

Çukurova Üniversitesi

# SAĞLIK BİLİMLERİ DERGİSİ

Çukurova University Journal of Health Sciences



Cilt: 19

Sayı: 2-3

Yıl: 2003

ISSN 1300 - 4719

Çukurova Üniversitesi

# SAĞLIK BİLİMLERİ DERGİSİ

Çukurova University Journal of Health Sciences



**CİLT:19**

**SAYI:2-3**

**YIL:2003**

**ISSN 1300-4719**

## **EDİTÖR**

Prof.Dr.Nuran ÖĞÜLENER

## **EDİTÖR YARDIMCILARI**

Prof.Dr.Ufuk METE

Prof.Dr.Handan ZEREN

Prof.Dr.Tamer TETİKER

Prof.Dr.Fügen YARKIN

Prof.Dr.Osman DEMİRHAN

Prof.Dr.Gülhal BOZKIR

Doç.Dr.Emin ESEN

Doç.Dr.Emine BABAR MELİKOV

## **SAHİBİ**

Ç.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Adına

Prof.Dr.Sait POLAT

Müdür

**DÖRT AYDA BİR ÇIKAR**

## **YAZIŞMA ADRESİ:**

Ç.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Yayın ve Dökümantasyon

Kurulu Başkanlığı

“Sağlık Bilimleri Dergisi”

01330 Balcalı-ADANA

e.mail: [sagbile@mail.cu.edu.tr](mailto:sagbile@mail.cu.edu.tr)

**EDİTÖR**  
Nuran ÖGÜLENER

**EDİTÖR YARDIMCILARI**

Ufuk METE  
Handan ZEREN  
Tamer TETİKER  
Fügen YARKIN  
Osman DEMİRHAN  
Gülhal BOZKIR  
Emin ESEN  
Emine BABAR MELİKOV

**YAZI İNCELEME KURULU(\*)**

Aynur ACAR  
Caner AÇIKADA  
Işık AKGÜN  
Ayşe AKIN  
Atilla AKKOÇLU  
Tekin AKPOLAT  
Doğan AKŞİT  
Ekrem AKTAŞ  
Firdevs AKTAŞ  
Fadıl AKYOL  
Gülseren ARAZ  
Mehmet AVCI  
Cengiz BAÇA  
Ali BAKI  
Nurettin BAŞARAN  
İrfan BATAT  
Can BAYDINÇ  
Kemal BAYSAL  
Kadir BIBEROĞLU  
Tufan BİLGİN  
Erhan BİLİR  
Cengiz BAYÇU  
Yurdagül CANBERK  
Peyami CİNAZ  
Şengül ÇELEBİ  
Peruze ÇELENK  
Hasan ÇOLAK  
Atınç ÇOLTU  
Hakkı DALÇIK  
Nilgün DALDAL  
Alp DEMİRELLER  
Necdet DOĞAN  
Eker DOĞANAFŞARGİL

Hatice DURAK  
Fitnat DİNGER  
Nuran ELMACI  
Ayhan ENACAR  
Hüseyin ENDOĞRU  
Yıldız ERHAN  
Raif ERİŞEN  
Ahmet GÖĞÜŞ  
Süleyman GÖRPELİOĞLU  
Sevgi GÖZDAŞOĞLU  
Mustafa GÜLEÇ  
Gülray GÜLLÜLÜ  
Saadet GÜMÜŞLÜ  
Nimet GÜNDOĞAN  
Hikmet Günay GÜNDOĞAN  
Orhan GÜVEN  
Bilge GÖNÜL  
Süleyman GÖRPELİOĞLU  
Vedat HAMURYUDAN  
Savaş HATİPOĞLU  
Pekçan HIRGAN  
Süleyha HİLMİOĞLU  
Sami HİZMETLİ  
Atif İNANICI  
Ramazan KAHVECI  
Beki KAN  
Giray KARALEŞLİ  
Mustafa KARACAGİL  
Aydanur KARGI  
Hilmi KANSU  
Kamer KILIÇ  
Burhan KIRAN  
Mehmet KIYAN

Füsun Öztürk KUTER  
İrfan KUTLAR  
Sermet KOÇ  
Turgut KÖKSEL  
Hülya KÖPRÜLÜ  
Güven LÜLECI  
Aydın Eren MEMİŞOĞLU  
Oktay MUTAF  
Rüstem NURTEN  
Rahime NOHUTÇU  
Taner ONAT  
Fahrettin OKSEL  
Nezihi OYGUR  
Kemal ÖDEV  
Yaman ÖRS  
Ahmet ÖZBİLGİN  
Gönen ÖZCAN  
Kazım ÖZDAMAR  
Servet ÖZGÜR  
Baria ÖZTAŞ  
Süleyman ÖZYALÇIN  
Serpil SALAÇIN  
Yıldız SARAÇLAR  
Işık SAYIN  
Gülhandame SAYGI  
Cahide SOYDAŞ  
Kadir SÜMBÜLOĞLU  
Bülent SÜMERKAN  
Vesile SEPİCI  
Erdal ŞAHİN  
İzzet ŞAHİN  
Mehmet ŞEN  
Hakan ŞENTÜRK

Halit ŐİMŐEK  
Ferda TAŐAR  
Ferhan TEZCAN  
Bilgin TİMURALP  
Belma TURAN  
Uęur Tarık TURAęLAR  
Murat TURGAY  
Emel TUMBAY

Kamil TOKER  
Őemsettin USTAęELEBI  
Halis ÜNLÜ  
İlhami ÜNLÜOęLU  
Necdet ÜNÜVAR  
Rana VAROL  
Feridun VURAL  
Faruk YAęCI

Mehmet YILDIRIM  
Nilgün YILDIRIM  
Örtgün YILDIRIM  
Nurřen YORDAM  
Ayřen YÜCEL

---

(\*) Çukurova Üniversitesi Öğretim Üyeleri Yazı İnceleme Kurulumuzun doğal üyeleridir.

## YAZARLARA AÇIKLAMA

1. "Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi" Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünün yayın organıdır. Dergide; özgün araştırma, olgu sunumları, ön çalışma, teknik not, editöre mektup, Yüksek Lisans ve Doktora tez özetleri, kitap özetleri ve Enstitü haberleri Türkçe veya İngilizce yayımlanır.

2. Dergi dört ayda bir çıkar ve üç sayıda tamamlanır.

3. Dergide yayınlanmak üzere gönderilen yazılar, bir başka dergide yayınlanmamış veya yayınlanmak üzere gönderilmemiş olmalıdır. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi'nde yayınlanan yazıların telif hakkı dergiye ait olup başka bir yerde yayınlanamaz.

4. Orijinal yazılar 15, kısa deneysel raporlar 5 daktilo sayfasını geçmeyecek şekilde derlenmelidir. Metin A4 (fotokopi) kağıdının bir yüzüne, iki aralıkla IBM uyumlu bir bilgisayarda (tercihen **Microsoft Word** programı ile) Arial 11 boyut büyüklüğünde yazılmalı, sol ve sağda 2,5, üst ve altta 3'er cm boşluk bırakılmalıdır. Yazılar dört nüsha olarak (ve ayrıca disket veya internet ile **.doc** ve **grafik file**'leri olarak) gönderilmelidir.

5. Yabancı dilde yazılan makaleler için Türkçe başlık, Türkçe özet ve Türkçe anahtar sözcükler yer almalıdır.

6. Yayınlanan yazıların sorumluluğu yazarlara aittir.

### 1. Başlık:

\* Başlık : Kısa ve öz olmalı

\* Kısaltılmış başlık (ayrıca yazılmalı).

\*Yazarlar ve çalışmanın yapıldığı merkez,dergiye gönderildiği tarih. ,

### 2. Özetler:

\* Türkçe özet.

\* Türkçe anahtar sözcükler.

\* Çalışmanın İngilizce başlığı ve İngilizce özeti (abstract).

\* İngilizce anahtar sözcükler (Key words).

Anahtar sözcük sayısı beşi geçmemelidir. Türkçe ve İngilizce özetler, en az 100, en fazla 150

sözcükten oluşmalı ve aşağıdaki bilgileri içermelidir:

\* Çalışmanın amacı.

\* Kullanılan gereçler ve uygulanan yöntemler.

\* Bulgular.

\* Sonuç.

### 3. Ana Metin:

Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma ve Sonuç.

\* Kaynaklar: Metin içinde geçiş sırasına göre numaralandırılmalı, üst indis şekilde gösterilmeli ve kaynaklar bölümünde bu numaraya göre sıralanmalıdır. Kaynak vermede "*Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü TEZ YAZIM KLAVUZU*" nda belirtilen kurallar geçerlidir (Bkz.<http://sbe.cu.edu.tr/>).

\* Kaynaklarda tüm yazarlar belirtilir, fakat yazar sayısı ikiden çok ise metin içinde ilk yazardan sonra "ve ark veya et al" şeklinde kısaltma yapılır.

\* Kaynak kısaltmalarında Index Medicus kuralları uygulanır, bu kuralların söz konusu olmadığı durumlarda derginin tam adı yazılır.

### ÖRNEKLER:

Makale:

**Butterworth JF, Lief PA, Strichartz GR, Pot C.** The pH-dependent local anesthetic activity of diethyl minoethanol. *Anesthesiology*, 1988: 68:501-506.

Kitap:

**Klug WS, Cumming MR.** *Concepts of Genetics*. 4th Ed., New York: Macmillan Publishing Company, 1994.

Kitabın bir bölümü veya sayfa aralığı:

**Ater MD.** Bone marrow failure. In: Norton D, Oski F, eds. *Hematology of Infancy of Childhood*. Tokyo: Saunders Co,1987:159-241.

**Ackerman E, Eills LBM, Williams LE.** *Biophysical Science*. 2<sup>th</sup> Ed., New Jersey: Prentice Hall Inc, 1979: 26-47.

\* Şekil ve resimler: Fazla şekil ve resimden kaçınılmalı, bütün resim ve şekiller şekil; tablolar ise çizelge olarak adlandırılmalıdır.

\* Şekiller, siyah mürekkep ile parlak ve beyaz kağıda çizilmeli veya fotokopi kağıdına laser printerde basılmalı ve kıvrılmadan postalanmalıdır. Resimler ve şekiller, kağıtlara yapıştırılmayıp arkalarına, ait olduğu makale, yazarın adı, şekil numarası yumuşak kurşun kalemle yazılmalı ve metin içinde yerleri işaretlenmelidir. Şekil altı yazılar ayrı bir kağıda sıra ile yazılarak gönderilmelidir

\* Resim ve şekiller, bilgisayarda yazılmış metnin içine yerleştirilerek veya ayrı-ayrı metin ve grafik File'ları halinde de gönderilebilir. Fakat metin ile birlikte resim ve şekillerin kağıda basılı orijinaleri de mutlaka gönderilecektir.

#### 4. Son sayfa:

Yazarın yazışma adresi yer alacaktır.

# Çukurova Üniversitesi SAĞLIK BİLİMLERİ DERGİSİ

## İÇİNDEKİLER

### Özgün Araştırma

<b>Korozyona Uğramış Paslanmaz Çelik Ortopedik İmplantlara Karşı Vücutta Oluşan Doku Reaksiyonlarının Araştırılması</b>	
Bahadır ASLAN, Aydınor KALACI, Füsün BABA, Murat BOZLAR, Lütfü SAVAŞ, Cenk AKÇALI	1
<b>Genom Dinamiği</b>	
Erdal TUNÇ, Osman DEMİRHAN	9
<b>Adriyaminin Oluşturduğu Nefrotoksistide Melatoninin Koruyucu Etkisinin Ultrastrüktürel Olarak İncelenmesi</b>	
Ebru BALLI, Ufuk Özgü METE, Abdullah TULI, Mehmet KAYA	20
<b>Çukurova Bölgesinde Sağlıklı Kişilerde Kan Kolinesteraz Değerlerinin Saptanması</b>	
Safiye TAĞA, Nazan ALPARSLAN, Nurten DİKMEN	30
<b>Nöral Tüp Defektlerinin Prenatal Tanısında Amniyotik Sıvı Kolinesteraz Enzimlerinin Önemi</b>	
Safiye TAĞA, Tuncay ÖZGÜNEN, Nurten DİKMEN	36
<b>Chédjac-Higashi Sendromlu Bir Olgu Sunumu</b>	
İlgen ŞAŞMAZ, Yurdanur KILINÇ, Ayşe KIRMIZITAŞ, Gökse LEBLEBİSATAN, Bülent ANTMEN	44
<b>Klinik Tanı Yöntemlerinin Değerlendirilmesinde Hekimin Yetkinliği, Sorumluluğu ve Otopsi</b>	
Ahmet HİLAL, Nemci ÇEKİN, Mete Korkut GÜLMEN, Tamer EREN	48
<b>Anabolik Steroidlerin Bazı Bezlere ve Organlara Olan Etkileri</b>	
Emine Döndü KIZILKANAT, Neslihan BOYAN, Fahri DERE	52

## Korozyona Uğramış Paslanmaz Çelik Ortopedik İmplantlara Karşı Vücutta Oluşan Doku Reaksiyonlarının Araştırılması

### Determination of Invivo Tissue Reactions to Corroded Stainless Steel Orthopedic Implants

Bahadır ASLAN<sup>1</sup>, Aydiner KALACI<sup>1</sup>, Füsün BABA<sup>2</sup>, Murat BOZLAR<sup>3</sup>, Lütfü SAVAŞ<sup>4</sup>, Cemil AKÇALI<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji ABD - Hatay

<sup>2</sup>Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD - Şanlıurfa

<sup>3</sup>Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji ABD - Şanlıurfa

<sup>4</sup>Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ABD - Hatay

<sup>5</sup>Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji ABD - Hatay

Geliş Tarihi: 12 Aralık 2003

Kabul Tarihi: 20 Şubat 2004

#### Özet

Kırık tedavisinde kaçınılmaz olarak kullanılan implantların vücutta reaksiyon yapmaması gerekir. Bunlardan en sık kullanılanı paslanmaz çelik implantlardan da çevre dokulara korozif metabolik ürünler yayılır ve dokuda bazı patolojik değişiklikler olur. Bu çalışmada amacımız belirgin korozyon olan olgulardaki doku reaksiyonlarını ve bunların klinik sonuçlarını tesbit etmektir.

Ameliyat esnasında paslanmaz çelik implantta korozyon görülen 38 olgu çalışmaya dahil edildi. Hastalar klinik, patolojik ve mikrobiyolojik açıdan değerlendirildi.

Ameliyat öncesinde, 32 (%84,2) hastanın ağrı, kaşıntı, kızarıklık, şişlik, ciltte yaralar,

sürtünme ve üşüme hissi gibi çeşitli yakınmaları mevcuttu. Son kontrollerinde şikayetlerinin düzeldiği görüldü. Patolojik tetkik sonucunda; fibrosiz, hyalinizasyon, çizgili kas dejenerasyonu, yabancı cisim dev hücreleri, yabancı cisim yüklü makrofajlar, kapiller proliferasyon, kaba kalsifikasyonlar, granüler çöküntüler, fibrokollajenize bağ dokusu gelişimi, lenfositik infiltrasyonlar, PMNL infiltrasyonları, reaktif osteoid yapımı olduğu görüldü. Mikrobiyolojik tetkikte; 3 (%7,8) olguda mikroorganizma izole edildi. İmplantların, vücuttan çıkarılmadıklarında yaptıkları reaksiyonlar nedeniyle, kırık iyileşmesinden sonra en kısa sürede çıkarılmaları gerektiği sonucuna vardık.

**Anahtar sözcükler:** Paslanmaz çelik implantlar, lokal doku reaksiyonu, metal korozyonu.

### Abstract

There are no implants making reaction in body which are using unavoidable for treatment of fractures. Also corrosive metabolic products spread to surrounding tissues from most often using stainless-steel implants and some pathological changes become in tissues. In this study we aimed to determine the tissue reactions and their clinical results in obvious corrosion facts. 38 patients included in this study which were seen corrosion their stainless-steel implants at the operation. Patients were evaluated by microbiological, pathological and clinical methods. Before operation, there were some complaints such as erythema, swollen, skin wounds, friction and cold sensations in 32 (84.2%) patients. There were seen recovery of the complaints at the last controls. It was seen fibrosis, hyalinization, skeletal muscle degeneration, muscle degeneration, foreign body giant cells, foreign body containing giant cells, capillary proliferation, calcifications, granuler dust, fibrokollagenised connective tissue, lymphosytic infiltrations, PMNL infiltrations, reactive osteoid process by using pathological investigations. Microorganisms were isolated at 3 (7.8%) patients by using microbiological investigations.

We decided that implants must remove immediately after fracture healing because of reactions of implants if it doesn't removing from body.

**Key words:** Stainless-steel implants, local tissue reactions, corrosion of metal.

### Giriş

Her yabancı cisim gibi, alaşımı ne olursa olsun tüm implantlar da vücutta bir reaksiyona sebep olurlar. Lokal doku reaksiyonu implantın vücuda yerleştirilmesi ile cerrahi travmaya karşı akut bir cevap olarak başlar. Implantın çevresi fibröz doku ile sarılarak implant hapsedilir. İnsan vücut sıvılarının pH (ortalama 7,35) değeri, dokuların oksijenasyonu, sıvılardaki Cl, Na, K iyonları metalik korozyon için çok uygun bir ortam oluştururlar. Bu ortamda, metaldeki korozyon ve elektrokimyasal reaksiyon hızlı seyreder. Buna bağlı olarak çevresi fibröz doku ile çevrelenmesine rağmen implantlardan çevre dokulara korozyif metabolik ürünler yayılır. Korozyon artışı ile orantılı olarak fibröz doku artar ve dokularda damarlanmada artış görülür. Daha sonra makrofajlar ve dev hücreler olay yerine gelerek implanttan salınan metal iyonları ve metabolik ürünlerle savaşa katılır. Böylece implantla çevre dokular arasında bir reaksiyon başlar ve bu reaksiyonlar zinciri bazen ciddi zararlara yol açabilir. Korozyonun sebep olduğu zararlar şöyle özetlenebilir:<sup>1-9</sup>

- Implantın zayıflamasına ve kırılmasına sebep olabilir.
- Hastada implanttaki metal iyonlarına karşı hassasiyet varsa, bu iyonlar immün sistemi aktive eder, endojen proteinlerle kompleks oluşturarak dermatit, ürtiker, vaskülit gibi allerjik cilt reaksiyonlara sebep olabilir.
- Döngüsel stres, korozyonun bulunduğu bölgeyi etkiliyorsa implantlarda yorgunluk kırıklarına sebep olabilir.
- Korozyonun sebep olduğu elektrokimyasal yapı ve metabolik yan ürünler ağrıya sebep olabilir.

- Korozyon ürünleri hücre nekrozuna ve hücrelerin mekanik irritasyonuna sebep olarak o bölgede lokal inflamasyona sebep olabilir.
- Korozyon etkisi ile bozulan biyokimyasal denge enfeksiyon için uygun ortam hazırlayabilir. Bunun tersi olarak enfeksiyon ajanlarının da korozyonu artırıcı etkisi olduğu düşünülmektedir. Hangisinin sebep hangisinin sonuç olduğu tartışmalıdır. Özellikle Pseudomonas Aeruginosa'nın korozif etkisinin diğer patojenlere oranla daha fazla olduğu düşünülmektedir. Kırık tedavisinde zorunlu olarak kullanılan metal implantların tümünde az yada çok korozyona rastlanmaktadır. Bu korozyonun çevre dokulara etkisini ve klinik sonuçlarını araştırmak amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Hastaların tamamı daha önce tarafımızdan ameliyat edilmiş, kırıkları problemsiz kaynamış takibimiz altındaki hastalardan olup, implantlarını çıkarttırmak isteyen hastalardı. Hastaların hepsine önce fizik muayene yapıldı ve sistem sorgulamalarında, opere edilen ekstremiteler ile ilgili şikayetleri sorgulanarak kaydedildi. Klinik ve radyolojik olarak kırık kaynamasının sorunsuz tamamlandığı tespit edildi. Hastalara implantı neden çıkarttırmak istedikleri sorulduğunda, çoğunluğunun bir veya birden fazla yakınmasının olduğu, az sayıda bir kısmının ise implantın vücutta kalmasından endişe duyduğu anlaşılmıştır. Rutin hazırlıklar tamamlandıktan sonra hastalar ameliyata alındı. Ameliyatların hepsinde eski yara izinden girilerek ve doku tabakalarında patolojik bir durumun varlığı gözlenerek implanta ulaşıldı. Amacımız belirgin korozyon olan olgulardaki doku reaksiyonlarını tespit etmek olduğu için, implantı çıkarılmak üzere ameliyata alınan hastalardan ameliyat esnasında çıkarılan implantın gözle

muayenesinde korozyon tesbit edilen olgular çalışmaya dahil edildi. Çalışmamıza, 30'u erkek 8'i kadın, yaş ortalaması 33 (8-42 yaş) olan 38 hasta dahil edilmiştir. Bunların 27'si femur (%71), 11'i tibia (%29) kırığı nedeniyle opere edilerek açık redüksiyon ve internal tesbit yapılmış hastalardı. Implantların vücutta kalış süreleri 8-44 ay (ortalama 18 ay) arasında değişmekte idi.

Ameliyat sırasında implantla temas eden yumuşak dokuların bazı bölgelerinde pas rengi değişiklik gözlemlendi. Implantla temas eden kas, tendon, kemik gibi dokuların her birinden biyopsi ve enfeksiyon yönünden kültür örnekleri alındı. Alınan tüm numuneler patoloji ve mikrobiyoloji laboratuvarlarına gönderildi. Çıkarılan implantların hepsi paslanmaz çelik alaşımlı olup bölgede tek bayi olması nedeniyle aynı marka implantlardı.

Patolojik tetkik için alınan çevre yumuşak dokular %10 luk formalinde 24-48 saat tespit edildikten sonra kademeli alkol-ksilol-parafin aşamalarından geçerek doku takip işlemi uygulandı. Takip işleminden sonra dokular parafin ile bloklandı ve 5 mikron kalınlıkta rotary mikrotomla kesitler hematoksilin eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda doku reaksiyonları gözlemlendi. Mikrobiyolojik tetkik için alınan numuneler, steril bir havana konuldu. Üzerine 1ml peptonlu su eklenerek suspansiyon yapıldı. Gramla boyanarak bakıldı. Ayrıca iki %5'lik koyun kanlı agarı ve iki Mc Conkey agarına ekim yapıldı. Plaklar aerob ve anaerob şartlarda iki gün bekletildi. İki gün sonra üreme olan plaklardan, gram boyama ve klasik kültür yöntemleri uygulanarak izole edilen mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapıldı. Implantları çıkarılan hastaların hepsi ameliyattan 15 gün sonra yara kontrolüne gelmiştir ve yarada problem olmadığı görülerek dikişler alınmıştır. Hastalara hiçbir problemleri olmasa dahi 3 ay

sonra kontrole gelmeleri söylenmesine rağmen 31 hasta (%81,5) kontrole gelmiştir. Tüm olgulara, son kontrollerde klinik değerlendirmeleri yapıldı.

### Bulgular

Ameliyat öncesi muayene ve sorgulamada; 38 hastanın 32'sinin (%84,2) bir veya birden fazla yakınmaları olduğu, 6'sının (%15,7) ise ileride bir sorun oluşturmasından endişe ettiği anlaşılmıştır. Klinik muayene sonucunda, hastaların 25'inin (%65,7) zaman zaman olan ağrıdan, 28'inin (%73,6) ameliyat bölgesinde üşüme hissinden, 10'unun (%26,3) hareket esnasında plağın sürtünmesinden, 22'sinin (%57,8) kaşıntıdan, 15'inin (%39,4) kızarıklıktan, 20'sinin (%52,6) şişlikten, 3'ünün (% 7,8) ise ameliyat bölgesi ve yakın çevresinde kaşıntılı sulu küçük kabarcıklar şeklinde yaralardan şikayetçi oldukları anlaşılmıştır.

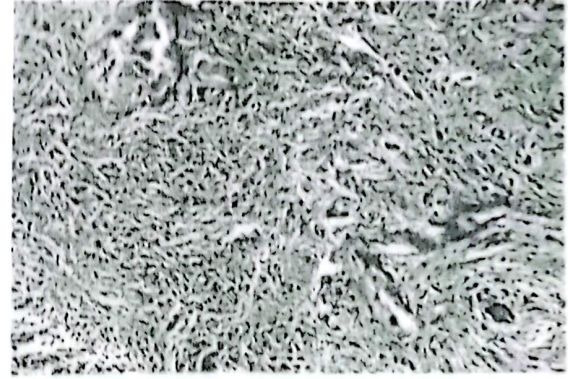
Patolojik tetkik sonucunda aşağıdaki bulgular saptanmıştır:

Fibrosiz, hyalinizasyon, çizgili kas dejenerasyonu, yabancı cisim dev hücreleri, yabancı cisim yüklü makrofajlar, kapiller proliferasyon, kaba kalsifikasyonlar, granüler çöküntüler, fibrokollajenize bağ dokusu gelişimi, lenfositik infiltrasyonlar, PMNL infiltrasyonları, reaktif osteoid yapımı.( Şekil 1,2,3,4)

Mikrobiyolojik tetkike gönderilen numunelerden 3 olguda (%7,8) mikroorganizma izole edildi. Bunlardan 2'sinde (%5,2) koagulaz negatif, 1'inde (%2,6) koagulaz pozitif stafilokok saptandı. 3 olgu dışında üreme görülmedi.

Kontrole gelen hastaların, 4'ünde(%10.5) ameliyat olan ekstremitede fazla ayakta

kaldıklarında ödem oluşması dışında, diğer



**Şekil 1: HE,X100** Fibrokollajenize bağ dokusu içerisinde, kaba parçalar şeklinde kahverenkte yabancı cisimler. Bunları çevreleyen multinükleer yabancı cisim dev hücreleri. Sol üstte dev hücre ile birlikte granülom yapısı. Sağ üst köşede lenfositlerin oluşturduğu agregat.



**Şekil 2: HE,X100** Fibrokollajenize bağ dokusu içinde lenfosit plazmosit ağırlıklı iltihabi infiltrasyon. Multinükleer dev hücrelerin stoplazmaları içerisinde kahverenkte kaba yabancı cisimler. Sol üstte kaba kalsifikasyonlar.



**Şekil3: HE,X100** Fibröz bağ dokusu içinde homojen eiznofilik boyanan, çevresinde osteoblastların dizili olduğu osteoid formasyonu.



**Şekil 4: HE,X100** Fibrokollajenize bağ dokusu içerisinde ince yuvarlak granüller şeklinde koyu kahverenkte yabancı cisim.

hastaların hiç birinin şikayeti yoktu. Yapılan muayenede de problem bulunamadı. Üç ay sonra kontrole gelmeyen hastaların hepside (7 hasta) ameliyat öncesi ve sonraki ilk kontrollerinde problemi olmayan hastalardı.

### Tartışma

Kırık tedavisinde plakla osteosentez, çeşitli alternatif tespit materyalleri geliştirilmesine karşın hala yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Plaklar arasında en yaygın biçimde kullanılanlar da paslanmaz çelik plaklardır. Sağlamlığı, bükülebilme yeteneği ve düşük maliyeti avantajlarını oluşturur. Ancak korozyona karşı direncinin düşük olması da dezavantajdır. Ayrıca korozyonla birlikte, giriş kısmında bahsettiğimiz türden, lokal ve sistemik pek çok olumsuz etkileri de mevcuttur<sup>1-9</sup>.

Voggenreiter ve ark.'nın titanyum ve paslanmaz çelik implantlarla yaptığı karşılaştırmalı çalışmada, her ikisinde de belirgin bir immuno-inflamatuar reaksiyonun olduğu, her iki materyalden açığa çıkan partiküllerin makrofajlar tarafından fagosite edildikleri ve kronik inflamasyonun ve plakların fibröz doku ile enkapsule edildikleri gösterilmiştir<sup>8</sup>. Ayrıca Williams ve Meachim<sup>10</sup>, Winter<sup>11</sup>, Sevt<sup>12</sup>, French

ve ark. implantların korozyon ürünlerine karşı gelişen lokal doku reaksiyonlarına ait gözlemlerini bildirmişlerdir<sup>13</sup>. Winter elektron mikroskopu ile yaptığı çalışmasında, korozyon ürünlerini tanımlamıştır<sup>11</sup>. Histolojik olarak implantın genellikle fibröz bir membranla enkapsule edildiği ve birlikte inflamasyon görüldüğünü bildirmektedir. Vida ile plak temas noktalarında plağı kaplayan zarın makrofaj, yabancı cisim dev hücreleri ve değişik miktarlarda lenfosit ihtiva ettiği görülmüştür. İki tip korozyon ürünü tesbit edilmiştir. Bunlardan biri hemosiderin içeren demir benzeri granüller, diğeri de mikroplaklardır. Mikroplaklar değişik morfolojik özelliklerdedir. Doku içinde sıkıca paketlenmiş olarak, partikül büyüklüğü 0.5-5 mm çapında plak benzer agregatlar olarak görülmürler. Sıklıkla nekrotik dokuda yada asellular kollajen içinde bulunurlar. Bu partiküllerin içinde yada sınırında toplanmış çok sayıda multinükleer yabancı cisim dev hücreleri bulunurlar<sup>14</sup>.

Bizim çalışmamızda, en sık gördüğümüz histolojik bulgular; fibröz hyalinizasyon, kahve renkli kaba granüller, fibröz bağ dokusu artışı, yabancı cisimler, multinükleer yabancı cisim dev hücreleri, lenfositlerin oluşturduğu agregatlardır. Bunlara ilaveten, çizgili kas dejenerasyonu, kapiller proliferasyon ve reaktif osteoid yapımı gözlenmiştir.

Enfeksiyon şüphesi ile mikrobiyolojik tetkike gönderdiğimiz numunelerden sadece üçünde mikroorganizma izole edilmiştir. Mikroorganizma izole edilen 3 olgumuz 8,10 yaşlarında çocuk hastalardı. Bunların üçünde de ameliyat sırasında implant çevresi yumuşak dokularda enfeksiyon bulguları gözlenmişti. Bu hastalara operasyon esnasında implant çıkarıldıktan sonra yıkama ve drenaj yapılarak enfeksiyon tedavisine başlanmıştır. Bu hastaların hikayelerinde, 8-9 ay önce ameliyat edildikleri ve ameliyatlarından 5-6

ay sonra ciltte kızarıklık, şişlik olduğu ve daha sonra yara çevresinde sulantılı küçük kabarcıklar şeklinde yaraların çıkmaya başladığı öğrenilmiştir. Muayenelerinde ise kesi yeri çevresinde ağrı, şişlik, kızarıklık, ısı artışı ve küçük büllöz lezyonlar gözlenmişti. Bu olguların postoperatif geç yara enfeksiyonu mu yoksa plağa karşı oluşan cilt lezyonuna bağlı bir yumuşak doku enfeksiyonu mu olduğu tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak kemikte enfeksiyon bulgularının ve üremenin olmaması, yapılan tedaviye hızlı cevap alınması ve takibinde tam iyileşme olması nedeniyle enfeksiyonun ciltteki lezyonların kontaminasyonuna bağlı olarak geliştiğini düşünmekteyiz. Hallab N. ve ark. implantın metaline karşı aşırı hassasiyeti olanlarda implant konulduktan sonra dermatit, ürtiker, vaskülit gibi cilt reaksiyonlarının görülebileceğini bildirmişlerdir<sup>5</sup>. Dujardin ve ark. 1995 yılında yayınladıkları makalelerinde, en sık olarak egzema (% 44), inflamatuvar formlar (%13), büllöz dermatit (%11) gördüklerini bildirmişlerdir<sup>6</sup>. Bu reaksiyonlara immünoallerjik mekanizmaların yada hücre toksitesinin sebep olabileceğini vurgulamışlardır. Ayrıca lezyonların implant bölgesinden uzaklarda da görülebilmesi nedeniyle teşhisin güç olduğunu ve özellikle enflamatuvar formların sepsisten ayırımının zor olduğunu belirtmişlerdir.

Tespit materyallerine bağlı başta ağrı olmak üzere hastalarda birçok semptomlara rastlanmaktadır<sup>14</sup>. Komplikasyonların sıklığından dolayı birçok otör tarafından tespit materyallerinin çıkarılması önerilir<sup>14-18</sup>. Plağın vücutta kalma süresiyle korozyon arasında ilişki olduğundan kaynamadan sonra çıkarılması tavsiye edilir<sup>17</sup>. Tespit materyalinin çıkarılmasıyla şikayetler düzelmektedir. Bazı yazarlar ise özellikle femur ve *tibiada* asemptomatikse çıkarılmayabileceğini

ifade etmiştir<sup>14,19</sup>. Biz de semptomatik tespit materyallerini çıkardığımız hastalarımızda benzer şekilde başarılı sonuçlar aldık.

## Sonuç

Yapılan çalışmalara rağmen halen vücutta histokimyasal olarak inert kalan bir implant bulunmamaktadır. Metalik implantlardan korozyon nedeniyle salınan partiküller ciddi lokal ve sistemik etkilere sebep olabilmektedir. Sürtünme ve irritasyona bağlı ağrı ve rahatsızlık hissi verebilmektedir. Hastalarda vücutta bırakıldıklarında problem oluşturma endişesine sebep olmaktadır. Her ne kadar implantların vücutta bir sorun oluşturmadığı takdirde çıkarılmasına gerek yoktur görüşünü savunanlar varsa da<sup>14,15</sup>, implantların vücutta histolojik ve kimyasal ciddi etkileri göz önüne alındığında çıkarılması gerektiği görüşünü paylaşmaktayız. Çalışmamıza alınan plakla tesbit yapılmış hastaların %84'ünün kırığı iyileşmiş olmasına rağmen çeşitli şikayetlerinin olması ve bunlardan plak çıkarıldıktan sonra kontrole gelenlerin neredeyse tamamının şikayetlerinin düzelmesi nedeniyle implantların kırık iyileşmesinden sonra vakit geçirmeden çıkartılması gerektiğini düşünmekteyiz.

## Kaynaklar

1. **Weisman S.** Current Concepts of Internal Fixation of Fractures. Berlin: Springer Verlag, 1981.
2. **Bechtol OS, Ferguson BA.** Metals and engineering in Bone and Joint Surgery. Ballimore: The Williams and Wilkins Company, 1959.
3. **Strid GK.** Metal Corrosion in the Tissue and Environment. Acta Orthopædica Scandinavia, 1988;59(2):152-156.
4. **Rockwood AC, Green PD.** Fractures in Adults. 2<sup>th</sup> Ed., London: Lippincot Co, 1984.
5. **Hallab N, Merritt K, Jacobs JJ.** Metal sensitivity in patients with orthopaedic implants. J Bone Joint Surg Am, 2001; 83-A(3):428-436.

6. **Dujardin F, Fevrier V, Lecorvaisier C, Joly P.** Allergic dermatitis caused by metallic implants in orthopedic surgery. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot*, 1995; 81(6):473-484.
7. **Steinemann SG.** Metal implants and surface reactions. *Injury*, 1996; 27 Suppl 3:16-22.
8. **Voggenreiter G, Leiting S, Brauer H, Leiting P, Majetschak M, Bardenheuer M, Obertacke U.** Immuno-inflammatory tissue reaction to stainless-steel and titanium plates used for internal fixation of long bones. *Biomaterials*, 2003; 24(2):245-254.
9. **Joshua JJ, Jeremy LG, Robert MU.** Current concepts review corrosion of metal orthopaedic implants. *J Bone Joint Surg Am*, 1998; 80-A: 268-282.
10. **Williams DF, Meachim G.** A combined metallurgical and histological study of tissue-prosthesis interactions in orthopedic patients. *J Biomed Mater Res*, 1974; 8(3):1-9.
11. **Winter GD.** Tissue reactions to metallic wear and corrosion products in human patient. *J Biomed Mater Res*, 1974; 8:11-26.
12. **Sevitt S.** Corrosion of implants and tissue metallosis. In *Bone Repair and Fracture Healing in Man*. New York: Churchill Livingstone, 1981:281-295.
13. **French HG, Cook SD, Haddad RJ Jr.** Correlation of tissue reaction to corrosion in osteosynthetic devices. *J Biomed Mater Res*, 1984; 18(7): 817-828.
14. **Bostman O, Pihlajamaki H.** Routine implant removal after fracture surgery: a potentially reducible consumer of hospital resources in trauma units. *J Trauma*, 1996; 41(5):846-849.
15. **Richards RH, Palmer JD, Clarke NM.** Observations on removal of metal implants. *Injury*, 1992; 23(1):25-28.
16. **Cook SD, Thomas KA, Harding AF, Collins CL, Haddad RJ Jr, Milicic M, Fischer WL.** The in vivo performance of 250 internal fixation devices: a follow-up study. *Biomaterials*, 1987; 8(3):177-184.
17. **Cook SD, Renz EA, Barrack RL, Thomas KA, Harding AF, Haddad RJ Jr, Milicic M.** Clinical and metallurgical analysis of retrieved internal fixation devices. *Clin Orthop*, 1985; 194:236-247.
18. **Thomas KA, Cook SD, Harding AF, Haddad RJ Jr.** Tissue reaction to implant corrosion in 38 internal fixation devices. *Orthopedics*, 1988; 11(3):441-451.
19. **Pourbaix M.** Electrochemical corrosion of metallic biomaterials. *Biomaterials*, 1984; 5(3):122-134.

**Yazışma adresi:**

Yrd.Doç.Dr.Bahadır ASLAN

Mustafa Kemal Üniversitesi

Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji AB.

Antakya / HATAY

Tel: 2140649/102

FAX : 0 326 2144977

GSM: 0 532 6130856

E-Mail: bahaslantr@yahoo.com

## Genom Dinamiği The Genome Dynamism

Erdal TUNÇ<sup>1</sup>, Osman DEMIRHAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Adana, Türkiye

Geliş Tarihi:26 Şubat 2004

Kabul Tarihi:07 Haziran 2004

### Özet

Yüksek düzeyde bir dinamizm gösteren genomda meydana gelen hareketlerin çoğu, hastalıklar veya ölümler gibi zararlı sonuçlar yanında bazı hareketler ise herhangi bir zararlı etkiye neden olmamakta ve hatta canlıya avantajlar sağlayabilmektedir. Bu hareketler arasında; cinsiyete bağlı rekombinasyon, gen duplikasyonları, transpozisyonlar, retropozisyonlar ve ektopik rekombinasyonlar sayılabilir. Bu hareketler sonucu meydana gelen değişimler çoğu zaman stabil hale geçmekte ve kuşaklar boyu aktarılmaktadır. Sonuçta, organizasyon seviyesi arttıkça türlerin genomları hacimce büyümekte ve buna bağlı olarak farklı görevler üstlenebilen yeni genler ortaya çıkmaktadır.

**Anahtar sözcükler:** Genom dinamiği, ektopik rekombinasyon, transpozisyon, retropozisyon, gen duplikasyonu

### Abstract

The genome displays a highly dynamism. Mostly, the actions as a part of genome dynamism

are detrimental. This detrimental actions give rise to diseases or death. However, some actions occurred in genome, bring about advantageous alterations for cells. These useful alterations generally are fixed by cells and inherited from one generations to another. The actions like ectopic recombinations, gene duplications, sex linked recombinations, transpositions and retropositions are highly important for genome dynamism. The development of livings from simple life forms has involved marked increases in genome size.

**Key word:** Genome dynamic, ectopic recombination, transposition,retroposition, gene duplication

### Giriş

Bugün yeryüzünde, canlılar aleminde bulunan olağanüstü çeşitliliğin 3-4 milyar yılda meydana geldiği düşünülmektedir. Bu olağanüstü çeşitlilik, genomun yüksek düzeyde bir iç dinamizme sahip olduğunu göstermektedir. Yapılan son çalışmalarda genomdaki hareketlilik hemen bütün yönleriyle ortaya konmuştur. İlk genomlardan gelişmiş genomların meydana gelmesi sürecinde iki temel

olayın gerçekleştiği kabul edilmektedir. Bunlardan biri genomun hacimce artması, diğeri ise farklılaşmanın meydana gelmesidir.

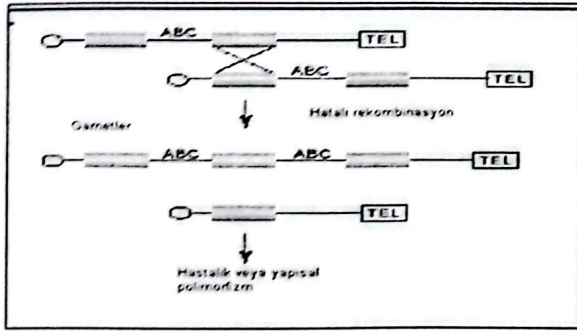
Örneğin *Salmonella enterica* serover Typhimurium'un (bakteri) genom büyüklüğü 4,857, 432, *C. elegans*'ın 97 milyon (bir nematod türü), *Mus musculus*'un (Ev faresi) 2,5 milyar ve insan'ın 3,2 milyar bç'dir<sup>1-3</sup>. Bu verilerden de anlaşıldığı gibi organizasyon seviyesi arttıkça genomun büyüklüğü artmaktadır. Yine *E. coli*'de 4390, *C. elegans*'ta 19000 ve insan'da 32 bin gen bulunmaktadır. Rakamlardan da anlaşılacağı gibi insan genomu *E. coli*'nin yaklaşık 7 katı kadar gen içermektedir<sup>3-5</sup>. Bu da bize gen düzeyinde de önemli bir artış ve buna paralel olarak farklılaşma olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda *Drosophila*'da eksprese olan 12 gen tanımlanmıştır ve bu genlerin hemen tamamının, insanda ve yuvarlak kurtlarda yakın akrabalarının bulunduğu ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca bu genlerin yarısının, mayalarda ve az bir kısmının da bakterilerde, yakın akrabaları bulunmaktadır. Bütün bu bilgilerden, farklılaşmayla birlikte bazı genlerin üst düzeyde korunduğu ortaya çıkmaktadır<sup>6</sup>. Eğer bu doğru ise bazı diziler korunurken, diğeri bazılarının farklılaşması nasıl sağlanmakta ve daha temel olarak genomun hacmi nasıl büyümektedir. 1970'lerde Ohno adlı araştırmacı bu durumu şöyle izah etmektedir; yaşamsal önemi olan proteinleri kodlayan genlerdeki herhangi bir farklılaşma/mutasyon organizmanın yaşamında oldukça önemlidir. Fakat böyle bir gen duplikasyona uğrar ise durum değişir. Çünkü duplike olan bir genin artık genomda iki kopyası vardır. Bu kopyalardan biri normal işlevini yerine getirirken diğeri farklılaşma sürecine girebilir. Bunun sonucu olarak genlerin uzun zaman

periyotlarından sonra yeni fonksiyonlar edinebildikleri düşünülmektedir<sup>7,8</sup>.

### Genomu Dinamik Kılan Temel olaylar

Bugün artık Ohno'nun ileri sürdüğü düşüncelerden daha kapsamlı bilgiler mevcuttur. Buna göre basit organizasyonlu canlılardan ökaryotların gelişimi sürecinde (özellikle çok hücreli metazoa'lar) genom içerisinde meydana gelen bir dizi olaylar neticesinde, genomun büyüdüğü ve buna paralel olarak farklılaşmanın meydana geldiği kabul edilmektedir. Bunlar, krosing-overler, gen duplikasyonları, transpozisyonlar, insersiyonlar ve ekson işleme gibi yeniden düzenlenme olaylarıdır. Şimdi bu olayların genom dinamiğine olan katkılarını ele alalım.

Krosing-over (cinsiyete bağlı rekombinasyon), kural olarak tüm mayoz bölünmelerde gerçekleşmesinden dolayı genomun değişimine en büyük katkıyı sağlamaktadır. Cinsiyete bağlı rekombinasyon oranının insanlarda 1.3 cM/Mb ve *Drosophila melanogaster*'de 1.5 cM/Mb olduğu rapor edilmiştir<sup>9</sup>. Bu oran oldukça yüksektir. Ayrıca bilindiği gibi krosing-over olayı her kuşakta tekrarlanmaktadır. Bu bilgiler göz önüne alındığında cinsiyete bağlı rekombinasyonun genomun dinamiği açısından ne kadar önemli olduğu anlaşılacaktır.



**Şekil 1.** Şekilde mayoz bölünme sırasında duplikonlar arasında gerçekleşen ve eşit olmayan krosing-over görülmektedir. Bu olay yapısal polimorfizme veya hastalığa neden olabilir<sup>10</sup>.

Genom dinamizmini etkileyen ikinci önemli olay gen duplikasyonları olup, bu sayede genoma bir gen kopyası ilave olunur. Aynı şekilde, dengesiz bir krosing-over olayı ile aynı genin ikinci bir kopyası genoma ilave olabilir. Bunu üçüncü ve dördüncü gen kopyaları takip edebilir. Bunun sonucunda genellikle ardışık tekrarlar meydana gelir. Buna örnek olarak, oksidatif metabolizmada rol oynayan sitokrom P450 gen ailesinde (bu gen ailesi 30 izoenzimi kodlayabilecek büyüklüktedir) bulunan CYP2D6 geni örnek verilebilir<sup>11</sup>. Bu gen farklı etnik gruplarda 1 ile 13 ardışık tekrar içermektedir<sup>12</sup>. Son çalışılan antimikrobiyal peptid sentezleyen bir gen ailesi de, duplikasyonla çoğalan genlere örnek verilebilir. Buna göre epitel hücreleri tarafından sentezlenen ve gram negatif bakterilerin dış membranlarında bulunan lipopolisakkariti parçalayarak etkisiz hale getiren BPI (bakterisidal/permeabilite arttırıcı protein) protein ailesini sentezleyen bir gen ailesi bulunmaktadır. Bu gen ailesi, BPI proteinini, LBP proteinini (lipopolisakkarit bağlayıcı protein), CETP proteinini (kolesterol ester transfer proteini) ve PLTP proteinini (fosfolipit transfer proteini) kodlayan genleri içermektedir. Yapılan son çalışmalarda BPI ailesine benzer proteinler

sentezleyen, üç genden oluşan ve RY adı verilen bir gen ailesi daha tanımlanmıştır. Bu gen ailesi RYSR, RYA3 ve RY2G5 genlerinden oluşmaktadır. Bu genler, olfaktör taşıyıcılar/antimikrobiyal benzeri peptidleri kodlarlar. Her iki gen ailesi de 20. kromozom üzerinde bulunmaktadırlar. RY gen ailesi, BPI gen ailesinin upstream tarafından 5 Mb uzağında (20q11.21) bulunmaktadır. Araştırmacılar RY gen ailesinin, BPI gen ailesinden duplikasyonla meydana geldiği sonucuna varmışlardır<sup>13</sup>.

Duplikasyonla meydana gelen gen ailelerinin üyelerinde mutasyonlar meydana gelebilir. Bu mutasyonlar sonucunda, genler fonksiyon açısından iki yola sapabilmektedirler. Bu yolların birinde, bir kısım genlerin fonksiyonları azalırken bir kısmı da fonksiyonlarını tamamen kaybederler. Böylece multigen aileleri meydana gelir. Duplikasyonla oluşan genlerde ikinci yol olarak fonksiyonel divergensi görülebilir. Yapılan çalışmalarda, duplikasyonların yaklaşık yarısında, ekstra genin fonksiyonunu kaybetmesinden ziyade fonksiyonel divergensiye uğradığı tespit edilmiştir<sup>14</sup>. Sitokin karakterinde proteinleri kodlayan (IFN) İnterferon gen ailesi, fonksiyonel divergensiye iyi bir örnek teşkil etmektedir. IFN gen ailesi 9p21-22 bölgesine yerleşmiş 15 fonksiyonel gen ve 11'de fonksiyonel olmayan psödogenden oluşmaktadır<sup>15,16</sup>. Gen amplifikasyon olayının, canlılığın gelişim sürecine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu olay sonucu meydana gelen çok sayıda gen kopyaları aynı lokusta kalabildikleri gibi genoma yayılmış durumda da olabilirler. Örneğin fibroblast büyüme faktörü ailesinden olan keratin sit büyüme faktörü multigen ailesinin genomda 16 tekrar geni bulunmaktadır. Bu tekrarların gen amplifikasyonu sonucu meydana geldiği düşünülmektedir<sup>17,18</sup>.

Yukarıda değinildiği gibi, gen amplifikasyonu ile ardışık tekrarlar şeklinde veya genoma dağılmış olarak çok sayıda homolog gen oluşmaktadır. Bazı durumlarda genler arasında ektopik rekombinasyon adı verilen bir olay görülür. Ektopik rekombinasyon, haploid genomun farklı lokuslarında bulunan homolog genler arasında meydana gelen rekombinasyon olayıdır. Buna göre, bir gene ait eksonlar işlemlenirken, eksonlardan biri bu gene homolog olan başka bir gene insersiyonla katılabilmektedir. Bu olay da, duplikasyon veya amplifikasyonla kopya sayısını arttıran genlerin farklılaşma sürecine girmesini sağlamaktadır<sup>19,20</sup>. Özellikle bir kromozom üzerindeki kısa aralıklı tekrar dizileri, alışılmadık ektopik eşleşme ve rekombinasyon riskini artırır. Özellikle eksonların genlere intron bölgelerinden ilave olmaları oldukça önemlidir. Çünkü eğer ilave olan ekson bir aktif bölgeyi kodluyor ise; sentezlenecek olan gen ürünü, ilave bir aktif bölgeye sahip olacaktır. Bu da proteinlerde, hem yapısal ve hem de fonksiyonel değişimlere neden olabilecektir<sup>21</sup>.

Genomda meydana gelen hareketlerin önemli bir kısmını da transpozisyonlar, retropozisyonlar ve insersiyonlar oluşturmaktadır. DNA içerisinde bir bölgeden başka bir bölgeye göç etme yeteneğine sahip bloklara DNA transpozonları denir; bu olaya da transpozisyon denir. Hemen tüm organizmaların genomlarında böyle hareketli bölgeler bulunmaktadır. Transpozonların, transpozaz enzimini kodlayan dizileri bulunmaktadır. Transpozaz enzimi, transpozisyona uğrayacak parçanın invert tekrar (IR, Inverted Repeat) denen bölgeden kesilmesini ve genoma başka bir yerden eklemlenmesini sağlar<sup>22,23</sup>. Buna, *E. coli*'de görülen

ve transpozisyona uğrayan IS911 bloğu örnek verilebilir<sup>24</sup>.

Buna benzer retropozisyonlarda (ya da retrotranspozisyon) genom içi hareketliliğe önemli oranda katkı sağlarlar. Buna göre, retropozisyona uğrayacak olan gen önce RNA oluşturur. Sonra bu RNA, revers transkripsiyon ile (revers transkriptaz enzimi yardımıyla) DNA oluşturur. Oluşan DNA yeni bir gen kopyası olarak genoma entegre olur. Retropozisyonların sonucunda SINE'ler (Short interspersed elements) ve LINE'ler (Long interspersed elements) oluşur. SINE'ler daha çok yüksek organizasyonlu canlılarda (insan gibi) görülürken, LINE'ler ise daha çok aşağı organizasyonlu canlılarda (*Drosophila* gibi) görülür. SINE'ye örnek olarak insan genomunda 1.000.000'dan fazla kopya sayısı bulunan Alu genleri verilebilir. Alu gen ailesi insan genomunda bulunan en büyük mobil element ailesidir. Yapılan filogenetik çalışmalarda, Alu elementlerinin bir grup master veya kaynak denen genlerden retropozisyonla çoğaldıkları anlaşılmıştır. Diğer primat türlerinde de farklı sayıda Alu elementlerine rastlanmıştır.

LINE'ler daha çok aşağı organizasyonlu canlılarda bulunur. Örneğin insanın da dahil olduğu primatlarda, retrotranspozisyonel aktivite sonucu oluşan tek bir LINE ailesi mevcuttur. Bu retrotranspozon ailesine L1 ailesi denir. L1 ailesi daha sonra farklı LINE ailelerine ayrılmıştır. Şu anda homo cinsinin üyelerinde iki LINE alt ailesinin bulunduğu bilinmektedir. Bunlar L1Pa1 ve Ta1d alt aileleridir. Aşağı organizasyonlu canlılardan yukarıya doğru çıkıldıkça meydana gelen insersiyonlar neticesinde LINE'lerin bir kısmı,

SINE'lere dönüşmüştür. İnsan genomunda LINE olarak pek az retrotranspozon bulunmaktadır. İnsanlarda görülen Alu gen ailesinin, L1 ailesi retrotranspozonlarının insersiyona uğraması sonucu geliştiği düşünülmektedir.

Gelişmiş hayvansal ve bitkisel organizmalarda, milyonlarca retrotranspozon (retrotranspozisyona uğrayan birim) kopyası bulunur. Bunun yanında Drosophila gibi aşağı organizasyonlu canlılarda bu sayı binlerle ifade edilebilir. Ayrıca meydana gelen bir çok retrotranspozonun da genoma entegre olamadan yıkıldığı bilinmektedir. Yukarıda ifade edilen yüksek rakamlar ve yıkılan retrotranspozonlar, retrotranspozisyonun genom dinamikmi açısından ne kadar önemli olduğunu göstermektedir<sup>25,26</sup>.

### Otozomların Dinamiği

Yapılan çalışmalarda; 5-8 milyon yıldan beri insan genomunda az sayıda yeniden düzenlenmenin meydana geldiği bildirilmiştir. Bu süreçte insanın da dahil olduğu primat grubunda 35 inversiyon tesbit edilmiştir. Bu inversiyonların 25'i perisentrik ve 10'u parasentrik tabiattadır. İversiyonların insan genomunda görülen yeniden düzenlenmeler içerisindeki oranı % 90'dır. FISH tekniği ile yapılan çalışmalarda, insan kromozomlarında geçmişte meydana gelmiş ve fikse olmuş perisentrik inversiyonları gösteren kırılma noktalarına rastlanmıştır. Bu kırılma noktaları 5 tane olup 4, 9 ve 12. kromozomlar üzerinde bulunmaktadır. Radyasyonun etkisiyle meydana gelen inversiyonların stabil hale geçmesi ayrıca ilginçtir<sup>27,28</sup>.

Bazı kromozom yeniden düzenlenmeleri, bir sonraki adımda meydana gelecek ve stabil hale geçecek olan bir mutasyonun öncüsü olabilmektedirler. Bu tip yeniden düzenlenmelere

“revers kromozom mutasyonları” (reverse chromosomal mutations) denir. İnsanda 22q11 bölgesi böyle bir sıcak nokta özelliği göstermektedir. Bu bölgede duplikasyon, delesyon ve translokasyonlara rastlanmaktadır. Örneğin söz konusu bölgede meydana gelen duplikasyon, kedi gözlülük sendromunu ortaya çıkarmaktadır. Bu bölgede bulunan genlerin homologları, farelerin 6, 10 ve 16. kromozomlarına dağılmış olarak bulunmaktadır<sup>29</sup>.

Bazı insan kromozomları diğerlerine göre çok iyi korunmuşlardır. Bunlardan 6, 8, 11, 12, 18, 19 ve X kromozomları en çok korunmuş olanlardı<sup>30</sup>. Buna karşın bazı kromozomlar oldukça yenidirler. Örneğin 14 ve 15. kromozomlar göreceli olarak yakın zamanda bir kromozomun ikiye ayrılması sonucunda oluşmuşlardır<sup>31</sup>. Bazı insan kromozomları ise radyasyona oldukça hassastırlar. Bunlar 1, 3 ve 7. kromozomlardır. Esas ilginç olan uzak türlerin karşılaştırılmasından elde edilen sonuçlardır. Örneğin kedi (2n=38) ile insan (2n=46) karyotipleri açıkça farklılık gösterir. Fakat buna rağmen iki karyotip birbirine yakınlık gösterir. Kedi karyotipinde bir inversiyon ve 7 tane kromozom kırılması meydana geldiğinde kedi karyotipi insan karyotipine dönüşür. İnsanın da dahil olduğu memeli grubunda genel kromozom yapısı yüksek düzeyde ve uzun zamandan beri (100-120 milyon yıl) korunmuştur<sup>32</sup>.

İnsan genomunun belki de en ilginç kromozomu 21. kromozomdur. Geçmişte özellikle Down sendromu etkeni olması nedeni ile diğer kromozomlara nazaran daha fazla ilgi çekmiştir. Son yıllarda, bu kromozomun orijini ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bu kromozomun orijini 50 milyon yıl öncesine kadar gitmektedir. Bu kromozom, insan ve Pongidae familyası (bir maymun familyası) üyeleri ile bir çok yüksek

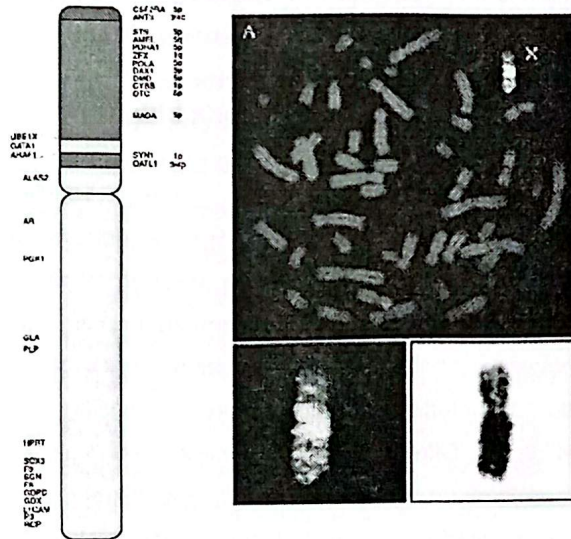
primatta bulunmaktadır. İnsan ve Pongidae familyası üyelerinde 21. kromozom trizomisi görülmektedir. Bilindiği gibi bu bireyler Down sendromu olmalarına karşın yaşamlarını devam ettirebilmektedirler. Buna karşın bir çok canlı grubunda 21. kromozom trizomileri öldürücü olmaktadır<sup>33</sup>. Yapılan bir çalışmada 21. kromozom üzerinde 364 genin bulunduğu tespit edilmiştir. Bu genlerden bir kısmının fazla dozda eksprese olmaları Down sendromuna yol açmaktadır. Yine türler arası karşılaştırmalarda 21. kromozomu olmayan memeli türlerinde, 21. kromozom genler ile homolog olan genlere rastlanmıştır. Örneğin farede, 21. kromozoma benzer genleri taşıyan 16. kromozomun bazı segmentlerinin kısmi trizomisi durumunda, Down sendromuna benzer bir fenotipe rastlanamamıştır<sup>34</sup>.

### Gonozomların Dinamiği

Memeli cinsiyet kromozomlarının (X ve Y), bir çift otozomun değişime uğramasıyla meydana geldikleri kabul edilmektedir. Bu kromozomlardan biri, önce proto-Y kromozomuna, daha sonra da Y kromozomuna dönüşmüş; diğer kromozom herhangi bir değişime uğramadan X kromozomu adını almıştır. Y kromozomu zamanla erkekliği belirleyen geni (SRY geni) üzerine almıştır. Ayrıca Y kromozomu zamanla başka bazı radikal değişimlere de uğramıştır. Buna göre; önce X ve Y kromozomları arasında meydana gelen krosing-over ve rekombinasyon olayları baskılanmıştır. Bundan sonra Y genlerinin çoğu kaybolmuş veya inaktif hale geçmiştir. Bu arada "dozaj telafisi" denen bir olay meydana gelmiştir<sup>35</sup>. Buna göre; kaybolan Y genlerinin X üzerindeki homologlarının iktivitesinin iki katına çıkması gerekirdi. Fakat bu

durum erkeklerde kaybolan proteinlerin yeterli düzeyde sentezini garanti altına alırken; kadınlarda iki X kromozomu olduğu için aşırı protein sentezine neden olacaktı. Nematodlarda, bu duruma engel olmak için, dişilerde X kromozomlarının aktivitesi yarıya düşürülmüştür. Bazı türlerde ise bu durumun tam tersi gözlenir. Yani erkekler, dişilerle eşit oranda transkripsiyon yapabilmek için X genlerinin transkripsiyon hızını iki katına çıkarmışlardır. İnsanlarda ise durum tamamen farklıdır. Buna göre insanlarda X genlerinin aşırı faaliyetinin önlenmesi için X kromozomlarından birisi "X inaktivasyonu" denen bir sürece girer ve genlerini protein sentezine kapatır. Böylece aşırı protein sentezinin önüne geçilmiş olur. Bu olaya dozaj telafisi denir. Yapılan son çalışmalarda memelilerde görülen doz telafisinin, dolayısıyla X inaktivasyonunun, Xic denilen bir merkez tarafından yönetildiği belirlenmiştir. Buna göre hangi X homologunun inaktifleşeceği bu merkez tarafından belirtilmektedir<sup>36-38</sup>. Memelilerde X kromozomu gen içeriği bakımından fazla bir değişime uğramamıştır. Ancak bu durumun bazı istisnaları da bulunmaktadır. Keseli memelilerde X kromozomu genomun % 3'ünü, plesentalı memelilerde ise % 5'ini oluşturmaktadır. Karşılaştırmalı haritalama çalışmalarında X kromozomunun uzun kolu ile kısa kolunun proksimal bölgesinin memelilerde hemen hiç değişime uğramadığı anlaşılmıştır. Yalnız kısa kolun distal bölgesinin otozomlardan orijin aldığı belirlenmiştir. Buna göre Xp11.23 bölgesinin distalinde kalan bölgenin, otozomal orijinli ve dolayısıyla sonradan X kromozomuna ilave olduğu bildirilmiştir<sup>39</sup>. Ayrıca bazı genler X kromozomuna otozomal translokasyonlarla geçmiştir. Örneğin

pürivat dehidrogenaz (PHDA) E1 $\alpha$  alt ünite geni keseli memelilerde otozomal, plesentalı memelilerde ise X'e bağlı bir genidir. Keseli memelilerde bu genin tek kopyası bulunurken plesentalı memelilerde ikinci bir kopyası daha bulunmaktadır. Bu ikinci gen kopyası da otozomlar üzerinde bulunmakta ve intron taşımamaktadır. Bütün bu bilgilerden bu ikinci kopyanın retrotranspozisyonla X kromozomundan otozomlara geçtiği düşünülmektedir<sup>40</sup>.



**Şekil 2.** X kromozomunun diagram ve fotoğraf görüntüsü. Sarıya boyanmış bölge X kromozomunun korunmuş bölgesini, mavi bölge ise ilave olmuş bölgeyi göstermektedir<sup>41</sup>.

Fonksiyonel olmayan alleller, bazen rekombinasyon sonucu aktif hale geçebilirler. Fakat rekombinasyon yoksa bu olayın gerçekleşme şansı da yoktur. X ve Y kromozomları arasındaki rekombinasyonun baskılanmış olmasından dolayı Y kromozomu üzerinde bulunan, fakat cinsiyetin belirlenmesi ve fertilité açısından önemli olmayan, tüm genler dereceli olarak yıkılmıştır. Müller bu duruma yıllar önce dikkatleri çekmiştir. Rekombinasyonun yokluğunda kaçınılmaz olarak meydana gelen bu gen yıkılmasına **Müller kuralı**

denir. Başka bir deyişle rekombinasyonun yokluğunda genler zaman içerisinde delesyona uğramaktadırlar<sup>42,43</sup>. Bununla birlikte Müller kuralına uymayan ilginç istisnalar da bulunmaktadır. Örneğin Y kromozomu üzerinde bulunan ve rekombinasyon yapmayan bazı genler fonksiyonlarını korumaktadırlar. Bunlar birkaç gen olup, fertilité ile ilişkilidirler. Y kromozomu üzerinde bulunan fertilité genlerinin ilginç bir özelliği de bunların çoklu kopyalar halinde bulunmalarıdır. Bu genlerin delesyonları azospermi ile ilgili olduğu için bunlara AZF genleri denir. AZFa, AZFb ve AZFc şeklinde üç AZF gen bölgesi bulunmaktadır. Bu genlerin her biri, çoklu kopyalar halinde Y kromozomu üzerinde bulunmaktadır. Bunlardan AZFa için iki aday gen bulunmaktadır. Bunlar, DFFRY (Drosophila Fat Facets Related Y) ve DBY (Dead Box Polypeptide Y) genleridir. AZFb bölgesi ise, azospermia ile ilişkili olarak izole edilen ilk gen bölgesi olup RBM (RNA Binding Motif) gen ailesini içermektedir. RBM gen ailesi 20 ile 50 arası gen ve psödogenden oluşmaktadır. Bu genlerin ekspresyonları testislerle sınırlıdır. AZFc gen bölgesi, DAZ (Deleted in Azospermia) multigen ailesini içermektedir. DAZ multigen ailesinin, tek kopya halindeki otozomal DAZLA geninden türev aldığı düşünülmektedir. DAZLA geni 3p24 bölgesine yerleşmiş olup, hem testis ve hem de ovaryumun üretken dokusunda eksprese olmaktadır. DAZLA geni, Drozofilada bulunan ve delesyona uğradığında azospermiye neden olan BOULA geni ile de homoloji göstermektedir. Ayrıca RBM ve DAZ genlerinin tamamı RNA metabolizmasına katkıda bulunan bir protein familyasını sentezlemektedirler<sup>44,45</sup>. DAZ geninin, transpozisyonla Y kromozomunun q koluna geçtikten sonra bir seri duplikasyon ve yeniden düzenlenme sürecine girdiği, ancak buna rağmen

bir gen dizisi halinde kalmayı başardığı kabul edilmektedir. Bu gen dizisinin azospermili infertil erkeklerde %5 ile %15 arasında delesyona uğramış olması, söz konusu gen dizisinin fonksiyonel olduğunu göstermektedir. Bu genin Y üzerinde çoklu kopyalarının bulunması, defektif kopyalardan normal kopyaların geliştiği anlamına gelebilir. Bu gelişimin ektopik rekombinasyon sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Bundan dolayı bazı Y genlerinin müller etkisinden kaçabildiği düşünülmektedir<sup>46</sup>.

Karşılaştırmalı genom çalışmalarında, X ve Y kromozomlarının kısa kollarında bulunan 2.6 Mb'lık Psödootozomal bölgenin (PAR1), daha büyük bir psödootozomal bölgeden geriye kalan kısım olduğu ortaya konulmuştur. Örneğin ubiquitin aktive edici enzim (UBE) selektif protein yıkımında, hücrelerin farklılaşma süreçlerinde, DNA tamirinde ve dolayısıyla hücre döngüsünün ilerlemesinde görev alan bir enzimdir. Platypus'ta UBE geni X ve Y kromozomlarının eşleşen lokuslarında bulunmaktadır. Bu gen diğer memelilerin çoğunda da X ve Y kromozomları üzerinde bulunmaktadır. Ancak keseli ve presentalı memelilerde Y ile X kromozomlarının eşleşemeyen bölgelerinde bulunmaktadır. İnsanda ise UBE geni sadece X kromozomu üzerinde bulunmakta, Y üzerinde bulunmamaktadır<sup>47</sup>. Uzun zamandan beri devam etmekte olan farklılaşma sürecine rağmen, X ve Y kromozomları benzer pek çok DNA dizisi içermektedirler. Bu dizilerin bir kısmı Xq21 ve Yp bölgelerine yerleşmişlerdir. Bu bölgeler mayoz sırasında rekombine olmazlar. Bu da Y kromozomunun inversiyon geçirmiş olabileceğini düşündürmektedir. Xq'nun Yp üzerinde homologu olan DNA bloğunun büyüklüğü 4 Mb

uzunluğundadır. Araştırmacılar bu DNA bölgesinin, önce X'ten Y'ye transpozisyonla geçtiğini ve daha sonra Y üzerinde meydana gelen bir inversiyonla fonksiyonunu kaybettiğini düşünmektedirler<sup>48</sup>. Daha sonra yapılan bir çalışmada, bu inversiyonun kırılma noktalarının dizi analizi yapılmış ve LINE dizi elemanlarına rastlanmıştır. Sonuçta LINE elemanları arasında ektopik rekombinasyon meydana geldiği (homolog olmayan bölgenin meydana geldiği) kabul edilmiştir<sup>49</sup>. Bütün bunlar, Y kromozomu üzerinde meydana gelen dramatik değişimlere iyi birer örnek oluşturmaktadırlar.

### **Telomerik ve sentromerik bölgelerin dinamiği**

İnsan genomu, pek çok yeniden düzenlenmelere uğramıştır. Bu düzenlenmeler bazen gen bölgelerini, bazen de gen olmayan bölgeleri etkilemiştir<sup>50</sup>. Gen bakımından zengin olan bölgeler genelde telomerlere yakın bölgelerdir ve bu bölgelerin rekombinasyon frekansları da yüksektir. Olfaktör reseptör familyası gibi multigen familyaları ve mini satelit bölgeleri gibi tekrar dizileri de telomerlere yakın bölgelere yerleşmişlerdir<sup>51</sup>. Subtelomerik bölgeler, genomun en dinamik bölgeleri olup, yeni genlerin oluşumuna ve genetik farklılaşmaya yüksek düzeyde katkı sağlarlar.

Perisentromerik bölgeler de genomun dinamiği açısından oldukça önemlidirler. 10. kromozomun sentromer bölgesinin dizi analizinde, yüksek düzeyde duplikasyon, transpozisyon, inversiyon ve delesyona rastlanmıştır. Tüm genoma ait 3400 Mb'lık sentromer bölgelerinin yaklaşık 50 Mb'ı tamamen dinamiktir<sup>52</sup>. Bu bölgeler, farklı DNA sekanslarının birleştiği ve transpozisyonların meydana geldiği yerlerdir. Transpozisyonla uğrayan

pek çok segment fonksiyonunu yitirmekte ve eksprese olmayan psödogenlere dönüşmektedir. Fakat bazen de gen bütün olarak yer değiştirmekte ve yeni yerinde fonksiyonuna devam etmektedir. Yapılan çalışmalarda; gence zengin Xq28 bölgesinin, sentromerik 16p11.1 bölgesine transpozisyonla geçtiği ve bu transpozisyona bağlı olarak bölgenin duplike olduğu ortaya çıkmıştır. Yine Xq28 bölgesinde bulunan ve 9.7 kb büyüklüğünde olan adrenolökodistrofi (ALD) geninin transpozisyonel duplikasyonla 2p11, 10p11, 16p11 22q11 perisentromerik bölgelerine geçtiği bildirilmiştir<sup>53</sup>. Bu sonuçlar genomdaki dinamizmin mekanizmasını ortaya koymaktadır. Bu bölgelerin DNA dizileri %92-96 oranında ALD geni ile benzerlik göstermektedir. Yaklaşık ökaryotların tamamında sentromerler hızlı bir değişim süreci içerisindedirler. Bütün türlerde sentromer bölgeleri, bol miktarda heterokromatin tekrar dizileri ihtiva ederler. Fakat dizi içerikleri bakımından türler arasında büyük farklılıklar görülmektedir.

Sonuç olarak genom, moleküler ve molekül üstü düzeyde hızlı bir değişim geçirmektedir. Bu değişim çoğu zaman belli kurallar dahilinde gerçekleşirken, bazen de kuralsız değişimler meydana gelebilmektedirler. Ancak bu değişimler kuralsız gibi görünseler de evrende ve canlı organizmaların genomunda kusursuz bir dengenin işlediği kesindir.

### Kaynaklar

1. McClelland M, Sanderson KE, Spieth J, Clifton SW, Latreille P, Courtney L, Porwollik S, Ali J, Dante M, Du F, Hou S, Layman D, Leonard S, Nguyen C, Scott K, Holmes A, Grewal N, Mulvaney E, Ryan E, Sun H, Florea L, Miller W, Stoneking T, Nhan M, Waterston R, Wilson RK. Complete genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2. *Nature*, 2001; 413(6858):852-6.
2. *C. elegans* Sequencing Consortium. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. *Science*, 1998; 282(5396):2012-2018.
3. Mouse genome sequencing consortium. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*, 2002; 420:520-562.
4. www.ornl.gov/sci/techresources/Human\_Genome/publicat/hgn/v10n3/14ecocyc.shtml, 7/12/2003.
5. www.wormbase.org/ 7/12/2003.
6. Maleszka R, Couet HG de Miklos GLK. Data transferability from model organisms to human beings: Insights from the functional genomics of the flightless region of *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad Sci USA*, 1998; 95: 3731-3736.
7. Ohno S. *Evolution by gene duplication*, Springer verlag, New York 1970.
8. Cristian I., Castillo D. and Daniel LH. Conservation, relocation, and duplication in genome evolution. *Trends in Genetics*, 2003; 19:593-597.
9. Nachman MV. Variation in recombination rate across in the genome: evidence and implications. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2002; 12:657-663.
10. Eichler EE. Recent duplication, domain accretion and the dynamic mutation of the human genome. *Trends in Genetics*, 2001; 17: 661-669.
11. Haji-Momenian S, Rieger JM, Macdonald TL, Brown ML. Comparative molecular field analysis and QSAR on substrates binding to cytochrome p450 2D6. *Bioorg Med Chem*, 2003; 11:5545-5554.
12. Landquits E, Johanson I, Ingelmann SM. Genetic mechanisms for duplication and multiduplication of the CYP<sub>2D6</sub> gene and methods for detection of duplicated CYP<sub>2D6</sub> genes. *Gene*, 1999; 226: 327-338.
13. Andrault JB, Gaillard I, Giorgi D, Rouquier S. Expansion of the BPI family by duplication on human chromosome 20: characterization of the RY gene cluster in 20q11.21 encoding olfactory transporters/antimicrobial-like peptides. *Genomics*, 2003; 82:172-84.
14. Nadeau JH, Sankoff D. Comparable rates of gene loss and functional divergence after genome duplications early in vertebrate evolution. *Genetics*, 1997; 147: 1259-1266.
15. Dhananjaya VK. Alternate interferon signaling pathway. *Pharmacology&Therapeutics*, 2003; 100:1-29.
16. Strissel PL, Dann HA, Pomykala HM, Diaz MO, Rowley JD, Olopade OI. Scaffold-associated regions in the human type I interferon gene cluster on the short arm of chromosome 9. *Genomics*, 1998; 47:217-229.

17. Swarga JD, Irwin O. Keratinocyte growth factor is upregulated by the hyperlasia-inducing drug nifedipine. *Academic Press*, 2000;1566- 1570 www.idealibrary.com
18. Kelley MJ, Pech M, Seuanez HN, Rubin JS, O'Brien SJ, Aaronson SA. Emergence of the keratinocyte growth factor multigene family during the great ape radiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 1992; 89:9287-9291.
19. Kupiec M, Steinlauf R. Damage-induced ectopic recombination in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research*, 1997; 384:33-44.
20. Kupiec M, Petes TD. Meiotic recombination between repeated transposable elements in *saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol*, 1998; 8: 2942-2954.
21. Moran JV, DeBerardinis RJ, Kazazian HH Jr. Exon shuffling by L1 retrotransposition. *Science*, 1999; 283(5407):1530-1534.
22. Mikkelsen JG, Yant SR, Meuse L, Huang Z, Xu H, Kay MA. Helper-Independent *Sleeping Beauty* transposon-transposase vectors for efficient nonviral gene delivery and persistent gene expression in vivo. *Mol Ther*, 2003; 8:654-665.
23. Belur LR, Frandsen JL, Dupuy AJ, Ingbar DH, Largaespada DA, Hackett PB, Scott Mclvor R. Gene insertion and long-term expression in lung mediated by the *Sleeping Beauty* transposon system. *Mol Ther*, 2003; 8:501-507.
24. Licznar P, Bertrand C, Canal I, Prere MF, Fayet O. Genetic variability of the frameshift region in IS911 transposable elements from *Escherichia coli* clinical isolates. *FEMS Microbiol Lett*, 2003; 218:231-237.
25. Salem AH, Kilroy GE, Watkins WS, Jorde LB, Batzer MA. Recently integrated Alu elements and human genomic diversity. *Mol Biol Evol*, 2003; 20:1349-1361.
26. Eickbush TH, Furano VA. Fruit flies and humans respond differently to retrotransposons. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2002; 12: 669-664.
27. Dutrillaux B. Chromosomal evolution in primates: tentative phylogeny for *Microcebus murinus* (Prosimian) to man. *Hum Genet*, 1979; 48: 251-314.
28. Dutrillaux B, Couturier J, Sabatier L, Muleris M, Prieur M. Inversions in evolution of man and closely related species. *Ann Genet*, 1986; 29:195-202.
29. Puech A, Saint-Jore B, Funke B, Gilbert DJ, Sirotkin H, Copeland NG, Jenkins NA, Kucherlapati R, Morrow B, Skoultschi AJ. Comparative mapping of the human 22q11 chromosomal region and the orthologous region in mice reveals complex changes in gene organization. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997;94:14608-14613.
30. Clemente IG, Ponsa M, Garcia M, Egozcue J. Evolution of the Simiiformes and the phylogeny of human chromosomes. *Hum Genet*, 1990; 84:493-506.
31. Jackson M. Duplicate, decouple, disperse: the evolutionary transience of human centromeric regions. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2003; 13: 629-635.
32. Rettenberger G, Klett C, Zechner U, Bruch J, Just W, Vogel W, Hameister H. ZOO-FISH analysis: cat and human karyotypes closely resemble the putative ancestral mammalian karyotype. *Chromosome Res*, 1995; 3:479-86.
33. Richard F, Dutrillaux B. Origin of human chromosome 21 and its consequences: a 50-million-year-old story. *Chromosome Res*, 1998; 6:263-268.
34. Gardiner K, Fortna A, Bechtel L, Davisson MT. Mouse models of Down syndrome: how useful can they be? Comparison of the gene content of human chromosome 21 with orthologous mouse genomic regions. *Gene*, 2003;318:137-147.
35. Graves JA, Disteché CM, Toder R. Gene dosage in the evolution and function of mammalian sex chromosomes. *Cytogenet Cell Genet*, 1998;80:94-103.
36. Jegalian K, Lahn BT. Why the Y is so weird. *Scientific American*, 2001; 284: 56-61.
37. Quintana-Murci L, Jamain S, Fellous M. Origin and evolution of mammalian sex chromosomes. *C R Acad Sci III*, 2001;324:1-11.
38. Meller VH. Dosage compensation: making 1X equal 2X. *Trends Cell Biol*, 2000;10:54-59.
39. Wilcox SA, Watson JM, Spencer JA, Graves JA. Comparative mapping identifies the fusion point of an ancient mammalian X-autosomal rearrangement. *Genomics*, 1996;35:66-70.
40. Fitzgerald J, Wilcox SA, Graves JA, Dahl HH. A eutherian X-linked gene, PDHA1, is autosomal in marsupials: a model for the evolution of a second, testis-specific variant in eutherian mammals. *Genomics*, 1993;18:636-642.
41. Jennifer A. Graves M. Human Y chromosome, sex determination, and spermatogenesis- a feminist view. *Biology of Reproduction*, 2000; 63: 667-676.
42. Gorda I, Charlesworth B. The speed of Muller's ratchet with background selection and the

- degeneration of Y chromosomes. *Genet Res*, 2001; 78: 49-61.
43. Andersson SGE; Kurland CG. Reductive evolution of resident genomes. *Trends in Microbiology*, 1998; 6: 263-268.
44. Thangaraj K, Gupta NJ, Pavani K, Reddy AG, Subramanian S, Rani DS, Ghosh B, Chakravarty B, Singh L. Y chromosome deletions in azoospermic men in India. *J Androl*, 2003; 24:588-597.
45. Raicu F, Popa L, Apostol P, Cimponeriu D, Dan L, Ilinca E, Dracea LL, Marinescu B, Gavrila L. Screening for microdeletions in human Y chromosome--AZF candidate genes and male infertility. *J Cell Mol Med*, 2003;7:43-48.
46. Agulnik AI, Zharkikh A, Boettger-Tong H, Bourgeron T, McElreavey K, Bishop CE. Evolution of the DAZ gene family suggests that Y-linked DAZ plays little, or a limited, role in spermatogenesis but underlines a recent African origin for human populations. *Hum Mol Genet*, 1998;7:1371-1377.
47. Mitchell MJ, Wilcox SA, Watson JM, Lerner JL, Woods DR, Scheffler J, Hearn JP, Bishop CE, Graves JA. The origin and loss of the ubiquitin activating enzyme gene on the mammalian Y chromosome. *Hum Mol Genet*, 1998; 7:429-434.
48. Lambson B, Affara NA, Mitchell M, Ferguson-Smith MA. Evolution of DNA sequence homologies between the sex chromosomes in primate species. *Genomics*, 1992;14:1032-1040.
49. Schwartz A, Chan DC, Brown LG, Alagappan R, Pettay D, Distèche C, McGillivray B, de la Chapelle A, Page DC. Reconstructing hominid Y evolution: X-homologous block, created by X-Y transposition, was disrupted by Yp inversion through LINE-LINE recombination. *Hum Mol Genet*, 1998;7:1-11.
50. Bernardi G. The human genome: organization and evolutionary history. *Annu Rev Genet*, 1995; 29:445-476.
51. Trask BJ, Friedman C, Martin-Gallardo A, Rowen L, Akinbami C, Blankenship J, Collins C, Giorgi D, Iadonato S, Johnson F, Kuo WL, Massa H, Morrish T, Naylor S, Nguyen OT, Rouquier S, Smith T, Wong DJ, Youngblom J, van den Engh G. Members of the olfactory receptor gene family are contained in large blocks of DNA duplicated polymorphically near the ends of human chromosomes. *Hum Mol Genet*, 1998;7:13-26.
52. Jackson MS, Rocchi M, Thompson G, Hearn T, Crosier M, Guy J, Kirk D, Mulligan L, Ricco A, Piccininni S, Marzella R, Viggiano L, Archidiacono N. Sequences flanking the centromere of human chromosome 10 are a complex patchwork of arm-specific sequences, stable duplications and unstable sequences with homologies to telomeric and other centromeric locations. *Hum Mol Genet*, 1999;8:205-215.
53. Eichler EE, Budarf ML, Rocchi M, Deaven LL, Doggett NA, Baldini A, Nelson DL, Mohrenweiser HW. Interchromosomal duplications of the adrenoleukodystrophy locus: a phenomenon of pericentromeric plasticity. *Hum Mol Genet*, 1997;6:991-1002.

#### Yazışma adresi:

Erdal TUNÇ

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD.

## Adriyamisinin Oluşturduğu Nefrotoksisitede Melatoninin Koruyucu Etkisinin Ultrastrüktürel Olarak İncelenmesi

### The Ultrastructural Investigation of Protective Effect of Melatonin on Adriamycin-Induced Nephrotoxicity

Ebru BALLI<sup>1</sup>, Ufuk Özgü METE<sup>1</sup>, Abdullah TULI<sup>2</sup>, Mehmet KAYA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Balcalı - ADANA

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Balcalı - ADANA

Geliş Tarihi: 26 Mayıs 2004

Kabul Tarihi:29 Haziran 2004

#### Özet

Adriyamisın tarafından oluşturulan oksidatif stres ve nefrotoksisitede melatoninin koruyucu etkisini araştırmak amacıyla yapılan bu çalışmada Wistar tipi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı. I. gruba % 0.9 NaCl, II. gruba 3 mg/kg/gün dozunda adriyamisın, III. gruba 6 mg/kg/gün dozunda melatonin ve IV. gruba adriyamisın+melatonin kombinasyon tedavisi intraperitoneal olarak uygulandı. Deney sonunda sıçanların böbreklerinden alınan doku örnekleri elektron mikroskopik inceleme için hazırlandı. Elektron mikroskopik incelemede adriyamisın grubunda; podositlerde dejenerasyon, pedisellerde füzyon, glomerül bazal membranında kalınlaşma ve kıvrıntılı bir yapı, proksimal tübül epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler dikkati çekmekteydi. Adriyamisın tedavisine melatonin eklendiğinde tüm dejeneratif değişikliklerin azaldığı gözlemlendi.

#### Anahtar sözcükler: Glomerulus, proksimal

tübül, ultrastrüktür, adriyamisın, melatonin

#### Abstract

This study was designed to investigate the preventive effect of melatonin on the nephrotoxicity and the oxidative stress induced by Adriamycin. Wistar male rats were utilized and the rats were divided into four groups. Group I, 0.9 % NaCl; group II, adriamycin 3 mg/kg/day; group III, melatonin 6 mg/kg/day and group IV, adriamycin and melatonin combination were administered intraperitoneally. At the end of the experiment, tissue samples obtained from the kidney of the rats were processed for the electron microscopic examination. Ultrastructurally, degeneration in podocytes, fusion of pedicels, thickening and tortuosity in glomerular basement membrane, degenerative changes in epithelial cells of

proximal tubule were striking features in the adriamycin group. When the melatonin added to adriamycin treatment all degenerative changes were reduced.

**Key words:** Glomerulus, proximal tubule, ultrastructure, adriamycin, melatonin

### Giriş

Adriyamisin (doxorubicin hydrochloride), antrasiklin antibiyotikler sınıfından bir kemoteratötik ilaç olup kanserlerin çok farklı tiplerine karşı güçlü aktiviteye ve geniş spektruma sahiptir<sup>1</sup>. Ancak birçok organ ve dokuda toksik etkiler oluşturması özellikle de kardiyak toksisite ve renal toksisite potansiyelinden dolayı kullanımı kısıtlıdır<sup>2-9</sup>. Adriyamisin hem deney hayvanlarında hem de insanlarda nefrotoksik etki oluşturduğu yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir<sup>7,8,10-12</sup>. Adriyamisin ile ilişkili nefrotoksisite hem glomerüller hem de tübüler lezyonları içermektedir ve ilacın neden olduğu kronik glomerülo nefrit irreversibl böbrek yetmezliğine ilerleyebilmektedir<sup>7</sup>. Antrasiklinlerin sebep olduğu renal hasarın moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak pek çok çalışmada antrasiklinlerin oluşturduğu toksisitenin oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu sonucu oluştuğu ileri sürülmektedir<sup>7</sup>. Membran lipidleri ve diğer hücresel komponentlerde oluşan oksidatif hasarın adriyamisin ve diğer antrasiklin antibiyotiklerin toksisitesinde majör faktör olduğuna inanılmaktadır. Bundan dolayı doğal ve sentetik antioksidanların kullanımının adriyamisin ve diğer sitotoksik ilaçların oluşturduğu oksidatif strese karşı koruyucu olabileceği birçok

araştırmacı tarafından doğrulanmıştır<sup>3,9,13-17</sup>. Pineal gland ve diğer bazı dokular tarafından üretilen bir hormon olan melatoninin ( N-acetyl-5-methoxytryptamine) son yıllarda antioksidan özelliği üzerinde çok çalışılmıştır<sup>3,5,15-18</sup>. Melatonin organizma için en zararlı radikal olan hidroksil radikalini ortadan kaldıran ve böylece de lipid peroksidasyonu reaksiyonunu engelleyen güçlü bir antioksidandır<sup>19</sup>.

Sunulan çalışmada adriyamisin glomeruluslarda ve proksimal tübüllerde oluşturduğu hasara karşı melatoninin koruyucu fonksiyonunun ultrastrüktürel düzeyde incelenmesi planlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Deneyde, ortalama ağırlıkları 170-220 gr olan Wistar tipi albino, ergin, erkek sıçanlar kullanıldı. Sıcaklık 22±2 °C'de sabit tutuldu. Aydınlik karanlık döngüsü 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlandı. Tüm hayvanların su ve besin alımları serbest olarak sağlandı.

Deney kapsamına 32 adet erkek sıçan alınarak her grupta 8 sıçan olmak üzere, 4 gruba ayrıldı. I. grup; kontrol grubu olarak değerlendirildi ve 4 gün boyunca intraperitoneal olarak %0.9 NaCl uygulandı. II. gruba 3 mg/kg/gün dozunda adriyamisin (Adriblastina-Carlo Erba) 4 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulandı. III. gruba 6 mg/kg/gün dozunda melatonin (Sigma) 15 gün boyunca, IV. gruba ise melatonin + adriyamisin kombinasyon tedavisi uygulandı. Adriyamisin (3 mg/kg/gün) melatoninden (6 mg/kg/gün) 1 gün sonra uygulanmaya başlandı ve iki uygulama arasında 3 saatlik zaman farkı vardı. Melatonin

sabah saat 09.<sup>00</sup>'da, adriyamin saat 12.<sup>00</sup>'de uygulandı. Kombinasyon tedavisi 4 gün tekrarlandı ve daha sonra gruba 15 gününü tamamlayacak şekilde melatonin verilmeye devam edildi.

Tüm tedavinin sonunda anestezi altında tüm deneklere kardiyak perfüzyon uygulandıktan sonra böbrekler eksize edilerek doku örnekleri alındı. Dokular elektron mikroskopik inceleme için Milloning fosfat tamponu ile hazırlanmış %5'lik gluteralehidit ile 4 saat ve %1'lik osmium tetraoksit solüsyonu ile 2 saat süreyle tespit edildi. Daha sonra etil alkol basamaklarından geçirilerek araldit içerisinde gömüldü. Alınan ince kesitler uranil asetat ve lead sitrat solüsyonları ile boyandı ve Zeiss EM 10B elektron mikroskobu ile incelendi. Ayrıca dokuda enzim analizi için her denekten bir parça doku alınarak %0.9 NaCl içerisinde konuldu. Doku örneklerinde tiobarbitürik asit (TBA) metodu<sup>20</sup> ile malondialdehit (MDA) tayinleri yapıldı.

Gruplar arası karşılaştırma tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA) ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Karşılaştırma Student-Newman-Keuls testine göre yapıldı. 0,05'ten küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edildi (p<0,05). Değerler aritmetik ortalama (X) ± standart hata (SE) şeklinde ifade edildi.

## Bulgular

### Biyokimyasal Analizler

Adriyamin uygulanan deney grubuna ait sıçanlarda bir lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit seviyeleri anlamlı bir şekilde artarken, adriyamin ile birlikte melatoninin kombine olarak uygulandığı deney grubunda bu değerlerin adriyamin grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı ve kontrol değerlere ulaştığı saptandı (p<0.05) (Çizelge 1).

Çizelge 1. Kontrol ve deney gruplarına ait malondialdehit sonuçları

	I. Grup (Kontrol) n = 6	II. Grup (Adriyamin) n = 6	III. Grup (Melatonin) n = 6	IV. Grup (Adriyamin+Melatonin) n = 6
Malondialdehit ( nmol / ml ) X±SE	5.51±0.43	14.22±4.25 <sup>a</sup>	4.67±0.43	5.85±1.10 <sup>b</sup>

a; kontrol'e göre anlamlılığı ifade etmektedir, b; adriyamin grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir (a,b: p<0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir).

### Elektron Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubu ile melatonin grubunda; glomerüler kapillerler ve bunları döşeyen endotelial hücreler ile kapillerler arası interstisyumda yerleşim gösteren mezangiyal hücreler normal histolojik özelliklere sahipti.

Glomerüler kapillerleri dıştan saran hücreler olan podositler de normal yapıdaydı (Şekil 1,2).

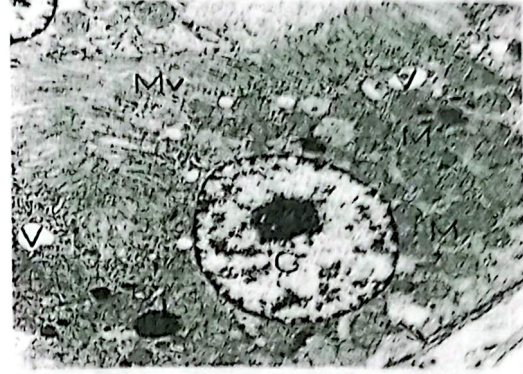


Şekil 1. I. Grup. Glomerüler kapillerler (Kap) ve podositlerin sekonder uzantıları olan pediseller (P) normal yapıda gözlenmektedir. Mezangiyal hücre (MH), bazal lamina (ok). x 10.850

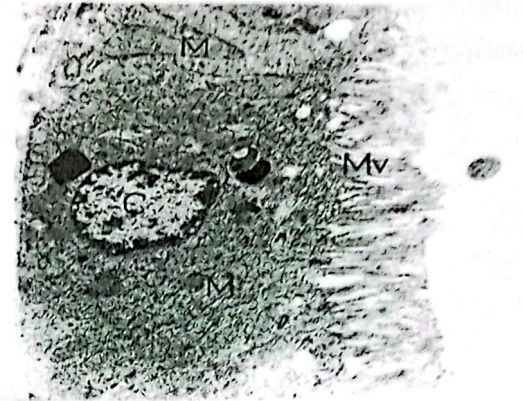


Şekil 2. III. Grup. Glomerüler kapillerleri döşeyen endotelial hücreler (EH) ve pediseller (P) normal yapıda izlenmektedir. Bazal lamina (ok). x 8837,5

Alçak prizmatik şekilli proksimal kıvrıntılı tübül epitel hücreleri merkezi yerleşimli yuvarlak şekilli çekirdeğe sahiplerdi. Hücrenin apikalinde fırçamsı kenar oluşturan çok sayıda mikrovilluslar ve irili ufaklı vakuoller, bazal kısmında hücrenin uzun eksenine paralel dizilim gösteren uzun mitokondriyonlar izlenmekteydi (Şekil 3,4).



Şekil 3. I. Grup. Normal yapıda proksimal kıvrıntılı tübül hücresinin apikalinde çok sayıda mikrovilluslar (Mv), irili ufaklı vakuoller (V), bazalde mitokondriyonlar (M) gözlenmektedir. Çekirdek (Ç), bazal lamina (ok), lizozom (L). x 8837,5



Şekil 4. III. Grup. Normal yapıda proksimal kıvrıntılı tübül hücreleri izlenmektedir. Mikrovillus (Mv), çekirdek (Ç), mitokondriyon (M). x 10.850

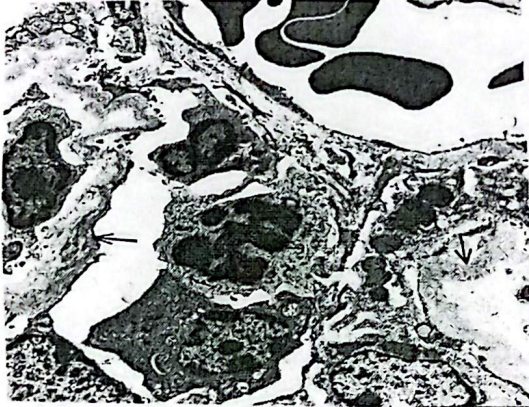
Glomerüler ve tübüler bazal laminalar normal yapıdaydı (Şekil 1,2,3,4).

Adriyamisin uygulanan deney grubunda, çoğu bölgelerde podositlerin sekonder uzantıları olan pedisellerde belirgin füzyon ve dejeneratif değişiklikler dikkati çekmekteydi. Podosit sitoplazmasında lizozomal yapılarda belirgin artış mevcuttu (Şekil 5).



Şekil 5. II. Grup. Podositlerde pedisellerde füzyon (ok) ve lizozomal yapılarda artış (L) gözlenmektedir. Glomerüler kapiller (Kap), endotelial hücre (EH). x 8837,5

Glomerül bazal membranının bazı alanlarda kalınlaşmış düzensizleştiği izlenmekteydi (Şekil 6).



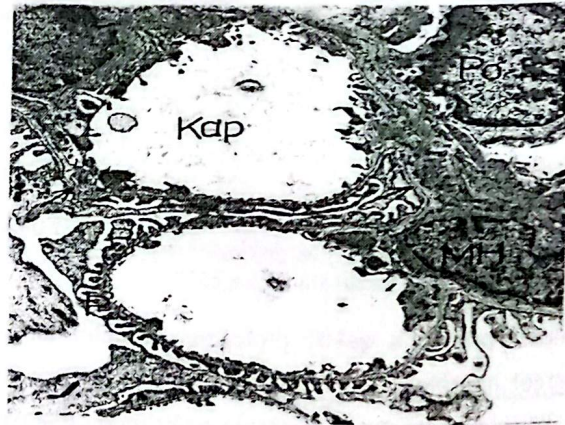
Şekil 6. II. Grup. Glomerül bazal membranında kalınlaşma ve düzensizleşme (ok) izlenmektedir. x 7087,5

Proksimal tübüllerin epitel hücrelerinde dejeneratif değişikliklerin olduğu gözlenmekteydi. Hücrelerin bazal sitoplazmasında pleomorfizm gösteren mitokondriyonlar, lizozomal ve vakuoler yapılar, litik alanlar gözlenmekte olup bazal lamina içeriye doğru parmak şeklinde girintiler oluşturmuştu (Şekil 7).



Şekil 7. II. Grup. Proksimal tübül epitel hücrelerinde pleomorfizm gösteren mitokondriyonlar (M), lizozomal (L) ve vakuoler (V) yapılar ile litik alanlar (\*) gözlenmekte olup bazal laminada içeriye doğru parmak şeklinde girintiler (ok) dikkati çekmektedir. x 7087,5

Adriyamisin ile birlikte melatoninin kombine olarak uygulandığı deney grubunda, podositlerin ve proksimal tübül epitel hücrelerinin normal yapıda olduğu izlenmekteydi. Glomerüler ve tübüler bazal laminalar da normal histolojik özelliklere sahiplerdi (Şekil 8,9).



Şekil 8. IV. Grup. Normal yapıda glomerüler kapillerler (Kap) ve pediseller (P) izlenmektedir. Bazal lamina (ok), mezangiyal hücre (MH), podosit (Po). x 10.850



Şekil 9. IV. Grup. Normal proksimal kıvrıntılı tübül hücresi. Mikrovillus (Mv), çekirdek (Ç), mitokondriyon (M). x 10.850

### Tartışma

Adriyaminin en önemli ve en sık kullanılan kemoterapötik ilaçlardan birisidir<sup>1,21</sup>. Oldukça geniş spektrumlu ve güçlü etkili olmasının sağladığı üstünlüğe karşın toksisitesinin fazlalığı kullanımını kısıtlamaktadır<sup>22</sup>. Adriyaminin ile tedaviyi takiben akut olarak proteinüri, hiperlipidemi, periferik ödem ve glomerüler hasar ile karakterize nefrotik sendromun gelişebileceği ve bunun da kronik glomerülonefrite ve neticede böbrek yetmezliğine yol açabileceği bazı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir<sup>7,10,11,18-23</sup>. Adriyaminin neden olduğu renal hasarın mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte pek çok çalışmada toksisitede serbest oksijen radikallerinin rolü olduğu ileri sürülmüştür<sup>6,7,24,25</sup>. Adriyaminin hücre içinde reaktif oksijen radikallerinin oluşumuna yol açar. Oluşan bu serbest radikaller lipid peroksidasyonuna sebep olur ve bu da membran yapısında ve fonksiyonlarında irreversibl hasara yol açar<sup>3,5,7,15,26,27</sup>. Adriyaminin nefrotoksik etkisini azaltmak için antioksidan bir ajanın kullanımı ile ilgili araştırmalar yapılmış olup, bu

konuda üzerinde çalışılan ajanlardan birisi de melatonin olmuştur<sup>3,9,13,18</sup>.

Adriyaminin oluşturduğu nefrotoksistide melatoninin koruyucu etkisini ultrastrüktürel düzeyde incelemek amacıyla yaptığımız çalışmamızda adriyaminin uygulanan deney grubunda, podositlerde dejenerasyon ile pedisellerde belirgin füzyon dikkati çekmekteydi (Şekil 5). Glomerül bazal membranında yer yer kalınlaşmalar ve kıvrılmalar gözlenmekteydi (Şekil 6). Podositlerde oluşan dejenerasyonun ve glomerül bazal membranında gözlenen kalınlaşmanın adriyaminin etkisiyle meydana gelen oksidatif hasar neticesinde oluştuğu düşünüldü. Yapılan çalışmalarda adriyaminin DNA'ya bağlandığı ve neticede DNA'da fragmentasyona ve DNA sentezinde inhibisyona neden olduğu saptanmıştır<sup>2,28</sup>. Hem DNA sentezinde oluşan bozukluklar hem de serbest radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyonuna bağlı olarak enzimatik süreçlerde oluşabilecek bozukluklar protein metabolizmasını olumsuz yönde etkileyecektir. Lewis ve Gonzalez<sup>29</sup> adriyaminin protein sentezini inhibe ettiğini, kardiyak sitoplazmik ve kontraktıl proteinler ile filamentlerde toksik etki oluşturarak hücresel hasar yaptığını, sitoplazmik aktin seviyesinin azaldığını rapor etmişlerdir. Adriyaminin podosit sitoplazmasında yer alan proteinöz yapılarda ve mikrofilamentlerde oksidatif hasar oluşturarak podosit sitoiskeletini bozduğu ve filtrasyon bariyerinin ana komponentini oluşturan podositlerde oluşan bu harabiyet neticesinde pedisellerin füzyona uğradığı düşünüldü. Raats ve ark.<sup>30</sup> adriyaminin nefropatisinde glomerüler bazal membranda hasar oluştuğunu ve buradan salınan

bazı glikoprotein parçalarının podosit yüzeyinde bulunan glikoprotein yapılarına bağlandığını ve bu etkileşim neticesinde hücre içi sinyal yolu ile pedisellerde füzyon ya da ayrılma oluşabileceğini rapor etmişlerdir. Ayrıca adriyamisin etkisiyle glomerüler kapiller duvarda yer alan bir glikoproteininde azalma ve muhtemelen buna sekonder olarak pedisellerde füzyon gözlemlenmiştir. Füzyona uğramış pedisellerin bazal kısımlarında bu glikoprotein sentezini segmental olarak arttırmaya çalıştıklarını ileri sürmüşlerdir. Adriyamisin etkisiyle oluşan serbest radikallerin bazal membran yapısında bulunan proteinöz yapılarda da dejenerasyona ve kayba yol açtıkları ve sonuçta bazal membranın yapı ve fonksiyonlarının bozulduğu ileri sürülebilir. Bertani ve ark.<sup>11</sup> yaptıkları deneysel çalışmada adriyamisin etkisi ile oluşan serbest radikal hasarı neticesinde bazal membranda anyonik moleküllerde kayıp oluştuğunu ve buna bağlı olarak da proteinüri geliştiğini rapor etmişlerdir. Glomerüler bazal membran güçlü anyonik özellikler gösterir. Bazal membranda yer alan polianyonik glikozaminoglikanlar katyonik partiküllerin ve moleküllerin bazal membrandan geçişini sınırlar<sup>31</sup>. Adriyamisin etkisiyle bazal membranda anyonik yapılarda oluşan kayıp ile proteinöz yapılarda oluşan hasar neticesinde filtrasyon bozukluğunun oluştuğu, buna karşılık podositlerin bir savunma mekanizması olarak bazal membranı yeniden sentezlemeye çalıştıkları düşünülebilir. Podositler tarafından bazal membran yapımı devam ederken, mezangiyal hücreler tarafından yapılacak olan yıkım yeterli olamayacağından bazal membranın kalınlaşmakta olduğu ve kıvrıntılı bir hal aldığı ileri

sürülebilir. Rodrigo ve ark.<sup>32</sup> yaptıkları deneysel çalışmada oksidatif stres neticesinde glomerüler bazal membranda kalınlaşma ve pedisellerde füzyon meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Adriyamisin nefrotoksitesinin ultrastrüktürel olarak araştırıldığı birçok deneysel çalışmada da pedisellerde dejenerasyon, silinme ve füzyon, glomerüler kapillerlerde kollaps, glomerüler bazal membranda kalınlaşma ve düzensizlik rapor edilmiştir.<sup>8,10,11,12,13,33</sup>.

Çalışmamızda proksimal tübül epitel hücrelerinde ve hücre organellerinde meydana gelen yapısal değişikliklerde de adriyamisin etkisi ile oluşan serbest radikallerin rolü olduğu ve serbest radikallerin membranlarda lipid peroksidasyonuna yol açmaları sonucu yapı ve fonksiyonların bozulduğu düşünülmektedir. Görgün ve ark.<sup>13</sup> yaptıkları deneysel çalışmada glomerüler hücreler yanında tübüler epitel hücre organellerinin yapısında çok sayıda anormallikler saptamışlardır. Mitokondrilerde dejeneratif değişiklikler, lizozomal yapılarda artma, sitoplazmada litik alanlar rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda adriyamisin uygulanan gruba ait dokularda ölçülen malondialdehit değerleri kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek ( $p < 0.05$ ) bulundu. Lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan aldehit yapılı bir bileşik olan malondialdehitteki bu artışın adriyamisin tedavisi sırasında oluşan serbest radikallere bağlı olarak oluştuğu düşünüldü. Adriyamisin oluşturduğu nefrotoksitede asıl sorumlu mekanizma olarak düşündüğümüz lipid peroksidasyonunun adriyamisin tedavisi neticesinde arttığı birçok araştırmacı tarafından da rapor edilmiştir.<sup>3,7,9,11,13</sup>.

Serbest radikallere karşı doğal antioksidan savunma sistemleri arasında süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz ve melatonin vardır. Adriyamisin etkisiyle oluşan nefrotoksisitede en büyük etken olarak düşünülen serbest radikallerin etkisini durdurmak amacıyla çalışmada antioksidan bir ajan olan melatonin kullanıldı. Adriyamisin ile birlikte melatonin uygulanan deney grubunda pedisellerdeki füzyon ortadan kalkmıştı ve bazal membran normal kalınlıktaydı (Şekil 8). Proksimal tübül epitel hücrelerinde normal histolojik özelliklere sahip oldukları izlenmekteydi ve bazal laminaları normal yapıdaydı (Şekil 9). Adriyamisin grubunda hem glomerüllerde hem de proksimal tübüllerde belirgin dejeneratif değişiklikler gözlenirken tedaviye melatonin eklendiğinde meydana gelen düzelmelerin, melatoninin antioksidatif etkisine bağlı olduğu düşünülmektedir. Melatonin lipid peroksidasyonunu inhibe etmekte ve sonuçta hücrel dejenerasyon azalmakta veya ortadan kalkmaktadır. Çalışmamızda adriyamisin ve melatoninin kombine uygulandığı deney grubuna ait dokularda ölçülen malondialdehit değerleri tek başına adriyamisin uygulanan deney grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük ( $p < 0.05$ ) bulundu. Adriyamisin tedavisi uygulandığında lipid peroksidasyonunda belirgin artış saptanırken, tedaviye melatonin eklendiğinde saptanan normal değerlerin melatoninin lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkisine bağlı olduğu düşünülebilir. Gerçekten de Agapito ve ark.<sup>3</sup> yaptıkları deneysel çalışmada adriyamisin ile birlikte melatonin verildiği zaman adriyamisin tarafından artırılan lipid peroksidasyonunun inhibe olduğunu

saptamışlardır. Melatoninin bu etkisinin direkt olarak serbest radikal giderici etkisine veya antioksidatif enzimlerin aktivitesini artırıcı etkisine bağlı olabileceğini rapor etmişlerdir. Adriyamisin tedavisi neticesinde lipid peroksidasyonunun anlamlı bir şekilde arttığını buna karşılık tedaviye melatonin eklendiğinde bu artışın kompanse edildiğini rapor eden başka çalışmalar da bulunmaktadır<sup>9,18</sup>. Dzięciel ve ark.<sup>9</sup> adriyamisin etkisiyle böbrekte ışık mikroskopik olarak belirgin tübüler dilatasyon ve atrofi oluştuğunu, tübül lümeninde proteinöz birikim olduğunu, tedaviye melatonin eklendiğinde oluşan bu histolojik değişikliklerin azaldığını rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak çalışmamızda bir kemoterapötik ajan olan adriyamisin kullanımı sonucu hücrelerde oksidatif hasar ve lipid peroksidasyonunun oluştuğu, buna bağlı olarak böbrekte elektron mikroskopik düzeyde yapısal değişikliklerin geliştiği saptandı. Adriyamisin ile melatoninin kombine olarak uygulandığında ise melatoninin, serbest radikal giderici ve lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkisine bağlı olarak hücrel hasarı engellediği sonucuna varıldı.

### Kaynaklar

1. **Katzung BG.** *Basic & Clinical Pharmacology.* 8<sup>th</sup>.Ed., New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2001.
2. **Myers CE, McGuire WP, Liss RH, Ifrim I, Grotzinger K, Young RC.** Adriamycin: the role of lipid peroxidation in cardiac toxicity and tumor response. *Science*, 1977; 197: 165-167.
3. **Agapito MT, Antolin Y, del Brio MT, López-Burillo S, Pablos MI, Recio JM.** Protective effect of melatonin against adriamycin toxicity in the rat. *J Pineal Res*, 2001; 31 (1): 23-30.

4. Ganey PE, Carter LS, Mueller RA, Thurman RG. Doxorubicin toxicity in perfused rat heart. *Circ Res*, 1991; 68: 1610-1613.
5. Xu MF, Ho S, Qian ZM, Tang PL. Melatonin protects against cardiac toxicity of doxorubicin in rat. *J Pineal Res*, 2001; 31 (4): 301-307.
6. Giri SN, Al-Bayati MA, Du X, Schelegle E, Mohr FC, Margolin SB. Amelioration of doxorubicin-induced cardiac and renal toxicity by pirfenidone in rats. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2004; 53 (2): 141-150.
7. Mimnaugh EG, Trush MA, Gram TE. A possible role for membrane lipid peroxidation in anthracycline nephrotoxicity. *Biochem Pharmacol*, 1986; 35 (23): 4327-4335.
8. Burke JF Jr, Laucius JF, Brodovsky HS, Soriano RZ. Doxorubicin hydrochloride-associated renal failure. *Arch Intern Med*, 1977; 137 (3): 385-388.
9. Dzięciel P, Suder E, Surowiak P, Jethon Z, Rabczyński J, Januszewska L, Sopel M, Zabel M. Role of exogenous melatonin in reducing the nephrotoxic effect of daunorubicin and doxorubicin in the rat. *J Pineal Res*, 2002; 33 (2): 95-100.
10. Giroux L, Smeesters C, Boury F, Faure MP, Jean G. Adriamycin and adriamycin-DNA nephrotoxicity in rats. *Lab Invest*, 1984; 50 (2): 190-196.
11. Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, Delaini F, Sacchi G, Thoua Y, Mecca G, Remuzzi G, Donati MB. Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats: sequence of pathologic events. *Lab Invest*, 1982; 46 (1): 16-23.
12. Fajardo LF, Eltringham JR, Stewart JR, Klauber MR. Adriamycin nephrotoxicity. *Lab Invest*, 1980; 43 (3): 242-253.
13. Görgün M, Erdoğan D, Abban G, Türközkan N, Elbeg Ş. Effect of vitamin E on adriamycin-induced nephrotoxicity at the ultrastructural level in guinea pigs. *Nephron*, 1999; 82 (2): 155-163.
14. DeAtley SM, Aksenov MY, Aksenova MV, Harris B, Hadley R, Harper PC, Carney JM, Butterfield DA. Antioxidants protect against reactive oxygen species associated with adriamycin-treated cardiomyocytes. *Cancer Lett*, 1999; 136 (1): 41-46.
5. Dzięciel P, Jethon Z, Suder E, Sopel M, Rabczyński J, Surowiak P, Zabel M. Role of exogenous melatonin in reducing the cardiotoxic effect of daunorubicin and doxorubicin in the rat. *Exp Toxicol Pathol*, 2002; 53 (6): 433-439.
16. Kang YJ, Sun X, Chen Y, Zhou Z. Inhibition of doxorubicin chronic toxicity in catalase-overexpressing transgenic mouse hearts. *Chem Res Toxicol*, 2002; 15 (1): 1-6.
17. Unverferth DV, Jagadeesh JM, Unverferth BJ, Magorien RD, Leler CV, Balcerzak SP. Attempt to prevent doxorubicin-induced acute human myocardial morphologic damage with acetylcysteine. *J Natl Cancer Inst*, 1983; 71 (5): 917-920.
18. Montilla P, Túnez I, Muñoz MC, López A, Soria JV. Hyperlipidemic nephropathy induced by adriamycin: effect of melatonin administration. *Nephron*, 1997; 76: 345-350.
19. Reiter RJ, Carneiro RC, Oh CS. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm Metab Res*, 1997; 29 (8): 363-372.
20. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 1979; 95: 351-358.
21. Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. Antikanser ilaçlar. Oktay Ş, Berkman K, Onat F, Gören Z. *Farmakoloji*. 2. Baskı, İstanbul: Tayf Ofset-Savaş Cilt Evi, 1998: 385-386.
22. Kayaalp SO. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 1. Cilt 6. Baskı, Ankara: Feryal Matbaacılık San. Tic. Ltd. Şti., 1991.
23. Song H, Li X, Zhu C, Wei M. Glomerulosclerosis in adriamycin-induced nephrosis is accelerated by a lipid-rich diet. *Pediatr Nephrol*, 2000; 15: 196-200.
24. Kastner S, Wilks MF, Gwinner W, Soose M, Bach PH, Stolte H. Metabolic heterogeneity of isolated cortical and juxtamedullary glomeruli in adriamycin nephrotoxicity. *Renal Physiol Biochem*, 1991; 14 (1-2): 48-54.
25. Berteli R, Ginevri F, Gusmano R, Ghiggeri GM. Cytotoxic effect of adriamycin and agarose-coupled adriamycin on glomerular epithelial cells: role of free radicals. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 1991; 27A (10): 799-804.
26. Wahab MHA, Akoul ESEMS, Abdel-Aziz AAH. Modulatory effects of melatonin and vitamin E on doxorubicin-induced cardiotoxicity in Ehrlich Ascites Carcinoma-bearing mice. *Tumori*, 2000; 86 (2): 157-162.
27. Xu MF, Tang PL, Qian ZM, Ashraf M. Effects by doxorubicin on the myocardium are mediated by oxygen free radicals. *Life Sci*, 2001; 68 (8): 889-901.

28. **Wassermann K, Mølgaard K, Steiness E.** Similar changes in cardiac morphology and DNA synthesis induced by doxorubicin and 4'-epi-doxorubicin. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1985;15 (3): 244-252.
29. **Lewis W, Gonzalez B.** Anthracycline effects on actin and actin-containing thin filaments in cultured neonatal rat myocardial cells. *Lab Invest*, 1986; 54 (4): 416-423.
30. **Raats CJI, van den Born J, Bakker MAH, Oppers-Walgreen B, Pisa BJM, Dijkman HBPM, Assmann KJM, Berden JHM.** Expression of agrin, dystroglycan, and utrophin in normal renal tissue and in experimental glomerulopathies. *Am J Pathol*, 2000; 156 (5): 1749-1765.
31. **Ross MH, Kaye GI, Pawlina W.** *Histology a Text and Atlas*. 4<sup>th</sup> Ed., Philadelphia: A Wolters Kluwer Company, 2003: 612-614.
32. **Rodrigo R, Trujillo S, Bosco C, Orellana M, Thielemann L, Araya J.** Changes in (Na+K)-adenosine triphosphatase activity and ultrastructure of lung and kidney associated with oxidative stress induced by acute ethanol intoxication. *Chest*, 2002; 121 (2): 589-596.
33. **Wang Y, Wang YP, Tay YC, Harris DCH.** Progressive adriamycin nephropathy in mice: Sequence of histologic and immunohistochemical events. *Kidney Int*, 2000; 58 (4): 1797-1804.

#### Yazışma adresi:

Dr. Ebru BALLI

Ç. Ü. Tıp Fakültesi

Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı.

01330-ADANA

e.mail: ebruballi@cu.edu.tr

## Çukurova Bölgesinde Sağlıklı Kişilerde Kan Kolinesteraz Değerlerinin Saptanması

### Determination of Blood Cholinesterases Values in the Çukurova Region

Safiye TAĞA<sup>1</sup>, Nazan ALPARSLAN<sup>2</sup>, Nurten DİKMEN<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Ç.Ü.Tıp Fakültesi Biyokimya ABD., <sup>2</sup>Biyostatistik ABD. Balcalı-ADANA

Geliş Tarihi: 06 Temmuz 2004

Kabul Tarihi:08 Aralık 2004

#### Özet

Memelilerde, kolinesterlerinin hidrolizinden sorumlu kolinesteraz enzimleri butiril kolinesteraz (BChE) ve asetilkolinesteraz (AChE) olmak üzere iki sınıfa ayrılır. BChE karaciğerde sentezlenerek plazmaya salınmakta, AChE ise özellikle beyin gri maddesi, sinir uçları ve eritrositlerde yer almaktadır. Kolinesteraz enzim aktivitesi, tiyokolin esterlerin hidrolizi sonucu açığa çıkan tiyokolin türevlerinin 5,5 ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) ile oluşturduğu sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asitin 412 nm'de ölçümü (Elman yöntemi) ile değerlendirilmektedir.

Çalışmada, pestisitlerin yaygın olarak kullanıldığı Çukurova Bölgesinde değişik yaş ve cinsiyet gruplarındaki (40 erkek, 40 kadın) sağlıklı bireylerde ortalama kan kolinesteraz aktivite düzeyleri saptanmıştır. Plazma TChE (total kolinesteraz)  $X \pm SD$   $1,98 \pm 0,45$  U/ml, AChE  $0,066 \pm 0,018$  U/ml, BChE  $1,77 \pm 0,41$  U/ml ve eritrosit AChE  $18,42 \pm 4,81$  U/gHb olarak bulunmuştur. Kordon kanı değerleri diğer yaş grupları ile karşılaştırıldığında tüm kolinesteraz aktiviteleri

anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p < 0.005$ ). Cinsiyete göre karşılaştırma yapıldığında ise kadın ve erkek kolinesteraz aktiviteleri arasında fark görülmemiştir.

**Anahtar sözcükler:** Asetilkolinesteraz, butiril kolinesteraz, kan kolinesterazları, kordon kanı

#### Abstract

Cholinesterase enzymes catalyse hydrolysis of cholinesters. Mammals possess two cholinesterases, acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE). Butyrylcholinesterase synthesised by the liver and is present in plasma. Acetylcholinesterase is especially present in brain grey matter, nerve endings and erythrocytes. Hydrolysis of cholinesterases to thiocholine and acetate is used for determination of cholinesterase activity. 5,5 dithiobis (2-nitrobenzoic acid) is added to react with the released thiocholine to form the yellow compound of 5-thio-2 nitrobenzoic acid (absorption 412 nm, Ellman procedure)

In this study, blood cholinesterases activities of healthy individuals (40 women and 40 men) in different age and sex groups were determined in Çukurova region where pesticide are commonly used. Mean plasma values TChE (total cholinesterase)  $X \pm SD$   $1.98 \pm 0.45$  U/ml, AChE  $0.066 \pm 0.018$  U/ml, BChE  $1.77 \pm 0.41$  U/ml and erythrocyte AChE  $18.42 \pm 4.81$  U/g Hb were determined. In comparison with cord blood values and other ages groups, there appeared a remarkable decrease of ( $p < 0.005$ ) all cholinesterase activities. No significant alterations of cholinesterase activities are observed in different sex groups.

**Key words:** Acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, blood cholinesterases, cord blood

### Giriş

Kolinesterazlar, molekül ağırlıkları 70-80 kDa olan glikoprotein yapıdaki katalitik subünitlerin monomer ya da oligomerleridir. İnsan ve diğer vertebralılarda mevcut olan enzimler, başta asetilkolin (ACh)'in asetik asit ve koline dönüştürülmesi olmak üzere, kolinesterlerinin hidrolizinden sorumludurlar<sup>1,2</sup>. Vücutumuzun detoksifikasyonunda rol alan karaciğer ve akciğerde fazla oranda BChE mRNA'sına rastlanması ilgi

çekicidir<sup>3</sup>. Her iki enzimin özellikleri farklılık göstermektedir (çizelge 1)

AChE ve BChE'in ayırımında selektif inhibitörler kullanılmaktadır. Bunlardan 1,5 bis(3-allyldimethylamonyumfenil) pentan-3-on dibromid (BW284C51) AChE inhibitörü, Etopropazin (Lisivan), iso-OMPA (Tetra izopropil profosforamid) ve Bambuterol ise BChE inhibitörleridir. Tabun ve Sarin gibi etkili insektisitler de geri dönüşümsüz olarak kolinesterazları inhibe etmektedirler<sup>4,7</sup>. Organofosfatlı (OP) bileşikler, her iki tip kolinesteraz enziminde de ACh'nin bağlanacağı anyonik bölgeye kovalan bağ ile bağlanır ve enzimatik olarak inaktif proteinler oluştururlar. Bu bağlanma geri dönüşümsüzdür. Yaygın olarak kullanılan birçok pestisitler, insektisitler, sinir gazları gibi bileşikler benzer özellik taşımakta ve BChE aktivitesini düşürmektedirler. Ulusal zehirlenme merkezinin verilerine göre en fazla pestisid intoksikasyon vakasına Tayvan'da rastlanmaktadır<sup>8,11</sup>. Pestisidlerin yanı sıra antidepresan ilaçlar da kolinesterazları inhibe etmektedir<sup>12</sup>.

Çalışmada, insektisitlerin yoğun olarak kullanıldığı bir tarım merkezi olan Çukurova yöresinde değişik yaş ve cinsiyet gruplarındaki sağlıklı bireylerde ortalama kan kolinesteraz aktivitelerini saptamak amaçlanmıştır.

**Çizelge 1:** İnsan dokularındaki kolinesteraz enzimleri<sup>4,5</sup>

Enzimin Adı	Kodlandığı Kromozom	Bulunduğu Yer	Görevi
Asetilkolinesteraz (AChE) (Spesifik, E-tip kolinesteraz, Asetilkolinasilhidrolaz) E.C.3.1.1.7	7q 22	Eritrosit, akciğer, dalak, sinir hücresi uçları ve beyin gri maddesi	Sinir iletimini ve / veya kas kontraksiyonunu başlatan ACh'nin impuls iletiminden sonra yıkımından sorumludur.
Butirilcholinesteraz (BChE) (Non spesifik, S-tip, Psödokolinesteraz (PseChE)) E.C.3.1.1.8	Kromozom 3q 26	Pankreas, kalp, beyin ak maddesi, en fazla plazma ve karaciğerde mevcut	Fonksiyonu tam olarak anlaşılamamıştır. Myorelaksan olarak kullanılan süksinilkolinin yıkımından sorumludur.

## Gereç ve Yöntem

### Kolinesteraz aktivitesi

Kolinesteraz aktivitesi Ellman ve ark. yönteminden uyarlanarak çalışıldı.<sup>13-16</sup>. Asetiltiyokolinin, tiyokolin ve asetat'a hidrolizi sonrası ürün olarak ortaya çıkan tiyokolin ile DTNB (5,5 ditiyobis 2-nitrobenzoik asit)'nin reaksiyonu sonucu meydana gelen sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit miktarı ölçüldü<sup>17-20</sup>.

### Ayırıcılar

0,10 M pH:8.0 Na-K fosfat tamponu saf suda hazırlandı. 0,01 M DTNB 0,10 M pH:7.0 Na-fosfat tamponu içinde;  $8,52 \times 10^{-3}$  M Etopropazin (BChE inhibitörü),  $1,5 \times 10^{-6}$  M BW284C51 (AChE inhibitörü), 0,015 M asetiltiyokoliniodür saf suda çözüldü. Tampon ve DTNB dışındaki çözeltiler günlük olarak hazırlanıp +4 °C'de muhafaza edildi. Kimyasal maddeler Merck veya Sigma firmalarından temin edildi. Kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta idi.

### Deneyin Yapılışı

Ayırıcılar (ml)	Kör	TChE	AChE veya BChE
Na-K tamponu	2,70	2,60	2,55
Örnek	0,20	0,20	0,20
DTNB	0,10	0,10	0,10
Etopropazin veya BW284C51	-	-	0,05
30 °C'de 5 dakika inkübasyon			
Asetiltiyokoliniodür	-	0,10	0,10

0-5 dakika arası aktivite değişimi Shimadzu 260-UV spektrofotometrede 412 nm'de izlendi.

Enzim ünitesi 30°C'de 1 dakikada 1µmol asetiltiyokolin hidrolizini katalizleyen enzim aktivitesi olarak verildi<sup>16</sup>.

$$U/I = \frac{OD_5 - OD_0}{t(5)} \times \frac{\text{Kullanılan total hacim (3 ml)}}{\text{Örnek hacmi (0,2 ml)}} \times \frac{\text{Dilüsyon katsayısı}}{138}$$

### Çukurova Yöresi Normal Populasyon Kan Kolinesteraz Çalışmaları İçin Örnek Temini

Adana'da oturan ve sağlık sorunu bulunmayan değişik yaş ve cinsiyet gruplarındaki kişilerin EDTA'lı tüplere alınan sabah açlık venöz kan örneklerinden faydalanıldı. 10 [(5 kız (k)), 5 erkek(e)] fetal kordon kan örneği, 1-15 yaş arası 8 (4 k, 4 e), 16-30 yaş arası 21, (11 k, 10 e), 31-45 yaş arası 21 (10 k, 11 e), 46-85 yaş arası 20 örnek (10 k, 10 e) en kısa zamanda plazma ve eritrositlerine ayrıştırıldı. Toplam 80 kan örneğinde plazma ve eritrosit kolinesteraz aktivite değişimleri incelendi. Kantitatif olarak, total kolinesteraz ile özgün inhibitörler kullanılarak BChE ve AChE tayinleri yapıldı.

### Plazma ve Hemolizat Hazırlama

Laboratuvara getirilen kan örnekleri 1000 rpm 'de 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayırdı. Eritrosit pelletleri üzerine 3-4 katı hacimde soğuk serum fizyolojik (% 0,9'luk NaCl) eklenerek santrifüj edildi. Süpernatant aspire edilirken eritrosit pelletlerinin üst kısmında tabaka oluşturan lökosit-trombosit içeriği de uzaklaştırıldı. İşlem en az üç kez (süpernatant tamamen berrak olana kadar) tekrarlandı. Hemolizat 1/50 oranında saf su ile seyreltilerek vortekste karıştırıldı. Siyanomethemoglobin yöntemi ile bu seyreltmede hemoglobin tayini yapıldı<sup>21</sup>. Eritrosit enzim aktivitesini ölçmek için hemolizat ikinci kez 1/50

oranında Na-P tamponu ile seyreltildi. Sonuç U/gHb olarak verildi.

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizinde ve grafiklendirilmesinde SPSS (Release 6.0) ve Excell (Version 5.0) paket programlarından yararlanıldı.

### Bulgular

Çukurova yöresinde enzim aktivitesinin genel dağılımını, yaş ve cinsiyetler arasında fark olup olmadığını gözlemek üzere plazma TChE, AChE, BChE'ı ile eritrosit AChE enzimleri toplam 80 sağlıklı kişide çalışılmış ve veriler çizelge 2'de sunulmuştur.

**Çizelge 2:** Normal populasyonun plazma ve eritrosit kolinesteraz aktivite değerlerine ait istatistiksel veriler

	Plaz.TChE (U/ml)	Plaz.AChE (U/ml)	Plaz.BChE (U/ml)	Erit.AChE (U/gHb)
X	1,989	0,066	1,777	18,419
SD	0,450	0,018	0,411	4,812
SE	0,05	0,002	0,046	0,538
Minimum	1,230	0,011	1,000	7,300
Maksimum	3,100	0,110	2,700	28,200
n	80	80	80	80

Çalışmada yaşa bağlı olarak enzim aktivite değişimini izlemek için örnekler değişik yaş gruplarına ayrılarak karşılaştırılmış ve istatistiksel veriler çizelge 3 ve 4'de sunulmuştur.

**Çizelge 3:** Değişik yaş gruplarına ait kolinesteraz düzeylerinin  $\bar{X} \pm SD$  değerleri

	Plaz.TChE (U/ml)	Plaz.AChE (U/ml)	Plaz.BChE (U/ml)	Erit.AChE (U/g Hb)
Yenidoğan(n:10)	1,40 ±0,16	0,049±0,022	1,22±0,157	11,11±2,26
1-15 yaş (n:8)	2,06 ±0,32	0,067±0,009	1,88 ±0,42	21,06 ±3,52
16-30 yaş(n:21)	2,09±0,43	0,068±0,019	1,89±0,42	19,74±4,15
31-45 yaş(n:21)	2,02±0,40	0,068±0,013	1,83±0,33	18,39±3,72
46-85 yaş(n:20)	2,09 ±0,45	0,066±0,017	1,82 ±0,36	19,64 ±4,66

**Çizelge 4:** Değişik yaş gruplarında kolinesteraz enzim aktivitelerinin istatistiksel karşılaştırılması

Yaş grupları	Gruplara ait "P" değerleri			
	Plaz.TChE	Plaz.AChE	Plaz. BChE	Erit. AChE
0 / 1-15	0,000*	0,049*	0,000*	0,000*
0 / 16-30	0,000*	0,026*	0,000*	0,000*
0 / 31-45	0,000*	0,005*	0,000*	0,000*
0 / 46-85	0,000*	0,033*	0,000*	0,000*
1-15 / 16-30	0,817	0,950	0,940	0,435
1-15 / 31-45	0,824	0,830	0,750	0,093
1-15 / 46-85	0,837	0,808	0,755	0,447
31-45 / 16-30	0,582	0,097	0,607	0,275
31-45 / 46-85	0,610	0,575	0,979	0,349
46-85 / 16-30	0,986	0,724	0,611	0,942

\* P < 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Cinsiyetler arasında yapılan enzim aktivite karşılaştırmasının istatistiksel sonuçları çizelge 5'de verilmiştir.

**Çizelge 5:** Cinsiyete göre Plazma (U/ml) ve eritrosit (U/gHb) ChE aktivitelerinin istatistiksel sonuçları

	Erkek				Kadın			
	Plaz. TChE	Plaz. AChE	Plaz. BChE	Erit. AChE	Plaz. TChE	Plaz. AChE	Plaz. BChE	Erit. AChE
X	2,012	0,067	1,787	18,534	1,964	0,063	1,766	18,303
SD	0,422	0,022	0,401	4,896	0,463	0,012	0,426	4,786
SE	0,070	0,003	0,063	0,774	0,073	0,002	0,067	0,757
n	40	40	40	40	40	40	40	40
P					0,635	0,247	0,819	0,832

Erkek ve kadınlara ait örneklerde plazma TChE, AChE, BChE ve eritrosit AChE değerleri karşılaştırıldığında (P > 0.05) cinsiyetler arasında anlamlı bir fark olmadığı bağımsız t testi ile belirlenmiştir.

Deneyin tekrarlanabilirliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada ise varyans katsayısı (CV) %3,57 olarak bulunmuştur.

### Tartışma ve Sonuç

Chubb ve ark. farklı yaş gruplarında, asetiltiyokolin ve butiriltiyokolin substratları ile özgün inhibitörler kullanarak kantitatif serum kolinesteraz aktivitelerini incelemişlerdir. Kordon kanı serumunda AChE aktivitesi 116-859 U/l, BChE 2450-7525 U/l bulunmuş, yenidoğan serumunda AChE aktivitesi tayin

edilememiştir. BChE ise 2600-7750 U/l saptanmıştır. Yetişkin serumunda AChE aktivitesi görülmez iken BChE 8000-11000 U/l olarak elde edilmiştir<sup>22</sup>. Van Sittert, plazma ve eritrosit kolinesteraz aktivitelerini, substrat olarak propiyoniltiyokolin, inhibitör olarak ise eserin salisilat kullanarak ölçmüştür. Reaksiyon hızı, 30 °C'de 10 dakika inkübasyon sonucu 405 nm'de ölçülmüştür. Normal populasyonda tam kan kolinesteraz değeri 4,5-7,5 IU/ml, plazma kolinesterazı 1,5-3,5 IU/ml, eritrosit kolinesterazı 2,6- 4,1 IU/ml olarak saptanmıştır.<sup>16</sup> Beutler ise eritrosit AChE aktivitesini 37 °C'de  $36,93 \pm 3,83$  IU/gHb olarak vermiştir<sup>17</sup>.

Bellibaş ve ark. tarım ilaçlamasında çalışan işçilerin serum kolinesteraz düzeylerini kinetik olarak çalışmışlardır. Aktivite, butiriltiyokolin kullanılarak 405 nm'de okunmuş ve sağlıklı kişilerde normal serum kolinesteraz aktivitesi 3200-7700 U/l bulunmuştur. Serum kolinesteraz düzeyi ile yıllar arasında negatif bir korelasyon gözlenmiştir. İşçilerde, OP'lı ve karbamatlı pestisitlere maruz kaldıkları süre arttıkça serum kolinesteraz düzeyinde anlamlı düşüşler olduğu sonucuna varılmıştır<sup>23</sup>. Gökbel ve ark. eritrosit AChE aktivitesini Lewis ve ark'nın kullandığı yöntemle, plazma BChE tayini ise enzimatik kolorimetrik olarak ölçmüşler, erkeklerde ortalama eritrosit AChE değeri  $9575 \pm 2666$  U/l, kadınlarda  $9889 \pm 2883$  U/l, BChE ise erkeklerde  $4,79 \pm 0,93$  U/l, kadınlarda  $7,00 \pm 2,7$  U/l olarak bulmuşlardır. Ortalama vücut yağ yüzdesinin erkeklerde; BChE, trigliserit, bazal insülin seviyeleri ile pozitif, eritrosit AChE ile negatif; kadınlarda ise bazal insülin, BChE ve LDL ile pozitif, eritrosit AChE ile negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır<sup>24-26</sup>.

Çalışmada, Adana'da oturan sağlıklı kişilerden sağlanan 80 örneğin 30°C'deki plazma TChE aktivitesi ( $X \pm SD$ )  $1,99 \pm 0,45$  U/ml, AChE  $0,066 \pm 0,018$  U/ml, BChE  $1,77 \pm 0,41$  U/ml ve eritrosit AChE değeri ise  $18,42 \pm 4,80$  U/gHb olarak bulunmuştur. Örnekler değişik yaş gruplarına göre gruplandırılarak, enzim

aktivitelerinin yaşlara göre farklılık gösterip göstermediği araştırıldı. 0 yaş grubu plazma TChE, AChE, BChE ve eritrosit AChE aktivitelerinin, 1-15, 16-30, 31-45 ve 46-85 yaş grupları değerlerinden anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür (p değerleri <0.05). Diğer yaş grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında ise dört parametrede de anlamlı bir fark saptanmamıştır. Cinsiyetler arasında kolinesteraz enzim düzeylerinde fark olup olmadığı da araştırılmış ve kadın-erkek kolinesteraz düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Yapılan diğer çalışma sonuçları ile değerlerimiz arasında bazı farklılıklar gözlenmektedir. Değişik yöntemlerle yapılan çalışmalarda elde edilen değerler birbiri ile uyumsuz gibi görünmekte ve değerlendirmede güçlük yaratmaktadır. Enzim aktivitesini etkileyen değişik koşullar; kullanılan substratlar ve konsantrasyonlarının farklılığı, spesifik inhibitörlerin kullanılıp kullanılmayışı, farklı ısı derecelerinde ve pH'da çalışılması şeklinde sıralanabilir<sup>6,14</sup>. Bu gibi farklılıklar, değerlendirmede kolaylık sağlayabilecek bir standardizasyona gidilmesi gerektiğini de ortaya koymaktadır.

Bu çalışma ile Çukurova bölgesinde yaşayan değişik yaş gruplarındaki kişilerde normal kan kolinesteraz düzeyleri saptanmıştır. Sonuçların, özellikle organofosfat zehirlenmelerinin çok sık karşılaşıldığı acil tıp ünitelerinde yararlı olacağına inanılmaktadır.

#### Kaynaklar

1. Herz F, Kaplan E. Review: Human Erythrocyte Acetylcholinesterase. *Pediatr Res*, 1973; 7:204-214.
2. Davidsohn I, Henry JB: *Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. 15th Edition, W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1974.
3. Jbilo O, Bartels CF, Chatonnet A, Toutant JP, Lockridge O. Tissue distribution of human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase Messenger RNA. *Toxicol*, 1994; 32 (11): 1445-1457.

4. Massoulie J, Pezzementi L, Bon S, Krejci E, Vallette FM. Molecular and Cellular Biology of Cholinesterases. *Prog Neurobiol*, 1993; 41:31-91.
  5. Massoulie J, Sussman J, Bon S, Silman I. Structure and Functions of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase. *Prog Brain Res*, 1993; 98:31-46.
  6. Rasmussen Loft AG. Determination of Amniotic Fluid Acetylcholinesterase Activity in the Antenatal Diagnosis of Foetal Malformations: The First Ten Years. *J Clin Chem Clin Biochem*, 1990; 28:893-911.
  7. Whittaker VP. Inhibitory Mechanism and Clinical Applications on of Anticholinesterase. *Biochem Soc Trans* 1994; 22:729-735.
  8. Bardin P G, Van Eeden SF, Moolman AJ, Foden AP, Joubert JR. Organophosphate and Carbamate Poisoning. *Arch Intern Med*, 1994; 154: 1433-1441.
  9. Lockridge O, Bartels CF, Vaughan TA, Wong CK, Norton SE. Complete Amino Acid Sequence of Human Serum Cholinesterase. *J Biol Chem*, 1987; 262:549-557.
  10. Marrs TM. Organophosphate Poisoning. *Pharmacol Ther*, 1993; 58:51-66.
  11. Satoh T, Hosokawa M. Organophosphates and their impact on the global environment. *Neurotoxicology*. 2000; 21(1-2):223-227.
  12. Müller TC, Rocha JBT, Morsch VM, Nels RT, Schetinger MRC. Antidepressants inhibit human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activity. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2002; 1587: 92-98.
  13. Dale G, Archibald A, Bonham JR, Lowdon P. Diagnosis of Neural Tube Defects by Estimation of Amniotic Fluid Acetylcholinesterase. *Br J Obstet Gynaecol*, 1981; 88:120-125.
  14. Hay DL, Ibrahim GF, Horecek I. Rapid Acetylcholinesterase Screening Test For Neural Tube Defect. *Clin Chem*, 1983; 29:1065-1069.
  15. Hullin DA, Elder GH, Laurence KM, Robert A, Newcombe RG. Amniotic Fluid Cholinesterase Measurement As A Rapid Method For The Exclusion of Fetal Neural Tube Defects. *Lancet*, 1981; 15:325-330.
  16. Van Sitterd NJ. Manual Spectrophotometric Method For the Measurement of Erythrocyte and Plasma Cholinesterase (Modified Ellman Method). WHO, Manual of Analytical Methods. Course on Analytical Procedures for Assesment of Exposure to Organophosphorous Pesticides, Cremona, Italy, 2-6 September, 1985.
  17. Beutler E. Red Cell Metabolism, A Manual of Biochemical Methods. 3th Edition, Grune and Stratton, London, 1984; 103-104.
  18. Champe PC, Harvey RA. Biochemistry. 2nd Edition J.B.Lippincott Company, Philadelphia, 1987; 416.
  19. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. In Tietz Textbook of Clinical Chemistry (Eds. Burtis CA and Ashwood ER) WB Saunders Company, Philadelphia, 1994; 735-896.
  20. Worek F, Mast U, Kiderlen D, Diepold C, Eyer P. Improved determination of acetylcholinesterase activity in human whole blood. *Clinica Chimica Acta*, 1999; 288:73-90 .
  21. Kaplan LA, Pesce AJ. Clinical Chemistry. Theory, Analysis and Correlation. 2nd Edition. The C.V.Mosby Company, Philadelphia, 1989; 913-916.
  22. Chubb IW, Springell HJ, Pilowsky PM, Springell HJ, Pollard AC. Acetylcholinesterase in Human Amniotic Fluid: An Index of Fetal Neural Development? *Lancet* 1979; 31:688-690.
  23. Bellibaş SE, Tuğlular I. Chronic Exposure to Pesticides and Depression of Serum Cholinesterase Activity in Agricultural Workers. *Tr J med Sci*, 1994; 20:9-10.
  24. Whittaker VP. Inhibitory Mechanism and Clinical Applications on of Anticholinesterase. *Biochem Soc Trans* 1994; 22:729-735.
  25. Gökçen M, Gökbel H, Kaptanoğlu B. Değişik Vücut Ağırlıklarına Sahip Kişilerde Plazma ve Eritrosit İçin Kolinesteraz Aktiviteleri ve Çeşitli Plazma Parametre Değerleri. *J Turgut Özal Medical Center*, 1994; 1:126-131.
  26. Kalman J, Rakonczay Z, Abraham G, Boda K, Farkas T, Penke B. Letter to the editor. Serum butyrylcholinesterase activity in hyperlipidaemia. *Atherosclerosis*, 2004; 173:145-146
- Bu çalışma SBE. 95-18 nolu proje ile desteklenmiştir.
- Yazışma adresi:**
- Uzm.Bio. Safiye TAGA  
Ç.Ü.Tıp. Fak. Balcalı  
Hast. Kadın Hast ve Doğum AD  
ÜYTEM (Tüp Bebek) merkezi  
Tel: 3681  
e-mail:staga@cu.edu.tr

## Nöral Tüp Defektlerinin Prenatal Tanısında Amniyotik Sıvı Kolinesteraz Enzimlerinin Önemi

### The Importance of Cholinesterase Enzymes in Amniotic Fluid at Prenatal Diagnosis of Neural Tube Defects

Safiye TAĞA<sup>1</sup>, Tuncay ÖZGÜNEN<sup>2</sup>, Nurten DİKMEN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ç.Ü.Tıp Fakültesi Biyokimya ABD,<sup>2</sup>Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD. Balcalı - ADANA

Geliş Tarihi: 06 Temmuz 2004

Kabul Tarihi:08 Aralık 2004

#### Özet

Nöral tüp defektleri (NTD), santral sinir sisteminin önemli doğumsal anomalilerindedir. Anensefali ya da açık spina bifidalı olgularda; fetal serum ya da serebrospinal sıvı direk veya membrandan sızınıyla amniyotik sıvıya geçerek kolinesteraz düzeylerini yükseltir. Bu çalışmada, NTD veya benzeri anomali olasılığı olan gebeliklerin ayırıcı tanısı için toplam 65 amniyotik sıvıda kolinesteraz aktiviteleri incelenmiştir. Değerlendirmede ultrasonografi (USG) kriterleri esas alınmıştır. Normal gebeliklerin amniyotik sıvı ortalama kolinesteraz aktiviteleri U/l olarak (n=45) total kolinesteraz (TChE)  $8,60 \pm 2,30$ , asetilkolinesteraz (AChE)  $3,90 \pm 1,20$ , butirikolinesteraz (BChE)  $4,60 \pm 1,90$ ; anormal gebeliklerde (n=18) TChE  $35,20 \pm 22,20$ , AChE  $9,30 \pm 6,40$ , BChE  $25,85 \pm 19,40$  bulunmuştur. Tüm parametrelerin anormal grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek oldukları görülmüştür (p < 0.001).

Amniyotik sıvı örneklerinde kolinesteraz aktivite değişimlerinin güvenilirliğini saptamak için sensitivite, spesifite, negatif ve pozitif prediktif değerleri (PV) hesaplanmıştır. TChE için sırasıyla spesifite %97,77, sensitivite %77,77 ve PV<sup>+</sup> %93,30, PV<sup>-</sup> %91,70 'dir. AChE için spesifite %100, sensitivite %72,22 ve PV<sup>+</sup> %100, PV<sup>-</sup> %90, BChE için spesifite %97,77, sensitivite %77,77 ve PV<sup>+</sup> %93,30, PV<sup>-</sup> %91,66 olarak bulunmuştur. Bu verilerle AChE artışının görüldüğü vakalarda mutlaka bir anomallik söz konusu olduğu sonucuna varılmıştır. Bunun yanında TChE ve BChE artışlarının da kesinlikle gözönüne alınması gerektiği görülmüştür.

**Anahtar sözcükler:** Nöral tüp defekti, amniyotik sıvı, asetilkolinesteraz, butirikolinesteraz

#### Abstract

Neural tube defects are important congenital abnormalities of central nervous system. In

anencephaly and open spina bifida , fetal serum or serebrospinal fluid pass into amniotic fluid directly or leake from membrane and increases the levels of cholinesterases.

In this study, total 65 amniotic fluid cholinesterase activities were studied to determinate pregnancies with the risk of Neural Tube Defects (NTD) or similar anomaly. Ultrasonography (USG) result were used as criteria. Mean values of amniotic fluid cholinesterase activities (U/l) in normal pregnancies (n=.45) total cholinesterase (TChE):  $8.60 \pm 2.30$ , acetylcholinesterase (AChE):  $3.90 \pm 1.20$ , butrylcholinesterase (BChE):  $4.60 \pm 1.90$ ; in abnormal pregnancies (n=18) TChE  $35.20 \pm 22.20$ , AChE  $9.30 \pm 6.40$ , BChE  $25.85 \pm 19.40$ . These three values were significantly higher than the normal group ( $p < 0.001$ ).

Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values ( $PV^+$ ,  $PV^-$ ) were calculated to determine reliability of the changes in cholinesterase activity in amniotic fluid samples. Specificity for TChE, 97.77 %, sensitivity 77.77 %,  $PV^+$  93.30%,  $PV^-$  91.70 %; for AChE, specificity 100 %, sensitivity 72.22 %,  $PV^+$  100 %,  $PV^-$  %90; for BChE, specificity 97.77 %, sensitivity 77.77 %,  $PV^+$  93.30 %,  $PV^-$  91.66 %. High sensitivity and specificity values of these three parameters and the correlation with ultrasonografy explain the sensitivity of the study. It has been suggested that high AChE values indicate as abnormal position. Besides, change in TChE and BChE values should be considered.

**Key words:** Neural tube defects, amniotic fluid, acetylcholinesterase, butrylcholinesterase

### Giriş

İnsan ve çoğu omurgalıda mevcut olan kolinesteraz (ChE) enzimleri, başta asetilkolin (ACh)'in asetik asit ve koline dönüştürülmesi olmak üzere, kolin esterlerinin hidrolizinden sorumludurlar. Memelilerde iki tip kolinesteraz enzimi mevcuttur. Bunlar; a) Asetilkolinesteraz (asetilkolinasilhidrolaz) (AChE, E.C.3.1.1.7), b) Psödokolinesteraz ya da Butirilkolinesteraz, (asilkolinasilhidrolaz) (BChE, E.C.3.1.1.8)<sup>1-5</sup>. Farklı kaynak ve substrat özgüllüğünde olan bu enzimlerden BChE plazma, karaciğer, pankreas, kalp ve beyin ak maddesinde mevcuttur. En fazla karaciğerde sentezlenip plazmaya salınan enzim, insan embriyosu koriyonik villuslarında da yapılmaktadır. AChE ise kolinerjik transmisyonunda önemlidir<sup>4-6</sup>.

Embriyonal gelişim sırasında beyin veya spinal kordun tam kapanmaması veya dışarıda oluşması sonucu meydana gelen Nöral Tüp Defektleri'nin (NTD) etyolojisi moleküler düzeyde henüz tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Folat eksikliği ya da antiepileptik ilaç kullanımı etkenler arasında sayılmaktadır<sup>7</sup>. Görülme sıklığı 1/1200 canlı doğum olarak belirtilmiştir<sup>8</sup>. Amniyotik sıvıya geçtiği bilinen ChE enzimlerinin incelenmesi, prenatal tanıya yardımcı olabilmek için büyük önem arz etmektedir. Özellikle amniyotik sıvıya direk temas eden sinir uçlarından kaynaklanan ChE artışlarının, NTD'leri ve diğer nöronal orijinli

anomalilerin prenatal tanısında kullanılabileceği belirtilmektedir<sup>9-13</sup>. Muller ise amniyotik sıvı kolinesteraz elektroforezinde, açık NTD'li vakalarda BChE bantının yanında bir de AChE bantının görüldüğünü belirtmiştir<sup>14</sup>. Brennan ve ark. artmış maternal serum AFP yüksekliğinin yanında AChE artışının da NTD'lerinin tanısında önemli olduğunu vurgulamışlardır<sup>15</sup>.

Çalışmada, amniyotik sıvı ChE aktiviteleri tayin edilerek Çukurova bölgesindeki NTD riski taşıyan gebeliklerin prenatal tanısında bu enzimlerin yerini araştırmak ve Ultrasonografi (USG) verilerine yardımcı olmak amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

### Örnek Temini ve Hazırlanması

Araştırmaya ait amniyotik sıvı örnekleri Ç.Ü.Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran, gebelik haftaları 15 ile 32 hafta arasında değişen ve farklı nedenlerden ötürü riskli gebelik olarak değerlendirilen 65 gebeden sağlandı. USG yardımıyla alınan amniyotik sıvı örneklerinin ChE aktiviteleri hemen ve en az iki kez tekrarlanarak çalışıldı. 3 ml amniyotik sıvısı debris ve/veya eritrositlerini uzaklaştırmak amacıyla 1000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatanı ayrıldı. Pellete makroskopik ve mikroskopik olarak bakıldı; eritrosit varsa hemoglobin elektroforezi uygulanarak kontaminasyonun kaynağı araştırıldı.

Asetiltiyokolinin, tiyokolinin ve asetata hidrolizi sonrası ürün olarak ortaya çıkan tiyokolinin ile DTNB (5,5 ditiyobis 2-nitrobenzoik asit)'nin reaksiyonu

sonucu meydana gelen sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit miktarı ölçüldü<sup>16-19</sup>. Amniyotik sıvı ChE aktivitesi Ellman ve ark. yönteminden uyarlanarak dilüe edilmeden çalışıldı<sup>9,19</sup>.

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizinde ve grafiklendirilmesinde SPSS (Release 6.0) ve Excell (Version 5.0) paket programlarından yararlanıldı.

### Ayırıcılar

0,10 M pH:8.0 Na-K fosfat tamponu saf suda hazırlandı. 0,01 M DTNB, 0,10 M pH:7.0 Na-fosfat tamponu içinde; 8,52 x10<sup>-3</sup> M Etopropazin (BChE inhibitörü), 1,5 x10<sup>-6</sup> M BW284C51 (AChE inhibitörü), 0,015 M Asetiltiyokolinyodür saf suda çözüldü. Tampon ve DTNB dışındaki çözeltiler günlük olarak hazırlandı. Merck veya Sigma firmalarından temin edilen kimyasal maddeler analitik saflıkta idi. Deneyin yapılışı aşağıdaki sırayı izlemektedir.

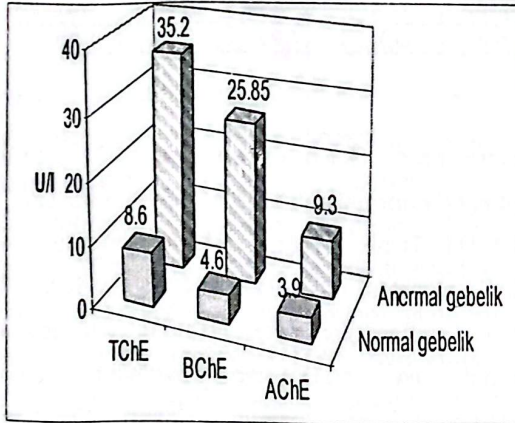
Ayırıcılar (ml)	Kör	TChE	AChE veya BChE
Na-K tamponu	2,70	2,60	2,55
Amniyotik sıvı	0,20	0,20	0,20
DTNB	0,10	0,10	0,10
Etopropazin veya BW284C51	-	-	0,05
30 °C'de 5 dakika inkübasyon Asetiltiyokolinyodür	-	0,10	0,10

0-5 dakika arası aktivite Shimadzu 260-UV'de 412 nm'de izlendi.Enzim ünitesi 30°C'de 1 dakikada 1µmol asetiltiyokolinin hidrolizini katalizleyen enzim aktivitesi olarak değerlendirildi.

$$U/l = \frac{OD_5 - OD_0}{t (5)} \times \frac{\text{Kullanılan total hacim (3 ml)} \times 1000}{\text{Örnek hacmi (0,2 ml)} \times 13,6}$$

## Bulgular

USG'a göre normal gebeler ile anormal fetüse sahip gebelerin amniyotik sıvı ChE düzeyleri değerlendirildiğinde normal gebeliklerin TChE  $X \pm SD$  değeri  $8,60 \pm 2,30$  U/l , AChE  $3,90 \pm 1,20$  U/l, BChE  $4,60 \pm 1,90$  U/l, anormal gebeliğe ait (n=18) değerler TChE  $35,20 \pm 22,20$  U/l, AChE  $9,30 \pm 6,40$  U/l, BChE  $25,85 \pm 19,40$  U/l olarak bulunmuştur. TChE, AChE ve BChE düzeyleri arasındaki farklılığın P(0.001) anlamlı olduğu bağımsız t testi ile saptanmıştır (şekil 1).



Şekil 1. Normal ve anormal gebeliklerin ortalama kolinesteraz değerlerinin karşılaştırılması

USG ile normal ancak anne kanı ile kontamine olduğu için değerlendirme dışı bırakılan iki olgunun değerleri sırasıyla 1. hasta U/l olarak TChE 17,50 AChE 5,20, BChE 12,30 ve Hemogloblin AS, 2.hasta TChE 25,0, AChE 6,40, BChE 18,60 ve Hemogloblin A olarak bulunmuştur. Anormal gebeliğe sahip grup, kendi içinde, spina bifida+ anensefalili (n=9) olgulardan oluşan ve diğer anomalilerin oluşturduğu (n=9) grup olmak üzere ikiye ayrılıp bağımsız t testi ile

karşılaştırılmıştır. Diğer anomaliler grubu, ektopik astroşizis, nonimmün hidrops fetalis, boyun fibrozisi, intestinal obstruksiyon, fetal kistik hidroma, kranial meningomiyelose, meningomiyelose+hidrosefali olgularından oluşmaktadır. Spina bifida+anensefalili olguların bulunduğu grupta  $X \pm SD$  olarak sırasıyla TChE  $46,09 \pm 20,04$  U/l, AChE  $10,5 \pm 6,09$  U/l, BChE  $36,45 \pm 19,65$  U/l olarak saptanmış; diğer anomalilerin oluşturduğu grup TChE düzeyi  $23,43 \pm 17,9$  U/l, AChE  $8,16 \pm 6,79$  U/l, BChE  $15,27 \pm 12,80$  U/l olarak bulunmuştur. Bu parametreler karşılaştırıldığında TChE için  $P < 0,02$ , ancak AChE için  $P > 0,05$ 'tir. BChE için  $p < 0,01$  oranında anlamlıdır (çizelge 1).

Çalışmada kullandığımız yöntemin güvenilirlik ve duyarlılığını ortaya koymak amacıyla kalite kontrol analizleri yapıldı. Normal grubun ChE aktivitelerinin cut-off değeri olarak  $X \pm 2SD$  alınarak TChE, AChE ve BChE için sensitivite ve spesifite değerleri ile negatif ve pozitif prediktif değerleri ( $PV^+$  ve  $PV^-$ ) hesaplandı.

Anormal gebeliği oluşturan tüm grubun TChE değerlerinde cut-off değerinin altındaki vaka sayısı (YN) 4 olgu, üstünde olanlar (GP) 14 olgu, normal grupta cut-off un altındaki vaka sayısı (GN) 44, üstündeki vaka sayısı (YP) 1'dir. Bu değerlere göre TChE için spesifite %97,77, sensitivite ve  $PV^+$  %93,30,  $PV^-$  %91,70'dir.

Anormal gebelik grup AChE değerlerinde YN=5, GP=13, normal grup AChE YP=0, GN=45'dir. Buna göre AChE için spesifite %100, sensitivite %72,22 ve  $PV^+$  %100,  $PV^-$  %90, olarak bulundu. Anormal grup BChE değerlerinde YN=4,

GP=14, normal grup BChE değerlerinde YP=1, ve PV<sup>+</sup> %93,30, PV %91,66 olarak hesaplandı, GN= 44'dür. Spesifite %97,77, Sensitivite %77,77

**Çizelge 1.** Anormal grubun ChE değerlerinin karşılaştırılması (U/l)

Spina Bifida+ Anensefali						Diğer Anomaliler				
No	Yaş	Geb. Haf.	T ChE	AChE	BChE	Yaş	Geb. Haf.	T ChE	AChE	BChE
1	20	19	40,76	6,00	34,76	22	16	33,20	6,70	26,50
2	22	18	82,80	17,50	65,30	34	30	16,10	3,70	12,40
3	28	17	59,00	7,50	51,50	28	16	11,50	7,40	4,10
4	27	18	34,60	7,50	27,10	38	29	20,70	9,20	11,50
5	33	20	73,50	7,00	66,5	31	17	60,50	24,70	35,80
6	35	19	34,50	10,50	24,00	27	17	11,20	9,00	2,20
7	21	20	44,60	23,60	21,00	20	19	40,60	8,40	32,20
8	32	18	28,60	5,50	23,10	28	30	9,80	2,60	7,20
9	30	26	24,26	9,40	14,86	23	19	7,30	1,76	5,54
X	27,55	19,44	46,95	10,50	36,45	27,9	21,4	23,43	8,16	15,27
SD	5,50	2,65	20,42	6,09	19,65	5,8	6,3	17,90	6,79	12,80

### Tartışma ve Sonuç

Nöronal kolinerjik aktivite ile ilgili problemlerin bir kısmında AChE aktivite değişimlerinin tanıya yardımcı olabileceği belirtilmektedir. Sinir dokusundan kaynaklanan AChE, fetal serum ve serebrospinal sıvıda erişkinlere oranla daha fazla bulunmaktadır. Bu nedenle NTD'lerin prenatal tanısında AChE tayininden faydalanabileceği öne sürülmüştür,<sup>4, 9,10, 20-23</sup>.

Hay ve ark. çalışmasında normal grupta AChE aktivitesi 1,2-6,8 U/l, TChE 3,2-11,5 U/l iken NTD'li gebelerde AChE 6,2-38 U/l, TChE 8-52 U/l olarak bulunmuştur<sup>24</sup>. Dale ve ark. 14-24 gebelik haftaları arasında normal gebelerde amniyotik sıvı AChE düzeyini 2,56±1,10 U/l, anormal gebeliklerden açık SB'lılarda 5,5-20,4 U/l, anensefalilerde 10,2-19,5 U/l, eksomfalusda 2,7-15,6 U/l, intrauterin ölümlerde 30,2-59,3 U/l ve Turner sendromunda 36,4 U/l olarak

bulmuşlardır<sup>9</sup>. Hullin ve ark. ise 14-22 gebelik haftasında normal gebelikte AChE aktivitesi 2,2-13,4 U/l, TChE 2,7-21,6, NTD'li gebelerde ise TChE aktivitesi 11,8-91,8, AChE 8,0-48,9 U/l olarak saptamışlar fakat AChE'in tek başına normal ile NTD'lerinin ayırımında esas alınamayacağı sonucuna varmışlardır<sup>25</sup>. Chubb ve ark SB'lı olgularda AChE 4,5 U/l, BChE 20,9 U/l, Anensefalili olgularda AChE 23,2 U/l, BChE 111,7 U/l, normal gebeliklerde ise 14-23.haftalar arasında ortalama AChE aktivitesi 2,8 U/l olarak belirtmişlerdir<sup>26</sup>. Seller ve ark. tarafından normal grupta AChE 5,97 mü/ml, Intrauterin ölümlerde 64,7±15,9 mü/ml, anensefalide 9,5 mü/ml, açık SB'larda 7,9 mü/ml olarak saptanmış fakat eksomfalusda AChE düzeyinde bir artış görülmemiştir. Her dört anomalide de amniyotik sıvı AFP'ninde yükselme gözlenmiştir. AFP değerlerinin yanlış pozitif ve negatif sonuçlara yol

açtığı, kantitatif AChE yönteminin AFP tayininden daha üstün olduğu sonucuna varılmıştır<sup>18</sup>. Smith ve ark. çalışmalarında NTD'lerinde ortalama AChE değerini 9,91U/l açık SB'larda AChE 7,21 olarak bulmuşlardır<sup>27</sup>.

Çalışmamızda 18 anormal ve 45 normal gebeliğe ait ve anne kanı bulaşması nedeniyle değerlendirme dışı bırakılan 2 örnek olmak üzere gebelik haftaları 15- 32 haftalar arasında değişen toplam 65 gebeye ait amniyotik sıvı kolinesteraz değerleri USG değerlendirmesi ile karşılaştırılmış ve anlamlı farklılıklar saptanmıştır. Normal gebeliklerin ve NTD veya diğer nöronal orijinli anomalilerin ayırımında bazı literatürlerde sadece AChE değerinin tanıda önemli olduğu vurgulanmaktadır.

Sonuçlarımız değerlendirildiğinde, yalnızca AChE'in değil, yanısıra, TChE ve BChE aktivitelerindeki artışlarının da önemle göz önüne alınması gerektiği sonucuna varılmıştır. TChE, hem AChE, hem de BChE artışından etkilenmektedir. Spina bifida+anensefali'li olgular ile diğer grup anomalileri karşılaştırıldığında SB+anensefali'li grupta BChE değerinin anlamlı derecede yüksek olduğu, bu ayırımla da enzim aktivitesinin klinisyenlere yardımcı olabileceği ortaya çıkmaktadır.

Anne ve fetüs kanı kontaminasyonları yalancı pozitiflik oranını arttırmaktadır. Serum ve eritrositler amniyotik sıvıdan çok fazla oranda AChE (eritrosit) ve BChE (serum) aktivitesi içermektedir. Bu nedenle en ufak bir kontaminasyon sonucunda amniyotik sıvı kolinesteraz düzeylerinde artış görülmüştür.

Çalışmamızda da anne kanı kontaminasyonu sonucunda yüksek kolinesteraz değerleri veren fakat normal olan iki olgu tespit edilmiş ve değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Her üç paramatrenin sensitivite ve spesifite değerlerinin yüksekliği ve USG sonuçları ile yüksek uyum göstermesi ChE aktivite tayinlerinin hassas ve duyarlı olduğunu doğrulamaktadır. Özellikle AChE düzeyinde bir artış söz konusu ise NTD yönünden kesinlikle bir patoloji vardır diyebiliriz. Amniyotik sıvı BChE yüksekliğinin de kesinlikle göz ardı edilmemesi gerektiği ortaya çıkmıştır. Yöntem kolay uygulanabilirliği ve kısa sürede sonuç verilebilmesi açısından tercih edilebilecek düzeydedir.

## Kaynaklar

1. Davidsohn I, Henry JB. Clinical Diagnosis by Laboratory Methods. 15th Edition, Philadelphia, W.B.Saunders Company, 1974.
2. Herz F, Kaplan E. A Review: Human Erythrocyte Acetylcholinesterase. *Pediatr Res*, 1973;7:204-214.
3. Loewenstein Y, Gnatt A, Neville LF, Zakut H, Soreq H. Structure-Function Relationship Studies in Human Cholinesterases Reveal Genomic Origins for Individual Variations in Cholinergic Drug Responses. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*, 1993; 17:905-926.
4. Massoulie J, Pezzementi L, Bon S, Krejci E, Vallette FM. Molecular and Cellular Biology of Cholinesterases. *Prog Neurobiol*, 1993; 41:31-91.
5. Massoulie J, Sussman J, Bon S, Silman I. Structure and Functions of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase. *Prog Brain Res*, 1993; 98:31-46.
6. Layer PG, Willbold E. Cholinesterases in Avian Neurogenesis. *Int Rev Cytol*, 1994; 151:139-181.

7. **Rajesh R, Thomas SV.** Prenatal screening for neural tube defects. *Natl Med J India*, 2001;14:343-346.
8. **Jallo G.** Neural Tube Defects. Erişim: <http://www.emedicine.com/neuro/topic244.htm>. 2003; Erişim tarihi: 8.06.2004
9. **Dale G, Archibald A, Bonham JR, Lowdon P.** Diagnosis of Neural Tube Defects by Estimation of Amniotic Fluid Acetylcholinesterase. *Br J Obstet Gynaecol*, 1981; 88:120-125.
10. **Lemire J R.** Neural Tube Defects. *JAMA*, 1988; 259: 558-562.
11. **Rasmussen Loft AG.** Determination of Amniotic Fluid Acetylcholinesterase Activity in the Antenatal Diagnosis of Foetal Malformations: The First Ten Years. *J Clin Chem Clin Biochem*, 1990; 28:893-911.
12. **Rush D, Rosenberg IH.** Folate Supplements and Neural Tube Defects. *Nutrillon*, 1992; 50:25-26.
13. **Wald DJ, Cuckle HS.** Amniotic Fluid Acetylcholinesterase Electrophoresis as a Secondary Test in the Diagnosis of Anencephaly and Open Spina Bifida In Early Pregnancy. *Lancet*, 1981; 321-326.
14. **Muller F.** Prenatal biochemical screening for neural tube defects. *Child's Nerv Syst*. 2003; 19(7-8): 433-435.
15. **Brennand DM, Jehanli AM, Wood PJ, Smith JL.** Raised levels of maternal serum secretory acetylcholinesterase may be indicative of neural tube defects in early pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1998; 77:8-13.
16. **Beutler E.** Red Cell Metabolism, A Manual of Biochemical Methods. 3th Ed. London: Grune and Stratton, 1984; 103-104.
17. **Champe PC, Harvey RA.** Biochemistry. 2nd Ed. Philadelphia: J.B.Lippincott Company, 1987; 416.
18. **Moss DW, Henderson AR.** Enzymes. In Tietz Textbook of Clinical Chemistry (Eds. Burtis CA and Ashwood ER) Philadelphia:WB Saunders Company, 1994; 735-896.
19. **Van Sitterd NJ:** Manual Spectrophotometric Method For the Measurement of Erythrocyte and Plasma Cholinesterase (Modified Ellman Method). WHO, Manual of Analytical Methods. Course on Analytical Procedures for Assessment of Exposure to Organophosphorous Pesticides, Cremona, Italy, 2-6 September 1985.
20. **Deutsch SI, Mohs RC, Levy MI, Rothpearl AB, Stockton D, Horvath T, Coco A, Davis KL.** Acetylcholinesterase Activity in CSF in Schizophrenia, Depression, Alzheimer's Disease and Normals. *Biol Psychiatry*, 1983; 18:1363-1373.
21. **Seller MJ, Cole KJ, Fensom AH, Polani PE.** Amniotic Fluid Acetylcholinesterase and Prenatal Diagnosis. *Br J Obstet Gynaecol*, 1980; 87:501-505.
22. **Venkataraman BV, Iyer GYN, Narayanan R, Joseph T.** Erythrocyte and Plasma Cholinesterase Activity in Normal Pregnancy. *Indian J Physiol Pharmacol*, 1990; 34:26-28.
23. **Whittaker VP.** Inhibitory Mechanism and Clinical Applications on of Anticholinesterase. *Biochem Soc Trans*, 1994; 22:729-735.
24. **Hay DL, Ibrahim GF, Horecek I.** Rapid Acetylcholinesterase Screening Test For Neural Tube Defect. *Clin Chem*, 1983; 29:1065-1069.
25. **Hullin DA, Elder GH, Laurence KM, Roberts A, Newcombe RG.** Amniotic Fluid Cholinesterase Measurement As A Rapid Method For The Exclusion of fetal Neural Tube Defects. *Lancet*, 1981; 15: 325-330.
26. **Chubb IW, Springell HJ, Pilowsky PM, Pollard AC.** Acetylcholinesterase in Human Amniotic Fluid: An Index of Fetal Neural Development? *Lancet*, 1979; 31:688-690.
27. **Smith AD, Wald NJ, Cuckle HS, Stirrat GM, Bobrow G, Lagercrantz H.** Amniotic Fluid Acetylcholinesterase as a Possible Diagnostic Test for Neural Tube Defects in Early Pregnancy. *Lancet*, 1979; 31:685-688.

Bu çalışma SBE. 95-18 nolu proje ile desteklenmiştir.

**Yazışma adresi:**

Uzm.Bio. Safiye TAGA

Ç.Ü.Tıp. Fak. Balcalı Hast.

Kadın Hast ve Doğum AD

ÜYTEM (Tüp Bebek) merkezi

Tel: 3681

e-mail:staga@cu.edu.tr

## Chédiac-Higashi Sendromlu Bir Olgu Sunumu

### Chédiac-Higashi Syndrome: A Case Report

İlgen Şaşmaz<sup>1</sup>, Yurdanur Kılınç, Ayşe Kırmızıtaş, Göksel Leblebisatan, Bülent Arntmen

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı (3/5/2004)

Geliş Tarihi: 12 Temmuz 2004

Kabul Tarihi: 20 Mayıs 2004

#### Özet

Chédiac-Higashi sendromu otozomal resesif geçiş gösteren ve çocuklarda immün yetmezliğe yol açan nadir sebeplerden biridir. Hastalık karakteristik olarak tekrarlayan enfeksiyonlar, parsiyel okülökutanöz albinizm, fotofobi, nistagmus, jinjivit, periodontit, enterokolit ve mental retardasyonla seyreder. Chédiac-Higashi sendromunda granülosit, eozinofil, lenfosit ve monositlerde karakteristik olarak dev inklüzyon granülleri görülür. Bir olgu nedeniyle Chédiac-Higashi sendromu sunulmuş ve literatür gözden geçirilmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Chédiac-Higashi sendromu, immün yetmezlik, okülökutanöz albinizm

#### Abstract

Chédiac-Higashi Syndrome is one of the rare disorders which causes immune deficiency with autosomal recessive inheritance in childhood. The complete syndrome includes recurrent infections, partial oculocutaneous albinism with photophobia, nistagmus, gingivitis, periodontitis, enterocolitis and mental retardation. A hallmark of the disorder is giant inclusion bodies seen in all granule-containing cells, including granulocytes, lymphocytes, eosinophils, monocytes. In this case report, a patient with Chédiac-Higashi syndrome is reported with review of the literature.

**Key words:** Chédiac-Higashi syndrome, immune deficiency, oculocutaneous albinism

#### Giriş

Chédiac-Higashi sendromu immün yetmezlikte karakterize nadir otozomal resesif bir çocukluk çağı hastalığıdır<sup>1,2</sup>. 1943'de Beguez Cesar, 1948'de Steinbrinck, 1952'de Chédiac, 1954'de Higashi tarafından tanımlanmıştır. Chédiac-Higashi sendromu geni (1q 42-43) kromozomuna lokalize olup çeşitli doku tiplerindeki granüllerin sentezini ve/veya bunların depolanmasını veya sekresyonunu etkiler<sup>3</sup>. Lökosit ve fibroblastlardaki lizozomlar, trombositlerdeki koyu cisimcikler, nötrofillerdeki azurofilik granüller ve melanositlerdeki melanozomların normalden büyük ve düzensiz olması, depolanmadan sorumlu olan organellerin sentezinde ortak bir yol olduğunu ve bu yolun Chédiac-Higashi sendromu'nda bozuk olduğunu düşündürür. Hastalık irksal bir farklılık göstermeksizin genellikle yenidoğan döneminde başlar. Ölüm genellikle yaşamın ilk on yılında gözlenir. Nadiren hastalar otuz yaşa kadar yaşayabilir. Birçok hücre, özellikle periferik kan hücreleri patognomonik olarak Giemsa ve Wright boyasıyla veya elektron mikroskopunda görülebilen büyük lizozomal granüller içerir. Bu hücreler içine protein geçişinde bozukluk söz konusudur<sup>1-5</sup>.

Nadir görülmesi nedeniyle Chédiac-Higashi sendromlu bir olgu sunulmuştur.

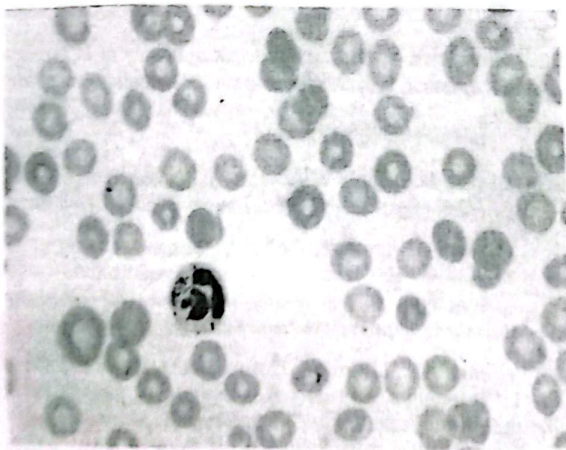
## Olgu

Onbir yaşında kız hasta öğrenmede güçlük, havale geçirme, yürüyememe, ateş ve halsizlik yakınmasıyla getirildi. Öyküsünden, motor ve mental gelişiminin yaşlılarından geri olduğu, bir yaşında febril ve dokuz yaşında afebril jeneralize nöbetler geçirdiği, tegretol ve maliasin kullandığı öğrenilen hasta, akciğer enfeksiyonu nedeniyle kliniğe yatırıldı.

Soy geçmişinden, ailenin yaşayan 6 çocuğundan beşincisi olan hastanın, bir aylık ve bir yaşında nedeni bilinmeden ölen iki kardeşinin olduğu ve görünüm olarak kendisine benzer yaşayan iki kardeşi olduğu öğrenildi.

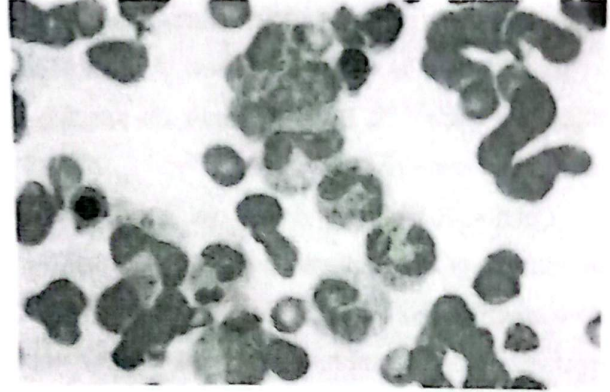
Fizik muayenesinde saçları gümüş rengindeydi. Konjonktivalar ve mukozalar soluktu. Karaciğer yumuşak kıvamda ve künt kenarlı midklaviküler hatta, kosta yayını beş cm. geçiyordu. Traube kapalı, dalak midklaviküler hatta sekiz cm. palpabldı, Extremitelerde yaygın peteşi ve ekimoz, her iki elde klinodaktili mevcuttu. Akciğerlerde bilateral yaygın krepitan ralleri vardı. Nörolojik muayenesinde kognitif fonksiyon bozukluğu dışında anormallik yoktu.

Hematolojik değerlendirmede: Hemoglobün :7,7 g/dl, lökosit: 2600/mm<sup>3</sup>, trombosit : 45000/mm<sup>3</sup>, periferel kan yaymasında granüositlerde ve lenfositlerde inklüzyonlar görüldü (Resim 1).



**Şekil 1:** Periferel kan yaymasında granüositde inklüzyonlar görülmektedir (Giemsa x 100).

Kemik iliğinin ışık mikroskopik incelenmesinde meduller elemanlarda monositik seri hariç olmak üzere özellikle granüositik ve lenfositik seride sitoplazmik inklüzyonlar saptandı (Resim 2).



**Şekil 2:** Kemik iliği aspirasyon yaymasında meduller elemanlarda inklüzyonlar görülmektedir (Giemsa x 100).

Yakınmaları bir yaşında başlayan hasta klinik ve hematolojik verileri ile ancak onbir yaşında kliniğimize başvurusundan sonra Chédiac-Higashi sendromu tanısı ile izleme alındı. Aileye kök hücre transplantasyonu yapılması önerildi. Takipleri sırasında tekrarlayan enfeksiyonlar nedeniyle kliniğe yatırılarak izlendi.

## Tartışma

Chédiac-Higashi sendromu otozomal resesif kalıtılan ve parsiyel okülo-kutanöz albinizm, gümüş rengi saçlar, fotofobi, nistagmus, sık piyojenik enfeksiyonlar, jinjivit, periodontit ve nadiren mental retardasyon, konvülsiyonların görüldüğü bir hastalıktır<sup>1,2</sup>. Bizim hastamızda benzer bulgularla kardeş ölüm öyküsü, kendisi ve yaşayan iki kardeşinde gümüş rengi saçlar, mental ve motor retardasyon ve konvülsiyonlar mevcuttu.

Chédiac-Higashi sendromunda granüosit, eozinofil ve lenfositlere ek olarak monositlerde de bizim hastamızda görüldüğü gibi karakteristik dev granüller görülür. Granüllerin uygunsuz füzyonundan membran ya da mikrotübüler anormallikler sorumludur<sup>5</sup>. Hastaların büyük kısmı lenfoid dokular, kemik iliği, karaciğer ve diğer organlarda yaygın lenfositik infiltrasyonla karakterize akselere faza girer. Hepatosplenomegali, generalize lenfadenopati, hipersplenizm, hemorajik diatez, progresif pansitopeni gelişir; karaciğer, dalak, kemik iliği ve sinir sisteminin mononükleer infiltrasyonuna sekonder gelişen bu dönemde ölüm genelde enfeksiyon ve hemorajije

sekonderdir. Lenfositik infiltrasyonun yapısına kesin olarak açıklık kazandırılmamıştır. Viral enfeksiyonların reaktif işlevi olabileceği düşünülmektedir<sup>1,2,4,6</sup>. Bizim hastamız da pansitopeni ve hepatosplenomegaliyle gelmiştir.

Chédiac-Higashi sendromu ile birlikte mental retardasyon (%20), periferik nöropati, ataksi, parezi ve konvülsiyonlar gibi nörolojik problemler görülebilir<sup>7,8</sup>. Hastamızda da mental retardasyon ve konvülsiyonlar mevcuttu.

Chédiac-Higashi sendromunda poliformonükleer lökositlerde kemotaksis ve migrasyon defekti, fagositoz ve bakterisidal etkide gecikme görülür. Doğal öldürücü hücrelerde fonksiyon azlığı veya yokluğu, antikora bağlı sellüler sitotoksitenin azalması, tubilin  $\alpha$  subunitinin tirozinlenmesinin artışı, cAMP düzeylerinin artımı saptanır. Chédiac-Higashi sendromu nötrofillerinde sitoplazmik granüllerde katepsin ve elastaz eksikliği gösterilmiştir<sup>1,5</sup>. Bu nedenlerle bronkopnömoni, piyodermi, otitis media, gingivitis ve septisemi gibi çocukluk çağında tekrarlayan enfeksiyonlar gelişir.

Askorbik asitin cAMP düzeyini düşürdüğü ve bazı olgularda enfeksiyon sıklığını etkilediği bildirilmiştir<sup>9</sup>. Akselere faz tedavisinde asiklovir, kolşisin, prednisone, etoposide ve intravenöz gama globulin gibi çoğul ajanlar ve splenektominin bazı olgularda kullanıldığı bildirilmiştir<sup>10-12</sup>. Erken yaşlarda yapılan kök hücre transplantasyonu immünolojik ve hematolojik olarak belirgin düzelleme sağlar ve hastaların yaşam kalitesini yükseltir<sup>13,14</sup>. Bizim olgumuza da kök hücre transplantasyonu yapılması önerilmiştir.

Chédiac-Higashi sendromlu bu olgu, nadir görülmesi dışında, çok geniş spektrumu içeren yakınmalar ve klinik bulguları nedeni ile bu olguda o'duğu gibi kolaylıkla atlanabilir bir sendrom olması nedeni ile literatürdeki yeni gelişmeler ışığında sunulmuştur.

## Kaynaklar

1. **Dinauer MC.** The phagocyte system and disorders of granulopoiesis and granulocyte function. In Nathan D.G, Orkin S.H, Ginsburg D, Look T.A, eds. Hematology of Infancy of Childhood. Philadelphia: Saunders Co, 2003:920-1010.
2. **Mottonen M, Lanning M, Baumann P, Saarinen-Pihkala UM.** Chediak-Higashi syndrome: four cases from Northern Finland. *Acta Paediatr*, 2003;92:1047-1051.
3. **Barrat FJ, Auloge L, Pastural E, Lagelouse PD, Vilmer E, Cant AJ, Weissenbach J, Le Paslier D, Fischer A.** Genetic and physical mapping of the Chediak-Higashi syndrome on chromosome 1q42-43 de Saint Basile G. *Am J Hum Genet*, 1996;59:625-632.
4. **Shome DK, Al-Mukharraq H, Mahdi N, Ameen G, Farid E.** Clinicopathological aspects of Chediak-Higashi syndrome in the accelerated phase. *Saudi Med J*, 2002;23:464-466.
5. **Ganz T, Metcalf JA, Gallin JI, Boxer LA, Lehrer RI.** Microbial /cytotoxic proteins of neutrophils are deficient in two disorders: Chédiak-Higashi syndrome and specific granule deficiency. *J Clin Invest*, 1988;82:552-556.
6. **Ahluwalia J, Pattari S, Trehan A, Marwaha RK, Garewal G.** Accelerated phase at initial presentation: an uncommon occurrence in Chediak-Higashi syndrome. *Pediatr Hematol Oncol*, 2003;20:563-567.
7. **Pettit RE, Budal KG.** Chédiak-Higashi syndrome: neurologic appearance. *Arch Neurol*, 1984; 41:1001-1002.
8. **Misra VP, King RH, Harding AE, Muddle JR, Thomas PK.** Peripheral neuropathy in the Chediak-Higashis syndrome. *Acta Neuropathol (Berl)*, 1991;81:354-358.
9. **Gallin JI, Elin RJ, Hubert RT, Fauci AS, Kaliner MA, Wolff SM.** Efficacy of ascorbic acid in Chédiak-Higashi syndrome: Studies in humans and mice. *Blood*, 1979;53:226-234.
10. **Kinugawa N, Ohtani T.** Beneficial effects of high dose intravenous gammaglobulin on the accelerated phase of Chédiak-Higashi syndrome. *Helv Paediatr Acta*, 1985;40:169-172.
11. **Conley ME, Henle W.** Acyclovir in accelerated phase of Chédiak-Higashi syndrome. *Lancet*, 1987;1:212-213.
12. **Aslan Y, Erduran E, Gedik Y, Mocan H, Yildiran A.** The role of high dose methylprednisolone and splenectomy in the accelerated phase of Chédiak-Higashi syndrome *Acta haematol*, 1996;96:105-107.
13. **Virelizier JL, Lagrue A, Durandy A, Arenzano F, Owy L, Griscelli C, Reinert R.** Reversal of natural killer defect in a patient with Chédiak-Higashi syndrome after bone marrow transplantation. *N Engl J Med*, 1982; 306:1055-1056.
14. **Gordon N, Mullen CA, Tran H, Worth L, Gomez Almaguer D, Chan KW.** Fludarabine and once-daily intravenous busulfan for allogeneic bone marrow transplantation or Chediak-Higashi syndrome. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2003;25:824-826.

**Yazışma adresi:**

Dr. İlgen Şaşmaz  
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Hematoloji Bilim Dalı  
Balcalı 01330 Adana  
E.mail : [ilgen@mail.cu.edu.tr](mailto:ilgen@mail.cu.edu.tr)  
Tel/fax: 322-3386906

# Klinik Tanı Yöntemlerinin Değerlendirilmesinde Hekimin Yetkinliği, Sorumluluğu ve Otopsi\*

## Physician's Capability-Responsibility in Evaluation of the Diagnosis and Autopsy

Ahmet Hilal<sup>1</sup>, Necmi Çekin<sup>1,2</sup>, Mete K Gülmen<sup>1</sup>, Tamer Eren<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp ABD.

<sup>2</sup>Adli Tıp Kurumu Adana Grup Başkanlığı.

Geliş: Tarihi:19 Ekim 2004

Kabul Tarihi:07 Nisan 2005

### Özet

Hekimler hastalarının tanı ve tedavileri aşamasında ihmalkar veya kusurlu davranışları nedeniyle suçlanabilmektedirler. Bu suçlamada hekim sorumluluğundan bahsedebilmek için kusurlu davranışın zarara yol açmış olması gerekmektedir. Çalışmada, bu tip olgularda tanı araçlarının değerlendirilmesine ve otopsinin önemine iyi bir örnek olduğu düşünülen olgunun sunulması planlanmıştır. Olgunun, ölüm nedeni ve tanıda kusurlu olunmasının hekim sorumluluğu açısından bildirimi tartışılacaktır.

**Anahtar kelimeler;** Tanı araçları, hekim sorumluluğu, hatalı tıbbi uygulama, otopsi.

### Abstract:

Physicians can be sued for their neglected or false activities during diagnostic procedures or

treatment, as medical malpractice. The medical procedures should cause a harm to the patient so that it can be accepted as a medico-legal issue. We planned to present a demonstrative case that shows the importance of the correct evaluation of the diagnostic tools.

In this case we will discuss the cause of death and misdiagnosis in the means of medical malpractice and responsibility.

**Key words:** Diagnostic Tools, Physicians Responsibility, Medical Malpractice, autopsy.

### Giriş

Hasta ve/veya yakınları, yeterli sağlık hizmeti alamadıklarını ya da kusurlu bir girişim sonucu zarara uğradıklarını düşündükleri zaman sağlık çalışanları hakkında yasal işlemlere başvurabilmektedirler. Bu suçlamada hekim sorumluluğundan bahsedebilmek için kusurlu davranışın zarara yol açmış olması ve zararla

kusurlu olduğu ileri sürülen davranış arasında sebep-sonuç ilişkisinin olması gerektiği belirtilmektedir. Sağlık çalışanları da mesleki uygulamaları sırasında oluşan zarardan kusurları (eğer varsa) oranında sorumludurlar<sup>1-4</sup>.

5271 sayılı yeni Ceza Muhakemesi Kanunu madde 63 de "çözümü özel veya teknik bir bilgiyi gerektiren durumlarda bilirkişinin oy veya görüşleri alınır" demektedir. Bundan dolayı eğer bir sağlık çalışanınin suçlanması veya zarar oluşturması söz konusu ise mahkemeler ceza davalarında Yüksek Sağlık Şurası'ndan (YSS) hukuk davalarında ise YSS, Tıp Fakültelerinden veya Adli Tıp Kurumu ilgilii ihtisas dairesinden görüş alabilirler<sup>5,6</sup>.

Bu çalışmada, hekimin çağdaş tanı yöntemini kullanmasına rağmen, bunu değerlendirmedeki eksikliğinin gösterilmesi ve hekimlerin klinik ve otopsi olgularındaki sorumluluklarının tartışılması amaçlanmıştır.

**Olgu;** 43 yaşında erkek hastanın, bilinç kaybı ile getirildiği bir üniversitenin acil servisinde, yakınlarından alınan öyküsünde; 1 ay önce komşuları ile kavga ettiği, kafasına vurulduğu ancak olayı önemsemediği, 4 gündür baş ağrısı şikayeti olduğu, götürüldüğü hastanede adı bilinmeyen bir iğne yapılarak evine gönderildiği, bilincinin kapanması üzerine tekrar acil servise getirildiği belirtilmektedir. Yapılan fizik muayenede; pupillerin anizokorik olduğu, ağırlı uyarınları lateralize ettiği, ense sertliğinin olmadığı, bildirilmektedir.

Beyin cerrahisi asistanları tarafından değerlendirilen olguya çekilen BBT de; belirgin opak yer tutan bir lezyon saptanmadığı, sol serebral hemisferde orta serebral arter alanında yaygın hipodansite ile uyumlu görünüm ve orta hatta sola doğru şift olduğu, bu bulgularla hastaya

nöroşürlilik bir cerrahl müdahale düşünülmediği, nöroloji konsültasyonu önerildiği, hastanın nöroloji servisine yatırıldıktan 23 saat sonra kardiyopulmoner arrest sonucu öldüğü belirtilmektedir. Şahıs için düzenlenen defin ruhsatında da beyin tümörü tanısı olduğu görüldü.

Adli değerlendirilmede darp öyküsü nedeni ile otopsi kararı alındığı, Kahramanmaraş C. Savcının yazısı ile ATK Adana Grup Başkanlığı'na gönderilen olgunun otopsisinde; saçlı deri ve deri altının normal olduğu, kafa kubbe kemiklerinin sağlam olduğu, subdural mesafede sol hemisfer üzerini kaplayan organize olmuş, kahverengi renkte hematoma saptandığı, kalde kemiklerinin sağlam olduğu, diğer sistem muayenelerinin normal olduğu belirtilmektedir.

Şahsa ait BBT nin uzmanlarca tekrar değerlendirilmesinde; subdural hematoma net olarak görüldüğü saptanmıştır.

## Tartışma

Hekimler tanı koyarken zorunlu ve ulaşılabilir tüm tanı yöntemlerini kullanmak zorundadırlar. Eğer bunun eksikliği sonucu yanlış tanı konulursa bu durum kusur sayılmaktadır. Hekimler tedavi seçiminde de özgürdürler. Ancak seçecekler tedavi tıbbin o günkü kabul edilebilir genel kurallarına uygun olmalıdır. Genel kabul görmemiş veya deneysel aşamadaki uygulamalarda ya da geçerliliğini kaybetmiş bir uygulama söz konusu olması durumunda hekimin sorumluluğu söz konusudur<sup>1-3</sup>.

Olgunun BBT sinin uzmanlar tarafından tekrar incelenmesi sonucu; sol taraftaki hipodansite ve şift in (yer kaplayan lezyon nedeniyle orta hattın yer değiştirmesi) subdural hematoma nedeni ile olduğunu ( şekil1-2 ) ve subdural hematoma

klasik tıp bilgilerine göre acil olarak boşaltılması gerektiği belirtilmektedir<sup>7,8</sup>. Olgunun yapılan otopsisinde ölüm nedeni olarak sol hemisferde saptanan subdural hematoma belirtilmektedir.

Hekimler riskli ve tehlikeli sonuçları önlemek için yalnız hastalığın gelişimi ile ilgili değil aynı zamanda tanı - tedavi araçları ve ilaçları üzerinde de yeterli özen göstermek zorundadırlar. Özen eksikliği de kusur sayılır<sup>1</sup>.

Olgumuzda hekim zorunlu tanı yöntemini kullanmasına rağmen bunu değerlendirme eksikliği sonucu hastayı ameliyata almamıştır. Hasta dosyasından öğrenildiğine göre hasta sadece uzmanlık öğrencisi hekimler tarafından değerlendirilmiştir. Bu hekimler uzman olmamaları nedeniyle sorumluluk aynı zamanda onların eğitiminden sorumlu olanlarıdır.

Bu olgu, 1 ay önceki kavga nedeni ile olay adli nitelik kazanmış ve otopsi yapılmak üzere ATK Adana Grup Başkanlığı'na gönderilmiştir. Bu olay düşünülmesi idi, bu olgu adli nitelik kazanmayacak ve ölüm nedeni saptanamayacaktı. Özellikle hastanede ölümü gerçekleştiren olgularda ölüm nedeninin saptanmasının bir kurul tarafından yapılması sadece tedaviyi yapan hekimlerin insiyatifine bırakılmaması gerekmektedir. Bu hastane ölümlerinde klinik otopsinin önemini göstermesi açısından da önemlidir. Hastanelerin tanı ve tedavi kalitelerini, bunların doğruluk ve uygunluklarını gösterecek en önemli işlemlerden biri otopsidir. Otopsi yapılmadığı sürece bu olgudaki gibi hatalı uygulamalar gözden kaçacaktır. Ayrıca hatalı düzenlenen defin ruhsatlarının hem yasalar karşısında sorumluluk

getireceği, hem de sağlıkla ilgili istatistikî bilgilerin yanlış oluşmasına neden olacağı hekimler tarafından bilinmelidir<sup>9</sup>.

Otopsinin sağladığı bu geri bildirim, alınması gereken tedbirler, eğitim programlarının oluşturulması ve sorumlulukların belirlenmesi açısından önemlidir. Aksi takdirde olayda sadece travma ile ölüm arasında bağ araştırılacak tanı ve tedavideki olası hekim hataları gözardı edilmiş olacaktır. Bu durum adaletin doğru oluşmasına katkı sağlamayacaktır.

Otopsi sonunda, otopsiyi yapan hekim, raporuna sadece "ölüm nedenini mi" yazmalıdır? bu soru, adli bilimler alanında uzun süre tartışılmış olmasına rağmen, fikir birliği henüz sağlanamamıştır. Ancak, düzenlenen rapor hukuka yol gösterici olduğundan ve bu konunun hukuki bilgiler ile bilinmesi ve çözülmesi mümkün olmadığından, otopsiyi yapan hekimin bu konuda görüş belirtilmesi uygun olacaktır.

**Şekil 1:** Bilgisayarlı tomografide subdural hematomun görünümü.



Şekil 2: Bilgisayarlı tomografide sift (orta hatta yer değiştirme).



#### Kaynaklar:

1. Aşcıoğlu Ç. Tıbbi Yardım ve El Atmalardan Doğan Sorumluluk. Tekişik ofset tesisleri. Ankara-1993.
2. Alkanat BM. Tıbbi müdahaleden Doğan Hukuki Sorumluluk. Hekim ve Yaşam. Mayıs- Haziran 1999;6:19-21.
3. Çekin N, Hilal A. Acil Serviste Karşılaşılan Adli Sorunlar. İçinde: Karaböcüoğlu M, Uzel N, Yılmaz L. Editörler. Çocuk Acil Tıp Kitabı. İstanbul, 2004.
4. Özdemir MH, Hilal A, Çekin N. Diş Hekimliğinde Malpraktis: Bir Diş Aspirasyonu Olgusu. Adli Tıp Dergisi. 2001;15:37-41.
5. <http://www.tbmm.gov.tr/kanunlar/k5271.html>

6. Güzel S, Yavuz MS, Aşirdizer M. ATK İhtisas Kurulları İle Yüksek Sağlık Şurası Raporları Arasında Çelişki Bulunan ve Adli Tıp Genel Kurulunda Görüşülen Malpraktis Olgularının İrdelenmesi. Adli Tıp Bülteni 2002;7(1):14-20.
7. Maggio WW. Chronic Subdural Hematoma in Adults. In: Appuzo MLJ Ed. Brain Surgery Complication Avoidance and Management. New York, Edinburg, London. Churchill Livingstone, 1993.
8. Övül İ. Susaraknoidal Kanama. İçinde: Altınörs N, Baykaner K, Şekerci Z, Ozyur E, Caner H. Editörler. Türk Noroşirurji Derneği Yayınları. Ankara 1997.
9. Işık AF, Demirel B, Şenol E. Bildirilen Ölüm Nedenleri "Gerçek Ölüm Nedeni" mi?. T Klin Adli Tıp 2004;1:1-11.

\* Bu çalışma poster bildiri olarak 11. Ulusal Adli Tıp Günlerinde (29 Eylül-3 Ekim 2004) Sunulmuştur

#### Yazışma adresi:

Dr. Ahmet Hilal  
Ç.Ü Tıp Fakültesi Adli Tıp ABD  
01330 Balcalı /Adana  
Tlf: 322 3386060-3429  
e-mail: ahilal@cu.edu.tr

## Anabolik Steroidlerin Bazı Bezlere ve Organlara Olan Etkileri

### The Effects of Anabolic Steroids on Certain Glands and Organs

Emine Kızılkana<sup>1</sup>, Neslihan Boyan<sup>1</sup>, Fahri Dere<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı - ADANA.

Geliş Tarihi: 22 Kasım 2004

Kabul Tarihi:26 Ocak 2005

#### Özet

Anabolik steroidler, androjenik etkinliğine oranla anabolik etkinliği fazla olan ilaçlardır. Bu nedenle sporcuların anabolik steroidleri doping amacıyla yaygın olarak kullandıkları bilinmektedir.

Bu çalışmada doping maddesi olarak kullanılan anabolik steroidlerin bazı bezlere ve organlara olan etkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla 18 dişi ve 18 erkek ergin *Mus musculus* (var. *Swiss albino*) fare kullanılmıştır. Deney hayvanları erkek ve dişi olarak kendi aralarında kontrol (n=6), deney I (n=6) ve deney II (n=6) olarak gruplandırılmıştır. Kontrol grubuna; 0,03 ml/hafta susam yağı, deney I grubuna; 0,02 ml/hafta ve deney II grubuna; 0,04 ml/hafta metenolon enantat sekiz hafta süreyle intramuskuler olarak enjekte edilmiştir. Farelerin uygulama öncesi ve uygulama sonrası vücut ağırlıkları ölçülmüştür. Deney hayvanlarının kalp, karaciğer, böbrek ve glandula submaxillaris'leri çıkarılarak ağırlıkları ölçülmüştür. Ölçümler hassas terazi ile yapılmıştır.

Bu ölçümler sonunda erkek ve dişi farelerde uygulama öncesi ve sonrası tüm gruplarda vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı artış

gözlenmiştir ( $p<0.03$ ). Erkek farelerde deney I ve kontrol grubu karşılaştırıldığında kalp ve böbrek ağırlığında önemli artış görülmüştür ( $p<0.05$ ). Deney I grubu, deney II grubu ile karşılaştırıldığında glandula submaxillaris'in ağırlığında önemli azalma gözlenmiştir ( $p<0.03$ ). Dişi farelerde deney I ve deney II grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kalp, karaciğer, böbrek ve glandula submaxillaris ağırlığında önemli artış gözlenmiştir ( $p<0.05$ ).

Bu çalışma sonucunda, anabolik steroid kullanımının organ ağırlıklarında değişiklik yapabileceği gözlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** anabolik steroid, kalp, karaciğer, böbrek, glandula submaxillaris.

#### Abstract

Anabolic steroids have more anabolic rather than androgenic effect. Hence, athletes are known to widely use.

This study aims to indicate the effect of anabolic steroids used as a doping on certain glands and organs. To this end, 18 female and 18 male adult *Mus musculus* (var. *Swiss albino*) mice were used in this study. Subjects were divided into

Control (n=6), experimental I (n=6) and experimental II (n=6) groups. experimental I and II were intramuscularly administered 0,02 ml/week and 0,04 ml/week methenolone oenanthate for 8 weeks, respectively, whereas control group was only administered 0,03 ml/week sesame oil intramuscularly during the same period. Body weights of the subjects were recorded during the pre-and-post treatment. At the end of the experiment, kidney, heart, liver and submaxillar gland of the mice were isolated and weighed. The sensitive scale was used for the experiment.

Pre-and-post treatment measurements revealed a statistically significant increase in body weight in all groups ( $p<0.03$ ). When experimental I and Control male groups were compared, a significant increase in kidney and heart weight was noted ( $p<0.05$ ). The comparison of experimental I and II male groups showed a significant decrease in the weight of submaxillar gland ( $p<0.03$ ). When experimental I and II female groups were compared with control female group, there was a significant increase in the weight of kidney, heart and submaxillar gland ( $p<0.05$ ).

This study has found that anabolic steroid may cause a change in organ weights.

**Key words:** anabolic steroid, heart, liver, kidney, submaxillar gland.

## Giriş

Anabolik steroidler, anabolik etkilerin sürdüğü ve androjenik etkilerin minimize indirildiği

testosteron türevleridir. Ancak anabolik ve androjenik etkinin ikisi de aynı tip reseptör aracılığıyla etki ettiği için sadece androjenik veya sadece anabolik etki yapan steroid bulunamamıştır. Bu nedenle anabolik androjenik olarak ifade edilirler<sup>1,2</sup>. Birçok atlet performanslarını geliştirmek için sıklıkla yüksek doz anabolik androjenik steroid kullanırlar<sup>3</sup>. Atletlerde anabolik steroidlerin antikatabolik ve motivasyonel etkilerinin her ikisi de görülür. Antikatabolik etkiler en önemli etkiler olarak bilinirler. Anabolik steroidler stres süresince salınan glikokortikoidlerin katabolik etkilerini tersine dönüştürebilirler. Alınan proteinlerin kullanılmasıyla negatif nitrojen balansını pozitif balansa dönüştürebilirler. Bundan dolayı nitrojen retansiyonu artar. Bu etki yeterli protein alımına bağlıdır. Anabolik steroidlerin diğer bir etkisi, iskelet kas hücrelerindeki protein sentezine neden olarak kas kütlelerini artırmaktır<sup>1,4</sup>. Bir başka anabolik etki ise, steroidlerle agresif davranışı artırarak, ağırlık antrenmanını gerek kalite gerek miktar yönünden artırmaktır<sup>5</sup>. Doping amacıyla kullanılan anabolik androjenik steroidlerin bu olumlu etkilerinin yanısıra olumsuz etkileri de görülmektedir. Anabolik steroid kullanımının kalp, karaciğer, böbrek gibi çeşitli dokulara olumsuz etkisi olduğu bulunmuştur. Karaciğerde, tümör, peliosis hepatitis ve serum enzimlerinin yükselmesine sebep olmaktadır. Uzun süreli steroid kullanımı hikayesi olan bireylerde böbrek tümörlerinden nadir görülen Wilms tümörü görülebilir. Yapılan deneysel çalışmalarda farelere

anabolik steroidlerin fiziksel eğitim programlarıyla birlikte uygulanması sonucu myokardial lezyonlar görüldüğü bildirilmiştir<sup>6</sup>.

Önemli bir steroid hormon olan testosteronun majör etkileri, seksüel dimorfik organlarda görülür. Farelerin böbrek ve glandula submaxillaris'leri seksüel dimorfizm gösterirler<sup>7</sup>.

Bu çalışmada, doping amacıyla sporcular tarafından sıklıkla kullanılan yüksek doz anabolik steroidlerin böbrek, kalp, karaciğer, glandula submaxillaris ağırlığına olan etkileri araştırılmıştır.

### **Gereç ve Yöntem**

Bu çalışmada 18 dişi, 18 erkek ergin Mus musculus (var. Swiss albino) fare kullanılmıştır. Deney hayvanları Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinden (TIBDAM) temin edilmiştir. Deney hayvanları erkek ve dişi olarak kendi aralarında kontrol (n=6), deney I (n=6) ve deney II (n=6) olarak gruplandırılmıştır.

Dihidrotestosteron, intraselüller androjen reseptör proteinlerine testosterondan yaklaşık 10 kez daha sıkı bağlandığı için bu çalışmada dihidrotestosteron türevi olan metenolon enantat içeren Primobolan Depot kullanılmıştır<sup>8</sup>. Anabolik steroid olan Primobolan Depot (Schering), 1 ml yağlı eriyik (susam yağı) içerisinde 100 mg metenolon enantat içerir. Bu çalışmada, atletler tarafından kullanılan anabolik steroidlerin dozunun oranında ve terapötik dozun yaklaşık 100 katı metenolon enantat kullanılmıştır<sup>9,10</sup>. Kontrol grubu için deney hayvanlarına 0,03 ml/hafta susam yağı,

deney I grubuna 0,02 ml/hafta ve deney II grubuna 0,04 ml/hafta metenolon enantat sekiz hafta süreyle intramusküler olarak enjekte edilmiştir. Her üç gruptaki deney hayvanlarının uygulama öncesi ve sonrasındaki ağırlıkları ölçülmüştür. Kontrol, deney I ve deney II gruplarının uygulama sonrası kalp, karaciğer, böbrek ve glandula submaxillaris'leri çıkarılarak ağırlıkları ölçülmüştür. Ölçümler hassas terazi ile yapılmıştır.

Bu çalışmanın istatistiksel değerlendirmeleri SPSS 10.0 programında yapılmıştır<sup>11</sup>. Uygulama öncesi ve sonrası vücut ağırlıklarını karşılaştırmak için Wilcoxon testi yapılmıştır. Organ ve bez ağırlıklarını gruplara göre karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi yapılmıştır.

### **Bulgular**

Dişi ve erkek deney hayvanlarının uygulama öncesi ve sonrası vücut ağırlıklarının ortalama±standart sapmaları (Ort. ± SS) Çizelge 1, 2 ve Şekil 1'de verilmiştir. Tüm grupların dişi ve erkek deney hayvanlarının organ ve bez ağırlıklarının Ort. ± SS Çizelge 3, 4 ve Şekil 2, 3'de verilmiştir.

### **Tartışma ve Sonuç**

Bu çalışmada, dişi ve erkek farelerin kontrol, deney I ve deney II grubunda uygulama sonrası vücut ağırlığında, uygulama öncesine göre önemli artış gözlenmiştir. Kontrol grubunda da gözlenen vücut ağırlığı artışının sekiz haftalık deney sürecindeki büyümeye bağlı olduğu düşünülmektedir. Elde edilen verilere göre

anabolik steroid uygulamasının vücut ağırlığı üzerine önemli etki göstermediği sonucuna varılabilir. Tingus ve Carlsen yaptıkları çalışmada, farelere 3-6 haftalık stanozolol uygulamasından sonra vücut ağırlıklarında önemli artış olmadığını bildirmişlerdir<sup>12</sup>. Benzer olarak Minkin ve arkadaşları, 8 haftalık nandrolon dekanoat uygulamasından sonra erkek sıçanların vücut ağırlığında başlangıç değerlerine göre önemli değişiklik olmadığını kaydetmişlerdir<sup>13</sup>.

Anabolik androjenik steroidlerin kullanımının en önemli olumsuz etkisi, yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolünün azalmasıdır. Bu durum, düşük dansiteli lipoprotein kolesterolünün elevasyonu ile birlikte görülür. Kolesterol oranının dengesindeki bozukluk bu hormonları kullanan atletlerin koroner kalp hastalığı şikayetlerini artırır, kan basıncı yükselir, ve kardiyak hipertrofi görülür<sup>14,15</sup>. Tingus ve Carlsen'in yaptığı çalışmada erkek farelere 3 hafta yüksek doz stanozolol uygulaması sonucunda düşük doz uygulamasına göre kalp ağırlığında önemli artış gözlemlenmiştir<sup>12</sup>. Tingus ve Carlsen'in yaptığı çalışmaya benzer olarak, bu çalışmada da steroid uygulaması sonucunda erkek ve dişi farelerin kalp ağırlıklarının arttığı gözlemlenmiştir.

Karaciğer fonksiyon testlerinin, anabolik androjenik steroidlerin kullanımıyla bozulduğu görülmüştür. Steroidler, peliosis hepatis, benign ve malign karaciğer tümörlerine neden olmaktadır. Ayrıca sürekli steroid uygulamasıyla safra kanallarının tıkanması (kolestasis) ve sarılık görülebilir<sup>16</sup>.

Bu çalışmada deney I grubu erkek farelerin karaciğer ağırlıklarındaki azalma ve deney II grubundaki artış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Deney I grubu dişi

farelerin karaciğer ağırlıklarında ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlenmiştir. Bauman ve arkadaşları yaptıkları çalışmada atletlerin kullandığı oranda stanozolol ile egzersiz uyguladığı erkek sıçanların karaciğerlerinin ağırlığında önemli azalma kaydetmişlerdir<sup>6</sup>. Benzer olarak Yu-Yahiro ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da anabolik steroid uygulanan erkek sıçanların karaciğer ağırlığında önemli azalma olduğu kaydedilmiştir<sup>10</sup>. Erkek sıçanlara steroid uygulaması böbreklerin genişlemesine ve ağırlığında artışa neden olur<sup>10,13</sup>. Minkin ve Yu-Yahiro'nun bulgularına benzer olarak bu çalışmada da anabolik steroid uygulanan dişi ve erkek farelerin böbrek ağırlıklarında kontrol grubuna göre önemli artış gözlemlenmiştir.

Seksüel dimorfik bir yapı olan glandula submaxillaris'in tübüler alanı erkek rodentlerde dişilere göre önemli oranda büyüktür<sup>7,17</sup>. Kastre sıçanlara testosteron uygulaması tübüler alanda artışa neden olur<sup>17</sup>. Bu çalışmada anabolik steroid uygulanan deney I ve deney II grubu dişi farelerin glandula submaxillaris'lerinin ağırlığında kontrol grubuna göre önemli artış gözlemlenmiştir. Bu artışın tübüler alandaki artışa bağlı olduğu düşünülmektedir. Erkek fareler de ise deney I grubu, deney II grubu ile karşılaştırıldığında glandula submaxillaris'in ağırlığında önemli azalma gözlemlenmiştir. Deney II grubunda ise kontrol grubuna göre azalma gözlemlenmiş ancak bu azalma istatistiksel olarak önemli değildir.

Sonuç olarak törpatik dozda uygulanan steroidlerin malign tümörler, ülseratif kolit, ağır enfeksiyon, cerrahi girişim, yanık, travma gibi kronik zayıflatıcı hastalıklarda, hematolojik hastalıklarda, osteoporozda, meme kanserinde ve benzeri durumlarda kullanıldığında olumlu etkileri

Anabolik Steroidlerin Organlara Etkisi

vardır. Ancak doping amacıyla yüksek doz anabolik steroidlerin doping amacıyla anabolik steroid kullanıldığında kalp, karaciğer, kullanılmaması önerilmektedir. böbrek gibi organları olumsuz yönde etkileyerek sistemik problemler görülebilir. Bu nedenle

**Çizelge 1.** Kontrol, deney I ve deney II grubu dişi farelerin uygulama öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları (g).

Değişken	Kontrol Grubu (n=6)		Deney I Grubu (n=6)		Deney II Grubu (n=6)	
	Uygulama Öncesi	Uygulama Sonrası	Uygulama Öncesi	Uygulama Sonrası	Uygulama Öncesi	Uygulama Sonrası
Vücut Ağırlığı (g)	27,2±4,7	31,7±8,4*	27,0±1,0	34,8±1,7*	25,5±2,8	30,6±4,5*

\* p<0,03

**Çizelge 2.** Kontrol, deney I ve deney II grubu erkek farelerin uygulama öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları (g).

Değişken	Kontrol Grubu (n=6)		Deney I Grubu (n=6)		Deney II Grubu (n=6)	
	Uygulama Öncesi	Uygulama Sonrası	Uygulama Öncesi	Uygulama Sonrası	Uygulama Öncesi	Uygulama Sonrası
Vücut Ağırlığı (g)	34,2±5,8	40,3±5,6*	35,3±1,2	38,7±3,5*	28,1±3,5	31,5±3,3*

\* p<0,03

**Çizelge 3.** Kontrol, deney I ve deney II grubu dişi farelerin uygulama sonrası bez ve organ ağırlıkları (mg).

Değişken	Kontrol Grubu (n=6)		Deney I Grubu (n=6)		Deney II Grubu (n=6)	
	SOL	SAĞ	SOL	SAĞ	SOL	SAĞ
Kalp (mg)	126,4±15,9		192,3±22,2**		181,1±34,9 <sup>a</sup>	
Karaciğer (mg)	1396,8±217,5		1908,4±241,2*		1828,4±635,5	
Böbrek (mg)	156,6±24,7	161,4±19,1	310,2±32,0**	319,5±35,0**	288,0±73,0 <sup>aa</sup>	315,6±74,7 <sup>aa</sup>
	61,7±12,2	60,0±10,7	95,4±5,7**	104,0±16,9*	114,1±47,0 <sup>a</sup>	86,4±20,8 <sup>a</sup>
Glandula Submaxillaris (mg)	61,7±12,2		95,4±5,7**		114,1±47,0 <sup>a</sup>	

Kontrol-Deney I: \* p<0,05, \*\* p<0,005

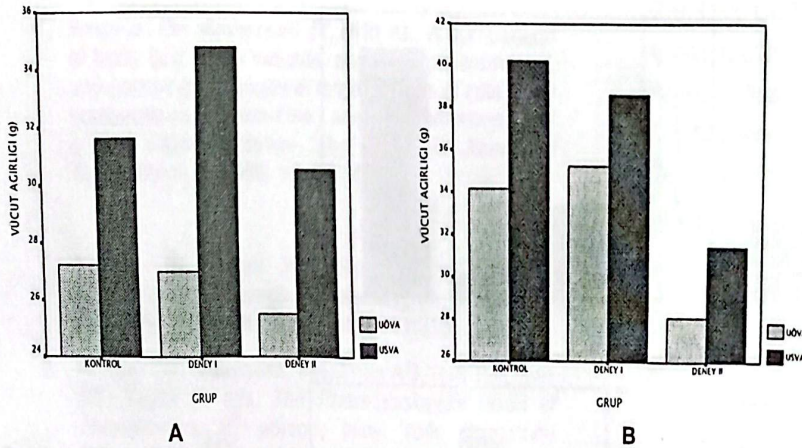
Kontrol-Deney II: a p<0,05, aa p<0,005

Çizelge 4. Kontrol, deney I ve deney II grubu erkek farelerin uygulama sonrası bez ve organ ağırlıkları (mg).

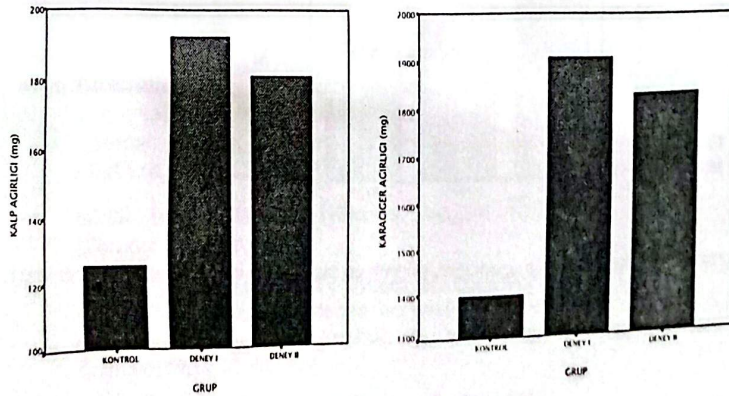
Değişken	Kontrol Grubu (n=6)		Deney I Grubu (n=6)		Deney II Grubu (n=6)	
Kalp (mg)	182,3±23,6		214,5±13,8*		184,7±44,0	
Karaciğer (mg)	1853,2±261,1		1814,9±156,8		1939,5±437,2	
Böbrek (mg)	SOL	SAĞ	SOL	SAĞ	SOL	SAĞ
	268,8±17,9	266,5±20,0	302,5±37,6*	302,8±33,6	290,9±38,8	297,0±47,8
Glandula Submaxillaris (mg)	106,6±17,0	103,4±18,9	115,3±20,7	99,1±20,3	95,3±7,4 <sup>a</sup>	89,8±13,6

Kontrol-Deney I: \* p&lt;0.05

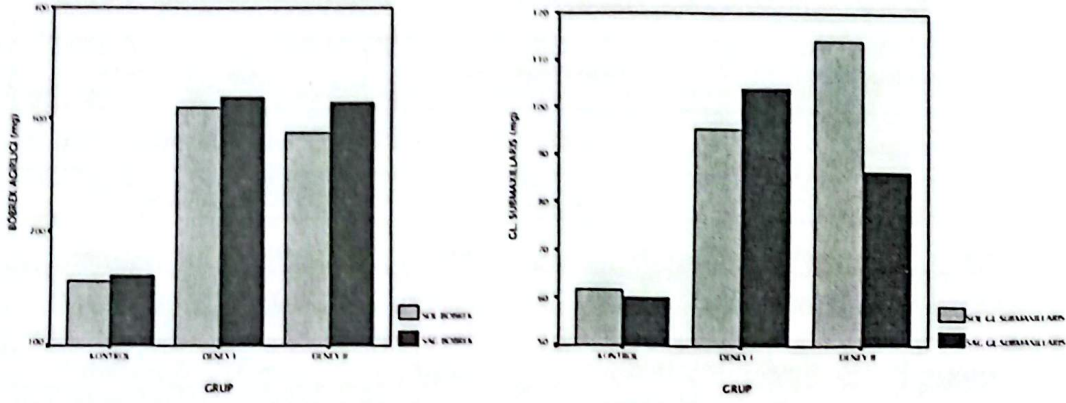
Deney I-Deney II: a p&lt;0.03



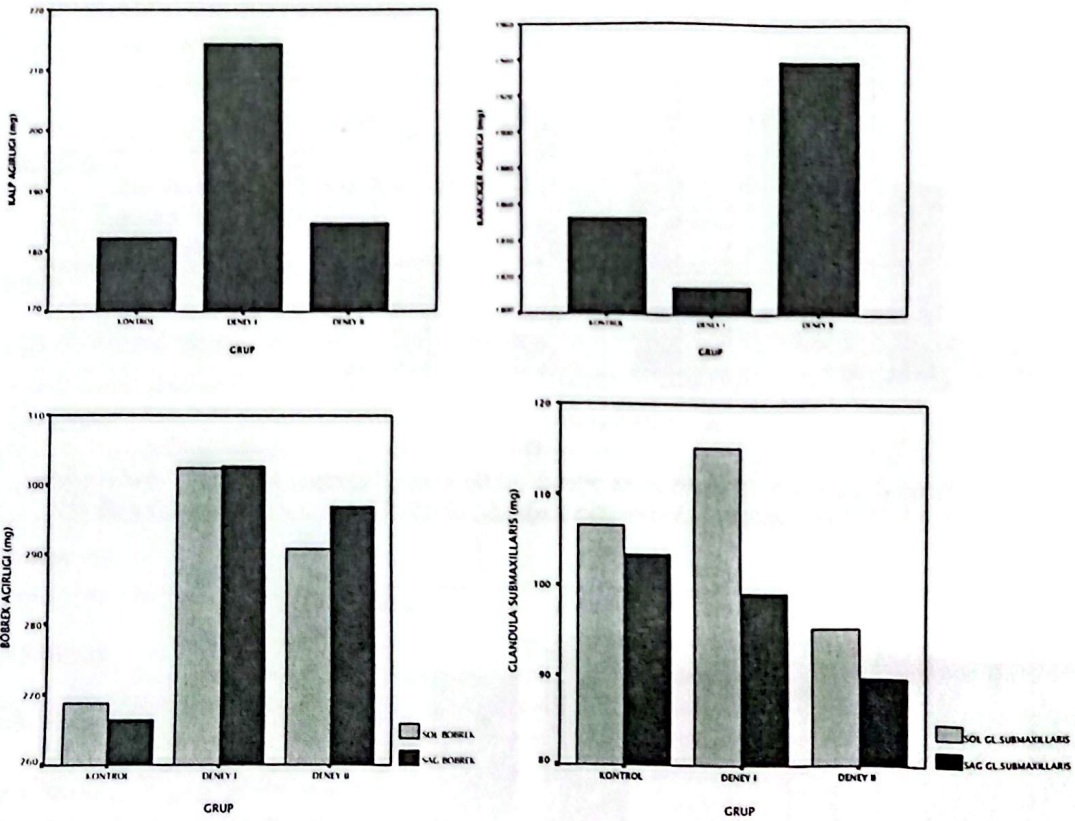
Şekil 1. A) Kontrol, deney I ve deney II grubu dişi farelerin vücut ağırlığı (g). B) Kontrol, deney I ve deney II grubu erkek farelerin vücut ağırlığı (g). UÖVA: Uygulama öncesi vücut ağırlığı, USVA: Uygulama sonrası vücut ağırlığı.



Anabolik Steroidlerin Organlara Etkisi



Şekil 2. Kontrol, deney I ve deney II grubu dişi farelerin kalp, karaciğer, böbrek ve glandula submaxillaris ağırlıkları (mg).



Şekil 3. Kontrol, deney I ve deney II grubu erkek farelerin kalp, karaciğer, böbrek ve glandula submaxillaris ağırlıkları (mg).

## Kaynaklar

1. Haupt HA, Rovere GD. Anabolic steroids: a review of the literature. *The American Journal of Sports Medicine*, 1984;12:469-484.
2. Kayaalp O. *Tıbbi Farmakoloji*. 6. Baskı, Ankara: Feryal Matbaacılık, 1993: 2716-2743.
3. Hurley BF, Seals DR, Hagberg JM, Goldberg AC, Ostrove SM, Holloszy JO, Wiest WG, Goldberg AP. High-density-lipoprotein cholesterol in bodybuilder v powerlifters. *JAMA*, 1984; 252(4):507-513.
4. Griggs RC, Kingston W, Josefowicz RF, Herr BE, Forbes G, Halliday D. Effect of testosterone on muscle mass and muscle protein synthesis. *Journal of Applied Physiology*, 1989; 66:498-503.
5. Akgün N. *Egzersiz Fizyolojisi*. 2. Baskı, İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1986: 350-464.
6. Bauman DH, Richerson JT, Britt AL. A comparison of body and organ weights, physiologic parameters, and pathologic changes in target organs of rats given combinations of exercise, anabolic hormone, and protein supplementation. *The American Journal of Sports Medicine*, 1988; 16: 397-402.
7. Foster HL, Small JD, Fox JG. *The Mouse in Biomedical Research*. Volume III. SanDiego California: Academic Press Inc, 1983:219.
8. Wilson JD. Androgens. In: Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P, eds. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 8<sup>th</sup> edition, New York: Pergamon Press, 1990: 1413-1430.
9. Giannini AJ, Miller N, Kocjan DK. Treating steroid abuse: a psychiatric perspective. *Clinical Pediatrics*, 1991; 30: 538-542.
10. Yu-Yahiro JA, Michael RH, Nasrallah DV, Schofield B. Morphologic and histologic abnormalities in female and male rats treated with anabolic steroids. *The American Journal of Sports Medicine*, 1989; 17: 686-689.
11. SPSS Inc. *SPSS for Windows*. Version 10.0, Chicago: Spss Inc., 1999.
12. Tingus SJ, Carlsen RC. Effect of continuous infusion of an anabolic steroid on murine skeletal muscle. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1993; 25:485-494.
13. Minkin DM, Meyer ME, van Haaren F. Behavioral effects of long-term administration of an anabolic steroid in intact and castrated male Wistar rats. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*, 1993; 44:959-963.
14. Brower KJ, Catlin DH, Blow FC, Eliopoulos GA, Beresford TP. Clinical assessment and urine testing for anabolic-androgenic steroid abuse and dependence. *American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, 1991; 17:161-171.
15. Dymment PG, Goldberg CB. Anabolic steroids and the adolescent athlete. *Pediatrics*. 1989; 83:127-128.
16. Lamb DR. Anabolic steroids in athletics: How well do they work and how dangerous are they? *The American Journal of Sports Medicine*, 1984; 12:31-38.
17. Rins de David ML, Finkelberg de Sterin A, Goldraj A. Influence of gonadic hormones on the rat submaxillary gland. *Arch Int Physiol Biochem Biophys*, 1991; 99(1): 107-109.

## Yazışma adresi:

Yrd. Doç. Dr. Emine KIZILKANAT  
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Anatomi Anabilim Dalı  
01330 Balcalı, ADANA  
Tel: 0 322 338 60 60 / 3489  
email: emikizil@cu.edu.tr

Çukurova Üniversitesi Basımevi - ADANA