı gözü karşılaştırdıkları çalışmada, KH, KRF ve IOPg değerleri FHİ hastalarında sağlıklı gözlerle göre düşük saptanmıştır. IOPcc değerlerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p = 0,231$ ) (16). Bu çalışmada ise FHİ'ye sahip gözler ile sağlıklı karşı gözler karşılaştırıldığında kornea biyomekanik parametrelerinin hiçbirinde farklılık izlenmemiştir. Çalışmaya alınan hastaların hepsinde göz içi basınçları, cerrahi yöntemler ve çeşitli topikal damlalar ile kontrol altına alınmıştır. Bu nedenle gözler arasında anlamlı fark oluşmadığı düşünülmektedir.

## SONUÇ

Fuchs Heterokromik İridosiklitli gözler ile aynı kişinin sağlıklı diğer gözü karşılaştırıldığında kornea biyomekanik parametreleri olan KRF, KH, IOPg, IOPg ile SKK ve kornea endotel hücre sayısında anlamlı fark saptanmamıştır. Bu sonuçlar literatürdeki birçok çalışma ile çelişmekte olup, inaktif hastalığı ve kontrol altına alınmış göz içi olan hastalardan oluşan daha geniş vaka serileri ile yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

## Kaynaklar

1. Monteiro LG, Orefice F. Fuchs heterochromic cyclitis. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 2000: 796-806.
2. Nalcacioglu P, Cakar Ozdal P, Simsek M. Clinical Characteristics of Fuchs' Uveitis Syndrome. Turk J Ophthalmol 2016; 46: 52-7.
3. Yang P, Fang W, Jin H, Li B, Chen X, Kijlstra A. Clinical features of Chinese patients with Fuchs' syndrome. Ophthalmology 2006; 113: 473-80.
4. Jones NP. Fuchs' Heterochromic Uveitis: a reappraisal of the clinical spectrum. Eye 1991; 5: 649-661.
5. ElMallah MK, Asrani SG. New ways to measure intraocular pressure. Current opinion in ophthalmology 2008; 19: 122-6.

6. Kotecha A. What biomechanical properties of the cornea are relevant for the clinician? *Survey of ophthalmology* 2007; 52: 109-14.
7. Shah S, Laiquzzaman M, Bhojwani R, Mantry S, Cunliffe I. Assessment of the biomechanical properties of the cornea with the ocular response analyzer in normal and keratoconic eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 3026-31.
8. Gobeka H, Barut Selver Ö, Palamar Onay M, Egrilmez S, Yagci A. Corneal Biomechanical Properties Of Keratoconic Eyes Following Penetrating Keratoplasty. *Turk J Ophthalmol* 2018; 48: 171-7.
9. Kara N, Baz Ö, Bozkurt E, Yazici AT, Demirok A, Yılmaz ÖF. Evaluation of Corneal Biomechanical Properties Measured By Ocular Response Analyzer in Eyes with Pterygium. *Turk J Ophthalmol* 2011;41:94-7.
10. Lau W, Pye D. A clinical description of Ocular Response Analyzer measurements. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 2911-6.
11. Küçümen RB, Sahan B, Yildirim CA, Çiftçi F. Evaluation of Corneal Biomechanical Changes After Collagen Crosslinking in Patients with Progressive Keratoconus by Ocular Response Analyzer. *Turk J Ophthalmol* 2018; 48: 160-5.
12. Kanavi MR, Soheilian M, Yazdani S, Peyman GA. Confocal scan features of keratic precipitates in Fuchs heterochromic iridocyclitis. *Cornea* 2010; 29: 39-42.
13. Mocan MC, Kadayifcilar S, Irkec M. In vivo confocal microscopic evaluation of keratic precipitates and endothelial morphology in Fuchs' uveitis syndrome. *Eye* 2012; 26: 119-25.
14. Alanko HI, Vuorre I, Saari KM. Characteristics of corneal endothelial cells in Fuchs' heterochromic cyclitis. *Acta Ophthalmol* 1986; 64: 623-31.
15. Szepessy Z, Toth G, Barsi A, Kranitz K, Nagy ZZ. Anterior Segment Characteristics of Fuchs Uveitis Syndrome. *Ocul Immunol Inflamm* 2016; 24: 594-8.
16. Sen E, Ozdal P, Balikoglu-Yilmaz M et al. Are There Any Changes in Corneal Biomechanics and Central Corneal Thickness in Fuchs' Uveitis? *Ocul Immunol Inflamm* 2016; 24: 561-7.
17. Özdal PÇ, Yazıcı A, Elgin U, Öztürk F. Central corneal thickness in Fuchs' uveitis syndrome. *Turk J Ophthalmol* 2013; 43: 225-8.
18. Shah S, Laiquzzaman M, Mantry S, Cunliffe I. Ocular response analyser to assess hysteresis and corneal resistance factor in low tension, open angle glaucoma and ocular hypertension. *Clinical & Experimental Ophthalmology* 2008; 36: 508-13.
19. Tugal-Tutkun I, Guney-Tefekli E, Kamaci-Duman F, Corum I. A cross-sectional and longitudinal study of Fuchs uveitis syndrome in Turkish patients. *Am J Ophthalmol* 2009; 148: 510-5.
20. Esfandiari H, Loewen NA, Hassanpour K, Fatourehchi A, Yazdani S, Wang C. Fuchs heterochromic iridocyclitis-associated glaucoma: a retrospective comparison of primary Ahmed glaucoma valve implantation and trabeculectomy with mitomycin C. *F1000Research* 2018; 7: 876.
21. Cankaya C, Kalayci BN. Corneal Biomechanical Characteristics in Patients with Behcet Disease. *Semin Ophthalmol* 2016; 31: 439-45.
22. Turan-Vural E, Torun Acar B, Sevim MS, Buttanri IB, Acar S. Corneal biomechanical properties in patients with recurrent anterior uveitis. *Ocul Immunol Inflamm* 2012; 20: 349-53.

## Hepatit-B virüs ilişkili hepatosellüler karsinomda tümöral glipikan 3 mRNA seviyesinin diagnostik ve prognostik biyobelirteç olabilme potansiyelinin entegratif transkriptomik meta-analiz ve biyoinformatik ile değerlendirilmesi

*Evaluation of tumoral glypican 3 mRNA level as a diagnostic and prognostic biomarker for hepatitis-b virus-associated hepatocellular carcinoma by an integrative transcriptomic meta-analysis and bioinformatics*

Sevcan Atay

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı HBV-ilişkili hepatosellüler kansinom hastalarında tümöral GPC3 mRNA seviyesinin diagnostik ve prognostik biyobelirteç olabilme potansiyelinin değerlendirilmesidir.

**Gereç ve Yöntem:** Eşlenik tümör içermeyen karaciğer dokularına göre HBV-ilişkili HCC tümör dokularında GPC3 mRNA ekspresyonu entegratif transkriptomik meta-analiz yöntemi ile belirlendi. Sonuçlar farklı bir hasta kohortunda valide edildi ve GPC3 mRNA seviyesi ile klinik değişkenler arasındaki ilişki değerlendirildi.

**Bulgular:** Meta-analize 4 farklı veri setinden (GSE19665;GSE84402;GSE121248;GSE55092) HBV-ilişkili hepatosellüler karsinom dokuları (n=61) ile eşlenik tümör içermeyen dokulara (n=61) ait transkriptomik veriler dahil edildi. GPC3 mRNA seviyesi'nin eşlenik dokulara göre tümörde daha yüksek olduğu bulundu (kat değişimi=12,88; p=0; FDR=0). Sonuçlar GSE14520 veri setinde (HBV-ilişkili HCC tümör (n)=203;eşlenik non-tümöral doku (n)=203) valide edildi (log-kat değişimi= 4,82; adj.p=1, 43 E-79). ROC analizi sonucunda GPC3 mRNA seviyesinin tümör dokularını tümör içermeyen eşlenik karaciğer dokularından yüksek spesifite ve sensitivite ile ayırabildiği bulundu (n=203;AUC=0,9108;%95CI=0,08792-0,9424;p<0,0001). Tümöral GPC3 mRNA seviyesi ile hastalarda genel sağkalım (HR (logrank)= 0,81; %95CI=0,5223-1,2771; p= 0,3663), 3 yıl içinde rekürrens gelişimi (p=0.5793) ya da erken (<1 yıl) ve geç rekürrens (>3 yıl) (p= 0.9950) arasında bir ilişki bulunmadı. Çok-değişkenli Cox orantılı tehlikeler regresyon analizleri sonucunda da GPC3 mRNA seviyesi ile genel sağkalım arasında bir ilişki bulunmadı. Yüksek GPC3 mRNA seviyesi yüksek serum AFP seviyesi, küçük tümör boyutu ve aktif viral replikasyon ile ilişkili bulundu. GPC3 mRNA seviyesi CLIP evre 0'a göre evre 1'de daha yüksekti, fakat TNM ve BCLC evreleme arasında ilişki yoktu.

**Sonuç:** Çalışma sonuçları HBV-ilişkili HCC ve yakın tümör içermeyen karaciğer doku ayırımında GPC3 mRNA seviyesinin yüksek spesifite ve sensitivite ile iş görebilecek bir diagnostik biyobelirteç olma potansiyelinin oldukça yüksek, fakat prognostik bir biyobelirteç olabilme potansiyelinin düşük olduğunu önermektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Hepatit B virüsü, hepatosellüler karsinom, glipikan 3, GPC3, biyobelirteç.

### ABSTRACT

**Aim:** The aim of this study is to evaluate the potential of GPC3 mRNA level as a diagnostic and prognostic biomarker for HBV-associated HCC.

**Materials and Methods:** GPC3 mRNA expression in HBV-associated HCC tumor tissues compared to matched adjacent tissues was evaluated by integrative transcriptomic meta-analysis. The results were validated in a different patient cohort and the possible associations between GPC3 mRNA level and the clinical variables were evaluated.

Sorumlu yazar: Sevcan Atay  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı,  
İzmir, Türkiye  
E-posta: sevcan.atay@hotmail.com  
Başvuru tarihi: 31.08.2021 Kabul tarihi: 10.01.2022

**Results:** Transcriptomic data of HBV-associated HCC tissues (n=61) and matched adjacent tissues (n=61) from four datasets (GSE19665;GSE84402;GSE121248;GSE55092) were included in the meta-analysis. GPC3 mRNA level was found to be higher in tumors than adjacent tissues (fold change=12.88; p= 0;FDR=0). The result was validated in GSE14520, (HBV-associated HCC(n)=203; matched adjacent tissue(n)=203), (log-fold-change= 4.82; adj.p=1.43E-79). It was found that GPC3 mRNA level could distinguish HCC from adjacent tissues with high specificity and sensitivity (AUC=0.9108;95%CI=0.08792-0.9424;p<0.0001). There was no association between tumoral GPC3 mRNA level and overall survival (HR (logrank)=0.81;95%CI=0.5223-1.2771;p=0.3663), recurrence within 3 years (p=0.5793), and early, or late recurrence (p= 0.9950). Multivariate Cox proportional hazards regression analyzes also found no association between GPC3 mRNA level and overall survival. High GPC3 mRNA level was associated with high serum AFP level, small tumor size and active viral replication. GPC3 mRNA level was higher at stage 1 than CLIP stage 0 but showed no association with TNM and BCLC staging.

**Conclusion:** The results of the study suggest that the GPC3 mRNA level has the potential to be a diagnostic biomarker that can work with high specificity and sensitivity in differentiating between HBV-associated HCC and adjacent tissues. However, its potential to be a prognostic biomarker is low.

**Keywords:** Hepatitis B virus, hepatocellular carcinoma, glypican 3, GPC3, biomarker.

## GİRİŞ

Hepatoselüler karsinom (HCC), karaciğer tümörlerinin %90'ını oluşturur ve dünya çapında kansere bağlı ölümlerin dördüncü önde gelen nedenidir (1). Çoğu durumda, hastalığın ileri evrelerde teşhis edilmesi, hastaların tedavi seçeneklerinden elde edeceği faydayı sınırlayan ve hastaların hayatta kalma oranlarını önemli ölçüde azaltan bir faktördür (1). Hepatit B (HBV) hastalarında enfekte hepatositlerden virüsün intrahepatik kovalent olarak kapalı dairesel DNA'sının antiviral tedavi ile elimine edilememesi, bu hastalarda tedavi sonrasında siroza ve HCC'ye progresyon gözlenebilmesine sebep olabilmektedir (2, 3). Bu sebeple, HBV hastalarında HCC gelişiminin düzenli takibinin gerçekleştirilebilmesi için güvenilir erken tanı biyobelirteçlerine ihtiyaç bulunmaktadır.

Glypican 3 (GPC3) klinikte immünohistokimya (IHC) yöntemi pozitif boyamasının HCC tanısına yardımcı olduğu bilinen bir biyobelirteçtir (4). Karaciğer biyopsilerinin IHC ile değerlendirilmesi karaciğer hastalıklarının değerlendirilmesinde altın standart olarak kabul edilse de, GPC3 immünreaktivitesinin fokal olabileceği ve hepatoselüler karsinomun oldukça yüksek intratümöral heterojeniteye sahip olması nedeniyle biyopsi örneklerinde negatif boyamanın HCC diagnozunu dışlayamayacağı belirtilmiştir (5). Kronik hepatit B yönetimi için daha hassas ve güvenilir biyobelirteç analizlerine duyulan ihtiyaç devam etmektedir.

Mesajcı RNA seviyesinde gerçekleştirilen moleküler analizler histopatolojik incelemeye

kıyasla kantitatif ve daha hassas sonuç verebilmeleri açısından avantajlı yöntemlerdir. Bu çalışmada, kamusal veri bankalarından elde edilen transkriptomik ve klinik veriler kullanılarak hepatit B virüsü ilişkili hepatoselüler karsinom hastalarında tümöral GPC3 mRNA seviyesinin diagnostik ve prognostik biyobelirteç olabilme potansiyeli literatürde ilk kez değerlendirilmiştir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Gene Expression Omnibus Veri Kümelerinin Seçimi

Bu çalışmada NCBI Gene Expression Omnibus (GEO) veri bankasında depolanan transkriptomik veriler kullanılmıştır. NCBI Gene Expression Omnibus (GEO), hepatoselüler karsinom dokularına ait transkriptomik verileri içeren veri setleri açısından taranmıştır. İnküzyon kriterleri; i) insan kaynaklı hepatoselüler karsinom tümör dokuları ve bu dokulara eşlenik komşu tümör içermeyen karaciğer dokuları, ii) hastalığın etiolojisinin hepatit B virüs enfeksiyonu olduğu kesin olarak belirtilmiş örnekler, iii) kullanılan arraylerin standart platformlara ait olması ve iv) mikroarraylerin tek kanallı olması olarak belirlenmiştir.

### Ham Verilerin Ön İşlenmesi ve Array Kalite Kontrolü

Çalışma grubuna dahil edilecek olan veri kümelerine ait ham transkriptomik verileri içeren sinyal yoğunluğu dosyaları indirilmiştir. Her bir veri setine ait ham veriler GEAP (Gene Expression Analysis Platform Versiyon 0.4.0)



yazılımına yüklenerek Affymetrix Expresso algoritması ile normalize edilmiştir.

RMA normalize log<sub>2</sub> sinyal yoğunluklarını içeren normalize gen ekspresyon matrisi dosyaları ExAtlas yazılımı kullanılarak ExAtlas klavuzuna uygun olarak ve önceden bildirdiğim şekilde veri kalitesi değerlendirmesine tabi tutulmuştur (6, 7).

### **GPC3 Gen Ekspresyon Seviyelerinin Entegratif Transkriptomik Meta-Analiz ile Değerlendirilmesi**

GPC3 mRNA seviyesinin HBV ilişkili HCC dokularında eşlenik tümör içermeyen karaciğer dokularına göre değerlendirilebilmesi için entegratif transkriptomik meta-analiz önceki çalışmamda uyguladığım protokolün modifikasyonu ile gerçekleştirildi (7). Modifikasyonların da dahil olduğu meta-analiz protokolünü gerçekleştirmek için öncelikle kalite kontrol aşamasını geçemeyen veriler çalışma dışında bırakılmıştır. Kalite kontrol aşamasını geçen verileri içeren RMA normalize log<sub>2</sub> tabanındaki normalize sinyal yoğunluğu dosyaları ExAtlas yazılımına yükledikten sonra ExAtlas programının bir opsiyonu olan her bir veri setinde her bir gen için en iyi prob bırakılmıştır. Meta-analizi gerçekleştirmek için çalışmalar arasındaki heterojenliğin varyansını hesaba katan rastgele etkiler (Random effects model) yöntemi kullanıldı. Transkriptomik meta-analizde her bir tümör dokusuna ait gen ekspresyon profili, komşu eşlenik tümör içermeyen karaciğer dokusuna ait profil ile çift karşılaştırması yöntemi kullanılarak karşılaştırıldı. Yanlış keşif oranı (FDR) 0,05'ten az ve gen ekspresyonundaki değişiklik  $\geq 2$  kat anlamlı kabul edildi. Analiz sonucu GPC3 mRNA seviyesi için sınırlandırıldı ve etki kombine kat değişikliği olarak sunuldu.

### **Eksternal Validasyon Grubu ve ROC Analizi**

Validasyon analizi NCBI GEO2R ile gerçekleştirildi. Benjamini & Hochberg (yanlış keşif oranı, FDR) düzeltilmesi uygulanmış p değeri (adj. p) 0,05'ten az ve gen ekspresyonundaki değişiklik  $\geq 2$  kat anlamlı kabul edildi. ROC (receiver operating characteristic curve) analizi Graphpad Prism 8.0.1 programı ile gerçekleştirildi. Analizde 209220\_at probuna ait RMA normalize log<sub>2</sub> tabanında sinyal yoğunlukları kullanıldı.

### **GPC3 mRNA Seviyesinin HBV-ilişkili Hepatosellüler Karsinom Hastalarında Prognostik Değeri**

GPC3 tümöral mRNA ekspresyonunun HBV-ilişkili HCC hastalarında genel sağkalım üzerine etkisi Log-rank (Mantel-Cox) testi ile gerçekleştirildi. Hasta grubu GPC3 mRNA seviyesi baz alınarak düşük ve yüksek ekspresyon olmak üzere iki gruba ayrıldı. %95 güven aralığı (%95 CI), yüksek ekspresyona göre değerlendirilmiş tehlike oranı (HR) ve p değeri hesaplanarak Kaplan-Meier hayatta kalma grafiğinde gösterildi.

GPC3 tümöral mRNA ekspresyonunun HBV-ilişkili HCC hastalarında iki grup arasında farklılık gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Birden fazla hasta grubundaki karşılaştırmalar Kruskal-Wallis Dunn's multiple comparisons test ile gerçekleştirildi. GPC3 mRNA seviyesi ile ilişkili bulunan klinik parametreler ve GPC3 mRNA seviyesinin genel sağkalım üzerine etkilerinin belirlenmesi için tek değişkenli Cox orantılı tehlikeler regresyon analizi gerçekleştirildi. GPC3 mRNA seviyesinin ilişkili bulunduğu klinik parametreler göz önüne alındığında tehlike oranını tahmin etmek için çok değişkenli bir analiz yapıldı. Cox orantılı tehlikeler regresyon analizleri XLSTAT ile diğer tüm istatistiksel analizler ise Graphpad Prism 8.0.1 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm analizlerde p değerinin 0,05'ten az olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## **BULGULAR**

### **GPC3 mRNA seviyesi HBV-ilişkili HCC tümör dokularında yakın eşlenik tümör içermeyen karaciğer dokularına göre daha yüksektir**

Çalışmaya dahil edilen veri kümeleri Tablo-1'de gösterilmiştir. Entegratif transkriptomik meta-analize 4 farklı veri setinden (GSE19665 (8), GSE84402 (9), GSE121248 (10), GSE55092 (11)) kalite kontrolünden geçen HBV-ilişkili hepatosellüler karsinom dokuları (n=61) ile eşlenik tümör içermeyen karaciğer dokularına (n=61) ait transkriptomik veriler dahil edildi. Meta-analiz sonucunda GPC3 mRNA seviyesinin tümör dokularında yakın tümör içermeyen karaciğer dokularına göre 12,883 kat daha yüksek olduğu belirlendi (p=0, FDR=0).

**Tablo-1.** Çalışmaya dahil edilen transkriptomik veri setleri.

	GEO ID	Platform	Tümör ve eşlenik doku çifti (n)	Referans
<b>Entegratif Transkriptomik Meta-Analize Dahil Edilen Veri Setleri</b>	GSE19665	Affymetrix Human Genome U133 Plus	5	(8)
	GSE84402	2.0 Array	13	(9)
	GSE121248		37	(10)
	GSE55092		6	(11)
<b>Validasyon ve Prognostik Analizler için kullanılan Veri Seti</b>	GSE14520 (LCS Kohort 2)	Affymetrix HT Human Genome U133A Array	203	(12)

**Tablo-2.** GSE14520 veri setinden çalışmanın inklüzyon kriterlerine uyan ve çalışmaya dahil edilen hastalara ait klinik değişkenler.

Değişkenler	Kategoriler	Yüzde (%) ya da Ort. ± St.D.
Etiyoloji	HBV	100
Cinsiyet	K	12.808
	E	87.192
Yaş	-	50.754 ± 10.586
HBV Aktif Viral Replikasyon	Evet (AVR-CC)	25.123
	Hayır (CC)	74.877
ALT(>/<=50U/L)	Yüksek	40.887
	Düşük	59.113
Ana tümör boyutu (>/<=5 cm)	NA	0.493
	Büyük	34.975
	Küçük	64.532
Multinodüler	Hayır	79.803
	Evet	20.197
Siroz	Hayır	6.897
	Evet	93.103
TNM Evreleme	I	42.857
	II	36.453
	III	1.478
	IIIA	11.330
	IIIB	6.404
	IIIC	1.478
BCLC Evreleme	0	9.360
	A	68.473
	B	10.345
	C	11.823
CLIP Evreleme	0	44.828
	1	33.498
	2	15.271
	3	4.433
	4	1.478
	5	0.493
AFP (>/<=300ng/ml)	NA	1.478
	Yüksek	44.828
	Düşük	53.695

HBV; Hepatit B virüsü, K; kadın, E;erkek, AVR-CC; Aktif viral replikasyonu olan kronik taşıyıcı, CC; kronik taşıyıcı, ALT; serum alanin aminotransferaz, BCLC; Barselona Kliniği Karaciğer Kanseri, CLIP; Karaciğer Kanseri İtalyan Programı, AFP; serum alfa-fetoprotein. Yaş ortalama ± standart sapma, geri kalan değerler total hasta sayısına göre yüzde olarak ifade edilmiştir.

### **GPC3 mRNA seviyesi HBV-ilişkili HCC için İyi Bir Diagnostik Biyobelirteç Adayıdır**

Elde edilen bu anlamlı tümör mRNA yüksekliği ardından GSE14520 veri setinde hepatosellüler karsinom ve yakın tümör içermeyen eşlenik karaciğer dokularına ait transkriptomik verilerini içeren LCS-Kohort 2'de (n=445) (12) valide edilmiştir. Bu grupta gerçekleştirilen gen ekspresyon analizi sonucunda GPC3 mRNA seviyesinin tümör dokularında (n=203) yakın tümör içermeyen karaciğer dokularına (n=203) göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (logaritmik kat değişimi=4,82, adj. p=1,43E-79).

LCS-Kohort 2 grubunda gerçekleştirilen ROC analizi sonucunda GPC3 mRNA seviyesinin tümör dokularını tümör içermeyen eşlenik karaciğer dokularından yüksek spesifite ve sensitivite ile ayırabildiği bulunmuştur (AUC=0.9108, Std. hata=0.01, %95 CI=0,08792-0,9424, p <0,0001), (Şekil-1).

### **GPC3 mRNA Seviyesinin HBV-ilişkili Hepatosellüler Karsinom Hastalarında Prognostik Biyobelirteç Olma Potansiyeli Düşüktür**

GPC3 mRNA seviyesinin HBV-ilişkili hepatosellüler karsinom hastalarında prognostik değerinin belirlenmesi için LCS-Kohort 2 hasta grubuna ait klinik ve transkriptomik veriler kullanıldı. LCS Kohortundan çalışmaya uygun bulunan ve dahil edilen hastalara ait klinik veriler Tablo-2'de gösterilmektedir.

GPC3 mRNA seviyesi ile HBV-ilişkili HCC hastalarında tanı sonrası genel sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı (HR (logrank)=0,81, %95 CI= 0,5223-1,2771, p= 0,3663), (Şekil-2). Tanı sonrası 3 yıl içinde rekürans gelişen (n=92) ve gelişmeyen (n=78) hastalar arasında tümör GPC3 mRNA seviyesi açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0.5793), (Şekil-3A). Rekürans gelişen hastalar erken rekürans (n=49) ve geç rekürans gelişen (n=21) olarak iki gruba ayrıldığında aralarında GPC3 mRNA seviyesi açısından bir farklılık gözlenmedi (p= 0.9950), (Şekil-3B).

GPC3 mRNA seviyesinin ana tümör boyutu 5 cm'den küçük/eşit olan tümörlerde 5 cm'den büyük olan tümörlere göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulundu (p=0.0069), (Şekil-4A). Fakat GPC3 mRNA seviyesi ile tümörün multinodüler olması ile bir ilişki bulunmadı (p=0.9535), (Şekil-4B).

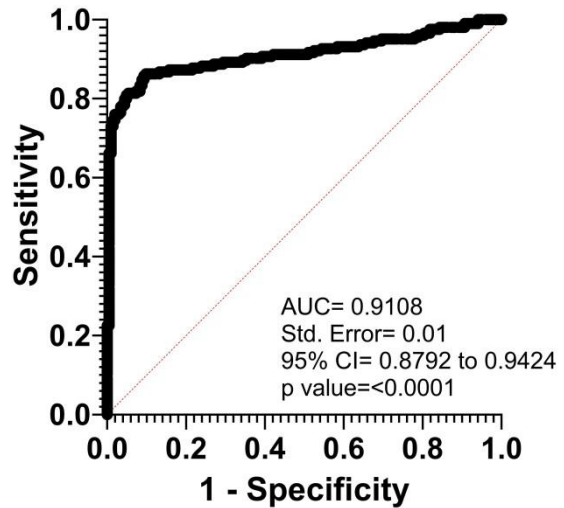
TNM derecelendirmesi I (n=87), II (n=74) ve III (n=42) olan hastalar arasında tümör GPC3 mRNA seviyesi anlamlı bir farklanma göstermedi (p>0.9999), (Şekil-5A). BCLC evrelemesine göre evre 0 (n=19), A (n=139), B (n=21) ve C (n=24) olan hasta gruplarında da benzer şekilde GPC3

mRNA seviyesi gruplar arasında farklı bulunmadı (p>0,05), (Şekil-5B). Hasta sayılarının evre 0 ile B ve C evrelerinde az olduğu göz önüne alınarak analiz evre 0-A (n=158) ve B-C evrelerindeki hastalar (n=45) arasında gerçekleştirildiğinde de bulgu değişmedi (p=0,70), (Şekil-5C).

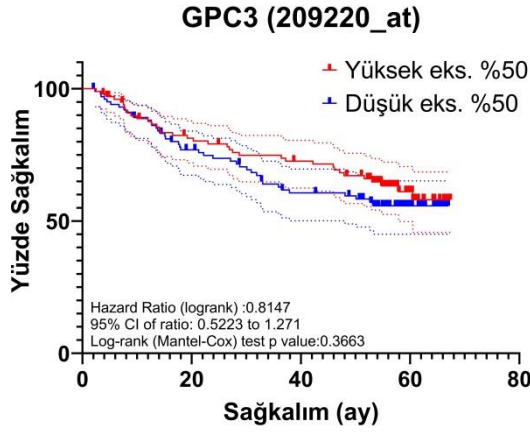
CLIP evrelemesinde hastalar evre 0, 1 ve 2-5 olarak üç gruba ayrıldığında, evre 0'a göre evre 1'de GPC3 mRNA seviyesinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü (p=0.0489). Fakat CLIP evre 0'a karşı 2-5. evrelerde GPC3 mRNA seviyesi değerlendirildiğinde benzer bir yükseklik gözlenmedi (p=0.2270), (Şekil-5D).

Serum alanin aminotransferaz (ALT) seviyesi 50U/L'den yüksek (n=83) ve düşük (n=120) olan hastalarda tümör GPC3 seviyesi arasında bir farklılık bulunmamışken (p=0.9785), (Şekil-6A), serum alfa-fetoprotein (AFP) seviyesi 300ng/ml'den yüksek olan hasta grubunda (n=91), düşük olan hasta grubuna (n=109) göre tümör GPC3 mRNA seviyesi anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p=0.0002), (Şekil-6B).

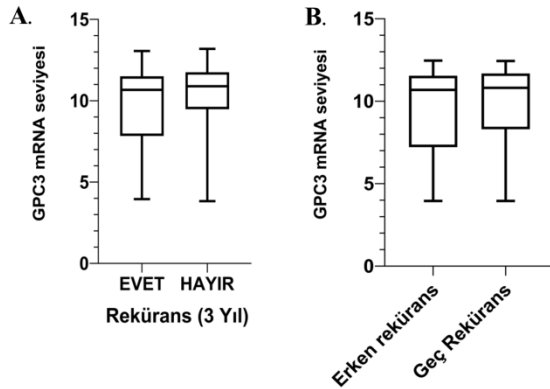
Bunlarla birlikte, viral replikasyon devam eden hastalarda (n=51) kronik taşıyıcı hasta grubuna göre (n=152) tümör GPC3 mRNA seviyesinin daha yüksek olduğu tespit edildi (p=0.0495), (Şekil-6C).



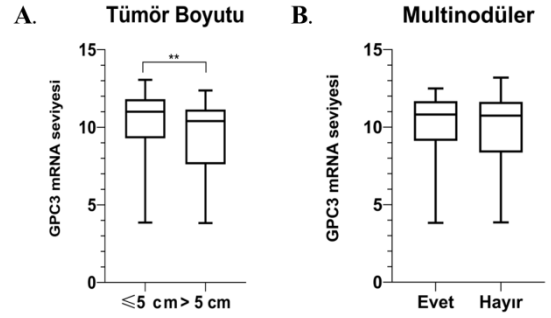
**Şekil-1.** Grafikte gösterilen ROC eğrisi, tümör GPC3 mRNA seviyesinin HBV-ilişkili hepatosellüler kanser dokularını eşlenik tümör içermeyen karaciğer dokularından ayırt etmedeki diagnostik etkinliğini değerlendirmektedir. ROC eğrisi analizi GSE14520 LCS-kohort-2 veri setinden çalışmaya uygun bulunan hastalara ait transkriptomik ve klinik veriler kullanılarak gerçekleştirildi. Analiz sonuçlarına ait AUC (eğri altındaki alan) değeri, standart hata, %95 güven aralığı (%95 CI) ve p değeri grafikte gösterilmektedir.



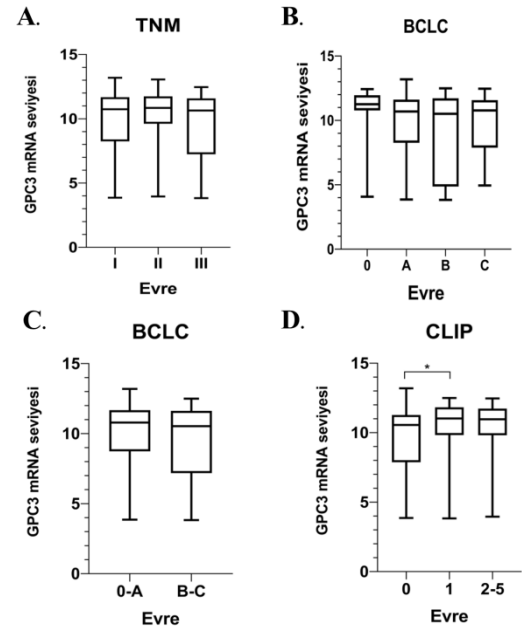
**Şekil-2.** Tümöral GPC3 gen ekspresyonu, HBV-ilişkili hepatosellüler kanser hastalarında genel sağkalım oranı ile ilişkili değildir. Kaplan-Meier hayatta kalma grafiği, GSE14520 LCS-kohort-2 veri setinden çalışmaya uygun bulunan hastalara ait transkriptomik ve klinik veriler kullanılarak oluşturuldu. Tehlike oranı (HR), %95 güven aralığı (%95 CI) ve log-rank p değerleri grafikte sunulmaktadır. Genel sağkalım küratif operasyondan sonra herhangi bir hastalıktan ölüme kadar geçen süre olarak tanımlanmıştır.



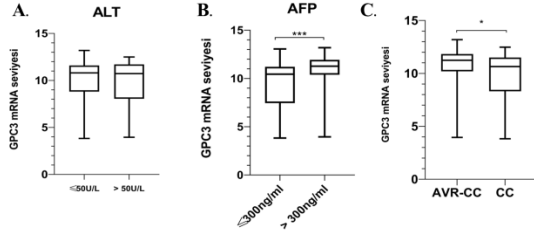
**Şekil-3.** HBV-ilişkili hepatosellüler kanser hastalarında küratif cerrahi operasyondan sonra 3 yıl içinde rekürans gelişen ve gelişmeyen (A) ile operasyondan sonra erken rekürans ve geç rekürans gelişen hastalarda (B) tümöral GPC3 mRNA seviyesi. Küratif cerrahi operasyondan sonra 1 seneden kısa sürede rekürans gelişmesi erken rekürans, 3 seneden sonra gelişmesi ise geç rekürans olarak tanımlanmıştır. Analiz GSE14520 LCS-kohort-2 veri setinden çalışmaya uygun bulunan hastalara ait transkriptomik ve klinik veriler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



**Şekil-4.** Grafikler HBV-ilişkili hepatosellüler kanser hastalarında tümöral GPC3 mRNA ekspresyonu ile ana tümör boyutu arasındaki ilişkiyi (A) ve uninodüler ve multinodüler tümörlerde GPC3 mRNA seviyesini (B) göstermektedir. Analiz GSE14520 LCS-kohort-2 veri setinden çalışmaya uygun bulunan hastalara ait transkriptomik ve klinik veriler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



**Şekil-5.** HBV-ilişkili HCC hastalarında tümöral GPC3 mRNA seviyesi ile TNM (A), BCLC (B,C) ve CLIP evreleri arasındaki ilişki gösterilmiştir. Analiz GSE14520 LCS-kohort-2 veri setinden çalışmaya uygun bulunan hastalara ait transkriptomik ve klinik veriler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



**Şekil-6.** HBV-ilişkili HCC hastalarında tümöral GPC3 mRNA seviyesi ile yüksek ve düşük serum ALT (A) ve AFP (B) seviyeleri arasındaki ilişki ile aktif viral replikasyon gözlenen hastalarda kronik taşıyıcılara göre tümöral GPC3 mRNA seviyesi gösterilmektedir (C). Analiz GSE14520 LCS-kohort-2 veri setinden çalışmaya uygun bulunan hastalara ait transkriptomik ve klinik veriler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### Cox Orantılı Tehlikeler Regresyon Analizlerinin Sonuçları

Serum AFP değeri bildirilmeyen 3 hastaya ait veriler analizden hariç tutuldu (n=200). Tek değişkenli Cox orantılı tehlikeler regresyon analizinde GPC3 mRNA seviyesinin hastalarda sağkalım üzerine anlamlı bir etkisi bulunmadı

(coefficient=-0,028, HR=0,972, %95 CI= 0,0892-1,060, p=0,523). Aktif viral replikasyon olan hastalara göre hepatit B virüsü kronik taşıyıcı olmanın sağkalım üzerine anlamlı bir etkisi bulunmadı (coefficient=0.19, HR=0,826,%95 CI= 0,504-1,352,p=0,447). CLIP evrelemede, evre 0'a göre evre 1'de bulunmak düşük sağkalım açısından bir risk oluşturmazken (coefficient=0,499, HR=01,647, %95CI=0,941-2,885, p=0,081), 2-5. evrelerde bulunmak düşük sağkalım riskini artırdığı görüldü (coefficient=1,327, HR=3.770, %95CI=2,187-6,497, p<0.0001). Serum AFP değerinin 300ng/ml altında olması ise yüksek olmasına göre düşük sağkalım tehlikesini anlamlı olarak azalttığı bulundu (coefficient=-0,477, HR=0.621, %95CI=0,000-0,969, p=0,036). Çok değişkenli analizlerin sonuçlarına göre GPC3 mRNA seviyesinin AFP seviyesi, Hepatit B virüsü viral replikasyon statüsü ve CLIP evrelemesi parametreleri sabit tutulduğunda da hastalarda genel sağkalım üzerine bir etkisi bulunmamıştır. Tek değişkenli ve çok değişkenli Cox orantılı tehlikeler regresyon analizi sonuçları Tablo-3'de gösterilmiştir.

**Tablo-3.** Tek değişkenli ve çok değişkenli Cox orantılı tehlikeler regresyon analizi sonuçları.

	Değişken	Regresyon Katsayısı	Pr > Ki <sup>2</sup>	Tehlike Oranı (HR)	Tehlike Oranı Alt Sınır (95%)	Tehlike Oranı Üst Sınır (95%)	
<b>Tek Değişkenli Analizler</b>							
	GPC3 mRNA seviyesi	209220_at	-0.028	0.523	0.972	0.892	1.060
	HBV Viral Statüsü	Kronik Taşıyıcı	-0.191	0.447	0.826	0.504	1.352
	AFP	AFP <=300ng/ml	-0.477	0.036	0.621	0.000	0.969
	CLIP evreleme	CLIP Evre 1	0.499	0.081	1.647	0.941	2.885
		CLIP Evre 2-5	1.327	<0.0001	3.770	2.187	6.497
<b>Çok Değişkenli Analiz (a)</b>							
		209220_at	-0.034	0.442	0.967	0.886	1.054
		Kronik Taşıyıcı	-0.223	0.383	0.800	0.486	1.320
<b>Çok Değişkenli Analiz (b)</b>							
		209220_at	-0.061	0.183	0.941	0.860	1.029
		AFP <=300ng/ml	-0.569	0.017	0.566	0.000	0.905
<b>Çok Değişkenli Analiz (c)</b>							
		209220_at	-0.046	0.309	0.955	0.875	1.043
		CLIP Evre 1	0.557	0.057	1.746	0.985	3.096
		CLIP Evre 2-5	1.350	<0.0001	3.858	2.234	6.662

## TARTIŞMA

GPC3 mRNA seviyesinin HCC dokularında yüksek miktarda ekspresyonu olduğunu bildiren araştırmalar bulunmaktadır (13-15). Fakat bu çalışmalarda örnek ya da kontrol sayısının oldukça az olduğu ve neredeyse tamamında hastalığın etiolojisinin dikkate alınmadığı gözlenmiştir. Ayrıca, GPC3 mRNA seviyesinin HCC hastalarında klinik değişkenler ile korelasyonunu bildiren çalışmalar da oldukça kısıtlı olup, GPC3 mRNA seviyesi ile HCC hastalarında genel sağkalım, AFP seviyesi, viral statü, ALT seviyesi, BCLC evreleme, CLIP evreleme gibi diğer klinik parametreler ile korelasyonunu bildiren araştırma bulunamamıştır.

Çalışmanın sonuçları GPC3 mRNA seviyesinin HBV-ilişkili HCC ve eşlenik tümör içermeyen karaciğer dokusu ayırımında kullanılabilecek oldukça yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip bir diagnostik biyobelirteç olabileceği gösterilmiştir. Bu sonuç görece az sayıdaki HCC hastalarında (n=31) tümöral GPC3 mRNA seviyesinin yakın eşlenik tümör içermeyen dokulara göre değerlendirildiği, GPC3 mRNA seviyesinin iyi bir diagnostik biyobelirteç olabileceğini rapor eden bir araştırmanın sonuçları ile koreledir (13). Tümöral GPC3 immünreaktivitesinin HCC hastalarında (n=300) diagnostik biyobelirteç olabilme özelliğini değerlendiren başka bir araştırmanın sonuçları (16) baz alındığında GPC3 mRNA seviyesinin GPC3 boyamasına göre daha yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip olabileceği görülmüştür.

HCC'de tümöral GPC3 mRNA seviyesi ile prognoz arasındaki ilişkiyi değerlendiren tek çalışmada az sayıdaki HCC hastasında (n=31) yüksek ve düşük GPC3 ekspresyonu olan hasta gruplarında reküranssız sağkalım ve klinik değişkenler ile ilişki değerlendirilmiştir (13). Bu çalışmada ise totalde 203 HBV-ilişkili HCC hastasında GPC3 mRNA seviyesinin daha önce rapor edilmemiş olanlar da dahil klinik değişkenler ile korelasyonu değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile bahsedilen çalışma (13) arasında sonuçları etkileyebilecek temel farklılıklar bu çalışmada hasta sayısının daha fazla olması, hastalığın etiolojik kökeni olarak homojen bir hasta grubunda çalışılması ve GPC3 mRNA seviyesinin sürekli değişken olarak ele alınmasıdır.

CLIP evrelemesine göre değerlendirildiğinde GPC3 mRNA seviyesinin evre 0'a göre evre 1'de

daha yüksek olduğu gösterilmiştir. CLIP sisteminde yer alan değerlendirme kriterlerinin bazılarında olan tümörün multinodüler olması/olmaması ile GPC3 mRNA seviyesi arasında bir ilişki bulunamamış, fakat serum AFP seviyeleri yüksek olan grupta GPC3 mRNA seviyesinin daha yüksek olduğu görülmüştür. AFP seviyesi açısından elde edilen sonuç, önceki çalışmanın sonuçlarından farklı olmakla birlikte (13), GPC3 IHC boyaması ile AFP seviyeleri arasındaki ilişkiyi bildiren çalışmaların sonuçları ile koreledir (17, 18). Evre 1 ile 2-5. evreler arasında GPC3 mRNA seviyesi açısından farklılık gözlenmemesi mRNA seviyesinin hastalığın bu kriterler göze alındığında progresyonu ile korele olmadığına işaret etmektedir. Bununla birlikte CLIP skoruna göre hastalar alt gruplara dağıtıldığında 2-3-4 ve 5. evrelerin her birine düşen hasta sayısı az olduğundan bu evrelerin birlikte değerlendirilmesi progresyon ile mRNA seviyesi arasındaki korelasyonun net olarak gösterilememesine neden olmuş olabilir. İleri CLIP evrelerinde olan hasta sayısının daha yüksek olduğu bir hasta grubunda bu verilerin valide edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada ek olarak BCLC evreleme ile de GPC3 mRNA düzeyi arasındaki ilişki değerlendirilmiş ve anlamlı bir ilişki olmadığı gösterilmiştir. 0-A ve B-C evresindeki hastalar arasında ve hastalığın multinodüler olup olmaması arasında tümöral GPC3 seviyesi arasında farklılık bulunmaması bu veriyi desteklemektedir. İleri çalışmalarda BCLC D evresindeki hastaların da dahil olduğu bir kohortta GPC3 mRNA seviyesinin değerlendirilmesi ve karşılaştırılması gerekmektedir.

Önceki çalışmanın sonuçları ile karşılaştırıldığında (13), bu çalışmada da TNM evreleme ile GPC3 mRNA seviyesi ilişkili bulunmamıştır. Çalışmaya alınan hasta sayısının yüksek olması ve TNM evreleri arasında düzgün dağılım göstermesi sonucun güvenilirliğini artırmaktadır. Önceki çalışmalara bakıldığında GPC3 IHC boyaması ile TNM evreleme arasındaki ilişki ile ilgili çelişen sonuçlar bulunmaktadır (17, 18). Bu çalışmada TNM evrelemede de değerlendirilen kriterlerden olan tümör büyüklüğü hesaba katıldığında, önceki çalışmanın sonuçlarından farklı olarak [11], küçük tümörlerde büyük tümörlere göre GPC3 mRNA

seviyesinde anlamlı bir yüksekliğin olduğu dikkat çekicidir. Evreler arasında mRNA ifadesinde farklılık olmaması ve küçük tümörlerde daha yüksek mRNA eksresyonunun olması GPC3 mRNA ifadesinin erken tanıda faydalı olabileceğine işaret etmektedir.

Önceki çalışmada 31 hastada GPC3 mRNA yüksek ekspresyona eden grupta reküransız sağkalımın daha kısa olduğu bildirilmiştir, fakat genel sağkalım ile ilişkisi bildirilmemiştir (13). Bu çalışmada GPC3 mRNA seviyesi ile hastalarda rekürans zamanı ya da erken/geç rekürans ile da bir ilişki bulunamamıştır. Ayrıca, GPC3 mRNA seviyesi ile hastalarda genel sağkalım arasında bir ilişki bulunamamış ve GPC3 mRNA seviyesi ile ilişkili olan klinik değişkenlerin etkileri de dışlandığında bu durum değişmemiştir. GPC3 pozitif boyamanın hastalarda genel sağkalım ve hastaliksız sağkalım için bağımsız bir risk faktörü olduğu (17, 19, 20), aralarında hiçbir korelasyon ya da ilişki olmadığını (18, 21) ya da GPC3 protein seviyesi ne kadar düşükse, gözlemlenen prognoz da o kadar kötü olduğunu (16) bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Literatür taraması sonucunda elde edilen bu veriler ile çalışmaya alınan hasta sayısı arttıkça GPC3 pozitif boyaması ile genel sağkalım ve hastaliksız sağkalım arasındaki anlamlı ilişkinin de ortadan kalkma eğiliminde olduğu görülmüştür. Bu eğilim son gerçekleştirilen bir meta-analizde de rapor edilmiştir (22). Bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, sonuçlar GPC3 mRNA seviyesinin progresyon ilerledikçe yükselmediğini ve yüksek GPC3 mRNA seviyesinin kötü prognoz ile ilişkili olmadığını göstermekte ve hasta sayıları diğer çalışmalara göre görece daha fazla olan ve

GPC3 immünreaktivitesi ile genel sağkalım arasında ilişki bulunmadığını bildiren çalışmaların sonuçları ile korele gözükmemektedir (18, 21). Elde edilen bu sonuçlar, GPC3 mRNA seviyesinin prognostik bir biyobelirteç olabilme ihtimalinin HBV-ilişkili HCC'de oldukça düşük olduğunu göstermektedir.

## SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışmanın bulguları GPC3 mRNA seviyesinin HBV-ilişkili HCC ve yakın tümör içermeyen karaciğer doku ayırımında yüksek spesifite ve sensitivite ile iş görebilecek bir diagnostik biyobelirteç olduğunu fakat prognostik bir biyobelirteç olabilme potansiyelinin oldukça düşük olduğunu göstermektedir.

GPC3 mRNA seviyesinin değerlendirilmesi HCC tanısında tek başına kullanılabileceği gibi, IHC analizleri sonucunda negatif GPC3 boyamasının HCC tanısını dışlamadığı (5) hesaba katıldığında, IHC analizinden daha hassas ve kantitatif sonuç veren mRNA analizi yönteminin negatif GPC3 boyaması olan tümörlerde kullanılması tanıyı netleştirmede faydalı olabilir. Tümörün derecelendirilmesinde kullanılan evreleme sistemlerinin dikkate alınması ile gerçekleştirilen analizler erken evrelerde GPC3 seviyesinin arttığını göstermiştir. Bu veriyle birlikte değerlendirildiğinde, tümör boyutunun 5 cm'den küçük/eşit olduğu hastalarda büyük olan hastalara göre tümöral GPC3 mRNA seviyesinin daha yüksek olması erken tanıda faydalı olabileceğine işaret etmektedir.

**Çıkar çatışması:** Bu makale ile ilgili herhangi bir kurum, kuruluş, kişi ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## Kaynaklar

1. Kim E, Viatour P. Hepatocellular carcinoma: Old friends and new tricks. *Experimental & Molecular Medicine* 2020; 52: 1898-907.
2. Yang H-C, Kao J-H. Persistence of hepatitis b virus covalently closed circular DNA in hepatocytes: Molecular mechanisms and clinical significance. *Emerging Microbes & Infections* 2014; 3: 1-7.
3. Allweiss L, Dandri M. The role of cccDNA in hbv maintenance. *Viruses* 2017; 9: 156.
4. Zhou F, Shang W, Yu X, Tian J. Glypican-3: A promising biomarker for hepatocellular carcinoma diagnosis and treatment. 2018; 38: 741-67.
5. Anatelli F, Chuang ST, Yang XJ, Wang HL. Value of glypican 3 immunostaining in the diagnosis of hepatocellular carcinoma on needle biopsy. *Am J Clin Pathol* 2008; 130: 219-23.
6. Sharov AA, Schlessinger D, Ko MS. Exatlas: An interactive online tool for meta-analysis of gene expression data. *J Bioinform Comput Biol* 2015; 13: 1550019.
7. Atay S. Integrated transcriptome meta-analysis of pancreatic ductal adenocarcinoma and matched adjacent pancreatic tissues. *PeerJ* 2020; 8: e10141.

8. Deng YB, Nagae G, Midorikawa Y, Yagi K, Tsutsumi S, Yamamoto S, et al. Identification of genes preferentially methylated in hepatitis c virus-related hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2010; 101: 1501-10.
9. Wang H, Huo X, Yang XR, He J, Cheng L, Wang N, et al. Stat3-mediated upregulation of lncrna hoxd-as1 as a cerna facilitates liver cancer metastasis by regulating sox4. *Mol Cancer* 2017; 16: 136.
10. Wang SM, Ooi LL, Hui KM. Identification and validation of a novel gene signature associated with the recurrence of human hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 6275-83.
11. Melis M, Diaz G, Kleiner DE, Zamboni F, Kabat J, Lai J, et al. Viral expression and molecular profiling in liver tissue versus microdissected hepatocytes in hepatitis b virus-associated hepatocellular carcinoma. *J Transl Med* 2014; 12: 230.
12. Roessler S, Jia HL, Budhu A, Forgues M, Ye QH, Lee JS, et al. A unique metastasis gene signature enables prediction of tumor relapse in early-stage hepatocellular carcinoma patients. *Cancer Res* 2010; 70: 10202-12.
13. Wang Y-L, Zhu Z-J, Teng D-H, Yao Z, Gao W, Shen Z-Y. Glypican-3 expression and its relationship with recurrence of hcc after liver transplantation. *World journal of gastroenterology* 2012; 18: 2408-14.
14. Maurel M, Jalvy S, Ladeiro Y, Combe C, Vachet L, Sagliocco F, et al. A functional screening identifies five micrnas controlling glypican-3: Role of mir-1271 down-regulation in hepatocellular carcinoma. 2013; 57: 195-204.
15. Lü Z-L, Luo D-Z, Wen J-M. Expression and significance of tumor-related genes in hcc. *World journal of gastroenterology* 2005; 11: 3850-4.
16. Pan C, Wang X, Chen W, Tao C, Xu X, Jin L, et al. Reevaluation of glypican-3 as a prognostic marker in hcc using x-tile software. *Med Oncol* 2015; 32: 359.
17. Fu S-J, Qi C-Y, Xiao W-K, Li S-Q, Peng B-G, Liang L-J. Glypican-3 is a potential prognostic biomarker for hepatocellular carcinoma after curative resection. *Surgery* 2013; 154: 536-44.
18. Jeon Y, Kim H, Jang ES, Hong S, Kim JW, Yoon Y-S, et al. Expression profile and prognostic value of glypican-3 in post-operative south korean hepatocellular carcinoma patients. *APMIS* 2016; 124: 208-15.
19. Cui X, Li Z, Gao PJ, Gao J, Zhu JY. Prognostic value of glypican-3 in patients with hbv-associated hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2015; 14: 157-63.
20. Ning S, Bin C, Na H, Peng S, Yi D, Xiang-hua Y, et al. Glypican-3, a novel prognostic marker of hepatocellular cancer, is related with postoperative metastasis and recurrence in hepatocellular cancer patients. *Molecular Biology Reports* 2012; 39: 351-7.
21. Liang J, Ding T, Guo ZW, Yu XJ, Hu YZ, Zheng L, Xu J. Expression pattern of tumour-associated antigens in hepatocellular carcinoma: Association with immune infiltration and disease progression. *British journal of cancer* 2013; 109: 1031-9.
22. Moudi B, Heidari Z, Mahmoudzadeh-Sagheb H. Meta-analysis and systematic review of prognostic significance of glypican-3 in patients with hepatitis b-related hepatocellular carcinoma. *Virusdisease* 2019; 30: 193-200.



## Miyelodisplastik sendrom hastalığında P53 polimorfizmlerinin önemi

### Importance of p53 gene polymorphisms in myelodysplastic syndrome disease

Bahar Vatansever<sup>1</sup> Duygu Aygüneş Jafari<sup>2</sup> Hale Güler Kara<sup>2</sup>  
Ege Sevinç<sup>2</sup> Burçin Kaymaz<sup>2</sup> Gülay Alp<sup>1</sup>  
Fahri Şahin<sup>1</sup> Güray Saydam<sup>1</sup> Buket Kosova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

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

### ÖZ

**Amaç:** Miyelodisplastik sendrom (MDS) akut miyeloid lösemiye dönüşüm riski yüksek olan, artmış apoptozis ve azalmış hematopoez oranlarıyla karakterize klonal bir hastalıktır. MDS patogenezi tam olarak açıklanabilmiş değildir. Olguların ~%50' si anormal karyotiptedir ve bu oran ikincil MDS' de %80 civarındadır. P53 proteini kök hücre homeostazının önemli düzenleyicisidir ve hücre döngüsünün düzenlenmesi, apoptotik ile enflamatuvar yanıt gibi bir dizi hücreyel olayda yer alır. Genomik bütünlüğün korunmasında da önemli görevleri bulunan TP53 geni kanserlerde sıklıkla mutasyona uğramaktadır; ancak, mutasyonlarının yanında bazı gen polimorfizmlerinin de kanserle ilişkili oldukları bilinmektedir. Çalışmadaki amacımız, dört yaygın p53 tek nükleotid polimorfizminin MDS' deki yaygınlıklarını ve hastalık gelişimi üzerine etkilerini belirlemektir. Bu amaçla, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı' nda MDS tanısı ile takip edilen ya da yeni tanı almış 100 olgu çalışmaya dahil edildi.

**Gereç ve Yöntem:** MDS'li olguların periferik kan lökositlerinden izole edilen DNA'lar gerçek-zamanlı PCR yöntemiyle çalışılarak, p53 polimorfizmleri (rs35163653, rs35993958, rs1800371, rs1042522) uygun problemlerin kullanımıyla ve erime eğrisi analizleriyle belirlendi.

**Bulgular:** İncelenen dört yaygın p53 polimorfizmin arasında özellikle rs1042522 polimorfizmindeki atasal olmayan G alelinin MDS'li olgularda artmış olduğu gözlenmiştir (C:%30.3; G:%69.7). Fonksiyonel olduğu, yani sentez edilen proteinin fonksiyonunu etkilediği bilinen bu polimorfizmde 417. pozisyonundaki C nukleotidinin G'ye transisyonu (C>G), proteinin 72. pozisyonundaki prolin amino asidinin arjinine (P72R) kodlanmasına yol açmaktadır.

**Sonuç:** Çalışmamız, MDS hastalık grubunda rs35163653, rs35993958, rs1800371 ve rs1042522 p53 polimorfizmlerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bunlardan, rs1042522 polimorfizminin kansere yatkınlık ve duyarlılıkla ilişkili olduğu yapılan diğer bazı çalışmalarla gösterilmiş olması nedeniyle, MDS hastalığı için de yüksek risk oluşturabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak, MDS hastalığı için gerçekleştirilen bu çalışmanın daha geniş bir olgu grubuyla tekrarlanmasıyla rs1042522 polimorfizmi ileride MDS teşhisinde belirteç olarak kullanılacaktır.

**Anahtar Sözcükler:** MDS, p53, polimorfizm, SNP, hematopoietik.

### ABSTRACT

**Aim:** Myelodysplastic syndrome (MDS) is a clonal disease with a high risk of conversion to acute myeloid leukemia, characterized by increased apoptosis and decreased hematopoiesis. The pathogenesis of MDS has not been fully explained. ~50% of cases have abnormal karyotype and this rate is around 80% in secondary MDS.

Sorumlu yazar: Duygu Aygüneş Jafari  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,  
İzmir, Türkiye  
E-posta: [duygu.aygunes@ege.edu.tr](mailto:duygu.aygunes@ege.edu.tr)  
Başvuru tarihi: 23.06.2021 Kabul tarihi: 16.01.2022

The p53 protein is an important regulator of stem cell homeostasis and is involved in a range of cellular events such as cell cycle regulation, apoptotic and inflammatory response. The TP53 gene, which has important roles in maintaining genomic integrity, is frequently mutated in cancers; however, some gene polymorphisms are known to be associated with cancer, as well as mutations. Our aim in the study is to determine the prevalence of four common p53 single nucleotide polymorphisms in MDS and their effects on disease development. For this reason, 100 cases followed up with the diagnosis of MDS or newly diagnosed in Ege University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Department of Hematology were included in the study.

**Materials and Methods:** DNAs isolated from peripheral blood leukocytes of MDS cases were studied by real-time PCR method, p53 polymorphisms (rs35163653, rs35993958, rs1800371, rs1042522) were determined by using appropriate probes and melting curve analysis.

**Results:** Among the four common p53 polymorphisms examined, especially the non-ancestral G allele in the rs1042522 polymorphism was observed to be increased in MDS cases (C: 30.3%; G: 69.7%). In this polymorphism, which is known to be functional, that is, affecting the function of the synthesized protein, the transition of the C nucleotide at position 417 to G (C>G) causes the coding of the amino acid proline at position 72 of the protein to arginine (P72R).

**Conclusion:** Our study is the first to investigate the p53 polymorphisms of rs35163653, rs35993958, rs1800371 and rs1042522 in the MDS disease group. Of these, rs1042522 polymorphism has been shown to be associated with cancer susceptibility and susceptibility, and it is thought that it may pose a high risk for MDS disease as well. In conclusion, rs1042522 polymorphism may be used as a marker in the diagnosis of MDS in the future by repeating this study for MDS disease with a larger case group.

**Keywords:** MDS, p53, polymorphism, SNP, hematopoietic.

## GİRİŞ

Miyelodisplastik sendrom (MDS) kemik iliğindeki dishematopoez ve artmış apoptozis ile karakterize, periferik kanda sitopenilerin eşlik ettiği, klinik ve sitogenetik açılarından heterojen bir hastalık grubunu oluşturmaktadır. Akut miyeloid lösemi (AML) dönüşümü gösterebilen MDS çoğunlukla yaşlı popülasyonda görülür. Hastaların %80'i 60 yaştan sonra tanı alır ve ortalama tanı yaşı 70'dir (1). Amerika Birleşik Devletleri'nde görülme sıklığı tüm yaş gruplarında 100.000'de 3-4' tür (2). 70 yaş üstünde görülme sıklığı ise 100.000'de 22-45'e çıkarak, yaş ilerledikçe de bu oran artmaktadır (2). Gençlerde görülme sıklığı düşük olsa da Japonya, Çin, Kore, Hindistan, Tayland ve Türkiye gibi Asya kıtasına düşen ülkelerdeki oranı yüksektir ve MDS için belirlen ortalama tanı yaşı 40-50'dir (3).

MDS'nin sınıflamasında Dünya Sağlık Örgütü'nün (World Health Organization; WHO) 2016 yılında belirlediği güncel sınıflama kullanılmaktadır (4). Skoring sisteminde de 1997 yılından bu yana kullanılan IPSS, yeni moleküler belirteçlerin bulunmasıyla 2012 yılında revize edilerek R-IPSS adını alarak güncellenmiştir (5).

MDS'nin patogenezi tam bilinmemekle birlikte, olguların yaklaşık %50'sinde anormal karyotip saptanmaktadır. Genomik stabiliteyi koruyan en önemli genlerden biri TP53'tür ve p53 transkripsiyon faktörünü kodlamaktadır (6). Aynı

zamanda önemli bir tümör baskılayıcı gen olan p53 DNA hasarında hücre döngüsünü durdurarak DNA tamir proteinlerini aktive etmektedir, ancak hasar tamir edilemeyecek kadar büyükse de hücrenin apoptotik yolla ölümüne yol açmaktadır (7). TP53 geni kanserlerde sıklıkla mutasyona uğramış olduğundan fonksiyonlarını yerine getirememektedir ve genomik instabilitiyeye neden olmaktadır (8).

TP53 geni aynı zamanda oldukça polimorfiktir; yani, kişiler arasında dizisinde bazı farklılıklar gösterebilir. Mutasyonlardan farklı olarak polimorfizmlere toplumda daha sık rastlanır ve görülme oranları genellikle  $\geq 1\%$ 'dir (9). İnsan genomunda en sık tek nükleotid polimorfizmlere (single nucleotide polymorphism; SNP) rastlanır ve DNA'daki tek bir nükleotidin başka bir nükleotidle yer değiştirmesiyle meydana gelir. Burada, pürin yerine yine bir pürin (örn. A→G), ya da pirimidin yerine pirimidin (örn. C→T) bazı geldiğinde transisyon; pürin bazı yerine pirimidin (örn. A→C) ya da tersi meydana geldiğinde de transversiyondan bahsedilir. TP53 geni için 200'den fazla SNP tanımlanmıştır ve bunların çoğu fenotipik olarak sessizdirler ve biyolojik etkileri yoktur; ancak, bazılarının etkin yani fonksiyonel oldukları ve kanser gibi bazı hastalıkların gelişimiyle ilişkili oldukları belirlenmiştir.

SNP karsinogenez sürecinde, heterozigotluk kaybı tespitinde hassas bir yöntem olup metafaz genetiğinde gizli kalan duplikasyon ve delesyonların saptanmasında yararlı bir yöntemdir. MDS' de konvansiyonel sitogenetik ve FISH ile hastaların %50'sinde kromozomal anormallik tespit edilebilirken; SNP dizileme ile bu kromozomal anomali oranı %75 olarak tespit edilebilmiştir. En önemli kısım ise bu gizli değişimin, normal sitogenetik saptanan bireylerde, yapılan SNP dizi analizi ile kromozomal anomali saptandığında bunun prognoza olumsuz etkilerinin olduğu görülmüştür. (10).

SNP'ler prognostik açıdan önemli bir sitogenetik tamamlayıcıdır. MDS'deki anormal farklılaşmada p53 polimorfizmlerinin etkilerini ortaya koyabilmek için, MDS tanısı ile takip edilen ya da yeni tanı alan hastaların periferik kanından izole edilecek olan DNA'lardan p53 genine ait 4 yaygın polimorfizmi (G360A, V217M, P72R ve P47S) belirlemeyi ve hastalıkla ilişkilerini ortaya koymayı amaçladık.

Bu çalışma p53 genindeki 4 polimorfizme ait SNP; V217M rs35163653 (G/A dönüşümü ile valin 217 polimorfik varyantı metiyonin 217), G360A rs35993958 (G/C dönüşümü ile glisin 360 polimorfik varyantı alanin 360), P47S rs1800371(C/T dönüşümü ile prolin 47 polimorfik varyantı serin 47), P72R rs1042522 (C/G dönüşümü ile prolin 72 polimorfik varyantı arjinin 72) şeklindedir.

## **GEREÇ ve YÖNTEM**

### ***Hasta verilerinin ve örneklerin toplanması***

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bölümü'nde takipli MDS tanılı ya da yeni tanı almış 18 yaş üstü, intensif kemoterapi almamış ve allojenik ya da otolog kök hücre nakli olmamış hastalar, "Genetik Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu" alındıktan sonra çalışmaya alındı. Hastaların takip dosyalarına tanı esnasındaki; hemogram, biyokimya değerleri, kemik iliği aspirasyon ve patolojisi sonuçları kaydedilmektedir. Mutlaka karyotip bakılmakta ve sitogenetik analiz yapılarak tüm sonuçları performansı ile birlikte değerlendirilip risk skoru hesaplanarak tedavi kararı verilmektedir.

Her olgudan 2 adet mor kapaklı EDTA'lı tüpe 2'şer ml kan örneği alındı. Örnekler alınırken; son transfüzyondan 2 hafta kadar önce alınmış olmasına ya da sık transfüzyon ihtiyacı olan hastalarda transfüzyondan hemen önce alınmış

olmasına dikkat edildi. Çalışma protokolümüz, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 27.07.2017 tarih ve 17-7/5 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

### ***Kan örneğinden DNA izolasyonu***

Çalışmada DNA izolasyonu Roche firmasının Magnapure cihazına uygun ticari olarak satılan kitlerin (High Pure PCR Template Preparation Kit) protokolüne göre gerçekleştirilmiştir.

### ***Gerçek Zamanlı PCR***

Polimorfik kısımların çoğaltılması için iki primer ve özgül floresan boya işaretli problardan HybProbe (FRET-Fluorescens Resonance Energy Transfer) kullanılmıştır. Gerçek-zamanlı PCR sistemi ile de polimorfik bölgeler bulunmuştur. Aleller arasındaki farklılığı ortaya çıkarmak için 3'ucundan floresan boya ile işaretli, diğeri 5'ucundan alıcı boya ile işaretli LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe (Roche Diagnostics) içeren LightSNiP Assay kullanılarak, Roche LightCycler® 480 gerçek-zamanlı PCR cihazıyla analiz yapılmıştır.

PCR gerçekleştikten sonra alelik diskriminasyon (alel ayırt etme) için "Melting Curve" (Erime Eğrisi) analizi yöntemi kullanılmıştır. Bu analizde atasal ve polimorfik DNA' ların floresan ışımaya düzeylerinin sıcaklığa bağlı değişim noktalarının (erime sıcaklığı-Tm-melting temperature) birbirinden farklı olmasından yararlanılmıştır.

### ***İstatistik***

İstatistiksel değerlendirme için SPSS Statistics 25.0 programı kullanılmıştır.

Normal dağılım gösteren parametreler ortalama ± standart sapma şeklinde, normal dağılıma uymayan parametreler de ortanca şeklinde yorumlanmıştır.

Nicel veriler için One way Anova, independent sample T-test, bağımsız iki grup karşılaştırılıp normal dağılım varsayımı sağlandığında independent sample T-test kullanılmıştır.

Normal dağılımlı değişkenlerde; ikiden fazla grup karşılaştırılmasında, grupların birbirinden farklı olup olmadığını analiz edebilmek için Oneway Anova testi kullanılmıştır ve bu gruplarda hangi grupların birbirinden farklı olduğunu analiz edebilmek için Post Hoc karşılaştırmaları yapılmıştır.

Nitel verilerin mukayesesinde Pearson Ki Kare Testi ve Fisher's Exact Test testi kullanılmıştır.

Alellerin genotip dağılımı ve bu dağılımın beklenen değerlere uyup uymadığı (Hardy-Weinberg Dengesi) ki-kare testi uygulanarak

tespit edilmiştir. Yine ki-kare testi genotiplerin diğer parametreler ile karşılaştırılmasında da kullanılmıştır.

Hastalığın tanısından lösemiye dönüşümüne ya da hastanın ölümüne kadar geçen zaman progresyonsuz sağ kalım süresi olarak hesaplanıp Kaplan-Meier yöntemi ve Log Rank (Mantel-Cox) testi kullanılarak karşılaştırma yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, %95 güven aralığında ve anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

### Yaş, Cinsiyet ve Laboratuvar Bulguları Dağılımı

Çalışmamıza alınan 100 hastanın 47'si erkek, 53'ü kadındı. Hastaların ortalama tanı yaşı  $62,76 \pm 13,997$  ve ortanca yaşı 65 (aralık: 24-89)'tir. Tanı sırasında kemik iliği blast oranı en

düşük olan hasta %0 ve en yüksek olan hastada %19'dur. Kemik iliği blast oranı 100 hastanın 46'sında  $\leq 2$ , 27' sinde  $> 2 - < 5$  aralığında, 15'inde  $\geq 5 - < 10$  aralığında, 12'sinde  $\geq 10 - \leq 19$  aralığında değerlendirilmiştir. Ortalama kemik iliği blast oranı  $4,5 \pm 4,52$  olup, ortanca kemik iliği blast oranı %3,0 (aralık 0-19)'dir. Kemik iliği blast oranı %2 olan hasta grubu 32 kişi ile yığılmanın en yüksek olduğu kategori olup, sadece 1 hastada kemik iliği blast oranı %15 olarak saptanmıştır (Tablo-1).

### Sitogenetik ile Bakılan Karyotip Sonuçları

100 hastanın 78' ine metafaz sitogenetiği ile karyotip bakılmış ve 20 hastada (%25,6) anormal karyotip saptanmıştır. Normal karyotip saptanan hasta sayısı 58' dir (%74,4). MDS için spesifik tanımlı bir translokasyon bulunmamaktadır (Tablo-2).

**Tablo-1-** Hastaların tanı sırasında yaş ve klinik özellikleri.

Tanı sırasında	Min.	Max.	Ortalama	Ortanca	Standart sapma
Yaş	24	89	62,76	65	13,997
Kemik iliği blast yüzdesi (%)	0	19	4,5	3,00	4,5248

**Tablo-2.** Anormal karyotip sonuçları.

Anormal karyotip sonuçları	Sıklık
45,X,-Y[13] / 46,XY[10]	1
45,X[14] / 46,XY[6]	2
45,X[7] / 46, XY[4]	1
Mozaik 45XY-15 46 XY	1
46,XX, del (5q)(q13q31)[3] / 46, XX[7]	1
46,XX[45] / 45,X[4] / 47,XXX[1]	2
46,XY, i (17 q) (8)/47, XY ,+8. İ(17 q) (4)	1
46,XY, del(20)(q11)	1
46,XY, del(7q)(q22)[3]/46,XY[27]	2
46,XY[15] / 47, XY, +8[5]	1
46,XY[7] / 46, XY del(5)(q13p31)[2]	1
46,XY[9] / 46, XY, t(3;12)(q21;q24.1)[6]	1
47,XX,+8	1
47,XY,+8	1
47,XY,+mar[15]/46,XY[5]	1
47,XYY[12] / 46,XY[18]	1
7 metafazın 3'ünde monozomi 21, 4'ünde monozomi 22, 4 metafazda Y kromozom kaybı	1
<b>Toplam</b>	<b>20</b>

### **FISH MDS Paneli Sonuçları**

FISH MDS paneli için del 5q, Trizomi 8, 20q delesyonu, 7q, MLL geni (11q23), RB1 geni (13q14) standart olarak bakılan parametrelerdir. Bunlara ek olarak, JAK2 V617F mutasyonu ve BCR-ABL füzyonuna da bakılmıştır. 100 hastadan 77' sine sitogenetik inceleme yapılmış olup, 17 hastada (%22,1) anomali saptanmıştır. Hastaların %8,1'i nde del 5q, %9,2' sinde trizomi 8, %1,6' sında 20 q delesyonu, %6,3'ünde 7q ve %5,8' inde 13q14 (RB geni) mutasyonları saptanmıştır. 11q23 (MLL geni) mutasyonu hastaların hiçbirinde saptanmamıştır. Bazı hastalarda birden fazla mutasyonda pozitiflik saptanmıştır. Ayrıca 8 hasta için JAK2 V617F mutasyonu ve BCR-ABL de değerlendirilmiş olup her birinde 1'er hastada (%12,5) pozitiflik saptanmıştır (Tablo-3).

Hem karyotip hem de FISH'de anomali saptanan 69 hasta incelendiğinde Tablo-4'teki sonuçlar elde edilmiştir.

### **Polimorfizm Sonuçları**

**V217M rs35163653** polimorfizmi değerlendirilen 98 hastada (%98) G/G atasal tip, 2 hastada (%2) G/A heterozigot saptanmış, hastaların hiç birinde homozigot mutant **V217M** polimorfizmi saptanmamıştır. **G360A rs35993958** bakılan 99 hastanın hepsi G/G atasal tip saptanmıştır. **P47S rs1800371** bakılan 100 hastanın da hepsi C/C atasal tip saptanmıştır. **P72R rs1042522** 9 hastada (%9,1) C/C atasal tip, 42 hastada (%42,4) C/G heterozigot ve 48 hastada (%48,5) G/G homozigot mutant saptanmıştır (Tablo-5).

**Tablo-3.** FISH MDS panel sonuçları, JAK2 V617F ve BCR-ABL sonuçları.

Mutasyon	Değerlendirilen	Pozitif	Negatif	Oran (%)
5q delesyonu	74	6	68	% 8,1
Trizomi 8	65	6	59	% 9,2
20q delesyonu	62	1	61	% 1,6
7q	63	4	59	% 6,3
13q14 (RB geni)	52	3	49	% 5,8
11q23 (MLL geni)	54	0	54	-
JAK2 V617F	8	1	7	% 12,5
BCR-ABL	8	1	7	% 12,5

**Tablo-4.** FISH ve karyotip sonuçlarının karşılaştırılması.

	FISH normal	FISH anormal	Toplam
Karyotip normal	45	6	51
Yüzde	%88,2	%11,8	%100
Karyotip anormal	8	10	18
Yüzde	%44,4	%55,6	%100
Toplam	54	16	69

**Tablo-5.** Polimorfizm oranları ve alel sıklığı.

Polimorfizm	Atasal	Heterozigot	Homozigot	Alel sıklığı	
<b>V217M rs35163653</b>	G/G %98	G/A %2	A/A -	G: %99 A: %1	
<b>G360A rs35993958</b>	G/G %100	G/C -	C/C -	G: %100 C: %0	
<b>P47S rs1800371</b>	C/C %100	C/T -	T/T -	C: %100 T: %0	
<b>P72R rs1042522</b>	C/C %9,1	C/G %42,4	G/G %48,5	C: %30,3 G: %69,7	

### **Hardy-Weinberg Dengesine Göre Sonuçların Değerlendirilmesi**

Alel sıklık değerlendirilmesindeki sıklık oranları; V217M polimorfizmi için %99 G aleli ve %1 A aleli; G360A polimorfizmi için %100 G aleli; P47S polimorfizmi için %100 C aleli ve **P72R** polimorfizmi için %30,3 C aleli, %69,7 G aleli olarak saptandı. Alellerin oluşturduğu genotipler ile olması beklenen genotipler arasındaki uyum Hardy-Weinberg dengesine göre sadece V217M ve P72R polimorfizimleri için hesaplanabildi. Bu iki polimorfizm için popülasyonun dengede olduğu hesaplanmıştır ( $p > 0,05$ ).

### **SNP, Yaş ve Cinsiyet İlişkinin Değerlendirilmesi**

G360A ve P47S polimorfizmlerinin hepsi atasal tipte saptanmıştır. Bu sebeple bu iki polimorfizm değerlendirilmeye alınamamıştır. V217M polimorfizminde de sadece 2 hastada heterozigotluk görüldüğü için istatistiksel olarak anlamlılık saptanamamıştır. **P72R** polimorfizmi cinsiyet ve tanı yaşı parametreleri açısından değerlendirildiğinde anlamlı farklılık saptanamamıştır. Homozigot+heterozigot grupta kadın sayısı fazla gözlenmiştir (%56,7) fakat istatistiksel anlamda farklılık saptanamamıştır. ( $P=0,077$ ) (Tablo-6).

### **SNP, Karyotip ve FISH Anormallik Karşılaştırılması**

Tablo-7'de gösterildiği gibi, SNP sonuçları ile karyotip ve FISH anormallik saptanıp saptanamaması açısından değerlendirildiğinde, **P72R** polimorfizmi ile anormal FISH varlığı arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanamamıştır ( $p=0,620$ ). Hastalar ayrıca heterozigot+homozigot olarak gruplandırıldığında da

yine istatistiksel anlamlı ilişki saptanamamıştır ( $p=0,650$ ).

FISH anormalliği olmayan 59 hastada **P72R** polimorfizmi değerlendirildiğinde, 5 hasta (%8,5) atasal tip, 25 hasta (%42,4) heterozigot ve 29 hasta (%49,1) homozigot mutant saptanmıştır. Buna ek olarak, hastaların %91,5'unda FISH sonucu normal olduğu halde **P72R** polimorfizmi (heterozigot+homozigot) saptanmıştır.

FISH analizi ile **P72R** polimorfizmi arasındaki ilişki çapraz karşılaştırmalar yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilememiştir. ( $p > 0,05$ )

**P72R** polimorfizmi ile karyotip anormalliği karşılaştırıldığında; karyotip anormalliği bulunan 20 hastadan 2'si (%10,0) atasal tipte, 10'u (%50,0) heterozigot, 8'i (%40,0) homozigot mutant saptanmıştır fakat polimorfizm ile aralarında istatistiksel anlamlı ilişki saptanamamıştır ( $p=0,368$ ). Ayrıca hastalar heterozigot+homozigot olarak da gruplanmış; 20 hastanın 18'i (%90) polimorfik saptanmıştır fakat yine polimorfizm ve karyotip anormalliği arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanamamıştır. ( $p > 0,05$ )

Bundan başka normal karyotip saptanan 58 hastanın **P72R** polimorfizmi değerlendirildiğinde, 6 hasta (%10,3) atasal tip, 19 hasta (%32,8) heterozigot ve 33 hasta (%56,9) homozigot mutant saptanmıştır. Ayrıca hastaların %89,7' sinde (52/58) karyotip normal olduğu halde **P72R** polimorfizmi (heterozigot+homozigot mutasyon) saptanmıştır.

Karyotip analizi ile **P72R** polimorfizmi arasındaki ilişki çapraz karşılaştırmalar yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilememiştir. ( $p$  değeri:  $>0,05$ )

**Tablo-6.** **P72R** cinsiyet ve yaş ile ilişkisinin değerlendirilmesi.

<b>P72R</b>	Atasal tip	C/G	G/G	C/G+G/G (heterozigot+ homozigot)	P1 P2
Cinsiyet (E/K)	7/2	21/21	18/30	39/51	P1: 0,070 P2: 0,077
Tanı Yaşı (ortalama) (min-max)	57,67 (30-84)	62,57 (24-84)	63,60 (31-89)	63,12 (24-89)	P1:0,560 P2:0,629

P1: atasal tip- homozigot- heterozigot karşılaştırılması

P2: atasal tip- (homozgot+heterozigot) karşılaştırılması

**Tablo-7. P72R karyotip ve fish anormallik karşılaştırılması.**

P72R	Atasal tip	C/G (heterozigot)	G/G (homozigot)	C/G+G/G (heterozigot+homozigot)	Toplam	P1* P2**
FISH anormallik/toplam	2/7	5/30	10/39	15/69	17/76	P1:0,620 P2:0,650
Karyotip anormallik/toplam	2/8	10/29	8/41	18/70	20/78	P1:0,368 P2:1,000

\*P1: atasal tip- homozigot- heterozigot karşılaştırılması

\*\*P2: atasal tip- (homozgot+heterozigot) karşılaştırılması

**Tablo-8. P72R polimorfizminin prognoz ile ilişkisi.**

P72R	Atasal tip	C/G	G/G	C/G+G/G (heterozigot+ homozigot)	P1* P2**
AML progresyonu var	1	1	3	4	P1:0,483 P2:0,641
AML progresyonu yok	8	41	45	86	P1:- P2:-
Toplam hasta sayısı	9	42	48	90	P1:- P2:-

\*P1: atasal tip- homozigot- heterozigot karşılaştırılması

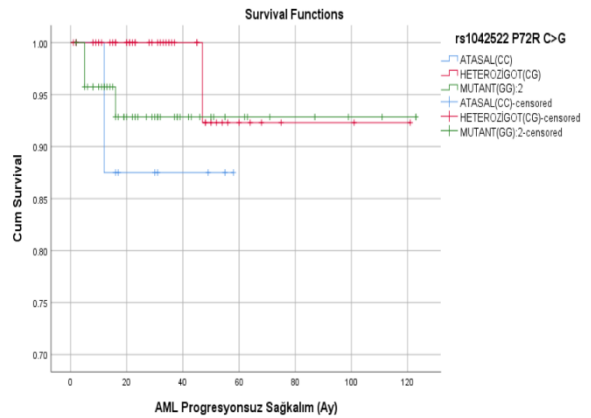
\*\*P2: atasal tip- (homozgot+heterozigot) karşılaştırılması

### SNP Sonuçlarının Prognoz ile İlişkisinin Değerlendirilmesi

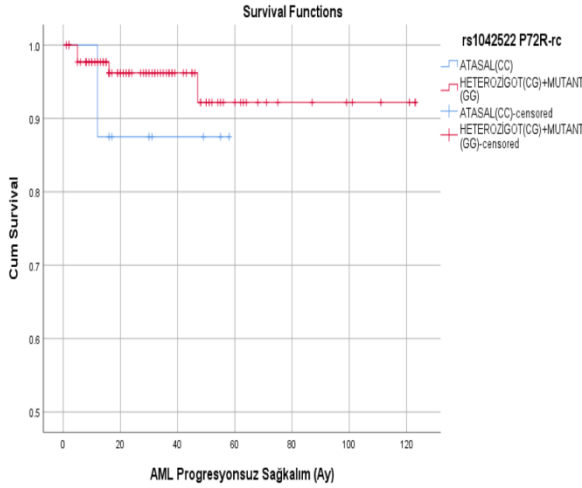
Çalışmadaki 100 hastanın 6'sı AML'ye progresyon göstermiştir. P72R polimorfizmi için analiz edilen 99 hastanın 5'i AML progresyonu göstermiş olup; atasal tip, heterozigot ve homozigot oranları AML progresyonu ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel anlamlı ilişki saptanamamıştır (p değeri: 0,483). Ayrıca bu 5 hasta atasal tip ve heterozigot+homozigot grup olarak ayrıldığında yine AML progresyonu ile aralarında istatistiksel anlamlı ilişki saptanamamıştır (p değeri: 0,641). Geri kalan 94 hastanın AML progresyonsuz ortalama sağ kalımı ile P72R polimorfizmi arasında ilişki saptanamamıştır (Tablo-8). Çalışmamız izlem çalışması olmayıp sadece tanıdan çalışma sonuçlanana kadar ki süreçte AML dönüşüm oranları incelenmiştir.

Kaplan-Meier sağkalım analizinde P72R polimorfizmi incelendiğinde atasal tip AML progresyonsuz ortalama sağ kalım 52,250±5,379 ay, heterozigot tip AML progresyonsuz ortalama sağ kalım 115,308±5,469 ay, homozigot tip AML progresyonsuz ortalama sağ kalım 114,874±4,556 ay olup istatistiksel anlamlı fark saptanamamıştır (Şekil-1).

Kaplan-Meier sağkalım analizinde P72R polimorfizmi için hastalar atasal tip ve heterozigot+homozigot grup olarak ayrıldığında atasal grupta AML progresyonsuz ortalama sağ kalım 52,250±5,379 ay, heterozigot+homozigot grupta AML progresyonsuz ortalama sağ kalım 115,626±3,822 ay olup istatistiksel anlamlı fark saptanamamıştır (log rank değeri: 0,423) (Şekil-2).



**Şekil-1. P72R polimorfizm durumuna göre Progresyonsuz Sağkalım (atasal/ heterozigot/ homozigot).**



**Şekil-2.** *P72R* polimorfizm durumuna göre Progresyonsuz Sağkalm (atasal/ heterozigot+homozigot).

## TARTIŞMA

Çalışmamızda ortalama tanı yaşı 62,7±13,9 saptanmıştır, literatürdeki ortalama tanı yaşı 70'dır (1). Çalışmamızdaki hastaların literatüre göre daha genç yaşta tanı almış olduğu görülmüştür. Literatürde MDS erkeklerde daha sık görülmekle birlikte (yılda 100.000'de E/K: 4.5 / 2.7) (11) bizim çalışmamızda kadınlar lehine yükseklik saptanmıştır (E/K: 1/1,1). İzole del 5q hastalarının literatüre göre kadın sayısı üstünlüğü (12) varken bizim çalışmamızda, kadın ve erkek sayısı eşit olarak gözlenmiştir.

Çalışmamızda AML progresyonu göstermeyen hasta sayısı IPSS ve R-IPSS düşük risk hasta gruplarında anlamlı olarak fazla çıkmıştır ( $p < 0,05$ ). Ayrıca WHO sınıflamasına göre de AML progresyonu sadece artmış blastlı grupta (RAEB-1 ve RAEB-2) görülmüştür. Bulgularımız literatür ile uyumludur (13).

Literatüre göre en sık görülen anomali 5q delesyonuyken (14) çalışmamızda saptanan en sık sitogenetik anomali %9,2 oranıyla trizomi 8' dir.

Bizim çalışmamızda **G360A** rs35993958 ve **P47S** rs1800371 polimorfizmlerinde hiç heterozigotluk ya da homozigotluk saptanmamıştır. **V217M** rs35163653 polimorfizmi %2 heterozigot iken hiç homozigot mutasyon saptanmamıştır. **P72R** rs1042522 polimorfizmi de %42,4 heterozigot ve % 48,5 homozigot mutant ve %9,1 atasal form saptanmıştır. Bu polimorfizmlerden ikisi için (P47S ve R72P) p53 yolağının fonksiyonlarını değiştirdiğine dair yeterli moleküler kanıt bulunurken; diğer iki polimorfizm (V217M ve

G360A) kanser risk artışıyla ilişkilendirilememiştir (15-6). Bir başka çalışmada V217M p53'ün DNA bağlanma alanı (DNA binding domain) yerleşimli olması nedeniyle p53 aktivitesini önemli ölçüde etkileyebileceği düşünülmüştür (15). Bizim hasta grubumuzda V217M polimorfizmi % 98 oranında atasal formda saptanmıştır. Felley-Bosco ve arkadaşları P47S polimorfizmini, sadece Afrika orijinli popülasyonlarda araştırmışlar ve alel sıklığını yaklaşık %5 olarak bildirmişlerdir (17). Önceki çalışmalarda, p53'ün hücre büyümesini baskılama kabiliyetinin, p53-S47 varyantı tarafından etkilenmediği sonucuna varılmıştır (17) fakat apoptozisin uyarılması incelenmemiştir. Şaşırtıcı bir şekilde, bir "super-transaktivasyon p53' ü meydana getiren p53-S47 varyantı, p53'ün hedeflediği (P53AIP1'i de içeren) 8 tane genin 5 tanesini, doğal fenotip p53'ün uyardığı seviyeden %150 daha fazla düzeyde etkinleştirebilir (16). Biz de çalışmamızda P47S polimorfizminin MDS hastaları üzerindeki etkilerine bakmak istedik fakat hasta grubumuzda hiç heterozigot ya da homozigot birey saptayamadığımız için anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

Çalışmamızda *P72R* polimorfizmi cinsiyet ve tanı yaşı parametreleri açısından değerlendirildiğinde (atasal tip, heterozigot ve homozigot mutant) anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ayrıca WHO sınıflama sistemi alt grupları, IPSS ve R-IPSS alt gruplarında *P72R* polimorfizmi ile istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunamamıştır.

Hamadou ve arkadaşları hematolojik malignite vakalarından oluşan 40 hastanın 36' sında en çok tekrarlayan varyantın P72R olduğunu saptamıştır. Bu 40 hastanın 22'si sporadik akut lösemili ve 18'i de lösemi, lenfoma ve miyeloid sendrom vakalarını içeren ailesel hematolojik malignitelerdir. P72R (rs1042522), en sık görülen varyant olarak vakaların %90' ında saptanmıştır (18). Bizim çalışmamızda da P72R (rs1042522) varyant oranı %90,9 ile literatürü desteklemektedir.

McGraw ve arkadaşları spesifik kanserlerde özellikle hematolojik malignitelerin R72P birlikteliğinden kanser risk artışı ile etkilendiğini göstermişlerdir. 705 MDS hastasında R72P- C alelinin MDS yatkınlığını etkileyebileceğini ve bu hasta grubunun %11,1 inin (78/705) atasal, %41,5 nin (293/705) heterozigot ve %47,4 ünün (334/705) homozigot mutant olduğu saptanmıştır. Bu bulgular en geniş çaplı P72R çalışmasını içermektedir (19). Bizim çalışmamızdaki hasta grubunda R72P- C aleli %9,1 atasal, %42,4



heterozigot ve %48,5 homozigot mutant olarak saptanmıştır ve literatür ile uyumludur.

Weich ve arkadaşları kronik miyeloid lösemili (KML) hastalarda TP53 kodon 72 SNP vakalarında (141 hastada) heterozigot ve homozigot varyantların KML gelişiminde önemli rol oynadığını saptamışlardır. 141 KML hastası ve 141 sağlıklı kontrol grubunda çalışma yapan Weich ve arkadaşları TP53-C alel sıklığının kontrol grubunda %29,8 iken hasta grubunda %22,3 olduğunu ve C alel sıklığının hasta grubunda önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir (20). Bizim çalışmamızda C aleli sıklığı %30,3 olarak izlenirken, G aleli sıklığı %69,7 olarak izlenmiştir. Çalışmamızda kontrol grubu olmadığı için sağlıklı bireyler ve hasta bireyler arasındaki alel frekans farkı gözlenememiştir fakat hasta bireylerde C aleli sıklığının az olduğu (%30,3) saptanmıştır.

P72R meme kanseri hastalarında da çalışılmıştır. Üren ve arkadaşları meme kanseri tanısı almış 508 kadın hasta ve sağlıklı kadından oluşan 367 kişilik kontrol grubu ile olan çalışmalarında rs1042522 polimorfizminin hasta ve kontrol grubu kıyasında istatistiksel anlamlı olarak farklılık olmadığını bulmuşlardır. Alel frekanslarını G aleli hasta grubunda %69,0, kontrol grubunda %31,0; C aleli hasta grubunda %31,0; kontrol grubunda %69,0 olarak ortaya koymuşlardır (21). Çalışmamızda kontrol grubu olmadığı için alel frekans karşılaştırılması yapılamamıştır.

Arenillas ve arkadaşları metafaz sitogenetiği sonuçlarında herhangi bir anormalliği olmayan 62 MDS hastasında SNP dizileme yapmış ve bu hastaların %50 sinde (31/62) SNP anormalliği tespit etmişlerdir. Bu çalışma rutin metafaz sitogenetiğinde anormallik olmayan MDS hastalarının bulunduğu en geniş MDS grubu çalışmasıdır. (22). Biz de çalışmamızda metafaz sitogenetiği ile analiz edilmiş ve karyotipi normal saptanmış 58 hastanın %89,7'sinde (52/58) P72R polimorfizmi görülmüştür. Bulmuş olduğumuz sonuçlarda, normal karyotipe sahip fakat SNP anormalliği olan hasta oranı literatüre göre daha yüksektir. Bu farklılığın sebebi çalışmaya katılan MDS hasta gruplarının farklı etnik köken ve coğrafi dağılımının örtüşmüyor oluşundan kaynaklanabilir. Literatür önerileri, her iki yöntemin (FISH ve konvansiyonel sitogenetik) SNP dizileme yöntemi ile birlikte kullanılması yönündedir (22).

## SONUÇ

Böylece hem tanısal hem de prognostik belirteç olarak SNP tedavide ümit verici görünebilir.

Daha geniş çaplı çalışmalar ile polimorfizmlerin prognostik önemi belirlenerek MDS skorlama sistemlerine daha geniş katkı sağlanabilir ve bu doğrultuda tedavi konusunda öngörülerde bulunulabilir.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

## Kaynaklar

1. Jabbour E, Short NJ, Montalban-Bravo G, Huang X, Bueso-Ramos C, Qiao W, Yang H, Zhao C, Kadia T, Borthakur G, Pemmaraju N, Sasaki K, Estrov Z, Cortes J, Ravandi F, Alvarado Y, Komrokji R, Sekeres MA, Steensma DP, DeZern A, Roboz G, Kantarjian H, Garcia-Manero G. Randomized phase 2 study of low-dose decitabine vs low-dose azacitidine in lower-risk MDS and MDS/MPN. *Blood* 2017; 130 (13): 1514-22
2. Solé F, Espinet B, Sanz GF, Cervera J, Calasanz MJ, Luño E, Prieto F, Granada I, Hernández JM, Cigudosa JC, Diez JL, Bureo E, Marqués ML, Arranz E, Ríos R, Martínez Climent JA, Vallespí T, Florensa L, Woessner S. Incidence, characterization and prognostic significance of chromosomal abnormalities in 640 patients with primary myelodysplastic syndromes. *British Journal of Haematology*, 2000; 108 (2), 346-56.
3. Paydaş, S. Young age MDS: differences between Western and Eastern countries. *Leukemia Research* 2006; 30 (3), 362.
4. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127, 2391-405.
5. Greenberg PL, Attar E, Bennett JM, Bloomfield CD, Borate U, De Castro CM, Deeg HJ, Frankfurt O, Gaensler K, Garcia-Manero G, Gore SD, Head D, Komrokji R, Maness LJ, Millenson M, O'Donnell MR, Shami PJ, Stein BL, Stone RM, Thompson JE, Westervelt P, Wheeler B, Shead DA, Naganuma M. Myelodysplastic Syndromes: Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network* 2013; JNCCN, 11 (7), 838-74.

6. Greenblatt M.S., Bennett W. P., Hollstein M., Harris C.C. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Research* 1994; 54, 4855-78.
7. Soussi, T., p53 alterations in human cancer: more questions than answers. *Oncogene* 2017 (26(15)), 2145-56.
8. Soussi, T. and Wiman, KG. Shaping genetic alterations in human cancer: the p53 mutation paradigm. *Cancer Cell* 2007; (12(4)), 303-12.
9. Ekmekçi A., Konaç E., Önen H.İ. Gen Polimorfizmi ve Kansere Yatkınlık. *Marmara Medical Journal* 2018, 21(3), 282-95.
10. Kokate P., Dalvi R., Koppaka N. ve Mandava S. Prognostic classification of MDS is improved by the inclusion of FISH panel testing with conventional cytogenetics . *Cancer Genetics* 2017, 120–7.
11. Ma X. Epidemiology of myelodysplastic syndromes. *The American Journal of Medicine* 2012, 125, 2-5.
12. Kanehira K., Ketterling R.P. and Van Dyke D.L. del (5q) in myeloid neoplasms. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology* 2009; 314-6.
13. Schanz J., Tüchler H., Sole F., Mallo M., Luno E., Cervera J., Granada I. New Comprehensive Cytogenetic Scoring System for Primary Myelodysplastic Syndromes (MDS) and Oligoblastic Acute Myeloid Leukemia After MDS Derived From an International Database Merge. *American Society of Clinical Oncology (Journal Of Clinical Oncology)* 2012, 820-9.
14. Zahid M.F., Malik U.A., Sohail M., Hassan I.N., Ali S., Shaukat M.H.S. Cytogenetic Abnormalities in Myelodysplastic Syndromes: An Overview. *International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research* 2016, 231-9.
15. Tidow H, Melero R, Mylonas E, Freund SM, Grossmann JG, Carazo JM, Svergun DI, Valle M, Fersht AR. Quaternary structures of tumor suppressor p53 and a specific p53 DNA complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007; 104 (30), 12324-9.
16. Kato S, Han SY, Liu W, Otsuka K, Shibata H, Kanamaru R, Ishioka C. Understanding the function-structure and function-mutation relationships of p53 tumor suppressor protein by high-resolution missense mutation analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003; (100(14)), 8424-9.
17. Felley-Bosco, E., Weston, A., Cawley, H. M., Bennett, W. P. & Harris, C. C.. Functional studies of a germ-line polymorphism at codon 47 within the p53 gene. *American Journal of Human Genetics* 1993; (53), 752-9.
18. Hamadou W.S., Besbes S., Bourdon V., Youssef Y.B., Laatiri M.A., Noguchi T., Khelif A., Sobol H. and Soua Z. Mutational analysis of TP53 gene in Tunisian familial hematological malignancies and sporadic acute leukemia cases. *Familial Cancer* 2017; 153-7.
19. McGraw K.L., Zhang L.M., Rollison D.E., Basiorka A.A., Fulp W., Rawal B., Jerez A. The relationship of TP53 R72P polymorphism to disease outcome and TP53 mutation in myelodysplastic syndromes . *Blood Cancer Journal* 2015; 1-7.
20. Weich N, Ferri C, Moiraghi B, Bengió R, Giere I, Pavlovsky C, Larripa I, Fundia A. TP53 codon 72 polymorphisim predicts chronic myeloid leukemia susceptibility and treatment outcome. *Blood Cells, Molecules and Diseases* 2016; 129-33.
21. Üren N., Korak T., Altınok D., Ergül E., Güllüoğlu B., Şimşek T. Canturk N.Z., Utkan N.Z, Sazci A. (2016). TP53 (RS1042522) POLYMORPHISM IN BREAST CANCER. *Journal of Health Sciences of Kocaeli University* 2016; 2, 28-31.
22. Arenillas L, Mallo M, Ramos F, Guinta K, Barragán E, Lumbreras E, Larrayoz MJ, De Paz R, Tormo M, Abáigar M, Pedro C, Cervera J, Such E, José Calasanz M, Díez-Campelo M, Sanz GF, Hernández JM, Luño E, Saumell S, Maciejewski J, Florensa L, Solé F. Single Nucleotide Polymorphism Array Karyotyping: A Diagnostic and Prognostic Tool in Myelodysplastic Syndromes with Unsuccessful Conventional Cytogenetic Testing. *Genes, Chromosomes & Cancer* 2013, 1167-77.

## Could diabetes mellitus be a risk factor for postoperative hypoparathyroidism?

*Diabetes mellitus postoperatif hipoparatiroidizm için bir risk faktörü olabilir mi?*

Bülent Can<sup>1</sup> Zubeyr Said Ağaç<sup>2</sup> Zeynep Çetin<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Istanbul Medeniyet University, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Istanbul, Türkiye

<sup>2</sup> Ankara Numune Educational and Research Hospital, Department of Internal Medicine, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup> Ankara Numune Educational and Research Hospital, Department of Endocrinology and Metabolism, Ankara, Türkiye

### ABSTRACT

**Aim:** Postoperative hypoparathyroidism (postop hypoPT) is usually seen after aggressive neck surgery, and can be fatal if left untreated. To the best of our knowledge there is no study in literature that directly investigates the association between diabetes mellitus (DM) and postop hypoPT. In this study, we aimed to determine whether DM increases the risk of permanent postop hypoPT.

**Materials and Methods:** Patients presenting to endocrinology outpatient clinic with a diagnosis of permanent postoperative hypoparathyroidism, were studied retrospectively. Patients older than 18 years of age were included in the study if one year had passed after the neck operation.

**Results:** The average age of 131 patients who met the inclusion criteria was  $49 \pm 12$ . 93.9% of the patients were women and the patients were generally obese or overweight (mean body mass index =  $30 \pm 5.29$  kg/m<sup>2</sup>). While 14.5% of the patients were diabetic and 32.8% prediabetic (47.3% had impaired carbohydrate tolerance), 52.7% had normal glucose metabolism.

**Conclusion:** The rate of DM / prediabetes (preDM) in patients diagnosed with postop hypoPT and the prevalence of DM / preDM in Turkish population were similar. Even though DM is associated with endothelial dysfunction, our findings suggest that DM is not a risk factor for postop hypoPT.

**Keywords:** Postoperative hypoparathyroidism, permanent hypoparathyroidism, diabetes mellitus, prediabetes.

### ÖZ

**Amaç:** Postoperatif hipoparatiroidizm (postop hipoPT) genellikle agresif boyun cerrahisinden sonra görülür ve tedavi edilmezse ölümcül olabilir. Bildiğimiz kadarıyla literatürde diabetes mellitus (DM) ile postop hipoPT arasındaki ilişkiyi doğrudan araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada DM'nin kalıcı postop hipoPT riskini artırıp artırmadığını belirlemeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Endokrinoloji polikliniğine postoperatif kalıcı hipoparatiroidizm tanısı ile başvuran hastalar retrospektif olarak incelendi. Boyun ameliyatının üzerinden en az bir yıl geçmiş olan 18 yaş üstü hastalar çalışmaya dâhil edildi.

Corresponding author: Bülent Can  
Istanbul Medeniyet University, Faculty of Medicine,  
Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology  
and Metabolism, Istanbul, Türkiye  
E-mail: blntcn34@gmail.com  
Application date: 22.09.2021 Accepted: 16.01.2022

**Bulgular:** Dâhil edilme kriterlerine uyan 131 hastanın yaş ortalaması  $49 \pm 12$  idi. Hastaların %93,9'u kadındı ve hastalar genel olarak obez veya fazla kiloluydu (ortalama vücut kitle indeksi=  $30 \pm 5,29$   $\text{kg/m}^2$ ). Hastaların %14,5'i diyabetik ve %32,8'i prediyabetik (%47,3'ü bozulmuş karbonhidrat toleransına sahipti), %52,7'si normal glukoz metabolizmasına sahipti.

**Sonuç:** Postop hypoPT tanısı alan hastalarda DM / prediyabet (preDM) sıklığı ile Türk popülasyonunda DM / preDM prevalansı benzerdi. Diyabet, endotel disfonksiyonu ile ilişkili olmasına rağmen, çalışmamızdaki bulgular DM'nin postop hypoPT için bir risk faktörü olmadığını düşündürmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Postoperatif hipoparatiroidizm, kalıcı hipoparatiroidizm, diabetes mellitus, prediyabet.

## INTRODUCTION

Postoperative hypoparathyroidism (postop hypoPT) is a common complication of neck surgery. Development of 'permanent hypoparathyroidism' is especially significant, as it can be fatal when left untreated. Permanent hypoPT, which requires long-term close monitoring, is a cumbersome complication both for the patient and the physician. If patients at risk for postop hypoPT can be identified, necessary supportive measures can be provided and morbidity may be reduced (1).

Known risk factors for postop hypoPT include surgery for thyroid malignancy, bilateral central neck dissection, inexperience of the surgeon, recurrent surgery, substernal goiter, vitamin D deficiency, surgery for parathyroid hyperplasia, pregnancy, lactation, female gender, autoimmune thyroid disease, and malabsorptive conditions such as previous gastric bypass surgery (2, 3).

Parathyroid glands are fragile organs with a rich in blood supply. In addition to the above-mentioned risk factors, 'endothelial dysfunction', which causes impaired blood flow to the parathyroid glands, may also play a critical role in the development of postop hypoPT. Studies have shown that diabetes, a cardiovascular disease equivalent, is associated with endothelial dysfunction. (4-6). Diabetes mellitus (DM) also affects angiogenesis and delays the wound healing (7). DM may hence be related to postoperative parathyroid gland dysfunction.

To the best knowledge of the authors, there is no study in literature that directly investigates the association between DM and postop hypoPT. In this study, we aimed to determine whether DM increases the risk of permanent postop hypoPT.

## MATERIALS and METHODS

Patients who presented to the endocrinology outpatient clinic of a tertiary hospital with a diagnosis of permanent postop hypoPT between

April 2015 and March 2020, were evaluated retrospectively.

Patients older than 18 years of age were included in the study if one year had passed after the neck operation. Patients with metabolic bone disease that could affect serum calcium and phosphorus levels, patients diagnosed with idiopathic hypoparathyroidism, pregnant or breastfeeding women, patients on dialysis, and patients with known active malignancy were excluded. The data on whether the patients were diabetic or prediabetic in the preoperative period were based on their anamnesis or preoperative laboratory data, if available. The patients who had not reliable data were not recruited to study.

Body mass index (BMI) was calculated as weight (kg) divided by height in meters squared ( $\text{m}^2$ ). Total cholesterol and triglycerides were measured by enzymatic color test. Calcium, phosphorus, magnesium and albumin were tested by photometric method. LDL and HDL cholesterol were studied with enzymatic color + immuno-inhibition test, FPG enzymatic UV test (HK G6P-DH) and creatinine kinetic color test (AU5800 auto analyzer, Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA). Serum TSH was studied in Beckmann-Coulter DXI-800 immunoassay device by chemiluminescence immunoassay (CLIA) method. Parathyroid hormone (PTH) and 25 (OH) vitamin D were measured using the chemiluminescence method on the Cobas E-801 analyzer (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany).

Those with impaired fasting glucose and / or impaired glucose tolerance were considered preDM. American Diabetes Association criteria were used for the diagnosis of DM (8). Those with a body mass index (BMI)  $\geq 30$   $\text{kg/m}^2$  were defined as obese, while those with a BMI = 25 -  $< 30$   $\text{kg/m}^2$  were defined as overweight. A PTH level below 15 one year after surgery was considered permanent hypoPT. The study was

approved by the institutional review board (2017/E-17-1274).

Statistical analyzes were performed using IBM SPSS for Windows Version 24.0 package program. Numerical variables were summarized by mean  $\pm$  standard deviation or median [minimum-maximum]. Categorical variables were shown with numbers and percentages. Whether there was a difference between the groups in terms of categorical variables was investigated by chi-square test or Fisher's exact test. Whether numerical variables showed normal distribution or not was examined by Kolmogorov Smirnov test, and homogeneity of variances was examined by Levene test. Differences between two independent groups in terms of numerical variables; In case the parametric test assumptions were met, independent groups were analyzed by t-test. If the parametric test assumptions were not provided, the Mann Whitney U test was used. The significance level was taken as  $p < 0.05$ .

## RESULTS

One hundred and thirty-one patients who met the inclusion criteria were included in the study. The average age of the patients was  $49 \pm 12$  years, and the mean time after the operation was 9 (min-max: 1-44) years (Table-1). 93.9% of the patients were women and the patients were generally obese or overweight (body mass index 'BMI'  $30 \pm 5.29$  kg/m<sup>2</sup>). When those with impaired fasting glucose and / or impaired glucose tolerance were evaluated as preDM, 32.8% of the patients who developed postop hypoPT were prediabetic and 14.5% had diabetes. In other words, while 47.3% of the patients had impaired carbohydrate tolerance, 52.7% had normal glucose metabolism (Table-1).

The current laboratory data of patients are shown in Table-2. Treatment regimens of patients and the daily treatment doses are presented in Table-3. The doses of daily calcitriol did not differ significantly between the group with impaired glucose metabolism (DM + preDM) and the group with normal glucose tolerance (Table-4).

**Table-1.** Descriptive data of the patients.

Parameter	Value / result
Age (year)	49.47 $\pm$ 12.14
Gender (F/M) (n)	123 / 8
(%)	(%93.9) / (%6.1)
Body mass index (BMI) (kg/m <sup>2</sup> )	30 $\pm$ 5.29
Mean time after surgery (years) (min-max)	9 (1-44)
Thyroid malignancy n (%)	36 (27.5)
Recurrent operation n (%)	12 (9.2)
Lymph node dissection n (%)	16 (12.2)
Hypertension n (%)	33 (25.2)
Cardiovascular disease n (%)	12 (9.2)
Preop DM + pre DM n (%)	22 (16.8)
Postop carbohydrate metabolism situation:	
• DM (+) n (%)	19 (14.5)
• Pre DM n (%)	43 (32.8)
• Normal glucose tolerance n (%)	69 (52.7)
Postop DM + Pre DM	61 (47.3)

DM: Diabetes mellitus, Pre DM: Pre-diabetes, Preop: Preoperative, Postop: Postoperative

**Table-2.** Current laboratory data of patients.

Parameter	Value
PTH (pg/ml)	6.73 ± 4.49
25-OH vitamin D3 (ng/ml)	22.61 ± 9.19
Ca (mg/dl)	8,7 (5.5-10.3)
P (mg/dl)	4.47 ± 0.23
Mg (mg/dl)	1.87 ± 0.20
Fasting plasma glucose (mg/dl)	95 (70-338)
HbA1c (%)	6 (5.3-14.5)
Creatinine (mg/dl)	0.85 ± 0.22
Triglyceride (mg/dl)	142.64 ± 94.35
Total cholesterol (mg/dl)	205.07 ± 36.24
LDL-cholesterol (mg/dl)	122.63 ± 29.84
HDL-cholesterol (mg/dl)	53.23 ± 12.54
Vitamin B12 (ng/L)	237 (53-518)
Uric acid (mg/dl)	4.87 ± 1.40

PTH: Parathyroid hormone, Ca: Calcium, P: Phosphorus, Mg: Magnesium,

HbA1c: Glycated hemoglobin, LDL: Low-density lipoprotein, HDL: High-density lipoprotein

**Table-3.** Medications and their daily doses.

Medication	Daily dose of medication
Calcitriol (mcg/day)	0.5 (0.25-2)
Levothyroxine (mcg/day)	125 (25-350)
Calcium (mg/day)	1709.49 ± 779.47

**Table-4.** Comparison of the patients with impaired glucose metabolism (DM + Pre DM) and normal glucose tolerance in terms of calcitriol treatment doses.

	Patients with normal glucose metabolism (n=69)	Patients with DM + pre DM (n=62)	p value
Calcitriol dose (mcg/day)	0.70 ± 0.415 (0.25-2)	0.55 ± 0.265 (0.25-1)	0.063
Patients with serum 'Ca' in the target range (n)	14 (20.3)	13 (21)	0.886
Patients with serum 'P' in the target range (n)	41 (59.4)	29 (46.8)	0.278

DM: Diabetes mellitus, Pre DM: Pre-diabetes

## DISCUSSION

We found that the prevalence of DM / preDM in patients who developed permanent hypoPT after neck surgery was similar to the general prevalence of DM / preDM in our country (9, 10).

Postop hypoPT is the most common complication of neck surgery (2). It is usually seen after

aggressive thyroid surgery and can be fatal if left untreated. Quality of life is seriously impaired, especially if 'permanent hypoparathyroidism' develops. It is important to identify patients at risk of postop hypoPT, so that necessary supportive measures can be taken to reduce the risk.

Postop hypoPT may be transient or permanent. Transient hypoPT usually resolves within 6 months postoperatively, while permanent hypoPT continues beyond 6 months (even up to a year) after surgery (11, 12). Parathyroid hormone (PTH) has a short half-life (3-5 minutes) and disruption of arterial supply during surgical manipulation can result in temporary low PTH levels (<15 pg/ml) in the circulation. If PTH levels continue to remain below 15 pg/ml for more than 6-12 months, calcitriol and calcium replacement therapy are usually required along with close monitoring. Long-term consequences of hypoPT include basal ganglia / ectopic soft tissue calcification, cataracts, imperfections in bone metabolism, nephrolithiasis, and even end stage renal failure (3). In addition to increased morbidity and mortality, permanent hypoPT have a serious impact on quality of life (3, 13). Postop hypoPT mandates lifetime follow-up, which is difficult for both the patient and the physician, not to mention the financial burden. In our study, despite close monitoring, patients with serum calcium levels in the target range (8-8.5 mg/dl) (14, 15) constituted only 1/5 of the total patients.

Most of the risk factors for postop hypoPT are associated with trauma and devascularization of the parathyroid glands (11, 12). Risk factors other than the extent of the surgical intervention and the experience of the surgeon are particularly associated with transient postop hypoPT. Other risk factors such as vitamin D deficiency have little role in the development of postop hypoPT (12, 14, 16-19). In the present study, extensive surgical procedures such as thyroid malignancy / neck lymph node dissection and recurrent operations were frequent, in accordance with the literature (2, 3, 12).

The current vitamin D3 levels of patients have been obtained 9 years after surgery, on average. Hence, we lack information regarding the preoperative 25-OH vitamin D3 levels. However, the fact that the patients still had vitamin D deficiency despite the routine use of 25-OH vitamin D3 replacement suggested that deficiency was probably present in the preoperative period as well. Vitamin D deficiency causes postoperative transient hypoparathyroidism (1) as 25-OH vitamin D3 increases intestinal calcium and phosphate absorption. PTH levels are increased in patients with low 25-OH vitamin D3 (secondary hyperparathyroidism), thus 1-hydroxylation is activated in the kidneys and 1,25-dihydroxy-

vitamin D3 (calcitriol) production is stimulated (20, 21). The normal production rate of calcitriol is 0.5-1 µg per day (22). The calcitriol requirement of the patients in our study was between 0.25 and 2 mcg/day, which is in accordance with the literature. A possible explanation for the transient hypoPT seen in vitamin D3 deficiency may be that vitamin D deficiency leads to secondary hyperparathyroidism, which in turn increases the oxygen consumption of the parathyroid glands. However, in order to prove this possible mechanism, radiological studies showing an increased blood supply to the parathyroid glands are needed.

There are contradictory publications in the literature regarding the relationship between age and postoperative hypoPT development. Younger patients may require aggressive surgery for malignancy (23, 24). On the other hand, aging is thought to increase the risk of hypoPT due to impaired blood supply of the parathyroid glands and low vitamin D levels (1, 20). The average age of our study participants was 50 and the results were obtained approximately 9 years after surgery. Thus, in the present study, postop hypoPT was observed in adults around the age of 40. The study was conducted in a tertiary reference hospital, where aggressive surgery for malignancy is more common, which might explain the relatively young age of hypoPT patients.

In line with literature, we found that postop hypoPT was more common in women. This may be due to lower 25-OH D3 levels in women and other hormonal factors. The high risk of postop hypoPT in young women has also been attributed to the anti-osteoclastic effect of estrogen (25).

In addition to the above-mentioned risk factors for postop hypoPT, 'endothelial dysfunction' may cause an impairment in the blood supply of the parathyroid glands. The parathyroid glands are vulnerable organs, and a rich blood supply is required for its proper functioning. Approximately 30% of a normal parathyroid gland is composed of capillary cells, and interruption of the blood supply of this fragile gland leads to hypoPT (26). Studies have shown that diabetes, a disease equivalent to cardiovascular disease, is associated with endothelial dysfunction (4-6). In addition, diabetes mellitus negatively affects angiogenesis and delays the wound healing process (7). Thus, we hypothesized that the

blood flow to the parathyroid glands would be jeopardized in diabetic patients undergoing surgery. However, we did not find any significant difference in the prevalence of diabetes / prediabetes between patients who developed permanent hypoPT after neck surgery and the Turkish population in general. According to the TURDEP-II (Turkish Diabetes Epidemiology Study, n = 26499) study, the prevalence of DM in our country is 13.7%, and the prevalence of prediabetes (isolated impaired fasting glucose and/or impaired glucose tolerance) is 30.8% (9). The prevalence of DM and preDM in the patients included in our study were similar to the general Turkish population (14.5% and 32.8%, respectively). According to PURE study (an international Prospective Urban Rural Epidemiology Study, n=4056 participants [female: 60.7%, mean age: 50±9.1 years]) the prevalence of DM increased from 13.7% in 2008 to 21% in 2015 (10). In literature, we found only one study about the relationship between diabetes and the speed of postop PTH recovery. Al-Dhahri et al emphasized that DM is one of the risk factors affecting the speed of recovery (27). However, it was not about the association between diabetes and postop hypoPT risk.

Our retrospective study has several limitations worth mentioning. First of all, the sample size was small. A higher sample size could have

revealed a statistically significant difference. Moreover, the operations were performed in different centers across the city and the patients were referred to the hospital where the study was conducted. Hence, pathology reports and preoperative laboratory data of some of the patients were missing, and we did not have sufficient data about the surgeons' experience or the indications of neck surgery in some patients. Finally, the results of the study cannot be generalized to the whole population.

## CONCLUSION

In conclusion, to the best of our knowledge, this is the first study to directly investigate the association between DM / preDM and postop hypoPT. Our results suggest that diabetes mellitus is not a risk factor for postoperative hypoparathyroidism. Although there are many risk factors for the development of postop hypoPT, permanent hypoPT is mainly caused by the devascularization of parathyroid glands during the surgical procedure.

**Conflicts of interest:** The authors declare that they have no conflict of interest, and all authors have read and approved of the manuscript being submitted.

**Ethics approval:** The study was approved by the institutional review board (2017/E-17-1274).

## References

1. Edafe O, Antakia R, Laskar N, Uttley L, Balasubramanian SP. Systematic review and meta-analysis of predictors of post-thyroidectomy hypocalcaemia. *Br J Surg* 2014; 101: 307-20.
2. Stack BC Jr, Bimston DN, Bodenner DL, et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Disease State Clinical Review: Postoperative Hypoparathyroidism Definitions and Management. *Endocr Pract* 2015; 21: 674-85. doi: 10.4158/EP14462.DSC
3. Orloff LA, Wiseman SM, Bernet VJ, et al. American Thyroid Association Statement on Postoperative Hypoparathyroidism: Diagnosis, Prevention, and Management in Adults. *Thyroid* 2018; 28: 830-41.
4. Kim JA, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* 2006; 113: 1888-904.
5. Abdul-Ghani M, DeFronzo RA, Del Prato, Chilton R, Singh R, Ryder REJ. Cardiovascular disease and type 2 diabetes: has the dawn of a new era arrived? *Diabetes Care* 2017; 40: 813-20.
6. Tabit CE, Chung WB, Hamburg NM, Vita JA. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanisms and clinical implications. *Rev Endocr Metab Disord* 2010; 11: 61-74.
7. Kolluru GK, Bir SC, Kevil CG. Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing. *Int J Vasc Med* 2012: 918267.
8. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. *Diabetes Care* 2021; 44 (Suppl 1): S15-S33. doi: 10.2337/dc21-S002
9. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol* 2013; 28: 169-80.



10. Aytekin Oğuz, Özge Telci Çaklılı, Burcu Tümerdem Çalık, Pure Investigators. The Prospective Urban Rural Epidemiology (PURE) study: PURE Türkiye. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2018; 46: 613-23.
11. Shoback DM, Bilezikian JP, Costa AG, et al. Presentation of Hypoparathyroidism: Etiologies and Clinical Features. *J Clin Endocrinol Metab* 2016; 101: 2300-12.
12. Sitges-Serra A. Etiology and Diagnosis of Permanent Hypoparathyroidism after Total Thyroidectomy. *J Clin Med* 2021; 10: 543.
13. Vokes T. Quality of life in hypoparathyroidism. *Bone* 2019; 120: 542-7.
14. Shoback D. Clinical practice. Hypoparathyroidism. *N Engl J Med* 2008; 359: 391-403.
15. Abate EG, Clarke BL. Review of Hypoparathyroidism. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2017; 7: 172.
16. Bilezikian JP, Khan A, Potts JT Jr, et al. Hypoparathyroidism in the adult: epidemiology, diagnosis, pathophysiology, target-organ involvement, treatment, and challenges for future research. *J Bone Miner Res* 2011; 26: 2317-37.
17. De Sanctis V, Soliman A, Fiscina B. Hypoparathyroidism: from diagnosis to treatment. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2012; 19: 435-42.
18. Iacobone M, Scerrino G, Palazzo FF. Parathyroid surgery: an evidence-based volume-outcomes analysis: European Society of Endocrine Surgeons (ESES) positional statement. *Langenbecks Arch Surg* 2019; 404: 919-27. <https://doi.org/10.1007/s00423-019-01823-9>
19. Torselli-Valladares DE, Lorente-Poch L, González-Martín A, Sancho-Insenser JJ, Sitges-Serra A. Patterns of recurrent and persistent hyperparathyroidism according to whether initial parathyroidectomy was performed at high or low volume centers (abstract). *Br J Surg* 2020; 107: 16.
20. Erbil Y, Bozboru A, Ozbey N, et al. Predictive value of age and serum parathormone and vitamin d3 levels for postoperative hypocalcemia after total thyroidectomy for nontoxic multinodular goiter. *Arch Surg* 2007; 142: 1182-7.
21. Hickey L, Gordon CM. Vitamin D deficiency: new perspectives on an old disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* 2004; 11: 18-25.
22. Whisner CM, Martin BR, Schoterman MH, et al. Galacto-oligosaccharides increase calcium absorption and gut bifidobacteria in young girls: a double-blind cross-over trial. *Br J Nutr* 2013; 110: 1292-303.
23. Sippel RS, Ozgöl O, Hartig GK, Mack EA, Chen H. Risks and consequences of incidental parathyroidectomy during thyroid resection. *ANZ J Surg* 2007; 77: 33-6.
24. Bhattacharyya N, Fried MP. Assessment of the morbidity and complications of total thyroidectomy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 128: 389-92.
25. Villarroja-Marquina I, Lorente-Poch L, Sancho J, Sitges-Serra A. Influence of gender and women's age on the prevalence of parathyroid failure after total thyroidectomy for multinodular goiter. *Gland Surg* 2020; 9: 245-51.
26. Nawrot I, Woźniewicz B, Tołoczko T, et al. Allogeneic transplantation of cultured parathyroid progenitor cells without immunosuppression: clinical results. *Transplantation* 2007; 83: 734-40.
27. Al-Dhahri SF, Mubasher M, Mufarji K, Allam OS, Terkawi AS. Factors predicting post-thyroidectomy hypoparathyroidism recovery. *World J Surg* 2014; 38: 2304-10.

## Perinatal trends and birth outcomes of Syrian refugee and turkish women

### *Suriyeli mülteci ve türk kadınlarının perinatal eğilimleri ve obstetrik sonuçları*

Alper İleri<sup>1</sup>

Can Ata<sup>2</sup>

Hande İleri<sup>3</sup>

Suna Yıldırım Karaca<sup>1</sup>

Ayşe Rabia Şenkaya<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Obstetrics and Gynecology, University of Health Sciences Tepecik Education and Research Hospital, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup> Obstetrics and Gynecology, University of Demokrasi Buca Seyfi Demirsoy Education and Research Hospital, Izmir, Türkiye

<sup>3</sup> Family Medicine, University of Health Sciences Tepecik Education and Research Hospital, Izmir, Türkiye

<sup>4</sup> Obstetrics and Gynecology, Izmir Bakircay University Cigli Training and Research Hospital, Izmir, Türkiye

## ABSTRACT

**Aim:** The impact of migration on health is far-reaching, making migrant populations particularly vulnerable, fueling health inequalities and resulting in serious implications for global health. The aim of our study to assess antenatal care, pregnancy and neonatal outcomes of Syrian refugee women in Türkiye.

**Material and Methods:** Syrian and Turkish pregnant women who delivered between 2013-2019 were recruited and categorized into groups according to maternal age at delivery. First trimester combined test, second trimester triple test, preterm delivery, maternal anemia; neonatal stillbirth, APGAR scores, birth weight and breastfeeding status were assessed.

**Results:** 4992 Syrian and 6846 Turkish pregnant women were included. Maternal anemia was higher in Turkish patients in 20-34 and  $\geq 35$  groups. First trimester combined test, APGAR scores and birth weights were lower in Syrian women. Preterm rates higher in Turkish patients in only 20-34 age group. Second-trimester triplet tests were only higher in Turkish women in  $\geq 35$  age group. Low birth weight was higher in younger Syrian patients. Satisfying breastfeeding results were found in Syrian women.

**Conclusion:** Our study stated that Syrian women are at risk of low birth weight in adolescent and 20-34 age groups and low rates in first trimester combined test in all age groups. However decreased risk of pregnancy complications such as maternal anemia, preterm delivery, cesarean delivery and satisfying breastfeeding results were found in Syrian patients.

**Keywords:** Syrian, refugee, pregnancy, outcomes.

## ÖZ

**Amaç:** Göçün sağlık üzerindeki etkisi geniş kapsamlıdır ve göçmen nüfusu özellikle savunmasız hale getirmekte, sağlık eşitsizliklerini körüklemekte ve küresel sağlık üzerinde ciddi sonuçlar doğurmaktadır. Çalışmamızın amacı, Türkiye’de yaşayan Suriye’den göç etmiş gebelerin doğum öncesi bakım, gebelik ve yenidoğan sonuçlarını değerlendirmektir.

Corresponding author: Alper İleri  
Obstetrics and Gynecology, University of Health Sciences  
Tepecik Education and Research Hospital, Izmir, Türkiye  
E-mail: [alper\\_ileri@hotmail.com](mailto:alper_ileri@hotmail.com)  
Application date: 05.02.2022 Accepted: 28.02.2022

**Gereç ve Yöntem:** 2013-2019 yılları arasında doğum yapan Suriye'den göç etmiş ve Türkiye Cumhuriyeti (TC) vatandaşı gebeler, doğumdaki anne yaşlarına göre gruplara ayrıldı. Birinci trimester kombine testi, ikinci trimester üçlü testi, erken doğum, maternal anemi; ölü doğum, APGAR skorları, doğum ağırlığı ve emzirme durumu değerlendirildi.

**Bulgular:** 4992 Suriye'den göç etmiş ve 6846 ve TC vatandaşı gebe dâhil edildi. Maternal anemi, TC vatandaşı gebelerde 20-34 ve  $\geq 35$  gruplarda daha yüksekti. İlk trimester kombine testi, APGAR skorları ve doğum ağırlıkları Suriye'den göç etmiş gebelerde daha düşüktü. Sadece 20-34 yaş grubundaki TC vatandaşı gebelerde preterm doğum oranları daha yüksekti. İkinci trimester üçlü testler sadece  $\geq 35$  yaş grubundaki TC vatandaşı kadınlarında daha yüksekti. Düşük doğum ağırlığı Suriye'den göç eden genç gebelerde daha yüksekti. Suriye'den göç etmiş kadınlarda tatmin edici emzirme sonuçları bulundu.

**Sonuç:** Çalışmamız, Suriye'den göç etmiş gebelerin adolesan ve 20-34 yaş gruplarında düşük doğum ağırlığı ve tüm yaş gruplarında ilk trimester kombine testte düşük oranlar açısından risk altında olduğunu gösterdi. Ancak Suriye'den göç etmiş gebelerde maternal anemi, erken doğum, sezaryen doğum ve tatmin edici emzirme sonuçları gibi gebelik komplikasyonları riskinde azalma bulundu.

**Anahtar Sözcükler:** Suriyeli, göçmen, gebelik, sonuçlar.

## INTRODUCTION

Since 2011, an estimated 4.812.204 million Syrian refugees have left for neighboring countries, primarily Lebanon, Türkiye, and Jordan (1). Of all Syrian refugees in Türkiye, 49.2% are female (1). The impact of migration on health is far-reaching, making migrant populations particularly vulnerable, fueling health inequalities and resulting in serious implications for global health.

Routine perinatal healthcare is an effective method to optimize pregnancy outcomes and the lifelong health of women and their offspring (2). Late access to maternity care can result in adverse perinatal outcomes (3). Vulnerable pregnant women, face barriers to accessing healthcare including maternity care (4). This disparity in access to, and use of, perinatal healthcare can lead to significant health inequalities. Failure to effectively reach and provide optimal perinatal care for refugee women will result in failure to reduce health inequalities for this vulnerable group of women and their neonates.

The aim of the study to assess antenatal care, pregnancy and neonatal outcomes of Syrian refugee women in Türkiye.

## MATERIALS and METHODS

A retrospective cross-sectional study was conducted in Buca Seyfi Demirsoy Research and Teaching Hospital, one of the highest birth rate in west region of Türkiye. Turkish and Syrian singleton pregnant women over 20 weeks who delivered between 2013 and 2019, with no missing data, were recruited.

Maternal-fetal and neonatal data were obtained from clinical databases of obstetric facility. Pregnant women were categorized into 3 groups according to maternal age at delivery ( $\leq 19$  years, 20-34 years,  $\geq 35$  years). Antenatal care, pregnancy and neonatal outcomes assessed were: maternal age, gestational age at birth, preterm delivery, first trimester combined test, second trimester triple test, maternal hemoglobin (Hgb) at birth, pregnancy anemia, mode of delivery, if available primary or repeat cesarean and cesarean indication; birth height, birth weight, neonatal cranial circumference, low birth weight, macrosomia, neonatal sex, first and fifth minute APGAR score, neonatal death and breastfeeding.

Gestational age at birth was calculated by the last known menstrual period and confirmed by 1st or 2nd trimester ultrasound examination.  $\leq 19$  years were defined as adolescent (5) and  $\geq 35$  years as advance maternal age (6). Preterm delivery was defined as delivery occurring before 37 completed weeks of gestation. Anemia for pregnancy was defined as  $<10.5$  g/dl at second and as  $<11$  g/dl at third trimester. Pregnancy hypertension variable included both chronic hypertension, gestational hypertension, HELLP, pre-eclampsia, pre-eclampsia superimposed and eclampsia. Low birth weight (LBW) neonates are sub-grouped to the degree of smallness at first weight determination after birth: low birth weight (LBW) as less than 2500 grams, very low birth weight (VLBW) as less than 1500 grams, extremely low birth weight (ELBW) less than 1000 grams. Macrosomia was defined as

neonates' birth weight over 4000 grams. Breastfeeding only act is considered as feeding without formula milk.

Statistical analysis was performed using IBM SPSS 24.  $p < 0.05$  was considered statistically significant. The distribution of continuous variables was evaluated with Shapiro-Wilk test. Mann Whitney U test for ordinal and Chi-square and Fisher's Exact test for categorical data was performed. Study was approved by local ethical committee (2019/7-20).

## RESULTS

4992 Syrian refugee and 6846 Turkish pregnant women over 20 weeks who delivered, with sufficient data, were recruited.

In Turkish vs Syrian adolescent patients; mean gestational week, age, Hgb, APGAR 1', APGAR 5', birth weight were  $39.34 \pm 1.70$  (min-max:24-42.6) vs  $39.47 \pm 1.84$  (min-max:22.5-42.4),  $17.93 \pm 0.94$  (min-max:14-19) vs  $17.85 \pm 3.91$  (min-max:14-19),  $11.01 \pm 1.27$  (min-max:7.4-14.1) vs  $11.06 \pm 1.26$  (min-max:6.5-13.6),  $7.90 \pm 0.55$  (min-max:0-9) vs  $7.84 \pm 0.85$  (min-max:0-8),  $8.90 \pm 0.63$  (min-max:0-9) vs  $8.80 \pm 0.82$  (min-max:0-9),  $3200.71 \pm 489.53$  (min-max:600-4750) vs  $3101.35 \pm 493.62$  (min-max:470-4500) respectively. In Turkish vs Syrian patients aged between 20-34 years old; mean gestational week, age, Hgb, APGAR 1', APGAR 5', birth weight were  $39.24 \pm 1.54$  (min-max:22-42.6) vs  $39.48 \pm 1.50$  (min-max:22-43),  $26.87 \pm 4.30$  (min-max:20-34) vs  $24.78 \pm 3.91$  (min-max:20-34),  $10.97 \pm 1.24$  (min-max:7.7-14.7) vs  $11.24 \pm 1.20$  (min-max:7.4-14),  $7.92 \pm 0.48$  (min-max:0-9) vs  $7.81 \pm 0.94$  (min-max:0-8),  $8.93 \pm 0.43$  (min-max:0-9) vs  $8.79 \pm 0.80$  (min-max:0-9),  $3303.98 \pm 483.81$  (min-max:360-6050) vs  $3177.61 \pm 484.27$  (min-max:420-5150) respectively. In Turkish vs Syrian advanced maternal aged patients; mean gestational week, age, Hgb, APGAR 1', APGAR 5', birth weight were  $39.06 \pm 1.76$  (min-max:23-42.6) vs  $39.25 \pm 1.65$  (min-max:28.4-42.2),  $37.62 \pm 2.77$  (min-max:35-51) vs  $37.69 \pm 2.89$  (min-max:35-49),  $10.98 \pm 1.25$  (min-max:7.7-14.1) vs  $11.22 \pm 1.19$  (min-max:7.1-13.5),  $7.92 \pm 0.51$  (min-max:0-9) vs  $7.78 \pm 1.04$  (min-max:0-8),  $8.91 \pm 0.59$  (min-max:0-9) vs  $8.75 \pm 1.01$  (min-max:0-9),  $3308.49 \pm 514.48$  (min-max:500-5870) vs  $3234.70 \pm 598.04$  (min-max:610-4700) respectively. Maternal age was found higher in Turkish pregnant in 20-34 age group ( $p=0.000$ ).

Hemoglobin was observed higher in Syrian refugees in 20-34 and  $\geq 35$  groups ( $p=0.000$ ,  $p=0.001$ ). APGAR 1' and 5' scores were higher in Turkish patients in all age groups ( $p=0.000$ ,  $p=0.000$ ). Birth weights were found increased in Turkish patients in all age groups ( $\leq 19$ , 20-34,  $\geq 35$ ;  $p=0.000$ ,  $p=0.000$ ,  $p=0.046$  respectively) (Table-1).

In antenatal care assessment first trimester combined tests were higher in Turkish patients in all age groups ( $p=0.000$ ). However second-trimester triplet tests were only higher in Turkish women in  $\geq 35$  age group ( $p=0.000$ ). Maternal anemia was significantly higher in Turkish patients in 20-34 and  $\geq 35$  groups ( $p=0.000$ ,  $p=0.004$ ). Normal spontaneous vaginal delivery rates were higher in Syrian refugees in 20-34 and  $\geq 35$  age groups. ( $p=0.000$ ,  $p=0.020$ ). Preterm delivery rates higher in Turkish patients in only 20-34 age group ( $p=0.029$ ). Sex of neonates and stillbirth rates were similar in both groups at all ages. In  $\leq 19$  age patient group while LBW, VLBW and ELBW rates were higher in Syrian women, macrosomia was found increased in Turkish patients ( $p=0.000$ ). In 20-34 age group only LBW was higher in Syrian and macrosomia again was higher in Turkish women ( $p=0.000$ ). LBW and macrosomia were found higher in Syrian women in  $\geq 35$  group ( $p=0.000$ ). Syrian women were found breastfeeding their infants without any formula in all age groups ( $p=0.000$ ,  $p=0.000$ ,  $p=0.000$ ) (Table-2). In adolescent group repeated cesarean delivery, placental abruption, abnormal placentation and prior uterine surgery rates were found higher in Syrian women (13.3%, 0.2%, 0.2%, 0.1%); in all other indications Turkish patients were ahead ( $p=0.000$ ). In 20-34 age group cord prolapse and maternal severe disease were higher in Syrian women (0.1%, 0.1%) and also other indications were found increased in Turkish patients ( $p=0.000$ ). Cephalopelvic disproportion, failure to progress during labor, fetal malpresentation, when  $\geq 35$  patients, pregnancy hypertension and placental abruption were higher in Syrian women (4.1%, 3.1%, 3.8%, 0.7% and 0.7%); however other indications were found increased in Turkish patients ( $p=0.000$ ) (Table-3).

**Table-1.** Demographics, clinical features of maternal and neonatal outcomes.

	Adolescent			Aged Between 20-34			Old maternal age		
	Turkish (n=1061) Median (25p.- 75p.)	Syrian (n=1076) Median (25p.- 75p.)	<i>p</i>	Turkish (n=4612) Median (25p.-75p.)	Syrian (n=3624) Median (25p.- 75p.)	<i>p</i>	Turkish (n=1173) Median (25p.-75p.)	Syrian (n=292) Median (25p.- 75p.)	<i>p</i>
<b>Gestational age at birth (week)</b>	40 (38,6-40,2)	40,2 (39,2-40,2)	<b>0,000</b>	39,5 (38,5-40,2)	40,2 (39,1-40,2)	<b>0,000</b>	39,5 (38,4-40,2)	40,1 (38,6-40,2)	<b>0,015</b>
<b>Maternal Age</b>	18 (17-19)	18 (17-19)	<b>0,690</b>	27 (23-31)	24 (22-28)	<b>0,000</b>	36 (36-40)	37 (36-39)	<b>0,359</b>
<b>Hemoglobin (g/dl)</b>	11,1 (10,1-12)	11 (10,2-12)	<b>0,205</b>	11 (10,1-11,9)	11,4 (10,3-12,2)	<b>0,000</b>	11 (10,1-11,9)	11,4 (10,0-12,1)	<b>0,001</b>
<b>APGAR 1' min</b>	8 (8-8)	8 (8-8)	<b>0,124</b>	8 (8-8)	8 (8-8)	<b>0,000</b>	8 (8-8)	8 (8-8)	<b>0,006</b>
<b>APGAR 5' min</b>	9 (9-9)	9(9-9)	<b>0,000</b>	9 (9-9)	9 (9-9)	<b>0,000</b>	9 (9-9)	9 (9-9)	<b>0,000</b>
<b>Birth weight (gr)</b>	3200 (2900-3520)	3132 (2870-3425)	<b>0,000</b>	3300(3000-3600)	3190 (2900-3480)	<b>0,000</b>	3300 (3000-3640)	3267,5(2882,5-3620)	<b>0,046</b>

**Table-2.** Clinical features of antenatal, pregnancy and neonatal outcomes.

	Adolescent			Aged Between 20-34			Old maternal age		
	Turkish n (%)	Syrian n (%)	<i>p</i>	Turkish n (%)	Syrian n (%)	<i>p</i>	Turkish n (%)	Syrian n (%)	<i>p</i>
<b>First-trimester combined test</b>	339 (32)	31 (2,9)	<b>0,000</b>	2218 (48,1)	220 (6,1)	<b>0,000</b>	570 (48,6)	18 (6,2)	<b>0,000</b>
<b>Second-trimester triple test</b>	70 (6,6)	69 (6,4)	<b>0,862</b>	491 (10,6)	408 (11,3)	<b>0,376</b>	384 (32,7)	26 (8,9)	<b>0,000</b>
<b>Maternal Anemia</b>	526 (49,6)	542 (50,4)	<b>0,713</b>	2407 (52,2)	1631 (45)	<b>0,000</b>	610 (52,0)	124 (42,5)	<b>0,004</b>
<b>Birth Type</b>									
NSVD	786 (74,1)	759 (70,5)	<b>0,067</b>	2697 (58,5)	2573 (71)	<b>0,000</b>	810 (69,1)	181 (62)	<b>0,020</b>
CS	275 (25,9)	317 (29,5)		1915 (41,5)	1051 (29)		363 (30,9)	111 (38)	
<b>Cesarean Type</b>									
Primary	237 (22,3)	174 (16,2)	<b>0,000</b>	790 (17,1)	401 (11,1)	<b>0,000</b>	810 (69,1)	181 (62)	<b>0,020</b>
Secondary	38 (3,6)	143(13,3)		1125 (24,4)	650 (17,9)		363 (30,9)	111 (38)	
<b>Neonatal Sex</b>									
Male	561 (52,9)	569 (52,9)	<b>0,997</b>	2328 (50,5)	1817 (50,1)	<b>0,760</b>	583 (49,7)	152 (52,1)	<b>0,471</b>
Female	500 (47,1)	507 (47,1)		2284 (49,5)	1807(49,9)		590 (50,3)	140 (47,9)	
<b>Neonates Alive</b>	1057 (99,6)	1071 (99,5)	<b>1,000</b>	4606 (99,9)	3614 (99,7)	<b>0,214</b>	1169 (99,7)	290 (99,3)	<b>0,342</b>
<b>Stillbirth</b>	4 (0,4)	5 (0,5)		6 (0,1)	10 (0,3)		4 (0,3)	2 (0,7)	
<b>Preterm Birth</b>	76 (7,2)	59 (5,5)	<b>0,110</b>	241 (5,2)	152 (4,2)	<b>0,029</b>	86 (7,3)	26 (8,9)	<b>0,434</b>
<b>Birth Weight</b>									
ELBW	3 (0,3)	7 (0,7)	<b>0,000</b>	16 (0,3)	10 (0,3)	<b>0,000</b>	4 (0,3)	2 (0,7)	
VLBW	1 (0,1)	9 (0,8)		168 (3,6)	11 (0,3)		1 (0,1)	2 (0,7)	
LBW	56 (5,3)	68(6,3)		4119 (89,3)	208(5,7)		51 (4,3)	15(5,1)	
Normal	953 (89,8)	977 (90,8)		302 (6,5)	3238 (89,3)		1032 (88)	246 (84,2)	<b>0,153</b>
Macrosomia	48 (4,5)	15 (1,4)			157 (4,3)		85 (7,2)	27 (9,2)	
<b>Breastfeeding</b>	398 (37,5)	655 (60,9)	<b>0,000</b>	1527 (33,1)	1940 (53,5)	<b>0,000</b>	346 (29,5)	131 (44,9)	<b>0,000</b>

**Table-3.** Cesarean indications.

	Adolescent			Aged Between 20-34			Old maternal age		
	Turkish n (%)	Syrian n (%)	<i>p</i>	Turkish n (%)	Syrian n (%)	<i>p</i>	Turkish n (%)	Syrian n (%)	<i>p</i>
Repeated Cesarean Delivery	38 (3,6)	143 (13,3)	<b>0,000</b>	1129(24,5)	655(18,1)	<b>0,000</b>	286(24,4)	70(24,0)	<b>0,000</b>
Fetal Distress	73 (6,9)	60 (5,6)		262 (5,7)	148 (4,1)		32 (2,7)	5 (1,7)	
Cephalopelvic disproportion	74 (7)	39 (3,6)		219 (4,7)	78 (2,2)		15 (1,3)	12 (4,1)	
Failure to progress during labor	44 (4,1)	37 (3,4)		172 (3,7)	90 (2,5)		13 (1,1)	9 (3,1)	
Fetal malpresentation	34 (3,2)	65 (3)		103 (2,2)	64 (1,8)		8 (0,7)	11 (3,8)	
Abnormal placentation	1 (0,1)	2 (0,2)		11 (0,2)	6 (0,2)		5 (0,4)	0 (0)	
Cord prolapse	1 (0,1)	0 (0)		1 (0)	2 (0,1)		2 (0,2)	0 (0)	
Pregnancy Hypertension	8 (0,8)	2 (0,2)		6 (0,1)	4 (0,1)		1 (0,1)	2 (0,7)	
Prior uterine surgery	0 (0)	1 (0,1)		8 (0,2)	2 (0,1)		0 (0)	0 (0)	
Placental Abruption	0 (0)	2 (0,2)		2 (0)	0 (0)		1 (0,1)	2 (0,7)	
Vulvar Condyloma Lesion	1 (0,1)	0 (0)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
Congenital Anomaly	0 (0)	0 (0)		2 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
Maternal Severe Disease	1 (0,1)	0 (0)	2 (0)	2 (0,1)	0 (0)	0 (0)			

**DISCUSSION**

We generated some important findings some of them updating previous knowledge. In contrast to the other researches, decreased risk of adverse perinatal and neonatal health measures among migrant women was found.

National antenatal care in Turkiye includes four visits to family medicine physician and two basic obstetrician visits for first trimester combined test and fetal congenital anomaly screening. Other screenings such as diabetes pregnancy, immunizations are practised by primary care; congenital anomaly screening by perinatology centers. In 2013, the Turkish government declared that all Syrians would be entitled to the same health services as citizens (7). But still they have no access to primary care and have no attended family physician. The results should be interpreted in this context.

In antenatal care first trimester combined test rates were higher in Turkish pregnant in all age groups and second trimester triple test rates were

higher in ≥35 age group. These could be results of the lack of primary care access in Syrian refugees. Syrian women could have difficulties knowing what kind of antenatal care was available, who was providing it, and how best to access it. Also the other refugees have another reasons for not seeking antenatal care. Many of them were used to their family doctors in Syria, and simply unaccustomed to the facilities and practices of new place; and maybe have distrust to doctors in Turkiye. Also others do not think antenatal care is important and only visit the doctor when they think there is something wrong (8). Our findings were limited to hospital's computer based data. However we can assume since there is no attended family physician, immunizations and primary care screenings were inadequate.

We found half of the adolescent pregnant were complicated with anemia in both Syrian and Turkish patients. Adolescence has its own adverse pregnancy outcomes, but regarding

maternal anemia they seem not to be affected by the migration status. Yet Syrian pregnant's hemoglobin rates were higher in 20-34 and  $\geq 35$  age groups and resulted less maternal anemia in these patients. There is limited data on refugee maternal anemia. Until now what is known is pregnancy anemia is common among refugee women related with poorer nutrition (9). But recently authors couldn't find any difference in comparison between citizens and refugees (10). Researchers revealed pregnant women who received information about the importance of iron supplementation during pregnancy were more likely to be compliant than those who were not (11). Ministry of Health in Türkiye provide with free-of-cost vitamin and iron supplementation in line with routine pregnancy follow-up guide for refugees (12). With positive health policies and governments efforts on adequate antenatal care provided for Syrian women, could explain the study's data. Still all that inconsistent data need for assess further.

Since 1985, the World Health Organization (WHO) has recommended maintaining a CS rate between 5 and 15 percent (13), although the optimal rate remains controversial. While our total cesarean rates were around %29 in younger patients, older aged Syrians had %38. Primary cesarean rates in Syrian women younger than 35 years were seemed to reach the targets. However since older maternal age has been known for negative outcomes, it is understandable high rates in both ethnic groups. In Türkiye 2018 reports stated total CS rate was 37.5% and primary CS 14.4% in all deliveries (14). Including our c-section rates in Turkish women –in line with the trends- can be related to limited role for midwives, and women's misunderstanding of the CS procedure and its safety as well as practising defensive medicine with some overmedicalized birth process considering excessed malpractice penalties.

Even with so-called higher risk for pregnancy complication and some reports with lower gestational age at birth (15-16), increased rates in Syrian pregnant's in our findings similar with other researchers'(17). In consistent data with another refugee study (18), preterm birth was not higher in Syrian groups in our results. The evidence to date suggests that higher risk of preterm delivery is consistent with socioeconomic disadvantages and discrimination rather than genetic mechanisms. So researchers on migrant women strongly suggest that environmental

influences in the receiving country are most important drivers of the preterm rate (16).

While Syrian vaginal birth rate were higher in 20-34 group, c-section rates were higher in both adolescent and old maternal age groups. It is congruent with others' findings (15, 19). It is reasonable to think refugee status increased pregnancy complications. However 20-34 group Turkish pregnant's had increased cesarean rates in our study. Surprising data is also consisting with an other researchers' study (10). Primary cesarean rates also increased in Turkish patients in all age groups. Thus higher age in Turkish women could be the key point in those results and age could be a confounding factor. Tertiary hospitals admit higher risk profiles patients so it could explain conflicting data.

Authors in a systematic review confirmed recently; higher stillbirth, neonatal and infant mortality rates in some migrant groups yet outcomes varied both by country of origin and by receiving country (20). It's comforting that we found no difference in stillbirth rates between Syrian and Turkish patients in all age groups. It could be a proof that Türkiye presents less social deprivation and barriers of access to health care for refugees. Still there were increased LBW, ELBW rates in 20-34 aged pregnant's from Syria and additionally VLBW also was increased in Syrian adolescents. Researchers were reporting low birth weight in neonates from refugee mothers, but at the same time violence associated low birth weights were noted (21, 22). Accordingly we noted macrosomia was higher in Turkish patients in adolescent and 20-34 aged patients similar to other authors' results (23). Researchers have also found that infants of migrants were more likely to be misclassified based on the country's birth weight curves, suggesting the need for ethnic specific, culturally sensitive standards (24).

Similar to our results; previously low APGAR scores have recorded in the majority of refugee infants (23), nevertheless other physicians confronted (15, 19). Majority announces reasons for the poorer outcomes among refugee mothers and neonates. They have been shown to have more medical problems, but fewer interventions than receiving-country counterparts (25, 26). They also experienced a larger burden of poverty-related adverse circumstances (such as low social status and poor nutrition), social problems (such as accommodation, transport, care of their accompanying children),

communication problem, emotional problems. All these factors may play a significant role in poorer perinatal and infant outcomes (25, 26).

The clinicians reported Syrian women most likely to initiate breastfeeding without formula milk in early infants. Considering lack of breastfeeding interventions and supposed inadequate antenatal care and it was curious results. But few authors reached similar results while others differ (27, 28). In the most of the studies the importance of being cared for by family was mentioned (29). The dominant role of female relatives must be the key point on supporting breastfeeding especially in a new country. It could be run both ways. Female family members who are available to assist a new mother to participate in the traditional postpartum practices of their native countries were considered by migrant mothers to be important in the maintenance of breastfeeding. Another mother could consider formula milk is the best option for preserving their own and baby's health in between constraints of a new place and an absence of a family. Socioeconomic status is mostly related with duration of breastfeeding than first initiation. In the absence of a supportive network, women may turn to health professionals for advice. We should underlined the need for policies that support continuation and not just initiation of breastfeeding. Barriers that migrant and refugee women experience when seeking services,

including language barriers, experiences of discrimination, and conflicting belief systems should be exceeded with innovative intervention strategies.

Our study will be new perspective in a small number of work, combining adolescent and advanced maternal age, other than 20-34 years old Syrian patients. Our study stated that even with the risk factors of immigration, decreased risk of pregnancy complications such as maternal anemia, preterm delivery, ceseran delivery and also satisfying breastfeeding results were found in Syrian patients.

## CONCLUSION

It is likely that migrant groups have a mixture of protective and risk factors which, when combined, dilute the effects of migration. Study stated that Syrian women are at risk of low birth weight in adolescent and 20-34 age groups and low rates in first trimester combined test in all age groups. However decreased risk of obstetric complications such as maternal anemia, preterm delivery, cesarean delivery and also satisfying breastfeeding results were found in Syrian patients.

**Conflicts of interest:** The authors certify that there is no conflict of interest with any financial organization regarding the material discussed in the manuscript.

## References

1. UNHCR (United Nations High Commissioner for Refugees). Global Trends-Forced Displacement in 2016. December 2017.
2. WHO. Provision of effective antenatal care INTEGRATED MANAGEMENT OF PREGNANCY AND CHILDBIRTH (IMPAC) Standards. *Int J Equity Health*. 2006; 14 (1): 2. [http://www.who.int/reproductivehealth/publications/maternal\\_perinatal\\_health/effective\\_antenatal\\_care.pdf%5Cnhttp://www.equityhealthj.com/content/14/1/2](http://www.who.int/reproductivehealth/publications/maternal_perinatal_health/effective_antenatal_care.pdf%5Cnhttp://www.equityhealthj.com/content/14/1/2).
3. Weldemariam S, Damte A, Endris K, et al. Late antenatal care initiation: The case of public health centers in Ethiopia. *BMC Res Notes*. 2018; 11 (1): 1-6. doi:10.1186/s13104-018-3653-6
4. Khanlou N, Haque N, Skinner A, et al. Scoping Review on Maternal Health among Immigrant and Refugee Women in Canada: Prenatal, Intrapartum, and Postnatal Care. *J Pregnancy*. 2017; 2017. doi:10.1155/2017/8783294
5. World Health Organization. The health of youth, A42/technical discussion/2. 1989; (May).
6. Sauer M V. Reproduction at an advanced maternal age and maternal health. *Fertil Steril*. 2015; 103 (5): 1136-1143. doi:10.1016/j.fertnstert.2015.03.004
7. Dinçer OB, Federici V, Ferris E, et al. *Turkiye and Syrian Refugees: The Limits of Hospitality*. Brookings. 2013.
8. Abdin L. Challenges for pregnant syrian refugees in Lebanon. *East Mediterr Heal J*. 2018; 24 (10): 1026-1029. doi:10.26719/2018.24.10.1026
9. Gibson-helm M, Boyle J, Cheng I, et al. International Journal of Gynecology and Obstetrics Maternal health and pregnancy outcomes among women of refugee background from Asian countries. *Int J Gynecol Obstet*. 2015; 129 (2): 146-51. doi:10.1016/j.ijgo.2014.10.036



10. Kanmaz AG, Inan AH, Beyan E, et al. Obstetric Outcomes of Syrian Refugees and Turkish Citizens. *Arch Iran Med* 2019; 22 (September): 482-8.
11. Getachew M, Abay M, Zelalem H, et al. Magnitude and factors associated with adherence to Iron-folic acid supplementation among pregnant women in Eritrean refugee camps , northern Ethiopia. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2018; 18: 83.
12. Sağlık Bakanlığı. Doğum Öncesi Bakım Yönetim Rehberi. 2014: 55.
13. World Health Organization (WHO). Appropriate Technology For Birth. *Lancet*. 1985; 2 (8452): 436-7.
14. İstatistikler T. Sağlık Göstergeleri Eylül / 2018. 2018.
15. Güngör ES, Seval O, İlhan G, et al. Do syrian refugees have increased risk for worser pregnancy outcomes? Results of a tertiary center in İstanbul. *Turk Jinekoloji ve Obstet Dem Derg*. 2018; 15 (1): 23-7. doi:10.4274/tjod.64022
16. Sørbye IK, Wanigaratne S, Urquia ML. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology Variations in gestational length and preterm delivery by race, ethnicity and migration. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2015:1-9. doi:10.1016/j.bpobgyn.2015.08.017
17. Juárez S, Mussino E, Hjerm A. Being a refugee or having a refugee status ? Birthweight and gestational age outcomes among offspring of immigrant mothers in Sweden. 2018; (April): 1-5. doi:10.1177/1403494818777432
18. Spallek J, Lehnhardt J, Reeske A, et al. Perinatal outcomes of immigrant women of Turkish, Middle Eastern and North African origin in Berlin, Germany : a comparison of two time periods. *Arch Gynecol Obstet* 2013. doi:10.1007/s00404-013-2986-6
19. Demirci H, Yildirim Topak N, Ocakoglu G, et al. Birth characteristics of Syrian refugees and Turkish citizens in Turkiye in 2015. *Int J Gynecol Obstet*. 2017; 137 (1): 63-6. doi:10.1002/ijgo.12088
20. Gissler M, Alexander S, Macfarlane A. Stillbirths and infant deaths among migrants in industrialized countries. *Acta Obstetricia et Gynecologica* 2009; 88: 134-48 doi:10.1080/00016340802603805
21. Stewart DE. et al. Risk Factors and Health Profiles of Recent Migrant Women Who Experienced Violence Associated with Pregnancy. *Journal of Women Health*. 2012; 21 (10): 1100-6. doi:10.1089/jwh.2011.3415
22. Urquia ML, Frank JW, Glazier RH, et al. Neighborhood context and infant birthweight among recent immigrant mothers: A multilevel analysis. *Am J Public Health*. 2009; 99 (2): 285-93. doi:10.2105/AJPH.2007.127498
23. Ozel S, Yaman S, Kansu-Celik H, et al. Obstetric Outcomes among Syrian Refugees: A Comparative Study at a Tertiary Care Maternity Hospital in Turkiye. *Rev Bras Ginecol e Obstet*. 2018; 40 (11): 673-9. doi:10.1055/s-0038-1673427
24. Ray JG, Sgro M, Mamdani MM, et al. Birth Weight Curves Tailored to Maternal World Region. *J Obstet Gynaecol Canada*. 2012; 34 (2): 159-71. doi:10.1016/S1701-2163 (16) 35159-3
25. Vangen S, Stoltenberg C, Johansen REB, et al. Perinatal complications among ethnic Somalis in Norway. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2002; 81 (5): 317-22.
26. Landale NS, Gorman BK, Oropesa RS. Selective migration and infant mortality among Puerto Ricans. *Matern Child Health J*. 2006; 10 (4): 351-60. doi:10.1007/s10995-006-0072-4
27. Griffiths LJ, Tate AR, Dezateux C, et al. Do early infant feeding practices vary by maternal ethnic group? *Public Health Nutr*. 2007; 10 (9): 957-64. doi:10.1017/S1368980007665513
28. Groleau D, Soulière M, Kirmayer LJ. Breastfeeding and the cultural configuration of social space among Vietnamese immigrant woman. *Heal Place*. 2006; 12 (4): 516-26. doi:10.1016/j.healthplace.2005.08.003
29. Schmied V, Olley H, Burns E, Duff M, Dennis C, Dahlen HG. Contradictions and conflict: A meta-ethnographic study of migrant women ' s experiences of breastfeeding in a new country. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2012; 12 (1): 1. doi:10.1186/1471-2393-12-163.

## Akut iskemik serebrovasküler olay geçiren hastalarda aritmi sıklığının holter elektrokardiyografi ile değerlendirilmesi

### *Evaluation of arrhythmia frequency by holter electrocardiography in patients with acute ischemic cerebrovascular events*

Mehmet Kış<sup>1</sup> Tuncay Güzel<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dokuz Eylül Üniversitesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup> Diyarbakır SBÜ Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Akut iskemik serebrovasküler olaydan (SVO) sonra yüksek riskli hastaların belirlenmesi, uygun kardiyak izlem ve aritmilerin saptanması, kardiyak morbidite ve mortalitenin önlenmesi açısından önemlidir. Çalışmamızın amacı, akut iskemik SVO nedeniyle kardiyoloji kliniğine yönlendirilen hastalarda, alta yatan etiyolojinin belirlenmesi ve 24 saatlik holter elektrokardiyografi (EKG) ile aritmi sıklığının saptanmasıdır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya Ocak 2019-Haziran 2021 tarihleri arasında akut iskemik SVO geçiren ve bazal EKG' si sinüs ritminde olan ardışık 135 hasta alındı. Çalışmamız, retrospektif kesitsel bir çalışmadır.

**Bulgular:** Hastaların ortalama yaşı 72.02±11.02 yıl, ortalama sistolik arteriyel kan basıncı 138,84±20.45 mmHg ve ortalama kalp hızı 81.63±16.18 atım/dk idi. Hastalarda en sık görülen komorbid hastalıklar hipertansiyon (n=67, %49,6) ve koroner arter hastalığıydı (n=55, %40,7). Hastaların %5.9'unda protez kalp kapağı ve %5.2'sinde kalıcı kalp pili vardı. 5 (%3,7) hastada intrakardiyak trombüs tespit edildi. Ortalama sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu %54,4±9,1 idi. Karotis dopler ultrasonografide (USG) hastaların 27 (%20)' sinde tek taraflı ve 17'sinde (%12,6) iki taraflı ciddi karotis arter darlığı mevcuttu. Holter EKG' de en sık tesbit edilen aritmiler ventriküler ekstrasistol (n=34, %25,2) ve paroksizmal atrial fibrilasyondur (n=31, %23). Ayrıca 6 (%4,4) hastada non-sustained ventriküler taşikardi saptandı.

**Sonuç:** Akut iskemik SVO geçiren hastalarda alta yatan etiyolojiyi tesbit etmek hastalığın tedavisi açısından önem arz etmektedir. Bu hasta grubunda tedavi edilmesi gereken aritmi sıklığı göz ardı edilmeyecek kadar yüksektir.

**Anahtar Sözcükler:** İskemik inme, holter elektrokardiyografi, aritmi, kardiyoemboli, karotis darlığı.

### ABSTRACT

**Aim:** After acute ischemic cerebrovascular accident (CVA), identification of high-risk patients, appropriate cardiac follow-up and detection of arrhythmias are important to prevent cardiac morbidity and mortality. The aim of our study is to determine the underlying etiology and the frequency of arrhythmia by holter electrocardiography (ECG) in patients referred to the cardiology clinic due to acute ischemic CVA.

**Materials and Methods:** A total of 135 consecutive patients who had acute ischemic CVA between January 2019 and June 2021 and whose basal ECG was sinus rhythm were included in the study. This study was a retrospective cross-sectional study.

Sorumlu yazar: Mehmet Kış  
Dokuz Eylül Üniversitesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, İzmir,  
Türkiye  
E-posta: drmehmet.kis@hotmail.com  
Başvuru tarihi: 10.01.2022 Kabul tarihi: 20.04.2022

**Results:** The mean age of the patients was 72.02±11.02 years, the mean systolic arterial blood pressure was 138.84±20.45 mmHg, and the mean heart rate was 81.63±16.18 beats/min. The most common comorbid diseases were HT (n=67, %49.6) and CAD (n=55, %40.7). 5.9% of patients had prosthetic heart valve and 5.2% had permanent pacemaker. Intracardiac thrombus was detected in 5 (3.7%) patients. The mean left ventricular ejection fraction was 54.4±9.1%. In carotid doppler ultrasonography (USG), 27 (20%) patients had unilateral and 17 (12.6%) bilateral severe carotid arterial stenosis. The most common arrhythmias detected on holter ECG were ventricular extrasystole (n=34, 25.2%) and paroxysmal atrial fibrillation (n=31, 23%). In addition, non-sustained ventricular tachycardia was detected in 6 (4.4%) patients.

**Conclusion:** Determining the underlying etiology in patients with acute ischemic CVA is important for the treatment of the disease. The incidence of arrhythmia that should be treated in this patient group is too high to be ignored.

**Keywords:** Ischemic stroke, holter electrocardiography, arrhythmia, cardioembolism, carotid stenosis.

## GİRİŞ

Akut iskemik serebrovasküler olayda (SVO) kardiyak aritmiler ve elektrokardiyografi (EKG) değişiklikleri sıklıkla görülür, bu durum artan morbidite ve mortalite ile ilişkilidir (1). Beynin belirli bölgelerindeki akut iskemik inme, kalbin merkezi otonomik kontrolünü bozabilir, kardiyak aritmileri, EKG anormalliklerini, miyokardiyal hasarı ve bazen ani ölüm riskini artırabilir (2). Akut SVO'dan sonra yüksek riskli hastaların belirlenmesi, uygun kardiyak izlem ve aritmilerin etkili yönetimi, kardiyak morbidite ve mortaliteyi önlemek için önemlidir.

Herhangi bir tipte aritmi insidansı, hastaneye SVO nedeniyle başvuran hastalarda SVO olmayanlara göre daha yüksektir (1). Atriyal fibrilasyon (AF), bu hasta grubunda görülen en yaygın aritmilerden biridir (2, 3). Fakat sinüs ritminde olan akut iskemik SVO'lu vakalarda paroksizmal AF ataklarından şüphelenmek gerekir. Bu hastalarda AF'nin tespiti önleyici tedavi olarak antiplatelet ajanlardan daha etkili bir profilaksi olan oral antikoagülanlara geçiş açısından oldukça önemlidir. AF, kardiyembolinin yaygın bir nedenidir, ancak genellikle asemptomatik olması veya paroksizmal ataklar nedeniyle teşhis edilmesi zor olabilir (4). Akut SVO'dan sonra kardiyak monitörizasyon için yeterli süre ile birlikte uygun ekipmanın kullanımı önemli aritmilerin saptanması açısından oldukça kritiktir. Klinik uygulamalarda bu aritmilerin teşhisi için 24 saatlik EKG kaydı (Holter EKG) sıklıkla kullanılır (5). 24 saatlik Holter EKG tetkiki inme etyolojisini aydınlatmada kullanılmasının yanı sıra kardiyak otonomik disfonksiyonun araştırılmasında da kullanılmaktadır (6). Ayrıca akut iskemik SVO'lu hastalarda karotis arter darlığının tesbiti için karotis arter dopler ultrasonografisi (USG) ve intrakardiyak trombüs

ve/veya atriyal septal defektin araştırılması için ekokardiyografi (EKO) önem arz etmektedir.

Çalışmamızın amacı; akut iskemik SVO nedeni kardiyoloji bölümüne konsulte edilen hastalarda alta yatan etiyolojiyi belirlemek ve holter EKG ile aritmi sıklığının saptanmasıdır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız retrospektif kesitsel bir çalışmadır. Ocak 2019- Haziran 2021 tarihleri arasında akut iskemik SVO geçiren ve kardiyoloji bölümüne danışılan ardışık 135 hasta çalışmaya dâhil edilmiştir. Çalışmaya bazal EKG' sinde herhangi bir aritmi bulgusu olmayan ve 24 saat Holter EKG takılmış olan hastalar dâhil edildi. SVO kliniği ile başvuru sürecindeki ilk 24-48 saat akut faz olarak değerlendirilmiş olup, hastalara ortalama 48-96 saat sonra holter EKG tetkiki yapılmıştır.

Çalışmaya; 18 yaşından küçük hastalar ile ciddi böbrek yetmezliği ve ciddi karaciğer yetmezliği bulunan, aktif malignitesi olan, daha önce geçirilmiş SVO öyküsü olan, bilinen aritmisi olan, aktif enfeksiyonu olan, optimal ekokardiyografik ve ultrasonografik inceleme yapılamayan ve holter EKG'si optimal değerlendirilemeyen hastalar dahil edilmemiştir.

Hastaların laboratuvar değerleri, görüntüleme tetkikleri, EKG ve EKO bulguları hasta dosyalarından elde edilmiştir. Bu hastaların akut iskemik SVO sonrası aritmi tarama amacıyla takılan holter EKG kayıtları çalışmaya başlandıktan sonra incelendi. Saptanan aritmi türleri kaydedildi. Hastaların iskemik inme atağı öncesinde kullanmakta oldukları ilaç tedavileri kayıtlardan elde edilerek not edildi.

Çalışma öncesi İzmir Bakırçay Üniversitesi Girişimsel olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (onay numarası:2021-296).

## Tanımlar

Non-sustained ventriküler taşikardi (NSVT), ardışık 3 atımdan fazla ve 30 sn'den az süren, geniş QRS kompleksli, ventrikül kökenli taşikardi olarak tanımlandı.

Sustained ventriküler taşikardi (VT), kalp hızının 100 atım/dk' nin üzerinde olduğu ve  $\geq 30$  sn süreli, geniş QRS kompleksli, ventrikül kökenli taşikardi olarak tanımlandı.

Paroksizmal AF, holter EKG'de  $\geq 30$  sn süreli, dar QRS kompleksli ve RR mesafesi düzensiz, atriyal kökenli taşikardi atağı olarak tanımlandı.

Ciddi karotis arter darlığı, dopler USG' de karotis lümeninde  $\geq \%70$  darlık saptanması olarak tanımlandı.

## İstatistiksel analiz

IBM SPSS Statistics 25.0 Programı kullanılmıştır. Nümerik değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ( $n \geq 50$ ) testiyle incelenmiştir. Nümerik değişkenler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Kategorik değişkenler sayı (n) ve yüzde (%) olarak rapor edilmiştir.

## BULGULAR

Hasta popülasyonunun yaş ortalaması  $72,02 \pm 11,02$  (min 40, max 95) yıl olup, erkek cinsiyet oranı  $\%55,6$  ve kadın cinsiyet oranı  $\%44,4$ 'tü. Ortalama vücut kitle indeksi (VKİ)  $25,72 \pm 3,83$   $\text{kg/m}^2$  dir. Hastaların sistolik ve diyastolik kan basıncı (KB) ortalamaları sırasıyla  $138,84 \pm 20,45$  mmHg ve  $81,50 \pm 14,35$  mmHg'dir. Hastaların ortalama kalp hızı  $81,63 \pm 16,18$  atım/dk'dir. Hastaların  $\%31,1$ 'inde sigara kullanım öyküsü,  $\%3$ 'ünde ise alkol kullanım öyküsü vardı. Hastaların klinik ve demografik verileri Tablo-1'de özetlenmiştir.

Hipertansiyon (HT) ( $n=67$ ,  $\%49,6$ ) ve koroner arter hastalığı ( $n=55$ ,  $\%40,7$ ) en çok görülen komorbid hastalıklardı. Bunları sırasıyla hiperlipidemi ( $n=44$ ,  $\%32,6$ ) ve diyabetes mellitus ( $n=36$ ,  $\%26,7$ ) takip etti. Ayrıca hastaların  $8$  ( $\%5,9$ )'inde protez kapak ve  $7$  ( $\%5,2$ )'sinde kardiyak pacemaker vardı.

Biyokimyasal parametrelerden ortalama düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) değeri  $107,05 \pm 36,06$  mg/dL, ortalama hemoglobin değeri  $13,06 \pm 1,87$  g/dL ve ortalama açlık glukozu  $116,48 \pm 37,78$  mg/dL olarak saptandı. Hastaların laboratuvar verileri Tablo-2'de sunulmuştur.

Hastaların akut iskemik SVO öncesinde en çok kullandığı ilaçlar  $\%40,7$  oranında asetil salisilik asit (ASA),  $\%28,1$  oranında betablokerler ve  $\%28,1$  oranında anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ACEi)'di. Hastaların  $8$  ( $\%5,9$ )'i protez

kapak ve derin venöz tromboemboli öyküsü nedeniyle varfarin kullanmaktaydı. Hastaların akut iskemik SVO öncesinde kullandığı ilaçlar Tablo-3'de sunulmuştur.

Yapılan EKO' da hastaların ortalama sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (LVEF) (%)  $54,4 \pm 9,1$ 'idi, orta-ciddi mitral yetmezlik (MY)  $\%22,2$ , orta-ciddi mitral darlık (MD)  $\%5,2$  ve orta-ciddi triküspit yetmezlik (TY)  $\%22,2$  oranında mevcuttu. Ayrıca  $5$  ( $\%3,7$ ) hastada intrakardiyak trombüs ve  $9$  ( $\%6,7$ ) hastada sol atrium ve ventrikülde grade 2-3 spontan eko kontrastlanma (SEK) tesbit edildi. Karotis dopler USG'de hastaların  $27$  ( $\%20$ )'sinde tek taraflı ve  $17$  ( $\%12,6$ )'sinde iki taraflı ciddi karotis arter darlığı mevcuttu.

Holter EKG'de en sık tesbit edilen aritmiler ventriküler ekstrasistol (VES) ( $n=34$ ,  $\%25,2$ ) ve paroksizmal AF ( $n=31$ ,  $\%23$ )'du. Ayrıca  $7$  ( $\%5,2$ ) hastada supraventriküler taşikardi (SVT) atağı ve  $6$  ( $\%4,4$ ) hastada NSVT atağı izlendi. Hastaların EKO ve holter EKG bulguları Tablo-4'de sunulmuştur. Ayrıca Şekil-1'de holter EKG'de tesbit edilen aritmiler görsel olarak belirtilmiştir. Yüksek riskli kardiyemboli kaynakları ise Şekil-2'de sunulmuştur.

**Tablo-1.** Hastaların klinik ve demografik verileri.

Değişkenler	Bulgular, n=135
Yaş, yıl, ort $\pm$ ss	72,02 $\pm$ 11,02
Erkek cinsiyet, n (%)	75 ( 55,6)
VKİ, ort $\pm$ ss	25,72 $\pm$ 3,83
Sistolik KB, ort $\pm$ ss	138,84 $\pm$ 20,5
Diyastolik KB, ort $\pm$ ss	81,50 $\pm$ 14,36
Nabız, atım/dk, ort $\pm$ ss	81,63 $\pm$ 16,18
Sigara, n (%)	42 (31,1)
Alkol, n (%)	4 (3,0)
Hipertansiyon, n (%)	67 (49,6)
Koroner arter hastalığı, n (%)	55 (40,7)
Hiperlipidemi, n (%)	44 (32,6)
Diyabetes mellitus, n (%)	36 (26,7)
Anemi, n (%)	18 (13,3)
KKY, n (%)	16 (11,9)
KOAH, n (%)	15 (11,1)
KBY, n (%)	13 (9,6)
Periferik arter hastalığı, n (%)	12 (8,9)
Tiroid hastalığı, n (%)	11 (8,1)
Protez kapak varlığı, n (%)	8 (5,9)
KPM varlığı, n (%)	7 (5,2)

KB: kan basıncı; KBY: kronik böbrek yetmezliği; KOAH: kronik obstruktif akciğer hastalığı; KKY: kalp yetmezliği; KPM: kalıcı kalp pili; ort $\pm$ ss: ortalama  $\pm$  standart sapma; VKİ: vücut kitle indeksi.

**Tablo-2.** Hastaların laboratuvar bulguları.

Değişkenler	Bulgular ortalama ± standart sapma
Üre, mg/dL	24,94±18,43
Kreatinin, mg/dL	1,01±0,57
Beyaz küre, × 10 <sup>9</sup> /L	9,09±2,55
Hemoglobin g/dL	13,05±1,87
Trombosit, × 10 <sup>9</sup> /L	274,75±85,65
Total kolesterol, mg/dL	186,97±45,41
Trigliserid, mg/dL	179,11±96,28
HDL, mg/dL	42,48±11,03
LDL, mg/dL	107,04±36,06
Açlık glukoz, mg/dL	116,47±37,77
TSH, mU/L	1,55±1,15
Ferritin, ng/mL	66,62±61,29
Vitamin B12, pg/mL	339,45±161,11

HDL: yüksek dansite lipoprotein; LDL: düşük yoğunluklu lipoprotein; TSH: tiroid uyarıcı hormon

**Tablo-3. İskemik inme öncesi kullanılan ilaç tedavileri.**

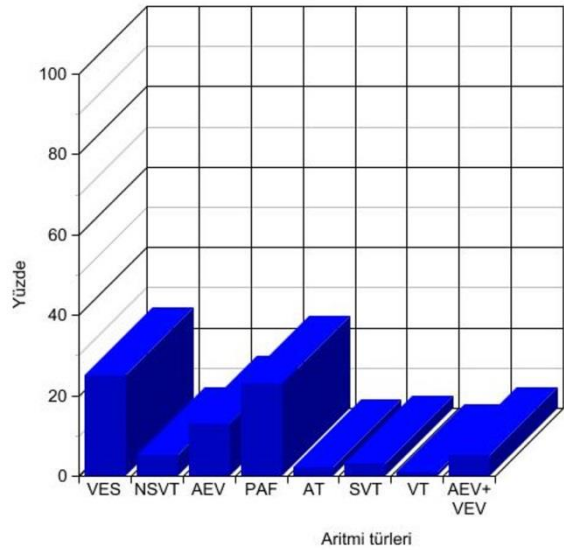
Tedavi	Bulgular, n=135
ASA, n (%)	55 (40,7)
Betabloker, n (%)	38 (28,1)
ACEi, n (%)	38 (28,1)
Statin, n (%)	39 (28,9)
Klopidogrel, n (%)	29 (21,5)
DHPKKB, n (%)	28 (20,7)
OAD, n (%)	25 (18,5)
Furosemid, n (%)	21 (15,6)
Spirolakton, n (%)	20 (14,8)
ARB, n (%)	16 (11,9)
Digoxin, n (%)	8 (5,9)
Amiodaron, n (%)	8 (5,9)
Propafenon, n (%)	4 (3,0)
NDHKKB, n (%)	11 (8,1)
Varfarin, n (%)	8 (5,9)
Demir preparatı, n (%)	10 (7,4)
Vitamin B12, n (%)	10 (7,4)

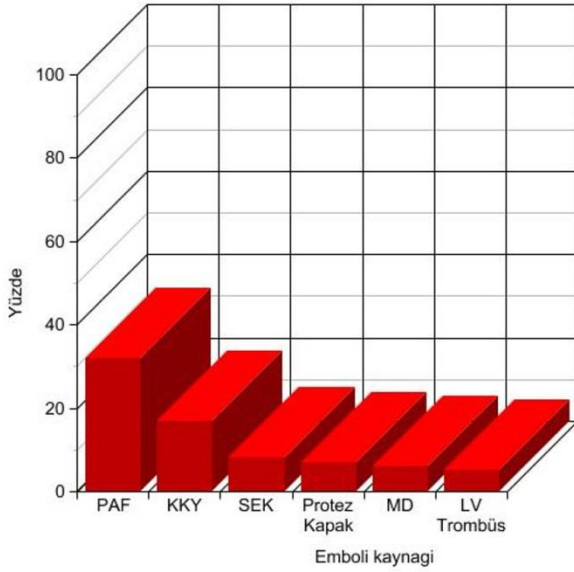
ACEi: anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü; ASA: asetil salisilik asit; ARB: anjiyotensin reseptör blokeri; DHPKKB: dihidropiridin kalsiyum kanal blokeri; NDHKKB: non-dihidropiridin kalsiyum kanal blokeri; OAD: oral antidiyabetik

**Tablo-4.** Hastalara ait ekokardiyografi ve holter elektrokardiyografi bulguları.

Görüntüleme bulguları	Veriler, n=135	Holter EKG bulguları	Veriler, n=135
LVEF (%), ort±std	54,41±9,03	VES, n (%)	34 (25,2)
Orta-ciddi MY, n (%)	30 (22,2)	PAF, n (%)	31 (23,0)
Orta-ciddi MD, n (%)	7 (5,2)	AES, n (%)	17 (12,6)
Orta-ciddi AY, n (%)	15 (11,1)	AES+VES birlikteliği, n (%)	6 (4,4)
Orta-ciddi AD, n (%)	13 (9,6)	Non-sustained VT, n (%)	6 (4,4)
Orta-ciddi TY, n (%)	30 (22,2)	SVT, n (%)	7 (5,2)
LV trombüs, n (%)	5 (3,7)	Ventriküler taşikardi, n (%)	1 (0,7)
LA ve LV SEK, n (%)	9 (6,7)		

AD: aort darlığı; AES: atriyal ekstrasistol; AY: aort yetmezliği; LV: sol ventrikül; LVEF: sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu; MD: mitral darlık; MY: mitral yetmezlik; PAF: paroksizmal atriyal fibrilasyon; SVT: supraventriküler taşikardi; TY: triküspid yetmezliği; VES: ventriküler ekstrasistol; VT: ventriküler taşikardi.

**Şekil-1.** Akut iskemik serebrovasküler olay geçiren hastalarda holter elektrokardiyografi ile saptanan aritmi tipleri ve sıklığı.



**Şekil-2.** Akut iskemik serebrovasküler olay geçiren hastalarda yüksek riskli kardiyoembolik kaynaklar

## TARTIŞMA

Akut iskemik SVO geçiren ve bazal EKG'si normal olan hastaların 3/4' ünde holter EKG ile aritmi saptandı ve bunların yaklaşık 1/3'i paroksizmal AF'idi.

Yaş ve cinsiyet, iskemik inme için önemli risk faktörleri olarak tanımlanmıştır. Akut iskemik SVO her yaşta görülebilen ancak insidansı yaşla birlikte artış gösteren bir hastalıktır. Önceki çalışmalar, 55 yaşından sonra 10 yıllık aralıklarla, hastalarda inme riskinin iki katından fazla arttığını bildirmiştir (7). Çalışmalar erkeklerin daha fazla iskemik inme olayı yaşadığını (8-10) ve inme insidans oranlarının kadınlara göre 1.25 kat daha fazla olduğunu bildirmiştir (11). Akut iskemik SVO'lu hastaların dahil edildiği çalışmamızda da hastaların ortalama yaşı 72 yıldır ve çoğunluğu erkek cinsiyetti.

Framingham çalışmasında inme risk faktörleri arasında, ailede inme öyküsü, sigara içme, dislipidemi, asemptomatik karotis arter darlığı, orak hücreli anemi ve fiziksel hareketsizlik gibi birçok önemli faktör sıralanmıştır (12). Çalışmamızda da hastaların sigara içme, dislipidemi ve karotis darlığı oranları aynı yaş grubundaki normal popülasyona göre yüksekti.

İnmenin doğrudan veya dolaylı olarak kalp ritmini etkileyebileceği düşünülmektedir (13). Literatürde akut iskemik SVO'lu hastalarda gözlenen EKG değişiklikleri ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda akut iskemik

SVO sonrası EKG anormalliği insidansının %45 ile %90 arasında olduğu bildirilmiştir (14-16). Bizim çalışmamız ise bazal EKG'si normal olan akut iskemik SVO' lu hastalarda 24 saatlik Holter EKG ile aritmi tesbit edilmesi açısından literatürdeki nadir çalışmalardan biridir. Akut iskemik SVO sonrası aşırı derecede ketakolamin salınımı kardiyak aritmileri, hipertansif atakları ve miyokard infarktüsünü tetiklemektedir. Yapılan çalışmalarda akut iskemik SVO sonrası ilk üç aylık dönemde hastaların %2-6'sında kardiyak nedeni mortalite geliştiği saptanmıştır (17, 18). Özellikle sağ hemisferi tutan ve insulayı içeren infarktlarda kardiyak otonomik disfonksiyon ve aritmiler daha fazla görülmektedir. Bu bölge infarktlerinde hem atrial hemde malign ventriküler aritmilerin görülebileceği rapor edilmiştir (19, 20). İskemik inme ve aritmi arasında paradoksal bir ilişki vardır. İskemik inme atrial aritmileri artırmakta, atrial aritmilerde AF için bir substrat oluşturarak iskemik inmeye katkıda bulunmaktadır. Bu hastalarda akut iskemik SVO sonrasında bazal EKG normal saptansa dahi mutlaka holter gibi uzun süreli monitorizasyon araçlarıyla aritmi araştırılmalıdır.

HT, iskemik inmede primer ve değiştirilebilir risk faktörüdür. Literatürde, HT varlığında inme sıklığının dört kat arttığı ve inmelerin yaklaşık %60-75 oranında hipertansiyona bağlı olduğu bildirilmektedir (21). Bizim çalışmamızda da hastaların yaklaşık yarısında HT mevcuttu.

Çalışmalarda akut iskemik SVO geçiren hastalarda kardiyoembolizm (KE) %20 civarında tespit edilmiştir (22, 23). Kardiyoembolinin en sık nedeni AF' dir. AF dışındaki diğer KE olayların tespit edilmesinde temel yöntem EKO'dur ve tüm iskemik inmeli hastalarda yapılması gereken temel test olmalıdır (24). Potansiyel KE nedenlerinden ikinci en sık bulgumuz LVEF %40'ın altındaki kalp yetmezliği hastalarıdır. İki büyük çalışmada LVEF ile inme arasında ters orantı olduğu saptanmıştır (25, 26). LVEF %29-35 arasında yıllık inme riski %0.8 iken LVEF ≤%29 ise yıllık inme riski %1.7 olmaktadır. SAVE çalışmasında göre LVEF de her %5'lik azalma inme riskinde %18 artışa neden olduğu bulunmuştur (25). SOLVD çalışmasında ise AF hastaları hariç bırakıldığında LVEF'de her %10 azalma tromboembolik olay riskinde %58 artışa neden olmuştur (26). Bizim çalışmamızda da LVEF'si %40'ın altındaki hasta oranı %12 olarak tespit edilmiştir. Diğer potansiyel KE kaynağı ise sol atriyum ve ventrikülde SEK ve/veya trombüs varlığıdır. SEK özellikle sol atrium genişlemesi ve

düşük sol atrial appendiks hızıyla ilişkilendirilerek tromboembolik kaynak olarak gösterilmiştir (27). Farklı çalışmalarda akut iskemik SVO geçiren hastaların %8 ile %10,8'inde SEK görülebildiği rapor edilmiştir (28). Bizim çalışmamızda da %3,7 oranında sol ventrikülde trombus ve %6,7 oranında sol atrium ve/veya ventrikülde SEK saptandı.

Karotis arter hastalığı kardiyemboli ile birlikte akut iskemik SVO' nun en önemli nedenidir. Karotis arter hastalıkları hem bir emboli kaynağı olarak hemde darlığın etkisiyle serobrovasküler olaylara neden olabilmektedir. Yapılan bir çalışmada iskemik inme geçirenlerde ciddi karotis arter darlığı %38 oranında saptanmıştır (29). Çalışmamızda da ciddi karotis arter darlığı %32,6 (%20 tek taraflı, %12,6 iki taraflı) olarak yüksek bir oranda saptanmıştır.

Çalışmanın kısıtlılıkları; çalışmaya dâhil edilen hastaların holter EKG kayıtları yeniden incelendi ancak laboratuvar ve görüntüleme tetkikleri geriye dönük olarak kayıtlardan elde edildi. Çalışmamızda holter kayıtları 24 saatlik yapılmıştır. Daha uzun holter kayıtlarıyla aritmi sıklığı daha yüksek saptanabilir. Çalışma popülasyonuna transözofajial EKO yapılmadığından iskemik inme etyolojisi açısından önemli bir neden olan kardiyak

konjenital defektler detaylı araştırılmamıştır. Tüm hastaların holter EKG ile inceleme öncesi akut iskemik SVO geçirdikten sonra antiaritmik ilaç kullanıp kullanmadıkları dışlanamadı. Bu konu hakkında çok merkezli ve daha yüksek hasta sayıları ile araştırmaların yapılmasının faydalı olabilir. Literatürde bazal EKG'si normal olan akut iskemik SVO geçiren hastalarda alta yatan aritmi sıklığını ve çeşitliliğini araştıran pek çalışma yoktur. Bu nedenle çalışmamızın literatüre katkıda bulunacağı ve ileride bu konuda yapılacak randomize geniş ölçekli çalışmalara öncü olacağını düşünüyoruz.

## SONUÇ

Akut iskemik SVO geçiren hastalarda alta yatan aritmiyi tesbit etmek hastalığın tedavisi açısından önem arz etmektedir. Bu hasta grubunda tedavi edilmesi gereken aritmi sıklığı göz ardı edilemeyecek kadar yüksektir. Akut iskemik SVO'lu hastalarda inmeye sebep olabilecek etiyolojinin araştırılmasında ve tedavi planlanmasında, karotis arter USG, holter EKG ve EKO yön gösterici testlerdir.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

## Kaynaklar

1. Fernández-Menéndez S, García-Santiago R, Vega-Primo A, et al. Cardiac arrhythmias in stroke unit patients. Evaluation of the cardiac monitoring data. *Neurología*. 2016; 31: 289-95.
2. Ruthirago D, Julayanont P, Tantrachoti P, Kim J, Nugent K. Cardiac Arrhythmias and Abnormal Electrocardiograms After Acute Stroke. *Am J Med Sci*. 2016; 351: 112-8.
3. Ertas F. Epidemiological approach to the atrial fibrillation patients. *Dicle med j*. 2013; 40: 332-9.
4. Britton M, de Faire U, Helmers C, et al. Arrhythmias in patients with acute cerebrovascular disease. *Acta Med Scand*. 1979; 205: 425-8.
5. Arslan Y, Selbest Demirtaş B, Ekmekci C, Şener U. Investigation of risk factors in cryptogenic ischemic stroke. *Turkish Journal of Cerebrovascular Diseases*. 2019; 25: 26-30.
6. Dogdus M, Burhan S, Bozgun Z, et al. Cardiac autonomic dysfunctions are recovered with vitamin D replacement in apparently healthy individuals with vitamin D deficiency. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2019 Nov; 24 (6): e12677. doi: 10.1111/anec.12677.
7. Brown RD, Whisnant JP, Sicks JD, et al. Stroke incidence, prevalence, and survival: secular trends in Rochester, Minnesota, through 1989. *Stroke*. 1996; 27: 373-80.
8. Di Carlo A, Lamassa M, Baldereschi M, et al. Sex differences in the clinical presentation, resource use, and 3-month outcome of acute stroke in Europe: data from a multicenter multinational hospital-based registry. *Stroke*. 2003; 34: 1114-9.
9. Kapral MK, Fang J, Hill MD, et al. Sex differences in stroke care and outcomes: results from the Registry of the Canadian Stroke Network. *Stroke*. 2005; 36: 809-14.
10. Gibson CL. Cerebral ischemic stroke: is gender important? *J Cereb Blood Flow Metab*. 2013; 33: 1355-61.
11. Sacco RL, Benjamin EJ, Broderick JP, et al. American Heart Association Prevention Conference. IV. Prevention and rehabilitation of stroke Risk factors. *Stroke*. 1997; 28: 1507-17.



12. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ, et al. Primary prevention of ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council: cosponsored by the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary WorkingGroup; Cardiovascular Nursing Council; Clinical Cardiology Council; Nutrition, Physical Activity, andMetabolism Council; and the Quality of Care andOutcomes Research Interdisciplinary Working Group: theAmerican Academy of Neurology affirms the value ofthis guideline. *Stroke*. 2006; 37: 1583-633.
13. Orlandi G, Fanucchi S, Strata G, et al. Transient autonomic nervous system dysfunction during hyperacute stroke. *Acta Neurol Scand*. 2000; 102: 317-21.
14. Prosser J, Mac Gregor L, Lees KR, et al. Predictors of early cardiac morbidity and mortality after ischemic stroke. *Stroke*. 2007; 38: 2295-302.
15. Pasquini M, Laurent C, Kroumova M. Insular infarcts and electrocardiographic changes at admission: results of the prognostic of insular cerebral infarcts study (PRINCESS). *J Neurol*. 2006; 253: 618-24.
16. Christensen H, Fogh Christensen A, Boysen G. Abnormalities on ECG and telemetry predict stroke outcome at 3 months. *J Neurol Sci*. 2005; 234: 99-103.
17. Silver FL, Norris JW, Lewis AJ, Hachinski VC. Early mortality following stroke: a prospective review. *Stroke*. 1984;15: 492–6.
18. Adams RJ, Chimowitz MI, Alpert JS, et al. Coronary risk evaluation in patients with transient ischemic attack and ischemic stroke: a scientific statement for healthcare professionals from the Stroke Council and the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association/Am Stroke Association. *Stroke*. 2003; 34: 2310 –22.
19. Cheung RTF, Hachinski VC. The insula and cerebrogenic sudden death. *Arch Neurol*. 2000; 57: 1685–8.
20. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Circulation*. 1996; 93: 1043–106.
21. American Virani SS, Alonso A, Aparicio HJ, et al. American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2021; 143: e254-e743.
22. Font MÀ, Krupinski J, Arboix A. Antithrombotic medication for cardioembolic stroke prevention. *Stroke Res Treat*. 2011; 2011: 1-23. doi: 10.4061/2011/607852
23. Uzunkopru C, Tiryaki EN, Tiryaki M. The Relationship Between Transthoracic Echocardiography Findings, Localization of Stroke, and Risk Factors in Patients With Ischemic Stroke. *Dicle Med J*. 2021; 48: 220-7
24. Abreu TT, Mateus S, Correia J. Therapy Implications of Transthoracic Echocardiography in Acute Ischemic Stroke Patients. *Stroke*. 2005; 36: 1565-6.
25. Di Pasquale G, Andreoli A, Grazi P, Dominici P, Pinelli G. Cardioembolic stroke from atrial septal aneurysm. *Stroke*. 1988; 19: 640-3.
26. Dusleag J, Klein W, Eber B, et al. Frequency of magnetic resonance signal abnormalities of the brain in patients aged less than 50 years with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 1992; 69: 1446-50.
27. Gonzalez-Torrecilla E, Garcia-Fernandez MA, Perez-David E, et al. Predictors of left atrial spontaneous echo contrast and thrombi in patients with mitral stenosis and atrial fibrillation. *Am J Cardiol*. 2000; 86: 529-34.
28. Cokar O, Ozturk O, Aydemir T, et al. Transoesophageal echocardiographic findings in patients with ischemic lacunar and nonlacunar stroke. *J Clin Neurosci*. 2008; 15: 246-52.
29. Kasner SE, Lynn MJ, Jackson BP, Pullicino PM, Chimowitz MI. Warfarin Versus Aspirin for Symptomatic Intracranial Disease (WASID) Trial Investigators. Echocardiography in Patients With Symptomatic Intracranial Stenosis. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2007; 16: 216-9



## İkinci basamak devlet hastanesinde tek ürolog tarafından gerçekleştirilen ürolojik laparoskopik prosedürler ve sonuçları

*Urological laparoscopic procedures and results performed by a single urologist in a secondary state hospital*

Tuncer Bahçeci

Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Şanlıurfa, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** İkinci basamak devlet hastanesinde tek ürolog tarafından gerçekleştirilen ürolojik laparoskopik operasyonların sonuçlarını irdelemek

**Gereç ve Yöntem:** Ocak 2018 – Ocak 2021 yılları arasında Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde ürolojik laparoskopik cerrahi geçiren 30 hastanın verileri retrospektif olarak incelendi. Operasyon tipi, ameliyat süreleri, taraf, dren süreleri, hastanede kalış süreleri ve komplikasyonları not edildi.

**Bulgular:** Tüm hastalara transperitoneal yolla laparoskopi yapıldı. On beş hastaya laparoskopik nefrektomi, 4 hastaya dismembred piyeloplasti, 8 hastaya üreterolitotomi, 3 hastaya ise kist eksizyonu uygulandı. Ortalama hasta yaşı 40,43 + 16,72 (14-76) saptandı. Erkek/kadın oranı 13/17 olmak üzere %43,3 erkek ve %56,7 kadın saptandı. Operasyon sürelerine bakıldığında nefrektomi 173,26 (120-240) dk. piyeloplasti 240 ± (210-270) dk. üreterolitotomi 110,75 (75-180) dk. kist eksizyonu 112,66 (100-138) dk. saptandı. Tüm hastaların drenaj miktarları eser miktarda (<50ml) idi. Dren çekilme süresi nefrektomi 2,26 (1-4) gün, piyeloplasti 3,5 (2-4) gün, üreterolitotomi 2,62 (2-4) gün, kist eksizyonu 1 (1) gün saptandı. Hastanede kalış süresi nefrektomi 3,46 (2-7) gün, piyeloplasti 4.5 (3-5) gün, üreterolitotomi 3.5 (2-7) gün, kist eksizyonu 1,67 (1-2) gün saptandı. Toplam 30 vakanın 3'ünde (%10) açık prosedüre geçildi. Sadece internal iliak ven yaralanması olan bir hastaya 2 ünite kan transfüzyonu yapıldı. Komplikasyonlar Clavien-Dindo sınıflamasına göre değerlendirildiğinde internal iliak ven yaralanması sonrası açık onarım yapılan hasta Clavien-Dindo grade 3b, post-operatif atelektazi gelişen 3 hasta ise Clavien-Dindo grade 1 olarak kaydedildi.

**Sonuç:** Laparoskopik operasyonlar ülkemizde üniversite hastaneleri ve eğitim klinikleri başta olmak üzere birçok merkezde açık operasyonların yerini almaktadır. Cerrahin yeteneğine ve tecrübesine göre değişkenlik göstermekle birlikte laparoskopik operasyonlar uzun öğrenme eğrisi gerektirmektedir. Günümüzde laparoskopik vakaların artışına sekonder asistanların deneyimlerinde de artış söz konusu olmaktadır. Laparoskopik operasyonlar; laparoskopi eğitimi almış ve deneyimleme fırsatı olmuş ürologlar tarafından uygun hasta seçimi ve doğru planlama ile ikinci basamak hastanelerde güvenle yapılabilir.

**Anahtar Sözcükler:** laparoskopi, komplikasyon, öğrenme eğrisi, pnömoperitonyum.

### ABSTRACT

**Aim:** To evaluate the results of urological laparoscopic operations performed by a single surgeon in secondary public hospital

Sorumlu yazar: Tuncer Bahçeci  
Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Şanlıurfa, Türkiye  
E-posta: [tuncerbahceci@gmail.com](mailto:tuncerbahceci@gmail.com)  
Başvuru tarihi: 11.01.2022 Kabul tarihi: 02.02.2022

**Materials and Methods:** The data of 30 patients who underwent urological laparoscopic surgery in Şanlıurfa Training and Research Hospital between January 2018 and January 2021 were retrospectively analyzed. The operation type, duration of operation, side, removal time of drain, length of stay in the hospital and complications were noted.

**Results:** All patients underwent laparoscopy via transperitoneal route. Laparoscopic nephrectomy was performed in 15 patients, dismembered pyeloplasty in 4 patients, ureterolithotomy in 8 patients, and cyst excision in 3 patients. The mean patient age was 40.43 + 16.72 (14-76). A male/female ratio of 13/17 was found to be 43.3% male and 56.7% female. Considering the operation times, nephrectomy was 173.26 (120-240) minutes, pyeloplasty 240 ± (210-270) minutes, ureterolithotomy 110.75 (75-180) minutes, and cyst excision 112.66 (100-138) minutes. All patients had a trace amount of drains (<50ml). Drain removal time was 2.26 (1-4) days for nephrectomy, 3.5 (2-4) days for pyeloplasty, 2.62 (2-4) days for ureterolithotomy, and 1 (1) day for cyst excision. The hospital stay was 3.46 (2-7) days for nephrectomy, 4.5 (3-5) days for pyeloplasty, 3.5 (2-7) days for ureterolithotomy, and 1.67 (1-2) days for cyst excision. In 3 (10%) of a total of 30 cases, the patient was switched to the open procedure. Only one patient with internal iliac vein injury received 2 units of blood transfusion. When the complications were evaluated according to the Clavien-Dindo classification, the patient who underwent open repair after internal iliac vein injury was recorded as Clavien-Dindo grade 3b, and the 3 patients who developed post-operative atelectasis were recorded as Clavien-Dindo grade 1.

**Conclusion:** Currently, laparoscopic surgeries become the most popular and replace open procedures in many centers, especially tertiary care hospitals. Although it depends on the surgeon's skill and experience, laparoscopic operations have a long learning curve. However, nowadays, there is an increase in the experience of secondary assistants due to the increase in laparoscopic cases. It can be safely performed in secondary care hospitals with appropriate patient selection and correct planning by urologists who have received laparoscopy training and had the opportunity to experience it.

**Anahtar Sözcükler:** Laparoscopy, complication, learning curve, pneumoperitoneum.

## GİRİŞ

Teknolojideki ilerlemelere paralel olarak laparoskopik cihaz ve enstrümanların gelişmesi ile laparoskopik cerrahi ürolojide önemli bir yer tutmaya başlamıştır. Kozmetik sonuçları ve kısa sürede sosyal hayata dönüş sağlaması nedeniyle hem ürologlar hem de hastalar tarafından tercih edilen bir yöntemdir. Üroloji alanında ilk laparoskopik cerrahi 1990 yılında prostat kanserli bir hastada gerçekleştirilen laparoskopik pelvik lenf adenektomidir (1). Yine aynı yıl Clayman ve ark. tarafından ilk laparoskopik radikal nefrektomi gerçekleştirilmiştir (2). Schuessler ve ark. ise 1991 yılında ilk laparoskopik prostatektomi gerçekleştirilmişlerdir (3). Gangner ve ark. 1992 yılında ilk laparoskopik adrenalektomi gerçekleştirirken, 1993'de Lipsy transperitoneal laparoskopik üreterolitotomi, 1994'de Gaur retroperitoneal laparoskopik üreterolitotomi gerçekleştirilmişlerdir (4-6). İntrakorporal sütür becerisi gerekliliği yüksek olan laparoskopik piyeloplasti ise ilk kez 1993 yılında Schuessler ve ark. tarafından gerçekleştirilmiştir (7). Laparoskopide özellikle sütürasyon zorluğunu ve uzun öğrenme eğrisini aşmak amacıyla teknolojik gelişmeler eşliğinde robotik cerrahi gündeme

gelmiştir. İlk robot yardımcı piyeloplasti 1999 yılında tanımlanırken ilk robot yardımcı radikal prostatektomi ise 2000 yılında Binder ve ark. tarafından gerçekleştirilmiştir (8). Laparoskopik operasyonların açık operasyonlara göre daha uzun öğrenme eğrisi olması yanı sıra özellikle deneyimli yardımcı cerrahi ekip gerektirmesi göz ardı edilmemelidir. Görüntünün cerrahi alana ve ekipmanlara odaklanması, laparoskopik ekipmanların uygun kullanımı ve gereğinde yardımcı port kullanımı yardımcı ekip tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu nedenlerle laparoskopik ürolojik cerrahiler ülkemizde özellikle üniversite hastaneleri ve eğitim klinikleri başta olmak üzere deneyimli merkezlerde gerçekleştirilmektedir.

Biz bu çalışmamızda ikinci basamak devlet hastanesi üroloji kliniğinde tek ürolog tarafından gerçekleştirilen ürolojik laparoskopik cerrahilerin sonuçlarını geriye dönük olarak inceledik.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Ocak 2018 – Ocak 2021 yılları arasında Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde tek cerrah tarafından ürolojik laparoskopik operasyon yapılan 30 hastanın verileri retrospektif olarak

incelendi. Tüm vakalar tek ürolog ve iki hemşire eşliğinde gerçekleştirildi. Tüm vakalara transperitoneal yolla laparoskopi yapıldı. Hastaların demografik verileri, ASA skorları, ameliyat türleri, ameliyat süreleri, drenaj miktarları, dren çıkarılma süreleri, transfüzyon ihtiyaçları, hastanede kalış süreleri, intra-operatif ve post-operatif komplikasyonları kaydedildi. Komplikasyonlar Clavien-Dindo sınıflamasına göre değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler IBM SPSS 22 programı kullanılarak yapıldı. Veriler ortalama standart sapma ve yüzde olarak belirlendi.

### **Cerrahi Teknik**

Tüm hastalar genel anestezi altında opere edildi. Anestezi uygulanmasını takiben tüm hastalara 1 gr sefazolin intravenöz antibiyotik uygulandı. Mesaneye 14-18 Fr Foley kateter yerleştirildikten sonra 70 derece lateral dekübit pozisyonu verildi. Bütün laparoskopik cerrahiler transperitoneal yolla gerçekleştirildi. Girişler kapalı yöntemle Veress iğnesi ile yapıldı. İlk giriş spina iliaka anterior superior (SİAS) ile umblikus arasındaki hattın 1/3 dış noktasından (SİAS'a yakın) yapıldı. Beş cc serum fizyolojik Veress iğnesinden gönderildi. Batın içerisine rahat sıvı geçişi görüldükten sonra verese insuflatör bağlandı. İnsuflatör bağlandığında intraabdominal basınç 0-5mmHg arasında ise pnömoperitonium oluşturuldu. On beş mmHg basınca gelindiğinde veres iğnesi çıkarılarak aynı noktadan 10mm trokar ile ilk port yerleştirildi. Direk görüş altında 2.port girişi 10mm trokar kullanılarak umblikus mediali ile rektus laterali arasına, 3.port ise ön aksiller orta hatta 11.kotun altına diğer portlarla eşkenar üçgen oluşturacak mesafeye yerleştirildi. Laparoskopik nefrektomide hemoklipslerin 5mm'lik porttan geçmemesi ve cerrahın sağ el ile hemoklips yerleştirmesi nedeniyle 3.port için sağ tarafta 10 mm'lik trokar, sol tarafta ise 5mm'lik trokar kullanıldı. Yine sağ tarafta karaciğerin cerrahiyi zorlaştırdığı vakalarda 5mm'lik 4.port kullanıldı. Diğer laparoskopik cerrahilerde ise 2 adet 10'luk port 1 adet 5'lik port olmak üzere toplam 3 port kullanıldı. Laparoskopik nefrektomide ilk olarak Toldt hattından kolon medialize edildi, psoas üzerinde üreter bulundu ve üreter proksimale dek serbestlenerek böbrek alt polüne ve daha proksimale ilerlenerek renal hilusa ulaşıldı. Hugh ve aspiratör yardımı ile renal arter ve renal ven birbirinden ayrıldı. Önce renal arter 1 adet large hemoklips ile kleplendi. Akabinde güdükte 2 adet hemoklips, nefrektomi materyalinde 1 adet hemoklips olacak şekilde

renal vene ekstra large hemoklipsler yerleştirildi. Makas yardımı ile ven kesildi. Ardından yine renal arter güdüğünde 2 adet ve materyalde 1 adet kalacak şekilde large klipler renal artere yerleştirildi ve makas yardımı ile arter kesildi. Bundan sonrasında ise tüm vakalarda adrenal bez korunarak gerideki yapışıklıklar künt ve keskin diseksiyon ile düşüldü. Geride kalan üretere 2 adet hemoklips yerleştirildi ve arası makas ile kesilerek böbrek tamamen serbestlendi. Materyal endobag içine alınarak vücuttan çıkarıldı. Laparoskopik kist eksizyonunda ise üreterin seyrini görmek ve komplikasyonu engellemek amacıyla üreter bulundu. Major manipülasyon yapılmadı. Böbrek gerotası açılarak kist bulundu. Kist üzerinde delik açılarak buradan aspiratör yerleştirildi. Kist sıvısı batın içine akmadan tüm sıvı aspire edildi. Geride kalan kist cidarı Ligasure yardımı ile renal parankim sınırına yakın olacak şekilde eksize edildi. Laparoskopik üreterolitotomi operasyonu genellikle ikincil operasyon olarak uygulandı. 2 hafta öncesinde üreterorenoskopi ile taşına ulaşılamamış ve bu operasyonda double-J (JJ) stent veya nefrostomi takılmış hastalara uygulandı. Yine bu hastalarda da kolon medialize edildi ve üreter bulundu. Üreter bulunduktan sonra proksimale doğru çıkıldı. Taşın olduğu lokalizasyondan üreter Hugh yardımıyla 'cut' enerjisi ile longitudinal olarak insize edildi. Ardından grasper yardımı ile taş üreterden çıkarıldı. Kaşık forceps yardımı ile vücut dışına 10'luk porttan direk görüş altında çıkarıldı. Hastaların drenaj kateterleri olması nedeniyle yeni JJ stent tatbiki yapılmadı. Laparoskopik piyeloplasti operasyonunda ise üreter psoas üzerinde bulunduktan sonra renal pelvise kadar serbestlendi. Aberran arter saptanan 2 hastada renal pelvis ve üreter makas yardımı ile kesildikten sonra bu arterler korunarak arter posteriorde kalacak şekilde dar segment çıkarıldıktan sonra üreter ve pelvis tekrar anastomoz edildi. Önce üreter makas ile spatüle edildi. Ardından 4/0 vicryl ile posterior anastomoz kontinü sutureasyon olarak yapıldı. Buradan 6fr JJ stent antegrad olarak üretere gönderildi. Proksimal uç renal pelvise grasper yardımı ile bırakıldı. Anterior anastomoz da aynı suture ile kontinü yapıldı. Lap kist eksizyonu yapılan 1 hasta hariç tüm hastalara 1 adet 14 fr nelaton dren bırakıldı. Bir hasta hariç tüm hastaların foley sondaları post-op 1.günde mobilizasyon sonrası alındı. Tüm hastalara pre-operatif varis çorabı giydirildi ve post-operatif spirometri 24x10 başlandı.

## BULGULAR

On dört hastaya simple nefrektomi, 1 hastaya radikal nefrektomi olmak üzere 15 hastaya laparoskopik nefrektomi yapıldı. Dört hastaya dismembred piyeloplasti, 8 hastaya üreterolitotomi, 3 hastaya ise kist eksizyonu uygulandı. Ortalama hasta yaşı 40,43 + 16,72 (14-76) saptandı. Laparoskopik vakaların tipleri ve her grubun kendi içerisindeki demografik veri oranları Tablo-1'de belirtildi. Operasyon sürelerine bakıldığında nefrektomi 173,26 (120-240) dk. piyeloplasti 240 ± (210-270) dk. üreterolitotomi 110,75 (75-180) dk. kist eksizyonu 112,66 (100-138) dk. saptandı. Tüm hastaların drenaj miktarları eser miktarda (<50ml) idi. Toplam 30 vakanın 3'ünde (%10) açık prosedüre geçildi. İki hastada laparoskopik piyeloplasti sırasında üreteropelvik anastomozun tamamlanamaması nedeniyle, 1 hastada ise laparoskopik üreterolitotomi başlangıcında Veress iğnesi ile internal iliak ven yaralanması nedeniyle açık operasyona geçildi. Sadece internal iliak ven yaralanması olan hastaya 2 ünite kan transfüzyonu yapıldı. Bunun dışında hiçbir hastada intra-operatif veya post-operatif anlamlı kanama olmadığından transfüzyon ihtiyacı olmadı. Operasyon verilerinin karşılaştırılması Tablo-2'de gösterildi. Post-operatif 3 (%10) hastada atelektazi izlendi. Spirometri ve uygun antibiyoterapi ile semptomlar giderildi. Komplikasyonlar Clavien-Dindo sınıflamasına göre değerlendirildiğinde laparoskopik üreterolitotomi başlangıcında Veress iğnesi ile internal iliak ven yaralanması sonrası açık onarım yapılan hasta Clavien-Dindo

grade 3b, post-operatif atelektazi gelişen hastalar ise Clavien-Dindo grade 1 olarak kaydedildi.

## TARTIŞMA

Özellikle son 30 yılda cerrahi tedavilerin başarısı yanında morbiditeyi azaltmak ve yaşam kalitesini arttırmak amacıyla laparoskopik cerrahi tedaviler yapılmaya başlanmıştır (9). Laparoskopik operasyonların bazı avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Erken mobilizasyon süresi, erken oral beslenmeye geçilmesi, minimal insizyon skarı, minimal analjezik gereksinimi, erken taburculuk ve daha kısa sürede sosyal hayata dönüş sağlanması en önemli avantajlardır. En önemli dezavantajı iki boyutlu görüntüleme nedeniyle derinlik algısının ve taktil duyusunun oldukça az olmasıdır. Ayrıca laparoskopik enstrumanların kullanımı sırasında hem mekanik travma hem de termal hasar riskini engellemek için yüksek el göz koordinasyonu gerektirmektedir. Bu dezavantajlar laparoskopinin öğrenme eğrisinin uzun olmasına neden olmaktadır. Laparoskopik cerrahi günümüzde transperitoneal ya da retroperitoneal yolla yapılabilmektedir. Yöntem seçiminde en önemli faktör cerrahın tecrübesidir. Transperitoneal yol cerraha oldukça geniş bir çalışma alanı sağlar. Üreteri bulmak oldukça kolaydır. Karaciğer, dalak ve barsaklar gibi anatomik landmarkların görülmesi avantajdır (10). Retroperitoneal yolda ise çalışma alanı oldukça dardır. Anatomik landmarkların olmaması nedeniyle üreteri bulmak zordur. Barsak ve solid organ yaralanma riski olmaması ise önemli bir avantajdır (11).

**Tablo-1.** Demografik veriler.

	Nefrektomi	Piyeloplasti	Üreterolitotomi	Kist eksizyonu
<b>Hasta sayısı (n /%)</b>	15 (50)	4 (13,3)	8 (26,6)	3 (10)
<b>Yaş</b>	42,4 (14-76)	30 (25-35)	37.12 (22-57)	53.66 (31-67)
<b>Taraf</b>				
<b>Sağ (n/%)</b>	7 (46,7)	3 (75)	7 (87,5)	0 (0)
<b>Sol (n/%)</b>	8 (53,3)	1 (25)	1 (12,5)	3 (100)
<b>Cinsiyet</b>				
<b>Erkek (n,%)</b>	4 (26,7)	1 (25)	5 (62,5)	3 (100)
<b>Kadın (n,%)</b>	11 (73,3)	3 (75)	3 (37,5)	0 (0)
<b>ASA skoru</b>				
<b>1 (n,%)</b>	2 (13,3)	1 (25)	2 (25)	1 (100)
<b>2 (n,%)</b>	12 (80)	3 (75)	5 (62,5)	0 (0)
<b>3 (n,%)</b>	1 (6,7)	0 (0)	1 (12,5)	0 (0)

**Tablo-2.** Operasyon verilerinin karşılaştırılması.

	Operasyon Süresi [dk,SD,(min-max)]	Transfüzyon [n, (ünite)]	Dren çıkarılma süresi [gün,SD,(min-max)]	Hastanede kalış süresi [gün,SD,(min-max)]	İntra-operatif komplikasyon n,(%)	Post-operatif komplikasyon n,(%)
<b>Nefrektomi</b>	173,26±33,28 (120-240)	0	2,26 ± 0,798 (1-4)	3,46 ± 1,302 (2-7)	Yok	2,(13) (atelektazi)
<b>Piyeloplasti</b>	240 ± 24,49 (210-270)	0	3,5±1,000 (2-4)	4,5 ± 1,000 (3-5)	*2, (50) (açık vakaya geçiş)	Yok
<b>Üreterolitotomi</b>	110,75 ±33,02 (75-180)	1,(2ünite)	2,62 ±0,744 (2-4)	3,5 ±1,772 (2-7)	**1,(12,5) (açık vakaya geçiş)	1,(%12,5) (atelektazi)
<b>Kist Eksizyonu</b>	112,66 ± 21,93 (100-138)	0	1±,000 (1)	1,67 ±0,577 (1-2)	Yok	Yok

\* Sütürasyonun tamamlanamaması  
\*\* veres iğnesi ile internal iliak ven yaralanması

Laparoskopik cerrahi komplikasyon oranları tecrübeli ellerde daha az görülmekle birlikte mortal seyredebilecek kadar ciddi komplikasyonlara sahiptir. Veress iğnesi kullanımı, CO2 gazı insuflasyonu ve port yerleşimi açık cerrahiden ayrılan en önemli operasyon basamaklarıdır. Bu basamaklara bağlı gelişen komplikasyonlarda per-operatif acil açık cerrahiye geçmek gerekebilir. Veress kullanımı ve port yerleşimine bağlı en sık görülen komplikasyonlar damar ve barsak yaralanmalarıdır. Özellikle aort gibi major damar yaralanmalarında ve cerrahın kanamayı kontrol altına alamadığı vakalarda acil açık cerrahiye geçilmelidir. Çeşitli çalışmalarda vasküler yaralanmalar %0,5-%2,6, barsak yaralanmaları %1,0-%1,2 oranları aralıklarında bulunmuştur (12, 13). Meraney ve ark. yaptığı çalışmada damar yaralanması %1,7, organ yaralanması ise %0,25 olarak bildirilmiştir (14). Fahlenkamp ve ark. ilk 100 vakalık serilerini yayınladıkları çalışmada %13,3 vasküler yaralanma saptanmıştır (15). Bizim çalışmamızda ise sadece 1 (%3,33) hastada Veress iğnesi kapalı yerleşiminde internal iliak ven yaralanması olmuştur. Bu sonuç başlangıç serisi yayınlarından daha az, güncel literatür ile benzer damar yaralanması komplikasyonuna sahip olduğumuzu göstermektedir. Bunun nedeni cerrahın laparoskopik nefrektomide deneyimli bir merkezden ihtisas alması olarak değerlendirilmiştir. CO2 gazı insuflasyonuna sekonder gelişen komplikasyon hiperkarbidir. Özellikle astım, KOAH gibi akciğer hastalıkları

olanlar başta olmak üzere CO2 insuflasyonunu tolere edemeyen hastalarda açık cerrahiye geçmek gerekebilir. Çimen ve ark.'nın çalışmasında hiperkarbi nedeniyle açığa geçme oranı %2 saptanırken çalışmamızda hiçbir hastada hiperkarbi gelişmemiştir.

Ülkemizden ilk laparoskopik deneyimlerin yayınlandığı çalışmalara bakıldığında genel açığa geçme oranları; 2012 yılında Hatipoğlu ve ark. yaptığı çalışmada %6, 2018 yılında Çimen ve ark. çalışmasında %14,7, Demir ve ark. çalışmasında %12,5 saptanırken, Çelik ve ark. ikinci basamak devlet hastanesinde yaptıkları 99 hastalık çalışmada ve Kars devlet hastanesinde yapılan 9 hastalık bir diğer çalışmada açığa geçiş oranları %0 saptanmıştır (16-20). Bizim çalışmamızda literatür ile benzer açığa geçiş oranımız olmasına rağmen özellikle rekonstrüktif beceri gereken vakalar açığa geçiş oranımızı arttırmaktadır. Bunun en temel nedeni cerrahın laparoskopik sutureasyon tecrübesinin az olmasından kaynaklanmaktadır. Rassweiller ve ark. 200 vakalık serilerinde açığa geçme oranlarının başlangıçta %17'den %2'ye kadar azaldığını saptamışlar (21). Permpngkosal ve ark. yaptıkları geniş hasta sayılı çalışmasında açığa geçiş oranı %2,67 saptanmış ve öğrenme eğrisinde olan cerrahların uygun hasta seçimi ile bu oranı en aza indirebileceklerini göstermişlerdir (22). Özellikle rekonstrüktif cerrahide daha yeni olmamız ve hasta sayımızın daha az olduğu göz önünde bulundurulduğunda tecrübemiz arttıkça açığa geçme oranlarımızın azalacağına inanmaktayız.

Ülkemizde yayınlanan ilk serilerdeki laparoskopik nefrektomi için sırası ile basit nefrektomi/radikal nefrektomi operasyon sürelerine baktığımızda; Hatipoğlu ve ark. 95/148 dk., Çimen ve ark. 130/119 dk., Demir ve ark. 181/179 dk., Kural ve ark. ise 150/210dk. saptamıştır (16-18, 23). Çelen ve ark. 2021 yılında yayınladıkları radikal nefrektomi uygulanan büyük ve küçük renal kitlelerin sonuçlarının karşılaştırıldığı çalışmada ise ameliyat süreleri sırasıyla 87,36/103,12 dk. saptanmıştır (24). Bizim çalışmamızın sonuçları başlangıç deneyimleri yayınlanan ilk çalışmalar ile benzer saptanırken Çelen ve ark.'nın çalışmasına göre oldukça uzundur. Çelen ve ark.'nın laparoskopik deneyimlerinin oldukça fazla olması yanı sıra operasyonların tecrübeli merkezde gerçekleştirilmiş olması bunun en temel nedeni olarak değerlendirilebilir. Diğer vakalar için operasyon sürelerine bakıldığında, laparoskopik kist eksizyonu için; Hatipoğlu ve ark. 45 (20-80) dk., Demir ve ark. 180 dk., laparoskopik üreterolitotomi için; Hatipoğlu ve ark. 104 (95-135) dk., Demir ve ark. 135 dk., Çimen ve ark. 80 dk., laparoskopik piyeloplasti için; Hatipoğlu 170 (160-180) dk., Demir ve ark. 150 dk., Çimen ve ark. 117 dk. saptadılar (16-18). Bizim çalışmamız ile karşılaştırıldığında; laparoskopik kist eksizyonu ve üreterolitotomi operasyonlarımızın operasyon süreleri diğer çalışmalar ile benzer saptanmıştır. Laparoskopik piyeloplasti ameliyat süremiz ise literatürden daha uzun saptanmıştır. Bunun ana nedeni cerrahın laparoskopik sütürasyon gerektiren cerrahi vaka sayısı ve tecrübesinin az olmasından kaynaklanmaktadır. Tek doktor ve iki hemşire eşliğinde vakaların yapılması nedeniyle yardımcı ekibin deneyimsizliği de ikinci neden olarak gösterilebilir.

Ortalama hastanede kalış süreleri değerlendirildiğinde laparoskopik nefrektomi için simple ve radikal cerrahi sırası ile Hatipoğlu ve ark sırasıyla 1,5/1,8 gün, Çimen ve ark. 3,1/4,2

gün, Demir ve ark. 4,6/6,8 gün olarak saptamışlar (16-18). Bizim çalışmamızda hastane kalış süresi Çimen ve ark. sonuçlarına benzer iken, Hatipoğlu ve ark. sonuçlarına göre daha uzun, Demir ve ark. sonuçlarına göre ise daha kısa saptanmıştır.

Literatürde laparoskopik radikal nefrektomi kan kaybı 0 ile 300 ml arasında değiştiği görülmektedir (25, 26). Teber ve ark.'nın 68 vakalık serilerinde kan kaybı ortalama 196 ml olarak bulunmuştur (25). Çimen ve ark. (17) çalışmasında %8 hastaya kan transfüzyonu uygulanırken, Hatipoğlu ve ark. (16) %3 hastaya kan transfüzyonu uygulamıştır. Başataç ve ark. (20) 9 hastalık serisinde eser miktarda kan kayıpları görülürken transfüzyon ihtiyacı olmamıştır. Çelik ve ark.'nın çalışmasında ise ortalama kan kaybı 70cc saptanmışken %3 hastaya transfüzyon uygulanmıştır. Bizim çalışmamızda ise sadece 1 hastaya (%3.33) intra-operatif 2 ünite eritrosit süspansiyonu replasmanı yapılmıştır. Sonuçlarımız literatür ile benzer saptanmıştır.

## SONUÇ

Laparoskopik operasyonlar ülkemizde üniversite hastaneleri ve eğitim klinikleri başta olmak üzere birçok merkezde açık operasyonların yerini almaktadır. Cerrahın yeteneğine ve tecrübesine göre değişkenlik göstermekle birlikte laparoskopik operasyonlar uzun öğrenme eğrisi gerektirmektedir. Günümüzde laparoskopik vakaların artışına sekonder asistanların deneyimlerinde de artış söz konusu olmaktadır. Laparoskopik operasyonlar; laparoskopi eğitimi almış ve deneyimleme fırsatı olmuş ürologlar tarafından uygun hasta seçimi ve doğru planlama ile ikinci basamak hastanelerde güvenle yapılabilir.

**Çıkar çatışması:** Çalışmada yer alan yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

## References

- 1- Griffith DO, Schussler WW, Vancaille TH. Laparoscopic lymphadenectomy: A low morbidity alternative for staging pelvic malignancies. J. Endourol 1990; 4: 84-86
- 2- Clayman: Clayman RV, Kavoussi LR, Soper NJ et al. Laparoscopic nephrectomy: Initial case report. J Urol 1991; 146: 278- 282
- 3- Schuessler W, Kavoussi L, Clayman R, Vancaille T. Laparoscopic radical prostatectomy: Initial case report. J Urol 1992; 147: 246-8.
- 4- Gagner M, Lacroix A, Bolte E. Laparoscopic adrenalectomy in Cushing's syndrome and pheochromocytoma. N Engl J Med 1992; 327:1033.

- 5- Keeley FX, Gialas I, Pillai M, Chrisofos M, Tolley DA. Laparoscopic ureterolithotomy: The Edinburgh experience. *BJU International* 1999;84: 765-769.
- 6- Gaur DD, Agarwal DK, Purohit KC, Darshane AS, Shah BC. Retroperitoneal laparoscopic ureterolithotomy for multiple upper mid ureteral calculi. *J Urol* 1994;151:1001-1002
- 7- Schuessler WW, Grune MT, Tecuanhuey LV, Preminger GM. Laparoscopic dismembered pyeloplasty. *J Urol* 1993; 150 (6): 1795-9.
- 8- Binder J, Kramer W. Robotically-assisted laparoscopic radical prostatectomy. *BJU Int* 2001; 87: 408-10.
- 9- Abdelshehid CS, Eichel L, Lee D, Uribe C, Boker J, Basillote J et al. Current trends in urologic laparoscopic surgery. *J Endourol* 2005; 19: 15–20.
- 10- Kijivikai K, Patcharatrakul S. Laparoscopic ureterolithotomy: Its role and some controversial technical considerations. *Int J Urol* 2006; 13 (3): 206-10.
- 11- McAllister M, Bhayani SB, Ong A et al. Vena caval transection during retroperitoneoscopic nephrectomy: report of the complication and review of the literature. *J Urol* 2004;172 (1): 183-5.
- 12- Vallancien G, Cathelineau X, Baumert H, Doublet JD, Guillonneau B. Complications of transperitoneal laparoscopic surgery in urology: review of 1311 procedures at a single center. *J Urol* 2002; 168 (1): 23-6.
- 13- Parsons JK, Varkarakis I, Rha KH, Jarrett TW; Pinto P, Kavoussi LR. Complications of abdominal urologic laparoscopy: longitudinal five-year analysis. *Urology* 2004; 63 (1): 27-32.
- 14- Meraney AM, Samee AA, Gill IS. Vascular and bowel complications during retroperitoneal laparoscopic surgery. *J Urol* 2002; 168: 19
- 15- Fahlenkamp D, Rassweiler J, Fornara P, Frede T, Loening SA. Complications of laparoscopic procedures in urology: experience with 2,407 procedures at 4 German centers. *J Urol* 1999; 162: 765-770.
- 16- Hatipoğlu NK, Penbegül N, Söylemez H, Atar M, Bozkurt Y, Sancaktutar AA et al. Ürolojik Laparoskopik Cerrahi: Dicle üniversitesindeki ilk 100 deneyimimiz. *J Clin Exp Invest* 2012; 3 (1): 44-48.
- 17- Çimen H. İ., Atik Y. T., Uysal B. Et al. Sakarya Üniversitesi'nde Laparoskopik Ürolojik Cerrahi: Başlangıç Deneyimlerimiz. *Sakarya Tıp Dergisi*, 2018; 8 (2), 416-422.
- 18- Demir Ö, Öztürk B, Egriboyun S, Esen A. Kliniğimizde Laparoskopik Cerrahide İlk Deneyimlerimiz ve Öğrenme Süreci. *Dokuz Eylül Tıp Fakültesi Dergisi* 2010; 24 (3): 105-12
- 19- Çelik H., Karazindıyanoglu S., Gokcen K. Et al. One-Year Experience of Urological Laparoscopic Surgery with 99 Cases in a State Hospital. *Journal of Turgut Ozal Medical Center*, 2015; 22 (4).
- 20- Başataç C.&Çiçek M. Ç. Kars Devlet Hastanesi nde laparoskopik üroloji deneyimlerimiz. *Ege Tıp Dergisi*, 2017, 56. 1: 1-5.
- 21- Rassweiler JJ, Seemann O, Frede T, Henkel TO, Alken P. Retroperitoneoscopy: experience with 200 cases. *J Urol* 1998; 160(4): 1265-1269.
- 22- Permpongkosol, S, Link, RE, Su, LM, Romero FR, Bagga HS, Pavlovic CP et al. Complications of 2,775 urological laparoscopic procedures: 1993 to 2005. *J Urol* 2007; 177: 580–585.
- 23- Kural AR, Demirkesen O, Akpınar H, et al. Laparoskopik nefrektomide başlangıç deneyimlerimiz. *Türk Üroloji Derg* 2004; 30: 414- 421.
- 24- Çelen S, Özlülerden Y, Başer A, Bütün S. Transperitoneal laparoskopik radikal nefrektomi uygulanan büyük ve küçük renal kitlelerin sonuçlarının karşılaştırılması. *Pam Tıp Derg* 2021;14:209-213.
- 25- Teber D, Erdogru T, Klein J, Frede T, Rassweiler J. Laparoskopik radikal nefrektomi: cerrahi sonuçlar ve uzun süreli onkolojik takip. *Türk Üroloji Dergisi* 2005; 31 (1): 41-8
- 26- Chan DY, Cadeddu JA, Jarrett TW, Marshall FF, Kavoussi LR. Laparoscopic radical nephrectomy: cancer control for renal cell carcinoma. *J Urol* 2001; 166 (6): 2095-99

## Evaluation of the effects of neoadjuvant chemotherapy on probably benign breast lesions with MRI: Report of two cases

*Neoadjuvan kemoterapinin olası benign meme lezyonları üzerindeki etkilerinin MRG ile değerlendirilmesi: İki olgu sunumu*

Özge Aslan<sup>1</sup> Ayşenur Oktay<sup>1</sup> Levent Yeniay<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Radiology, Ege University Faculty of Medicine, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup> Department of General Surgery, Ege University Faculty of Medicine, Izmir, Türkiye

### ABSTRACT

In cases with breast cancer, probably benign lesions can also be seen in the other areas of the breast. It is known that neoadjuvant chemotherapy causes morphological changes in the normal breast tissue and the benign lesions, in addition to effects on malignant mass.

In cases with complete response with neoadjuvant chemotherapy, probably benign lesions without tissue diagnosis cause a dilemma in the breast conserving surgery plan, when they shrink or disappear at the end of the treatment. We aimed to demonstrate the effects of neoadjuvant chemotherapy in cases with probably benign breast lesions via dynamic contrast enhanced breast MRI.

**Keywords:** Probably benign lesion, neoadjuvant chemotherapy, MRI, breast cancer.

### ÖZ

*Meme kanseri olgularında memenin diğer bölgelerinde de olası benign lezyonlar görülebilir. Neoadjuvan kemoterapinin malign kitle üzerindeki etkilerinin yanı sıra normal meme dokusunda ve benign lezyonlarda morfolojik değişikliklere neden olduğu bilinmektedir.*

*Neoadjuvan kemoterapi ile tam yanıt alınan olgularda, tedavi öncesi doku tanısı konulmamış olası benign lezyonlar tedavi sonunda küçüldüğünde veya kaybolduğunda meme koruyucu cerrahi planında ikilem yaratmaktadır. Bu olgu sunumunda olası benign meme lezyonu olan iki olguda neoadjuvan kemoterapinin etkilerini dinamik kontrastlı meme MRG ile göstermeyi amaçladık.*

**Anahtar Sözcükler:** Olası benign lezyon, neoadjuvan kemoterapi, MRG, meme kanseri.

### INTRODUCTION

Probably benign lesions are defined as non-bright on T2W-MRI and well-circumscribed masses with focal enhancement on the contrast-enhanced MRI unlike the parenchyma in the 5th edition of the AJR BI-RADS atlas (1). Additional lesions in probably benign morphology can be seen on MRI in cases with breast cancer.

Neoadjuvant chemotherapy (NAC) is used in locally advanced breast cancers and inflammatory cancers, according to the TNM classification. It is applied in these cases to increase survival by treating possible micro metastases and to allow breast conserving surgery by reducing tumor burden (2, 3). Accurate determination of the response in the early period takes an important place in effective treatment implementation (4).

Corresponding author: Özge Aslan  
Department of Radiology, Ege University Faculty of Medicine,  
Izmir, Türkiye  
E-mail: [dr.ozgeaslan@gmail.com](mailto:dr.ozgeaslan@gmail.com)  
Application date: 07.05.2021 Accepted: 20.11.2021



Histological analysis showed that NAC also causes morphological changes in normal breast tissue (5). These changes are caused by fibrosis, diffuse lobular atrophy, and drug induced epithelial atrophy caused by NAC in normal breast tissue (5, 6). When the probably benign lesions show dimensional regression with NAC, if there is no initial tissue diagnosis, it causes a dilemma in the surgery plan to be performed in case of complete response.

In this case report, we aimed to demonstrate the effects of NAC in two cases with probably benign breast lesions via breast MRI.

## CASE PRESENTATION

### Case 1

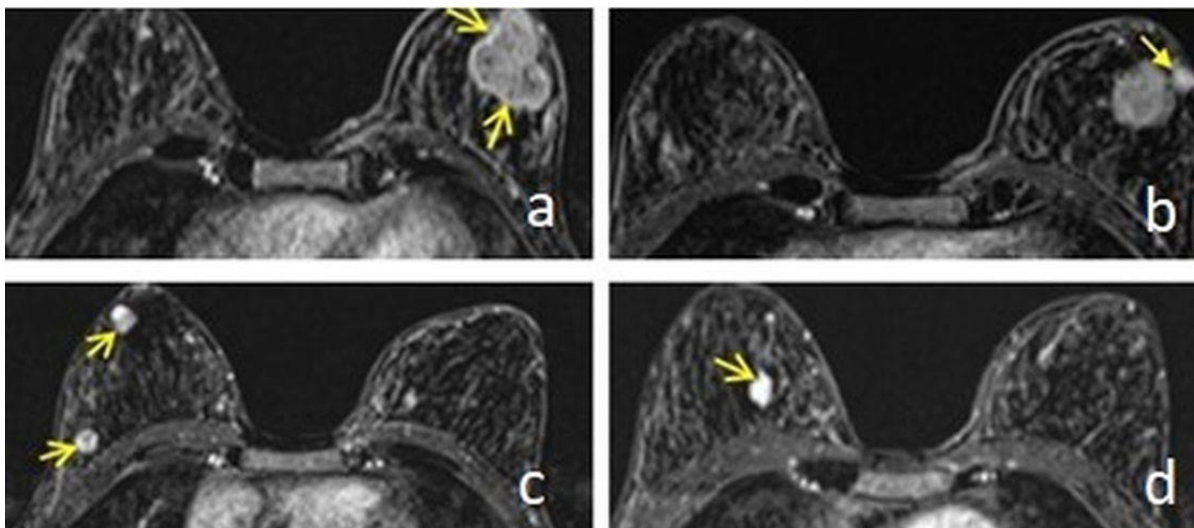
A 35-year-old female patient was consulted to our clinic with a palpable mass lesion diagnosed with invasive ductal carcinoma (IDC) in the left breast. There was a heterogeneous type of enhancement pattern in the malignantly diagnosed mass seen in the lower quadrant of the left breast in MRI performed before NAC (Figure-1a). On MRI, a probably benign lesion was observed in the same quadrant as the malignant mass (Figure-1b). Similarly, 3 more benign lesions of oval shape with smooth borders

were observed in the right breast (Figure-1c, d). Probably benign lesion in the upper outer quadrant of the right breast was diagnosed as a fibroadenoma by core needle biopsy.

A breast MRI was performed after 12 cycles of NAC. No enhancement was observed in the malignant lesion in the left breast and in probably benign lesions in both breasts. It was reported as complete response to the NAC. Pathology result of partial mastectomy material performed bilaterally after NAC; a fibrotic area of 3 cm in diameter was observed in the left breast, no residual tumor was detected. Pathological diagnosis was complete response. The pathology result of the lesions excised from the outer and inner quadrant of the right breast was consistent with fibroadenoma.

### Case 2

A 44-year-old female patient presented to our clinic with a palpable mass in her right breast with a pathology diagnosis of IDC and ductal carcinoma in situ. Before the NAC, breast MRI showed a malignant mass with a diameter of 4 cm in the upper quadrant of the right breast (Figure-2a) and probably benign lesions measuring 1 to 1.5 cm in diameter in both breasts (Figure-2b, c).

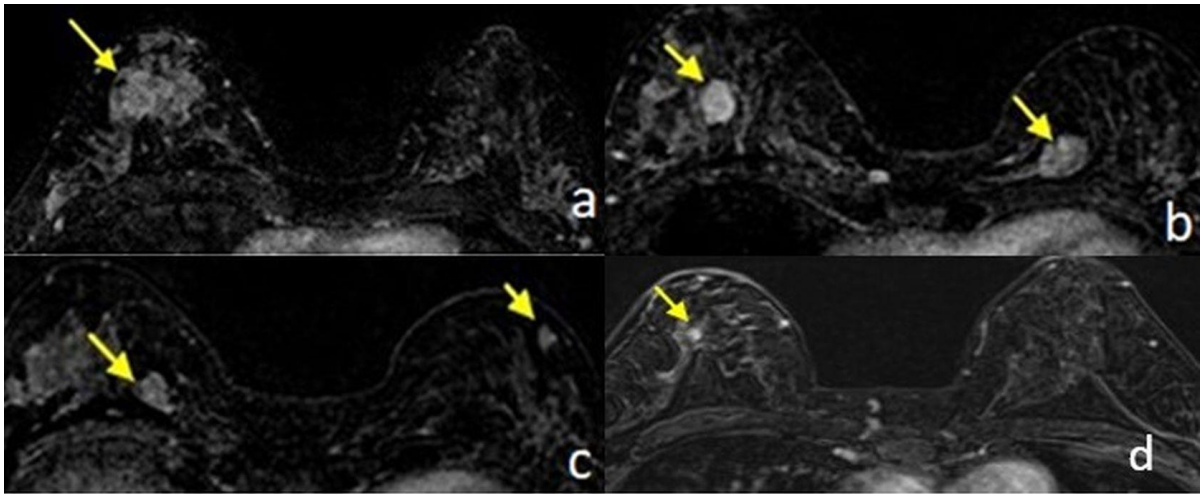


**Figure-1.** 35-year-old woman with biopsy proven left breast invasive ductal carcinoma.

**Figure 1a.** On the dynamic contrast enhanced breast MR subtracted image, heterogeneous and peripheral enhancement is seen in an irregularly demarcated mass diagnosed as malignant in the lower quadrant of the left breast.

**Figure-1b.** Dynamic contrast enhanced MR subtracted image shows a 1 cm diameter, well-circumscribed, probably benign lesion located close to the malignant lesion in the left breast.

**Figure-1c,d.** In the dynamic contrast enhanced MR subtracted image, probably benign lesions are shown in the outer quadrant of the right breast that well-circumscribed, oval-shaped, 1.2 cm and 1.1 cm diameter.



**Figure-2.** 44-year-old woman with palpable breast mass.

**Figure 2a.** Dynamic contrast enhanced breast MR subtracted image shows a malignant mass 4 cm in diameter in the upper quadrant of the right breast.

**Figure-2b.** Probably benign lesions in the right and left breast are shown on the dynamic contrast enhanced breast MR subtracted images.

**Figure-2c.** Probably benign lesions in the right and left breast are shown on the dynamic contrast enhanced breast MR subtracted images.

**Figure-2d.** Focal residual lesion 0.6 cm in diameter is shown on the dynamic contrast enhanced breast MR subtracted image.

US-guided fine needle aspiration biopsy was performed on the probably benign lesion in the lower inner quadrant of the left breast. Cytology result was benign. MRI performed after 12 cycles of NAC showed that the malignant mass in the right breast disappeared and a 0.6 cm diameter enhancement was observed in this area, which may be due to focal residual enhancement (Figure-2d). Similarly, the enhancement in probably benign nodules in both breasts had disappeared. MRI findings were reported as nearly complete response to the NAC. The histopathology result of the left partial mastectomy was a fibroadenoma. In the total mastectomy material of the right breast, a 0.3 cm ductal carcinoma in situ focus was observed within a 5 cm fibrotic area. In contrast, since no residual invasive tumor was detected, it was reported as a pathological complete response.

## DISCUSSION

In cases with breast cancer, the next approach depends not only on the size of known cancer, but also on the presence of additional lesions that may be on the same or the other breast (7). The most valuable diagnostic tool in evaluating the distribution of the malignant lesion, detecting additional lesions, and evaluating NAC response is MRI (8). NAC causes effects on malignant

lesions as well as changes in benign and probably benign lesions. Before the treatment, biopsy is usually performed in the additional lesions showing suspicious morphology and enhancement characteristics. The malignancy rate in lesions with probably benign morphology that are detected in MRI is reported as 2% (9). A dilemma may arise in the treatment when lesions of probably benign categories respond to NAC similarly to cancer. In the study of Leddy et al., dimensional shrinkage, decrease in the enhancement, and disappearance were observed in benign lesions after the NAC similarly to the malignant lesions. In our two cases, lesions with probably benign morphology responded to the NAC in the same way as the lesion with cancer and did not show any enhancement after the treatment. Pathology results were fibroadenoma when they were excised.

NAC reduces vascular support by affecting the endothelial layer of vessels (7). Yeh et al. and Moll et al. showed increased fibrosis in normal glandular tissue, decreased cellularity and, histological changes such as lobular atrophy after the neoadjuvant chemotherapy (6, 10). It can be considered that benign lesions undergo the same process as malignant lesions during treatment and after the NAC they show a decrease in size and decrease in enhancement in MRI. With

similar changes, we can see the loss of contrast enhancement in benign lesions in MRI (7).

Our benign lesions were considerably smaller than cancer lesions and our data was limited. The tissue diagnoses of all benign lesions were not achieved before treatment. The lesions were not marked with a marker before treatment, which makes a one-to-one histopathological matching impossible.

More effective decisions can be made in the treatment plan with more comprehensive studies with a high number of cases.

## CONCLUSION

It should be kept in mind that benign lesions may show decrease in size and a decrease in contrast enhancement in the dynamic contrast enhanced MRI after NAC, as in breast cancer. Tissue diagnosis should be made before treatment for lesions with probably benign morphology in different quadrants or contralateral breast in breast cancer cases who will receive NAC.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Panigrahi B, Harvey SC, Mullen LA, et al. Characteristics and Outcomes of BI-RADS 3 Lesions on Breast MRI. *Clin Breast Cancer*. 2019 Feb; 19 (1): e152-e159.
2. Schott AF, Roubidoux MA, Helvie MA, et al. Clinical and radiologic assessments to predict breast cancer pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*. 2005 Aug; 92 (3): 231-8.
3. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2007 Oct 1; 25 (28): 4414-22.
4. Ah-See ML, Makris A, Taylor NJ, et al. Early changes in functional dynamic magnetic resonance imaging predict for pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in primary breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2008 Oct 15; 14 (20): 6580-9.
5. Carder P. Typing breast cancer following primary chemotherapy. *Histopathology*. 1999 Dec; 35 (6): 584-5.
6. Yeh E, Slanetz P, Kopans DB, et al. Prospective comparison of mammography, sonography, and MRI in patients undergoing neoadjuvant chemotherapy for palpable breast cancer. *AJR Am J Roentgenol*. 2005 Mar; 184 (3): 868-77.
7. Leddy R, Irshad A, Hewett L, et al. Effects of neoadjuvant chemotherapy on benign breast lesions compared to cancers: Should an additional lesion on magnetic resonance imaging responding similar to cancer after neoadjuvant chemotherapy be viewed with suspicion? *J Clin Imaging Sci*. 2016 Sep 20; 6: 39.
8. Gu YL, Pan SM, Ren J, Yang ZX, Jiang GQ. Role of Magnetic Resonance Imaging in Detection of Pathologic Complete Remission in Breast Cancer Patients Treated With Neoadjuvant Chemotherapy: A Meta-analysis. *Clin Breast Cancer*. 2017 Jul; 17 (4): 245-55.
9. Spick C, Bickel H, Polanec SH, Baltzer PA. Breast lesions classified as probably benign (BI-RADS 3) on magnetic resonance imaging: a systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol*. 2018 May; 28 (5): 1919-28.
10. Moll UM, Chumas J. Morphologic effects of neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer. *Pathol Res Pract*. 1997; 193 (3): 187-96.

## Nadir görülen bir pnömotoraks olgusu: katamenial pnömotoraks

### A rare pneumothorax case: catamenial pneumothorax

Hasan Yavuz Ayşegül Çevik Ergönül Tevfik İlker Akçam Ufuk Çağırıcı

Ege Üniversite Tıp Fakültesi Hastanesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

## ÖZ

Endometriozis, uterus dışında endometrial glandlar ve stromanın bulunması olarak tanımlanır. Endometriozisin pulmoner tutulumu da görülebilmekte olup, en sık katamenial pnömotoraks kliniğiyle karşımıza çıkar. Çalışmamızda 38 yaşında nüks pnömotoraks nedeni ile opere edilen kadın hasta sunuldu. Cerrahi tedavi amacıyla videotorakoskopik cerrahi ile akciğer rezeksiyonu yapılan olguda diafragmatik plevrada endometriozise bağlı olduğu düşünülen lezyonlar saptandı. Pnömotoraksa sebebiyet verdiği düşünülen bu lezyonlar videotorakoskopik cerrahi ile tedavi edildi ve hastanın 2 yıllık takibinde rekürrens saptanmadı. Endometriozisli hastalarda pnömotoraks geliştiğinde katamenial pnömotoraks akılda bulundurulmalı, nüks gelişmesi durumunda ise videotorakoskopik cerrahi ile tanı ve tedavide başarı sağlanabileceği unutulmamalıdır.

**Anahtar Sözcükler:** Katamenial, endometriozis, nüks pnömotoraks, videotorakoskopik cerrahi.

## ABSTRACT

Endometriosis can be defined as the presence of endometrial glands and stroma outside the uterus. Pulmonary involvement of endometriosis can also be seen, and it is most frequently encountered with catamenial pneumothorax clinic. In our report, a 38-year-old woman operated due to recurrent pneumothorax is presented. In this case undergoing lung resection with Video-Assisted Thoracoscopic Surgery for the purpose of surgical treatment, lesions thought to be related to endometriosis were detected in the diaphragmatic pleura. These lesions, which caused pneumothorax, were treated with videothoracoscopic surgery and no recurrence was detected in the 2-year follow-up of the patient. Catamenial pneumothorax should be kept in mind when pneumothorax develops in patients with endometriosis, and in case of recurrence, it should not be forgotten that success in diagnosis and treatment can be achieved with videothoracoscopic surgery.

**Keywords:** Catamenial, endometriosis, recurrent pneumothorax, video-assisted thoracoscopic surgery.

## GİRİŞ

Endometriozis, uterus dışında endometrial glandlar ve stromanın bulunması olarak tanımlanır. Genellikle pelvis içi organlarda yerleşim gösterir. Ekstrapelvik yerleşimi nadir (%8,9) görülmektedir (1). Endometriozisin pulmoner tutulumu da görülebilmekte olup, öksürük, dispne, göğüs ağrısı gibi nonspesifik

semptomlarla karşımıza çıkabilir. Tanısını koymak zordur ve genellikle gecikir. Üreme çağındaki kadınlarda, menstrüasyon sırasında belirtiler şiddetlendiğinde şüphelenilmelidir. Kapsamlı bir fiziksel ve radyolojik inceleme yapmak ve anamnez (özellikle dikkatli jinekolojik anamnez) almak çok önemlidir (2).

Sorumlu yazar: Hasan Yavuz  
Ege Üniversite Tıp Fakültesi Hastanesi, Göğüs Cerrahisi  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
E-posta: [hasanyavuzdr@gmail.com](mailto:hasanyavuzdr@gmail.com)  
Başvuru tarihi: 22.04.2021 Kabul tarihi: 14.12.2021



Klinik olarak karşımıza en sık katamenial pnömotoraks şeklinde çıkar. Pnömotoraksın yanında hemotoraks, hemoptizi, pnömomediastinum, pulmoner nodül ve plevral kitle, tanımlanmış diğer klinik sonuçlardır.

Katamenial pnömotoraks, genç ve orta yaş kadınlarda çok nadir görülen bir sekonder spontan pnömotoraks tipidir. Kadınlarda görülen pnömotoraksların %3-6'sı katamenial pnömotoraks olup, genellikle sağ tarafta ve perimenstrüel 72 saat içinde görülür (3). Katamenial pnömotoraksın patofizyolojisi henüz netlik kazanmamıştır. Bu nedenle tanı ve tedavisinde zorluklar yaşanmaktadır. Çalışmamızda vezikal endometriozis nedeniyle takipli olan, pulmoner endometriozis ve buna bağlı katamenial pnömotoraks gelişen olgu ile tanı ve tedaviye yönelik yaklaşımlarımız sunuldu.

### OLGU

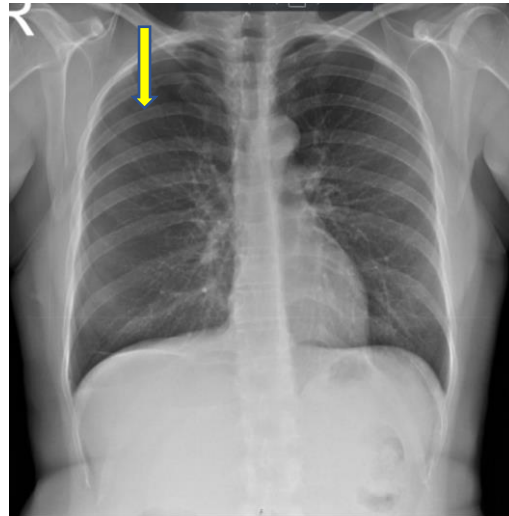
38 yaşında kadın hasta iki gündür olan göğüs ağrısı nedeniyle acil servise başvurdu. Bilinen vezikal endometriozis ve buna bağlı üretral darlık, oral kontraseptif kullanımı, ayrıca hiperlipidemi ve antihiperlipidemik ilaç kullanımı mevcut olan hastanın ilk değerlendirmede vital bulguları stabildi. Öksürük, balgam ve göğüs ağrısı tarifleyen, 20 paket yılı sigara öyküsü olan hastanın PA akciğer grafisinde sağ hemitoraksta pnömotoraks (Şekil-1a) izlenmesi üzerine acil servisten tarafımıza konsülte edildi. Tarafımızca acil serviste sağ tüp torakostomi uygulanan hasta servis izlemine alındı. 7. Günde tüp torakostomisi sonlandırılan ve kontrol grafisinde radyopatoloji saptanmayan hasta taburcu edildi.

On gün sonra poliklinik kontrolü için başvuran hastanın PA akciğer grafisinde sağ hemitoraksta nüks pnömotoraks (Şekil-1b) izlenmesi üzerine hasta için nüks spontan pnömotoraks tanısı nedeniyle videotorakoskopik cerrahi (VATS) kararı alındı.

VATS ile yapılan eksplorasyonda alt lob bazalinde çevre akciğer dokudan farklı görünümdeki şüpheli visseral plevra defekti barındıran parankimal alandan ve apikal bölgede saptanan düzensizliklerin mevcut olduğu alandan wedge rezeksiyon uygulandı. Diafragma üzerinde saptanan ve katamenial pnömotoraksa sebep olabileceği düşünülen vasküler ve mor renkli lezyonlar (Şekil-1c) üzerine ve apikal parietal plevraya abrazyon uygulandı. Postoperatif takibinde hastanın toraks dreni 6. günde sonlandırıldı. Hastanın postoperatif takibinde iki yıllık izlemde rekürrens saptanmadı.



Şekil-1a. Sağ hemitoraksta total pnömotoraksı gösteren PA akciğer radyografisi.



Şekil-1b. Sağ hemitoraksta parsiyel pnömotoraksı (nüks) gösteren PA akciğer radyografisi (ok: akciğer parankim sınırı).



Şekil-1c. Diafragmatik plevrada yer alan mor renkli lezyonlara ait torakoskopi görüntüsü (ok: diafragmatik plevral lezyon).

## TARTIŞMA

Katamenial pnömotoraksın nedenini açıklayan çeşitli teoriler ortaya konmuştur. Bir teori, adet sırasında fallop tüplerinin geçirgenliğinin artması nedeniyle havanın plevr alana girmesine izin veren diyaframdaki konjenital defektlerin (delikler, fenestrasyon) neden olduğunu belirtir. Aynı mekanizma başka bir teoride de göz önünde bulundurulmuştur, ancak diyaframdaki deliklerin sebebini endometriozis olarak açıklamıştır (4). Endometrial bez ve stromanın ektopik olarak akciğer parankimi veya plevrada görülmesi (özellikle diafragmatik yüzde) bu teoriyi destekleyen başka bir teori olarak ortaya atılmıştır. Ayırıcı tanıları arasında lenfanjiyoleiyomiyomitoz mevcut olsa da klinik, histolojik ve radyografik bulgular bu hastalıkları kolayca ayırt edebilir.

Olgumuzda tanıya yönelik özel bir yaklaşım yapılmamış, tanı 38 yaşında, pnömotoraks gelişmesi üzerine tesadüfen konmuştur. Neredeyse tüm katamenial pnömotoraks, olgumuzda olduğu gibi sağ tarafta görülür. Literatürde, nadir olarak sol taraflı ve bilateral pnömotoraks vakası görüldüğü de bildirilmiştir. Haga ve ark. (5) katamenial pnömotoraksın spontan pnömotoraksa göre farklılık gösterdiği ve tanı için yol gösterici olan 4 klinik faktör bildirmiştir. Bu faktörler sağ taraflı pnömotoraks, pelvik endometriozis öyküsü, yaş  $\geq 31$  yıl ve sigara öyküsü olmaması olup, olgumuz sigara öyküsünün olması haricinde bu faktörleri karşılamaktaydı.

Pnömotoraks, PA akciğer grafisi ile genellikle saptanır. Bazı durumlarda, pnömotoraks ile birlikte pnömooperitonium da olabilir. Bu gibi durumlarda, yüksek çözünürlüklü toraks tomografisi, durumun anlaşılmasını sağlamada daha yararlı olabilir. Ancak PA akciğer grafisi ve toraks tomografisi pnömotoraksın endometrial kökenini saptayamamaktadır. Olgumuzda da PA akciğer grafisi ve toraks tomografisinde torasik endometriozisi açıklayacak herhangi bir bulgu saptanmamıştı.

VATS, torasik endometriozis tanısında altın standarttır. Menstrüasyon sırasında yapılan VATS, diyaframın tam eksplorasyonuna izin verir ve parietal plevradaki ve akciğerdeki endometriyal nodüller ve büller gibi ektopik lezyonların görülmesini sağlar (6). Ayrıca endometriozis lezyonlarının histolojik tanısına, endometrioz nodül veya perforasyon varsa diyafram rezeksiyonuna olanak sağlar. Riquet ve

ark. (7) menstrüasyon döneminde yapılan operasyonun, diyafragmatik lezyonların teşhisi için hassasiyeti arttırdığını bildirmiştir. Olgumuzda tanı VATS ile konulmuş, ancak operasyon hastanın menstrüasyon döneminde yapılmamıştı.

Katamenial pnömotoraksta ilk tedavi, öncelikle akut semptomu tedavi etmek amacıyla plevr boşluğundaki havayı boşaltmak için tüp torakostomi uygulanmasıdır. Cerrahi tedavi seçenekleri arasında VATS ile gözle görülür bleblerin rezeksiyonu, kimyasal talk plöredex veya plörektomi ve endometriyal doku ve havanın tekrarlayan toraks içine geçişine neden olan diyafragmatik defektin kapatılması vardır. Olgumuzda VATS ile bleb rezeksiyonu ve diafragmatik defektlerin abrazyon ile kapatılması işlemi uygulanmıştı.

Katamenial pnömotoraksın nüks oranı, sadece plöredex ile tedavi edilen hastalarda diyafragmatik defektlerin kapanmasına kıyasla daha yüksektir (8). Endometriozisin histopatolojik olarak doğrulanması da zordur, literatüre göre olguların sadece 1/3'ünde histopatolojik tanı konulabilir (9). Olgumuzda rezeksiyon edilen akciğer dokusunun histopatolojik inceleme sonucu büllöz amfizem ve nonspesifik plörit olarak sonuçlandı.

Gerekli cerrahi tedavi uygulandıktan sonra nükslerin önlenmesi amacıyla overlerin hormonal veya cerrahi olarak baskılanması gerekmektedir. Olgumuz hali hazırda overlerin hormonal olarak baskılanması amacıyla OKS kullanmakta olup, birincil tedavisinin ardından ikincil tedavisi olan hormonal tedavisinin düzenlenmesi açısından jinekoloji kliniğine yönlendirildi.

## SONUÇ

Torasik endometriozisli olgularda en sık karşılaşılan klinik sonuç olan nüks katamenial pnömotoraksı tanımladık ve bu tip olgularda önemli olan tanı ve halen tartışmalı olan tedavi metodlarını anlattık. Endometriozisli kadınlarda pnömotoraks saptandığında torasik endometriozis için tanısız araştırma yapılmalıdır. Olgumuzda ilk pnömotoraks atağının tedavisi sonrası nüks gelişmesiyle birlikte yapılan VATS ile saptanan ve tedavisi uygulanan torasik endometriozis lezyonları da bu gerekliliği açıklar niteliktedir.

**Çıkar çatışması:** Çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## Kaynaklar

1. Hwang S.M., Lee C.W., Lee B.S. Clinical features of thoracic endometriosis: a single center analysis. *Obstet. Gynecol. Sci.* 2015; 58: 223–31.
2. Pankratjevaite L, Samiatina-Morkuniene D. A case report of thoracic endometriosis – A rare cause of haemothorax. *Int J Surg Case Rep.* 2017; 33: 139-42.
3. Alifano M, Venissac N, Mouroux J. Recurrent pneumothorax associated with thoracic endometriosis. *Surg Endosc.* 2000; 14: 680.
4. Elia S, De Felice L, Varvaras D, Sorrenti G, Mauriello A, Petrella G. Catamenial pneumothorax due to solitary localization of diaphragmatic endometriosis. *Int J Surg Case Rep.* 2015; 12: 19-22.
5. Haga T, Kataoka H, Ebana H, et al. Thoracic endometriosis-related pneumothorax distinguished from primary spontaneous pneumothorax in females. *Lung.* 2014; 192: 58387.
6. Hagneré P, Deswarte S, Leleu O. Endométriose thoracique: un diagnostic difficile. *Rev Mal Respir.* 2011; 28: 908–12.
7. Bagan P, Le Pimpec Barthes F, Assouad J, et al. Catamenial pneumothorax: retrospective study of surgical treatment. *Ann Thorac Surg.* 2003; 75: 378–81.
8. Shoab Z. Junejo, Sandeep Singh Lubana, Sukhdip Singh Shina and Sandeep Singh Tuli A Case of Thoracic Endometriosis Syndrome Presenting with Recurrent Catamenial Pneumothorax, *Am J Case Rep.* 2018; 19: 573–6.
9. D.J. Wood, K. Krishnam, M.J. Ward. Catamenial hemoptysis: a rare cause Thorax, 48 (1993), pp. 1048-9.

## COVID-19 olgusunda karotis arterde tromboemboli

### *Carotid arterial thromboembolism in a patient with COVID-19*

Aida Taghiyeva Celal Çınar İsmail Oran

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

#### ÖZ

Akut inme bulgularıyla hastaneye başvuran COVID-19' lu bir hastada servikal internal karotis arter ve intrakranial arteriyel yatakta (orta serebral arter M2 segmenti) akut tromboembolinin BT anjiyografi bulguları sunulmuştur.

**Anahtar Sözcükler:** COVID-19, karotis arter trombozu, bilgisayarlı tomografik anjiyografi.

#### ABSTRACT

*CT angiography findings of acute thromboembolism in the cervical internal carotid artery and intracranial arterial bed (middle cerebral artery M2 segment) in a patient with COVID-19 admitted to the hospital with signs of acute stroke are presented.*

**Keywords:** COVID-19, carotid artery thrombosis, computed tomography angiography.

#### OLGU

COVID pozitif, evde karantinada olan 56 yaşında erkek hasta ani gelişen sol yan güçsüzlüğü, ağızda kayma ve konuşma bozukluğu yakınmaları ile hastanemize getirildi. HT öyküsü olup, düzenli coraspin 100mg 1x1 kullanmaktadır. Bilinen kalp hastalığı veya ritim bozukluğu bildirilmedi. Akciğer parankim değerlendirilmesinde; bilateral akciğer parankiminde yaygın multifokal buzlu cam dansitesinde ve yer yer konsolide görünüm kazanan parankimal infiltrasyon alanları izlendi. BT-anjiyografide (BTA), sağ internal karotis arterde (IKA) serbest intraluminal trombus ve sağ orta serebral arter M2 segmentinde embolik oklüzyon izlendi. Henüz terapötik zaman penceresi içinde olduğundan, hasta Girişimsel Radyoloji tarafından acil trombektomi işlemine alındı; sağ servikal IKA içindeki serbest pıhtı ve sağ orta serebral arter M2 segmentindeki pıhtı aspire edilerek temizlendi (Şekil-1-3). İşlem sonu yoğun bakıma alınan hasta, uygun medikasyon ile takibe alındı. EKO ve holter EKG yapıldı. Kardiyoloji konsültasyonu sonucu kardiyoemboli düşünülmeyişi belirtildi. Hastanın tedavisi

coraspin 300mg 1x1, clexane 0,6 mg 1x1 şeklinde düzenlendi. Kliniği stabil seyreden hasta taburcu edildi.

Literatürdeki kanıtlar, COVID-19 hastalığında, mikro ve makro-vasküler trombotik anjiyopati ile karakterize olan hiperkoagülasyon durumunun var olduğunu göstermektedir. COVID'li hastalarda görülen D-dimer, protrombin ve fibrinojen düzeylerindeki önemli yükselme vasküler tutulumun göstergeleridir.

COVID-19 pnömonisi tanısı bulunan olgularda gelişen trombozun oluşumunda hem pıhtılaşma faktörlerinin hem de endotelyum aktivasyonunun rol aldığı görülmektedir. Enflamatuvar yol sitokinleri (tümör nekroz faktörü, interlökin [IL] -6 ve IL-1 $\beta$ ) serbest bırakırken, Von Willebrand faktörlerinin (VWF) büyük polimerlerinin salınması mikrotrombotik yolun aktivasyonuna aracılık eder. Sepsis kaynaklı endotel hasarı, trombosit aktivasyonunun artmasına ve tüketim trombositopenisine neden olur. Tipik tüketim koagülopatisi ve Dissemine İntravasküler Koagülopati (DİK) profilinin aksine, COVID-19 hastalarında nispeten normal pıhtılaşma ve trombosit profili bulunur.

Sorumlu yazar: Aida Taghiyeva  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı, İzmir,  
Türkiye  
E-posta: [aida.taghiyeva81@gmail.com](mailto:aida.taghiyeva81@gmail.com)  
Başvuru tarihi: 23.12.2020 Kabul tarihi: 14.10.2021





**Şekil-1.** Koronal kranial BTA (A) ve sağ oblik serebral DSA (B) görüntülerde, sağ MCA M2 segmentinin embolik pıhtı nedeniyle akut olarak oklüde olduğu izlenmektedir. Trombektomi sonrasında AP DSA görüntüde (C) oklüde damarın açıldığı izleniyor.



**Şekil-2.** Aksiyel (A) ve sagittal (B) BTA görüntülerde, sağ IKA servikal segmentinde serbest trombüse ait intraluminal dolum defekti izlenmektedir.



**Şekil-3.** Sağ oblik DSA görüntüde (A) servikal IKA içini dolduran trombüs izleniyor. Lateral DSA görüntüde (B) trombektomi yapıldıktan sonra IKA içindeki trombüsün tamamen temizlendiği izleniyor.

Yukarıda bahsedilen faktörlere ek olarak, bu hastalarda artmış tromboz için ek risk faktörleri vardır, bunlardan en önemlileri hipoksi ve immobilizasyondur (1-3).

COVID-19 hastalarında venöz trombotik olaylar iyi tanımlanmış olmasına rağmen, arteriyel tromboz ile ilgili veriler sınırlıdır. Yapılan araştırmada arteriyel trombotik olayların anatomik dağılımı geniş olup, sıklık sırasına göre ekstremitte arterlerinde, serebral arterlerde, büyük damarlarda (aort, ana iliak, ana karotis ve brakiosefalik trunkusda), koroner arterlerde ve superior mezenterik arterde görülebilmektedir. Bu hastalarda ölüm oranı yaklaşık % 20'dir. (1-3).

Hastaneye yatırılan COVID-19 hastalarında, klinik kontrendikasyonlar yoksa profilaktik antikoagülasyonun başlatılması tavsiye edilir.

Obezite, aktif malignite, uzun süreli hareketsizlik veya yakın zamanda geçirilmiş cerrahi tromboz gelişimi için risk faktörleridir. Yüksek d-dimer seviyeleri ile başvuran ancak tromboz şüphesi veya kanıtı olmayan hastalarda profilaktik antikoagülasyon düşünülmelidir. IV heparin ve düşük moleküler ağırlıklı subkutan heparin bu hastalarda hem profilaktik hem de terapötik olarak başarıyla kullanılmaktadır.

Bu olguda, akut inme bulgularıyla hastaneye başvuran COVID-19'lu bir hastada servikal İKA ve intrakranial arteriyel yatakta (orta serebral arter M2 segmenti) akut tromboemboli varlığı ve bunun BTA bulguları sunulmuştur.

**Çıkar çatışması;** Yoktur.

#### **Kaynaklar**

1. Mondal S, Quintili AL, Karamchandani K, Bose S. Thromboembolic disease in COVID-19 patients: A brief narrative review. J Int Care 2020; 8: 70.
2. Cheruiyot I, Kipkorir V, Ngure B, et al. Arteriel thrombosis in coronavirus disease 2019 patients: A rapid systematic review. Ann Vasc Surg 2021; 70: 273-81.
3. Bozzani A, Arici V, Tavazzi G, et al. Acute arterial and deep venous thromboembolism in COVID-19 patients: Risk factors and personalized therapy. Surgery 2020; 168 (6): 987-92.

## Extremely rare coronary artery anomaly: Left main coronary artery originating from the non-coronary sinus

*Oldukça nadir bir koroner arter anomalisi: Non-koroner sinüsten çıkan sol ana koroner arter*

Cihat Pınarcı

Selen Bayraktaroğlu

Ege University Faculty of Medicine, Department of Radiology, İzmir, Türkiye

### ABSTRACT

Although they are rare, left coronary artery anomalies can cause complications with high mortality, including arrhythmia and cardiac arrest. Left main coronary artery originates from the non-coronary sinus abnormality is rarely observed. This abnormality has been defined as a benign pathology in the past, although it is described in the literature to cause morbidity and mortality in some cases. We present very rare case of the left main coronary artery arising from non-coronary sinus detected on CCTA.

**Keywords:** Coronary artery anomaly, non-coronary sinus, computed tomography angiography, atypical chest pain.

### ÖZ

*Nadir olmasına rağmen sol koroner arter anomalileri, aritmi ve kardiyak arrest gibi yüksek mortaliteli komplikasyonlara neden olabilir. Koroner dışı sinüsten köken alan sol ana koroner arter anomalisi nadiren görülür. Bu anomali geçmişte bazı yazarlar tarafından iyi huylu bir anormallik olarak tanımlanmış olsa da literatürde bazı durumlarda morbidite ve mortaliteye neden olduğu tanımlanmıştır. Bilgisayarlı tomografi anjiyografide atipik göğüs ağrısı ile başvuran bir hastada koroner dışı kaynaklı bir sol ana koroner arter olgusunu sunuyoruz.*

**Anahtar Sözcükler** Koroner arter anomalisi, non-koroner sinüs, bilgisayarlı tomografi anjiyografi, atipik göğüs ağrısı.

### INTRODUCTION

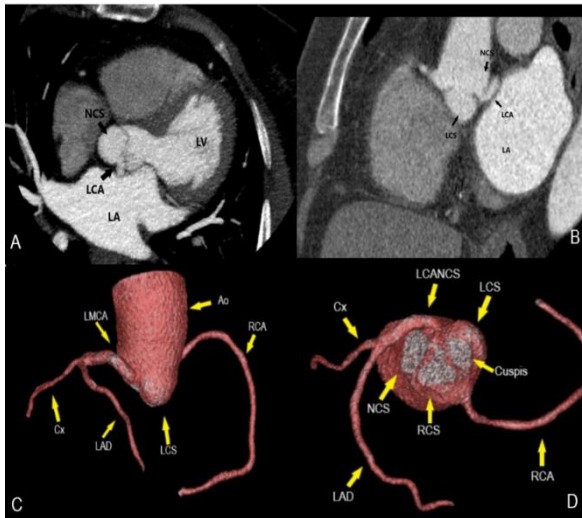
Coronary artery anomalies are rare and most of them are discovered as incidental findings (1). These anomalies are present at birth and relatively few are symptomatic (2). But some high risk factors, such as interarterial course, can cause sudden cardiac death (3). It is very important to reveal this pathology, because it can cause situations that require intervention. From this point of view, especially if findings in coronary angiography are equivocal, coronary computed tomography angiography is

recommended to show coronary artery anomalies because it is both easily accessible and non-invasive (4). We present very rare case of the left main coronary artery arising from non-coronary sinus detected in CCTA.

### CASE REPORT

A 55-year-old female patient was admitted to the hospital with complaints of atypical chest pain, dyspnea and weakness. The patient had a history of heart failure and was under treatment.

There was no family history of sudden cardiac death. Cardiac biomarkers and ECG were within normal limits. Transthoracic echocardiography was performed and it revealed aortic and mitral valve regurgitation and left ventricular diastolic dysfunction. To determine the etiology of atypical chest pain, coronary computed tomography angiography (CCTA) was performed. CCTA demonstrated that left main coronary artery was originating from left side of the non-coronary sinus (Figure-1A-D) and had a normal course and bifurcation except its origin. There was no sign of significant stenosis on coronary arteries. Since no sign of coronary artery disease or high risk factors except for anomalous origin of the left coronary artery was present, further investigations or interventions were not planned. Medical therapy of the patient was revised, yearly follow-up and life-style changing were recommended.



**Figure-1A-B:** Axial and sagittal reformat images of LCANCS

**Figure-1C-D:** 3D Volume rendering images of LCANCS (C-D). Note LCA not from Left coronary sinus.

## DISCUSSION

Coronary artery anomalies are observed in approximately in %1 of patients undergoing coronary angiography and most of them are discovered as incidental findings (1). Although coronary angiography is diagnostic and therapeutic, coronary computed tomography angiography (CCTA) is a viable noninvasive

modality and it can precisely demonstrate the origin of the coronary artery, delineate its run-off and its relationship with neighboring structures (4, 5). Anomalous origin of the left main coronary artery from the non-coronary sinus (LCANCS) is extremely rare (0.0008%) and there are small number of cases in literature (1, 6, 7). In Turkey, in a study of 10,042 adult patients (8), there is only 1 (0.009%) patient and in another study of 12,457 adult patients (2), there is not any patient has this anomaly. This anomaly has been defined as a “benign” situation in the past, although it is described in the literature to cause morbidity and mortality in some cases (6, 7, 9). Patients can be asymptomatic but in some cases, admissions with atypical chest pain, angina, sudden cardiac death and arrhythmia have been reported (7, 9). Some high-risk findings are described for anomalous origin of coronary arteries, such as interarterial and intramural course, acute take-off angle and slit-like ostium (3, 7, 9). Because of its rarity, there is no defined treatment and optimal risk-stratification schemes for LCANCS yet. However, surgical management can be applied to the patients who have risk for sudden cardiac death (7, 9). Although this abnormality is rare in adults, it is very important to recognize and indicate whether there are high risk factors for treatment and follow-up.

## CONCLUSION

We report an extremely rare case of left main coronary artery arising from non-coronary sinus. The patient presented with atypical chest pain and was managed conservatively. It is important to be aware of this rare condition that carry a potential risk of arrhythmia and cardiac death. With recent improvements in CT technology, coronary CT angiography has become gold standard in assessment of coronary anomalies. There is very little data in the literature regarding coronary CT of this anomaly. Future cases about this rare anomaly will highlight coronary CT findings and treatment approaches and will help management of patients.

**Conflict of interest:** None.

## Informed Consent

Informed consent was obtained from the patient.

## Abbreviations from Text and Media

**CCTA:** Coronary Computed Tomography Angiography

**LA:** Left Atrium

**LCA:** Left Coronary Artery

**LCANCS:** Left Coronary Artery arising From Non-Coronary Sinus

**LCS:** Left Coronary Sinus

**LV:** Left Ventricle

**NCS:** Non-Coronary Sinus

## References

1. Yamanaka O, Hobbs RE. Coronary artery anomalies in 126,595 patients undergoing coronary arteriography. *Cathet Cardiovasc Diagn.* 1990; 21 (1): 28-40.
2. Yildiz A, Okcun B, Peker T, Arslan C, Olcay A, Bulent Vatan M. Prevalence of coronary artery anomalies in 12,457 adult patients who underwent coronary angiography. *Clin Cardiol.* 2010; 33 (12): E60-4.
3. Pérez-Pomares JM, de la Pompa JL, Franco D, Henderson D, Ho SY, Houyel L et. al. Congenital coronary artery anomalies: a bridge from embryology to anatomy and pathophysiology--a position statement of the development, anatomy, and pathology ESC Working Group. *Cardiovasc Res.* 2016; 109 (2): 204-16.
4. Datta J, White CS, Gilkeson RC, Meyer CA, Kansal S, Jani ML, et. al. Anomalous coronary arteries in adults: depiction at multi-detector row CT angiography. *Radiology.* 2005; 235 (3): 812-8.
5. Barna L, Takács-Szabó Z, Kostyál L. Coronariaeredési anomáliák kardio-CT-vizsgálatok során [Anomalies of coronary origin detected by cardiac CT]. *Orv Hetil.* 2020; 161 (47):1995-9.
6. Villa AD, Sammut E, Nair A, Rajani R, Bonamini R, Chiribiri A. Coronary artery anomalies overview: The normal and the abnormal. *World J Radiol.* 2016; 8 (6): 537-55.
7. Bravo-Jaimes K, Balan P, Garcia-Sayan E. Controversies on the Cusp: Anomalous Origin of the Left Coronary Artery From the Non-Coronary Cusp. *Cureus.* 2020;12 (5):e7993.
8. Mavi A, Ayalp R, Serçelik A, Peştemalci T, Batyraliev T, Gümüşburun E. Frequency in the anomalous origin of the left main coronary artery with angiography in a Turkish population. *Acta Med Okayama.* 2004; 58 (1): 17-22.
9. Anwar S, Brook M, Mavroudis C, Hobbs R, Lorber R. Anomalous origin of the left coronary artery from the noncoronary cusp: not a benign lesion. *Pediatr Cardiol.* 2012; 33 (7): 11879.





## EGE TIP DERGİSİ Yazar Bilgi Formu

Ege Tıp Dergisi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin resmi yayın organı olup üç ayda bir yayımlanır ve Mart, Haziran, Eylül ve Aralık aylarında olmak üzere, dört sayı ile bir cilt tamamlanır. Dergi tüm tıp alanıyla ilgili güncel, nitelikli ve özgün çalışmaları yayımlamayı amaçlamaktadır.

Dergi sayfasına yüklenmiş olan başvurular dergi editörü veya onun belirlemiş olduğu bir alan editörü tarafından ön değerlendirmeye tabi tutulur. Ön değerlendirme sürecinde, uygun bulunan yazılar değerlendirme aşamasına geçirilirken, yayın koşullarına uymayan yazılar düzeltilmek üzere sorumlu yazara geri gönderilebilir, biçimce düzenlenebilir veya reddedilebilir. Değerlendirme aşamasında editör ya da alan editörü, yazıyı uygun gördüğü danışmanlara (hakemlere) incelenmek üzere gönderir. Hakemlik süreci çift kör olarak yürütülmektedir. Gerekli durumlarda, hakem ve editör görüşleri doğrultusunda sorumlu yazardan düzeltme/düzenleme yapması istenebilir. Yazardan düzeltme istenmesi, yazının yayımlanacağı anlamına gelmez. Bu düzeltmelerin en geç 21 gün içinde tamamlanıp dergiye gönderilmesi gereklidir. Sorumlu yazara yazının kabul veya reddedildiğine dair bilgi verilir.

Dergide yayımlanması kabul edilse de edilmese de sisteme yüklenmiş olan dosyalar arşivlenirler.

**Ek Sayı:** Ege Tıp Dergisi, talep olması durumunda Ek Sayı çıkarır. Ek Sayıda yer alacak olan yazıların bilimsel yönden değerlendirilmesi Ek Sayı konuk editör(lerinin)ün sorumluluğundadır. Ek Sayıda yer alacak olan yazıların hazırlanmasında derginin yazım kılavuzundaki kurallar esas alınır. Yazım kurallarına uygunluk dergi editörü ve yayın kurulunca kontrol edilir. Ek Sayı sadece elektronik olarak yayımlanır.

### Açık Erişim ve Makale İşleme

Ege Tıp Dergisi, bilimsel yayınlara açık erişim sağlar. DOI numarasının belirlenmesinin ardından elektronik olarak yayımlanan sayıya ve içeriğinde yer alan yazıların tam metinlerine ücretsiz olarak ulaşılabilir.

Yazar(lar)dan yazılarının yayımı için herhangi bir ücret talep edilmez.

Okuyucular dergi içeriğini akademik veya eğitsel kullanım amaçlı olarak ücretsiz indirebilirler. Dergi herkese, her an ücretsizdir. Bunu sağlayabilmek için dergi Ege Üniversitesi'nin mali kaynaklarından, editörlerin ve hakemlerin süregelen gönüllü çabalarından yararlanmaktadır.

### Telif Hakkı

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. Buna göre yazarlar ve okurlar; uygun biçimde atıf vermek, materyali ticari amaçlarla kullanmamak ve uyarladıklarını aynı lisansla paylaşmak koşullarına uymaları halinde eserleri kopyalayabilir, çoğaltabilir ve uyarlayabilirler. Dergide yayımlanan yazılar için telif hakkı ödenmez.

### Derginin Yazı Dili

Derginin yazı dilleri Türkçe ve İngilizcedir. Dili Türkçe olan yazılar İngilizce "abstract" ile, dili İngilizce olan yazılar da Türkçe özetleri ile yer alırlar. Öz ve "Abstract" bölümleri bire bir çevirileri şeklinde yer almalıdır. 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)) yararlanılması önerilir. Dili İngilizce olan yazıların mutlaka yazım ve dilbilgisi açısından yeterliliklerinin kontrol edilmiş olması gereklidir. Dil açısından yetersiz görülen yazılar değerlendirmeye alınmazlar.

### Yazarlık Kriterleri

Makalenin dergi sayfasına yüklenmesi sırasında, tüm yazarların adı, soyadı, ORCID numaraları ve tarih bilgisi ile ıslak imzalarının bulunduğu "Yayın Hakkı Devir Formu" ile yazarlık kriterlerinin

açıklandığı ve yazar katkılarının belirtildiği “Yazar Katkı Formu”nun doldurularak yüklenmesi zorunludur.

Ege Tıp Dergisi, Uluslararası Tıp Dergileri Editörleri Kurulu'nun (*International Committee of Medical Journal Editors*) standartlarını uygulamayı kabul etmiştir. Yazarlar “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*)”daki yazarlık kriterlerini karşılamalıdır. Bu konudaki bilgiye [www.icjme.org](http://www.icjme.org) adresinden ulaşılabilir.

### **Etik Sorumluluk**

Ege Tıp Dergisi, etik ve bilimsel standartlara uygun yazıları yayımlar. Dergide yayımlanan yazıların etik, bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazar(lar)a ait olup editör ve yayın kurulu üyelerinin görüşlerini yansıtmaz.

Deneysel hayvanlar ile yapılan çalışmalar dahil, tüm prospektif ve gerek görülen retrospektif çalışmalar için Etik Kurul Onayı alınmalı ve yazının “Gereç ve Yöntem” bölümünde Etik Kurul Onayının numarası ile birlikte alındığı tarih (gün-ay-yıl) belirtilmelidir. Hastanın mahremiyetinin korunmasının gerektiği tüm yazılarda etik ve yasal kurallar gereği, 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”** cümlesinin “Gereç ve Yöntem” bölümünde (Gereç ve Yöntem bölümü olmayan yazılarda Giriş bölümünün sonuna) belirtilmesi gereklidir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda uluslararası etik kurallara uygunluğu gösteren komite onayı ilgili hayvan etik kurulundan alınmalıdır. Etik kurul onayı yanı sıra hayvanlara ağrı, acı ve rahatsızlık verilmemesi için yapılanlar açık olarak makalede belirtilmelidir (Bilgi için: [www.nap.edu/catalog/5140.html](http://www.nap.edu/catalog/5140.html)).

Dergide yayımlanmak üzere gönderilen yazıların daha önce başka bir yerde yayımlanmamış veya yayımlanmak üzere gönderilmemiş olması gerekir. Daha önce kongrelerde sunulmuş çalışmaların Editöre gönderilen Ön Yazıda belirtilmesi gerekir. Makale, yazar(lar)ın daha önce yayımlanmış bir yazısındaki konuların bir kısmını içeriyorsa, bu durumun da Ön Yazıda belirtilmesi ve yeni başvuru dosyaları ile birlikte önceki makalenin bir kopyasının da dergi sayfasına yüklenmesi gereklidir.

Yazarlık kriterlerini karşılamayan ancak çalışmaya katkısı olan kişi, kurum veya kuruluşların isimlerine “Teşekkür” bölümünde yer verilebilir.

**Çıkar çatışması:** Çalışmaları ile ilgili taraf olabilecek tüm kişisel ve finansal ilişkilerin bildirilmesinden yazarlar sorumludur. Ticari bağlantı veya çalışma için maddi destek veren kurum(lar) varlığında kullanılan ticari ürün, ilaç, firma vb. ile nasıl bir ilişkinin olduğu veya herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığı Çıkar Çatışması Formu'na doldurularak sisteme yüklenmeli ve metinde “Çıkar Çatışması” bölümünde belirtilmelidir. Çıkar çatışması formu <http://icmje.org/conflicts-of-interest/> adresinden edinilmelidir.

**İntihal taraması:** Ege Tıp Dergisi hiçbir şekilde intihale izin vermemektedir. Bu nedenle, dergiye gönderilen tüm yazılar ön değerlendirme sürecinde intihal tarama programı (*iThenticate* ve benzerleri) ile en az bir kez taranır. Belirlenen oranın üzerinde benzeşime sahip yazılar değerlendirmeye alınmadan yazara iade edilir.

### **YAZI TÜRLERİ**

Yazılar, elektronik ortamda [egetipdergisi.com.tr](http://egetipdergisi.com.tr) veya [dergipark.gov.tr/etd](http://dergipark.gov.tr/etd) adreslerinden birisi ile sisteme giriş yapılarak gönderilebilir. Yazı türlerinin içermesi gereken bölümler ile ilgili bilgilere “Yazının Hazırlanması” başlığı altında yer verilmiştir.

**Araştırma Makalesi,** yeni bilgiler içeren ve güncel konularda yapılmış olan orijinal çalışmaları tanımlar. Bu çalışmalar randomize kontrollü, gözlemsel, tanımlayıcı, teşhis veya tedavi doğrulayıcı, klinik, deneysel veya deney hayvanları ile yapılmış olabilirler. Kaynaklar, Öz-Abstract bölümleri ve Tablo/Şekil açıklamaları hariç, ana metin 3000 sözcük sayısını aşmamalıdır.



**Olgu Sunumu**, okuyucular için önemli olabilecek yeni bir bulgu veya nadir ve ilginç vaka veya durumları, tanı veya tedavi ile ilgili bir yaklaşımı içermelidir. En fazla beş yazar, Kaynaklar listesi hariç, 1000 sözcük ve 10 kaynak ile sınırlıdır. Sadece bir tablo ya da bir şekil ile desteklenebilir.

**Klinik Görüntü**, eğitsel önemi olduğu düşünülen, orijinal, ilginç ve yüksek kaliteli görüntü içermelidir. En fazla beş yazar, beş kaynak ve bir şekil (fotoğraf, görüntü, çizim, grafik vb.) içerebilir. Kaynaklar listesi hariç 500 kelimeyi geçmemeli, şekil alt yazısı 100 kelimeyi aşmamalıdır.

**Teknik Not**, eğitim, araştırma, tanı veya tedavi amaçlı gerçekleştirilmiş olan yeni ve orijinal bir uygulamayı, tekniği, alet veya cihazı tarif etmelidir. En fazla beş yazar, beş kaynak ve bir şekil (fotoğraf, görüntü, çizim, grafik vb.) veya tablo içerebilir. Kaynaklar listesi hariç 500 kelimeyi geçmemeli, şekil (varsa) alt yazısı veya tablo (varsa) açıklaması 50 kelimeyi aşmamalıdır.

**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.

**Davetli Derleme Yazıları**, Yayın Kurulunun daveti üzerine, tıpta özellikli konuların kapsamlı değerlendirmelerini içeren, konusunda deneyimli ve yetkin yazarların yazdığı derlemelerdir. Derleme yazıları da derginin değerlendirme sürecinden geçirilir. Kaynaklar, tablo ve şekil alt yazıları hariç 5000 kelimeyi geçmemelidir. En fazla beş yazar ve 80 kaynak ile sınırlıdır. Davetli yazılar dışında derleme yazıları kabul edilmez.

## YAZININ HAZIRLANMASI

Ege Tıp Dergisine gönderilen tüm yazılar aşağıdaki kurallara uygun olarak hazırlanmalıdır.

### Genel biçim

- Metin iki satır aralıklı olarak Arial 10 punto ile yazılmalıdır,
- Sayfa kenar boşlukları 2,5 cm olmalıdır,
- Sayfalar başlık sayfasından başlamak üzere, sağ üst köşesinden numaralandırılmalı ve satır numaraları eklenmelidir (Microsoft Office Word™ - Düzen - Satır numaraları - Sürekli)
- Kısaltmalar, metinde ilk olarak açık şekliyle yazılmış olanı takiben, yuvarlak parantez içinde yazılmalı ve tüm metin boyunca kısaltma aynı şekilde kullanılmalıdır. Başlık ve Öz bölümünde kısaltma kullanmaktan kaçınılmalı, metin içinde de gereksiz kısaltma kullanılmamasına özen gösterilmelidir. Cümleler kısaltma ile başlatılmamalıdır.
- Ana metin içerisinde belirtilen ürün (ilaç, cihaz, donanım veya yazılım vb.), ürünün adını takiben, üretici şirketin adı, şehri ve ülkesi parantez içinde yazılmalıdır. Örnek: Discovery St PET / CT tarayıcı (General Electric, Milwaukee, WI, ABD).
- Tüm ölçümlerin birimleri metrik sisteme (Uluslararası Birimler Sistemi, SI) göre yazılmalıdır. Örnek: mg/kg, µg/kg, mL/min, µL/h, mmHg, vb. Ölçümler ve istatistiksel veriler, cümle başında olmadıkları sürece rakamla belirtilmelidir.
- Eğer varsa, uygulanan istatistiksel yöntem, Gereç ve Yöntem bölümünde belirtilmelidir.
- Herhangi bir birimi ifade etmeyen ve 10'dan küçük sayılar ile cümle başında yer verilen sayılar yazı ile yazılmalıdır. Ondalık sayılar tam sayıdan Türkçe metinlerde virgül ile, İngilizce metinlerde nokta ile ayrılmalıdır.
- İlgili yazı, yazı türüne göre tarif edilmiş olan bölümler şeklinde hazırlanmış olmalıdır.

### Ön Yazı

Editöre hitaben yazının başlığı, yazı türü, ilgili yazının neden Ege Tıp Dergisinde yayımlanması gerektiğini özetleyen kısa bir açıklama ile sorumlu yazar belirtilerek tüm yazarların adı-soyadı, ORCID numarası, kurum ve iletişim bilgileri (telefon, e-posta ve posta adresleri) yazılmalıdır. Yazının daha önce başka bir yerde yayımlanmadığına veya yayımlanmak üzere gönderilmediğine dair yazılı ifade içermelidir. Ege Tıp Dergisi başka bir dilde dahi olsa daha önce yayımlanmış, kabul edilmiş veya değerlendirme aşamasında olan hiçbir yazıyı yayımlamayı kabul etmemektedir. Yazı yazar(lar)ın daha

önce yayımlanmış bir yazısındaki konuların bir kısmını içeriyorsa, bu durumun da ön yazıda belirtilmelidir.

Daha önce bilimsel bir toplantıda sözlü veya poster bildiri şeklinde sunulmuş olan yazılar, sunumun gerçekleştirildiği toplantı ile ilgili bilgiler (tarih, yer, toplantının ismi) olacak şekilde Ön Yazıda belirtilmeli, Öz bölümünün sonuna da not olarak yazılmalıdır.

### **Ana Metin**

Sisteme yüklenen Microsoft Office Word™ formatındaki ana metin dosyasında yazarlara ait isim ve kurum bilgileri yer almamalıdır. Ana metin yazı türüne göre aşağıdaki bölümlerden oluşmalıdır:

- Araştırma Makalesi: Türkçe başlık, Öz ve Anahtar Sözcükler / İngilizce başlık, *Abstract* ve *Keywords* / Giriş / Gereç ve Yöntem / Bulgular / Tartışma / Sonuç / Çıkar Çatışması / Teşekkür (varsa) / Kaynaklar / Tablolar (başlıkları ve açıklamalarıyla beraber) / Şekil Alt Yazıları.

- Olgu Sunumu: Türkçe başlık, Öz ve Anahtar Sözcükler / İngilizce başlık, *Abstract* ve *Keywords* / Giriş / Olgu Sunumu / Tartışma / Sonuç / Çıkar Çatışması / Kaynaklar / Tablo (başlıkları ve açıklamalarıyla beraber) / Şekil Alt Yazısı.

- Klinik Görüntü: Türkçe başlık / İngilizce başlık / Olgu / Çıkar Çatışması / Teşekkür (varsa) / Kaynaklar / Şekil Alt Yazısı.

- Teknik Not: Türkçe başlık / İngilizce başlık / Teknik not / Çıkar Çatışması / Teşekkür (varsa) / Kaynaklar / Tablo (başlıkları ve açıklamalarıyla beraber) (varsa) / Şekil Alt Yazısı (varsa).

### **Yazının Başlığı**

Kısa, kolay anlaşılır ve yazının içeriğini tanımlar özellikte, kısaltma içermeyecek şekilde Türkçe ve İngilizce olarak yazılmalıdır.

### **Özler**

Türkçe (Öz) ve İngilizce (*Abstract*) başlığı altında yazılmalıdır. Araştırma Makalelerinde 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. Öz metninde kaynak numarası ve mümkün olduğunca kısaltma kullanılmamalıdır. Olgu Sunumlarında bölümlere ayrılmamalı ve 200 sözcüğü aşmamalıdır. Klinik Görüntü, Teknik Not ve Editöre Mektup için öz gerekmemektedir.

### **Anahtar Sözcükler**

Öz (*Abstract*) bölümünün sonunda, Anahtar Sözcükler (*Keywords*) başlığı altında, bilimsel yazının ana başlıklarını yakalayan, *Index Medicus Medical Subject Headings (MeSH)*'e uygun olarak yazılmış en az üç, en fazla beş anahtar sözcük olmalıdır. Türkçe anahtar sözcüklerin, Türkiye Bilim Terimlerinden ([www.bilimterimleri.com](http://www.bilimterimleri.com)) seçilmesine özen gösterilmelidir.

### **Metin**

Yazı metni, yazının türüne göre yukarıda tanımlanan bölümlerden oluşmalıdır.

### **Kaynaklar**

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

Kaynaklar metinde, tablo açıklamaları ve şekil alt yazılarında yer aldıkları sırayla, cümle içinde atıfta bulunulan ad ya da cümle bitiminde, noktadan önce yuvarlak parantez “( )” içinde, Arabik rakamlarla numaralandırılmalıdır. Birden fazla kaynak numarasının belirtilmesi durumunda rakamlar birbirlerinden virgül ve bir boşluk bırakılarak ayrılmalı ardışık ikiden fazla rakam olması durumunda en küçük ve en büyük rakamlar arasına tire işareti konarak yazılmalıdır. Örnekler: (2, 5, 7); (3-7).

Dergi isimleri, *Index Medicus (PUBMED)*'de kullanıldığı şekilde 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 “*ve ark.*” yazılmalıdır. Kaynak gösterilen derginin sayı ve cilt numarası mutlaka yazılmalıdır. Sayfa numaraları yazılırken başlangıç ve bitiş sayfa sayılarının sadece değişen basamakları yazılmalıdır. Örnekler: 45-48 yerine 45-8, 219-222 yerine 219-22.

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.

#### *Erken görünümde (E-pub) 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)

### **Tablolar**

Tablolar metni tamamlayıcı olmalı, metin içerisinde tekrarlanan bilgiler içermemelidir. Metinde yer alma sıralarına göre Arabik sayılarla numaralandırılıp isimlendirilmelidir (örnek: Tablo-1). Tablonun üstüne tablo ismini takip eden kısa ve açıklayıcı bir başlık yazılmalıdır. Tabloda yer alan kısaltmalar, tablonun hemen altında açıklanmalıdır. Dipnotlarda sırasıyla şu semboller kullanılabilir: \*, †, ‡, §, ¶.

### **Şekiller**

Çizim, resim, grafik ve fotoğrafların tümü “Şekil” olarak adlandırılmalı ve ayrı birer dosya olarak (.jpg, .png, .tif vb., en az 300 dpi çözünürlükte) sisteme eklenmelidir. Şekil dosyaları yüksek çözünürlükte ve iyi kalitede olmalıdır. Şekiller metin içinde kullanım sıralarına göre parantez içinde Arabik rakamla numaralandırılmalıdır (örnek: Şekil-1).

### **Şekil Alt Yazıları**

Şekil alt yazıları, 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, bunu belgelemesi ve alt yazıda belirtmesi gerekir.

### **Ölçümler ve Kısaltmalar**

Yazının hazırlanması bölümünde “Genel biçim” başlığı altında açıklanmıştır.

### **Başvuruda Yüklenecek Belgeler**

- Ön Yazı
- Ana Metin
- Yayın Hakkı Devir Formu
- Yazar Katkı Formu
- Çıkar Çatışması Formu
- Şekil(ler)

### **REVİZYONLAR**

Yazarlar makalelerinin revizyon dosyalarını gönderirken ana metin üzerindeki değişiklikleri işaretlemeli, ek olarak hakemler tarafından belirtilen önerilerle ilgili notlarını "Hakemlere Yanıt" dosyasından göndermelidir. Bu dosyada her hakemin yorumunun ardından yazarın yanıtı gelmeli ve makalede değişikliklerin yapıldığı yer de belirtilmelidir. Revize makaleler karar yazısını takip eden 21 gün içinde dergiye gönderilmelidir.



## EGE JOURNAL OF MEDICINE

### Information for Authors

Ege Journal of Medicine is the official journal of Ege University Faculty of Medicine with four issues published quarterly in March, June, September and December to complete a volume. Its purpose is to publish high-quality original clinical and experimental studies in all fields of medicine.

Manuscripts submitted to the journal web site will be pre-evaluated by the editor-in-chief or an editor. The submissions found suitable at the pre-evaluation stage will proceed to the evaluation stage, while manuscripts not conforming to the submission guidelines will either be returned to the responsible author for correction or might be re-formatted or rejected. During the evaluation stage, the editor-in-chief or editor will invite relevant experts (reviewers) of the field to review the manuscript. The review process is conducted as double blind. When required, the responsible author might be requested to make revisions according to the suggestions by the reviewers and editor. A request to revise the manuscript does not mean that the article will be published. Revised manuscripts are required to be sent to the Editorial Office within 21 days. The responsible author will be informed on whether the article is accepted or rejected.

Whether accepted for publication or not, all manuscripts submitted to the system will be kept in the archive.

**Supplement:** If requested, Ege Journal of Medicine publishes Supplements. The scientific evaluation of the manuscripts that will be published in the Supplement is under the responsibility of the guest editor(s) of the Supplement. The manuscripts of the Supplement should be prepared according to the author guidelines of the journal. Conformity to the guidelines will be checked by the editor-in-chief or editorial board of the journal. The Supplements will be published only electronically.

#### **Open Access and Article Processing**

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 journal contents 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.

#### **Copyright**

Ege Journal of Medicine enables the sharing of articles according to the Attribution-Non-Commercial-Share Alike 4.0 International (CC BY-NC-SA 4.0) license. Thus, the authors and readers can copy, multiply and adapt the published work under the conditions of citing the material appropriately, not using the material for commercial purposes and to share what they have adapted with the same license. Copyright fee is not paid for the articles published in the journal.

#### **Language of the Journal**

The official languages of the Journal are Turkish and English. The manuscripts written in Turkish have also abstracts in English, and the articles in English have also abstracts in Turkish. The Turkish and English abstracts should be literal translations of each other. When preparing manuscripts, the Turkish Language Institution ([www.tdk.gov.tr](http://www.tdk.gov.tr)) is advised for consulting Turkish words and Turkish Medical Terminology ([www.tipterimleri.com](http://www.tipterimleri.com)) for technical terms. Manuscripts in English must absolutely be checked for spelling and grammar. Manuscripts considered insufficient in language will not be considered for evaluation.

#### **Authorship Criteria**

A "Copyright Transfer Form" including all authors' names, surnames, ORCID numbers, date and signatures should be uploaded to the journal's web site during manuscript submission. 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. The ethical, scientific and legal responsibilities of the articles published in the journal belong to the author(s) and do not reflect the opinions of the editorial board members.

For all prospective studies including animal studies, Ethics Committee approval should be obtained and reported in the manuscript's Materials and Methods section with its number and date. 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 the statement: "**Written informed consent was obtained from the patient (or from his/her legal custodian) for publishing the individual medical records.**" in the Materials and Methods section (for articles that do not have "Materials and Methods" section, at the end of the "Introduction" section). 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 institutional ethical review board.

The Journal will not consider manuscripts any that have been published elsewhere, or are being considered for publication or are in press. Studies previously presented at 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 in the Cover Letter by the authors.

The names of the persons, facilities or institutions who have contributed to the study but who do not meet authorship criteria may be stated in the Acknowledgements section.

**Conflicts of interest:** Note also that for publishing purposes, the Journal requires acknowledgement of any potential conflicts of interest. Any conflict of interest should be filled in the COI form and uploaded and stated in the Conflict of Interest section. 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, should be mentioned. The Conflict of Interest form should be obtained from <http://icmje.org/conflicts-of-interest/>.

**Screening for plagiarism:** Any type of plagiarism is not acceptable for Ege Journal of Medicine. Thus, all new submissions to the journal are screened using plagiarism checker softwares (*iThenticate* etc) at least once during the pre-evaluation process. Texts having a higher ratio of similarity than a determined value will be returned to the author without further evaluation.

### **TYPES OF MANUSCRIPT**

Manuscripts should be submitted online via the journal's website at either [egetipdergisi.com.tr](http://egetipdergisi.com.tr) or [dergipark.gov.tr/etd](http://dergipark.gov.tr/etd).

**Original Articles** comprise original research reporting new information on contemporary issues. These studies might be randomized controlled, observational, descriptive, methodological, clinical, experimental or animal studies. They should not exceed 3000 words excluding the abstracts and table/figure captions.

**Case Reports** should present an important finding, or rare, interesting case or condition or a novel approach to diagnosis or treatment. They should have a maximum of five authors and should not exceed 1000 words excluding the references and have at most 10 references. It may be accompanied by one figure or one table.

**Clinical Image** should include a high quality original and interesting image considered as valuable for education. It should have at most five authors, five references and a figure (photography, image,

drawing, graphic, etc.). It should not exceed 500 words excluding the references and the figure caption should not exceed 100 words.

**Technical Note** should describe a new and original application, technique, tool or device developed for educational, research, diagnostic or curative purposes. It should have at most five authors, five references and a figure (photography, image, drawing, graphic, etc.) or a table. It should not exceed 500 words excluding the references and if present, the figure or table caption should not exceed 50 words.

**Letter to the Editor** should not exceed 500 words. Short relevant comments on published articles, 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 the right to reply.

**Invited Reviews** are written on the invitation of the Editorial Board, on comprehensive evaluations of specific medical topics. Invitations are sent to experienced and competent experts of the field. Reviews will also be evaluated through the peer review procedure of the journal. They should not exceed 5000 words excluding the references, table and figure captions. They might have at most five authors and 80 references. Reviews other than invited papers are not accepted.

## **PREPARATION OF MANUSCRIPTS**

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

### **General format**

- a- The text should be doubled-spaced and typed in Arial 10 points,
- b- Page margin width should be 2.5 cm,
- c- All pages should be numbered consecutively in the top right-hand corner and line numbers must be added beginning with the title page.
- d- Abbreviations should first be stated openly, followed by the abbreviation in () brackets and the same abbreviation should be used throughout the text. Abbreviations should be avoided in the Title and Abstract and care should be given to prevent unnecessary abbreviations. Sentences should not start with abbreviations.
- e- Products (drug, device, hardware or software etc.) mentioned in the main text should be presented as product name followed by manufacturer, city and country in brackets. E.g. Discovery St PET / CT scanner (General Electric, Milwaukee, WI, ABD).
- f- All measure units should be according to the metric system (International System of Units, SI). E.g. mg/kg, µg/kg, mL/min, µL/h, mmHg etc. Measures and statistical data should be presented with numbers unless at the beginning of the sentence.
- g- If applied, the statistical methods should be stated in the Materials and Methods section.
- h- All numbers smaller than 10 not representing a unit should be written as words. Decimals should be separated by points in English texts and by commas in Turkish texts.
- i- The text should be organized under the headings described for the relevant types of manuscript.

### **Cover Letter**

The editor should be informed with the title of the manuscript, type of the manuscript, a brief description on the reasons why the relevant submission should be published in Ege Journal of Medicine, along with the responsible author stated, and all authors' names, ORCID numbers, institutions and contact information (phone numbers, e-mail and s-mail addresses) provided. A statement assuring that the manuscript is not submitted, accepted or published elsewhere should be written. Even though its language is might be different, Ege Journal of Medicine does not accept manuscripts published or accepted elsewhere.

Studies previously presented as an oral or poster presentation at a scientific meeting should include information about this meeting (date, place and name of the meeting) in the Cover Letter. This information should also be written as a note at the end of the abstract.

## **Main Text**

The title page of the main text (comprising only the Turkish and English titles of the manuscript) submitted in Microsoft Office Word™ format should not include the names and institutions of the authors. The main text should have the following sections, according to the type of the manuscript:

- Original Articles: Turkish title, abstract and keywords / English title, abstract and keywords / Introduction / Materials and Methods / Results / Discussion / Conclusion / Conflict of Interest / (if present) Acknowledgements / References / Tables (with captions and notes) / Figure captions.

- Case Reports: Turkish title, abstract and keywords / English title, abstract and keywords / Introduction / Case Report / Discussion / Conclusion / Conflict of Interest / (if present) Acknowledgements / References / Tables (with captions and notes) / Figure captions.

- Clinical Image: Turkish title / English title / Case / Conflict of Interest / References / Figure captions.

- Technical Note: Turkish title / English title / Technical note / Conflict of Interest / (if present) Acknowledgements / References / Tables (with captions and notes) / Figure captions.

## **Title**

The title should be short, easy to understand and must define the contents of the article and should be written both in Turkish and English.

## **Abstracts**

Abstract should be in both English and Turkish and should consist "Aim, Materials and Methods, Results and Conclusion" in original articles. 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. In Case Reports abstracts should not be divided into sections and do not exceed 200 words. Clinical Image, Technical Note and Letter to the Editor are not required abstracts.

## **Keywords**

At least three and at most 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 <https://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>

## **Text**

Authors should use subheadings to divide sections regarding the type of the manuscript as described above.

## **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 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 files (.jpg, .png, .tif etc., at least 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.

## **Documents to be uploaded:**

- Cover letter
- Main Text
- Copyright Transfer Form
- Author Contribution Form
- Conflict of Interest Form
- Figure (s)

## **REVISIONS**

Authors should mark the changes in the main text when submitting revision files of their manuscripts. A separate text (Response to Reviewers) including the author's response for each reviewer's comment and indications where the changes were made should be written. Revised articles should be sent to the journal within 21 days following the decision.

## **Editorial Correspondence**

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayın Bürosu

Bornova, 35100, Izmir, Turkey

Tel : +90 232 3903103 / 232 3903186

E-mail : [egedergisi35@gmail.com](mailto:egedergisi35@gmail.com)

Website : [egetipdergisi.com.tr/](http://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*	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*	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>.

