

İZMİR DR. BEHÇET UZ ÇOCUK HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ DERGİSİ

Aralık / December 2017

Cilt / Volume 7

Sayı / Number 3

Editör (Editor)

Doç. Dr. Hurşit APA

Yardımcı Editörler (Associate editors)

Doç. Dr. Şebnem ÇALKAVUR

Doç. Dr. İlker DEVRİM

Doç. Dr. Gülден DİNİZ (agdiniz@gmail.com)

Doç. Dr. Timur MEŞE

Uz. Dr. Birsen TUĞLU

Sahibi / Owner on Behalf of İzmir Dr. Behcet Uz Children's Hospital: Doç. Dr. Hurşit APA

Yazı işleri müdürü / Publishing manager: Doç. Dr. İlker DEVRİM

Yazışma adresi/Correspondence: Doç. Dr. Gülден Diniz

Dr. Behcet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Alsancak - İzmir

<http://www.buch.gov.tr>

Bu dergi Tübitak-Ulakbim'in Türk Veri Tabanı'nda, EBSCO Publishing ve ESCI (Emerging Sources Citation Index) arşivinde indekslenmektedir.

**Bu derginin İngilizce danışmanlığı, Kazancı Medikal Tercüme'den
tıbbi çevirmen Yrd. Doç. Dr. Gürkan Kazancı tarafından yapılmıştır.**



Yayınlayan Kuruluş: LOGOS YAYINCILIK TİC. A.Ş.

Yıldız Posta Cad. Sinan Apt. No. 36 D. 66/67 34349 Gayrettepe-İstanbul

Tel: (0212) 288 05 41 - (0212) 288 50 22 **Faks:** (0212) 211 61 85

www.logos.com.tr logos@logos.com.tr

Yayın Türü: Yerel Süreli

Baskı Yeri/Mathbaa: LOGOS YAYINCILIK

Yılda üç kez yayımlanır
(Nisan-Ağustos-Aralık)
(Published three times a year)

Bu dergi **Alkali (Acid Free)** kağıda basılmaktadır. / This journal is printed on **Acid-Free** paper.

BU SAYININ DANIşMA KURULU (ADVISORY BOARD OF THIS ISSUE)

Gül AKTAN	Hüsnıye ÇALIşIR	Aysel KARACA
Safıye AKTAş	şebnem ÇALKAVUR	Belde KASAP DEMİR
Hurřıt APA	Salih ÇETİNKURřUN	Akgün ORAL
Suna ASİL SOY	İlker DEVRİM	Aylin ÖZBEK
Mustafa BAK	A. Gülden DİNİZ ÜNLÜ	Can ÖZTÜRK
Zümrüt BAřBAKKAL	Yusuf Kurtuluř DURANSOY	Hasan TEKGÜL
Nuri BAYRAM	Nüket ELİYATKIN	Ayře TOSUN
İlknur BOSTANCI	Erdal EREN	Canan VERGİN
Atilla BÜYÜKGEBİZ	Nilay HAKAN	Ünsal YILMAZ

DANIşMA KURULU (ADVISORY BOARD)

Doç. Dr. Hasan AĞIN	Uz. Dr. Cahit Barıř ERDUR	Prof. Dr. Resmiye ORAL (ABD)
Prof. Dr. Cezmi AKKIN	Prof. Dr. Betül ERSOY	Doç. Dr. Ragıp ORTAÇ
Prof. Dr. Safıye AKTAş	Prof. Dr. Erhan ESER	Doç. Dr. Yeřim OYMAK
Uz. Dr. Serdar ALTINÖZ	Doç. Dr. Ferah GENEL	Doç. Dr. Alpay ÖZBEK
Doç. Dr. Murat ANIL	Doç. Dr. Nesrin GÜLEZ	Doç. Dr. Aylin ÖZBEK
Doç. Dr. Hurřıt APA	Doç. Dr. Pamir GÜLEZ	Uz. Dr. Erhan ÖZBEK
Prof. Dr. Sertaç ARSLANOĞLU (İtalya)	Doç. Dr. İlker GÜNAY	Prof. Dr. Erdener ÖZER
Prof. Dr. Suna ASİL SOY	Doç. Dr. Türkan GÜNAY	Prof. Dr. Esra ÖZER
Uz. Dr. Berna ATABAY	Uz. Dr. Semra GÜR SOY	Prof. Dr. Nuray ÖZGÜLNAR
Doç. Dr. Füsun ATLIHAN	Uz. Dr. Salih GÖZMEN	Prof. Dr. Behzat ÖZKAN
Prof. Dr. Zehra AYCAN	Uz. Dr. Filiz HAZAN	Prof. Dr. Osman Nejat SARIOSMANOĞLU
Uz. Dr. Özlem BAĞ	Uz. Dr. Murat HIZARCIOĞLU	Doç. Dr. Arzu řENCAN
Prof. Dr. Mustafa BAK	Prof. Dr. Münevver HOřGÖR	Prof. Dr. Aydın řENCAN
Doç. Dr. Arzu BAKIRTAř	Doç. Dr. Dilek İNCE	Doç. Dr. Erkin SERDAROĞLU
Doç. Dr. Mařallah BARAN	Doç. Dr. Rana İřGÜDER	Prof. Dr. Gül SERDAROĞLU
Doç. Dr. Nuri BAYRAM	Prof. Dr. Sema KALKAN UÇAR	Prof. Dr. Oğuz SÖYLEMEZOĞLU
Doç. Dr. Özlem BEKEM SOYLU	Doç. Dr. Orhan Deniz KARA	Prof. Dr. Süheyla SÜRÜCÜOĞLU
Prof. Dr. İlknur BOSTANCI	Prof. Dr. İrfan KARACA	Doç. Dr. Nermin TANSUĞ
Prof. Dr. Demet CAN	Doç. Dr. Tuba KARAPINAR	Prof. Dr. Hasan TEKGÜL
Doç. Dr. şebnem ÇALKAVUR	Uz. Dr. Aytaç KARKINER	Uz. Dr. Günyüz TEMİR
Doç. Dr. Tanju ÇELİK	Uz. Dr. řule KARKINER	Doç. Dr. Hasan TEZER
Prof. Dr. Salih ÇETİNKURřUN	Prof. Dr. Salih KAVUKÇU	Prof. Dr. Haluk TOPALOĞLU
Doç. Dr. Korcan DEMİR	Uz. Dr. Meltem KIVILCIM	Uz. Dr. Hülya TOSUN YILDIRIM
Uz. Dr. Bengü DEMİRAĞ	Prof. Dr. Nilgün KÜLTÜRSAY	Uz. Dr. Birsen TUĞLU
Prof. Dr. Sergülen DERVİşOĞLU	Prof. Dr. Semra KURUL	Doç. Dr. Ayřen TÜREDİ
Doç. Dr. İlker DEVRİM	Uz. Dr. Melis KÖSE	Doç. Dr. Zülal ÜLGER
Doç. Dr. A. Gülden DİNİZ ÜNLÜ	Doç. Dr. Balahan MAKAY	Prof. Dr. Nurettin ÜNAL
Prof. Dr. Ceyhun DİZDARER	Doç. Dr. Timur MEşe	Prof. Dr. Aycan ÜNALP
Doç. Dr. Nuray DUMAN	Prof. Dr. Nazmi NARİN	Doç. Dr. Canan VERGİN
Doç. Dr. Çiğdem ECEVİT	Prof. Dr. Nur OLGUN	Prof. Dr. Rařit Vural YAĞCI
Prof. Dr. Hülya ELLİDOKUZ	Prof. Dr. Mustafa OLGUNER	Prof. Dr. Mehmet YALAZ
Doç. Dr. Ayře ERBAY	Doç. Dr. Özgür OLUKMAN	Doç. Dr. Önder YAVAřCAN
Prof. Dr. Derya ERÇAL	Doç. Dr. Akgün ORAL	Doç. Dr. Murat YILMAZER

İÇİNDEKİLER

Derleme / Review

Çocukluk çağı epilepsilerinde ketojenik diyet uygulamaları

Ketogenic diet practices in childhood epilepsies

A. ÜNALP 169-177

Klinik Araştırmalar / Clinical Investigations

Risk factors for epilepsy after ischemic stroke in children

Çocuklarda iskemik inme sonrası epilepsi için risk faktörleri

F. İNCECİK, Ö.M. HERGÜNER, Ş. BESEN 178-182

Annelerin emzirme özyeterlilikleri ve emzirme başarılarını etkileyen özelliklerin değerlendirilmesi

Evaluation of the factors affecting mothers' breastfeeding self-efficacy and breastfeeding success

T. İNCE, G. AKTAŞ, N. AKTEPE, A. AYDIN 183-190

Frequency of hypertension assessed with ambulatory blood pressure monitoring in children with renal damage

Renal hasarlı çocuklarda ayaktan kan basıncı izlemi ile hipertansiyon sıklığı

S. CONKAR 191-196

Cinsel istismara uğrayan kız çocuklarının profilleri

Profiles of sexually abused girls

S.N. TÜRKMEN, İ. SEVİNÇ, Ö. KIRLI, I. ERKUL, T. KANDEMİR 197-202

Pediyatrik inguinal herni tamirinde ultrasonografi eşliğinde yapılan transversus abdominis plan bloku ile yara yeri infiltrasyonunun karşılaştırılması: Randomize klinik çalışma

The comparison of ultrasonography-guided transversus abdominis plane block and wound infiltration for pediatric inguinal hernia repair: Randomized clinical study

A. AHISKALIOĞLU, A.M. YAYIK, M. EKİNCİ, B.E. GÖLBOYU, Ö.D. ERGÜNEY, M.E. ÇELİKKAYA, E. ORAL AHISKALIOĞLU, M.A. KARAKAYA, B. FIRINCI, H.A. ALICI 203-208

Interrecurrent nerve anastomosis with free nerve graft transposition in rabbits

Tavşanlarda serbest sinir grefti transpozisyonu ile interrekürren sinir anastomozu

B. ÇALIK, Ö. ENGİN, A. MURATLI, C.A. KULAN, B. TOPÇU, K. KARAMAN, F. İPEKÇİ, G. AKSOY YILDIRIM, M. ÜNVER 209-214

The importance of the M470V polymorphism

M470V polimorfizminin önemi

T. ÇELİK, R. GÜNEŞAÇAR, A. BALCI, S. ÜNAL, G. ALDİC, H. ESKİCİ, N. ATILGAN, S. ELMACIOĞLU, M. TUTANC, D. CAN 215-220

Evaluation of the effectiveness of two different methods for the prevention of microbial colonization in nebulizers: Randomised controlled trial

Nebulizerlerde mikrobiyal kolonizasyonun önlenmesi için iki farklı yöntemin etkinliğinin değerlendirilmesi: Randomize kontrollü çalışma

B. ÇETİNKAYA, S.S. CEYLAN 221-226

İÇİNDEKİLER (devam)

Effects of alcohol during secondary neurulation in chick embryos

Alkoliin tavuk embriyolarında sekonder nörilasyon üzerine etkileri

M. METE, I. AYDEMİR, Ü. ÜNLÜ ÜNSAL, K. ÖZBİLGİN, M.İ. TUĞLU, B. GÜRCÜ 227-235

İndirekt hiperbilirubinemi nedeni ile kan değişimi yapılan yenidoğan bebeklerin değerlendirilmesi: Tek merkez deneyimi

Assessment of newborn infants with exchange transfusion due to indirect hyperbilirubinemia: Single center experience

S. ALKAN ÖZDEMİR, E. ARUN ÖZER, Ö. İLHAN, S. SÜTÇÜOĞLU 236-241

Olgu Sunumları / Case Reports

46, XY cinsiyet gelişim bozukluğunun nadir bir nedeni: Persistan müller kanalı sendromu

A rare cause of a 46, XY disorder of sexual development: Persistent müllerian duct syndrome

S. ACAR, A. PAKETÇİ, H. ONAY, K. DEMİR, O. ATEŞ, E. BÖBER, A. ABACI 242-246

Editöre Mektup / Letter to the Editor

Combined use of genetic and immunohistochemical analysis is a critical step in differential diagnosis of sarcoglycanopathies

Genetik ve immünohistokimyasal incelemelerin birlikte kullanımı sarkoglikanopatilerin ayırıcı tanısında önemli bir basamaktır

G. DİNİZ, A. UNALP, F. HAZAN, F. ÖZGÖNÜL, S. TÜRE, G. AKHAN 247-250

PTPN11 geninde heterozigot mutasyon saptanan Noonan sendromu olgusu

Heterozygous mutation of Noonan syndrome in PTPN11 genes

H.A. KORKMAZ 251-252

Dizin V-VIII

Çocukluk çağı epilepsilerinde ketojenik diyet uygulamaları

Ketogenic diet practices in childhood epilepsies

Aycan ÜNALP

SBÜ, Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir

ÖZ

Ketojenik diyet çocukluk çağına dirençli epilepsilerinin nonfarmakolojik tedavisinde etkili olması için geliştirilmiştir. Buna ilaveten glukoz transport bozukluğu-1 sendromu gibi bazı metabolik hastalıkların tedavisinde 1. seçenek tedaviyi oluşturmaktadır. Büyüme ve laboratuvar değerlerinin yakından izlenmesi gereklidir. Bu nedenle bu çocuklarla ilgilenen çocuk hekimlerinin de diyetle ilgili yeterli bilgisinin olması gerekmektedir. Ketojenik diyetin nöbetleri kontrol edici etkisinin mekanizması halen aktif olarak araştırılmaktadır fakat birçok teori öne sürülmüştür. Aralık 2006'da Charli Derneği ketojenik diyet kullanımında deneyimli olan 9 ülkeden 26 pediatrik epileptolojist ve diyetisyenlerden oluşan bir komisyon ile panel yapmıştır. Bu grup KD'nin klinik yönetimiyle ilgili konsensus geliştirdi. Bu makalede KD'nin nöbete karşı olan etki mekanizmaları, klinik endikasyon ve kontrendikasyonları tartışılacaktır. Hasta seçimi, KD öncesi danışma ve değerlendirme, KD tipinin seçilmesi, uygulama, eklemeler, izlem ve yan etkilerin yönetimi basamaklarından oluşmaktadır. KD alan çocuğun izlenmesi sırasında pediatrik nörolog, pediatrik ve diyetisyenin birlikte göstereceği çaba KD tedavisinin başarısını ve oluşabilecek yan etkilerin tanınması, korunması ve giderilmesinde esastır. Bu derlemede, genel pediatriklerin KD kullanan çocukların bakımıyla ilgili bilmeleri gereken becerileri arttırarak çocuğun aile ve bakıcılarına danışma vermesini sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Ketojenik diyet, çocukluk çağı, dirençli nöbet, konsensus

ABSTRACT

Ketogenic diet is a non-pharmacologic treatment developed to be effective in childhood-resistant epilepsy. It is also the first-line treatment for many of these metabolic diseases such as deficiency of glucose transporter 1. Growth and laboratory values need to be closely monitored. For this reason, pediatricians interested in these children should also have adequate knowledge of the diet. The mechanism of the seizure-controlling effect of ketogenic diet is still actively being investigated, but many theories have been proposed. In December 2006, the Charli Association organized a panel with a commission of 26 pediatric epileptologists and dietitians from 9 countries experienced in the use of ketogenic diet. This group has developed a consensus on the clinical management of KD. In this article, the mechanism of neuroprotective action of KD, clinical indications and contraindications will be discussed. Patient selection consists of phases of counseling and evaluation before use of KD, selection of the type of KD, its administration, supplementations, follow-up and management of side effects. The combined effort of the pediatric neurologist, pediatrician and dietician during the monitoring of the child receiving KD is essential in the recognition, protection and elimination of the success of the KD treatment and its possible side effects. In this review, general pediatricians will be able to provide advice to the child's family and caregivers by increasing the skills they need to know about the care of children using KD.

Keywords: Ketogenic diet, childhood, refractory seizure, consensus

Alındığı tarih: 20.06.2017

Kabul tarihi: 18.07.2017

Yazışma adresi: Prof. Dr. Aycan Ünalp, Atatürk Mah. No: 354, Kent Apt., Kat: 6, Daire: 12, Alsancak - 35310 - İzmir - Türkiye
e-mail: aycanunalp67@gmail.com

Epilepsi Tedavisinde Ketojenik Diyet Uygulamaları

Epilepsi yineleyen epileptik nöbetlerle karakteri-

ze, beyindeki elektrikli aktivite değişikliği sonucu olarak davranış veya motor hareketlerde bozukluklarla seyreden bir hastalıktır. Epilepsi tüm dünyada en sık görülen ciddi nörolojik bir durumdur, popülas-

yonda prevelansı %1 olarak tahmin edilmektedir. Epilepsili kişilerin %65'inde nöbetler antiepileptik ilaçlarla (AEİ) kontrol edilebilir ⁽¹⁾. Fakat hastaların %35'inde tedaviye rağmen, nöbetler devam eder ve bunlar ilaca dirençli epilepsi (İDE) grubunu oluşturur. Epilepsili hastalarda standart ilk seçenek tedavi epilepsinin tipine göre seçilen AEİ'dir. Hangi ilacın uygulanacağıyla ilgili kılavuzlar olmakla beraber, hala mekanistik yaklaşım veya semiyolojik/sendromik tanımlamara göre rasyonel ilaç seçimleri yapılmaktadır ⁽²⁾. Nöbetlerin erken kontrol edilmesi gelişimsel olarak daha iyi sonuçların alınmasına yol açarken, ne yazık ki infantil dönemde başlayan nöbetlerin bazıları nöbet kontrolü açısından kötü bir prognoza sahiptir ^(3,4). Bu grup çocuk düzenli klinik takip, medikal tedavi ve destek tedavileriyle hastanelere büyük bir yük getirmektedir. Özellikle İDE'ler uzun sürede medikal ve bakım servislerine en fazla mali yükü getiren hastalar olmaktadır ⁽⁵⁾.

Ketojenik diyet (KD) yağlardan zengin, karbonhidratı (KH) düşük olan ve açlığın vücutta yaptığı etkiyi taklit eden bir diyetdir. Açlığın epilepside kullanılması Hipokrat zamanına kadar uzanmaktadır. KD orijinal protokolü Mayo Klinikte 1921'de geliştirilmiş ⁽⁶⁾ ve daha sonra John Hopkins Hastanesinde popülerize olmuştur ⁽⁷⁾. KD'te başlıca enerji kaynağını yağlar oluşturur ve geleneksel olarak hastanede 48 saat açlığı takiben başlanır. 1940'lerden sonra yeni AEİ'lerin geliştirilmesiyle KD kullanımı azalmıştır. Etkinliği geliştirilmiş olan bu yeni AEİ'lerin değişik yan etkilerinin olduğu gözlenmiştir ve bazı hastalar hala dirençli olmaya devam etmektedirler ⁽⁸⁾. 1992'lerden sonra aile destek gruplarının da desteğiyle KD yeniden klinik uygulamada önem kazanmaya başlamıştır.

Etki Mekanizmaları:

KD'in nöbet kontrolüyle ilgili etki mekanizmaları hala aktif olarak araştırılmaktayken, bu konuda bir çok teori öne sürülmüştür. Antikonvülzan etkisinin anlaşılması güç olmakla beraber, KD'te glikolizisten yağ asidi oksidasyonuna global bir geçiş olmakta, keton cisimleri ve yağ asitleri hem kan hem de beyinde artmaktadır. KD karaciğerde yağ metabolizmasına yol açarak 3 keton cisimciği (KC) oluşturur; beta-

hidroksibutirat (BHB), asetoasetat, ve aseton. Keton cisimleri kan-beyin bariyerini geçer ve beyin ana enerji kaynağını oluşturur. Ketozis sırasında beyinin majör uyarıcı nörotransmitteri olan glutamatın sinaptik salınımı artar ve bunun da gama-aminobutirik aside dönüşümü, majör inhibitör nörotransmitter, nöronal inhibisyona yol açar ⁽⁹⁾. KD keton cisimleri veya PUFA'lar yoluyla ATP üretimini arttırmakta, serbest oksijen radikalleri üretimini azaltmakta ki her ikisi de mitokondrial bütünlüğü korumakta- ve nöroprotektif etkiye sahip olduğuna dair veriler giderek artmaktadır ⁽¹⁰⁾. KD epileptogenezis ile ilişkili olan mitokondrial disfonksiyonu da iyileştirir ⁽¹¹⁾. KD'in antikonvülzan etkisinin rapamisin patway inhibisyonu da yaparak olduğu ileri sürülmektedir ⁽¹²⁾.

Bundan daha da önemlisi BHB hem epigenetik (sözgelimi histon deasetilazların inhibisyonu) ve hem de anti-inflamatuvar (sözgelimi hidroksikarboksilik asit reseptörlerinin periferik modülasyonu ve NOD-benzeri reseptör protein 3 veya NRLP3 inflamazom inhibisyonu) aktivite ortaya çıkartır. BHB'nin son 2 etkisi direkt olarak iktogenezis ve/veya epileptogenez ile ilişkilidir ve kanıtlar nöroinflamasyonun azalmasının nöbet aktivitesini bloke edebileceğini göstermektedir ⁽¹³⁾. Adenozin trifosfat (ATP)-duyarlı potasyum (KATP) kanalları, veziküler glutamat taşıyıcısı (VGLUT), panneksin kanalları ve adenozin reseptörleri halen KD ve diğer metabolik tedavilerin etki mekanizmalarıyla ilgili olarak araştırılan konulardır ⁽¹⁴⁾.

Hasta Seçimi:

İki veya üç ilaca yanıtız olan epilepsiler İDE olarak tanımlanmaktadır. İDE'de çıkarılabilecek epileptik odak varsa epilepsi cerrahisi en iyi tedavidir, ancak böyle bir şansı olmayan çocuklar için KD en iyi tedavi seçeneği olabilir. KD geleneksel olarak miyoklonik, atonik ve Lennox-Gastaut sendromundaki gibi mikst tip nöbetlerin tedavisinde etkilidir fakat fokal nöbetleri de içerecek şekilde nöbet tipleri ile etkinlik arasında istatistiki olarak fark bulunmamıştır ^(10,15).

Glukoz transporter-1 eksikliği sendromu (GLUT-1) ve piruvat dehidrogenaz eksikliği (PDHD) gibi bazı metabolik hastalıklar için KD ilk tedavi seçeneğini oluşturur. Bazı epilepsi sendromlarında ve tuberosk-

leroziste KD erken başlanabilir ⁽¹⁶⁾.

Önceden KD gelişimin çok kritik bir dönemi olması ve besin yetersizliğinin yüksek risk taşıdığı 2 yaş altındaki çocuklarda kullanılmazken, son zamanlarda epileptik infantlarda KD'in gayet iyi bir şekilde tolere edildiği ve etkili olduğu gösterilmiştir ⁽¹⁷⁾. 2016 yılında uluslararası bir konsensüs tarafından infantil epilepsili çocuklarda KD kullanımıyla ilgili bir kılavuz raporlanmıştır ⁽¹⁸⁾.

Ketojenik Diyetin Etkinliği:

KD bazı epilepsi ve genetik sendromlarda özellikle yararlı olmaktadır (Tablo 1). Miyoklonik epilepsiler, infantil dönemin ciddi miyoklonik epilepsisi (Dravet sendromu) ve miyoklonik-astatik epilepsi (Doose sendromu) KD'e iyi yanıt verirler ⁽¹⁶⁾. Kortikosteroid ve diğer ilaçlara dirençli olan West sendromunda da KD yararlıdır. Bir çok merkez tarafından KD'in Lennox-Gastaut sendromu, Lafora hastalığı, Rett sendromu, yavaş uykuda status epileptikus (ESES), Landau-Kleffner sendromunda yararlı olduğu gösterilmiştir ^(19,20).

Tablo 1. KD'in yararlı olduğu epilepsi sendromları ve durumlar.

Glukoz transporter protein 1 eksikliği (GLUT-1)
Piruvat dehidrogenaz eksikliği (PDHD)
Miyoklonik-astatik epilepsi (Doose sendromu)
Tuberosis sklerosis kompleks
Rett sendromu
Ciddi miyoklonik epilepsi (Dravet sendromu)
İnfantil spazm
Yalnızca formüla kullanan çocuklar (infant veya enteral beslenen hastalar)
Mitokondrial hastalıklar
Glikozenozis tip-5
Landau-Kleffner sendromu
Lafora cisim hastalığı

Diyet Öncesi Değerlendirme ve Danışma:

KD birçok spesifik hastalıkta kontrendikedir. Yağ asidi transport ve oksidasyon hastalıklarında KD veya açlık sırasında ciddi bozulma (katabolik kriz) meydana gelir, koma ve ölüme yol açabilir. KD başlanmadan önce metabolik hastalıklar taranmalı ve olmadığı gösterilmelidir (Tablo 2).

Diyete başlamadan önce polikliniğe başvuru yapıldığında öncelikle nöbet tipi belirlenir, komplike fak-

Tablo 2. KD kullanımının kontrendike olduğu durumlar.

1-Absolü

Karnitin eksikliği (primer)
Karnitin palmitoil transferaz (CPT) 1 ve 2 eksikliği
Karnitin translokaz eksikliği

B-oksidasyon defektleri

Orta-zincirli açıl dehidrogenaz eksikliği (MCAD)
Uzun- zincirli açıl dehidrogenaz eksikliği (LCAD)
Kısa-zincirli açıl dehidrogenaz eksikliği (SCAD)
Piruvat karboksilaz eksikliği

Porfiri

2-Relatif

Nörogörüntüleme ve video-EEG monitorizasyonu ile cerrahi odak saptanması
Aile veya bakıcının uyum yetersizliği

Tablo 3. KD öncesinde yapılması önerilen değerlendirmeler.

1-Öneriler

Nöbet azalması, ilaçlar ve bilişsel beklentilerin tartışılması
KD kullanılması için psikososyal bariyerlerin belirlenmesi
Antikonvülzan ve diğer ilaçların karbonhidrat içeriğinin gözden geçirilmesi

KD ile ilgili aileye yönelik bilgilerin okunması önerilir.

2-Beslenmenin değerlendirilmesi

Ağırlık, boy, boya göre ideal kilo
Vücut kitle indeksi (BMI)
Beslenme öyküsünün alınması: Üç günlük besin alımı, gıda tercihi, alerji, intolerans

Diyet formülasyonunun belirlenmesi: Oral, formüla, enteral veya kombinasyon

Diyetin tipi: MCT, Modifiye Atkins veya düşük glisemik indeks diyeti

Kalori, sıvı ve ketojenik diyet oranının hesaplanması

Besin eklemelerinin referanslara göre hesaplanması

3-Laboratuvar değerlendirmesi

Tam kan sayımı

Elektrolitler, bikarbonat, total protein, kalsiyum, çinko, selenyum, magnezyum ve fosfat

Karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri (albümin, AST, ALT, kan üre nitrojen, kreatinin)

Açlık lipidprofili

Serum açilkarnitin profili

Tam idrar

İdrar kalsiyum/kreatinin

Antiepileptik ilaç kan düzeyi (gerekliyse)

Kan aminoasitleri

İdrar organik asitleri

4-İlave (isteğe bağlı) testler

Renal USG ve nefroloji konsültasyonu (böbrek taşı öyküsü varsa)

EEG

MRI

BOS (kesin etiyoloji saptanamamışsa)

EKG (EKO) kalp hastalığı öyküsü varsa

törler değerlendirilir (böbrek taşı, dislipidemi, karaciğer hastalığı, büyüme geriliği, gastroözofajial reflü, oral alımın kötü olması, konstipasyon, kardiomyopati ve kronik metabolik asidoz). KD ekibi tüm kullanılan ilaçları KH içeriği açısından gözden geçirir ve daha düşük veya KH içermeyen ürünle değiştirir.

Uluslararası ketojenik diyet çalışma grubunun KD'ye başlamadan önce yapılmasını önerdiği bazı ön koşullar vardır (Tablo 3) ⁽²¹⁾. KD'ye başlamadan önce psikososyal olarak ailenin hazır olduğunun belirlenmesi gerekir. Ailenin çocuğuna KD uygularken rolünü anladığından emin olunmalıdır. Özellikle diyetle kesin uyulması, KH'lardan kaçınılması gerektiği, multivitamin ve mineral eklenmesi gerektiği ve potansiyel yan etkilerin farkında olmaları gerekir. Çocuğun davranış ve kişisel özellikleri, ilaç allerjileri, yiyecek intoleransı, kültürel veya yöresel seçenekler öğünler planlanırken göz önünde bulundurulmalıdır.

KD başlamadan önce birçok laboratuvar tetkiklerinin yapılması gerekmektedir. Epilepsinin etiyolojisi belli değilse tanısal olarak progresif epileptik ensefalopatilere yönelik kan ve idrar metabolik testleri ve BOS incelemesi (glukoz, protein, laktat, amino asitler, nörotransmitterler) yapılmalıdır. Cerrahi gereksiniminin değerlendirilmesi açısından EEG ve MRI ile değerlendirme yapılması önerilir.

Diyete başlamadan önce KD ekibiyle ailenin beklentisinin tartışılması KD'in başarısını etkiler. Her çocuk için beklenti gerçekçi bir şekilde saptanmalı ve minimum 3 aylık tedaviden sonra tedaviye

devam kararı yine değerlendirilmelidir. Aile eğitiminde öğünlerin hazırlanması, hasta olduğunda nasıl yönetileceği, besinsel eklemeler öğretilmelidir. Uzun ve kısa sürede meydana gelebilecek komplikasyonları aile bilmeli ve tedaviye başlamadan önce onam formu alınmalıdır (Tablo 5).

KD ekibinde sosyal hizmet uzmanı bulunması ailenin gereksinimlerini belirleyebilir, kaynakları toplayabilir, diğer ailelerle iletişim ve destek oluşturulmasını sağlayabilir. Hatta son zamanlarda bir eczacının da ekipte yer almasının yararlı olacağı belirtilmektedir.

Ketojenik Diyet Tipleri:

KD uzun zincirli yağ asitleri (LCT) veya orta zincirli yağ asitlerine (MCT) dayalı olmak üzere 2'ye ayrılabilir. Klasik KD geleneksel bir tedavi şeklidir ve bu konuda daha fazla bilgi bulunur fakat bazı hastalarda MCT daha çok yeğlenir. Klasik KD'de yağlar LCT'dir ve başlıca standart yiyeceklerden sağlanır. Protein büyüme için gerekenin en az miktarında verilir ve KH'lar kısıtlanır. MCT'ler oktanoik ve dekanolik asitler hücre içine daha kolay taşındıkları için LCT'lerden daha ketojeniktirler. Bu ketojenik potansiyelleri nedeniyle MCT diyetinde daha az total yağ gerekir, böylece daha fazla KH ve protein eklenebilir. Son 20 yıldır yapılan çalışmalar her iki diyet arasında etkinlik ve tolerabilite açısından önemli bir fark olmadığını göstermiştir ^(17,22).

Klasik KD, yağların proteinle birlikte KH'lara gram olarak oranlarının hesaplanmasıyla yapılır. En sık kullanılan oranlar 3 veya 4 g yağ a 1 g proteinle birlikte KH olacak şekilde oranlanır (3:1 ya da 4:1). Bu enerjinin %90'nın yağlardan geldiğini ve %10'unun proteinle birlikte karbonhidratlardan geldiğini gösterir.

Kalori gereksinimi yaşa göre gereksinimin %80-90'ına azaltılır. Önceden yapılan sıvı gereksiniminin normalin %90'ına kısıtlanması artık kullanılmamaktadır.

MCT diyetinde kalorinin %60'ı MCT'lerden sağlanır. Bu düzeyde MCT gastrointestinal rahatsızlığa yol açabilir; karın ağrısı, diyare ve kusma gibi. LCT diyeti de daha fazla konstipasyona yol açabilir.

Tablo 4. Ketojenik diyetin yan etkileri.

Erken ve Geç Başlangıçlı	Geç Başlangıçlı
Gastrointestinal bozukluklar	Büyüme geriliği
Dehidratasyon	Hepatik yetmezlik
Enfeksiyon hastalıkları	Gastroözafajial reflü
Sepsis	Mineral eksikliği
Lipoid aspirasyon pnömonisi	Vitamin eksikliği
Hepatit	Osteopeni
Akut pankreatit	Renal taş
Biyokimyasal bozukluklar	Kardiyomyopati
Lipid profil anormallliği	QT aralığı uzaması
Semptomatik hipoglisemi	Demir eksikliği
Persistan metabolik asidoz	Sekonder hipokarnitinemi
Hipoproteinemi	Optik nöropati
Yineleyen hiponatremi	Bazal ganglion zedelenmesi
Hiperürisemi	

Bunun yanı sıra MCT'ler klasik KD'e eklenerek keton artışı ve laksatif etkilerinden yararlanılabilir.

Son yıllarda epilepsi için 2 yeni diyet tedavisi daha geliştirilmiştir; modifiye Atkins diyeti (MAD) ve LGIT⁽²³⁻²⁵⁾. Bu tedavilerin başlanması için hastane yatışı ve gıdaların içeriğinin ve porsiyonların tartılması gerekmez. Öğünlerin hesaplanması diyetisyenin daha az zamanını alır fakat daha iyi bir aile uyumu gerekir.

MAD klasik KD'e benzer ve 1:1 ketojenik oranı kullanılır⁽²⁴⁾. Başlangıç günlük KH içeriği 10 g, 1-3 ay sonra 15-20 g/güne artış yapılır. Protein, sıvılar ve kalori kısıtlanmaz, günlük yemek planı yapmak daha kolaydır⁽³⁵⁾.

LGIT total günlük KH alımını 40-60 g/gün düzeyinde tutulması fakat kan glukozunda küçük değişiklikler yapacak şekilde KH tipinin düzenlenmesi (düşük glisemik indeks <50) esasına dayanır⁽²³⁾. Bu diyetlerin adolesan ve erişkinler tarafından uygulanması klasik KD'e göre daha kolaydır ve benzer etkinliğe sahiptirler. Hangi diyetin başlanacağı çocuğun gereksinimi ve alışkanlıklarına göre seçilir ve KD ekibinin tecrübesi de bunu etkiler. Likid ve formüla bazlı KD henüz katı gıdalara geçmemiş olan infant ve enteral olarak beslenen hastalarda yeğlenir⁽²¹⁾. Sonuçta MAD ve LGIT benzer etki ve daha iyi torabiliteye sahiptirler⁽²⁵⁾.

Diyetin Başlanması:

KD geleneksel olarak açlık periyodundan sonra başlanır, KH içeren sıvılar verilmez ve kan şekeri izlenir. Açlık 12 saatten 48 saate kadar uzatılabilir- idrar ketonları yeterince artana kadar fakat çocuklarda 72 saate kadar uzatılmamalıdır⁽⁷⁾. Hipoglisemi, asidoz, bulantı, kusma, dehidratasyon, letarji gelişebileceği için çoğu merkez hastayı yatırır, böylece aile eğitimi daha yoğun bir şekilde yapılabilir (evde öğünlerin hesaplanması, tartılması, düzenlenmesiyle ilgili). Hastanın yağ artışı tolerans edebilmesi için diyet 1:1, 2:1, 3:1 ve 4:1 olarak günlük artış olacak şekilde yapılır. Yapılan retrospektif ve prospektif çalışmalar açlığın ketozis oluşturmak için gerekli olmadığı, daha sıklıkla ve ciddiyette yan etki yaptığı ve KD'i yavaş arttırma protokollerinin 3 ay sonunda

nöbet kontrolünü aynı şekilde sağladığı bildirilmektedir⁽²⁶⁾.

KD'i optimal koşullarda uygulamak için KD eğitimi almak ve software programı kullanarak gıdaların bileşiminin incelenmesi önemlidir. KD'in uygulanması için Keto Calculator gibi bir bilgisayar programının kullanılması olasıdır ve hem zamandan tasarruf sağlar hem de hataları önler⁽²⁷⁾. Çocuğa bakan kişiye diyetin hesaplanması ve gıdaların tüketimiyle ilgili bilgi vermesi açısından iyi eğitilmiş bir diyetisyenin olması önemlidir.

İlaçlar ve Ketojenik Diyet:

KD ile ilaçlar arasında farmakodinamik etkileşim olduğunu gösteren yeterli veri yoktur. KD ile birlikte AEİ verilmesinin daha fazla veya daha az nöbetten koruyucu etkisi yoktur. KD non-farmakolojik tedavilerle sözelimi, VNS ile sinerjik etki gösterir⁽²⁸⁾. İlaç kan düzeyleri KD ile değişmez. Valproik asit idiosenketik olarak hepatotoksiste yapabileceği için çünkü bu ilaç kısa zincirli bir yağ asididir geçmişte KD ile birlikte kullanılmasından kaçınılmıştır. Ancak yeni klinik bulgular idiosenketik reaksiyonlardan daha çok sekonder karnitin eksikliğine yalnızca KD veya valproik asit nedeniyle gelişebilen bağlı olarak kötüleşme olabileceğini göstermiştir⁽²⁹⁾.

KD geçici fakat klinik asemptomatik metabolik asidoz da yapabilir. Karbonik anhidraz inhibitörleri (KAİ) KD'e eklendiğinde (topiramet ve zonisamid gibi) metabolik asidoz kötüleşebilir, tedavinin başlangıcında serum bikarbonat düzeyleri düşebilir. Bu AEİ'leri alan çocuklarda bikarbonat izlenmeli ve semptomatik olduğunda (kusma, letarji) tedavi verilmelidir. KAİ'nin renal taş oluşturmaya potansiyelleri de KD ile birlikte kullanıldığında artmaktadır⁽³⁰⁾. İdrar kalsiyum/kreatinin oranı bazalde ve her 3 ayda bir izlenmelidir. Oral sitratların böbrek taşından koruyucu olarak ampirik kullanımı ile ilgili prospektif çalışmalar yoktur.

AEİ'lerin kesilmesi KD'in başlıca amaçlarından biridir ve başarılı olduktan birkaç ay içinde başlanır⁽³¹⁾. Fenobarbital ve benzodiazepinler kesilirken nöbet artışı daha fazla olabilir, bu nedenle daha dikkatli olunmalıdır. AEİ'lerin dışında KH veya şeker içeren

diğer ilaçlara da dikkat etmek ve alternatifiyle değiştirmek gerekir.

Ketojenik Diyetle Eklenmesi Önerilen Vitamin ve Mineraller:

Dengeli beslenmede vitamin ve mineraller yeterliyken KD'te meyve, sebze, tahıllar ve kalsiyum içeren gıdalar kısıtlanmış olduğundan vitamin ve mineral eklenmesi gereklidir. KD'te kalsiyum ve D vitamini azdır ve epilepsili çocuklarda da D vitamini düzeyleri düşüktür bu nedenle hem D vitamini hem de kalsiyum eklenmelidir ⁽³²⁾. Çinko, bakır, selenyum ve fosfor düşük saptanırsa eklenir, normalse standart multivitamin olarak verilir. Karbonhidratı olmayan veya az miktarda olan multivitaminler kullanılmalıdır.

Gastrointestinal motilite bozukluğu KD'in sık bir yan etkisidir. Gastroözofajial reflü bulguları varsa ampirik olarak eklenmesinin yararlı olduğuyula ilgili yeterli veri olmamakla beraber, H2 reseptörblokerleri ve proton pompa inhibitörleri verilir. Konstipasyon da siktir, ailelerin liften zengin sebzeleri yeğlemesi, yeterli sıvı ve gerekirse laksatif kullanmaları önerilir.

Karnitin kullanımıyla ilgili olarak tüm dünyada değişkenlikler vardır. Sekonder hipokarnitinemi düşük insidansta olmakla beraber, hepatit, kardiyomyopati gibi ciddi sistemik komplikasyonlara yol açabilir. Hipokarnitinemi durumunda jeneralize güçsüzlük, aşırı yorgunluk, kas gücünün azalması gibi birçok dirençli epilepsili hastada görülebilen semptomlar söz konusu olabilir. Uzun süre valproat gibi AEİ'ların kullanımı, beslenme durumunun yetersiz olması ve uzun süre KD kullanımı özellikle küçük çocuklarda sekonder hipokarnitinemi nedenidirler ⁽²⁹⁾. Karnitin düzeyleri bazalde ve kontrollerde ölçülmeli ve düşük düzeyler saptandığında veya semptomlar ortaya çıkınca eklenmelidir.

Ketojenik Diyet Alan Çocuğun Takibi:

KD alan bir çocuk düzenli olarak KD uygulamayı bilen bir diyetisyen ve çocuk nöroloğunun takibinde olmalıdır. En az 3 ay aralarla çocuk görülmelidir, 1 yaşın altındaki çocukların daha sık takip edilmesi gerekebilir. Serebral palsi, büyüme persantilleri geri

olan çocuklar, KD'i yürütmekte güçlük çeken veya KD başladıktan hemen sonra hastalık geçiren çocuklarda daha dikkatli olunması gerekir. Bir yıldan sonra 6 ayda 1, kontrol yeterli olabilir.

Konsensus grubu aileler tarafından rutin olarak haftada birkaç kez idrar ketonu takibi önermektedir. Serum BHB düzeyinin nöbet kontrolüyle daha iyi körele olduğunu gösteren kısıtlı veri olmasına rağmen, idrar ketonunun nöbet kontrolü ile körele olmadığı durumlarda (nöbet kontrolü olduğu halde, idrar ketonunun yüksek olmadığı, idrarda yüksek keton düzeyine rağmen, nöbetlerin kötüleştiği durumlarda) ve rutin KD klinik kontrollerinde kanda BHB düzeyi ölçümünün daha değerli olduğu düşünülmektedir.

Tam fizik muayene, ağırlık ve boy ölçümünün yanı sıra laboratuvar incelemeleri yapılmalıdır. KD'in yeterli protein ve kalori sağladığını göstermesi açısından total protein ve albumine özellikle dikkat edilmelidir. Açlık kolesterol ve trigliserit düzeyleri tipik olarak yükseleceğinden izlenmelidir. Birçok merkez rutin olarak renal USG, EKO veya kemik mineral dansite ölçümü yapmamaktadır. Ancak bazı merkezler izlemde EEG kontrolü yaparak KD etkinliğini izlemektedir. KD alırken her 3 ayda bir kilo ve boy ölçülerek büyümenin yeterliliği kontrol edilmelidir. Aşırı kilo alma veya vermenin nöbet kontrolü üzerine etkisi gösterilmemiştir.

KD oranı ve eklenen MCT yağı nöbet kontrolü ve ketozis azalırsa artırılırken, diyet tolere edilemezse, lipidler artarsa, lineer büyüme bozulursa, letarjiye yol açan fazla ketozis oluşursa azaltılır. Yeterli sıvı alımı idrar dansite ölçümü (<1015) ile kontrol edilebilir.

Her klinik vizitte ve 2 yıllık tedavinin sonunda hasta KD'in yarar ve zararları yeniden ele alınarak değerlendirilir. Aileyi de işin içine katarak çocuğa ne kadar süreyle KD'in uygulanacağına karar verilir.

Ketojenik Diyetin Yan Etkileri:

Metabolik anormallikler KD'in minör yan etkileridir, hiperürisemi, hipokalsemi, hipomagnezemi, amino asit düzeylerinde düşme ve asidozu içerir. Gastrointestinal bulgular kusma, konstipasyon, diya-re ve karın ağrısı %12-50 çocukta olabilir ⁽³³⁾. KD'in

yağlardan zengin olan içeriği gastrik boşalma zamanını uzatarak kusmaya yol açabilir. Konstipasyon fibrilden yoksul yiyecek alımına bağlı olabilir. KD oranının 3:1 olması 4:1'e göre daha iyi tolere edilir⁽³⁴⁾. İzlem sırasında hipertrigliseritemi ve hiperkolesterolemi görülebilir (Tablo 4)⁽³⁵⁾.

Renal taş %3-7 çocukta olabilir, ürik asit, kalsiyum oksalat, kalsiyum fosfat veya mikst tipte olabilir. Potasyum sitrat kullanımı riski azaltabilir. Tedaviyi kesmek gerekmez ender olarak litotripsi gerekir⁽³⁶⁾.

KD'in çocuklardaki büyüme üzerindeki etkisi çelişkilidir. Retrospektif bir çalışmada, %86'nın büyümesinin yavaş olduğu bildirilmiştir. Bu etki diyet anındaki ağırlık, boy ve kalori alımından bağımsızdır⁽³⁷⁾.

Kardiak anomali olarak kardiyomiyopati ve QT uzunluğu bildirilmiştir. Bunların mekanizması tam bilinmiyor, ancak bir hastada selenyum eksikliğine bağlı kardiyomiyopati bildirilmiştir⁽³⁸⁾. Uzun süreli dislipideminin damarsal yapılar ve aterom oluşumu üzerine etkisi açıkça belli değildir. Yapılan bir çalışmada, KD ile kolesterol, LDL ve trigliseritler ortalama 12 ay sonra anlamlı derecede artmış olmasına rağmen, karotis intima-media kalınlığı, aorta ve karotis arterlerinin elastikiyeti üzerinde bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir⁽³⁹⁾. Doppler EKO çalışmaları kardiyomiyopatinin saptanması açısından gerekli olabilir. Satüre olmamış yağların daha fazla kullanılması, MCT eklenmesi, KD oranının düşük tutulması ve karnitin eklenmesi dislipideminin risklerinden korunmak için yararlı olabilir⁽⁴⁰⁾.

Hepatit ve pankreatit fatal komplikasyonlardır, valproat kullananlarda dikkat edilmelidir⁽⁴¹⁾. Uzun süreli etkileriyle ilgili çok fazla bilgi olmamakla beraber, kemik kırılması riski vardır. Uzun süre KD veya AEİ kullanan epilepsili çocuklarda kemik mineral dansitometri-DEXA yapılması kemik sağlığı açısından yararlı olabilir. KD'in yan etkileri ve yararları her çocuk için kendi içinde değerlendirilmelidir.

Yapılan bir çalışmada, KD uygulanan çocukların %80'inde başlangıçta hafif kolayca tedavi edilebilen yan etkiler görülmüştür. Bunlar kusma, yiyecek reddi ve hipoglisemi şeklindeydi ve %53'ünde meyve suyu verilmesi gibi medikal bir tedavi gerekli olmuştu. Küçük çocuklarda başvuruda yineleyen hipoglisemi

şeklinde daha çok yan etki görüldüğü fakat yan etkilerin şiddetiyle 3 ay sonunda nöbet azalması arasında korelasyon saptanmadığı bildirildi⁽⁴²⁾.

Özel Durumlar:

KD alan çocuklarhastaneye veya acile başvurduklarında özel bir bakıma gereksinimleri olur. Dekstroz içeren sıvıların verilmesi nöbetlerin yinelemesine yol açacağından kaçınılmalıdır. Propofol alan çocuklarda KD propofol infüzyon sendromuna yol açabileceğinden kullanılmamalıdır⁽⁴³⁾. Genel cerrahi sırasında hipoglisemi ve metabolik asidoz gelişimi açısından dikkatli olmak gerekir⁽⁴⁴⁾.

Ketojenik Diyetin Kesilmesi:

KD'in kesilmesi çocuğun diyet yanıtına göre değişir. Çoğu aileler istemese de KD ilk 3 ayda etkili olmadıysa kesilmesi önerilmektedir. KD etkiliyse hızla çalışır, %75 çocuk 14 günde yanıt verir, KD'in etkisini değerlendirmek için daha kısa zaman bile yeterlidir⁽⁴⁵⁾. İlk birkaç günde nöbetler kötüleşirse KD AEİ'larda olduğu gibi acilen kesilmelidir.

Çocukta >%50 nöbet kontrolü varsa KD 2 yıl sonra kesilmelidir. Tama yakın nöbet kontrolü olan çocuklarda (örn. >%90 nöbet azalması) ve yan etkiler azsa 6-12 yıl KD yararlı olabilir. Glut-1 eks., PDHD ve tuberosklerozisi olan çocuklar daha uzun bir süre KD'e gereksinim duyabilirler⁽⁴⁶⁾. Rekürrens oranı EEG'de epileptik anormallik, nörogörüntüleme yapısal anormallik olan ve tuberosklerozisli çocuklarda yüksektir⁽⁴⁶⁾. Endikasyonu varsa yoğun bakımda KD aniden kesilebileceği gibi genellikle KD oranı yavaşça azaltılarak 2-3 ayda kesim yapılır. KD'i kesmeden önce ailelere tahmini rekürrens oranı verebilmek için EEG yapılmalıdır, ki bu genellikle %20 civarındadır. Nöbet artışı olursa KD önceki orana yine çıkılabilir.

Her ilaçta olduğu gibi KD'in de yan etki yapma olasılığı vardır. Ancak bunların çok az bir kısmı ciddi komplikasyonlardır ve çoğu çocukta KD'in kesilmesi gerekmez. Fakat doktorların bunların farkında olması, aileleri bilgilendirmesi ve bu komplikasyonların gelişimi açısından çocuğu izlemesi

gereklidir.

Sonuçta, her geçen gün daha fazla çocuk KD tedavisini kullandığı için her çocuk hekiminin bu diyetle ilgili yeterli bilgiye sahip olması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Kwan P, Schachter SC, Brodie MJ. Drug-resistant epilepsy. *N Engl J Med* 2011;365:919-26. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1004418>
2. Cardinali S, Canafoglia L, Bertoli S, Franceschetti S, Lanzi G, Tagliabue A, Veggiotti P. A pilot study of a ketogenic diet in patients with Lafora body disease. *Epilepsy Res* 2006;69:129-34. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2006.01.007>
3. Chevrie JJ, Aicardi J. Convulsive disorders in the first year of life: neurological and mental outcome and mortality. *Epilepsia* 1978;19:67-74. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1978.tb05013.x>
4. Deonna T, Perez ER. Cognitive and behavioural disorders of epileptic origin in children. Cambridge, Cambridge University Press, 2005. p. 241.
5. Groesbeck DK, Bluml RM, Kossoff EH. Long-term use of the ketogenic diet in the treatment of epilepsy. *Dev Med Child Neurol* 2006;48:978-81. <https://doi.org/10.1017/S0012162206002143>
6. Wilder RM. The effect of ketonemia on the course of epilepsy. *Mayo Clin Bulletin* 1921;2:307-308.
7. Freeman JM, Kossoff EH, Freeman JB, Kelly MT. The ketogenic diet: a treatment for epilepsy in children and others. 4th ed. Demos, New York, 2006.
8. Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med* 2000;342:314-319. <https://doi.org/10.1056/NEJM200002033420503>
9. Yudkoff M, Daikhin Y, Melo TM, Nissim I, Sonnewald U, Nissim I. The ketogenic diet and brain metabolism of amino acids: relationship to the anticonvulsant effect. *Ann Rev Nutr* 2007;27:415-430. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.27.061406.093722>
10. Kossoff EH, Zupec-Kania BA, Amark PE, Ballaban-Gil KR, Christina Bergqvist AG, Blackford R, Buchhalter JR, et al. Optimal clinical management of children receiving the ketogenic diet: recommendations of the International Ketogenic Diet Study Group. *Epilepsia* 2009;50(2):304-17. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01765.x>. Epub 2008 Sep 23.
11. Gano LB, Patel M, Rho JM. Ketogenic diets, mitochondria, and neurological diseases. *J Lipid Res* 2014;55:2211-2228. <https://doi.org/10.1194/jlr.R048975>
12. McDaniel SS, Rensing NR, Thio LL, Yamada KA, Wong M. The ketogenic diet inhibits the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway. *Epilepsia* 2011;52:e7-e11. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.02981.x>
13. Simeone TA, Simeone KA, Rho JM. Ketone Bodies as Anti-Seizure Agents. *Neurochem Res* 2017 Apr 10. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2253-5>. [Epub ahead of print].
14. Kawamura MJ, Ruskin DN, Masino SA. Metabolic Therapy for Temporal Lobe Epilepsy in a Dish: Investigating Mechanisms of Ketogenic Diet using Electrophysiological Recordings in Hippocampal Slices. *Front Mol Neurosci* 2016;9:112. eCollection 2016.
15. Maydell BV, Wyllie E, Akhtar N, Kotagal P, Powaski K, Cook K, Weinstock A, Rothner AD. Efficacy of the ketogenic diet in focal versus generalized seizures. *Pediatr Neurol* 2001;25(3):208-12. [https://doi.org/10.1016/S0887-8994\(01\)00310-1](https://doi.org/10.1016/S0887-8994(01)00310-1)
16. Stenger E, Schaeffer M, Cances C, Motte J, Auvin S, Ville D, Maurey H, Nabbout R, de Saint-Martin A. Efficacy of a ketogenic diet in resistant myoclonic-astatic epilepsy: A French multicenter retrospective study. *Epilepsy Res* 2017;131:64-69. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2017.02.005>. Epub 2017 Feb 20.
17. Neal EG, Cross JH. Efficacy of dietary treatments for epilepsy. *J Hum Nutr Diet* 2010;23(2):113-9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2010.01043.x>
18. van der Louw E, van den Hurk D, Neal E, Leidecker B, Fitzsimmon G, Dority L, Thompson L, Marchi M, Dudzińska M, Dressler A, Klepper J, Auvin S, Cross JH. Ketogenic diet guidelines for infants with refractory epilepsy. *Eur J Paediatr Neurol* 2016;20(6):798-809. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2016.07.009>. Epub 2016 Jul 17.
19. Zhang Y, Wang Y, Zhou Y, Zhang L, Yu L, Zhou S. Therapeutic effects of the ketogenic diet in children with Lennox-Gastaut syndrome. *Epilepsy Res* 2016;128:176-180. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2016.11.003>. Epub 2016 Nov 9.
20. Kelley SA, Kossoff EH. How effective is the ketogenic diet for electrical status epilepticus of sleep? *Epilepsy Res* 2016;127:339-343. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2016.09.018>. Epub 2016 Sep 23.
21. Kang HC, Kim YJ, Kim DW, Kim HD. Efficacy and safety of the ketogenic diet for intractable childhood epilepsy: Korean multicentric experience. *Epilepsia* 2005;46:272-279. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2005.48504.x>
22. Neal EG, Chaffe H, Schwartz RH, Lawson MS, Edwards N, Fitzsimmons G, Whitney A, Cross JH. A randomized trial of classical and medium-chain triglyceride ketogenic diets in the treatment of childhood epilepsy. *Epilepsia* 2009;50(5):1109-17. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01870.x>. Epub 2008 Nov 19.
23. Pfeifer HH, Thiele EA. Low-glycemic-index treatment: a liberalized ketogenic diet for treatment of intractable epilepsy. *Neurology* 2005;65:1810-1812. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000187071.24292.9e>
24. Kossoff EH, McGrogan JR, Bluml RM, Pillas DJ, Rubenstein JE, Vining EP. A modified Atkins diet is effective for the treatment of intractable pediatric epilepsy. *Epilepsia* 2006;47:421-424. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00438.x>
25. Kossoff EH, Turner Z, Bluml RM, Pyzik PL, Vining EP. A randomized, crossover comparison of Daily carbohydrate limits using the modified Atkins diet. *Epilepsy Behav* 2007b;10:432-436. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2007.01.012>
26. Bergqvist AG, Schall JJ, Gallagher PR, Cnaan A, Stallings VA. Fasting versus gradual initiation of the ketogenic diet: a prospective, randomized clinical trial of efficacy. *Epilepsia* 2005;46:1810-1819. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.00282.x>
27. Zupec-Kania B. Keto Calculator: a web-based calculator for the ketogenic diet. *Epilepsia* 2008;49(Suppl 8):14-6. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01824.x>
28. Kossoff EH, Pyzik PL, Rubenstein JE, Bergqvist AG,

- Buchhalter JR, Donner EJ, Nordli DR Jr, Wheless JW. Combined ketogenic diet and vagus nerve stimulation: rational polytherapy? *Epilepsia* 2007a;48:77-81. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00903.x>
29. Coppola G, Epifanio G, Auricchio G, Federico RR, Resicato G, Pascotto A. Plasma free carnitine in epilepsy children, adolescents and young adults treated with old and new antiepileptic drugs with or without ketogenic diet. *Brain Dev* 2006b;28:358-365. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2005.11.005>
30. Kossoff EH, Pyzik PL, Furth SL, Hladky HD, Freeman JM, Vining EPG. Kidney stones, carbonic anhydrase inhibitors, and the ketogenic diet. *Epilepsia* 2002a;43:1168-1171. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2002.11302.x>
31. Kossoff EH, Pyzik PL, McGrogan JR, Rubenstein JE. Impact of early versus late anticonvulsant reduction after ketogenic diet initiation. *Epilepsy Behav* 2004b;5:499-502. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2004.03.011>
32. Bergqvist AG, Schall JI, Stallings VA. Vitamin D status in children with intractable epilepsy, and impact of the ketogenic diet. *Epilepsia* 2007;48:66-71. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00803.x>
33. Kang HC, da Chung E, Kim DW, Kim HD. Early and late-onset complications of the ketogenic diet for intractable epilepsy. *Epilepsia* 2004;45:1116-1123. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2004.10004.x>
34. Seo JH, Lee YM, Lee JS, Kang HC, Kim HD. Efficacy and tolerability of the ketogenic diet according to lipid: nonlipid ratios- comparison of 3:1 with 4:1 diet. *Epilepsia* 2007;48:801-805. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01025.x>
35. Kwiterovich PO Jr, Vining EP, Pyzik P, Skolasky R Jr, Freeman JM. Effect of a high fat ketogenic diet on plasma levels of lipids, lipoproteins, and apolipoproteins in children. *JAMA* 2003;290:912-920. <https://doi.org/10.1001/jama.290.7.912>
36. Sampath A, Kossoff EH, Furth SL, Pyzik PL, Vining EPG. Kidney Stones and the ketogenic diet: risk factors and prevention. *J Child Neurol* 2007;22:375-378. <https://doi.org/10.1177/0883073807301926>
37. Williams S, Basualdo-Hammond C, Curtis R, Schuller R.. Growth retardation in children with epilepsy on the ketogenic diet: a retrospective chart review. *J Am Diet Assoc* 2002;102:405-407. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(02\)90093-3](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(02)90093-3)
38. Bergqvist AG, Chee CM, Lutchka L, Rychik J, Stallings VA. Selenium deficiency associated with cardiomyopathy: a complication of the ketogenic diet. *Epilepsia* 2003;44:618-620. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2003.26102.x>
39. Özdemir R, Güzel O, Küçük M, Karadeniz C, Katipoglu N, Yılmaz Ü, Yılmaz MM, Meşe T. The effect of the ketogenic diet on the vascular structure and functions in children with intractable epilepsy. *Pediatr Neurol* 2016;56:30-4. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2015.10.017>. Epub 2015 Nov 26.
40. Kossoff EH, Zupec-Kania BA, Rho JM. Ketogenic diets: an update for child neurologists. *J Child Neurol* 2009;24:979-988. <https://doi.org/10.1177/0883073809337162>
41. Stewart WA, Gordon K, Camfield P. Acute pancreatitis causing death in a child on the ketogenic diet. *J Child Neurol* 2001;16(9):682. <https://doi.org/10.1177/088307380101600910>
42. Lin A, Turner Z, Doerrer SC, Stanfield A, Kossoff EH. Complications During Ketogenic Diet Initiation: Prevalence, Treatment, and Influence on Seizure Outcomes. *Pediatr Neurol* 2017;68:35-39. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2017.01.007>. Epub 2017 Jan 16.
43. Baumeister FA, Oberhoffer R, Liebhaber GM, et al. Fatal propofol infusion syndrome in association with ketogenic diet. *Neuropediatrics* 2004;35:250-252. <https://doi.org/10.1055/s-2004-820992>
44. Valencia I, Pfeifer H, Thiele EA. General anesthesia and the ketogenic diet: clinical experience in nine patients. *Epilepsia* 2002;43:525-529. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2002.12501.x>
45. Kossoff EH, Laux LC, Blackford R, Morrison PF, Pyzik PL, Turner Z, Nordli DL Jr. When do seizures improve with the ketogenic diet? *Epilepsia* 2008b;49:329-333. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01417.x>
46. Martinez CC, Pyzik PL, Kossoff EH. Discontinuing the ketogenic diet in seizure-free children: recurrence and risk factors. *Epilepsia* 2007;48:187-190. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00911.x>

Risk factors for epilepsy after ischemic stroke in children

Çocuklarda iskemik inme sonrası epilepsi için risk faktörleri

Faruk İNCECİK, Özlem M. HERGÜNER, Şeyda BESEN

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana

ABSTRACT

Objective: We performed this study to determine the incidence of seizures and post-stroke epilepsy and risk factors of post-stroke epilepsy after childhood ischemic stroke.

Methods: In this study, we retrospectively analyzed data from children who had ischemic stroke.

Results: Of the one hundred and two children, mean age of stroke onset was 67.32 ± 25.48 months (1-180 months). There were 56 (54.9%) boys and 46 (45.1%) girls in the study. Of the 102 patients, 39 (38.2%) had seizures. Twenty seven (69.2%) had early-onset post-stroke seizures, and 12 (30.8%) had late-onset post-stroke seizures. Epilepsy were detected in 17 (16.7%) of the patients. Eight of them had early-onset and nine had late-onset post-stroke seizures. We found that cortical involvement and late onset post-stroke seizure are predictors of the development of post-stroke epilepsy.

Conclusions: Post-stroke seizures and epilepsy in children are common. Therefore, further studies are needed to describe risk factors for the development of post-stroke epilepsy in this population.

Keywords: Ischemic stroke, post-stroke epilepsy, risk factors, children

ÖZ

Amaç: Bu çalışma, çocukluk çağı iskemik inme sonrasında nöbet, epilepsi ve epilepsi insidansı ile risk faktörlerinin saptanması için yapıldı.

Yöntem: Çalışmada, iskemik inme geçiren çocukların verileri retrospektif olarak analiz edildi.

Bulgular: İskemik inme geçiren 102 hastanın yaş ortalaması $67,32 \pm 25,48$ ay (1-180 ay) idi. Elli altısı (%54,9) erkek ve 46'sı ise (%45,1) kız idi. Yüz iki hastanın, 39'u (%38,2) nöbet geçirmişti. Yirmi yedi (%69,2) hastanın nöbeti erken başlangıçlı iken, 12 (%30,8) hastanın nöbeti geç başlangıçlıydı. Hastaların 17'sinde (%16,7) epilepsi gelişmişti. Bunların 8'i erken başlangıçlı nöbeti olan hastayken, 9'u ise geç başlangıçlı nöbeti olan hastalardı. Lezyonun lokalizasyonu ve nöbet başlama zamanı epilepsi için risk faktörü saptandı.

Sonuç: İnme sonrası nöbetler ve epilepsi çocuklarda sık görülür. Bu nedenle, bu popülasyonda, inme sonrası epilepsi gelişme riskini saptamak için daha fazla çalışmaya gereksinim vardır.

Anahtar kelimeler: İskemik inme, epilepsi, risk faktörleri, çocuklar

Alındığı tarih: 18.01.2017

Kabul tarihi: 05.10.2017

Yazışma adresi: Uzm. Dr. Faruk İncecik,
Çukurova Üniversitesi Çocuk Bölümü, Adana -
Türkiye
e-mail: fincecik@yahoo.com

INTRODUCTION

Childhood stroke is defined as a sudden onset of neurological deficit due to a cerebrovascular disorder, which lasts for 24 hours or longer. The incidence of pediatric stroke has been estimated as 2 to 13 per 100,000 children ^(1,2). Strokes are currently broadly classified as either hemorrhagic or ischemic. Ischemic stroke is more common.

Stroke is presented with various neurological complications at onset including focal signs (hemiparesis, visual field deficit, and speech deficit), diffuse signs (decreased level of consciousness, headache), and seizures ⁽³⁾. Seizures and epilepsy are complications which can occur after ischemic stroke. The incidence of post-stroke seizures in children is known to be high ^(4,5).

There have been reports about the incidence of

seizures after stroke in adults ⁽⁶⁾, but there are few studies concerning seizures and epilepsy occurring after ischemic stroke in children ^(5,7-9). Therefore, we conducted a retrospective study to identify the prevalence of seizures and epilepsy and risk factors of developing epilepsy in children with ischemic stroke.

MATERIAL and METHODS

This is a retrospective study about patients who had ischemic strokes at Çukurova University hospital between January 2004 and January 2014. Transient ischemic attack, hypoxic-ischemic encephalopathy, and neonatal stroke were not included in this study. The patients were divided into three subgroups: as patients with early-onset seizures, patients with late remote seizures, and patients without seizures. We classified seizures according to the International League Against Epilepsy (ILAE) criteria ⁽¹⁰⁾. According to the guidelines of ILAE, early post-stroke seizures were defined as those occurring within 7 days and late post-stroke seizures as unprovoked seizures developing beyond 1 week after stroke ⁽³⁾.

Strokes were related to various etiologies as cardiovascular, infection, hematological disease (sickle cell anemia, and thalassemia major), prothrombotic state, trauma, nephrotic syndrome, and idiopathic.

We reviewed the medical records of our study population, retrospectively. Clinical and laboratory data such as age, gender, age at stroke, etiology, neurologic deficits, history of seizures, seizure type, seizure onset time, number of antiepileptic drugs (AEDs), epilepsy, neuroimaging findings, infarct areas (cortical, subcortical, cortico-subcortical), number of infarct areas, affected hemisphere (right, left, or bilateral), duration of follow-up, and EEG findings (focal and generalized abnormalities) were recorded.

The SPSS version 19.0 was used for statistical analysis. The chi-square tests were used to determine the associations between categorical data. We carried out univariate and multivariate analyses of potential predictors of recurrence risk using Cox regression analysis. The level of statistical significance was established at p- value of <0.05. Initially, we performed a univariate analysis, in order to determine which

predictor would be used in multivariate analysis.

RESULTS

One hundred and two children were identified as having ischemic stroke. The mean age at stroke was 67.32 ± 25.48 months (1-180 months). Of the 102 patients, 56 (54.9%) were boys and 46 (45.1%) were girls. The median follow-up period was almost 2 years.

Of the 102 patients, 39 (38.2%) had seizures, and 63 (61.8%) had no seizures. While 27 (69.2%) patients had early-onset, and 12 (30.8%) late-onset post-

Table 1. Summary of demographics data of patients with ischemic stroke.

Parameters		n	%
Gender	Boy	56	54.9
	Girl	46	45.1
Age at stroke	<5 years	37	36.3
	5-10 years	60	58.5
	>10 years	5	4.9
Neurologic deficits	Yes	75	73.5
	No	27	26.5
History of seizures	Yes	39	38.2
	No	63	61.8
Seizure onset time	Early onset	26	69.6
	Late onset	13	30.4
Type of seizure	Partial	26	60.9
	Generalized	13	30.4
Development of epilepsy	Yes	17	16.7
	No	85	83.3
Neurologic deficits	Yes	75	73.5
	No	27	26.5
Type of neurologic deficits	Right hemiparesis	32	42.6
	Left hemiparesis	38	50.6
	Bilateral involvement	5	6.8
Lesion location	Cortical	50	49.0
	Noncortical	38	37.3
	Both	14	13.7
Number of infarct areas	1	85	83.3
	≥ 2	17	16.7
Affected hemisphere	Unilateral hemisphere	96	94.1
	Bilateral hemisphere	6	5.9
EEG findings	Focal abnormalities	27	69.2
	Generalized abnormalities	12	30.8
Etiology	Cardiac disease	30	29.4
	Infection	18	17.6
	Hematological disease	16	15.7
	Prothrombotic state	14	13.7
	Trauma	6	5.9
	Nephrotic syndrome	3	2.9
	Idiopathic	15	14.7

EMG: Electromyography

Table 2. Risk factors associated with epilepsy development.

Parameters		Epilepsy		No epilepsy		P value
		n	%	n	%	
Gender	Boy	6	33.3	12	66.7	0.192
	Girl	11	52.4	10	47.6	
Age at stroke	<5 years	7	41.2	10	58.8	0.956
	5-10 years	9	45	11	55	
	>10 years	1	50	1	50	
Seizure onset time	Early onset	7	26.9	19	73.1	0.004
	Late onset	10	76.9	3	23.1	
Type of seizure	Partial	13	50	13	50	0.213
	Generalized	4	30.8	8	69.2	
Neurologic deficits	Yes	15	40.5	22	59.5	0.634
	No	2	100	0	0	
Type of neurologic deficits	Right hemiparesis	5	38.5	8	61.5	0.634
	Left hemiparesis	10	45.5	12	54.5	
	Bilateral involvement	2	50	2	50	
Lesion location	Cortical	13	56.5	10	43.5	0.040
	Noncortical	2	15.4	11	84.6	
	Both	2	66.7	1	33.3	
Number of infarct areas	1	11	37.9	18	62.1	0.199
	≥ 2	6	60	4	40	
Affected hemisphere	Unilateral hemisphere	16	45.7	19	54.3	0.407
	Bilateral hemisphere	1	25	3	75	
EEG findings	Focal abnormalities	13	48.1	14	51.9	0.307
	Generalized abnormalities	4	33.3	8	66.7	

stroke seizures. Focal and generalized seizures were identified in 26 (66.7%) and 13 patients (33.3%), respectively. Epilepsy was detected in 17 (16.7%) patients. Eight of them had early-onset and nine late-onset post-stroke seizures. Most of them (76%) used AED as monotherapy.

Focal neurological signs were the most common presentations, but these were not risk factors for the development of epilepsy. The most common risk factors for stroke were the presence of congenital/acquired heart disease (29.4%), central nervous system infection (17.6%), and hematological disease (SCD, and thalassemia major) (15.7%). In 14.7% (n=15) of children there were no identifiable risk factors.

EEG recordings were performed in all the patients who had seizures. Twenty five patients had focal, and 14 (35.9%) had generalized EEG abnormalities. The demographic details of these patients are summarized in Table 1.

There was no correlation between epilepsy and gender, age at stroke, etiology, neurologic deficits, seizure type, number of foci of infarction, affected

hemisphere, and EEG findings (focal and generalized abnormalities). But, a statistically significant correlation between epilepsy and lesion location, and seizure onset time was detected (Table 2). In the multivariate analysis, seizure onset time was the only risk factor for epilepsy.

DISCUSSION

Cerebrovascular disease is the most common and well-known etiology of epileptic seizures in adults. The estimated incidence of seizures after stroke in adults ranges from 0.4% to 43%, with variation on the basis of stroke subtype^(6,11). Seizure is a consequence of stroke more often in children than in adults; it has been reported that the incidence rate of seizures within 24 hours of a stroke is 18 times higher in children than in adults⁽⁶⁾. In literature, there have been a few studies concerning the incidence on the post-stroke seizures and subsequent epilepsy, and risk factors for post-stroke epilepsy⁽⁷⁻⁹⁾.

We found seizures in 38.2% of the patients who

had suffered strokes. Kopyta et al. ⁽¹²⁾ described strokes in 26% of their 78 patients. In other studies, Incecik et al. ⁽⁵⁾ and Morais et al. ⁽¹³⁾ reported seizures in 35% and 64.6% of children, respectively. In our study, post-stroke epilepsy developed in only 16.7% of the patients. Similarly, Kopyta et al. ⁽¹²⁾ reported post-stroke epilepsy rate as 13%. In contrast, the incidence of epilepsy after stroke was higher in the other group of pediatric studies. Lee et al. ⁽³⁾ observed seizures in 41.4%, and epilepsy in 22.3% of children with stroke. Morais et al. ⁽⁵⁾ reported that 29.2% of their patients developed post-stroke epilepsy. These discrepancies in the frequency of post-stroke epilepsy exist because different groups of children, and different populations have been investigated in each study.

We detected that the only risk factors for developing epilepsy were seizure onset time and lesion location in neuroimaging.

Lee et al. ⁽³⁾ reported that epilepsy was the most common sequelae in both the early post-stroke seizure (38.1%) and late post-stroke seizure group (100%). Morais et al. ⁽⁵⁾ and Yang et al. ⁽¹⁴⁾ found a significant association between late post-stroke seizures and epilepsy in children after ischemic stroke similar to our study. These studies agree that late post-stroke seizure was a risk factor for post-stroke epilepsy. The occurrence of early and late post-stroke seizures parallels that of post-traumatic epilepsy. These similar pathophysiologic mechanisms are cellular biochemical dysfunction for early post-stroke seizures and epileptogenic gliotic scarring for late post-stroke seizures ⁽¹⁵⁾. This high risk of post-stroke epilepsy has been also observed in the cases with late post-stroke seizures investigated in other studies ^(3,5,14) and furthermore this risk is higher than that reported for the general population experiencing their first unprovoked seizures ⁽¹⁶⁾. Therefore, Dhanuka et al. ⁽¹⁷⁾ also made a conclusion that early post-stroke seizures were rather common, did not recur and could not be treated with AEDs. Late post-stroke seizures were less common but they were associated with post-stroke epilepsy.

About seizure types, Horner et al. ⁽¹⁸⁾ described that early post-stroke seizures were more likely to be

generalized. On the contrary, Gupta et al. ⁽¹⁹⁾ reported that early post-stroke seizures were more likely to be partial (57%), whereas late post-stroke seizures were more likely to be generalized (65%). We detected same finding as Gupta et al. ⁽¹⁹⁾ But, there was not significant difference between focal seizures and generalized seizures and epilepsy in our study.

Previous studies reported epilepsy to be caused more often by cortical rather than noncortical involvement ^(5,20,21). However, Kotila and Waltimo ⁽²²⁾ reported that lesion location did not play any role in the development of epilepsy. Cortical involvement was also found as a risk factor for the development of epilepsy in our study.

Some studies have shown that focal cortical dysfunction on EEG was a risk for developing epilepsy ⁽³⁾. But other studies have found no significant relation ^(5,7,9). We also found no association between EEG findings and development of epilepsy.

In conclusion, seizures and epilepsy may occur in children with ischemic stroke. We found that cortical involvement and late onset post-stroke seizure are predictors of the development of post-stroke epilepsy. Further studies are required to identify risk factors for the development of post-stroke epilepsy in childhood ischemic stroke.

REFERENCES

1. Giroud M, Lemesle M, Gouyon JB, Nivelon JL, Milan C, Dumas R. Cerebrovascular disease in children under 16 years of age in the city of Dijon, France: a study of incidence and clinical features from 1985 to 1993. *J Clin Epidemiol* 1995;48:1343-1348.
[https://doi.org/10.1016/0895-4356\(95\)00039-9](https://doi.org/10.1016/0895-4356(95)00039-9)
2. Lynch JK, Hirtz DG, DeVeber G, Nelson KB. Report of the National Institute of Neurological Disorders and Stroke Workshop on perinatal and childhood stroke. *Pediatrics* 2002;109:116-123.
<https://doi.org/10.1542/peds.109.1.116>
3. Lee JC, Lin KL, Wang HS, Chou ML, Hung PC, Hsieh MY, et al. Seizures in childhood ischemic stroke in Taiwan. *Brain Dev* 2009;31:294-299.
<https://doi.org/10.1016/j.braindev.2008.05.006>
4. Chong B, Wong V. Pediatric stroke among Hong Kong Chinese subjects. *Pediatrics* 2004;114:e206-e212.
<https://doi.org/10.1542/peds.114.2.e206>
5. Morais NM, Ranzan J, Riesgo RS. Predictors of epilepsy in children with cerebrovascular disease. *J Child Neurol* 2013;28:1387-1391.
<https://doi.org/10.1177/0883073812464270>
6. Berges S, Moulin T, Berger E, Tatu L, Sablot D, Challier B,

- Rumbach L. Seizures and epilepsy following strokes: recurrence factors. *Eur Neurol* 2000;43:3-8.
<https://doi.org/10.1159/000008120>
7. Singh RK, Zecavati N, Singh J, Kaulas H, Nelson KB, Dean NP, et al. Seizures in acute childhood stroke. *J Pediatr* 2012;160:291-296.
<https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2011.07.048>
 8. De Reuck J, Goethals M, Vonck K, Van Maele G. Clinical predictors of late-onset seizures and epilepsy in patients with cerebrovascular disease. *Eur Neurol* 2005;54:68-72.
<https://doi.org/10.1159/000087715>
 9. Chedehumbe MA, Khatri P, Khoury JC, Alwell K, Szaflarski JP, Broderick JP, et al. Seizures are common in the acute set of childhood stroke: a populationbased study. *J Child Neurol* 2009;24:9-12.
<https://doi.org/10.1177/0883073808320756>
 10. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. From the Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 1981;22:489-501.
<https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1981.tb06159.x>
 11. Burn J, Dennis M, Bamford J, Sandercock P, Wade D, Warlow C. Epileptic seizures after a first stroke: the Oxfordshire community stroke Project. *BMJ* 1997;315:1582-1587.
<https://doi.org/10.1136/bmj.315.7122.1582>
 12. Kopyta I, Sarecka-Hujar B, Skrzypek M. Post-stroke epilepsy in Polish paediatric patients. *Dev Med Child Neurol* 2015;57:821-828.
<https://doi.org/10.1111/dmcn.12711>
 13. Incecik F, Ozlem Hergüner M, Altunbasak S. Risk factors and treatment outcomes for children with arterial ischemic stroke. *J Clin Neurosci* 2010;17:1000-1002.
<https://doi.org/10.1016/j.jocn.2010.01.004>
 14. Yang JS, Park YD, Hartlage PL. Seizures associated with stroke in childhood. *Pediatr Neurol* 1995;12:136-138.
[https://doi.org/10.1016/0887-8994\(94\)00152-R](https://doi.org/10.1016/0887-8994(94)00152-R)
 15. Silverman IE, Restrepo L, Mathews GC. Poststroke seizures. *Arch Neurol* 2002;59:195-201.
<https://doi.org/10.1001/archneur.59.2.195>
 16. Hauser WA, Rich SS, Lee JR, Annegers JF, Anderson VE. Risk of recurrent seizures after two unprovoked seizures. *N Engl J Med* 1998;338:429-434.
<https://doi.org/10.1056/NEJM199802123380704>
 17. Dhanuka AK, Misra UK, Kalita J. Seizures after stroke: a prospective clinical study. *Neurol India* 2001;49:33-36.
 18. Horner S, Ni XS, Duft M, Niederkorn K, Lechner H. EEG, CT and neurosonographic findings in patients with postischemic seizures. *J Neurol Sci* 1995;132:57-60.
[https://doi.org/10.1016/0022-510X\(95\)00122-I](https://doi.org/10.1016/0022-510X(95)00122-I)
 19. Gupta SR, Naheedy MH, Elias D, Rubino FA. Postinfarction seizures. A clinical study. *Stroke* 1988;19:1477-1481.
<https://doi.org/10.1161/01.STR.19.12.1477>
 20. Arboix A, Garcia-Eroles L, Massons JB, Oliveres M, Comes E. Predictive factors of early seizures after acute cerebrovascular disease. *Stroke* 1997;28:1590-1594.
<https://doi.org/10.1161/01.STR.28.8.1590>
 21. Bladin CF, Alexandrov AV, Bellavance A, Bornstein N, Chambers B, Coté R, et al. Seizures after stroke: a prospective multicenter study. *Arch Neurol* 2000;57:1617-1622.
<https://doi.org/10.1001/archneur.57.11.1617>
 22. Kotila M, Waltimo O. Epilepsy after stroke. *Epilepsia* 1992;33:495-498.
<https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1992.tb01698.x>

Annelerin emzirme özyeterlilikleri ve emzirme başarılarını etkileyen özelliklerin değerlendirilmesi

Evaluation of the factors affecting mothers' breastfeeding self-efficacy and breastfeeding success

Tolga İNCE, Gülfiye AKTAŞ, Nimet AKTEPE, Adem AYDIN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Sosyal Pediatri Bilim Dalı, İzmir

ÖZ

Amaç: Anne sütü sağlıklı büyüme ve gelişme için eşsiz bir besin kaynağıdır. Anne sütü ile beslenmeyi etkileyen en önemli faktörler annenin emzirme özyeterlilik algısı ve emzirme başarısıdır. Bu çalışmanın amacı, annelerinin emzirme özyeterliliklerini ve emzirme başarılarını etkileyen faktörler ile emzirme özyeterliliği ve başarısı arasındaki ilişkiyi incelemektir.

Yöntem: Tanımlayıcı türde olan çalışma, İzmir'de bir üniversite hastanesinde yapılmıştır. Ocak ve Temmuz 2017 tarihleri arasında çalışma kriterlerine uyan 91 kadın çalışmaya alınmıştır. Çalışmaya alınan annelerden veriler, tanımlayıcı veri formu, emzirme özyeterlilik ölçeği-kısa şekli ve LATCH emzirmeyi tanımlama ve değerlendirme ölçeği kullanılarak alınmıştır.

Bulgular: Annelerin ortalama yaşı 29,4 yıldır. Çalışmaya katılan anneler emzirme öz-yeterlilik ölçeğinden ortalama 57,16±6,92 puan, LATCH ölçeğinden ortalama 6,18±1,58 puan almıştır. Annelerin emzirme özyeterlilikleri ve başarıları; emzirme deneyimlerinden, gebelikte veya doğum sonrasında emzirme danışmanlığı almalarından ve bebeğin yalnızca anne sütü ile beslenmesinden etkilenmektedir. Yapılan korelasyon analizi sonucunda emzirme özyeterlilik puan ortalamaları ile LATCH ölçeği puan ortalamaları arasında pozitif yönde zayıf düzeyde bir ilişki olduğu saptandı.

Sonuç: Sonuç olarak, çalışmaya katılan annelerin emzirme özyeterlilik düzeyleri ve emzirme başarılarının yeterli düzeyde olduğu görülmüştür. Postnatal dönemde emzirme özyeterlilik ölçeği ile LATCH emzirmeyi tanımlama ve değerlendirme ölçeğinin belirli aralıklarla annelere uygulanarak emzirme açısından riskli annelerin belirlenmesi, erken dönemde bu annelerin desteklenmesi önerilir.

Anahtar kelimeler: Emzirme, özyeterlilik, emzirme başarısı

ABSTRACT

Objective: Breastmilk is a unique source of nutrients for healthy growth and development. The most important factors affecting breastfeeding are mothers' breastfeeding self-efficacy, and breastfeeding success. The aim of this study is to examine the factors affecting breastfeeding self-efficacy and success of mothers', and the relationship between breastfeeding self-efficacy and success.

Methods: This descriptive study was conducted in a university hospital in İzmir. A total of 91 women who met the study criteria were included in the study between January 2017 and July 2017. Descriptive data form, a Breastfeeding Self-Efficacy Short Form Scale and LATCH Breastfeeding Assessment Tool which documents, and evaluates breastfeeding were used to collect data from the mothers participating in the study.

Results: The median age of the mothers was 29.4 years. It was identified that the breast-feeding self-efficacy mean score was 57.16±6.92, and the LATCH mean score was 6.18±1.58. Breastfeeding Self-Efficacy and success of the mothers was found to be affected by breastfeeding experience, breastfeeding counseling before or after the delivery, and exclusively breastfeeding status. As a result of the correlation analysis, a statistically significant and positively weak relation was determined between the breastfeeding self-efficacy scores and the LATCH Breastfeeding Assessment Tool scores of the mothers.

Conclusion: As a result, it was seen that mother's self-efficacy levels and the breastfeeding successes were in adequate level. It is recommended that risky mothers should be identified in terms of breastfeeding by applying the breastfeeding self-efficacy scale and LATCH breast feeding assessment and evaluation scale in the postnatal period at certain intervals and support these mothers in the early period.

Keywords: Breastfeeding, self-efficacy, breastfeeding success

Alındığı tarih: 26.10.2017

Kabul tarihi: 09.11.2017

Yazışma adresi: Yrd. Doç. Dr. Tolga İnce,
Mithatpaşa Cad. No: 1606, İnciraltı - Yerleşkesi -
Balçova - 35340 - İzmir - Türkiye
e-mail: drtince@gmail.com

GİRİŞ

Anne ve bebek bağının kurulmasında önemli rol oynayan anne sütü, doğumdan sonra bebeğin büyüme ve gelişmesi için gerekli tüm gereksinimlerini tek başına karşılar. Anne sütünün bebeklerin yaşam süresini ve kalitesini arttırdığı, sağlıklı yaşamın temellerini attığı ve erişkin dönem hastalıklarını da engellediği pek çok çalışmada gösterilmiştir ^(1,2). Bu nedenlerle bebeklerin ilk altı ay yalnızca anne sütü ile beslenmesi, ayrıca anne sütünün iki yaşına kadar devam edilmesi Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından şiddetle önerilmektedir ⁽³⁾.

Ülkemizde ve dünyada anne sütünü teşvik eden pek çok çalışma yapılıyor olmasına rağmen, çocukların emzirilme süreleri istenilen düzeyin altındadır. Ülkemizde annelerin emzirmeye başlama oranları yüksek, ancak emzirmeyi devam ettirme başarıları yetersizdir ^(4,5). Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması (TNSA) 2013 sonuçlarına göre de anne sütü ile bir süre emzirilme oranı oldukça yüksektir (%96,4). Bununla birlikte, yaşamın ilk iki ayında yalnızca anne sütü alan bebeklerin oranı %57,9'a, 4-5. aylarda yalnızca anne sütü alanların oranı da %9,5'e gerilemiştir ⁽⁵⁾. Emzirme süresi ve başarısını etkileyen en önemli faktörlerden biri annenin emzirme özyeterlilik algısıdır. Emzirme özyeterlilik algısı bebeğini emzirebilmek için annenin ne kadar çaba göstereceğini, duygusal olarak emzirmeye hazır olup olmadığını ve emzirme ile ilgili düşüncelerini yansıtır. Kısaca annenin emzirme sürecinde karşılaşacağı zorluklar ile baş edebilme yeteneğini gösterir ^(6,7). Ancak yeni anne olmanın yarattığı stres ve duygusal fırtına emzirmenin etkin olarak sürdürülmesini engelleyebilmektedir. Annenin sütünün yetersiz olduğunu düşünmesi onun bebeğini besleyebilmek için alternatif beslenme modellerine yönelmesine yol açarak, emzirme becerisini ve sonuç olarak yalnızca anne sütü ile beslenme süresini etkileyecektir. Bu konuda yapılan çalışmalar da özyeterlilik algısı yüksek olan annelerin emzirme süresinin daha uzun olduğu bulmuştur ⁽⁶⁻⁹⁾.

Anne sütüyle beslenme ve emzirme sorunları ile ilgili yapılan pek çok çalışma olmasına karşın, ülkemizde emzirme özyeterlilik ve emzirme başarısını

inceleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda, çocuk sağlığı izlemi için bir üniversite hastanesine başvuran bebeklerin annelerinin emzirme özyeterliliklerini ve emzirme başarılarını etkileyen faktörleri ile emzirme özyeterliliği ve emzirme başarısı arasındaki ilişkiyi incelemeyi planladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Tanımlayıcı tipte olan çalışma, 01 Ocak-30 Haziran 2017 tarihleri arasında İzmir'de bir üniversite hastanesi çocuk sağlığı izlem polikliniğinde yapılmıştır. Araştırmada bir örneklem seçimine gidilmemiş, belirtilen tarihler arasında polikliniğe başvuran, 18 yaşından büyük, okuma yazma bilen, Türkçe konuşabilen, sağlıklı doğum yapan (37-42 haftalık, bilinen konjenital hastalığı, emme yutma problemi olmayan bebekler), emziren ve emzirmeye engel bir kronik hastalığı olmayan annelerden çalışmaya katılmayı kabul eden anneler çalışmaya alınmıştır. Çalışmada, gönüllülük ilkesi temel alınmış, annelere çalışmanın amacı açıklandıktan sonra bilgilendirilmiş onamları alınmıştır. Çalışmaya katılmayı kabul eden annelere, araştırmacılar tarafından hazırlanan anne ve bebeğe ait demografik özellikleri sorgulayan "tanımlayıcı veri formu" ve "emzirme öz-yeterlilik ölçeği-kısa şekli" annelerle yüz yüze görüşme tekniği kullanılarak doldurulmuş ve anneden bebeğini emzirmesi istenmiştir. Emzirme odasında annelerin emzirme davranışları araştırmacılar tarafından gözlenerek "LATCH emzirmeyi tanımlama ve değerlendirme ölçeği" doldurulmuştur. Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulundan etik kurul onayı alındı.

Tanımlayıcı veri formunda; bebeğe ait bilgiler (cinsiyet, boy, kilo ve doğum ağırlığı), annelerin bazı sosyodemografik özellikleri (yaş, öğrenim durumu, meslek, ekonomik durumu, çalışma durumu), doğurganlık özellikleri (çocuk sayısı, doğum şekli, gebeliğin planlanma durumu) ve bebeğini besleme şekli, önceki emzirme deneyimi, eğitim alma durumu, emzirmeye başlama zamanı, kaç ay emzirmeyi sürdürmeyi planladığı, ek besin verme durumu ile sosyal destek alıp almadığı toplam 32

soru ile sorgulanmıştır.

Emzirme özyeterlilik ölçeği, annelerin emzirme öz-yeterlilik düzeylerini değerlendirmek amacıyla geliştirilen, ilk formu 33 maddelik olan bir ölçektir ⁽¹⁰⁾. 2003 yılında Dennis tarafından bazı maddeleri çıkarılarak 14 maddelik yeni “emzirme özyeterlilik ölçeği kısa şekli” oluşturulmuştur ⁽⁶⁾. Toplam 14 maddeden oluşan bu ölçek 5’li Likert tipte olup, hiç emin değilim (1 puan) ve her zaman eminim (5 puan) şeklinde değerlendirilmektedir. Ölçekten alınabilecek en düşük puan 14, en yüksek puan 70’dir. Ölçeğin kesme noktası yoktur, yüksek puan daha yüksek emzirme özyeterliliği anlamına gelmektedir. Ölçeğin Türkçe uyarlaması Aluş-Tokat ve Okumuş ⁽¹¹⁾ tarafından yapılmıştır. Türkçe güvenirlik geçerlilik çalışması yapılan ölçeğin Cronbach’s alfa değeri 0.86 bulunmuş, ölçeğin Türk kültürü için uygun olduğu saptanmıştır ⁽¹¹⁾. Ölçeğin ortalama uygulanma süresi 5-7 dk. arası değişmektedir.

Emzirme iki farklı bireyin birbirinden etkilendiği karmaşık bir süreçtir. Bu sürecin değerlendirilmesi için objektif tanılama araçlarının geliştirilmesi üzerinde uzun süredir çalışılan bir konudur. LATCH emzirme tanılama ve değerlendirme ölçeği emzirme başarısını değerlendirmede kullanılan, ilk kez 1986 yılında puanlama yöntemi açısından APGAR skor sistemine benzetilerek oluşturulan bir tanılama metodudur ⁽⁹⁾. Ortalama uygulama süresi 7-10 dk. arasında değişmektedir. Bu ölçüm aracı, emzirme tanılmasını objektif olarak yapmak, emzirme sorunlarını saptamak, sağlık çalışanları arasında ortak dil oluşturmak ve araştırmalarda kullanılmak üzere (longitudinal çalışmalarda emzirme başarısını belirlemek) geliştirilmiştir ^(9,12). Beş değerlendirme kriterinden oluşmakta olup, bu kriterlerin İngilizce karşılığının ilk harflerinin kısaltması ölçeğin ismini oluşturmaktadır. L; memeyi tutma (Latch on the breast), A; bebeğin yutma hareketinin görülmesi/duyulması (Audible swallowing), T; meme ucunun tipi (Type of the nipple), C; annenin meme ve meme ucuna ilişkin rahatlığı (Comfort breast/nipple) ve H; bebeği tutuş pozisyonudur (Hold/Help). Her madde 0-2 puan arası değerlendirilmektedir. Alınabilen en yüksek toplam puan 10 olup, yüksek puan yüksek emzirme başarısı anlamına gelmektedir. Yenal ve Okumuş tarafından ara-

cın Türkçe güvenirlik çalışması yapılmış ve kullanım için uygun ve güvenilir bir tanılama aracı olduğu saptanmıştır. Ölçeğin orijinal şeklinin Cronbach alfa değeri 0.93 bulunurken, Türkçe uyarlama çalışmasında 0.95 bulunmuştur ⁽¹³⁾.

Elde edilen verilerin girişi ve değerlendirilmesi için SPSS 18.0 (SPSS Inc.; Chicago, IL, ABD) istatistiksel paket programı kullanıldı. Verilerin dağılımı grafik analizlere ek olarak Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Ölçümsel değişkenlerde normal dağılıma uygun olanlar için ortalama±standart sapma (SD), normal dağılıma uygun olmayanlar için medyan (minimum-maksimum) ile kategorik değişkenler sayı ve yüzde (%) olarak verildi. Nitel değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmasında ki-kare ve Fisher exact test, normal dağılan sayısal verilerin karşılaştırılmasında bağımsız örneklem t testi, normal dağılmayan verilerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testleri kullanıldı. Sonuçların yorumlanmasında p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Araştırmaya 91 anne katıldı. Araştırmaya katılan annelerin yaş ortalaması 29,42±5,29 iken, %42,9’u üniversite ve üstü okul mezunuydu. Çalışmaya katılan ailelerin bazı sosyodemografik özellikleri Tablo 1’de verildi. Gebelik sırasında annelerin %22,0’ı (n=20) bir sorun ile karşılaştığını belirtirken, düşük tehdidi, gestasyonel diyabet ve preeklampsi en sık karşılaşılan sorunlar olarak vurgulandı. Annelerin yalnızca %18,7’si (n=17) gebeliği boyunca emzirme danışmanlığı aldığını belirtti (Tablo 1). Bu annelerin %70,6’ı (n=12) ebe veya hemşireden, %17,6’sı (n=3) internetten gebelik eğitimi aldığını belirtirken, yalnızca birer anne doktorundan ve gebelik kurslarından bu eğitimi aldığını söyledi. Çalışmaya katılan annelerin %35,2 (n=32)’sinin daha önce emzirme deneyimi yaşadığı ve bu annelerin önceki çocuklarını ortalama 15,56±8,52 ay emzirdikleri bildirildi. Bununla birlikte çalışmaya katılan tüm annelerin %60,4’ü (n=55) en az iki yıl, %18,7’si (n=17) ise bebeği istediği kadar anne sütü vermeyi planladığını söyledi. Çalışmaya katılan annelerin

Tablo 1. Çalışmaya katılan ailelerin tanımlayıcı özellikleri.

Tanımlayıcı Özellikler	N	%
Anne eğitim düzeyi	Okur yazar değil	1 1,1
	Okur yazar	1 1,1
	İlköğretim 5	12 13,2
	İlköğretim 8	24 26,4
	Lise	14 15,4
Baba eğitim düzeyi	Üniversite ve üstü	39 42,9
	İlköğretim 5	8 8,8
	İlköğretim 8	21 23,1
	Lise	26 28,6
	Üniversite ve üstü	36 39,6
Gelir durumu algısı	Gelir giderden az	10 11,0
	Gelir gidere eşit	35 38,5
	Gelir giderden fazla	46 50,5
	Çalışmıyor	54 59,3
Anne çalışma durumu	Çalışıyor özel sektör	21 23,1
	devlet	16 17,6
Planlı gebelik	Evet	74 81,3
	Hayır	17 18,7
Gebelik takibi	Evet	90 98,9
	Hayır	1 1,1
Gebelikte emzirme danışmanlığı	Evet	17 18,7
	Hayır	74 81,3
Doğum şekli	Normal doğum	37 40,7
	Sezaryen	54 59,3
Doğum sonrası ilk emzirme zamanı	1 saat içerisinde	50 54,9
	2 saat içerisinde	15 16,5
	> 2 saat	26 28,6
Anne sütü öncesi gıda	Evet	18 19,8
	Hayır	73 80,2

%87,9'una (n=80) ev işlerinde yardımcı olan bir yakını vardı. Babaların biri hariç diğerleri emzirmeyi destekliyordu. Annelerin yalnızca 6'sı (%6,6) sigara içtiğini söyledi.

Araştırmaya katılan bebeklerin ortalama doğum ağırlığı 3351,59±456,97 g bulundu. Sezaryen ile doğum yapan 54 annenin 39'u (%72,2) spinal anestezi almışken, 15'i (%27,8) genel anestezi almıştı. Çocukların %51,6'sı (n=47) erkekti. Doğum sonrası 18 (%19,7) bebeğe anne sütü öncesi başka bir gıda verilmişti (Tablo 1). Yalnızca bir bebeğe anne sütü öncesi şekerli su verilmişken, on yedi bebeğe formül mama verildiği bildirildi. Çalışmaya katılan 0-2 aylık bebeklerin %74,7'si (n=68) yalnızca anne sütü ile beslenirken, %23,1'i (n=21) anne sütü ve mama, %1,1'i (n=1) anne sütü ve su, %1,1'i (n=1) anne sütü ve diğer besin maddeleri ile besleniyordu. Anne sütüne ek başka besinler veren annelerin %68,2'si (n=15) sütünün yetmediğini düşündüğü

için, %27,3'ü (n=6) bebeği kilo almadığı için, %4,5'i (n=1) ise memesinde sorun olduğu için diğer besin maddelerini eklediğini söyledi. Annelerin %72,5'i doğum sonrası emzirme danışmanlığı aldığını bildirdi.

Çalışmaya katılan anneler emzirme özyeterlilik ölçeğinden ortalama 57,16±6,92 (En az: 38, En çok: 70) puan almışken, LATCH ölçeğinden ortalama 6,18±1,58 (En az:3, En çok: 10) puan almıştı. Emzirme öz-yeterlilik puan ortalamaları ile LATCH ölçeği puan ortalamaları arasında yapılan korelasyon analizinde, pozitif yönde zayıf düzeyde bir ilişkinin olduğu saptandı (r:0,457, p<0,001).

Annelerin almış olduğu emzirme özyeterlilik puanları tanımlayıcı özelliklerine göre incelendiğinde, gebeliğinde sorun yaşayan, gebeliğinde veya doğum sonrası emzirme danışmanlığı alan, 3 çocuk ve fazlası olan anneler ile ilk beslenme öncesi anne sütünden önce başka besin verilmeyen çocuklar ile yalnızca anne sütü ile beslenen çocukların annelerinin istatistiksel olarak anlamlı yüksek puanlar aldıkları bulundu (Tablo 2). Bebeğin cinsiyeti, annenin çalışma durumu, gebeliğin planlanmış olması, doğum ağırlığı, doğum şekli, doğum sırasında alınan anestezi türü, doğum sonrasında annede veya bebekte olan sorunlar, babanın emzirmeye karşı olan tutumu ve annenin bebek bakımı için destek alması annenin emzirme özyeterlilik skorlarını etkilemedi. LATCH emzirme tanılama ölçeği puanları incelendiğinde de benzer sonuçlar elde edildi (Tablo 2). Yalnızca anne sütü ile bebeğini besleyen, emzirme deneyimi olan, 3 ve daha fazla çocuk sahibi olan annelerin daha etkin emziriyordu (Tablo 2). Yine gebeliğinde veya doğum sonrası emzirme danışmanlığı alan annelerin LATCH emzirme tanılama ölçeği puanları anlamlı yüksekti (p<0,05).

TARTIŞMA

Beş yaş altı çocuklardaki hastalık yükünün %10'unun ve 1,4 milyon ölümün yetersiz emzirme, özellikle yaşamın ilk 6 ayında yalnızca anne sütü almama ile ilişkili olduğu bildirilmektedir^(2,3). Dünya genelinde yetersiz emzirme, mama kullanımı ve ek beslenmeye erken başlama oldukça yaygın olup, ilk

Tablo 2. Annelerin tanımlayıcı özelliklerine göre emzirme özyeterlilik ve LATCH puan dağılımları.

Tanımlayıcı Özellikler	N (%)	Emzirme Öz-yeterlilik		LATCH	
		X±SS	Test / P	X±SS	Test / P
Anne yaşı					
30 yaş altı	45 (49,5)	57,64±6,11	t: 0,653	6,33±1,49	U: 956,5
30 yaş ve üstü	46 (50,5)	56,69±7,66	P: 0,515	6,04±1,67	P: 0,524
Anne eğitim düzeyi					
8 yıl ve altı	38 (41,8)	57,23±7,26	t: 0,084	6,10±1,55	U: 949,0
8 yıl üstü	53 (58,2)	57,11±6,73	P: 0,934	6,24±1,62	P: 0,633
Anne çalışma durumu					
Evet	37 (40,7)	55,57±7,19	t: 1,847	6,08±1,78	U: 960,0
Hayır	54 (59,3)	58,26±6,57	P: 0,068	6,26±1,44	P: 0,747
Gelir düzeyi algısı					
Gelir giderden az	10 (11,0)	57,10±5,92	KW: 2,277	6,40±1,89	KW: 0,073
Gelir gidere eşit	35 (38,5)	58,37±6,41	P: 0,320	6,14±1,48	P: 0,964
Gelir giderden fazla	46 (50,5)	56,26±7,46		6,17±1,62	
Gebeliğin planlanma durumu					
Planlı gebelik	74 (81,3)	57,11±7,16	U: 613,5	6,17±1,62	U: 618,5
Plansız gebelik	17 (18,7)	57,41±5,97	P: 0,874	6,23±1,44	P: 0,913
Gebelikte sorun					
Yaşandı	20 (22,0)	59,70±6,75	U: 480,5	6,35±1,31	U: 670,0
Yaşanmadı	71 (78,0)	56,45±6,84	P: 0,028	6,14±1,66	P: 0,695
Gebelik takibinde emzirme danışmanlığı alınması					
Evet	17 (18,7)	60,35±4,99	U: 406,5	7,12±1,36	U: 360,5
Hayır	74 (81,3)	56,43±7,12	P: 0,023	5,97±1,56	P: 0,005
Emzirme deneyimi					
Var	32 (35,2)	59,06±7,21	t: -1,956	6,66±1,49	U: 678,0
Yok	59 (64,8)	56,13±6,59	P: 0,054	5,93±1,58	P: 0,024
Çocuk sayısı					
2 çocuk ve altı	81 (89)	56,51±6,73	U: 198,5	6,04±1,57	U: 214,5
3 çocuk ve üstü	10 (11)	62,50±6,42	P: 0,009	7,40±1,17	P: 0,013
Doğum şekli					
Normal	37 (40,7)	57,76±6,25	t: -0,673	6,16±1,55	U: 958,0
Sezaryen	54 (59,3)	56,76±7,37	P: 0,502	6,20±1,62	P: 0,735
Bebeğin cinsiyeti					
Erkek	47 (51,6)	56,89±7,79	t: 0,385	6,21±1,47	U: 1029,5
Kız	44 (48,4)	57,45±5,92	P: 0,701	6,16±1,71	P: 0,971
Doğum ağırlığı					
2500-3000 g	19 (20,9)	57,79±7,62	KW: 0,249	5,84±1,21	KW: 3,641
3001-3500 g	44 (48,4)	57,09±6,42	P: 0,883	6,09±1,80	P: 0,162
3501 gr ve üstü	28 (30,8)	56,85±7,41		6,57±1,40	
Doğum sonrası ilk emzirilme zamanı					
1 saat içinde	50 (54,9)	57,24±6,81	t: 0,114	6,24±1,56	U: 985,0
1 saatten sonra	41 (45,1)	57,07±7,13	P: 0,910	6,12±1,63	P: 0,744
Anne sütü öncesi başka besin					
Evet	18 (19,8)	53,72±6,46	U: 414,0	5,94±1,66	U: 601,0
Hayır	73 (80,2)	58,01±6,81	P: 0,015	6,25±1,57	P: 0,568
Beslenme şekli					
Yalnızca anne sütü	68 (74,7)	58,19±6,67	U: 523,0	6,46±1,48	U: 499,5
Diğer	23 (25,3)	54,13±6,90	P: 0,018	5,39±1,64	P: 0,008
Doğum sonrası emzirme danışmanlığı alınması					
Evet	66 (72,5)	58,30±6,33	U: 578,5	6,42±1,54	U: 575,5
Hayır	25 (27,5)	54,16±7,61	P: 0,028	5,56±1,56	P: 0,023

altı ayda yalnızca anne sütü alma oranı %38'dir ⁽³⁾. Ülkemizde de son yapılan çalışmalar, yalnızca anne sütü kullanım oranlarının düştüğünü göstermiştir ⁽⁵⁾. TNSA 2013 verilerine göre ilk iki ay yalnızca anne

sütü kullanım oranı yaklaşık %58 iken, çalışmamıza katılan çocukların %74,7'si yalnızca anne sütü ile beslenmekteydi. Bu yüksek oranın nedeni çalışmaya alınan annelerin üçüncü basamak bir sağlık kurulu-

şunda bebeklerinin takibini yaptıran, bu konularda eğitilmiş anneler olmuş olmaları olabilir.

Anne sütü kullanım oranlarının düşük olması ile erken dönemde ek gıdaya başlama nedeni olarak annelerin özyeterlilik algılarının düşük olması, emzirme konusunda yeterince destek ve danışmanlık hizmeti almamaları gösterilmektedir ^(14,15). Yapılan çalışmalar, emzirme özyeterlilik düzeyi yüksek olan annelerin emzirmeyi daha uzun süre devam ettirdiğini göstermiştir ^(10,16,17). Çalışmamızda annelerin emzirme özyeterlilik puan ortalamaları 57,16±6,92 bulundu. Yenil ve ark.'nın ⁽¹²⁾ yaptıkları çalışmadaki puan ortalamasına (59,49±8,46) benzer olan bu sonuç, Aluş Tokat ve ark.'nın ⁽¹⁸⁾ sonuçlarından (48,23±7,7) yüksekti. Son yıllarda yapılan bir çalışmada öz-yeterlilik puanı 50'nin altında olan anneler emzirme konusunda riski bulunmuş, bu annelere emzirme danışmanlığı desteğinin etkin olarak verilmesi önerilmiştir ⁽¹⁹⁾. Buna dayanarak, çalışmamıza katılan annelerin emzirme özyeterlilik düzeylerinin yeterli olduğunu söyleyebiliriz.

Erken dönemde anne ile bebek arasındaki ilişkiyi başlatmak ve emzirmenin devamlılığını sağlamak için doğumdan sonraki ilk bir saatlik zaman dilimi içinde annenin bebeğini kucağına alarak ten teması kurması ve emzirmeye başlaması çok önemlidir ^(2,4,20). Doğum sonrası ilk bir saatlik dönemde bebeklerini emzirmeye başlayan annelerin emzirme başarılarının yüksek, emzirme sürelerinin de uzun olduğu bulunmuştur ^(21,22). Ülkemizde yenidoğanların yaklaşık %50'si doğumdan sonra ilk bir saat içerisinde emzirmektedir ⁽⁵⁾. Çalışmamızda da, benzer şekilde çocukların %54,9'unun doğum sonrası ilk bir saat içinde emzirildiği saptanmıştır. Ancak, bu annelerin emzirme özyeterlilik ve emzirme başarıları ile diğer anneler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu sonuca çalışmaya alınan anne sayısının yetersizliğinin neden olabileceğini, daha geniş sayıda anne ile yapılacak çalışmalarla bu ilişkinin gösterilebileceğini düşünmekteyiz.

Emzirme öncesi beslenme, anne sütü verilmeye başlanmadan önce başka besin maddelerinin verilmesi anlamına gelmektedir. TNSA 2013'te çocukların %26'sının anne sütünden önce başka gıdalarla beslendiği bulunmuşken, çalışmamızda bu oran %19,8

idi ⁽⁵⁾. Anne sütü öncesi başka gıdaların verilmesinin emzirme başarısı üzerine etkisi literatürde çok araştırılmamıştır. Cömert ve ark. ⁽²⁰⁾ anne sütü öncesi başka bir gıda alan bebeklerin annelerinin emzirme özyeterlilik puan ortalamalarını anlamlı düşük bulmuştur. Çalışmamızda da, anne sütü öncesi başka gıda alan bebeklerin annelerinin emzirme özyeterlilik puan ortalamaları düşüktü ($p=0,015$). Anne sütü öncesi başka bir gıda verilmesi anne sütüne başlama zamanını geciktirerek böyle bir sonuca neden olmuş olabilir. Yine de aradaki ilişkiyi açıklayabilmek için daha geniş çalışmalar yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Anne eğitim düzeyi ve ekonomik durum literatürde emzirme özyeterlilik düzeyini etkileyen faktörler olarak bildirilmektedir. Yapılan meta analizde yüksek eğitime ve iyi ekonomik duruma sahip olan annelerin emzirme özyeterlilikleri puan ortalaması daha yüksek bulunmuştur ⁽²³⁾. Baysal ve ark.'nın ⁽²⁴⁾ yaptıkları çalışmada, üniversite mezunu olan ve ekonomik durumunu iyi olarak değerlendiren annelerin emzirme özyeterlilik puan ortalamaları diğer annelere göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Ülkemizde yapılan bir başka çalışmada da, eğitim ve ekonomik durumu daha düşük olan gebe ya da annelerin emzirme özyeterlilik puanı düşük bulunmuştur ⁽¹⁸⁾. Bununla birlikte, çalışmamızda anne eğitim durumu ve ailenin gelir algısı ile emzirme özyeterlilik puanları arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Benzer şekilde bu iki özellik annelerin emzirme başarılarını da etkilemiyordu. Bu sonuca, çalışmaya alınan anne sayısının kısıtlılığı ve annelerin büyük bölümünün üniversite mezunu olmasının neden olmuş olabileceğini düşünmekteyiz.

Bireysel başarılar özyeterliliği arttıran en etkili nedenlerdir. Emzirme konusundaki deneyimler ve başarıların emzirme özyeterliliğini arttırdığı gösterilmiştir ^(22,25,26). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, emzirme deneyimi olan annelerin emzirme özyeterlilikleri yüksek bulunmuşken, bir başka çalışmada anlamlı bir fark bulunmamıştır ^(24,27). Çalışmamızda da, emzirme deneyimi olduğunu söyleyen annelerde özyeterlilik daha yüksekken, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ancak üç ve daha fazla çocuğa

sahip annelerin özyeterlilik puanları anlamlı olarak yüksekti. Bu durumu annelerin ikinci çocuktan sonra emzirme için yeterli özyeterliliği kazandığı şeklinde yorumladık. LATCH puanları incelendiğinde ise emzirme deneyimi ve üç ve üstü çocuk sahip olmanın emzirme başarısını anlamlı şekilde arttırdığı söylenebilir. Bir başka söylem ile çalışmamızın sonuçlarına göre bir kez emzirme deneyimi yaşamak emzirme başarısını artırırken, annenin özyeterliliğini artırabilmek için en az iki çocuk emzirmiş olmak gerekmektedir.

Emzirme oldukça doğal ve basit bir olaymış gibi görünmesine rağmen, çoğu annenin başlangıçta nasıl emzireceği konusunda yeterli bilgi ve eğitim ile sütünün bebeğine yeteceği konusunda kendine güven duymasını sağlayan bir desteğe gereksinimi vardır ⁽²⁸⁾. Annelere bu konularda verilen danışmanlık ve eğitiminin emzirme başarısını ve özyeterliliğini arttırdığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda annelerin gebelik ve doğum sonrası dönemde emzirmeye ilişkin desteklenmesi ve cesaretlendirilmesinin emzirmeyi olumlu yönde etkilediği bulunmuştur ^(18,29,30). Çalışmamızda da, gerek doğum öncesi gerekse doğum sonrası emzirme danışmanlığı aldığını söyleyen annelerin emzirme özyeterlilikleri ve başarıları, almayan annelere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Verilen eğitimler ile annelerin emzirme konusunda kendilerine olan güvenlerinin arttığını ve bu durumun emzirmenin başarısını ve devamlılığını arttırdığını düşünmekteyiz.

Yapılan bir araştırmaya göre, post-partum 4. ve 8. haftalarda bebeğini yalnızca anne sütü ile besleyen annelerin emzirme özyeterlilik puan ortalamasının anne sütü ile birlikte mama veren annelerin puan ortalamasına göre anlamlı yüksek olduğu bulunmuştur ⁽⁶⁾. Baysal ve ark.'nın ⁽²⁴⁾ çalışmasında da, bebeklerini yalnızca anne sütüyle besleyen annelerin emzirme özyeterlilik puan ortalamaları diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur. Çin'de yapılan bir çalışmada, bebeklerini yalnızca anne sütü ile besleyen annelerin özyeterlilik puan ortalamaları yüksek bulunmuştur ⁽²⁶⁾. Çalışmamızda da, bebeklerini yalnızca anne sütü ile besleyen annelerin emzirme özyeterlilik ve LATCH puan ortalamaları anlamlı olarak yüksekti.

Bebeklerini yalnızca anne sütü ile besleyen annelerin özyeterliliklerinin yüksek olduğu düşünülebileceği gibi, annelerin özyeterlilikleri yüksek olduğu için bu bebeklerin yalnızca anne sütü ile beslendikleri düşünülebilir. Bir başka söylem ile bu durum neden veya sonuç olabilir.

Annenin emzirme özyeterlilik algısının emzirip emzirmeyeceğini, bunun için ne kadar çaba göstereceğini, emzirmeye ilişkin düşüncelerini ve duygularını etkileyeceği düşünülmektedir ⁽¹⁰⁾. Bu nedenle annenin emzirme konusunda istekli olması emzirme başarısını artırmada önemli bir etken olabilir. Emzirme başarısı ile emzirme özyeterlilik algısının birbiriyle pozitif ilişkide olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir ^(12,18,31). Çalışmamızda da, emzirme özyeterliliği ile emzirme başarısı arasında pozitif yönde zayıf düzeyde bir ilişki bulundu. Özyeterlilikleri yüksek olan annelerin emzirme başarıları da yüksekti.

Çalışmamıza katılan anne sayısının azlığı çalışmamızın en önemli kısıtlılığıdır. Ayrıca çalışmanın bir üniversite eğitim hastanesinde yapılmış olması, annelerin eğitim düzeylerinin yüksek olmasına ve homojen dağılmamasına neden olarak çalışma için bir diğer kısıtlılığa neden olmuştur. Bu çalışmanın daha çok sayıda annede ve birden fazla hastanenin sosyal pediatri kliniklerinde tekrarlanması sonuçların geçerliliğini arttıracaktır.

Sonuç olarak, çalışmaya katılan annelerin emzirme özyeterlilik düzeyleri ve emzirme başarılarının yeterli düzeyde olduğu görülmüştür. Emzirme özyeterlilikleri yüksek olan annelerin emzirme başarılarının da yüksek olduğu görülmüştür. Doğum öncesi dönemden başlayarak, anne ve bebek ile ilgilenen tüm sağlık personelinin annelerin emzirme özyeterliliklerini yükseltmeye yönelik emzirme danışmanlığı eğitimlerini vermesi, doğum sonrasında da bu eğitimlerin özellikle deneyimsiz annelerde devam etmesi annelerin emzirme başarılarını yükselteceği düşünülmüştür. Ayrıca postnatal dönemde emzirme özyeterlilik ölçeği ile LATCH emzirmeyi tanılama ve değerlendirme ölçeğinin belirli aralıklarla annelere uygulanarak emzirme açısından riskli annelerin belirlenmesi, erken dönemde bu annelerin desteklenmesi önerilir.

KAYNAKLAR

- Gür E. Anne sütü ile beslenme. *Türk Ped Arş* 2007;42:11-15.
- American Academy of Pediatrics, Work Group on Breastfeeding: Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics* 1997;100:1035-1039. <https://doi.org/10.1542/peds.100.6.1035>
- World Health Organization/United Nations International Emergency Fund. Baby-friendly hospital initiative: revised, updated and expanded for integrated care. Section 3, Breastfeeding Promotion and Support in a Baby-Friendly Hospital, 2009: 58.
- Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü (2009) Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması, 2008. Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, Sağlık Bakanlığı Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü, Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı Müsteşarlığı ve TÜBİTAK, Ankara, Türkiye.
- Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü (2014), "2013 Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması". Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, T.C. Kalkınma Bakanlığı ve TÜBİTAK, Ankara, Türkiye.
- Dennis CL. The breastfeeding self-efficacy scale: psychometric assessment of the short form. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 2003;32:734-744. <https://doi.org/10.1177/0884217503258459>
- O'Campo P, Faden RR, Gielen AC, et al. Prenatal factors associated with breastfeeding duration: recommendations for prenatal interventions. *Birth* 1992;19:195-201. <https://doi.org/10.1111/j.1523-536X.1992.tb00402.x>
- Blyth R, Creedy D, Dennis CL. Effect of maternal confidence on breastfeeding duration: an application of breastfeeding self-efficacy theory. *Birth* 2002;29:278-284. <https://doi.org/10.1046/j.1523-536X.2002.00202.x>
- Jensen D, Wallace S, Kelsay P. LATCH: a breastfeeding charting system and documentation tool. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 1994;23:27-32. <https://doi.org/10.1111/j.1552-6909.1994.tb01847.x>
- Dennis CL, Faux S. Development and psychometric testing of the Breastfeeding Self-Efficacy Scale. *Res Nurs Health* 1999;22:399-409. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-240X\(199910\)22:5<399::AID-NUR6>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-240X(199910)22:5<399::AID-NUR6>3.0.CO;2-4)
- Aluş-Tokat M, Okumuş H. Translation and psychometric assessment of the Breast-feeding Self-Efficacy Scale-Short Form among pregnant and postnatal women in Turkey. *Midwifery* 2010;26:101-108. <https://doi.org/10.1016/j.midw.2008.04.002>
- Yenal K, Aluş-Tokat M, Durgun Ozan Y, Çeçe Ö, Bakılan Abalın F. Annelerin emzirme öz-yeterlilik algıları ile emzirme başarıları arasındaki ilişkinin incelenmesi. *Hemşirelikte Eğitim ve Araştırma Dergisi* 2013;10:14-19.
- Yenal K, Okumuş H. LATCH emzirme tanılama aracının güvenilirliğini inceleyen bir çalışma. *Hemşirelikte Araştırma Geliştirme Dergisi* 2003;5:38-44.
- Alikaşifoğlu M, Erginöz E, Gür E, Baltaş Z, Arvas A. Bir üniversite hastanesine devam eden annelerde tek başına anne sütü verme süresine etki eden faktörler. *Türk Pediatri Arşivi* 2000;35:148-155.
- Blyth R, Creedy DK, Dennis CL, Moyle W, Pratt J, De Vries SM. Effect of maternal confidence on breastfeeding duration: an application of breastfeeding self-efficacy theory. *Birth* 2002;29:278-284. <https://doi.org/10.1046/j.1523-536X.2002.00202.x>
- Blyth R, Creedy D, Moyle W, et al. Breastfeeding duration in an Australian population: the influence of modifiable antenatal factors. *J Hum Lact* 2004;20:30-38. <https://doi.org/10.1177/0890334403261109>
- Forster D, McLachlan H, Lumley J. Factors associated with breastfeeding at six months postpartum in a group of Australian women. *Int Breastfeed J* 2006;1:18. <https://doi.org/10.1186/1746-4358-1-18>
- Aluş-Tokat M, Okumuş H. Emzirme öz-yeterlilik algısını güçlendirmeye temelli antenatal eğitimin emzirme öz-yeterlilik algısına ve emzirme başarısına etkisi. *Hemşirelikte Eğitim ve Araştırma Dergisi* 2013;10:21-29.
- Nanishi K, Green J, Taguri M, Jimba M. Determining a cut-off point for scores of the Breastfeeding Self-efficacy Scale-Short Form: Secondary data analysis of an intervention study in Japan. *PLoS One* 2015;10:e0129698. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129698>
- Cömert Arslan G. Doğum Sonu Dönemde Emzirme Öz Yeterliliği ve İlişkili Faktörlerin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hemşirelik Anabilim Dalı, Konya, 2011.
- Koskinen KS, Aho AL, Hannula L, Kaunonen M. Maternity hospital practices and breastfeeding self-efficacy in Finnish primiparous and multi-parous women during the immediate post-partum period. *Midwifery* 2014;30:464-470. <https://doi.org/10.1016/j.midw.2013.05.003>
- Schafer R, Genna CW. Physiologic breastfeeding: a contemporary approach to breastfeeding initiation. *J Midwifery Womens Health* 2015;60:546-553. <https://doi.org/10.1111/jmwh.12319>
- Dennis CL. Breastfeeding initiation and duration: a 1990-2000 literature review. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 2002;31:12-32. <https://doi.org/10.1111/j.1552-6909.2002.tb00019.x>
- Baysal Yalçınöz H, Türkoğlu N, Küçükoğlu S. Sağlıklı ve hasta bebeği olan annelerin emzirme öz-yeterlilik algılarının karşılaştırılması. *İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hast. Dergisi* 2014;4:31-36.
- Bourgoin GL, Lahaie NR, Rheume BA, et al. Factors influencing the duration of breastfeeding in the Sudbury region. *Can J Public Health* 1997;88:238-241.
- Yang X, Gao LL, Ip WY, Sally Chan WC. Predictors of breast feeding self-efficacy in the immediate postpartum period: A cross-sectional study. *Midwifery* 2016;41:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.midw.2016.07.011>
- Küçükoğlu S, Çelebioğlu A. Hasta yenidoğanların annelerinin emzirme öz yeterlilik düzeyi ve emzirme başarılarının incelenmesi. *ERÜ Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi* 2014;2:1-11.
- Yalçın S. Emzirme Tekniği. *Katkı Pediatri Dergisi* 2003;25(2):236-253.
- Hannula L, Kaunonen M, Tarkka MT. A Systematic Review of Professional Support Interventions for Breastfeeding. *J Clin Nurs* 2008;17:1132-1143. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2702.2007.02239.x>
- Kronborg H, Maimburg RD, Væth M. Antenatal training to improve breastfeeding: a randomised trial. *Midwifery* 2012;28:784-790. <https://doi.org/10.1016/j.midw.2011.08.016>
- Meedya S, Fahy K, Kable A. Factors that positively influence breastfeeding duration to 6 months: A literature review. *Women Birth* 2010;23:135-145. <https://doi.org/10.1016/j.wombi.2010.02.002>

Frequency of hypertension assessed with ambulatory blood pressure monitoring in children with renal damage

Renal hasarlı çocuklarda ayaktan kan basıncı izlemi ile hipertansiyon sıklığı

Seçil CONKAR

Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi, Çocuk Anabilim Dalı, Çocuk Nefroloji Kliniği, İzmir

ABSTRACT

Objective: To determine the frequency of hypertension in children with renal scarring.

Methods: The present study was conducted between February 2013 and April 2015 in the Department of Pediatric Nephrology, Diyarbakır Child's Hospital. A total of 54 pediatric patients (aged 6-17) diagnosed with renal scarring were included in the study. Dimercaptosuccinic acid renal scans were used for the diagnosis of renal scarring. Ambulatory Blood Pressure Monitoring was performed in all patients using a Spacelabs 90217. We also searched for urinary microalbuminuria.

Results: HT was identified in 7 (13%) patients with renal scarring during the office measurements. On the other hand, 23 (42.7%) patients were found to have hypertension by Ambulatory Blood Pressure Monitoring. Patients showing severe and mild involvements on dimercaptosuccinic acid renal scans were compared in terms of frequency of hypertension and microalbuminuria ; however, no statistically significant difference was found.

Conclusion: Renal scarring presents a risk for hypertension in children. Office blood pressure measurement is insufficient for hypertension detection in children with renal scarring; therefore, Ambulatory Blood Pressure Monitoring should be performed to establish accurate diagnosis.

Keywords: Ambulatory blood pressure monitoring, children, hypertension, renal scar

ÖZ

Amaç: Skarlı böbrek olan çocuklarda hipertansiyon sıklığını saptamak.

Yöntem: Bu çalışma, Şubat 2013 - Nisan 2015 tarihleri arasında Diyarbakır Çocuk Hastalıkları Hastanesi Çocuk Nefroloji Biriminde yürütülmüştür. Çalışmaya, renal skar tanısı konan toplam 54 çocuk hasta (yaşları 6-17) dahil edildi. Böbrek skarlanması tanısında Dimercaptosuccinic acid kullanıldı. Tüm hastalarda Spacelabs 90217 kullanılarak ayaktan kan basıncı izlemi uygulandı, ayrıca üriner mikroalbuminüri incelendi.

Bulgular: Ofis ölçümleri sırasında renal skar bulunan 7 hastada (%13) hipertansiyon belirlendi. Öte yandan, ayaktan kan basıncı izlemi ile 23 (%42,7) sıklıkta hipertansiyon belirlendi. Dimercaptosuccinic acid renal incelemede şiddetli ve hafif tutulum gösteren hastalar, hipertansiyon ve mikroalbuminürisi sıklığı açısından karşılaştırıldı. Bununla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

Sonuç: Böbrek hasarlanması, çocuklarda hipertansiyon riski oluşturmaktadır. Renal hasarlı çocuklarda ofis kan basıncı ölçümü hipertansiyon belirlenmesi yetersizdir, bu nedenle doğru tanı koymak için ayaktan kan basıncı izlemi yapılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Yaşam içi kan basıncı izlemi, çocuklarda, hipertansiyon, renal skar

Alındığı tarih: 12.06.2017

Kabul tarihi: 02.11.2017

Yazışma adresi: Uzm. Dr. Seçil Conkar, Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi, İzmir - Türkiye
e-mail: secilcankar@yahoo.com.tr

INTRODUCTION

The relationship between renal damage and hypertension is well-known ⁽¹⁾. The 99m technetium-labeled dimercaptosuccinic acid (DMSA) scan is a

renal imaging method which enables determination of renal damage ⁽²⁾. DMSA scan is considered the gold standard for determining renal parenchymal damage. Renal parenchymal damage can be congenital or acquired. Acquired renal damage results from

pyelonephritis- induced renal Injury. Congenital renal damage may stem from congenital anomaly of the kidney such as hypoplasia and dysplasia. Persistent defect(s) first identified 6 months or more after the acute infection usually indicate renal damage ⁽³⁾. Decrease in the number of nephrons leads to renal damage. As a result, reducing the area of filtration causes hypertension ⁽⁴⁾. It is thought that children with renal damage may develop hypertension at any stage of life. Hypertension has been reported to occur in 9% to 30% of children. The methods for monitoring of blood pressure (BP) in children with renal damage include casual BP measurements, self-measured BP, and ambulatory BP monitoring. Ambulatory blood pressure monitoring (ABPM) has advantages: it significantly correlates with the presence of end-organ damage, and identifies abnormal BP patterns. BP changes continually depending on daily activities. Which is a valuable diagnostic tool for the assessment of ABPM, and hypertension. ABPM has become an indispensable clinical and research tool in daily practice. Clinical management recommendations based on outcome studies performed in children are essential for clinicians, as they must decide whether these results require drug therapy for the prevention of target-organ damage, after diagnosing hypertension by ABPM ⁽⁵⁾. The present study aims to evaluate the relationship between renal damage and hypertension using ABPM in Turkish children.

MATERIALS and METHODS

We retrospectively reviewed the medical records and DMSA scans of 54 children with renal damage. This study was carried out between February 2013 and April 2015 in the Department of Pediatric Nephrology, Diyarbakır Children's Hospital. Informed consent forms of the study were obtained from each patients' parents. A total of 54 pediatric patients (aged 6-17, body height >120 cm) diagnosed with renal damage were included in the study. All patients with renal scarring were included in the study regardless of the cause of renal scarring. Imaging results were recorded prior to the study. We questioned variables

associated with renal damage, including past or present history of hypertension, urinary tract infection (UTI), bladder and bowel dysfunction or prenatal hydronephrosis, nephrolithiasis and vesicoureteral reflux (VUR). All patients underwent ABPM.

Exclusion criteria were presence of acute or chronic illness, or drug treatment (eg, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, corticosteroids, bronchodilators) within the past 15 days prior to the study entry, since it might affect BP levels. Patients with obesity and under medical treatment for hypertension (HT) were also excluded from the study.

Cortical scarring was defined as persistent defect(s) firstly detected within 6 months on DMSA scans³. Renal scarring was categorized into three groups based on relative uptake of radionuclide by the defective kidney as; mild, focal >40%, moderate (20-40%), and severe (<20%) ⁽⁶⁾.

Office blood pressure (BP) was measured with a stethoscope and sphygmomanometer using a standard auscultatory technique by a physician obtaining at least three valid systolic and diastolic readings. Office BP readings were obtained per participant, and also, all participants had their BPs measured three times in the office. Measurements were averaged when taken on one occasion. BP classification was made after all measurements at different occasions were averaged. Office HT was defined as systolic BP (SBP) or diastolic BP (DBP) levels equal to or above the 95th percentile for age, sex, and height, as set out by the Report of the Second Task Force on Blood Pressure Control in Children ⁽⁷⁾.

All patients underwent Ambulatory Blood Pressure Monitoring (ABPM) and 24-hour BP monitoring was performed by using a Spacelabs 90217 device (Spacelabs Healthcare, Redmond, WA, USA) at home. The BP cuff which wrapped two thirds of the upper arm was selected and placed on the non-dominant arm of the patient. Measurements were taken every 20 minutes during waking, and every 30 minutes during sleeping hours. Measurements were transferred to a computer program after 24-hour monitoring. Successful monitoring was described as obtaining at least one valid reading for each hour during the 24-hour monitoring period. During the measure-

ments, the patients were asked to maintain their daily routines and to keep a diary of their daily activities and locations. According to their diary, daytime and nighttime periods were determined as the patients' waking and sleeping hours, respectively. The mean values of 24-hour, daytime, and nighttime BPs were calculated. SBP and DBP loads were determined as the percentage of readings exceeding the 95th percentile for age, sex, and height during each period⁽⁸⁾. The readings were compared with the established norms to determine associated BP load, defined as the percentage of valid ambulatory BP measurement above the reference. The reference data was accepted as the smoothed age- and sex-specific 95th percentiles of Wühl et al.⁽⁹⁾ calculated from the original data from Soergel et al.⁽¹⁰⁾. According to ABPM results, the diagnosis of HT was established based on the guidelines of BP load analyses performed using the cut-off value of 25%. The American Heart Association (AHA) updated the values and suggested the criteria for the classification of children as either normotensive or hypertensive masked hypertension by ABPM, after some modifications of the work by Lurbe and colleagues in 2008⁽⁸⁾.

Patients provided a 24-hr urine collection and they were instructed to report whether the 24-hr collection was complete and whether the urine collection day was inconvenient for them. Microalbumin level was examined by collecting 24-hour urine sample from all patients. Urine microalbumin excretion was measured with an immune turbidometric method (catalogue number: 2K98-20) and Abbott Laboratories' LX-20 device was used. Microalbuminuria was considered when microalbumin level greater than 300 mg/24h was detected in a 24-hour urine sample.

Statistical analyses were performed using SPSS 15.0 (IBM, Armonk, NY, USA). Definitive analysis, mean and standard deviation and frequency tables were described. Student t test was used for variables following normal distribution in between-group comparisons and in independent groups. Definitive statistics were presented as mean±standard deviation. Significance test was performed for advanced statistical analysis (Fisher's exact test, chi-square test),

and p-values less than 0.5 was considered to be statistically significant. The correlations between variables were examined using Pearson analysis based on the distribution of the quantitative data.

RESULTS

Fifty-four children (18 boys and 36 girls) diagnosed with renal scarring were included in the study. Demographic characteristics of the patients are presented in Table 1. Renal scarring was present in 54 patients (right renal scar in 25 patients and left renal scar in 29 cases). Diffuse parenchymal abnormalities and focal scar were seen in 44.4% and 55.6% of the patients, respectively.

Patients' average systolic and diastolic BP loads and office blood pressure measurements are shown in Table 1.

Mild (n=12; 41.6%), moderate (n=25; 40%), and severe (n=17; 47.1%) renal scars were detected in respective number of renal units. Patients displaying severe and mild renal involvements on DMSA were compared for HT and microalbuminuria frequency; however, no statistically significant difference was found among groups. The highest frequency of HT (47.1%) was detected in the severe involvement group on DMSA. The frequency of HT by the involvement grade on DMSA was presented in Table 2.

Table 1. Demographic characteristics and 24-hour ambulatory and official blood pressure measurement values of the patients.

Girls	36 (66.7%)
Boys	18 (33.3%)
Age (yrs)	11.57±3.14
Height (cm)	142.81±17.43
Weight (kg)	37.90±12.28
BMI (kg/m ²)	18.09±2.98
24-h diastolic BP (DBP) load (%)	24.41±18.3
24-h systolic BP (SBP) load (%)	22.57±16.68
Daytime systolic BP load (%)	34.42±12.73
Daytime diastolic BP load (%)	23.12±13.23
Nighttime systolic BP load (%)	41.36±14.42
Nighttime diastolic BP load (%)	32.48±13.53
Office systolic BP (mm Hg)	107.83±11.03
Office diastolic BP (mm Hg)	71.54±10.07

BMI: Body mass index, characteristics of the study population (values are means ± standard deviations) BP: blood pressure, ABPM: ambulatory blood pressure monitoring, values are means ± standard deviation

Of all patients with renal scarring, HT was detected in 7 (13%) patients during office BP measurements, whereas 23 patients (42.5%) were found to have HT during ABPM ($p=0.001$) (Table 3). In 42.5% of the patients with renal scarring HT was found. In 16 of 54 cases whose BP values were normal during the office blood pressure measurements, were detected to have HT by ABPM. Masked hypertension was detected in 29.6% ($n=16$) of the cases. In contrast to the office blood pressure measurements, hypertension was found in 7 of 54 cases by ABPM. Hypertension was detected in 7 of 54 cases both in the office measurements and ABPM. Ambulatory hypertension was encountered in 12.9% of the patients ($n=7$) (Table 4).

Table 2. Frequency of HT by the renal defects on DMSA.

Renal defect grade (n)	HT frequency n (%)	Microalbuminuria n (%)	p
Severe defect (17)	8 (47.1%)	10 (58.8%)	>0.05
Moderate defect (25)	10 (40%)	15 (60%)	>0.05
Mild defect (12)	5 (41.6%)	8 (66.6%)	>0.05

DMSA: Technetium-labeled dimercaptosuccinic acid, HT: hypertension

Table 3. Frequency of hypertension in patients with renal scarring (n %)

Office BP HT	ABPM HT	p
7 (13.0%)	23 (42.6%)	0.001

HT: hypertension, ABPM: ambulatory blood pressure monitoring, BP: blood pressure

Table 4. Hypertension types of the patients with renal scarring according to ABPM and office blood pressure measurements.

Hypertension type	Number of Cases n (%)
Normal	31 (57.4%)
Hypertension	23 (45.5%)
Masked HT	16 (29.6%)
Ambulatory HT	7 (12.9%)

HT: hypertension

DISCUSSION

The presence of hypertension is strongly associated with renal damage ⁽¹¹⁾. In one study, 21% of the

children with newly diagnosed hypertension had hypertension etiology showing renal scarring ⁽¹²⁾. During 27 years of follow-up, Jacobson concluded that the incidence of HT was 23% in cases with pyelonephritic scars secondary to reflux nephropathy ⁽¹³⁾. Smellie also reported the incidence of HT as 7.5% at the end of 18-37 years of follow-up of the patients having symptomatic UTI in childhood ⁽¹⁴⁾. In our study, HT frequency was found in 42% of the children with renal scarring by ABPM, and 13% by office BP measurements. We believe that in cases with renal scarring, the frequency of HT is indeed higher than it seems. Patzer et al. ⁽¹⁵⁾ revealed that mean systolic day-time BP SDS (standard deviation score) in ABPM was significantly higher in girls with renal scarring compared to healthy subjects. Yavuz et al. ⁽¹⁶⁾ found that ABPM was more sensitive than casual BP measurements and might be used for early detection of HT in VUR patients. Routine controls of children with renal scarring should not be limited to office BP measurements, and ABPM should be performed at least once a year.

Different subtypes of renal damage are described in reflux nephropathy ⁽¹⁷⁾. Focal cortical scarring, either as a single scar or multiple confluent lesions, usually occurs in the upper or lower pole, and often considered to be the result of pyelonephritic episodes. Renal parenchymal damage which is an acquired scarring, is caused by pyelonephritis-induced renal injury ⁽¹⁸⁾.

In the literature, Hodson has been the first to describe the significance of renal scarring in children with recurrent UTI and emphasized the presence of VUR in 97% of renal scarring cases ⁽¹⁹⁾. The etiology of scarring could be related to abnormalities other than UTI and/or VUR. It was possible that VUR was intermittent; and therefore, could not be identified by VCUG ⁽⁴⁾. Another explanation is that after scar formation, the grade of VUR diminished or resolved. In the same manner, VUR was not found in seven patients who developed renal scarring ⁽²⁰⁾.

Reflux nephropathy has been reported to account for 12% to 21% of all pediatric cases with chronic renal failure ⁽²¹⁾. On the other hand, 9% to 30% of children and young adults with renal scarring have

been reported to have hypertension of which development may take years ⁽²²⁾. It is believed that it results from segmental ischemia with increased renin secretion and it does not always depend on the severity of the scarring ⁽²³⁾. The survival analysis revealed that approximately 50% of the children with unilateral and bilateral renal damage develop persistent hypertension around the age of 30 and 22, respectively ⁽²⁴⁾.

Renal parenchymal damage may be associated with proteinuria and with nephrotic syndrome in some cases. In a study performed in children having bilateral VUR with renal scarring and normal creatinine clearance, 53.5% of these children were detected to have microalbuminuria ⁽²⁵⁾. Microalbuminuria was found in 43% of the patients with renal scarring.

Our study could not demonstrate any association between the severity of renal scarring and the frequency of HT. Thus, the cases with renal scarring in this study should be assessed as having HT regardless of the severity of renal scars.

Patients with renal scarring may be at the highest risk for hypertension. In children with renal scarring, HT can be diagnosed earlier by ABPM rather than the standard blood pressure measurements; and therefore, timely treatment planning can be made. In all children with renal injury routine ABPM measurements should be made irrespective of office blood pressure measurements.

CONCLUSION

In conclusion, the present study could reveal a higher incidence of hypertension among patients with renal damage. Children with renal injury had significantly higher ABPMs and increased incidence of hypertension relative to previous studies. This finding shows that children with renal damage are at increased risk of hypertension and should be considered for regular BP screening, preferably with 24-h ABPM.

REFERENCES

1. Rushton HG Jr. Vesicoureteral reflux and renal scarring. In:

- Barratt TM, Avner ED, Harmon WE (eds). Pediatric Nephrology. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1999; 851-72.
2. Gordon I. Indications for 99 m technetium dimercaptosuccinic acid scan in children. *J Urol* 1987;137:464-7. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)44069-9](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)44069-9)
3. Piepsz A, Blafox MD, Gordon I, et al. Consensus on renal cortical scintigraphy in children with urinary tract infection. Scientific Committee of Radionuclides in Nephrourology. *Semin Nucl Med* 1999;29:160-74. [https://doi.org/10.1016/S0001-2998\(99\)80006-3](https://doi.org/10.1016/S0001-2998(99)80006-3)
4. Brenner BM, Garcia DL, Anderson S. Glomeruli and blood pressure. Less of one, more the other? *Am J Hypertens* 1988;1:335-347. <https://doi.org/10.1093/ajh/1.4.335>
5. Conkar S, Mir S, Sözeri B, et al. Masked hypertension in children and its relationship with target organ damage. *Journal of Clinical and Experimental Investigations* 2015;6:102-109. <https://doi.org/10.5799/ahinjs.01.2015.02.0498>
6. Patel K, Charron M, Hoberman A, Brown ML, Rogers KD. Intra and inter observer variability in interpretation of DMSA scans using a set of standardized criteria. *Pediatr Radiol* 1993;23:506-509. <https://doi.org/10.1007/BF02012131>
7. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* 2004;114:555-76. <https://doi.org/10.1542/peds.114.2.S2.555>
8. Lurbe E, Sorof JM, Daniels SR. Clinical and research aspects of ambulatory blood pressure monitoring in children. *J Pediatr* 2004;144:7-16. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2003.09.050>
9. Wühl E, Witte K, Soergel M, Mehls O, Schaefer F; German Working Group on Pediatric Hypertension. Distribution of 24-h ambulatory blood pressure in children: normalized reference values and role of body dimensions. *J Hypertens* 2003;21:2205-6.
10. Soergel M, Kirschstein M, Busch C, et al. Oscillometric twenty-four-hour ambulatory blood pressure values in healthy children and adolescents: a multicenter trial including 1141 subjects. *J Pediatr* 1997;130:178-184. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(97\)70340-8](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(97)70340-8)
11. Silva JM, Santos Diniz JS, Marino VS, et al. Clinical course of 735 children and adolescents with primary vesicoureteral reflux. *Pediatr Nephrol* 2006;21:981-8. <https://doi.org/10.1007/s00467-006-0151-1>
12. Ahmed M, Eggleston D, Kapur G, Jain A, Valentini RP, Mattoo TK. Dimercaptosuccinic acid (DMSA) renal scan in the evaluation of hypertension in children. *Pediatr Nephrol* 2008;23:435-8. <https://doi.org/10.1007/s00467-007-0656-2>
13. Jacobson SH, Eklof O, Eriksson CG, Lins LE, Tidgren B, Winberg J. Development of hypertension and uraemia after pyelonephritis in childhood: 27 year follow up. *Br Med J* 1989;299:703-706. <https://doi.org/10.1136/bmj.299.6701.703>
14. Smellie JM, Prescod NP, Shaw PJ, Risdon RA, Bryant TN. Childhood reflux and urinary infection: A follow-up of 10-41 years in 226 adults. *Pediatr Nephrol* 1998;12:727-736. <https://doi.org/10.1007/s004670050535>
15. Patzer L, Seeman T, Luck C, Wühl E, Janda J, Misselwitz J.

- Day- and night-time blood pressure elevation in children with higher grades of renal scarring. *J Pediatr* 2003;142:117-26.
<https://doi.org/10.1067/mpd.2003.13>
16. Yavuz S, Anarat A, Bayazit AK. Ambulatory blood pressure monitoring in children with vesicoureteral reflux. *Urology* 2014;83:899-903.
<https://doi.org/10.1016/j.urology.2013.10.008>
 17. Farnsworth RH, Rossleight MA, Leighton DM, Bass SJ, Rosenberg AR. The detection of reflux nephropathy in infants by 99m-technetium dimercaptosuccinic acid studies. *J Urol* 1991;145:542-6.
[https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)38391-X](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)38391-X)
 18. Polito C, La Manna A, Rambaldi PF, Nappi B, Mansi L, Di Toro R. High incidence of a generally small kidney and primary vesicoureteral reflux. *J Urol* 2000;164:479-82.
[https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(05\)67404-6](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)67404-6)
 19. Hodson CJ. The radiologic diagnosis of pyelonephritis. *Proc R Soc Med* 1959;52:669-672.
 20. Lee JH, Son CH, Lee MS, Park YS. Vesicoureteral reflux increases the risk of renal scars: a study of unilateral reflux. *Pediatr Nephrol* 2006;21:1281-4.
<https://doi.org/10.1007/s00467-006-0147-x>
 21. Deleau J, Andre JL, Briancon S, Musse JP. Chronic renal failure in children:an epidemiological survey in Lorraine (France) 1975-1990. *Pediatr Nephrol* 1994;8:472-6.
<https://doi.org/10.1007/BF00856534>
 22. Wennerstrom M. Ambulatory blood pressure 16-26 years after the first urinary tract infection in childhood. *J Hypertens* 2000;18:485-91.
<https://doi.org/10.1097/00004872-200018040-00019>
 23. Stecker JF Jr, Read BP, Poutasse EF. Pediatric hypertension as a delayed sequela of reflux-induced chronic pyelonephritis. *J Urol* 1977;118:644-6.
[https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)58137-9](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)58137-9)
 24. Mattoo TK. Vesicoureteral reflux and reflux nephropathy. *Adv Chronic Kidney Dis* 2011;18:348-54.
<https://doi.org/10.1053/j.ackd.2011.07.006>
 25. Coppo R, Porcellini MG, Gianoglio B, Alessi D, Peruzzi L, Amore A, Bianchi M, Lace R, Cavalli G, Amprimo MC. Glomerular permselectivity to macromolecules in reflux nephropathy: microalbuminuria during acute hyperfiltration due to aminoacid infusion. *Clin Nephrol* 1993;40:299-307.

Cinsel istismara uğrayan kız çocuklarının profilleri

Profiles of sexually abused girls

Sevgi Nehir TÜRKMEN¹, İlknur SEVİNÇ², Öznur KIRLI², Işık ERKUL², Tahliya KANDEMİR²

¹Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Manisa

²Manisa Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesi, Manisa

ÖZ

Amaç: Çocuk cinsel istismarı diğer istismar türlerine göre çocuklar üzerinde daha travmatik ve uzun süreli etkiler bırakmaktadır. Bu nedenle bu çalışma cinsel istismara uğrayan kız çocukların profillerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Araştırma, tanımlayıcı ve retrospektif nitelikte bir araştırmadır. Çalışma Mayıs-Haziran 2016 tarihinde yapılmıştır. Çalışmanın evrenini Manisa Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesi Çocuk Kız Servisinde yatan 9-17 yaş arası kız çocuklar oluşturmaktadır. Araştırmada, örneklem seçimine gidilmeden evrenin tümüne ulaşılması hedeflenmiştir. Araştırmanın örneklemi 85 çocuk oluşturmıştır. 2014-2015 yılında kayıtlı olguların dosyaları ve adli raporları araştırmacılar tarafından geriye dönük olarak incelendi, istatistiksel analizde sayı yüzde testi kullanıldı.

Bulgular: Cinsel istismara uğrayan çocukların %42,5'i 13-15 yaş arasındadır. En sık bildirilen cinsel istismar tipi kızlarda %69,4'ü vajinal penetrasyon, %62,4'ü bedene cinsel amaçlı dokunmaydı. Mağdurların %25,9'nun birden çok kez cinsel istismara maruz kaldığı saptandı. İstismarcıların tamamı erkek, %54,1'i tanıdık, %14,1'i ise akrabalarından biriydi. Olguların %25,9'nun birden çok istismarcı tarafından istismara uğradığı saptandı. %91,8'i cinsel istismara ek olarak duygusal istismar yaşamıştır. Olguların %83,5'inin istismar sonrası en az bir ruhsal bozukluk tanısı aldığı belirlendi. Olguların %37,6'sı ağır stres bozukluğu, %27,1'i depresyon, %22,4'ü davranış bozukluğu, %12,9'u Travma Sonrası Stres Bozukluğu (TSSB) saptandı.

Sonuç: Bu sonuç, cinsel istismarına maruz kalmış kız çocukları için önemli bir yaşam stresörü olduğu ve istismara maruz kalmış kız çocuklarının psikiyatrik sorunlar açısından takip edilmeleri gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Cinsel istismar, psikiyatrik bozukluk, kız çocuk, psikiyatri hemşiresi

ABSTRACT

Objective: Child sexual abuse exerts more traumatic and long-term effects on children than other types of abuse. Therefore, this study was conducted to determine the profile of sexually exploited female children.

Methods: Research is descriptive and retrospective in nature. The population of the study consisted of female children aged 9-17 years hospitalized in Female Children's Mental Health Services of Manisa Mental Health and Disease Hospital. In the survey access to entire population was targeted instead of sample selection. The study sample consisted of 85 children. Hospital records and judicial reports of cases were examined by researchers retrospectively. Numbers, and percentage test were used in statistical analysis.

Results: 42.5% of sexually abused children aged between 13-15 years. The most frequently reported sexual abuse type was vaginal penetration (69.4%), sexual touching (62.4%) in girls, and 25.9% of the victims were perpetrated many times. All of abusers were male, 54.1% of them were acquaintances, and 14.1% of them were a relative. While 25.9% of them were abused by more than one abuser. Still 91.8% of them experienced emotional abuse in addition to sexual abuse. At least one mental disorder was diagnosed in 83.5% of the cases following the abuse including severe stress disorder (37.6%), depression (27.1%), behavioral disorders (22.4%) and, posttraumatic stress disorder (PTSD) (12.9%) in respective percentages of patients.

Conclusion: These results suggest that sexual abuse is a significant life stressor for sexually abused girls and it was concluded that it should be beneficial to follow up girls who experienced sexual abuse as for psychiatric symptoms.

Keywords: Sexual abuse, psychiatric disorder, girl child, psychiatric nurse

Alındığı tarih: 17.04.2017

Kabul tarihi: 09.09.2017

Yazışma adresi: Yrd. Doç. Dr. Sevgi Nehir Türkmen, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Şehitler Mah. İstasyon Mevki, 45020-Manisa-Türkiye
e-mail: sevgiturkmen2012@gmail.com

GİRİŞ

Dünya çapında çocuklarda cinsel istismar artmaktadır. Cinsel istismar yaygınlık oranı dünya genelinde %7-38 arası değişmektedir ^(1,2). Çocukların cinsel istismarın kurbanı olma olasılığı kızlarda üç kat fazla görülmektedir. Çocukluk kötüye kullanımı ile çocukluk ya da yetişkinlik dönemi psikopatolojisi arasında bilinen bir ilişki vardır ⁽³⁻⁵⁾. Kanada’da yapılan bir çalışmada, psikiyatri polikliniğine başvuran çocukların cinsel istismara maruz kalma oranı %20,7 olarak belirlenmiştir ⁽⁶⁾. İtalya’da yapılan sistematik bir çalışmada, davranış bozukluğu veya çocukta cinsel istismara uğramış 7256 katılımcıyı içeren 23 çalışma incelenmiş, davranış bozukluğu olan katılımcılar arasında çocukta cinsel istismar prevalansı %27 olarak saptanmıştır. Davranış bozukluğu olan katılımcılar, sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında, çocukta cinsel istismar oranının daha yüksek olduğu belirlenmiş, davranış bozukluğu olan gençler, diğer psikiyatrik bozuklukları olanlara kıyasla, bu bireyler cinsel istismar edilmek (veya olma) riski altında olduğu belirlenmiştir ⁽⁷⁾. Aynı çalışmada davranış bozukluğu olan kadın katılımcılar, erkeklere kıyasla, çocukların cinsel istismarını bildirme olasılığı daha yüksek saptanmıştır ⁽⁷⁾. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, çocuklarda fiziksel istismar sıklığı %30-35 ve cinsel istismar oranı %13’tür ^(4,8). 2007’de Hindistan’da yapılan bir araştırmada, çocukların %53,2 oranında cinsel istismar olgusu belirlenmiştir ⁽⁹⁾. Sri Lanka’da Polis tarafından 2015’te 1654 çocuk istismarı olgusu bildirdiği, Ulusal Çocuk Esirgeme Kurumunun verilerinin de eksik olduğunu bildirmiştir ⁽²⁾. Çoğu olayda bildirim düzeyi düşük ve veriler buzdağının ucunu temsil ettiği belirlenmiştir ⁽²⁾.

Çocuk ihmal ve istismarı tür ve şiddetine göre çocuklar üzerinde farklı düzeyde ve farklı sürelerde etkiler göstermektedir. Çocuğun tam bir iyilik halini sağlamaya yönelik her türlü engel ihmal ve istismar kapsamında değerlendirilebileceğinden, ihmal ve istismarın kapsamı en düşük düzeyden en yüksek düzeyde etkiye sahip geniş bir tabloyu kapsamaktadır ⁽¹⁰⁻¹⁶⁾. Bu kapsamda Mavili (2014) tarafından çocuk ihmali, çocuğun bireysel gelişiminden sorumlu anne, baba veya kurumların çocuğun sağlıklı gelişimi için

gerekenleri yapamaması veya yapmaması olarak tanımlanırken, istismar yapılmaması gerekenleri yapma olarak tanımlanmaktadır ⁽¹⁷⁾. İstismar ise sosyal, psikolojik, tıbbi ve hukuksal boyutlarıyla oldukça travmatik özelliklere sahip bir durumdur. Yoksulluk, işsizlik, sağlıksız ve yetersiz beslenme, yetersiz ve sağlıksız ev koşulları, ana-babanın kişilik yapısı, çocuğun özellikleri, ana-babanın yoksunluğu, boşanmış ve parçalanmış aile özelliği çocuğun istismarına yol açan faktörler arasında sayılabilir ^(16,17).

Ülkemizde 2014 yılında yayınlanan bir çalışmada, cinsel istismar mağdurlarının %84,6’sının kız, %15,4’ünün erkek olduğu görülmüştür. Türkiye İşçi Sendikaları Konfederasyonu (TÜRK-İŞ) Eylül 2010 verilerine göre cinsel istismara uğramış çocukların ailelerinin gelir düzeyi ise %83,1’i açlık sınırında, %12,3’ü yoksulluk sınırında ve %4,6’sı normal gelir aralığında saptanmıştır. Ailede psikiyatrik hastalık bulunma oranı da %24,6 olarak gözlenmiştir. Olguların %41,5’i istismar sırasında fiziksel istismara da maruz kalmıştır. İstismarcının, %56,9 oranında mağdurun tanıdığı/bildiği kişiler olduğu belirlenmiştir ⁽¹⁸⁾.

2014’te yapılan bir araştırmada, adli birime başvuran 60 çocuk incelenmiştir. Bu çocukların %90’ının kız, %10’unun erkek olduğu, annelerinin %74,2’sinin, babalarının ise %62,7’sinin ilköğretim mezunu olduğu saptanmıştır. Çocukların %28,3’nün aynı zamanda fiziksel istismara ve %18,6’sının duygusal istismara da uğradığı görülmüştür. Kız çocuklarında istismara uğrama yaşı ortalama 13,42±2,54 iken, erkeklerde 9,5±3,14 olarak saptanmıştır. Erkek çocuklarda istismarcıyı tanıma oranı %100 olarak bulunmuştur ⁽¹⁹⁾.

Yüce ve ark. (2015) tarafından Samsun örnekleminde, 2 yıl içinde adli birime başvuran çocukların incelendiği bir çalışmada, çocukta cinsel istismar ile ilgili çarpıcı veriler saptanmıştır. Bu iki yıllık süre zarfında 590 istismar mağduru adli birime başvurmuş. Bunların %14,1’inin erkek, %85,9’unun kız olduğu görülmüştür. Olguların yalnızca %3,2’si 6 yaş ve altında istismara uğramış iken, %76,4’ü ergenlik döneminde istismara uğramıştır. İstismarcıların tamamının erkek olduğu ve %80,3’ünün mağdur tarafından tanındığı görülmüştür. İstismar mağdurlarının

%73,2'sinin normal zeka aralığında, %12,3'ünün sınır zeka aralığında olduğu; %12,3'ünde hafif düzeyde zeka geriliği ve %1,8'inde ise orta düzeyde zeka geriliği olduğu saptanmıştır ⁽²⁰⁾.

Cinsel istismar, %77 aile üyeleri tarafından, %11 diğer akrabalar tarafından, %5 bakımla ilgisi olmayan kişiler tarafından, %2 ise çocuğun bakımı ile ilgilenen diğer kişiler tarafından uygulanmaktadır. İstismarcıların çoğu 20-40 yaşları arasında olup, mağdurun cinsiyeti ne olursa olsun istismarcıların çoğu erkek olmakta ve mağdur tarafından kim oldukları bilinmektedir ⁽²¹⁾. Cinsel istismara maruz kalan çocuklar genel olarak tehdit edilerek, zor kullanılarak, uyuşturucu maddeler verilerek ya da para, oyuncak ve şeker gibi çocukların sevdiği şeylerle kandırılarak istismar edilmektedir ⁽²²⁾.

Ülkemizde son yıllarda görsel ve yazılı basına yansıyan çocuk cinsel istismarı haberleri, çocuk cinsel istismarının yaygınlığını ortaya koymaktadır. Bu kapsamda çocuk adalet sistemi, cinsel istismar mağduru çocuklara sunulan psikososyal destek hizmetleri ve rehabilitasyon çalışmaları, araştırılması ve geliştirilmesi gereken bir alan olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapılan bu çalışma, son yıllarda basın yayın organları aracılığıyla ve adli sistem kayıtlarıyla artışına tanık olduğumuz çocuk ihmal ve istismarı türleri arasından yalnızca cinsel istismar ile sınırlı tutulmuştur. Çocuk cinsel istismarı diğer istismar türlerine göre çocuklar üzerinde daha travmatik ve uzun süreli etkiler bırakmaktadır. Bu nedenle cinsel istismar ortaya çıktığı andan itibaren çocuğa yaklaşım, uygulanan sosyal hizmet müdahalesi, adli süreç içerisindeki mekanizmalar ve psikososyal destek çalışmaları, istismar gerçekleşikten sonraki süreci kapsayan, araştırılması ve sürekli olarak geliştirilmeye çalışılması gereken sistemleri oluşturmaktadır ^(13,16).

Bu nedenle bu çalışma cinsel istismara uğrayan kız çocukların profillerini belirlemek amaçlı yapılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırma, tanımlayıcı ve retrospektif nitelikte bir araştırmadır. Çalışma Mayıs-Haziran 2016 tarihinde

yapılmıştır. Çalışmanın evrenini Manisa Ruh Sağlığı Hastalıkları Hastanesi Çocuk Ergen Kız Servisi ve Polikliniğe gelen 18 yaş altındaki kız çocukları oluşturmuştur. Araştırmada, örneklem seçimine gidilmeden evrenin tümüne ulaşılması hedeflenmiştir. Araştırmanın örneklemi 85 çocuk oluşturmıştır. Olguların 2014-2016 yılına ait dosyaları ve adli raporları araştırmacılar tarafından geriye dönük olarak incelendi.

Veri Toplama Araçları

Veriler, dosya incelemesi yapılarak, sosyodemografik özellikler ve cinsel istismara ait özelliklerden oluşan Hasta Bilgi Formu kullanılmıştır.

Hasta Bilgi Formu: Bu form iki bölümden oluşmaktadır. Birinci bölüm cinsel istismar mağduru çocuğun yaşı, eğitimi, aile durumu, aile yapısı ve tedavi sürecine ilişkin özellikleri içeren sorulardan oluşmaktadır. Anket, dosya incelemesi yapılarak araştırmacı tarafından doldurulmuştur.

İkinci bölüm, araştırmacı tarafından çocuğa ilişkin dosya bilgileri (sosyal inceleme raporları, görüşme raporları, emniyet-jandarma ve savcılık ifade tutanakları ve mahkeme tutanakları) taranarak doldurulmuştur. Çocuk, cinsel istismarı hatırlatan sorularla travmatik olayı istismar anına dönerek yine yaşayacağından, cinsel istismara ait bilgileri içeren ankette yer alan sorularla ilgili çocuğa herhangi bir soru sorulmaması, araştırmacı tarafından yalnızca dosya bilgileri taranarak doldurulmuştur. Verilerin toplanması aşamasında gizlilik ilkesi içerisinde veri toplamaya özen gösterilmesi, uygulanan ankette çocuğun kimliğine ilişkin herhangi bir bilgiye yer verilmemiştir.

Verilerin Toplanması

Araştırmanın yapılabilmesi için Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Etik Kurul ve ilgili kuruma çalışmanın amaç ve kapsamını içeren bilgi formu ile yazılı başvuruda bulunularak 04.05.2016/20478486/155 sayılı etik kurul kararı ile gerekli izinler alınmıştır.

Verilerin Analizi

Araştırmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesi bilgisayar ortamında SPSS for Windows 15.0

paket programı kullanılarak yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde ise sayı ve yüzdelik ortalama testleri kullanılmıştır.

BULGULAR

Cinsel istismara uğrayan çocukların %42,5'i 13-15 yaş arasındadır. Çocukların %52,9'unun okula gittiği, 61,2'sinin anne ve babası birlikte yaşadığı, %57,6'sı çekirdek aileye sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Kız çocukların sosyodemografik özelliklerin dağılımı.

Tamıttıcı Özellikler	Sayı (n)	Yüzde %
Yaş		
9-12 yaş	10	11,8
13-15 yaş	38	42,7
16-17 yaş	37	41,5
Eğitim		
Okula gidiyor	45	52,9
Okula gitmiyor	40	47,1
Aile durumu		
Anne baba birlikte	52	61,2
Anne baba boşanmış	33	38,8
Aile tipi		
Çekirdek aile	49	59,8
Geniş aile	9	18,2
Tek ebeveyn/Üvey anne-baba	27	22,0
TOPLAM	85	100,0

En sık bildirilen cinsel istismar tipi kızlarda %69,4'ü vajinal penetrasyon, %62,4'ü bedene cinsel amaçlı dokunmaydı. Mağdurların %25,9'nun birden çok kez cinsel istismara maruz kaldığı saptandı. İstismarcıların tamamı erkek, %54,1'i tanıdık, %14,1'i ise akrabalarından biriydi. Olguların %25,9'nun birden çok istismarcı tarafından istismara uğradığı saptandı. %91,8'i cinsel istismara ek olarak duygusal istismar yaşamıştı. Olguların %83,5'nin istismar sonrası en az bir ruhsal bozukluk tanısı aldığı belirlendi. Olguların %37,6'sında ağır stres bozukluğu, %27,1'inde depresyon, %22,4'ünde davranış bozukluğu, %12,9'unda Travma Sonrası Stres Bozukluğu (TSSB) saptandı. Çocuk yaşadığı cinsel istismarı hangi kişi, kurum veya kuruluşlarda anlatmak zorunda bırakılmıştır diye bakıldığında %67,1'i emniyette, %54,1'i savcılıkta, %20,0'ı mahkeme, %10,6'sı jandarmada anlatmak zorunda kalmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Kız çocukların cinsel istismarla ilgili tamıttıcı özelliklerin dağılımı.

Tamıttıcı Özellikler	Sayı (n)	Yüzde %
*Çocuğun cinsel istismara kim ya da kimler tarafından maruz kaldığı?		
Aile	10	11,8
Akraba	12	14,1
Tanıdık	46	54,1
Yabancı	23	27,1
Çocuğun cinsel istismara nerede uğradığı?		
Evde		
Ev dışında	52	61,2
*Çocuğun maruz kaldığı cinsel istismarın şekli neydi?	33	38,8
Dokunma	53	62,4
Öpme	50	58,8
Okşama	44	51,8
Sürtünme	9	10,6
Göstermecilik	10	11,8
Oral penetrasyon	2	2,4
Anal penetrasyon	13	15,3
Vajinal penetrasyon	59	69,4
Pornografilm izletme	2	2,4
Pornografik fotoğraflama	1	1,2
Cinsel istismara eşlik eden diğer istismar türleri nelerdir?		
Fiziksel istismar		
Evet	20	23,5
Hayır	65	76,5
Sözel istismar		
Evet	28	32,9
Hayır	57	67,1
Duygusal istismar		
Evet	78	91,8
Hayır	7	8,2
*Cinsel istismar sonrası çocuğun yaşadığı ruhsal sorunlar		
Akut Stres Bozukluğu	32	37,6
Travma Sonrası Stres Bozukluğu	11	12,9
Davranış Bozukluğu	19	22,4
Dürtü Kontrol Bozukluğu	2	2,4
Depresyon Madde Bağımlılığı	23	27,1
Madde Bağımlılığı	8	7,1

*Birden fazla yanıt verilmiştir.

TARTIŞMA

Ülkemizde ihmal ve istismar mağduru çocuklarla ilgili yapılan araştırma sonuçlarında, kız çocuklarının erkek çocuklara göre yüksek oranda olduğu, istismar türleri açısından bakıldığında cinsel istismar olaylarında da yine kız çocukların oranının erkek çocuklardan yüksek olduğu göze çarpmaktadır (16,5,23-31).

Literatürde, çocuklara cinsel istismarda bulunan kişilerin 3/4'ünün aile içinden birisi, yakın akrabalar,

komşu veya daha önce tanıdığı kişiler olduğu bildirilmiştir ^(14,32-33). Ülkemizde son dönemde çok merkezli yapılan bir çalışmada, istismarcıların %78,0'ının tanıdık ve %13,2'sinin aile bireylerinden biri olduğu belirlenmiştir ⁽¹⁴⁾. Ülkemizde son dönemde yapılan dört çalışmada, istismarcıların %40,7-%73,5 oranlarında tanıdık olduğu belirlenmiştir ^(14,34). Bu çalışmada da, istismarcıların yarısından fazlası tanıdık ve geriye kalan kişiler aile bireylerinden biri olduğu belirlenmiştir. İstismarcıların çoğunun çocuğun daha önce tanıdığı ve güvendiği kişiler olması, cinsel istismarı önlemede çalışmacıların işini zorlaştırmaktadır.

Aile yapısına bakıldığında çocukların yarısından fazlası çekirdek aile, arkasından sırasıyla tek ebeveynli aile ve geniş aile yapısına sahip olduğu belirlenmiştir. Cinsel istismarın aile içinde veya aile dışında yaşanması durumunda, istismar ortaya çıktıktan sonra bu durum aile yapısı ve aile işlevselliğinde bozulmalara ve/veya krizlere neden olabilir. Aile içi veya aile dışı cinsel istismarda ebeveynler, istismar mağduru çocuğu, birbirlerini veya istismarı uygulayan kişiler dâhil olmak üzere aile dışından kimseleri suçlayabilirler. Bu durum aile içi ilişkilerin bozulmasına, aile parçalanmasına ve çocukla kurulan sosyal ilişkilerin azalmasına neden olabilmektedir. İstismarın gerçekleşmesinin ardından aile yapısında değişikliklerin yaşanması olası olduğu gibi, mevcut aile yapısındaki bazı özellikler (parçalanmış aile, çocukla aile arasındaki sosyal ilişkinin zayıf olması gibi) cinsel istismarın gerçekleşmesinde risk etkeni olarak değerlendirilebilir. Bu konuda cinsel istismar mağduru çocukların aile yapısı ve ebeveynlerini kapsayan aile odaklı çalışmalar yapılarak bilimsel veriler ortaya konmalıdır.

Cinsel istismar eylemi en sık olarak vajinal penetrasyon, arkasından sırasıyla dokunma, öpme, okşama yolu ile gerçekleşmiştir. Daha önce ülkemizde yapılan çalışmalara benzer şekilde cinsel istismar eylemi en sık dokunma-okşama-sürtünme yolu ile gerçekleşmiştir ^(29,31). Bu istismar biçimini kızlarda vajinal penetrasyon erkeklerde ise anal penetrasyon takip etmektedir. Vajinal penetrasyon şeklinde cinsel istismara uğrayanların 33'ü zor kullanılarak, 15'i ise erkek arkadaşı ile kendi rızası ile cinsel birliktelik yaşamıştır ⁽²⁹⁾. Cinsel istismar öyküsü anksiyete, depresyon, madde bağımlılığı, özkıyım davranışı, davranış

bozukluğu ve posttravmatik stres bozukluğunu içeren psikiyatrik bozukluklarla sonuçlanabilmektedir ⁽¹⁴⁾. Çocukların cinsel istismarın ardından yaşadığı ruhsal sorunlar konusunda ülkemizde çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Şimşek ve ark. ⁽²⁴⁾ tarafından yapılan araştırmada, cinsel istismar mağduru çocukların %63,8'inde travma sonrası stres bozukluğu, %25'inde anksiyete bozukluğu, %22,2'sinde depresyon, %8,3'ünde yıkıcı davranım bozukluğu, %11,1'inde başka bir ruhsal bozukluğun görüldüğü bulunmuştur. Uğur ve ark. ⁽²⁵⁾ tarafından yapılan araştırmada, cinsel istismar sonrası çocukların %91,7'sinin en az bir ruhsal bozukluk tanısını karşıladığı, %30,6'sının majör depresyon, %28,5'inin travma sonrası stres bozukluğu, %14,6'sının akut stres tepkisi, %11,8'inin dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, %6,3'ünün anksiyete bozukluğu tanı ölçütlerini karşıladığı bulunmuştur. Olguların %8,3'ünde cinsel istismar sonrasında psikiyatrik bozukluk tanısı alacak boyutta olmasa da (kaygı, suçluluk duyguları, uyku sorunları vb.) duygusal ve davranışsal sorunların geliştiği saptanmıştır. Gökçen ve Dursun ⁽²⁹⁾ tarafından yapılan araştırmada, olguların %70'inin maruz kaldığı cinsel istismar sonucunda ruh sağlığının bozulduğuna, %18,3'ünün ruh sağlığının bozulmadığına karar verilmiştir. Ballı ⁽³⁰⁾ tarafından yapılan araştırmada ise, olguların %20,2'sine akut stres bozukluğu, %28,9'una post travmatik stres bozukluğu tanısı konulmuş ve %5,2'sinde dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, %11,6'sında zekâ geriliği bulunmuştur. Çalışmamızda, mağdurların %83,5'inde istismar sonrası en az bir ruhsal bozukluk gelişmiş olduğu belirlenmiştir. Olguların %37,6'sında ağır stres bozukluğu, %27,1'inde depresyon, %22,4'ünde davranış bozukluğu, %12,9'unda Travma Sonrası Stres Bozukluğu (TSSB) saptandı. Ülkemizde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, kız çocuklarının büyük bir kısmında cinsel istismar sonrası psikiyatrik bozukluk geliştiği görülmüştür. Bu nedenle çocuk ruh sağlığı alanında çalışan psikiyatri hemşireleri ve tüm sağlık ekibi cinsel istismara bağlı oluşabilecek risk etmenle-

rini ve psikiyatrik bozuklukları göz önüne alarak istismara uğramış çocukları yakından ve uzun süreli takip etmeleri gerekmektedir. Böylece bu bireylerin ruh sağlığı korunabilecek ve bundan sonraki yaşantıları için önlem alınabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Çeçen Eroğul, AR. Türk, SB. Ergenlerde çocukluk örselenme yaşantıları ve öfke ifade tarzları ile benlik saygısı ve yaşam doyumu arasındaki ilişkilerin incelenmesi. *International Journal of Human Sciences* 2013;10:1421-1439.
2. Chandrasiri MD, Wijewardena DK, Lanerolle SD, Chandrasiri SE, Wijewardena KP, Cooray RT. Child sexual abuse presenting to district general hospital, Chilaw. *Ceylon Med J* 2017;62:29-33. <https://doi.org/10.4038/cmj.v62i1.8430>
3. Bulut GÇ, Arman AR, İlter Güney İ, Gültepe P. Evaluation of 5-HTTLPR gene polymorphism and resilience components on the development of psychopathology in adolescent sexual abuse cases. *Noro Psikiyatr Arş* 2017;54(3):234-238. <https://doi.org/10.5152/npa.2016.12528>
4. Ayaz M, Ayaz AB, Soylu N. Psychiatric evaluation of child and adolescent forensic cases. *Klin Psikiyatr Derg* 2012;15:33-40.
5. Bilginer Ç, Hesapçioğlu ST, Sema Kandil S. Sexual abuse in childhood: a multi-dimensional look from the view point of victims and perpetrators. *Düşünen Adam: The Journal of Psychiatry and Neurological Sciences* 2013;26:55-64.
6. Agyapong VIO, Juhás M, Ritchie A, Ogunsina O, Ambrosano L, Corbett S. Prevalence rate and demographic and clinical correlates of child sexual abuse among new psychiatric outpatients in a city in northern alberta. *J Child Sex Abus* 2017;26(4):442-452. <https://doi.org/10.1080/10538712.2017.1282573>
7. Maniglio R. Prevalence of sexual abuse among children with conduct disorder: A systematic review. *Clinical Child and Family Psychology Review* 2014;3:268-282. <https://doi.org/10.1007/s10567-013-0161-z>
8. Perdahli Fis N, Arman A, Kalaca S, Berkem M. Psychiatric evaluation of sexual abuse cases: A clinical representative sample from Turkey. *Child Youth Serv Rev* 2010;32:1285-1290. <https://doi.org/10.1016/j.chilgyouth.2010.04.020>
9. Finkelhor D. The international epidemiology of child sexual abuse. *Child Abuse Negl* 1994;18:409-17. [https://doi.org/10.1016/0145-2134\(94\)90026-4](https://doi.org/10.1016/0145-2134(94)90026-4)
10. Acehan S, Bilen A, Ay MO, Gülen M, Avcı A, İçme F. Çocuk ihmali ve istismarının değerlendirilmesi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 2013;22:591-614.
11. Akbaş S, Turla A, Karabekiroğlu K, Senses A, Karakurt M, Taşdemir G. Cinsel istismara uğramış çocuklar. *Adli Bilimler Dergisi* 2009;8:24-32.
12. Austin VL, Sciarra DT. Çocuk ve ergenlerde duygusal ve davranışsal bozukluklar. Ed: Özekes M, I. Basım, Ankara, Nobel Yayınları, 2013.
13. Bilgin Ö. Cinsel istismar mağduru çocukların psikososyal durumlarının istismara ait özellikler açısından tanımlanması, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sosyal Hizmet Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 2015.
14. Dönmez YE, Soylu N, Özcan ÖÖ, Yüksel T, Demir AÇ, Bayhan PO, et al. Cinsel istismar mağduru çocuk ve ergen olgularımızın sosyodemografik ve klinik özellikleri. *J Turgut Ozal Med Cent* 2014;21:44-8.
15. Gültekin G, Ruban C, Akduman B, Korkusuz İ. Çocuk ve cinsel istismar. *Adli Psikiyatri Dergisi* 2006;3:9-14.
16. İmren SG, Ayaz AB, Yusufoglu C, Arman AR. Cinsel istismara uğrayan çocuk ve ergenlerde klinik özellikler ve intihar girişimi ile ilişkili risk etmenleri. *Marmara Medical Journal* 2013;26:11-16.
17. Mavili A. Aile içi şiddet kadının ve çocuğun korunması, 2. Basım, Ankara, Elma Kitabevi, 2014.
18. Şimşek Ş, Gençdoğan S. Cinsel istismar mağdurlarında istismar süresi ve sıklığı ile travma belirtileri arasındaki ilişkinin incelenmesi. *Dicle Üniv Tıp Fakültesi Dergisi* 2014;41(1):166-171. <https://doi.org/10.5798/diclemedj.0921.2014.01.0393>
19. Özdemir DE, Özmen S, Öztıp D, Özdemir Ç, Çıkılı Uytun M. Çocuk ve ergen cinsel istismar olgularında istismar ile ilişkili sosyodemografik özelliklerin, ailesel değişkenlerin ve ruhsal bozuklukların değerlendirilmesi. *Adli Tıp Dergisi* 2014;19(3):146-153.
20. Yüce M, Karabekiroğlu K, Yıldırım Z, Şahin S, Sapmaz D, Babadağı Z, et al. The psychiatric consequences of child and adolescent sexual abuse. *Arch Neuropsychiatr* 2015;52:393-399. <https://doi.org/10.5152/npa.2015.7472>
21. Ovayolu N, Uçan Ö, Serindağ S. Çocuklarda cinsel istismar ve etkileri. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi* 2007;2(4):13-22.
22. Ceylan A, Tuncer O, Melek M, Akgün C, Gülmehmet F, Erden Ö. Van bölgesindeki çocuklarda cinsel istismar. *Van Tıp Dergisi* 2009;16(4):35-38.
23. Koç F, Aksit S, Tomba A, Aydın C, Koturoğlu G, Çetin SK, et al. Çocuk istismarı ve ihmali olgularımızın demografik ve klinik özellikleri: Ege üniversitesi çocuk koruma birimi'nin bir yıllık deneyimi. *Türk Pediatri Araştırma Dergisi* 2012;47:119-24.
24. Şimşek İ, Özatalay E, Fettahoğlu EÇ. Cinsel istismara uğramış çocuklarda ve ebeveynlerinde travma sonrası stres bozukluğu. *Dicle Tıp Dergisi* 2011;38:318-324. <https://doi.org/10.5798/diclemedj.0921.2011.03.0040>
25. Uğur Ç, Şireli Ö, Esenkaya Z, Yaylalı H, Duman NS, Gül B, et al. Cinsel istismar mağdurlarının psikiyatrik değerlendirilmesi ve izlemi: Son dört yıllık deneyim. *Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Dergisi* 2012;19:81-86.
26. Özer E, Bütün C, Beyaztaş FY, Engin A. Çorum adli tıp şube müdürlüğü'ne 2006-2007 yıllarında başvuran cinsel istismar mağduru çocuk olgularının değerlendirilmesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2007;29:51-55.
27. Kurdoğlu M, Kurdoğlu Z, Güler A, Özgökçe Ç. Türkiye'nin doğusunda çocukluk çağındaki cinsel istismar olgularının değerlendirilmesi. *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi* 2010;7:285-8.
28. Ayaz M, Ayaz AB, Soylu N. Çocuk ve ergen adli olgularda ruhsal değerlendirme. *Klinik Psikiyatri Dergisi* 2012;15:33-40.
29. Gökçen C, Dursun OB. Bir eğitim hastanesi çocuk psikiyatri birimine gönderilen adli olguların incelenmesi. *Düşünen Adam Psikiyatri ve Nörolojik Bilimler Dergisi* 2012;25:238-243.
30. Ballı Ö. Çukurova üniversitesi tıp fakültesi'ne başvuran çocuk istismarı ve ihmali olgularının değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Adana, 2010.
31. Çöptür M, Üneri ÖŞ, Aydın E, Bahalı MK, Tanıdır C, Güneş H, et al. İstanbul ili örneklerinde çocuk ve ergen cinsel istismarlarının karakteristik özellikleri. *Anadolu Psikiyatri Dergisi* 2012;13:46-50.
32. Murray JB. Psychological profile of pedophiles and child molesters. *J Psychol* 2000;134:211-24. <https://doi.org/10.1080/00223980009600863>
33. Erdoğan A, Tufan E, Karaman MG, Atabek MS, Koparan C, Özdemir E, ve ark. Türkiye'nin dört farklı bölgesinde çocuk ve ergenlere cinsel tacizde bulunan kişilerin karakteristik özellikleri. *Anadolu Psikiyatri Dergisi* 2011;12:55-61.
34. Soylu N, Pılan BŞ, Ayaz M, Sönmez S. Cinsel istismar mağduru çocuk ve ergenlerde ruh sağlığını etkileyen etkenlerin araştırılması. *Anadolu Psikiyatri Dergisi* 2012;13:292-8.

Pediyatrik inguinal herni tamirinde ultrasonografi eşliğinde yapılan transversus abdominis plan bloğu ile yara yeri infiltrasyonunun karşılaştırılması: Randomize klinik çalışma

The comparison of ultrasonography-guided transversus abdominis plane block and wound infiltration for pediatric inguinal hernia repair: Randomized clinical study

Ali AHISKALIOĞLU¹, Ahmet Murat YAYIK², Mürsel EKİNCİ³, Birsat Emre GÖLBOYU⁴, Özlem Dilara ERGÜNEY¹, Mehmet Emin ÇELİKKAYA⁵, Elif ORAL AHISKALIOĞLU², Muhammet Ahmet KARAKAYA³, Binali FIRINCI⁶, Hacı Ahmet ALICI¹

¹Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Erzurum

²Bölge Eğitim Araştırma Hastanesi, Anestezi Kliniği, Erzurum

³Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İstanbul

⁴Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Algoloji Bilim Dalı, Isparta

⁵Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Hatay

⁶Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Erzurum

ÖZ

Amaç: Transversus abdominis plan (TAP) blokun postoperatif analjezik etkinliği abdominal cerrahi geçirecek olan hastalarda tartışmalıdır. Bu çalışmanın amacı, inguinal herni tamiri yapılan pediyatrik hastalarda ultrasound eşliğinde yapılan TAP blok ile yara yeri infiltrasyonunun analjezik etkinliğini karşılaştırmaktır.

Yöntem: Etik onam alındıktan sonra 3-8 yaş arası, tek taraflı inguinal herni onarımı yapılacak olan 60 hasta randomize olarak TAP blok (Grup TAP, n=30) veya yara yeri infiltrasyonu (Grup infiltrasyon, n=30) olarak iki gruba ayrıldı. TAPB grubuna ultrason eşliğinde 0,5 ml/kg olacak şekilde %0,25'lik bupivakain, Grup C'ye ise 0,5 ml/kg olacak şekilde 0,25'lik bupivakain cerrahi öncesi uygulandı. Ağrı skorları (Wong-Baker Yüz Skalası), aile memnuniyeti, blok komplikasyonları ve ek analjezik gereksinimi kaydedildi.

Bulgular: İnfiltrasyon grubu ile karşılaştırıldığında, ilk 12 saatteki ağrı skorları TAPB grubunda istatistiksel olarak daha düşüktü ($p<0,05$). Ek analjezik gereksinimi TAPB grubunda, infiltrasyon grubuna göre istatistiksel olarak daha düşüktü (10/30 vs 18/30 sırasıyla, $p=0,038$). Aile memnuniyeti TAPB grubunda, Grup infiltrasyona göre istatistiksel olarak daha fazlaydı ($p<0,001$).

Sonuç: TAP bloğun postoperatif analjezik etkinliği tartışmalı olmasına rağmen, pediyatrik inguinal herni tamirinde ultrason eşliğinde uygulanan TAP blok yara yeri infiltrasyonuna göre ağrı skorlarını anlamlı derecede azaltmaktadır.

Anahtar kelimeler: Ultrasonografi, transversus abdominis plan bloku, inguinal herni, postoperatif analjezi

ABSTRACT

Objective: Postoperative analgesic effect of transversus abdominis plane (TAP) block in patients undergoing abdominal surgery has been debatable. The aim of this study was to compare the analgesic effect of ultrasound guided TAP block and wound infiltration in pediatric patients undergoing inguinal herniorrhaphy.

Methods: After ethical board approval, 60 children between 3 and 8 years of age undergoing unilateral inguinal hernia repair were randomized to TAP block (Group TAP, n=30) or to wound infiltration (Group infiltration, n=30). Group TAPB received ultrasound-guided TAP block with 0.25% bupivacaine 0.5 ml/kg and Group C received wound infiltration with 0.25% bupivacaine 0.5 ml/kg before surgery. Pain scores (Wong-Baker Faces), parental satisfaction, block complications and additional analgesia requirements were recorded.

Results: Compared with the infiltration group, the pain scores were statistically lower in the TAPB group during the first 12 hours ($p<0,05$). The additional analgesia requirement was statistically lower in the TAPB group than Group infiltration group (10/30 vs 18/30 respectively, $p=0,038$). Parental satisfaction was statistically higher in the Group TAPB than Group infiltration ($p<0,001$).

Conclusion: Despite the postoperative effect of TAP block is debatable; ultrasound-guided TAP block reduces postoperative pain after pediatric inguinal hernia repair compared to wound infiltration.

Keywords: Ultrasonography, transversus abdominis plane block, inguinal hernia, postoperative analgesia

Alındığı tarih: 24.07.2017

Kabul tarihi: 18.09.2017

Yazışma adresi: Yrd. Doç. Dr. Ali Ahiskalioglu, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Erzurum - Türkiye
e-mail: aliahiskalioglu@hotmail.com

GİRİŞ

Rejyonel anestezi teknikler; postoperatif morbiditeyi azaltmakta, erken mobilizasyonu sağlamakta ve narkotik analjezik gereksinimi önemli ölçüde azaltarak büyük avantaj sağlamaktadırlar. Özellikle infantlarda ve çocuklarda postoperatif analjezi için yaygın olarak kullanılmaktadır ⁽¹⁾.

Alt batin cerrahisi geçiren hastalarda postoperatif analjezi genellikle sistemik opioidler ve nöroaksiyal yöntemler ile sağlanmaktadır. Opioidlerin kullanımına bağlı sedasyon, solunum depresyonu, kaşıntı, bulantı-kusma ile nöroaksiyal yöntemlerin olası parapleji veya kanama gibi komplikasyonları, bu iki yöntemin en büyük dezavantajı gibi görünmektedir. Transversus abdominis plan (TAP) bloğu, özellikle çocuklarda kaudal ve epidural analjezinin alternatifi olarak intraoperatif ve postoperatif analjezi sağlayan bir rejyonel anestezi tekniğidir ⁽²⁻⁴⁾.

TAP blok, çocuklarda alt batin ve pelvik cerrahilerde epidural analjezinin alternatifi olarak multimodal postoperatif analjezik konseptin bir parçası olarak etki göstermiştir ⁽³⁾. TAP blok ilk kez Rafi tarafından 2001 yılında Petit üçgeninden yararlanılarak tanımlanmıştır ⁽⁵⁾. Klasik yöntemle yapılan blokta, eksternal ve internal oblik kas fasyalarının geçilmesi sırasında iki kez “pop” veya direnç kaybı hissi alınır ve lokal anestetik bu alana uygulanır. Bu teknik 2007 yılından itibaren ultrasonografi yardımı ile daha güvenli bir biçimde uygulanmaya başlanmıştır. Ultrasonografi yardımı ile yapılan TAP blok, anterior abdominal duvarı inerve eden alt yedi interkostal sinir ile (T6-T12) L1 sinirin ön dallarını bloke eder. Böylece internal oblik ve transversus abdominis kasları arasındaki “transversus abdominis plan” olarak nitelendirilen fasial plana lokal anestezi dağılarak etki eder ⁽⁶⁾.

Son yıllarda ultrasonografi ile birlikte yaygın olarak yapılan TAP blok, postoperatif opioid tüketimini azaltmak, opioide bağlı yan etkileri minimize etmek ve intraoperatif opioid ihtiyacını azaltmak için kullanılan rejyonel anestezi tekniklerinden biridir ^(1,7).

Bu çalışmanın amacı, pediatrik tek taraflı inguinal hernioplasti operasyonlarında ultrasonografi eşliğinde Transversus Abdominis Plan Blok uygulaması ile

insizyon hattına lokal anestezi infiltrasyonunun postoperatif dönemde ağrı skorlarına ve analjezik ajan gereksinimlerine olan etkilerini karşılaştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Etik Kurul onayı alındıktan sonra tek taraflı inguinal hernioplasti uygulanacak ASA I-II, yaşları 3-8 arasında değişen 60 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalardan şiddetli sistemik hastalığı, daha önceden bilinen bir nörolojik veya spinal hastalığı, kanama diatezi, amid tipi lokal anesteziye allerjisi ve blok yapılacak bölgede lokal enfeksiyonu mevcutsa, anne ve babasında, kardeşlerinde veya kendisinde postoperatif bulantı-kusma ve araç tutma öyküsü varsa, kronik üst hava yolu obstrüksiyonu ve gece horlama hikayesi olanlar çalışma dışı bırakıldı.

Operasyon odasına alınan hastalara rutin monitörizasyon elektrokardiogram (EKG), periferik oksijen saturasyonu (SpO₂), noninvaziv kan basıncı uygulandı ve bazal değerler kaydedildi. Premedikasyon için hiçbir sedatif ilaç verilmedi. Anestezi indüksiyonu hastanın şuuru kapanana kadar yüz maskesi ile %7-8 sevofluran, %50 nitrous oxide ve %50 oksijen ile yapıldı. Şuuru kapanınca damar yolu açıldı.

Anestezi indüksiyonunda tiopental sodyum 5 mg/kg, fentanil 2 µg/kg ve rokuronyum 1.2 mg/kg uygulanarak hızlı seri entübe edildi. Entübasyon sonrası solunum frekansı hastanın EtCO₂ 30-35 mmHg olacak şekilde solunum parametreleri %50 FiO₂ ve hava karışımı, soluk hacmi 6-7 ml/kg olarak ayarlandı. Anestezi idamesi %1-2 sevofluran (Sevorane, Abbott) ve gerektiğinde rokuronyum 0,1 mg/kg ile sağlandı. Operasyon süresince 5 dk. aralıklarla kalp atım hızı (KAH), noninvazif kan basıncı (NİKB), SpO₂, soluk sonu CO₂ değerleri ve total anestetik ilaç gereksinimi kaydedildi.

Hastalar bilgisayar randomizasyon programı kullanılarak oluşturulan random listesine göre TAP blok ya da infiltrasyon grubu olarak rastgele iki gruba ayrıldı.

Grup TAPB’ye cerrahi öncesi TAP blok uygulandı. TAP blok uygulaması asepsi antisepsi kurallarına uygun olarak bir şekilde ultrasonografi eşliğinde batin ön duvar kasları görüntüledikten sonra in-plane

yöntemle sonovisible 50 mmlik iğne kullanılarak internal oblik ve transversus abdominis kasları arası na 0,5-1 mL %0,9 NaCl test dozu verilerek iğnenin yeri doğrulandı ve (kas fasyasının şiştiği görülerek) kan veya havanın negatif aspirasyonda gelmediği gözlemlendikten sonra volümü 0,5 ml/kg olarak hesaplanan 0,25 %'lik bupivakain solüsyonu hemodinamik ve EKG monitorizasyonu altında transversus abdominis planına enjekte edildi.

Grup infiltrasyona ise cerrahi öncesinde hasta genel anestezi altında iken, insizyon hattına cerrahi ekip tarafından 0,5 ml/kg volümünde %0,25 bupivakain infiltrasyonu yapıldı.

Cerrahi bitiminde hastalara, 0,01 mg kg atropin IV ve 0,02 mg kg neostigmin IV ile dekürrize edildikten sonra ekstübe edilerek derlenme ünitesine alındı. Postoperatif ağrı 30. dk., 1., 2., 3., 6., 12., 24. saatlerde Wong-Baker yüz skalası ile değerlendirildi⁽⁸⁾.

Ek analjezi gereksinimi, bulantı-kusma varlığı değerlendirildi. Her iki gruptaki hastalara da yapılan değerlendirmelerde, Wong-Baker yüz skalası >4 ise 15 mg/kg parasetamol iv olarak 15 dk. içinde uygulandı. Kurtarıcı analjezi olarak 0,25 mg/kg meperidin yapıldı. Yirmi dört saat sonunda hastaların anne ve babalarının memnuniyetleri sorgulandı. Aile memnuniyeti 4 puanlı bir skala ile kusursuz, iyi, orta ve kötü olarak değerlendirildi

İstatistiksel Analiz

İstatistiki değerlendirilmede, SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) istatistik paket programı kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmede grupların kategorik değişkenlerinin karşılaştırmasında ki-kare testi kullanıldı. Hastalara ait numerik parametrelerin normal dağılımı Kolmogorov-Smirnov ve histogram testleriyle incelendi. Normal dağılıma uyan parametrelerin karşılaştırılmasında Student's t-testi, normal dağılıma uymayan parametrelerde ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Demografik veriler, anestezi süresi ve operasyon

süresi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak fark mevcut değildi (p>0,05) (Tablo 1).

Postoperatif ağrı Wong Baker ağrı skalası ile ilk 24 saatte değerlendirildi. Buna göre 30. dk., 1., 2., 4., 8., ve 12. saatlerdeki Wong Baker ağrı skorları Grup TAPB'ta Grup infiltrasyona göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşükken (p<0,001), 24. saatte gruplar arası fark yoktu (p=0,113) (Tablo 2).

Grup TAPB'de 10 hastada, Grup infiltrasyonda ise 18 hastada postoperatif ek analjezik gereksinimi meydana gelmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu (p=0,038). Aile memnuniyeti operasyon sonrası 24. saatte kusursuz, iyi, orta ve kötü olarak değerlendirildi, istatistiksel olarak anlamlı derecede TAP blok uygulanan hastaların aileleri daha memnundu (p<0,001) (Tablo 3).

Postoperatif bulantı skorları ve sedasyon skorları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi (p>0,05).

Tablo 1. Demografik veriler.

	Grup İnfiltrasyon	Grup TAPB	P*
Yaş (yıl)	5,17±1,98	5,23±2,09	0,737 ^a
Ağırlık (kg)	20,67±6,99	19,40±5,13	0,427 ^b
Boy (cm)	107,83±15,08	109,03±14,59	0,604 ^a
Cinsiyet (erkek/kız)	22/8	24/6	0,542 ^c
ASA (I/II)	27/3	26/4	0,688 ^c
Anestezi süresi (dk.)	57,83±18,60	67,17±19,14	0,060 ^b
Cerrahi süre (dk.)	46,50±18,01	54,50±18,30	0,093 ^b

Tüm değerler sayı yada ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

*Gruplar arası karşılaştırma

^aMann-Whitney U test

^bIndependent sample t test

^cChi-square test

Tablo 2. Gruplara ait wong baker yüzleri ağrı skalası.

	Grup İnfiltrasyon	Grup TAPB	P*
30. dk.	5,93± 2,80	1,77±1,81	<0,001 ^a
2h	5,07± 2,50	1,67± 1,74	<0,001 ^b
4h	4,93±2,76	1,37±1,79	<0,001 ^b
8h	5,20±2,75	2,17±2,10	<0,001 ^a
12h	5,53±2,86	2,93±1,87	<0,001 ^b
24h	5,93±3,03	5,00±1,36	0,113 ^b

Tüm değerler sayı yada ortalama ±standart sapma olarak verilmiştir.

*Gruplar arası karşılaştırma, ^aIndependent sample t test, ^bMann-Whitney U test

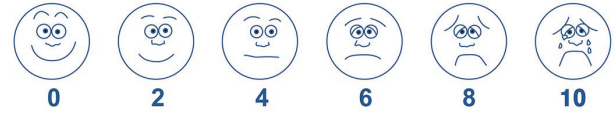
Tablo 3.

	Grup İnfiltrasyon	Grup TAPB	P*
Aile memnuniyeti (kusursuz/iyi/orta/kötü)	4/8/18/0	18/10/2/0	<0,001 ^a
Bulantı skoru (yok/hafif/orta/şiddetli)	27/1/2/0	26/2/2/0	0,839 ^a
Sedasyon skoru (Uyanık ve aktif/oldukça uyanık/uyuyor ama kolayca uyandırılabilir/derin uykuda)	8/13/7/2	8/6/7/9	0,071 ^a
Ek analjezik gereksinimi (var/yok)	18/12	10/20	0,038 ^a

Tüm değerler sayı olarak verilmiştir.

*Gruplar arası karşılaştırma

^aChi-square test



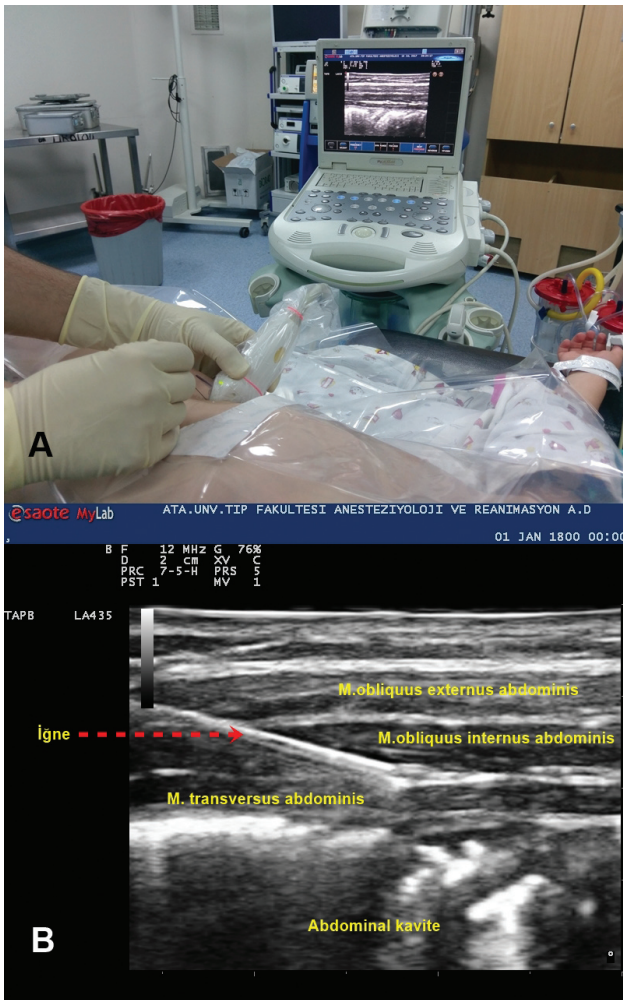
Şekil 2. Wong-Baker Faces ağrı skalası.

TARTIŞMA

Bu çalışmaya göre, TAP blok, yara yeri infiltrasyonuna göre postoperatif ilk 12 saatte daha az ağrı skorları oluşturmuş ve ek analjezik gereksinimini azaltmıştır. Ayrıca aile memnuniyetini de istatistiksel olarak anlamlı derecede yükseltmiştir. TAP bloğa bağlı herhangi bir komplikasyona rastlanmamıştır.

Son yıllarda ultrasonografinin rejyonel anestezi pratiğine girmesiyle beraber periferik sinir blokları dışında plan blokları da oldukça popüler hale gelmiştir. Plan blokları, ultrasonografi ile kolay uygulanabilir olması, komplikasyon oranlarının az oluşu, postoperatif yeterli analjezi sağlamaları ve opioid tüketimini azaltmalarıyla birlikte nöroaksiyel tekniklerin yerini almaya adaydır ⁽⁹⁾. Trunkal bloklar olarak da adlandırılan plan blokları arasında, paravertebral, TAP, rektus sheath ve ilioinguinal/iliohipogastrik bloklar yer alırken son zamanlarda yine ultrasonografi eşliğinde yapılan quadratus lumborum ve PECs bloklar da bu kategoride yer almaktadır. Bu bloklardan birisi özellikle alt batin cerrahisinde tanımlanan transversus abdominis plan (TAP) bloktur ve etkinliği birçok cerrahi prosedürde gösterilmiştir ⁽¹⁰⁻¹²⁾. Buna ilaveten, bu bloklar genellikle somatik analjezi sağlayarak multimodal postoperatif analjezik yaklaşımın bir parçası haline gelmişlerdir.

TAP blok birçok pediatrik cerrahi prosedür için (apendektomi, hernioplasti, laparotomi, kolostomi açılması ve kapatılması gibi) multimodal postoperatif analjezinin efektif bir komponenti olarak tanımlanmıştır. TAP blok, internal oblik ve transversus abdominis planına lokal anestezi enjekte edilmesiyle uygulanır. Torakolumbar sinirlerin ventral ramusunu etkileyerek cilt, kas ve ön abdominal duvarın paryetal peritonunu bloke eder. Böylece özellikle alt abdominal, jinekolojik ve ürolojik prosedürler için etkin bir analjezi sağlar. Birçok çalışma, postoperatif opioid tüketimini azaltması, daha az ağrı skorları oluşturmaması ve opioid ile ilişkili yan etkileri azaltması açısından



Şekil 1A. Transversus abdominis plan bloğu için ultrasound ve prob pozisyonu, B. TAP bloğa ait sonografik anatomi.

TAP bloğun etkisini raporlamışlardır ^(3,13-15). Bu çalışmaların aksine, bazı çalışmalarda TAP bloğun yara yeri infiltrasyonuna herhangi bir üstünlüğü olmadığı gösterilmiştir ^(16,17). TAP blok ile ilgili ilk klinik çalışmalar yaklaşık 24 saate kadar analjezik etkisi olduğu yönündeydi ^(2,18). Bu etkinin lokal anesteziğin paravertebral yayılımı ile ilgili olabileceği yönünde yazarlar açıklamada bulunmuşlardır. Ayrıca yapılan bu çalışmalarda, TAP blok kör yöntemle uygulanmıştır. Çalışmamızda ise, postoperatif ilk 12 saatte ultrasonografi eşliğinde uygulanan TAP blok daha iyi ağrı skorları oluşturmaya rağmen, 12 saatten sonra infiltrasyon anestezi ile sonuçlar benzerdi. Ultrasonografi eşliğinde bloğun yapılması sonucu lokal anestezi daha anteriora dağılmış olmasıyla daha kısa bir analjezi süresine neden olduğunu açıklayabiliriz.

TAP blok yaparken doz olarak 0,5 ml/kg'lık bir volüm kullanılmıştır. 0.2 ml/kg'lık bir dozun bile başarılı bir perioperatif analjezi sağladığını gösteren çalışmalar literatürde vardır ⁽¹⁵⁾.

TAP bloğu cerrahi öncesi yapılması yeğlenmiştir. Bundaki amacımız cerrahi öncesi ultrasonografik anatominin bozulmamış olması ve daha net bir görüntü oluşabileceğindendi. Buna ilaveten, cerrahi sonrası doku bütünlüğünün bozulması, plan blokları için lokal anestezi ilaçların dağılımını etkileyebirdi.

Son yıllarda postoperatif ağrı tedavisinde multimodal analjezi yaklaşımının geleneksel yaklaşımdan daha etkili olduğu düşünülmektedir ⁽¹⁹⁾. Perioperatif ağrı kontrolünde optimal strateji, opioid gereksinimini minimize eden multimodal yaklaşımlardır. Rejyonel anestezi teknikler de bu yaklaşımın önemli bir parçasını oluşturmaktadır ⁽²⁰⁾. Çalışmamızda, postoperatif dönemde kullandığımız parasetamol ve opioidlerle beraber preoperatif TAP bloğu uygulayarak multimodal bir analjezi sağladık.

Çalışmanın birçok limitasyonu vardır. İlk olarak hastalar uyutulduktan sonra TAP blok işlemi yapıldığı için bloğun başarısı ve sensoryal değerlendirmesi yapılamadı. İkinci olarak, çalışma dizaynı olarak çift kör bir çalışma değildi. Son olarak, TAP blok komplikasyonlarının ortaya çıkması açısından çalışmanın örneklem büyüklüğü yeterli değildi.

TAP bloğun etkinliği ile ilgili çalışmalar her ne kadar tartışmalı ise de çalışmamızda pediatrik hastalarda ultrasonografi eşliğinde uygulanan TAP bloğun daha az ağrı skorları oluşturmaya, daha az ek analjezi gereksinimi doğurması ve aile memnuniyetini artırması açısından yara yeri infiltrasyonuna göre daha üstün olduğu düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Sathyamoorthy M. Pediatric regional anesthesia: an Update. *Current Anesthesiology Reports* 2017;7(2):150-5. <https://doi.org/10.1007/s40140-017-0217-6>
2. McDonnell JG, O'Donnell B, Curley G, Heffernan A, Power C, Laffey JG. The analgesic efficacy of transversus abdominis plane block after abdominal surgery: a prospective randomized controlled trial. *Anesthesia and Analgesia* 2007;104(1):193-7. <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000250223.49963.0f>
3. Carney J, Finnerty O, Rauf J, Curley G, McDonnell JG, Laffey JG. Ipsilateral transversus abdominis plane block provides effective analgesia after appendectomy in children: a randomized controlled trial. *Anesthesia and Analgesia* 2010;111(4):998-1003. <https://doi.org/10.1213/ANE.0b013e3181ee7bba>
4. Erbabacan E, Kendigelen P, Köksal GM, Tütüncü Ç, Ekici BB, Şeker TB, et al. Comparison of transversus abdominis plane block and IV patient-controlled analgesia after lower abdominal surgery. *Turk J Anaesthesiol Reanim* 2015;43(1):24-8. <https://doi.org/10.5152/TJAR.2014.82788>
5. Rafi AN. Abdominal field block: a new approach via the lumbar triangle. *Anaesthesia* 2001;56(10):1024-6. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2044.2001.02279-40.x>
6. Tran TM, Ivanusic JJ, Hebbard P, Barrington MJ. Determination of spread of injectate after ultrasound-guided transversus abdominis plane block: a cadaveric study. *British Journal of Anaesthesia* 2009;102(1):123-7. <https://doi.org/10.1093/bja/aen344>
7. Krodel DJ, Marcelino R, Sawardekar A, Suresh S. Pediatric regional anesthesia: A review and Update. *Current Anesthesiology Reports* 2017;7(2):227-37. <https://doi.org/10.1007/s40140-017-0214-9>
8. <http://wongbakerfaces.org/>.
9. Chin KJ, McDonnell JG, Carvalho B, Sharkey A, Pawa A, Gadsden J. Essentials of our current understanding: Abdominal wall blocks. *Regional Anesthesia and Pain Medicine* 2017;42(2):133-83. <https://doi.org/10.1097/AAP.0000000000000545>
10. Ma N, Duncan JK, Scarfe AJ, Schuhmann S, Cameron AL. Clinical safety and effectiveness of transversus abdominis plane (TAP) block in post-operative analgesia: a systematic review and meta-analysis. *J Anesth* 2017. <https://doi.org/10.1007/s00540-017-2323-5>
11. Yoshida T, Furutani K, Watanabe Y, Ohashi N, Baba H. Analgesic efficacy of bilateral continuous transversus abdominis plane blocks using an oblique subcostal approach in patients undergoing laparotomy for gynaecological cancer: a prospective, randomized, triple-blind, placebo-controlled study. *British Journal of Anaesthesia* 2016;117(6):812-20.

- <https://doi.org/10.1093/bja/aew339>
12. Kendigelen P, Tutuncu C, Ashyralyyeva G, Ozcan R, Emre S, Altindas F, et al. Transversus Abdominis Plane (TAP) block for postoperative analgesia in neonates and young infants: retrospective analysis of a case series. TAP blocks in neonates and young infants. *Minerva Anesthesiol* 2016.
 13. Araco A, Pooney J, Araco F, Gravante G. Transversus abdominis plane block reduces the analgesic requirements after abdominoplasty with flank liposuction. *Ann Plast Surg* 2010;65(4):385-8.
<https://doi.org/10.1097/SAP.0b013e3181cc2a24>
 14. Sahin L, Sahin M, Gul R, Saricicek V, Isikay N. Ultrasound-guided transversus abdominis plane block in children: a randomised comparison with wound infiltration. *European Journal of Anaesthesiology* 2013;30(7):409-14.
<https://doi.org/10.1097/EJA.0b013e32835d2fcb>
 15. Sola C, Menace C, Rochette A, Raux O, Bringuier S, Molinari N, et al. Ultrasound-guided transversus abdominis plane block for herniorrhaphy in children: what is the optimal dose of levobupivacaine? *European Journal of Anaesthesiology* 2014;31(6):327-32.
<https://doi.org/10.1097/EJA.0000000000000040>
 16. Sandeman DJ, Bennett M, Dilley AV, Perczuk A, Lim S, Kelly KJ. Ultrasound-guided transversus abdominis plane blocks for laparoscopic appendectomy in children: a prospective randomized trial. *British Journal of Anaesthesia* 2011;106(6):882-6.
<https://doi.org/10.1093/bja/aer069>
 17. Petersen PL, Mathiesen O, Stjernholm P, Kristiansen VB, Torup H, Hansen EG, et al. The effect of transversus abdominis plane block or local anaesthetic infiltration in inguinal hernia repair: a randomised clinical trial. *European Journal of Anaesthesiology* 2013;30(7):415-21.
<https://doi.org/10.1097/EJA.0b013e32835fc86f>
 18. McDonnell JG, Curley G, Carney J, Benton A, Costello J, Maharaj CH, et al. The analgesic efficacy of transversus abdominis plane block after cesarean delivery: a randomized controlled trial. *Anesthesia and Analgesia* 2008;106(1):186-91, table of contents.
<https://doi.org/10.1213/01.ane.0000290294.64090.f3>
 19. Favuzza J, Brady K, Delaney CP. Transversus abdominis plane blocks and enhanced recovery pathways: making the 23-h hospital stay a realistic goal after laparoscopic colorectal surgery. *Surg Endosc* 2013;27(7):2481-6.
<https://doi.org/10.1007/s00464-012-2761-y>
 20. Favuzza J, Delaney CP. Outcomes of discharge after elective laparoscopic colorectal surgery with transversus abdominis plane blocks and enhanced recovery pathway. *J Am Coll Surg* 2013;217(3):503-6.
<https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2013.03.030>

Interrecurrent nerve anastomosis with free nerve graft transposition in rabbits

Tavşanlarda serbest sinir grefti transpozisyonu ile interrekürren sinir anastomozu

Bülent ÇALIK¹, Ömer ENGİN², Aslı MURATLI³, Can Ahmet KULAN⁴, Buket TOPÇU⁵, Kerem KARAMAN⁶,
Fuat İPEKÇİ¹, Gökçe AKSOY YILDIRIM⁷, Mutlu ÜNVER⁸

¹İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Birimi, İzmir

²İzmir Buca Seyfi Demirsoy Devlet Hastanesi, İzmir

³İzmir Başkent Üniversitesi Zübeyde Hanım Hastanesi Patoloji Birimi, İzmir

⁴İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Birimi, İzmir

⁵İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi Anesteziyoloji Birimi, İzmir

⁶Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İzmir

⁷Ankara Dışkapı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kulak-Burun-Boğaz Birimi, İzmir

⁸İzmir University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, İzmir

ABSTRACT

Objective: In this experimental study, we aimed to observe the effect of inter-recurrent free nerve graft transposition performed after iatrogenic transection of the recurrent laryngeal nerve on the improvement of vocal cord function in rabbits.

Methods: The study consisted of 2 groups as the experimental, and control groups each containing 8 rabbits. The right recurrent nerve was transected both in the control and experiment groups. Inter-recurrent free nerve graft transposition using sural nerve was performed with end-to-side anastomosis in the experimental group whereas in the control group, nerve reconstruction was not performed.

Results: After the 3rd postoperative month, the right vocal cord activity was recorded in the experimental group using videolaryngoscopy (VLS) and intramuscular electromyography (EMG). In contrast to the control group, no vocal cord muscle atrophy was found during light microscopic examination in the rabbits of the experimental group.

Discussion: Inter-recurrent free nerve graft transposition is an acceptable method which can be considered in patients with iatrogenic recurrent nerve transection.

Keywords: End- to- side nerve anastomosis, free nerve graft, laryngeal re-innervation, nerve transposition, recurrent nerve, vocal cord palsy, vocal cord paralysis.

ÖZ

Amaç: Bu deneysel çalışmada, tavşanlarda rekürren laringeal sinirin iyatrojenik kesisini takiben serbest sinir grefti ile interrekürren sinir transpozisyonunun vokal kord fonksiyonlarının iyileşmesi üzerindeki etkisini gözlemlemeyi amaçladık.

Yöntem: Çalışma her biri 8 tavşan içeren deney ve kontrol grubu olmak üzere iki gruptan oluşuyordu. Her iki grupta da sağ rekürren sinir kesildi. Deney grubunda sural sinir kullanılarak interrekürren serbest sinir transpozisyonu uç-yan anastomoz ile yapıldı. Kontrol grubunda ise sinir rekonstrüksiyonu yapılmadı.

Bulgular: Postoperatif üçüncü aydan sonra sağ vokal kord aktivitesi deney grubunda videolaringoskopi (VLS) ve kas içi elektromiyografi (EMG) kullanılarak kaydedildi. Kontrol grubunun aksine deney grubu tavşanlarında ışık mikroskopunda vokal kord kas atrofisi görülmedi.

Sonuç: Inter-rekürren serbest sinir grefti transpozisyonu iyatrojenik rekürren sinir kesisini olan hastalarda kabul edilebilir bir yöntemdir.

Anahtar kelimeler: Uç-yan sinir anastomozu, serbest sinir grefti, laringeal yeniden innervasyon, sinir transpozisyonu, rekürren sinir, vokal kord palsi, vokal kord paralizisi

Alındığı tarih: 04.04.2016

Kabul tarihi: 18.10.2017

Yazışma adresi: Uzm. Dr. Bülent Çalık, 100/1 Sokak No: 32, Kat: 4, Daire: 13, Banu Apt. Göztepe - Konak - 35290 - İzmir - Türkiye
e-mail: calikbulentdr@yahoo.com

INTRODUCTION

One of the complications of thyroid surgery is inadvertent transection of the recurrent nerve. Within the last 25 years, subtotal thyroidectomy has been replaced by total thyroid lobectomy in patients with benign multinodular goiter, Graves' disease, and thyroid cancer. The principal change in the operative technique has been to move from "lateral dissection" to "capsular dissection" ^(1,2). The incidence of recurrent laryngeal nerve injury has been reported as between 1-2% across different thyroid surgery centers. The incidence rates tend to increase when thyroidectomy is performed by less experienced surgeons, or when thyroidectomy is done for recurrent goiters or malignant diseases ⁽³⁻⁶⁾.

Intraoperatively, visualizing the cut nerve is extremely difficult. If seen, the proximal and distal ends may be sutured together. However, if this is not the case, atrophy of the vocal cords is imminent with a high likelihood of requiring tracheostomy particularly in bilateral injuries. Therefore, we aimed to improve vocal cord function by performing inter-recurrent nerve transposition with free nerve grafting, in order to transfer the nerve impulses from the intact stable nerve to the disrupted nerve. If nerve transposition can achieve these results, then vocal cord contraction with breathing, and subsequent respiratory obstruction will not occur.

MATERIAL and METHODS

After obtaining approval from our institutional ethics board (Ege University, Approval No. 2010-83), the experimental and control groups were designed. A total of 16 New Zealand white rabbits (8 per group) were utilized. Intravenous cefazolin (30 mg/kg/day) was injected through peripheral ear vein 30 minutes before operation. The operation was performed under general anesthesia with intramuscular ketamine (90 mg/kg) and xylazine (3 mg/kg) injections. Surgical operation was performed using magnifying glasses under 5x magnification (Look's 5000 model). Rabbits' hair was shaved. Operative area was cleaned by povidone-iodine (10%) solution. Sural

nerves were identified in right hind legs of rabbits. Skin flaps were created after performing a Kocher's collar incision and retracting the pretracheal muscles laterally. The right recurrent laryngeal nerve was identified and transected below the inferior portion of the thyroid gland. In the control group, after nerve transection, muscle layers were closed and the operation was terminated. In the experimental group, after nerve transection, the left recurrent nerve was identified. The proximal end of the free nerve graft was anastomosed to the left recurrent nerve in an end-to-side fashion with 10/0 prolene sutures. The distal end of the free nerve graft was anastomosed to the laryngeal portion of the right recurrent nerve, in an end-to-end fashion, also with 10/0 prolene sutures.

Otorhinolaryngologic examination

Videolaryngoendoscopy was performed under general anesthesia using ketamine injections during spontaneous respirations. All of the rabbits were subjected to a videolaryngoscopic examination to evaluate their cord activity on the first pre-and postoperative days and after the 3rd postoperative month.

Intramuscular EMG examination

All rabbits in the experimental, and the control groups were examined 3 months after the procedure placing a concentric needle electrode at both vocal cords under ketamine anesthesia. The vocal cords were reached through the cricothyroid membrane. After sacrifice of the animal, vocal cord denervation and reinnervation was assessed during electromyography using a Medelec Sapphire 4ME and Medelec Synergy electromyograph. (EMG) Examinations were recorded as video display and EMG tracings. EMG examinations yielded qualitative data.

Histopathologic examination

Samples were fixed in neutral buffered formalin (10% formaldehyde). Following the fixation procedure, the tissue samples were trimmed and processed using standard paraffin-embedding methods. Sections were cut at 4 μ m, and then stained with hematoxylin-eosin. Histopathologic examination of the samples

was carried out using a light microscope, and under magnification (Carl Zeiss Axioscope photomicroscope, Carl Zeiss Axiocam ICc3 3.3 Mp digital camera and Carl Zeiss Axiovision software).

At the end of the study period, animals were sacrificed using intravenous infusion of high dose ketamine (70 mg/kg).

Statistical Analysis

Data analysis was performed by using SPSS for Windows, version 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, United States). Fisher's exact test was used to detect differences between groups based on otorhinolaryngologic, EMG and pathologic examination results. A P value less than <0.05 was considered as statistically significant.

RESULTS

Surgical outcomes

On the 1st postoperative day, all rabbits were active and in good condition. After the 3rd postoperative month, no complications such as wound infections or hematomas were detected before resorting to videoendoscopic and EMG examinations.

Laryngologic outcomes

All rabbits have preoperatively normal bilateral vocal cord activities. However, on the 1st postoperative day, the right vocal cords were fixed both in the experimental and control group rabbits. After the 3rd postoperative month, right vocal cord fixation persisted in the control group rats. On the other hand, all rats in the experimental group had a minimal right cord activity ($p<0.001$).

EMG outcomes

In the experimental group, the EMG recordings of the left vocal muscles were within normal limits in all rabbits of the experimental group. Along with denervation activities on symptomatic right vocal cord muscles, there was motor unit discharges synchronous with respirations. These findings were evaluated in favour of regeneration (Figure 1). Intensive total denervation potentials were observed in symptomatic

right vocal cord muscles in all 8 rabbits of the control group. There was no motor unit activity synchronous with respirations in any of these muscles (Figure 2). However, normal motor unit activities synchronous with respiration were observed in the left vocal muscles both in the experimental and control groups ($p<0.001$).

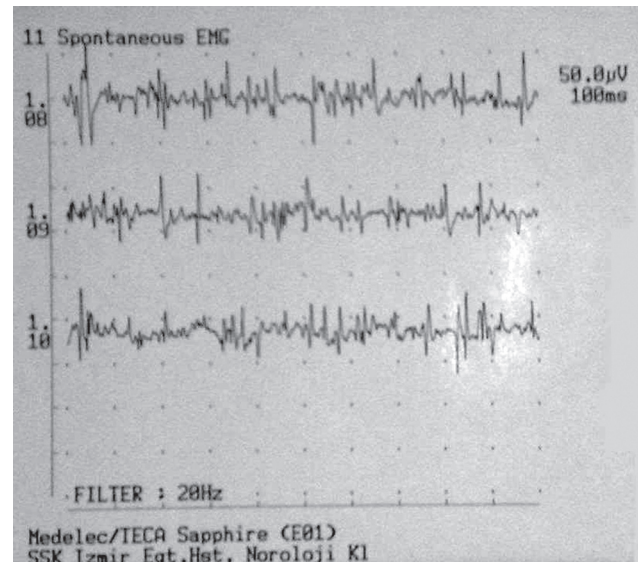


Figure 1. The EMG findings of the vocal cord muscles in the experimental group which show the postoperative regeneration potential.

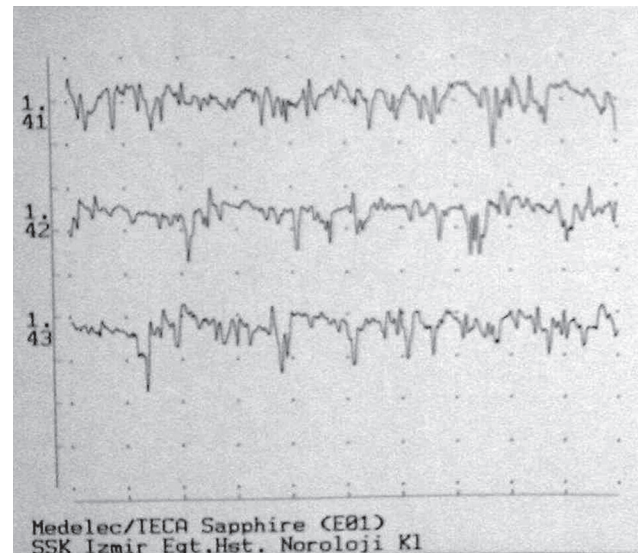


Figure 2. Total denervation in vocal cord muscles of the control group was detected by EMG.

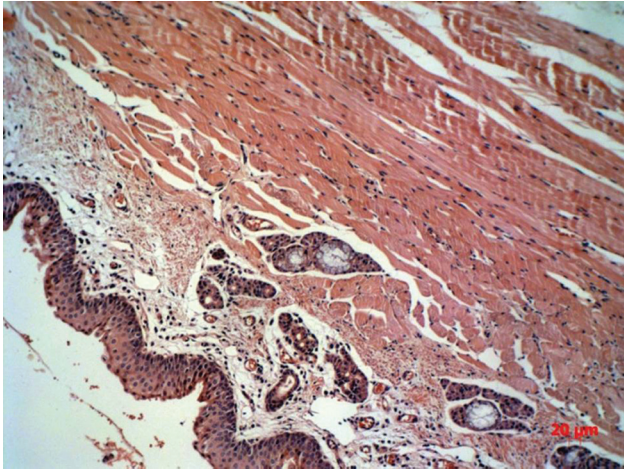


Figure 3. No muscular atrophy is detected in the experimental group (HE X 100).

Pathologic Outcomes

Both in the experimental and control groups, no atrophy was detected in the left hemilarynx. No right vocal cord muscle atrophy was detected in the rabbits of the experimental group (Figure 3), whereas in all cases of the control group, atrophy was seen in the right hemilarynx (Figure 4), (Table 1), ($p < 0.001$).

Table 1. Comparison of the experimental group with the control group.

Variables	Control Group	Experimental Group	P value
Laryngoscopy			
Vocal cord movement	-	8 (100%)	<0.001
No vocal cord movement	8 (100%)	-	
EMG			
Nerve denervation	8 (100%)	-	<0.001
Nerve regeneration	-	8 (100%)	
Pathologic examination of the larynx			
Presence of atrophy	8 (100%)	-	<0.001
No atrophy	-	8 (100%)	

EMG: Electromyography

DISCUSSION

Recurrent nerve transection is characterized by a loss of vocal cord movement, a forward-tilted arytenoid cartilage, and bowing of the vocal cord due to loss of muscle tone⁽⁷⁾. One of the approaches to treat

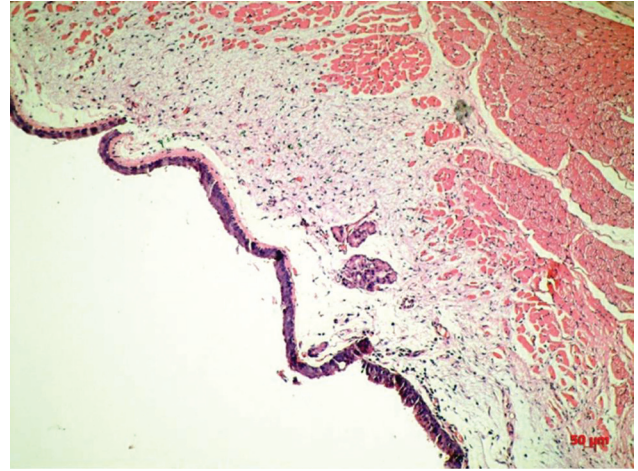


Figure 4. Muscular atrophy is observed in the control group (HE X 50).

this complication is laryngeal reinnervation. Laryngeal reinnervation refers to any method that seeks to reestablish neural pathways to the vocal cord which includes use of nerve-muscle pedicle, muscle-nerve-muscle pedicle, and donor nerve-recurrent laryngeal nerve (RLN) anastomosis⁽⁸⁻¹⁰⁾.

End-to-end microsurgical neurotaphy has become the standard approach for the repair of peripheral nerve injuries. However, when the proximal stump is unavailable, or when autogenous donor nerve is not of adequate length, then, this method becomes unsuitable⁽¹¹⁾.

Animal experiments and clinical trials have shown that end-to-side repair of transected nerves may result in functional motor re-innervation through the collateral sprouting of axons. Even partial recovery of sensory function after surgically created end-to-side nerve anastomosis has been reported. The advantage of the end-to-side neurotaphy is that nerve function of the recipient nerve can be restored, while avoiding damage to the donor nerve⁽¹²⁻¹⁶⁾.

Bontioti et al.⁽¹⁷⁾ have investigated the factors effective on the mechanism of action of end-to-side nerve repair, and suggested three basic mechanisms: 1. contamination from axons regenerating from the proximal stump of the recipient nerve, 2. true collateral sprouting from healthy fibers of the donor nerve and 3. "terminal sprouting" also called, true axonal regeneration from damaged fibers of the donor nerve.

Collateral sprouting from healthy fibers does not need the induction from donor nerve trauma, but simple coaptation with the chemical call from the degenerated distal stump and from the distal effector is capable to induce axonal ingrowth from the healthy fibers of the donor nerve trunk. Contamination can sometimes result in a neuroma which should be taken into account. It does not require the donor nerve damage collateral sprouting from wholesome nerve fibers: simple coaptation with the chemical call from the degenerated distal stump and from the distal effector is capable to induce axonal ingrowth from the healthy fibers of the donor nerve trunk. The third mechanism involves trauma to the donor nerve: terminal sprouting can be produced either opening a window in the nerve trunk connective tissue, or passing classical suture stitches through/around^(17,18).

The only real functioning abductor muscle of the vocal cords is the posterior cricoarytenoid muscle. The recurrent laryngeal nerve innervates all of the intrinsic muscles of the larynx, except the cricothyroid muscle⁽¹⁹⁾. Recurrent nerve transection is a serious complication, as it leads to vocal cord paralysis, and the ipsilateral vocal cord remains fixed in the paramedian position⁽²⁰⁾. The vocal cords should be evaluated preoperatively in order to determine whether vocal cord paralysis is already present. Furthermore, the recurrent laryngeal nerve should be routinely identified during thyroidectomy or parathyroidectomy.

During thyroidectomy, it becomes difficult to identify the recurrent nerve when all arteries and veins are transected. The surgeon should be alerted for possible iatrogenic injury to the recurrent nerve if there is no lumen identified in one of these transected structures. In the previous animal study by Engin et al.⁽²¹⁾ an end-to-end anastomosis was performed between the phrenic and recurrent laryngeal nerves, and the vocal cord function was demonstrated with videolaryngoendoscopy and laryngeal EMG, with an up to 90% success rate. Despite these results, this operation is not recommended in elderly patients particularly in those with compromised respiratory function. However, the present nerve transposition experiment was designed to be used in such cases. We created a

model of unilateral recurrent nerve paralysis with contour lateral recurrent stimuli directed to vocal cords via nerve transposition. Stimulation of the vocal cords induced reinnervation of denervated muscles, and they regained their respiratory function. The sural nerve is used because of its functionality as free nerve graft. Although, not identified on the first postoperative day, vocal cord activity and reinnervation potentials were detected on EMG after 3 months with a success rate of 100% without subsequent laryngeal atrophy. Following recurrent nerve transection, nerve transposition successfully restored laryngeal function in rabbits.

CONCLUSION

In conclusion, inter-recurrent nerve anastomosis with free nerve grafting can be considered in patients with unilateral recurrent nerve transection injury, particularly, when the complications of tracheostomy and the quality of life are taken into consideration.

Conflicts of interest

The authors have no conflicts of interest to declare.

Financial Disclosure: The authors state that all financial and material support for this research and work was provided by their own means without any additional financial contribution.

REFERENCES

1. Zheng S, Xu Z, Wei Y, Zeng M, He J. Effect of intraoperative neuromonitoring on recurrent laryngeal nerve palsy rates after thyroid surgery-A meta-analysis. *J Formos Med Assoc* 2013;112:463-72. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2012.03.003>
2. Delbridge L. Total thyroidectomy: the evolution of surgical technique. *ANZ J Surg* 2003;73:761-8. <https://doi.org/10.1046/j.1445-2197.2003.02756.x>
3. Efremidou EI, Papageorgiou MS, Liratzopoulos N, Manolas KJ. The efficacy and safety of total thyroidectomy in the management of benign thyroid disease: a review of 932 cases. *Can J Surg* 2009;52:39-44.
4. Mishra A, Agarwal G, Agarwal A, Mishra SK. Safety and efficacy of total thyroidectomy in hands of endocrine surgery trainees. *Am J Surg* 1999;178:377-80. [https://doi.org/10.1016/S0002-9610\(99\)00196-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9610(99)00196-8)
5. Netterville JL, Aly A, Ossoff RH. Evaluation and treatment of complications of thyroid and parathyroid surgery. *Otolaryngol Clin North Am* 1990;23:529-52.
6. Snyder SK, Lairmore TC, Hendricks JC, Roberts JW.

- Elucidating mechanisms of recurrent laryngeal nerve injury during thyroidectomy and parathyroidectomy. *J Am Coll Surg* 2008;206:123-30.
<https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2007.07.017>
7. Lee WT, Milstein C, Hicks D, Akst LM, Esclamado RM. Results of ansa to recurrent laryngeal nerve reinnervation. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 2007;136:450-4.
<https://doi.org/10.1016/j.otohns.2006.11.040>
 8. Marina MB, Marie JP, Birchall MA. Laryngeal reinnervation for bilateral vocal fold paralysis. *Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery* 2011;19:434-8.
<https://doi.org/10.1097/MOO.0b013e32834c7d30>
 9. Paniello RC. Laryngeal reinnervation. *Otolaryngol Clin N Am* 2004;37:161-81.
[https://doi.org/10.1016/S0030-6665\(03\)00164-6](https://doi.org/10.1016/S0030-6665(03)00164-6)
 10. Lorenz RR, Esclamado RM, Teker AM, Strome M, Scharpf J, Hicks D, Milstein C, Lee WT. Ansa Cervicalis-to-Recurrent Laryngeal Nerve Anastomosis for Unilateral Vocal Fold Paralysis: Experience of a Single Institution. *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology* 2008;117:40-5.
<https://doi.org/10.1177/000348940811700109>
 11. Kim BS, Choy WS, Chung MS, Baek GH. Modified End-to-Side Neuroorrhaphy Enhances Axonal Sprouting: A Motor Functional and Morphological Study. *Orthopedics* 2007;30:853-8.
 12. Bontioti E, Kanje M, Lundborg G, Dahlin LB. End-to-side nerve repair in the upper extremity of rat. *Journal of the Peripheral Nervous System* 2005;10:58-68.
<https://doi.org/10.1111/j.1085-9489.2005.10109.x>
 13. Bontioti E, Dahlin LB, Kataoka K, Kanje M. End-to-side nerve repair induces nuclear translocation of activating transcription factor 3. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2006;0:321-8.
<https://doi.org/10.1080/02844310600999956>
 14. Xiong G, Ling L, Nakamura R, Sugiura Y. Retrograde tracing and electrophysiological findings of collateral sprouting after end-to-side neuroorrhaphy. *Hand Surgery* 2003;8:145-50.
<https://doi.org/10.1142/S0218810403001637>
 15. Rebol J, Milojkovic V, Didanovic V. Side-to-end hypoglossal-facial anastomosis via transposition of the intratemporal facial nerve. *Acta Neurochir (Wien)* 2006;148:653-7.
<https://doi.org/10.1007/s00701-006-0736-2>
 16. Colonna M, Russo A, Galeano M, Delia G, Pajardi G, d'Alcontres FS. "Baby sitting" procedures in proximal nerve trunk injuries: A review of graft bridging techniques at the level of forearm and a personal approach. *Plast Aesth Res. In Press*. 2016.
 17. Bontioti E, Dahlin LB. Mechanisms underlying the end-to-side nerve regeneration. *Int Rev Neurobiol* 2009;87:251-268.
[https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(09\)87012-8](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(09)87012-8)
 18. Wood MD, Mackinnon SE. Pathways regulating modality-specific axonal regeneration in peripheral nerve. *Exp Neurol* 2015;265:171-175.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.02.001>
 19. Jacobs IN, DelGaudio JM, Colborn GL, Weidman TA, Skandalakis JE. Larynx. In: Skandalakis JE (ed) *Surgical anatomy*. PMP Ltd, Athens, 2004: 229-63.
 20. Rossi RL, Cady B. *Surgical anatomy*. In: Cady B, Rossi RL (eds) *Surgery of the thyroid and parathyroid glands*, 3rd ed. WB Saunders Company, Philadelphia, 1991: 13-30.
 21. Engin O, Ipekci F, Yildirim M, Kulan A, Yagci A, Dalgic A, Calik B. Phrenic-Recurrent Nerve Anastomosis in Animal Models with Unilateral Cutting of the Recurrent Nerve. *Indian J Surg* 2010;72:362-6.
<https://doi.org/10.1007/s12262-010-0196-z>

The importance of the M470V polymorphism

M470V polimorfizminin önemi

Tanju ÇELİK¹, Ramazan GÜNEŞAÇAR², Ali BALCF³, Sule ÜNAL⁴, Güliz ALDİC¹, Harika ESKİCİ⁴, Nigar ATILGAN¹, Sibel ELMACIOĞLU¹, Murat TUTANC¹, Demet CAN⁵

¹Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Hatay

²Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi, Genetik Bilim Dalı, Kahramanmaraş

³Dokuz Eylül University, Tıp Fakültesi, Radyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

⁴Antakya Devlet Hastanesi, Hatay

⁵Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Allerji ve Solunum Kliniği, İzmir

ABSTRACT

Objective: Several hundreds of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) variants have been reported, however it is not known whether which one of them was causing the disease of cystic fibrosis (CF) or not. Information about CFTR genes carrying the M470 or the V470 allele are interesting. In this study, we aimed to investigate the clinical importance of M470V mutation in Antiochia region.

Methods: A case- control study consisted of 145 children from whom CF gene study was requested because of recurrent respiratory tract infections, growth failure, chronic diarrhea and constipation. The parameters of patients with positive mutation were compared with negative ones as for gender, age, height, weight, annual number of upper and lower respiratory tract infections, parental consanguinity, sibling death, clinical and laboratory parameters.

Results: In 63 of 145 patients (43.4%), heterozygous mutation, in 16 (11%) of them homozygous mutation was detected. All of the patients with mutation group had M470V mutation. The sweat test results of all patients were within normal limits. Mean age of those patients were 41.21±39.8 (min: 6 max: 192) months and 30 (38%) of them were girls. Thirty percent of the patients with mutation (n=17.7) had a familial history of cystic fibrosis, 2 a history of sibling death. In the mutation group, only annual number of infections, skin dryness, loss of weight, level of IgG and IgM were significantly higher (p<0.05).

Conclusion: It was concluded that in M470V positive cases, the disease may cause clinical symptoms without affecting sweat test results, with less gastrointestinal but more respiratory symptoms, causing a more prominent loss of weight.

Keywords: Child, cystic fibrosis, M470V

ÖZ

Amaç: Kistik fibroz transmembran regülatör (CFTR) geni ile ilgili yüzlerce varyant bildirilmesine karşın, hangisinin kistik fibrozis (CF) hastalığına yol açtığı bilinmemektedir. CFTR geninin M470 ve V470 alelleri ile ilgili bilgiler ilgi çekicidir. Bu çalışmada, Antakya bölgesinde M470V mutasyonunun klinik önemi araştırılmıştır.

Yöntem: Çalışmaya, yineleyen solunum yolu enfeksiyonları, büyüme geriliği, kronik diare ya da konstipasyon nedeniyle CF genetik analizi istenen 145 çocuk alınmıştır. Genetik mutasyonu pozitif ve negatif hastalar cins, boy, kilo, yıllık üst ve alt solunum yolu enfeksiyon sayısı, akraba evliliği, kardeş ölümü, klinik ve laboratuvar parametreleri yönünden karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Yüz kırk beş hastanın 63'ünde (%43,4) heterozigot, 16'sında (%11) homozigot mutasyon saptanmıştır. Mutasyon saptanan hastaların tümünde M470V mutasyonu vardır. Tüm hastaların ter testleri normal sınırlarda bulunmuştur. Hastaların ortalama yaşı 41,21±39,8 (min: 6 max: 192) ay olup, 30'u (%38) kızdır. Mutasyon saptanan hastaların 17,7'sinde (%32) ailede CF öyküsü, 2'sinde kardeş ölümü öyküsü vardır. Yıllık enfeksiyon sayısı, deri kuruluğu, kilo kaybı, IgG ve IgM düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0,05).

Sonuç: M470V mutasyonunun ter testi sonuçlarını etkilemeden daha sık solunum daha nadir gastrointestinal sistem olmak üzere CF klinik semptomlarına ve belirgin kilo kaybına neden olduğu düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Çocuk, kistik fibrozis, M470V

Alındığı tarih: 07.02.2017

Kabul tarihi: 26.04.2017

Yazışma adresi: Prof. Dr. Demet Can, Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Allerji ve Solunum Kliniği, İzmir

e-mail: ddcan15@hotmail.com

INTRODUCTION

Cystic fibrosis (CS) is a terminal disease characterized with dark, sticky mucus secretion from the exocrine glands showing autosomal recessive inheritance ⁽¹⁾. The gene causing the disease is localized on the 7th chromosome. The spread mutation detected in CF is $\Delta F508$ and over 1500 mutations have been determined ^(2,3).

Several hundreds of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) variants have been reported, it is not known whether they are causing CF or not. One of "CFTR mutations which were associated with polymorphisms" is M470. The most interesting finding about the different patterns was CFTR genes carrying the M470 or the V470 allele. M470 and the combined V frequency are seen in the sub-Saharan Africa. Although there was polymorphism, M470V may cause clinical issues, such as congenital bilateral absence of the vas deferens in Chinese males ^(2,4,5).

The carrier rate of CF in the white race is stated as 1/25 and the incidence of live birth as 1/2500-3000. The frequency of the disease show significant differences between ethnical groups and countries due to the autosomal recessive inheritance because of consanguineous marriage, ^(1,5-7). In this study, we aimed to investigate the clinical importance of M470V mutation in the Antiochia region (ancient commercial center and capital of Syria; an early center of Christianity) a region with frequent consanguineous marriages due to ethnical reasons.

MATERIALS and METHODS

The study was designed as a case-control study. The study group (mutation positive group) consisted of 79 children with mutations out of 145 children who had undergone CF gene study because of recurrent respiratory tract infections, growth failure, chronic diarrhea and constipation.

Genetic analysis

DNA was isolated from whole blood samples in EDTA using a commercially available DNA extracti-

on kit (RTA Lab, Ltd., Sti, Turkey). PCR amplification of exons 7, 10 and 11 in the cystic fibrosis conductance transmembrane regulator (CFTR) gene was performed using gene specific primers. Each primer was used to perform both genomic DNA amplification and sequencing reactions. PCR was performed using a total volume of 25 μ l, containing 100 ng of genomic DNA, 12.5 μ l of 2x reaction buffer (GML SeqFinder Sequencing System, Switzerland), 5 pmol of each primer. After an initial denaturation step at 95°C for 10 mins, samples were subjected to 35 cycles of PCR at 95°C for 30secs at 59°C for 90secs, and at 72°C for 60secs with a final extension step at 72°C for 7 mins. Amplified products were verified by electrophoresis using 2% agarose gel and also cycle-sequencing reactions were performed in both forward and reverse directions in terminator ready reaction mixture containing Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA) and submitted to 25 cycles at 96°C for 10secs, 50°C for 5secs, 60°C for 4 mins. After the purification of cycle sequencing products, 5 μ l of marked and purified DNA were analysed by capillary electrophoresis on an ABI PRISM 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems, Forster city, CA, USA). The mutation was confirmed via sequencing of the anti-sense DNA strand, which was performed twice.

Study design

The cases were separated into 2 groups as mutation negative and mutation positive according to their gene mutation results. The admission complaints of the cases were evaluated based on physical examination and laboratory findings.

Gender, age, height, weight, history of meconium ileus, prolonged neonatal jaundice, skin findings, annual number of upper and lower respiratory tract infections, parental consanguinity, sibling death, sibling with cystic fibrosis, family history of chronic constipation, acute pancreatitis were recorded. Physical examination findings such as nasal polyps, chronic sinusitis, complete blood count, routine biochemistry, serum levels of immunoglobulins, sweat test results, fecal fat, chest X ray and sinus radiology findings were recorded.

Statistical analyses

Mean, median, standard deviation (SD) and range were computed for each domain of the CF in this reference population. Kolmogorov-Smirnov tests were used to test whether the CF domain scores showed a normal distribution. Analyses were separately performed for mutation groups. The Mann-Whitney test, chi-square tests, logistic regressions were used to assess potential differences between genders, analyses and different age-groups. Data were analyzed with SPSS version 15.0.

RESULTS

In 63 of 145 patients (%43.4), heterozygous, and in 16 (%11) cases homozygous mutations were detected. A total of 79 patients had M470V mutations. Mean age of those patients was 41.21 ± 39.8 (min: 6 max: 192) months and 30 (%38) were girls and 49 (%62) were boys. Seventeen (32.7%) patients with mutation, and 5 (18.5%) with negative mutation had a familial history of cystic fibrosis. There is no statistically significant difference between them ($p < 0.05$). Siblings of 2 patients with mutation were dead.

The recurrent respiratory tract infections (adenoiditis, tonsillitis, sinusitis, bronchitis and bronchopneumonia) of the cases were questioned. In the mutation group, only annual number of infections were significantly higher ($p < 0.01$). There were respiratory tract complaints in 56 (70.9%), gastrointestinal in 11 (13.9%) and both respiratory and gastrointestinal system complaints and findings in 12 (15.2%) cases.

When evaluated according to the gastrointestinal symptoms, past history of meconium ileus and neonatal jaundice stories was not significant in both groups. None of the cases were receiving pancreatic enzyme and enteric nutrition support. There was no significant difference between the two groups as for past history of chronic constipation and diarrhea.

When the cases were separated into groups according to their height percentiles, the patients were under 3. percentile ($n=17$, 21.5%) or within 3. and 10. percentiles ($n=28$; 35.4%), and short stature was detected in a total of 45 cases (57%). Besides body

weights of the patients were under 3. percentile ($n=13$; 16.5%) or within 3. and 10. percentiles ($n=26$; 32.9%) and a total of 39 (49.4%) cases were detected. The patients with mutation had significantly low weight percentiles. Even though their height percentiles were lower, intergroup differences were statistically significant ($p > 0.05$). Skin dryness was statistically significantly more frequent in mutation positive cases ($p < 0.01$).

The sweat test results of all patients were within the normal limits. Chlorine levels in both groups were detected to be less than 60 mmol/L.

Hemoglobin values of the whole group was detected as 11.43 ± 1.1 (min: 8,6 max:14) mg/dl, white blood cell count as $11 \pm 3.9 \times 10^3/\mu\text{l}$ (min: 5.1 $10^3/\mu\text{l}$, and max: 25.2 $10^3/\mu\text{l}$), platelet count as $400 \pm 116.4 \times 10^3/\mu\text{l}$ (min: 198 $\times 10^3/\mu\text{l}$ max: 726 $\times 10^3/\mu\text{l}$).

When we compared groups according to age, gender, white blood, hemoglobin, platelet, level of serum Ig E and Ig A results, there were no significant differences among groups. In mutation group, level of serum IgG and IgM were significantly higher ($p < 0.05$) (Table 1). In the mutation group the number of children with low weight, IgA deficiency and IgE excess was statistically significantly lower when compared with those without mutation ($p < 0.05$), ($p < 0.01$) (Table 2).

Table 1. The clinical and laboratory characteristics of cases with respect to mutation groups.

	Mutation (+) Group (n:52) Mean$\pm$SD	Mutation (-) Group (n:27) Mean$\pm$SD	p value
Male	23	7	0.09
Female	29	20	
Age (months)	38 ± 36	45 ± 45	0.4
Hemoglobin	10.3 ± 1	11.5 ± 1	0.4
WBC	10.9 ± 3.9	11 ± 3.7	0.9
PLT	400 ± 13	396 ± 86	0.8
Ig A	105 ± 67	80 ± 47	0.058
Ig G	884 ± 27	698 ± 27	0.04
IgM	103 ± 33	88 ± 26	0.02
IgE	179 ± 25	174 ± 28	0.9

Average serum glucose values in the cases with low height and weight percentiles were detected to be significantly low in both groups ($p < 0.05$). However, hypoglycemia or hyperglycemia was not detected.

Table 1. The clinical and laboratory characteristics of cases with respect to mutation groups.

Properties	Mutation (+) Group n (%)	Mutation (-) Group n (%)	Total n	P value
Short stature	33 (73.3)	12 (26.7)	45	0.08
Low weight	30 (76.9)	9 (23.1)	39	0.03
Ig A deficiency	33 (58.9)	23 (41.1)	56	0.04
Ig G deficiency	0 (0)	1 (100)	1	0.3
IgM deficiency	0 (0)	1 (100)	1	0.3
High IgE values	30 (85.7)	4 (14.3)	35	0.001

The glucose, SGPT, SGPT, BUN, creatinine, GGT, protein, albumin, sodium, potassium, chlorine, calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, total bilirubin and direct bilirubin values checked in all of the cases were detected to be within the normal reference values in both groups.

Fecal fat was checked in the stool of all patients and fat in the stool of 5 (9.6%) mutation positive cases were detected.

Abdominal USG was done on all patients, fullness and gall sludge in gall bladder was detected in 2 mutation positive cases.

DISCUSSION

Cystic fibrosis is caused by mutations in the CFTR (ABCC7) gene. The most common mutation is $\Delta F508\text{del}$, which accounts for approximately two thirds of all CFTR alleles in patients with CF, with a decreasing prevalence from Northwest to Southeast Europe. The remaining third of alleles are substantially heterogeneous, with fewer than 20 mutations occurring at a worldwide frequency of more than 0.1%. Some mutations can reach a higher frequency in certain populations, due to a founder effect in religious, ethnic or geographical isolates ^(8,9).

In a study carried out in the European community, 1700 gene mutations were checked and a total of 80 different variations, 61 of which were previously detected. Three important CFTR haplotypes were known as poly-T, TG-repeats and the M470V polymorphisms. M470V polymorphism was studied in the sub-Saharan region and very high incidence rates were detected. It was stated that V allele may be sourced

outside of Africa and may be from Europe or Asia ^(9,10). M470 genes are the ancestral genes ^(11,12). In our study, no mutations other than M470V gene mutations were detected. M470 gene mutation may be frequently detected because our region was known as Mesopotamia in the ancient times and was a part of the old world. Our region including Antioch (Antakya) which was the capital of Syrian province of Eastern Roman Empire may be effective in detection of the V allele which is known to be sourced from Europe or Asia.

CFTR mutations vary in their frequency and distribution in different populations. Very few mutations have a worldwide frequency above 0.1%, but some can reach high prevalence in selected populations ⁽¹³⁾. Thus Antioch region which is a region with frequent consanguineous marriages due to ethnical reasons was chosen.

Sweat chlorine test is still the golden standard in diagnosis of cystic fibrosis. Typical clinical findings and sweat test results support the diagnosis in the cases with cystic fibrosis. Genetic mutation detection is an important method which may affect the future life of the patient. Furthermore, polymorphism adds to the severity of the disease ^(14,15). In our study, polymorphism was detected in 54.4% of the patients while no patient had positive sweat test.

Mutation analysis may be used for making a diagnosis of CF in individuals with a consistent clinical picture. CFTR mutations may: A. cause CF; B. be associated with CFTR-related disorders; C. have no clinical consequences; D. have unknown or uncertain clinical relevance.

M470V mutations were also added to the group without clinical symptoms. However, it is stated that pathogenic potentials of most mutations are not determined, mutation analysis will not end the contradiction and the clinician should act according to the clinical findings of the patient ^(9,16,17). The children with M470V mutation detected in our study having clinical findings related to the disease support this view.

CF phenotype is affected from environmental factors and other genetic factors besides genotype. When homozygote and heterozygote classification of

the patients was performed, a picture that changes from light lung diseases to serious severe lung diseases can be seen because the same classification can include different mutations. Similarly, it may come with chronic pancreatitis or repeating acute pancreatitis, sclerosing cholangitis or it may not give any symptoms^(18,19).

If there is 0-1 gene mutation positivity was detected at the time of diagnosis and during follow up of CF, there should be clinical and laboratory information exchange and their results should be especially considered together with the family characteristics of the patient, ethnical characteristics, frequency and test results shall be evaluated and followed as a whole. If there is suspicion, rare mutations shall be scanned in terms of carriership⁽¹⁶⁾. Case-control group with 0-1 gene mutation cases were included in this study. Even though definite limits cannot be shown, a patient profile with normal sweat test, characterized with frequently repeating infections and respiratory system involvement being in the forefront appeared.

The studies carried out have stated that the M470V mutation usually doesn't cause clinical findings^(20,21). However, M470V may cause clinical issues, such as congenital bilateral absence of the vas deferens in Asian males^(4,22). Also Kutuk et al.⁽²³⁾ reported a case with jejunoileal atresia which is an intestinal sign of CF from Kayseri, Turkey. In our study, we would like to emphasize that especially the upper respiratory tract infections are seen more commonly in these cases. Another study (Algerian cystic fibrosis families) detected 1609delCA and the M470V polymorphisms in a child with severe CF findings⁽²⁴⁾.

A study conducted in England and Wales regions retrospectively examined the records of the patients who died because of CF between the years of 1959 and 2008. It was stated that the male patients and the patients with high socio-economic level die sooner⁽²⁵⁾. Due to the fact that pediatric cases were included in this study and that there were no severe cases, we didn't have any existed cases during the 1 year of observation period.

CONCLUSION

M470V positive cases were detected as a result of the genetic analysis carried out with CF suspicion in an ethnical region. The disease may cause clinical symptoms without affecting sweat test results, with less gastrointestinal but more respiratory symptoms, causing a more prominent loss of weight, and higher levels of immunoglobulin due to more frequent infections. As a result, this study which was performed in a closed society implicated the importance of M470V polymorphism in CF.

Competing interests

The authors have not declared any competing interests.

Author's contributions

TÇ, RG and SU performed the statistical analysis and wrote the manuscript. NA was the main supervisor and designed the study together with TÇ. HE AB, GA DC and TÇ collected the data and drafted the manuscript. NA guided the statistical, laboratory analyses and study protocol. All other authors are involved in optimization of the study protocol, supervision of data collection, writing of the manuscript and critically revising it for important intellectual content. All authors have read and approved the final manuscript and declare that they have nothing to declare.

Acknowledgement

The authors would like to thank all the children, adolescents and their families for their cooperation.

Role of funding

The authors have declared that they had not received any financial support.

REFERENCES

1. Cialdella P, Carella F. Hypervitaminosis D: case report of pediatric osteoporosis secondary to cystic fibrosis. *Clin Cases Miner Bone Metab* 2011;8(3):66-8.
2. Hoelen H, Kleizen B, Schmidt A, Richardson J, Charitou P, et al. The Primary Folding Defect and Rescue of $\Delta F508$ CFTR Emerge during Translation of the Mutant Domain.

- PLoS ONE* 2010;5(11):e15458.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015458
3. Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration* 2000;67:117-33.
https://doi.org/10.1159/000029497
 4. Ni WH, Jiang L, Fei QJ, Jin JY, Yang X, Huang XF. The CFTR polymorphisms poly-T, TG-repeats and M470V in Chinese males with congenital bilateral absence of the vas deferens. *Asian J Androl* 2012;14(5):687-90.
https://doi.org/10.1038/aja.2012.43
 5. Mueller C, Flotte TR. Gene therapy for cystic fibrosis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2008;35:164-178.
https://doi.org/10.1007/s12016-008-8080-3
 6. Rowntree RK, Harris A. The phenotypic consequences of CFTR mutations. *Ann Hum Genet* 2003;67:471-485.
https://doi.org/10.1046/j.1469-1809.2003.00028.x
 7. Riordan JR. CFTR function and prospects for therapy. *Annu Rev Biochem* 2008;77:701-726.
https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.75.103004.142532
 8. Castellani C, Cuppens H, Macek M Jr, Cassiman JJ, Kerem E, et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros* 2008;7(3):179-96.
https://doi.org/10.1016/j.jcf.2008.03.009
 9. Pompei F, Ciminelli BM, Bombieri C, Ciccacci C, Koudova M, Giorgi S. Haplotype block structure study of the CFTR gene. Most variants are associated with the M470 allele in several European populations. *Eur J Hum Genet* 2006;14(1):85-93.
 10. Huang Q, Ding W, Wei MX. Comparative analysis of common CFTR polymorphisms poly-T, TG-repeats and M470V in a healthy Chinese population. *World J Gastroenterol* 2008;14(12):1925-30.
https://doi.org/10.3748/wjg.14.1925
 11. Tucker SJ, Tannahill D, Higgins CF. Identification and developmental expression of the *Xenopus laevis* cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Hum Mol Genet* 1992;1:77-82.
https://doi.org/10.1093/hmg/1.2.77
 12. Wine JJ, Glavac D, Hurlock G. Genomic DNA sequence of Rhesus (*M. mulatta*) cystic fibrosis (CFTR) gene. *Mamm Genome* 1998;9:301-305.
https://doi.org/10.1007/s003359900753
 13. Macek M Jr, Mackova A, Hamosh A, Hilman BC, Selden RF, et al. Identification of common cystic fibrosis mutations in African-Americans with cystic fibrosis increases the detection rate to 75%. *Am J Hum Genet* 1997;60:1122-1127.
 14. Groman JD, Hefferon TW, Casals T, Bassas L, Estivill X, et al. Variation in a repeat sequence determines whether a common variant of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene is pathogenic or benign. *Am J Hum Genet* 2004; 74:176-179.
https://doi.org/10.1086/381001
 15. Chillon M, Casals T, Mercier B, Bassas L, Lissens W, et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med* 1995;332:1475-1480.
https://doi.org/10.1056/NEJM199506013322204
 16. Dequeker E, Stuhmann M, Morris MA, Casals T, Castellani C, et al. Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders--updated European recommendations. *Eur J Hum Genet* 2009;17(1):51-65.
https://doi.org/10.1038/ejhg.2008.136
 17. De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, et al. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax* 2006;61:627-635.
https://doi.org/10.1136/thx.2005.043539
 18. Girodon E, Sternberg D, Chazouilleres O, Cazeneuve C, Huot D, et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene defects in patients with primary sclerosing cholangitis. *J Hepatol* 2002;37:192-197.
https://doi.org/10.1016/S0168-8278(02)00161-7
 19. Corleto VD, Gambardella S, Gullotta F, D'Apice MR, Piciocchi M, et al. New PRSS1 and common CFTR mutations in a child with acute recurrent pancreatitis, could be considered an "Hereditary" form of pancreatitis? *BMC Gastroenterol* 2010;10:119.
https://doi.org/10.1186/1471-230X-10-119
 20. Ratjen F, Döring G. Cystic fibrosis. *Lancet* 2003;361(9358):681-9.
https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12567-6
 21. Bombieri C, Giorgi S, Carles S, de Cid R, Belpinati F, et al. A new approach for identifying non-pathogenic mutations. An analysis of the cystic fibrosis transmembrane regulator gene in normal individuals. *Hum Genet* 2000;106(2):172-8.
https://doi.org/10.1007/s004390051025
 22. Radpour R, Gourabi H, Gilani MA, Dizaj AV, Rezaee M, Mollamohamadi S. Two novel missense and one novel non-sense CFTR mutations in Iranian males with congenital bilateral absence of the vas deferens. *Mol Hum Reprod* 2006;12(11):717-21.
https://doi.org/10.1093/molehr/gal077
 23. Kutuk MS, Balta B, Doganay S, Guzel M, Ozgun MT. Prenatal diagnosis of intestinal volvulus in a foetus with homozygous M470V cystic fibrosis gene polymorphism. *J Obstet Gynaecol* 2015;35:522-5.
https://doi.org/10.3109/01443615.2014.979779
 24. Loumi O, Cuppens H, Bakour R, Benabadji M, Baghrich M, et al. An Algerian child homozygous for the M470V polymorphism and for a deletion of two nucleotides in exon 10 of the CFTR gene, shows severe cystic fibrosis symptoms. *Genet Couns* 1992;3(4):205-7.
 25. Barr HL, Britton J, Smyth AR, Fogarty AW. Association between socioeconomic status, sex, and age at death from cystic fibrosis in England and Wales (1959 to 2008): cross sectional study. *BMJ* 2011;343:d4662.
https://doi.org/10.1136/bmj.d4662

Evaluation of the effectiveness of two different methods for the prevention of microbial colonization in nebulizers: Randomised controlled trial

Nebulizerlerde mikrobiyal kolonizasyonun önlenmesi için iki farklı yöntemin etkinliğinin değerlendirilmesi: Randomize kontrollü çalışma

Bengü ÇETİNKAYA, Sibel Serap CEYLAN

Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği Ana Bilim Dalı, Denizli

ABSTRACT

Objective: In this study two different methods were used to prevent microbial colonization of nebulizer elements and the results were evaluated.

Methods: The study was conducted as a randomized controlled semi-experimental study. The data were collected at the pediatrics department of a hospital in the city in western Turkey. A total of 120 pediatric patient using nebulizer treatment at least twice daily and their mothers were included in the study. The pediatric patients were divided into 3 groups. In one group no intervention was made (control group). In another group, nebulizer masks and sets were changed once every 24 hours. In the third group, masks were washed once daily in soap and water. In all groups swab samples were taken every 24 hours and examined under laboratory conditions.

Results: Results showed that there was 10.8% microbial growth in the control group and 2.5% microbial growth in the 24-hour change group. No growth was detected in the wash group.

Conclusion: As a result of this study, it is recommended that nebulizer elements are washed once daily with soap and water and dried on a clean towel in order to prevent contamination.

Keywords: Inhalation, nebulizers, disinfection, pediatrics

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada, nebulizatör parçalarında mikrobiyal kolonizasyonu önlemek için iki farklı yöntem uygulanmış ve sonuçları değerlendirilmiştir.

Yöntem: Çalışma yarı deneysel randomize kontrollü bir çalışmadır. Çalışma verileri Türkiye'nin batısında bulunan bir şehirdeki hastanelerin çocuk sağlığı ve hastalıkları kliniklerinde toplanmıştır. Çalışma kapsamına günde en az 2 kez nebul tedavisi alan 120 çocuk hasta ve annesi dahil edilmiştir. Araştırma kapsamına alınan çocuklar 3 gruba ayrılmıştır. Bir gruba girişim uygulanmamıştır (kontrol grubu). Bir grubun nebul maskeleri ve setleri 24 saatte bir değiştirilmiştir. Bir grubun maskeleri ise günde bir kez su ve sabunla yıkanmıştır. Tüm grupların maske ve setlerinden 24 saatte bir sürüntü örneği alınıp laboratuvar ortamında değerlendirilmiştir.

Bulgular: Araştırma sonucunda kontrol grubunda %10,8, 24 saatte bir değişim yapılan grupta %2,5 oranında mikrobiyal üreme saptanmıştır. Yıkama grubunda ise hiç üreme saptanmamıştır.

Sonuç: Sonuç olarak, kontaminasyonu önlemek için nebulizatör parçaların günde bir kez sabun ve suyla yıkanması ve temiz bir havlu üzerinde kurutulması önerilmektedir.

Anahtar kelimeler: Inhalasyon, nebulizer, dezenfeksiyon, pediatri

Alındığı tarih: 22.03.2017

Kabul tarihi: 24.10.2017

Yazışma adresi: Doç. Dr. Bengü Çetinkaya, Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Kınıklı Kampüsü, Denizli - Türkiye
e-mail: bctinkaya@pau.edu.tr

INTRODUCTION

Nebulizers and their chambers are items of medical equipment that are used on the respiratory tract and come into indirect contact (semi-critical) with

respiratory mucosa ⁽¹⁾. Delivery of drugs using nebulizer is preferred because of the local and rapid effect, and fewer side effects with lower doses. The risk of infection, overdose or adverse effects during delivery of the drugs are the disadvantages of the

use of a nebulizer ⁽²⁾.

The risk of contamination is high after nebulizer use ^(3,4). Nebulizer contamination can cause various lower respiratory tract infections ^(4,5). The cleaning, sterilization, and disinfecting of the medical equipment used on the respiratory tract is important in terms of preventing infection in patients ⁽⁶⁾. There are various suggestions for preventing infections caused by nebulizers. The Centers for Disease Control and Prevention and the European Respiratory Society recommend that nebulizers should be cleaned, disinfected, rinsed in sterilized water, and dried after each use ^(6,7). In their study, Cobben et al. ⁽⁸⁾ proposed that masks and sets should be changed every 24 hours. The procedures for the prevention of microbial colonization on the nebulizer equipment have been important research topics. Although the literature demonstrates significant evidence for bacterial growth in home nebulizer, which are used for chronic respiratory tract infection ⁽⁹⁾, we could not find any literature related to contamination during short time usage. The methods for preventing infection must be simple and cost-effective. In this study, three different procedures for preventing microbial colonization of nebulizer masks and sets were applied and then the results were reviewed.

RESEARCH QUESTIONS

1. Is there a microbial colonization of nebulizer masks and sets of the control group?
2. Is there a microbial colony in the nebulizer mask and set of the experimental group 1?
3. Is there a microbial colonization of nebulizer masks and sets of experimental group 2?

MATERIAL and METHODS

In this study, a randomized controlled semi-experimental design was used. The study was conducted at the pediatrics department of a hospital in Turkey. The pediatric ward had a 40-bed capacity with six children and their mothers were staying in this ward. The study included 120 patients aged 0-5 with bronchitis and bronchiolitis using nebulizer treatment at least twice daily and their mothers.

In order to determine the sample size of the study, the literature was examined and it was determined that the microorganism growth rate in the nebulizers ranged from 11.3% to 16.6% ^(5,10). In our study, it was estimated that 1% of the experimental group and 20% of the control group had microbial growth, and sample size was calculated as 31 patients per each group with a statistical power of 80% and a confidence interval of 95% ⁽¹¹⁾. Considering the possibility of data loss, 40 patients were included in each group. Cramer's V was calculated to calculate the effect size of the work, and a median effect size of .23 was obtained.

The participants were divided into three groups by randomization. In the first group, the patients' nebulizer masks and sets (tube, and chamber) were changed according to the clinical routines. In the clinic where the data was collected, the same nebulizer masks and sets were used for the whole duration of the patients' stay. During this time the masks and sets were not disinfected or dried (control group). In the second group, the masks and sets were changed every 24 hours. There was no disinfecting or drying in this group either (experimental group 1). In the third group (experimental group 2), the nebulizer masks and chambers were washed with soap and water and dried once every day by the mothers. The tubes were not washed and changed (Figure 1). The researchers established the kind of soap routinely used by the mothers for their children. The mothers were educated by the researchers and also given a written copy of the washing procedure (Table 1).

The experimental groups and the control group were created by a randomization process taking into account the diagnosis, and treatment protocols (frequency, and type of medicine) for the children.

Before the first usage cultures were obtained in the control group, in experimental groups 1 and 2. In the control group and experimental group 2, the cultures were taken with swabs from the nebulizer masks, chambers, and tubes before the first usage, and after the 24th, 48th, and 72nd hour. In the experimental group 1, the cultures were taken at 24th hour. The culture samples were immediately placed onto a Stuart transport medium and taken to the laboratory.

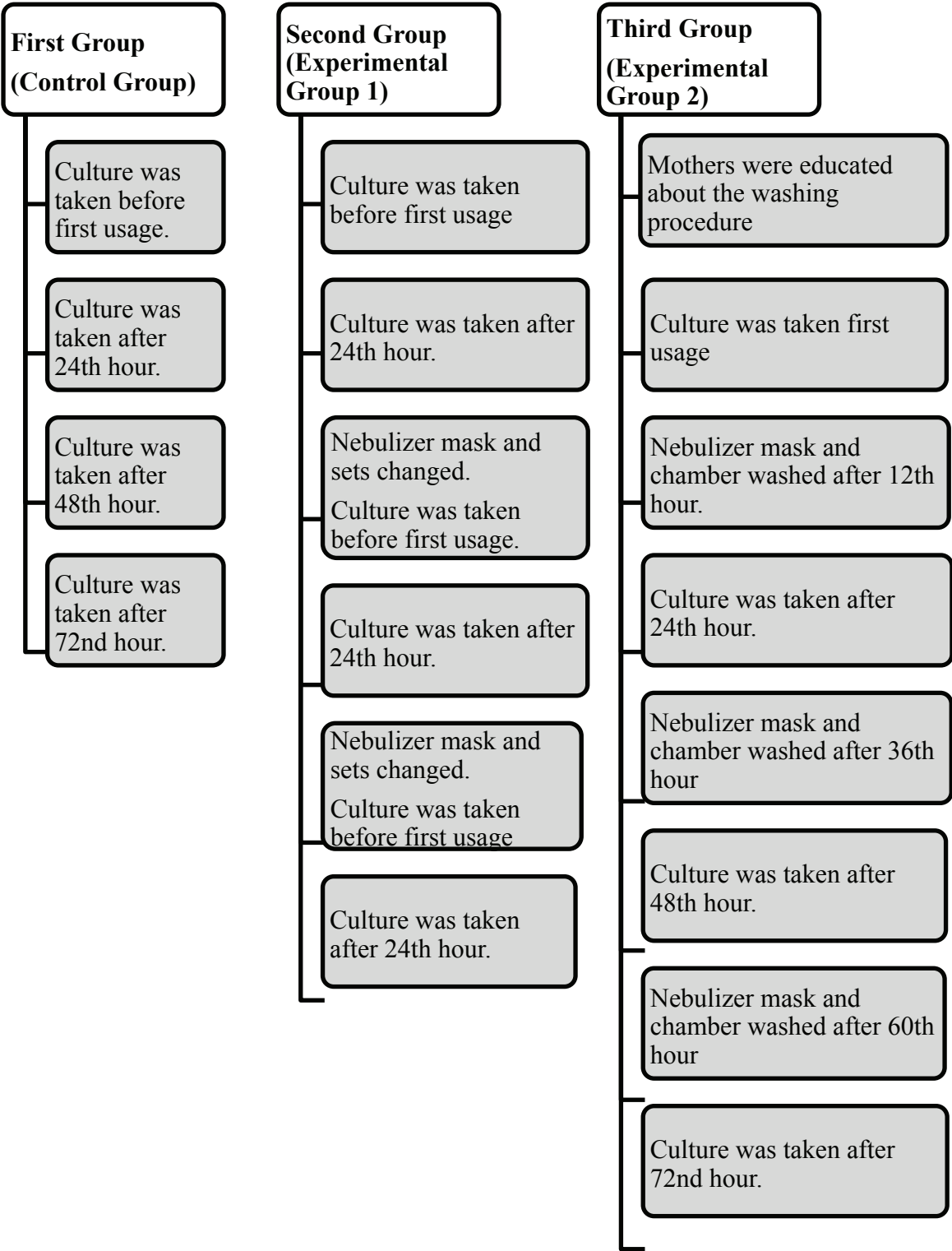


Figure 1. Collection of study data.

The bacterial culture was implanted into 5% Sheep Blood Agar Base and Eosin-Methylene Blue Agar (EMB) and left for 48 hours at 37°C. The bacterial pathogens grown were reported.

Table 1. Washing procedure for mothers.

After the last usage every day, please clean the mask and chamber according to the instructions opposite	1. Separate the mask from the tube
	2. Separate the mask from the chamber
	3. Place all the parts in a clean bowl except for the tubes
	4. Add warm water and soap and lather
	5. Wash all the parts
	6. Rinse all parts
	7. Dry the mask and the chamber on a paper towel

In the data collection, the children and their parents' introductory information form and forms with daily monitoring and result records were used. The data were collected by the researchers.

All the statistical analyses were performed by using SPSS software, version 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). In the data analysis, the percentage distributions and the homogeneity test (χ^2) were used to assess the descriptive characteristics of the participants in the control and experimental groups, and percentage distributions were used for the microbial growth rates. The statistical significance was set at $p < 0.05$.

The required permission to conduct the study was obtained from the University Medical Ethics board. Information about the study was given to the participating families and their written consent was obtained.

RESULTS

The mean age of the patients included in the study was established to be 12.96 ± 10.87 months. The mean age of the mothers was 27.98 ± 5.24 , and their mean length of school education was found to be 6.55 ± 3.62 years.

Randomization was applied with regards to the diagnosis, and treatment protocol (frequency, and type of the medication) of the children receiving the nebulizer treatment in the control and experimental groups (Table 2).

Of the culture samples taken from the masks and sets, bacterial growth was detected in the masks only. The analysis of the bacterial growth in the experimental and control groups established that the growth

Table 2. Characteristics of the children under nebulizer treatment.

Characteristics of the children	Control Group n (%)	Experimental Group 1 n (%)	Experimental Group 2 n (%)
Gender			
Female	10 (25)	9 (22.5)	13 (32.5)
Male	30 (75)	31 (77.5)	27 (67.5)
	$X^2=1.108$; $p>0.05$		
Diagnosis			
Bronchitis	12 (30)	13 (32.5)	21 (52.5)
Bronchiolitis	28 (70)	27 (67.5)	19 (47.5)
	$X^2=5.147$; $p>0.05$		
Previously received nebulizer treatment			
Yes	14 (35)	22 (55)	20 (50)
No	26 (65)	18 (45)	20 (50)
	$X^2=3.482$; $p>0.05$		
Nebulizer treatment given at home			
Yes	6 (15)	6 (15)	17 (42.5)
No	34 (85)	34 (85)	23 (57.5)
	$X^2=11.004$; $p<0.05$		
Frequency of nebulizer treatment			
At least 2 times	1 (2.5)	-	-
3 or more times	39 (97.5)	40 (100)	40 (100)
	$X^2=2.017$; $p>0.05$		
Type of aerosol medicine			
Salbutamol	24 (60)	26 (65)	20 (50)
Salbutamol+ budesonide	16 (40)	14 (35)	20 (50)
	$X^2=1.920$; $p>0.05$		
Antibiotic treatment			
Yes	38 (95)	32 (80)	32 (80)
No	2 (5)	8 (20)	8 (20)
	$X^2=4.706$; $p>0.05$		
Total	40 (100)	40 (100)	40 (100)

occurred after 48 and 72 hours in the control group and growth of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas* species was demonstrated (Table 3).

In the experimental group 1 growth of coagulase-negative *Staphylococcus* species was detected at the first and the second change of the nebulizer (Table 4).

Any microbial growth was not detected in the experimental group 2 (Table 5). There was no significant difference between the education of the mothers and presence of bacterial growth in the nebulizer masks and sets ($p < 0.05$).

Table 3. Distribution of control group microbial contamination.

Monitoring	Control Group		Microorganism
	Yes (%)	No (%)	
Before usage	-	40 (100)	-
24 th hours	-	40 (100)	-
48 th hours	2 (5)	38 (95)	Staphylococcus aureus
72 nd hours	^a 2 (5.7)	31 (88.5)	Staphylococcus aureus
	^b 1 (2.9)		Pseudomonas species

^agrowth continuing since 48th hours; ^bgrowth at 72nd hours

Table 4. Distribution of experimental group 1 microbial contamination.

Monitoring	Experimental group 1 (Change every 24 hours)		Microorganism
	Yes (%)	No (%)	
*1 st change	1 (2.5)	39 (97.5)	Coagulase-negative Staphylococcus species
*2 nd change	1 (2.7)	36 (97.3)	Coagulase-negative Staphylococcus species
*3 rd change	-	35 (100)	-

*Masks and sets changed every 24 hours

Table 5. Distribution of experimental group 2 microbial contamination.

Monitoring	Control Group		Microorganism
	Yes (%)	No (%)	
Before use	-	40 (100)	-
24 th hours	-	40 (100)	-
48 th hours	-	36 (100)	-
72 nd hours	-	31 (100)	-

DISCUSSION

The aim of nebulization treatment is to deliver the drug in a liquid form rapidly into the bronchioli and alveoli in the form of respirable particles and to enable the accumulation of particles smaller than five microns into the lungs ⁽¹²⁾. According to their species, the dimensions of the microorganisms vary from 0.01 to 100 microns ⁽¹³⁾. In these circumstances the improper use of nebulizers can lead to microorganisms reaching the lungs. Our study findings supported that

bacterial growth occurs in the control group at 48th and 72nd hours, and accordingly *Staphylococcus aureus* and *pseudomonas* species were isolated. The growth rate was 10.8% in this group.

In a study which monitored nebulizers for 24-72 hours, 10.5% of a total 11.4% cases growth of gram negative bacilli mainly *Pseudomonas aeruginosa* was found ⁽⁵⁾.

In our study, a change was made every 24 hours in experimental group 1. In this group, a growth at a rate of 2.5% was seen at the first change and at a rate of 2.7% at the second change. The similarity between these rates is noteworthy. The growth of coagulase-negative *Staphylococci* was seen at both changes.

In another study, in three of the culture samples taken from 150 nebulizers at the 24th hour, (2%) coagulase-negative *Staphylococcus* was isolated ⁽¹²⁾. Other studies concerning nebulizers have observed *Pseudomonas* species and coagulase-negative *Staphylococcus* growth in nebulizer parts ^(4,9,10,15,16). Some species of *Pseudomonas*, *Streptococcus* and *Staphylococcus* can result in serious respiratory tract infections such as pneumonia ⁽¹⁷⁻¹⁹⁾.

In our study there was no microbial growth in the washing group (experimental group 2). Humidity creates a suitable environment for the growth of bacteria ⁽²⁰⁾. The studies conducted have suggested that nebulizer parts be kept away from humidity in order to prevent contamination. In a study, Hutchinson et al. ⁽⁹⁾ emphasized that although bacterial growth is possible in nebulizers after disinfecting procedures such as washing, there was minimal or no bacterial growth when parts were dried after being washed. Blau et al. ⁽³⁾ also specified in their study that the washing and drying of nebulizers reduce the rate of contamination.

In addition to this, Cohen et al. ⁽⁴⁾ found that the rate of contamination can be reduced by washing and drying nebulizer masks and chambers after every usage. Furthermore, Reychler et al. ⁽¹⁴⁾ recommended washing with tap water and detergent, rinsing in tap water and drying on a clean towel of all nebulizer parts after every usage. The study of Jakobson et al. ⁽¹⁵⁾ supported the knowledge that fewer bacteria grow in dry environments. These studies support our

study's findings. In the control group and experimental group 1, the microbial growth may be linked to a moist environment.

In our study, in the groups where no disinfecting or drying procedures were applied, microbial growth was observed; whereas in the group where washing and drying were performed, no microbial growth was detected.

Improper cleaning/changing of nebulizers leads to contamination and the risk of lower respiratory tract infections. Our study's findings demonstrate that the once-daily washing and drying of nebulizer parts prevents contamination. Health education is one of the important tasks of the Pediatric Nurse. Using this function, the nurse trains and counsels the child and family to protect them from illness. It is therefore recommended that hospital procedures regarding nebulization should be established and that pediatric nurses should provide training to children's primary caregivers on the use of nebulizers.

As there is a procedure to prevent infection in nebulizer masks and sets in other centers, it is the limit of the research to be carried out in one center. This is also a strong point of the research in terms of controlling the environmental factors.

ACKNOWLEDGMENTS

Source of Funding Statement: The study was supported fully by the Pamukkale University Scientific Research Projects Coordination Unit.

REFERENCES

- Arman D, Arda B, Çetinkaya Şardan Y, Bal Kayacan Ç, Esen F, Topeli İskit A, et al. Sağlık hizmeti ile ilişkili pnömoninin önlenmesi kılavuzu. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi* 2008;12:1-14.
- O'Malley CA. Device cleaning and infection control in aerosol therapy. *Respir Care* 2015;60:917-927. <https://doi.org/10.4187/respcare.03513>
- Blau H, Mussaffi H, Zahav MM, Prais D, Livne M, Czitrion BM, et al. Microbial contamination of nebulizers in the home treatment of cystic fibrosis. *Child Care Health Dev* 2007;33:491-495. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2214.2006.00669.x>
- Cohen HA, Kahan E, Cohen Z, Sarrell M, Beni S, Grosman Z, et al. Microbial colonization of nebulizers used by asthmatic children. *Pediatr Int* 2006;48:454-458. <https://doi.org/10.1111/j.1442-200X.2006.02252.x>
- Roberts F, Cockcroft W, Johnson H, Fishwick T. The infection hazard of contaminated nebulizers. *Can Med Assoc J* 1973;108:53-56.
- Tablan OC, Anderson LJ, Besser R, Bridges C, Hajjeh R. Guidelines for preventing healthcare-associated pneumonia, 2003. *MMWR* 2004;53(RR-3):1-36.
- Boe J, Dennis J, O'Driscoll B, Bauer T, Carone M, Dautzenberg B, et al. European Respiratory Society Guidelines on the use of nebulizers Guidelines prepared by a European Respiratory Society Task Force on the use of nebulizers. *Eur Respir J* 2001;18:228-242. <https://doi.org/10.1183/09031936.01.00220001>
- Cobben NAM, Drent M, Jonkers M, Wouters EFM, Vaneechoutte M, Stobberingh EE. Outbreak of severe *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infections due to contaminated nebulizers. *J Hosp Infect* 1996;33:63-70. [https://doi.org/10.1016/S0195-6701\(96\)90030-4](https://doi.org/10.1016/S0195-6701(96)90030-4)
- Hutchinson GR, Parker S, Pryor JA, DuncanSkingle F, Hoffman PN, Hodson ME, et al. Home-use nebulizers: A potential primary source of *Burkholderia cepacia* and other colistin-resistant, gram-negative bacteria in patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 1996;34:584-587.
- Reychler G, Leonard A, Van Ossel C, Godding V, Gigi J, Simon A, et al. Impact of hypochlorite-based disinfection on bacterial contamination of cystic fibrosis patients' home-nebulisers. *J Hos Infect* 2009;72:351-357. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2009.05.011>
- DSS Research. Available from: <https://www.dssresearch.com/knowledgecenter/toolkitcalculators/statisticalpowercalculators.aspx>
- O'Callaghan C. How to get drugs into the respiratory tract. *Arch Dis Child* 1993;68:441-3. <https://doi.org/10.1136/ad.68.4.441>
- Sharma PD. Microbiology, Rakesh Kumar Rastogi for Rastogi Publications, Meerut, India, 2007.
- O'Malley CA, VandenBranden SL, Zheng XTT, Polito AM, McColley SA. A day in the life of a nebulizer: Surveillance for bacterial growth in nebulizer equipment of children with cystic fibrosis in the hospital setting. *Respir Care* 2007;52:258-262.
- Jakobsson BM, Onnered AB, Hjelte L, Nystrom B. Low bacterial contamination of nebulizers in home treatment of cystic fibrosis patients. *J Hosp Infect* 1997;36:201-207. [https://doi.org/10.1016/S0195-6701\(97\)90195-X](https://doi.org/10.1016/S0195-6701(97)90195-X)
- Reychler G, Aarab K, Van Ossel C, Gigi J, Simon A, Leal T, et al. In vitro evaluation of efficacy of 5 methods of disinfection on mouthpieces and facemasks contaminated by strains of cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2005;4:183-187. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2005.06.001>
- Rosenthal VD, Maki DG, Salomao R, Alvarez-Moreno C, Mehta Y, Higuera F, et al. Device-associated nosocomial infections in 55 intensive care units of 8 developing countries. *Ann Intern Med* 2006;145:582-591. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-145-8-200610170-00007>
- Dima S, Kritsotakis EI, Roumbelaki M, Metalidis S, Karabinis A, Maguina N, et al. Device-associated nosocomial infection rates in intensive care units in Greece. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;28:602-605. <https://doi.org/10.1086/513618>
- Tiewsoh K, Lodha R, Pandey RM, Broor S, Kalaivani M, Kabra SK. Factors determining the outcome of children hospitalized with severe pneumonia. *BMC Pediatr* 2009;9. <https://doi.org/10.1186/1471-2431-9-15>
- Atlas RM. Principles of Microbiology, McGraw-Hill Companies, New York, 1997.

Effects of alcohol during secondary neurulation in chick embryos

Alkolün tavuk embriyolarında sekonder nörilasyon üzerine etkileri

Mesut METE¹, Işıl AYDEMİR², Ülkün ÜNLÜ ÜNSAL³, Kemal ÖZBİLGİN⁴, Mehmet İbrahim TUĞLU⁴, Beyhan GÜRCÜ⁵

¹Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Ana Bilim Dalı, Manisa

²Ömer Halisdemir Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Niğde

³Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Ana Bilim Dalı, İstanbul

⁴Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Manisa

⁵Manisa Celal Bayar Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Manisa

ABSTRACT

Objective: Alcohol continues to be consumed even though its harmful effects are well established. One of the most common damage of alcohol consumption is fetal alcohol syndrome, characterized by craniofacial anomalies, cardiac anomalies and neural tube defects. Therefore, understanding the molecular mechanisms underlying the alcohol-induced toxicity that occur with time and dose dependent manner is very important. , Most of the studies in order to understand the effects of alcohol have been carried out on early neurulation, however its effects on late neurulation are still unknown. Therefore in this study, effects of alcohol on secondary neurulation were investigated in chick embryos.

Methods: Leghorn breed of embryonic chicken eggs were used. At 50 h of incubation, 100 µL 50% ethanol solution was injected. Depending on the period of exposure to alcohol, varying degrees of pathological disorders were detected in E3, E7 and E10 days.

Results: Developmental delay, structural abnormalities, morphological abnormalities in the heart and face and especially presence of two spinal cord cavities were found. In addition, we also detected delays in the closure of the neural tube, cellular deformities and the structural abnormalities in notochord. While eNOS, iNOS, and TUNEL levels increased, while laminin levels decreased.

Conclusion: In this study during late development, significant alcohol-induced morphological and histopathological changes were observed. We also determined Increased level of oxidative stress caused by alcohol was accompanied with the changes in matrix composition. Better understanding of these mechanisms which affect the cell behavior is important and will allow learning of harmful effects of alcohol.

Keywords: Alcohol, neural tube defect, secondary neurulation

ÖZ

Amaç: Alkol, zararları iyi bilinmesine rağmen, tüketilmeye devam edilmektedir. Alkol tüketiminin en yaygın hasarlarından biri kraniofasial anomaliler, kardiyak anomaliler ve nöral tüp kusurlarıyla karakterize fetal alkol sendromudur. Bu nedenle, alkole bağlı toksitenin altında yatan, zaman ve doza bağlı olarak ortaya çıkan moleküler mekanizmaları anlamak çok önemlidir. Alkolün etkilerini anlamak için, yapılan çalışmaların çoğu erken nörilasyon üzerine yapılmıştır. Ancak, geç nörilasyon üzerindeki etkileri halen bilinmemektedir. Bu nedenle bu çalışmada, civciv embriyolarında alkolün sekonder nörilasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Yöntem: Leghorn cinsi embriyonik tavuk yumurtalarını kullanıldı. Kuluçka işleminin 50. saatinde, 100 µL %50 etanol çözeltisi enjekte edildi. Alkole maruz kalma süresine bağlı olarak, E3, E7 ve E10 günlerinde değişik derecelerde patolojik bozukluk belirlendi.

Bulgular: Gelişim geriliği, yapısal anomaliler, kalp ve yüzdeki morfolojik anomaliler ve özellikle iki spinal kord boşluğunun varlığı saptandı. Buna ek olarak, nöral tüpün kapanmasında gecikmeler, hücresel deformasyonlar ve notokordun oluşumunda anomaliler belirlendi. ENOS, iNOS ve TUNEL düzeyleri artarken, laminin önemli ölçüde azaldığı görüldü.

Sonuç: Bu çalışmada geç gelişme döneminde alkolün yol açtığı morfolojik ve histopatolojik değişiklikler gözlemlendi. Alkolden kaynaklanan oksidatif stres düzeyindeki artışa matris kompozisyonundaki değişiklikler eşlik etti. Hücre davranışını etkileyen bu mekanizmaların daha iyi anlaşılması önemli olup, alkolün zararlı etkilerinin öğrenilmesine izin verecektir.

Anahtar kelimeler: Alkol, nöral tüp defekti, sekonder nörilasyon

Alındığı tarih: 02.11.2017

Kabul tarihi: 05.11.2017

Yazışma adresi: Yrd. Doç. Dr. Mesut Mete, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Ana Bilim Dalı, 50200 - Manisa - Türkiye
e-mail: dr.mmeye@hotmail.com

INTRODUCTION

Neural tube is formed by primary neurulation ventrally and secondary neurulation dorsally at the structural overlap between the caudal end of the neural plate and cranial end of the tail bud ⁽¹⁾. Full and complete neurulation is very important for the development of brain and spinal cord. Neurulation has to be successfully completed for a normal structural and functional development of various tissues and organs associated with the central nervous system. It is known that some diseases and physical abnormalities can occur in later stages of life due to exposure to agents with teratogenic effects during neural tube development ⁽²⁾. Alcohol, which is a chemical agent, can easily pass the placenta barrier, reach the fetus and cause developmental abnormalities such as seen in fetal alcohol syndrome (FAS). FAS was first described by Jones and Smith in 1973 and characterized by prenatal and postnatal growth retardation, craniofacial anomalies, central nervous system dysfunction, and anomalies involving the musculoskeletal system, heart, eyes and kidneys as reduced proliferation, disrupted DNA and protein synthesis, and apoptosis contribute to the effects of alcohol on growth retardation ^(2,3). However, the exact molecular pathways leading to FAS are still unknown.

NO is a potent molecule that plays an important role in intra-cellular and inter-cellular messaging systems ⁽⁴⁾. It exhibits antioxidant effects via detoxification of reactive oxygen species (ROS). Studies on ROS have argued that increased oxidative stress disrupted the functions of the mitochondria, resulting in neuronal disorders and caused embryonic malformations characterized by high levels of apoptosis ⁽⁵⁾. Peunova et al. ⁽⁶⁾ argued that NO altered the cell behavior via kinases, cytoskeleton, scaffold proteins and epigenetics. Ron and Messing ⁽⁷⁾ also lend support to Peunova et al. ⁽⁶⁾ by showing that alcohol caused NTD through similar pathways.

During the development of the neural tube, mesenchymal cells become polarized to form the neural tube epithelium and the basement membrane is formed by accumulation of laminin and fibronectin especially from large glycoproteins. Laminin is invol-

ved in adhesion of the cells to the basement membrane. Further, it communicates with intracellular skeleton and guides the cellular function. Neuronal NO synthase (nNOS; NOS-1) and endothelial NO synthase (eNOS; NOS-3) are constitutively expressed and do not vigorously respond to extracellular stimulation. In contrast, inducible NO synthase (iNOS; NOS-2) actively responds to extracellular changes, with a marked upregulation in expression and activity of laminin. It has been thought that the presence of laminin in the neural tube and mesenchyma was not altered much during secondary neurulation and that it was there to form a boundary. Fibronectin, on the other hand, has been found in abundance especially in regions where neural crest cells were populated. It has been shown that mesenchymal cavitations which occur during neurulation but not related to neural tube contain copious amounts of fibronectin which has been considered as an adjunct to cell-to-cell adhesion ⁽⁸⁾. When the oxidative stress is increased in biological tissues, the cells cannot fulfill detoxification, resulting in destruction of the cytoskeleton, reduction in adhesion capacity, cell degeneration and, subsequently, cell death ⁽⁹⁾. Loss of cell matrix and adhesion capability affects cell cycle, inhibits growth and induces apoptosis ⁽⁵⁾.

Even though there is a debate as to whether secondary neurulation in chick is similar to posterior neural tube development in humans, it is highly possible that similar molecules are used. Defects in this region are also believed to occur similarly ⁽¹⁰⁾. It has been shown that laminin is present in mesenchymal-epithelial transition zones throughout HH-18 and 20 stages and that it provides polarization of cells there and contributed to the development of the basement membrane. This environment with these cells produces secondary neurulation ⁽¹¹⁾. However, exact effect of laminin in this period is yet to be established.

Neural tube defect is one of the central nervous system disorders that cause very important social, economical and medical problems. Although there have been many studies on primary neurulation, studies on the function of secondary neurulation and caudal region are limited. In the present study, effects of ethanol application on secondary neurulation in

chick embryos were investigated. Possible developmental anomalies and mechanisms underlying these anomalies have been investigated with e-NOS and i-NOS staining with regard to oxidative stress, laminin $\alpha 1$ with regard to matrix molecules and TUNEL staining with regard to apoptosis.

MATERIAL and METHODS

We used Leghorn breed of embryonated chicken eggs which were supplied by Republic of Turkey Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Bornova Veterinary Control and Research Institute. Eggs were divided into three groups (each $n=10$) as Control, Sham and ethanol treated groups. They were incubated in about 60-80% humidified atmosphere at 37.5°C. At 50th h of incubation which corresponds to HH-stage-13-14 ⁽¹²⁾ they were rinsed with 70% ethanol and a piece of plastic tape was placed close to the air cavity of the eggs, and a small hole was opened for injections. Hundred μ L 50% ethanol solution and 100 μ L saline (sham) were injected under the embryo discs with a 30-gauge syringe while the control group did not undergo any procedure. Then, in all the groups, the eggs were closed with a sterile tape. Samples were taken at 1st (E3 days group), 5th (E7 days group) and 8th (E10 days group) days after the injection. Embryos were fixed in 10% buffered formalin solution, dehydrated in graduated ethyl alcohol and were passed through xylene (Riedel-de Haën, Germany) and embedded in paraffin (Isolab, U.K.) blocks. All samples of 5 μ m-thick serial sections were taken on normal and poly-L-lysine coated slides (Sigma, U.K.). Sections were stained with Mayer's haematoxylin-eosin (HE) (Sigma U.K.) to demonstrate the histological structure. Also eNOS (RS-654, CA, USA), iNOS (RS-651, CA, USA), laminin $\alpha 1$ (SC-5582, CA, USA) and TUNEL (Millipore-s7101, CA, USA) immunohistochemistry stainings were performed in order to detect possible effects of proteins thought to be in the mechanism ⁽¹⁵⁾. Sections were viewed under Leica (DM 4000B) light-field microscope at various magnifications and images were acquired by Olympus (DP 71) camera.

Immunohistochemistry: The sections were incu-

bated at 60°C overnight then dewaxed in xylene for 30 minutes. After rehydrating through a decreasing series of ethanols, sections were washed in distilled water and PBS for 10 minute. They were then treated with 2% trypsin in 50 mM Tris buffer (pH 7.5) at 37°C for 15 minutes and washed again with PBS. Sections were delineated using a Dako pen (Dako, Glostrup, Denmark) and incubated in a solution of 3% H₂O₂ for 15 minutes to inhibit endogenous peroxidase activity. After this procedure, sections were washed with PBS and incubated with primary antibodies to iNOS (1:100 dilution; Zymed, 61-7700 South San Francisco, CA) and eNOS (1:200 dilution; Biomol, SA-258, Hamburg, Germany) for 18 hours. After washing, the sections were incubated with biotinylated IgG and then with streptavidin-peroxidase conjugate (Histostain-Plus Bulk Kits; Zymed, South San Francisco, CA, according to kit instructions). Then, the sections were washed with PBS, incubated with a solution containing 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) for 5 minutes to visualize immunolabelling, and finally counterstained with Mayer's haematoxylin. The negative controls were treated as above, except incubation with the primary antibody was replaced by incubation with rabbit IgG or mouse IgG. Control samples were processed in the same manner except that the primary antibodies were omitted. All dilutions and thorough washes between stages were performed using PBS unless otherwise stated ⁽¹⁴⁾.

TUNEL method: An in situ apoptosis detection kit (Dead End Colorimetric) TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labelled System, Promega) was used to detect apoptosis and all reagents listed below were included, unless otherwise stated. The sections were deparaffinized in xylene, rehydrated as above, incubated with 20 μ g/ml proteinase K for 10 minutes, and rinsed in distilled water. Endogenous peroxidase activity was inhibited by incubation with 3% hydrogen peroxide (H₂O₂) for 5 minutes. The sections were then incubated with equilibration buffer for 10-15 seconds and TdT enzyme, and prepared according to kit instructions, in a humidified atmosphere, at 37°C, for 60 minutes. They were subsequently placed in pre-warmed working strength stop/wash buffer at room

temperature for 10 minutes, and incubated with anti-streptavidin-peroxidase, at a 1:500 dilution in PBS, for 45 minutes. Each step was separated by careful washing in PBS. Labelling was revealed using DAB/H₂O₂, nuclei were counterstained with Mayer's haematoxylin, and sections were mounted as described previously ⁽¹⁵⁾.

Statistical evaluation: Immunohistochemistry was evaluated semiquantitatively utilizing the H-score technique by a histologist with blinded manner. H-score (0-300) was calculated by multiplying staining intensity (0, negative; 1, weak; 2, moderate; 3, strong) with the positively stained area (0-100%). For TUNEL staining, each section was counted for 100 cells from randomly chosen fields by a histologist with blinded manner. The percentage of apoptotic cells to total number of cells was indicated as apoptotic index ⁽¹⁶⁾.

RESULTS

Embryos from the shams and alcohol administration groups were observed and photographed both macroscopically and microscopically. There was no infected embryos among these samples. Numbers and percentages of normal and abnormal embryos after incubation with physiological saline and alcohol %50 are seen in Table 1 Macroscopic evaluation: Growth retardation, deformations in the heart and limbs, deterioration in vesicles in brain regions, flattening of the head and distortions in vascularization were observed in E3 embryos. In addition, vascular disorders that affect the embryos were observed. Growth retardation in all organs, the small head, con-

tour distortion and flattening in the facial region were observed in E7 embryos. Growth retardation, disturbances in the body symmetry, deformation in the layer and pigmentation of the eyes were observed in E10 embryos (Figure 1).

Microscopic evaluation: HE staining in E3 day group (Stage 20) of sham group as control group; medullary cord and ventricular layers which were formed by neuroepithelial cells, dermomyotome, sclerotome and notochord were seen. The surface ecto-

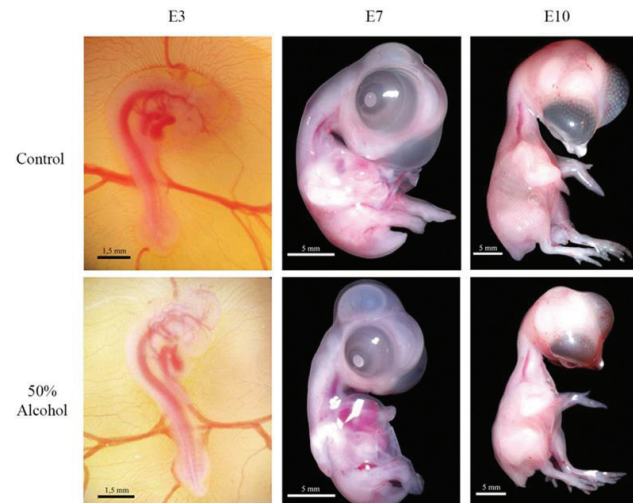


Figure 1. Compared to sham group, ethanol administration caused growth retardation, reduction of the vascularization and, in particular, structural abnormalities of the heart or head in E3 days. In E7 days, brain vesicles expansion, eye and retinal pigmentation abnormalities can be considered. In E10 days, moderate growth retardation and disorders were observed.

Table 1. Numbers and percentages of normal and abnormal embryos after incubation with physiological saline and.

Groups		Embryos n (%)	Lethal n (%)	Observed n (%)	Growth Retardation n (%)
Sham	3 th , 7 th and 10 th days	10 (100%)	0 (0)	10 (100%)	0 (0)
50 %	3 th days	10 (100%)	0 (0)	10 (100%)	8 (80%)
Alcohol	7 th days	10 (100%)	3 (30%)	7 (70%)	6 (85%)
	10 th days	10 (100%)	7 (70%)	3 (30%)	3 (100%)

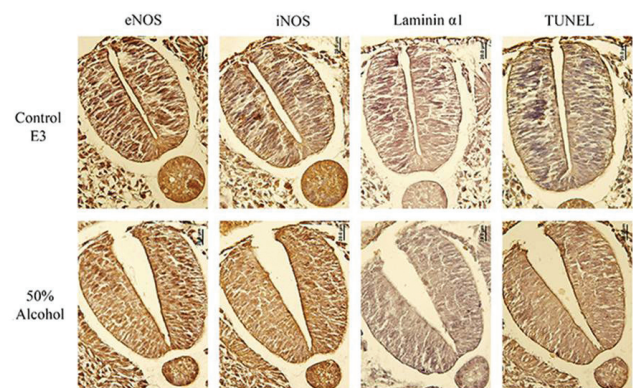


Figure 2. In Sham group, normally closed neural tube, normal surface ectoderm and neural ectoderm and notochord were seen. However, in E3 days ethanol administration group, reduction in the notochord and open neural tube were detected. Bar: 20 µm.

derm and the neural tube was properly settled, the cavity was formed with a central channel and surrounding mesenchymal cells with the normal appearance was established and also neural tube closure was observed. However, in alcohol treated group, delay in neural tube closure, notochord shrinking, reduction in neuroepithelial thickness and differences in the cell shape and layout were observed. Although in sham group, normal basal level of e-NOS and i-NOS staining were present, these stainings were more frequently seen in alcohol treated group. We observed that e-NOS staining was relatively more intense than i-NOS staining. In both sham and alcohol-treated groups, e-NOS staining was darker than i-NOS staining. Laminin $\alpha 1$ immunoreactivity was lower in 50% alcohol-administration group. In sham group; TUNEL staining which demonstrates the apoptosis of the neuroepithelial tissue was very low. However, in alcohol-treated group TUNEL staining was more strong than sham group (Figure 2).

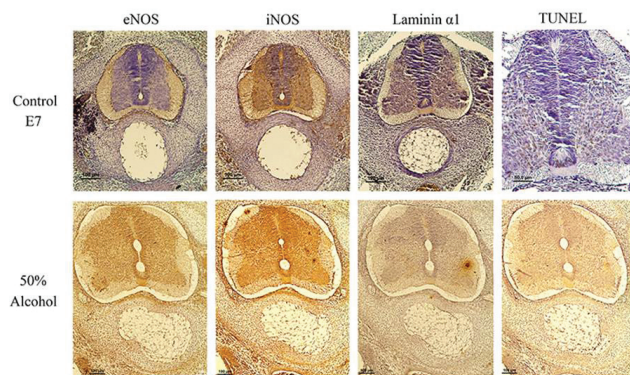


Figure 3. In Sham group, normally closed neural tube, normal medullary cord and developing layers were observed. However, in E7 days ethanol administration group, these structures were disrupted and double spinal cord channel was seen. Bar: 50 μ m (Control TUNEL), 100 μ m (Other images).

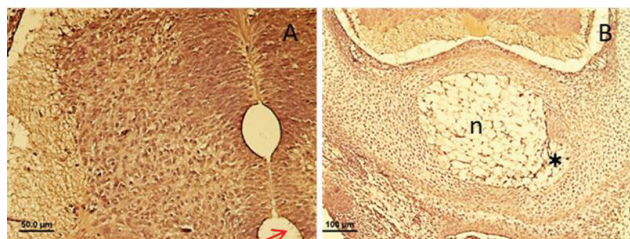


Figure 4. The detail of the E7 alcohol group which showed double channel. One of these channel (A) had cilia (arrow). There was also abnormal (*) notochord (B).

On E7 day of alcohol treated group; varying degrees of disorders were revealed in ventricular layer, motor columns and dorsal root ganglia (DRG). Significant changes were seen at medullary cord maturation center channel, white-gray matter, dorsal, ventral and lateral horns (Figure 3). The main finding of this group was the presence of the double center channel and one of the channels was surrounded by ciliated ependymal cells. Also, deformation at notochord was observed (Figure 4). In sham group, normal basal level of e-NOS and i-NOS staining were present. However, these stainings were more strong in alcohol treated group. We observed that e-NOS staining was relatively higher than i-NOS staining. In both sham-, and alcohol-treated groups, e-NOS staining was darker than i-NOS staining. Laminin immu-

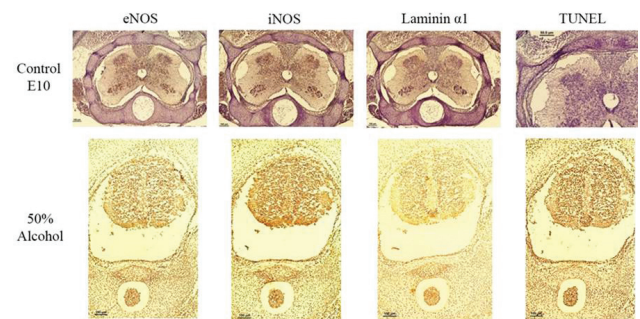


Figure 5. In sham groups, completely normal spinal cord and surrounding structures were seen. However, in E10 days ethanol administration group, these structures were severely disrupted. Bar: 50 μ m (Control TUNEL), 100 μ m (Other images).

The effect of alcohol on the secondary neurulation

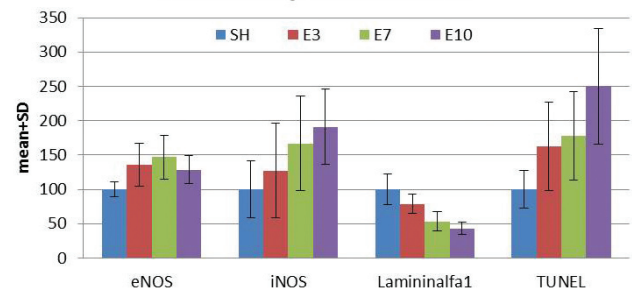


Figure 6. Ethanol administration (E3, E7, E10 days). Immunohistochemistry staining was assessed in a blinded manner with H-score compared to shame (SH). The percentage of positive apoptotic cells was determined by TUNEL staining. All values were expressed as the percentage of sham. SD: Standart deviation.

noreactivity was decreased. In addition, apoptotic cells were increased especially in gray matter (Figure 3).

In E10 day of alcohol-treated group; pathology was observed in mantle layer, ventral and dorsal horns of vertebral body, vertebra curves and DRG. The spinal cord and notochord were quite smaller depending on the decrease in the density of cells. Also, we observed that, the spinal cord channel disappeared, cell loss was widely seen, and cells were collected at the edge. Corruption and irregularities were found in the cells. The e-NOS and i-NOS reactivities were increased where i-NOS reactivity was more than e-NOS reactivity. Reactivity of the laminin was increased clearly. Intense apoptosis was observed in the spinal cord and notochord (Figure 5).

Microscopic examination demonstrated that decrease in pathological disorders in E7 day- samples was statistically significant ($p < 0.01$). However, pathological disturbances were more frequent in E3 and E10 day-samples. iNOS was more frequently seen than eNOS which was statistically significant ($p < 0.01$). iNOS was found more frequently in subsequent days however it was less significant. Laminin expression decreased in following days and this decrease was statistically significant ($p < 0.01$). Whereas, increase in apoptotic cells were found but it was less significant (Figure 6).

DISCUSSION

Neurulation is the embryonic process that forms the brain and spinal cord. This process includes the formation of the neural plate, rise of the lateral neural folds, and eventually the fusion of these folds to create the neural tube ⁽¹⁷⁾. Secondary neurulation begins with the formation of medullary cord at HH stage 16 or 51-56 h of incubation. Multiple cavities develop inside the medullary cord. These cavities coalesce to form single lumen, which becomes continuous with the neurocele of the primary neural tube and finally secondary neurulation is completed by HH stage on 35th or 8th-9th days of incubation ⁽¹⁸⁾.

Several animal models such as chick embryos, Japanese medaka, mice, zebrafish have been used successfully to investigate the effects of ethanol on

developing central nervous system ^(1,18). However, chick embryos, which do not metabolise alcohol to acetaldehyde until day 9 of gestation permits investigating the effects of ethanol in the absence of its primary metabolite. This is the reason why we used chick embryos in this study. In this study the relation between primary and secondary neurulation was shown, experimental analysis on this process was performed morphologically and organizations and behaviors of cells were defined. In optimization experiments, it was observed that 10%, 25% and 50%, alcohol applications caused neural tube defects when applied before neurulation ⁽¹⁹⁾. Although there are many studies on the primary stage of neurulation, secondary neurulation which has gained an importance due to its possible role in manipulating neural tube formation is still a mystery. In our study, 50% ethanol treatment was applied at 50th h of incubation supposing that this would interrupt or affect secondary neurulation. There was clear effect of alcohol on the secondary neurulation which also affected later development.

In addition to exposure to ethanol and many chemical agents can affect the neural tube development of chick embryos. For example, Lee and Nagele ⁽²⁰⁾ administered local anesthetics under in vivo (100-200 µg/ml) and Güney et al. ⁽²¹⁾ administered diazepam (400 µg/ml) in vitro culture conditions to the chicks at the same developmental stage and found that these caused neural tube defects by affecting microfilament function in neuroepithelial cells. In a study by Greenaway and Fantel ⁽²²⁾ rifampin (100 µg/ml) was injected to embryos and it was observed that rifampin impaired the metabolism of cytochrome p450 enzyme and thus caused neural tube defect. Some studies have reported that heavy metals and environmental pollutants cause defects in neural tube, heart, brain and sensory organs of chick embryos where the most frequent factor FAS + ⁽¹⁷⁾.

Ethanol-induced anomalies are closely related to the timing of exposure. Namely, in chick embryos for example, ethanol exposure at early gastrulation through neurulation stages induces cranial defects ^(24,25). However, exposure at post neurulation stages causes significant growth retardation. In the studies conduc-

ted using alcohol, cell death was observed in the facial region and neural crest in chick embryos, which caused a loss in the size of chick embryos with growth retardation ⁽²⁶⁾. Moreover, alcohol impairs development, function and life of nerve cells by affecting brain and prevents cell migration ⁽²⁷⁾. In these studies, findings were associated with the dose and duration of alcohol exposure. Similar to these studies, in the present study, growth retardation in all organs, disturbances in the body symmetry, contour distortion and flattening in the facial region were observed macroscopically due to defects in secondary neurulation.

During secondary neurulation, defining two cell groups as central and surrounding cells and observing cavity formation in central cells point out to the importance of the secondary neurulation phase. Relations among central cells having such different cell behaviour show that the factors playing a role in making the cell stay at the centre during migration have a role in the formation of secondary neurulation ⁽²⁸⁾. The fact that cells stop migrating or proliferating, but die to form a cavity for the canal or attach to the developing neural tube increases the importance of such factors. Cell behaviour mentioned here is mediated through different factors such as genetic information, environmental factors, growth factors and adhesion molecules ⁽²⁹⁾. In this study, we determined significant changes at medullary cord maturation, center channel, white-gray matter, dorsal, ventral and lateral horns in E7 embryos. The main finding of this group was the presence of the double center channel and one of the channels was surrounded by ciliated ependymal cells. However, we observed that, the spinal cord channel disappeared in E10 embryos. Therefore, alcohol treatment affected all secondary neurulation processes which induced moderate abnormalities during later stages of development.

It has long been known that developmental defects occur due to increased NOS. In a related study, Ron and colleagues reported that L-N6-(1-iminoethyl)-lysine, which is used to inhibit NOS2, reduced the neural tube defects in babies of diabetic mothers. This treatment resulted in alleviation of endoplasmic reticulum stress, decline in apoptosis and reduction in

congenital defects ⁽⁹⁾. Plachta and coworkers noted NTD when apoptosis was inhibited and they attributed this finding to increased NOS as well as inhibition of apoptosis ⁽³²⁾. In the present study, increased defects as a result of alterations in NOS immunohistochemistry and concurrent apoptosis were similar to previous studies.

Other factor which is as important as cell behaviours such as migration, proliferation and differentiation ⁽²⁸⁾ in the secondary neurulation of developing embryo is the behaviour of the cell. This behaviour of the cell to produce normal development depends on the ability of the cell to die at the right place, at the right time and in right number besides having an ability to die for orientation. Although the cells have the same nutrition and have no pathological reason to die, there is a programmed cell death leading to cavitation. Cell death occurs at tail bud morphogenesis in chick embryo ⁽³¹⁾. In terms of cell death and apoptosis, cell formation studies are carried out most commonly on tail region. Tail region incubated between 2-5 days contain many structures along with neural tube, notochord, somits and mesenchyme. The role of cell death is thought to be reshaping embryonic tail ⁽³²⁾. Pyknotic nuclei were observed in studies on cell proliferation ⁽³³⁾ and cell death was observed at 18th-22nd stages according to HH stages ⁽¹²⁾. It was observed based on the appearance of the cells at tail bud morphogenesis and TUNEL staining. Signs of apoptosis at tail bud are mostly observed at medullar cord ⁽³¹⁾. In our study, in E10 day-embryos, the spinal cord and notochord were quite smaller depending on the decrease in the density of cells. TUNEL staining revealed, disappearance of the spinal cord channel, diffuse, cell loss and accumulation of cells at the edge due to apoptosis. Intense apoptosis was also observed in the spinal cord and notochord.

Extracellular matrix proteins play significant roles in cell growth, cell differentiation, migration, polarization and the formation of basement. Laminin is a matrix molecule which participates in the formation of basement membrane. It also helps organization of epithelial cells and adhesion of these cells to the basement membrane. O'Shea ⁽⁸⁾ carried out a study on mice and showed that laminin staining was more

prominent on the neuroepithelium facing the notochord and basement membrane of the side surface. In another study, the researchers noted that laminin staining was weak in neural crest migration region and non-existent in certain regions ⁽³⁴⁾. Their finding is in agreement with our findings. This happens possibly to enable free migration of neural crest cells. Changes in the amount of laminin with time have been shown to affect cell differentiation ⁽¹¹⁾. Sometimes the lumen has been observed to develop even from a cavity. Changes in the presence of laminin with respect to location and time throughout neurulation may be an indicator of its importance in the formation of basement membrane and cell migration. Formation of cavity and lumen by confluence of cavities is coincidental and do not occur in an array ⁽¹⁸⁾. In one of the experimental models, small amount of fibronectin and very small amount of laminin have been identified at the distal end of the tail bud in mouse embryos on day 10.5, during the process of secondary neurulation. It has been shown that laminin was present in the lateral aspect of the basement membrane of neuroepithelium but not in the dorsolateral region in an 11 day-old embryo. Presence of copious amounts of fibronectin in these regions on that day has been demonstrated ⁽⁸⁾. In the present study, we found that immunohistochemical staining of laminin became weaker with development of the embryo and differentiation. Decrease in staining intensity of laminin became more prominent with alcohol application. This can be attributed to the response of the matrix molecules disruptions due to increased oxidative stress.

All of these observations demonstrated that, secondary neurulation is an important step and alcohol caused moderate pathology in this process. These findings point out that, problems are likely to develop during the ongoing life of embryos that affect the quality of life in the future. Ex ovo monitoring and explanation of these effects at the molecular level, will be helpful to understand adverse impacts of alcohol intake on the development.

Acknowledgement: We thank the Celal Bayar University for support of this research thought grant number 2005/FEF/058.

REFERENCES

1. Schoenwolf GC, DeLongo J. Ultrastructure of secondary neurulation in the chick embryo. *Am J Anat* 1980;158:43-63. <https://doi.org/10.1002/aja.1001580106>
2. Jones KL, Smith DW. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet* 1973;302(7836):999-1001. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(73\)91092-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(73)91092-1)
3. Anthony B, Zhou FC, Ogawa T, Goodlett CR, Ruiz J. Alcohol exposure alters cell cycle and apoptotic events during early neurulation. *Alcohol Alcohol* 2008;43(3):261-73. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agm166>
4. Brüne B. Nitric oxide: NO apoptosis or turning it ON?. *Cell Death and Differentiation* 2003;10:864-869. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401261>
5. Zhao Z, Eckert RL, Reece EA. Reduction in embryonic malformations and alleviation of endoplasmic reticulum stress by nitric oxide synthase inhibition in diabetic embryopathy. *Reprod Sci* 2012;19(8):823-31. <https://doi.org/10.1177/1933719111434543>
6. Peunova N, Scheinker V, Ravi K, Enikolopov G. Nitric oxide coordinates cell proliferation and cell movements during early development of *Xenopus*. *Cell Cycle* 2007;6(24):3132-44. <https://doi.org/10.4161/cc.6.24.5146>
7. Ron D, Messing RO. Signaling pathways mediating alcohol effects. *Curr Top Behav Neurosci* 2013;13:87-126. https://doi.org/10.1007/978-3-642-28720-6_161
8. O'Shea K. Differential deposition of basement membrane components during the formation of the caudal neural tube in the mouse embryo. *Development* 1987;99:509-519.
9. Zhou L, Li Y, Yue BY. Oxidative stress affects cytoskeletal structure and cell-matrix interactions in cells from an ocular tissue: the trabecular meshwork. *J Cell Physiol* 1999;180(2):182-9. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4652\(199908\)180:2<182::AID-JCP6>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4652(199908)180:2<182::AID-JCP6>3.0.CO;2-X)
10. Detrait ER, George TM, Etchevers HC, Gilbert JR, Vekemans M, Speer MC. Human neural tube defects: developmental biology, epidemiology, and genetics. *Neurotoxicol Teratol* 2005;27(3):515-24. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2004.12.007>
11. Osorio L, Teillet M, Palmeirim I, Catala M. Neural crest ontogeny during secondary neurulation: a gene expression pattern study in the chick embryo. *The International Journal of Developmental Biology* 2009;53:641-648. <https://doi.org/10.1387/ijdb.072517lo>
12. Hamburger V, Hamilito HL. A series of normal stages in the development of the chick embryo. 1951. *Dev Dyn* 1992;195(4):231- 272. <https://doi.org/10.1002/aja.1001950404>
13. Özbilgin K, Boz B, Tuğyan K, İnan S, Vatansever S. RHAMM Expression in the Rat Endometrium during the Estrous Cycle and following Implantation. *J Reprod Infertil* 2012;13(3):131-7.
14. Taneli F, Aydede H, Vatansever S, Ulman C, Ari Z, Uyanik BS. The long-term effect of mesh bioprosthesis in inguinal hernia repair on testicular nitric oxide metabolism and apoptosis in rat testis. *Cell Biochem Funct* 2005;23(3):213-20. <https://doi.org/10.1002/cbf.1139>
15. Oktom G, Altay B, Turna B, Aktug H, Yavasoglu A, Yilmaz O et al. Determination of nitric oxide synthase activity and apoptosis of germ cells in different obstruction models. *Acta*

- Histochem* 2009;111(2):119-26.
<https://doi.org/10.1016/j.acthis.2007.01.005>
16. Yuksel H, Yilmaz O, Karaman M, Firinci F, Turkeli A, Kanik ET, et al. Vascular endothelial growth factor antagonism restores epithelial barrier dysfunction via affecting zonula occludens proteins. *Exp Ther Med* 2015;10(1):362-368.
<https://doi.org/10.3892/etm.2015.2502>
 17. Song G, Cui Y, Han ZJ, Xia HF, Ma X. Effects of choline on sodium arsenite-induced neural tube defects in chick embryos. *Food Chem Toxicol* 2012;50(12):4364-74.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.08.023>
 18. Yang HJ, Wang KC, Chi JG, Lee MS, Lee YJ, Kim SK et al. Neural differentiation of caudal cell mass (secondary neurulation) in chick embryos: Hamburger and Hamilton Stages 16-45. *Brain Res Dev Brain Res* 2003;142(1):31-36.
[https://doi.org/10.1016/S0165-3806\(03\)00009-9](https://doi.org/10.1016/S0165-3806(03)00009-9)
 19. Aydemir I, Gürcü B. Histochemical Determination of Glycosaminoglycans (GAGs) in Normal and Ethanol-Induced Chick Embryo During Neural Tube Development. *African Journal of Biotechnology* 2011;10(53):10817-10824.
<https://doi.org/10.5897/AJB11.918>
 20. Lee H, Nagele RG. Neural tube defects caused by local anesthetics in early chick embryos. *Teratology* 1985;31:119-127. PMID: 3920774.
<https://doi.org/10.1002/tera.1420310114>
 21. Güney Ö, Selçuki M, Ünlü A, Bağdatoğlu C. The effect of diazepam on the development of neural tube defects in early chick embryos. *Turkish Neurosurgery* 1999;9:44-47.
 22. Greenaway JC, Fantel AG. Enhancement of rifampin teratogenicity in cultured rat embryos. *Toxicol Appl Pharmc* 1983;69:81-88. PMID: 6857691.
[https://doi.org/10.1016/0041-008X\(83\)90122-9](https://doi.org/10.1016/0041-008X(83)90122-9)
 23. Asmatullah SNQ, Shakoori AR. Embryotoxic and teratogenic effects of hexavalent chromium in developing chicks of *Gallus domesticus*. *Environ Cont Toxicol* 1998;61:281-288.
<https://doi.org/10.1007/s001289900760>
 24. Cartwright MM, Smith SM. Stage-dependent effects of ethanol on cranial neural crest cell development: partial basis for the phenotypic variations observed in fetal alcohol syndrome. *Alcohol Clin Exp Res* 1995;19(6):1454-62.
<https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1995.tb01007.x>
 25. Rovasio RA, Battiatto NL. Ethanol induces morphological and dynamic changes on in vivo and in vitro neural crest cells. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26(8):1286-98.
<https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2002.tb02669.x>
 26. Ahlgren SC, Thakur V, Bronner-Fraser M. Sonic hedgehog rescues cranial neural crest from cell death induced by ethanol exposure. *Develop Biol* 2002;99:10476-10481.
<https://doi.org/10.1073/pnas.162356199>
 27. Hirai K, Yoshioka H, Kihara M, Hasegawa K, Sawada T, Fushiki S. Effects of ethanol on neuronal migration and neural cell adhesion molecules in the embryonic rat cerebral cortex: A tissue culture study. *Brain Res Dev Brain Res* 1999;118:205-210. PMID: 10611520.
[https://doi.org/10.1016/S0165-3806\(99\)00159-5](https://doi.org/10.1016/S0165-3806(99)00159-5)
 28. Jessell TM, Bovolenta P, Placzek M, Tessier-Lavigne M, Dodd J. Polarity and patterning in the neural tube: the origin and function of the floor plate. *Ciba Found Symp* 1989;144:255-276. PMID: 2673681.
 29. Hay ED. Role of cell-matrix contacts in cell migration and epithelial-mesenchymal transformation. *Cell Differ Dev* 1990;32:367-375. PMID: 2099239.
[https://doi.org/10.1016/0922-3371\(90\)90052-X](https://doi.org/10.1016/0922-3371(90)90052-X)
 30. Plachta N, Traister A, Weil M. Nitric oxide is involved in establishing the balance between cell cycle progression and cell death in the developing neural tube. *Exp Cell Res* 2003;288(2):354-62.
[https://doi.org/10.1016/S0014-4827\(03\)00215-5](https://doi.org/10.1016/S0014-4827(03)00215-5)
 31. Miller SA, Briglin A. Apoptosis Removes Chick Embryo Tail Gut and Remnant of the Primitif Streak. *Dev Dyn* 1996;206:212-218. PMID: 8725288.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0177\(199606\)206:2<212::AID-AJA10>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0177(199606)206:2<212::AID-AJA10>3.0.CO;2-4)
 32. Schoenwolf GC. Morphogenetic processes involved in the remodeling of the tail region of the chick embryo. *Anat Embryol (Berl.)* 1981;162:183-197. DOI: 10.1007/BF00306490.
<https://doi.org/10.1007/BF00306490>
 33. Miller SA, Monoson T, Tignor J. Cell proliferation in endoderm epithelium during early morphogenesis of chick embryo hindgut. *FASEB J* 1994;8:A925.
 34. Mataya LA. Formation of the neural tube epithelium basement membrane during secondary neurulation in the chick embryo. Thesis. 2010.

İndirekt hiperbilirubinemi nedeni ile kan değişimi yapılan yenidoğan bebeklerin değerlendirilmesi: Tek merkez deneyimi

Assessment of newborn infants with exchange transfusion due to indirect hyperbilirubinemia: Single center experience

Senem ALKAN ÖZDEMİR¹, Esra ARUN ÖZER², Özkan İLHAN³, Sümer SÜTÇÜOĞLU⁴

¹Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Neonatoloji Bilim Dalı, İzmir

²Muğla Üniversitesi Tıp Fakültesi Neonatoloji Bilim Dalı, Muğla

³Harran Üniversitesi Neonatoloji Bilim Dalı, Şanlıurfa

⁴İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Neonatoloji Bilim Dalı, İzmir

Öz

Amaç: Hiperbilirubinemi yenidoğan bebeklerde sık görülen bir klinik durum olsa da bilirubin ensefalopatisi günümüzde önemli bir sağlık sorunudur. Çalışmamızda, üç yıllık sürede indirekt hiperbilirubinemi nedeni ile kan değişimi yapılan hastaların, etiyolojik nedenleri, kan değişimine bağlı gelişen komplikasyonları ve bilirubin ensefalopatisi gelişimi yönünden değerlendirilmiştir.

Yöntem: Ocak 2012 ve Ocak 2015 tarihleri arasında İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Neonatoloji Kliniğine hiperbilirubinemi nedeni ile yatan ve kan değişimi uygulanan yenidoğanlar retrospektif olarak incelendi. Demografik veriler, laboratuvar parametreleri, kan değişimine bağlı komplikasyonlar ve bilirubin ensefalopatisi gelişme sıklığı araştırıldı. Bilirubin ensefalopatisi gelişen ve gelişmeyen olgular risk faktörleri açısından karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışmaya 27 bebek dahil edildi ve %59,3'ü erkek olup, %55,6'sı sezaryen ile doğmuştu. Ortalama gebelik yaşı 36,5±3,1 hafta olup, doğum ağırlığı 2912,5±759 gramdı. Hastaların ortalama yaşı 34,2±54,2 saattir ve ilk 24 saatte bebeklerin %81'ine kan değişimi yapıldığı ve bu bebeklerin %40,7'sinde ABO uyumsuzluğu, %33'ünde Rh uyumsuzluğunun neden olduğu görüldü. Kan değişimi öncesi ve sonrasında total bilirubin ve trombosit sayılarının istatistiksel farka yol açacak şekilde düştüğü görüldü (p<0,05). Kan değişimine bağlı exitus saptanmadı. Nekrotizan enterokolit ve böbrek yetmezliği gibi komplikasyonlar görülmeydi. En sık rastlanan komplikasyonlar hipokalsemi (%14), trombositopeni (%7) ve hipoglisemi (%7) idi. Olguların %25,9'unda bilirubin ensefalopatisine bağlı nörolojik etkilenme saptandı, ancak nörolojik etkilenmesi olmayan bebekler ile kıyaslandığında demografik, etiyolojik ve laboratuvar verileri açısından istatistiksel farklılık saptanmadı.

Sonuç: ABO ve Rh uyumsuzluğunun kan değişimi için en sık nedenler olmasından dolayı, bu olgularda erken taburculukların önüne geçilmesi, ailelerin bilgilendirilmesi ve taburculuk sonrası yakın izlemleri ile kan değişim sıklığı azaltılabilir.

Anahtar kelimeler: Bilirubin ensefalopatisi, indirekt hiperbilirubinemi, kan değişimi, yenidoğan

ABSTRACT

Objective: Neonatal hyperbilirubinemia is a frequently seen clinical condition, and bilirubin encephalopathy is presety an important health problem. In our study the patients who had undergone blood exchange transfusion were evaluated as for responsible etiologic factors, complications developed due to blood exchange transfusion and development of bilirubin encephalopathy.

Methods: Between January 2012 and January 2015, infants who were admitted to İzmir Tepecik Training and Research Hospital due to hyperbilirubinemia and underwent exchange transfusion were retrospectively investigated. Demographic data, laboratory parameters, exchange complications and the frequency of development of bilirubin encephalopathy were investigated. Cases with bilirubin encephalopathy were compared with non-encephalopathic ones as for the presence of risk factors.

Results: Twenty-seven infants were included into the study and 59.3% of the cases were male and 55.6% of them were born with caesarean section. The mean gestational age of the infants was 36.5±3.1 weeks and their mean birth weight was 2912.5±759 grams. The mean age at the time of admission was 34.2±54.2 hours and 81% of infants had exchange transfusion within the first 24 hours due to ABO incompatibility in 40.7% and Rh incompatibility in 33% of the infants. Total bilirubin and platelet counts decreased after exchange transfusion, leading to a statistical difference (p<0.05). The most common complications were hypocalcemia (14%), thrombocytopenia (7%), and hypoglycemia (7%). Neurological effects of bilirubin encephalopathy were detected in 25.9% of the cases but there was no statistical difference in terms of demographic, etiologic and laboratory data when compared with those without neurologic involvement.

Conclusion: Though ABO, and Rh incompatibilities are the most frequently seen causes of blood exchange transfusions, the frequency of blood exchange transfusions may be decreased by preventing early discharges, informing the families, and close follow-up after discharge.

Keywords: Bilirubin encephalopathy, indirect hyperbilirubinemia, exchange transfusion, newborn

Alındığı tarih: 24.03.2017

Kabul tarihi: 24.07.2017

Yazışma adresi: Uzm. Dr. Senem Alkan Özdemir, Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Neonatoloji Bilim Dalı, İzmir

e-mail: drsenemalkan@yahoo.com

GİRİŞ

Hiperbilirubinemi yenidoğan döneminde sık karşılaşılan, genellikle iyi seyirli bir klinik durum olsa da bilirubine bağlı nörolojik hasar günümüzde hala önemli bir sağlık sorunudur. Yüksek bilirubin düzeyleri uygun tedavi yapılmadığı zaman kalıcı nörolojik sekele neden olabilmektedir. Erken tanı ve tedavi ile mortalite ve morbiditenin önüne geçilebilmekle birlikte, ne yazık ki ülkemiz için bilirubin ensefalopatisi hala sık karşılaşılan bir sorundur ⁽¹⁾.

Hiperbilirubinemiye bağlı toksisite santral sinir sistemini etkileyerek bilirubin ensefalopatisi adı verilen nörolojik ve gelişimsel sorunlara yol açmaktadır. Rh izoimmunizasyonun prenatal tanısı ve anti-D tedavisi sayesinde kan değişimi uygulanan olgu sayısı günümüzde azalmış olsa da, bilirubin düzeyinin nörotoksik olduğu öngörülen yüksek değerlerinde kan değişimi halen uygulanan bir tedavi yöntemidir ⁽²⁾. Kan değişiminin hiperbilirubinemiye bağlı nörotoksiteyi azalttığı bilinmesine karşın, uygulamanın kendisine ait komplikasyonlar da söz konusudur ^(3,4).

Bu çalışmada, yenidoğan kliniğimizde üç yıllık süre içinde hiperbilirubinemi nedeniyle kan değişimi (KD) yapılan bebeklerin genel özellikleri, etiyolojik nedenleri, kan değişimine bağlı komplikasyonlar ve bilirubin ensefalopatisi gelişimi yönünden risk faktörlerinin değerlendirilmesi hedeflendi.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu araştırma, retrospektif ve tek merkezli olup, çalışmaya 1 Ocak 2012 ve 1 Ocak 2015 tarihleri arasında İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Yenidoğan Kliniğine hiperbilirubinemi nedeni ile yatan ve KD yapılan bebekler dahil edilmiştir. Hastaların dosyalarından gebelik haftası, cinsiyet, doğum ağırlığı, doğum şekli, kan grupları, periferik kan yayması, hemoliz bulgusu olup olmadığı, KD öncesi ve sonrası tam kan sayımı, total bilirubin, serum üre ve kreatinin değerleri, kan kültürleri ve serum kalsiyum değerleri kaydedilmiştir. Kayıtlardaki verilerden hemoliz bulguları ile birlikte Rh (-) anneden doğan Rh (+) yenidoğanlarda Rh uyumsuzluğu, O grubu anneden doğan A ya da B grubu yenidoğanlarda ABO uyumsuzluğu sarılık nedeni olarak kabul

edilmiştir. Bebeklerin kan değişimine bağlı görülen komplikasyonları ve izlemlerinde gelişen nörolojik sorunlar kaydedilmiştir.

Tüm hastalara KD öncesi ve sonrası Amerikan Pediatri Akademisi (AAP) ve Türk Neonatoloji Derneği (TND) bilirubin nomogramlarına göre fototerapi verilmiş olup, KD ve FT'ye rağmen, serum total bilirubin değeri belirli düzeye ulaştığında, yine aynı izlem tablosu kullanılarak KD yinelenmiştir ^(2,5). Tüm bebeklerin kan değişimi standart rehberlerde belirtildiği gibi aşağıda anlatılan şekilde yapılmıştır ve tüm hastalara aynı izlem protokolü uygulanmıştır.

Kan değişimleri CMV taraması negatif olan, ışınlanmış ve lökosit filtresinden geçirilmiş taze tam kan ile ve miktarı 2 x vücut ağırlığı x 80 ml/kg şeklinde hesaplanarak yapılmıştır. Bebeğin ABO ve Rh uyumsuzluğuna göre seçilen 5 günü geçmemiş Acid Cytrate Dextrose (ACD) içeren torbada tam kan kullanılarak, aseptik koşullarda, çift volüm kan değişimi prosedürü ile umbilikal ven kateterinden, 60-90 dk.'da, her seferinde 5 mL/kg kan verilip alınarak, ayrıca her 100 mL kan değişiminde 1 cc kalsiyum glukonat verilmesi şeklinde uygulanmıştır ⁽⁶⁾. Aritmi izlemi için hasta başı monitör kullanılmış ve KD işlemi servo-kontrollü radian ısıtıcı altında, ısıtılmış kan ile hipotermiye izin verilmeyecek şekilde uygulanmıştır. KD sonrası hastaların tümüne, kan değişimi öncesi ve sonrası alınan kültür sonuçları çıkana kadar (en az 3 gün süreyle) ampirik antibiyotik tedavisi verilmiştir, Rh ve ABO uyumsuzluğu olanlara kan değişimi sonrası 1 g/kg'dan İVİG tedavisi uygulanmıştır.

KD'den 4 saat sonra total bilirubin değeri kontrol edilmiş, gerekli durumlarda 4-6 saate bir yinelenmiş, tam kan sayımı ise 12 saatte bir yapılmıştır.

KD'ne bağlı komplikasyonlar açısından trombosit değerinin 150×10^9 altı değerler trombositopeni, kan şekeri izleminde ilk 24 saat içerisinde <45 mg/dl, >24 saat olan bebeklerde <50 mg/dl değerler hipoglisemi olarak kabul edilirken, serum kalsiyum değerinin term bebeklerde 8 mg/dl, preterm bebeklerde 7 mg/dl altı olması hipokalsemi olarak kabul edilmiştir ⁽⁷⁾.

Kronik bilirubin ensefalopatisinin klasik sekel tetradı; ekstrapiramidal bozukluklar, yüksek frekanslı sensorinöronal işitme kaybı, özellikle yukarı bakış anormalliği olmak üzere bakış anormalliği ve diş

minesi hipoplazisi olarak kabul edilmektedir. Çalışmaya alınan bebeklerin poliklinik izlemlerinde anormal nörolojik muayene bulgusu saptanan olgular “nörolojik sorun gelişen bebekler” olarak gruplandırılmıştır⁽⁸⁾. Nörolojik sorun gelişen ve gelişmeyen olgular, demografik özellikleri, risk faktörleri ve kan değişimi öncesi laboratuvar değerleri açısından istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

İstatistiksel analiz olarak, merkezi eğilim ve yayılım ölçütleri, verilerin karşılaştırılmasında paired t testi, Mann-Whitney U test ve ki-kare testi kullanılmıştır. İstatistiksel analiz için SPSS 20.0 paket program kullanılmış olup, p değerinin 0,05’den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışma süresince Yenidoğan Ünitesinde toplam 27 bebeğe KD uygulanmıştır. Bebeklerin genel özellikleri Tablo 1’de verilmiştir. Bebeklerin ortalama gebelik yaşı 36,5±3,1 hafta olup, doğum ağırlığı 2912,5±759 gramdı. KD yapılan hastaların %59,3’ü erkek olup (n:16), sezaryen ile doğanlar %55,6 (n:15) oranındadır. Bebeklerin büyük bir çoğunluğuna (n:22, %81) ilk 24 saatte kan değişimi yapılmıştır. KD yapılan bebeklerin %40,7’sinde ABO uyuşmazlığı, %33’ünde Rh uyuşmazlığı saptanmıştır.

Bebeklerin KD öncesi ve sonrası laboratuvar verileri Tablo 2’de verilmiştir. Bebeklerin total bilirubin ve trombosit sayılarının KD sonrası anlamlı derecede düştüğü, diğer laboratuvar verilerinde anlamlı değişiklik olmadığı görüldü (p<0,05). Biyokimyasal verilere bakıldığında ise, serum kalsiyum seviyesinin KD

sonrası istatistiksel farka yol açacak şekilde düştüğü saptandı (p<0,05). Bu durum KD sırasında kullanılan tam kanın ACD içermesi ile ilişkilendirildi.

Çalışmada yer alan bebeklerin yedisinde (%25,9) bilirubine bağlı nörogelişimsel sorun belirlendi. Bebeklerin dördünde (%14) iki defa kan değişimi uygulandı. Nörogelişimsel sorun belirlenen hastaların üçünde (%11) sensörinöral işitme kaybı, dördünde (%14) kronik bilirubin ensefalopatisi ile uyumlu nörolojik muayene bulguları mevcuttu. Nörogelişimsel sorun gelişen bebeklerle nörogelişimsel sorun saptan-

Tablo 1. Kan değişimi yapılan bebeklerin genel özellikleri.

Gebelik yaşı (hafta)*	36,5±3,1
Doğum ağırlığı (g)*	2912,5±759
Erkek cinsiyet	16 (59)
Normal vaginal doğum	12 (44)
Postnatal yaş (saat)*	34,2±54,2
ABO uyuşmazlığı n (%)	12 (40,7)
Rh uyuşmazlığı n (%)	8 (29)

*Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 2. Kan değişimi yapılan bebeklerin laboratuvar verilerinin karşılaştırılması.

Parametre	KD Öncesi	KD Sonrası	p
Hematokrit (%)*	38,8±8,3	38,8±5,2	0,97
İndirekt bilirubin (mg/dL)*	19,0±7,1	10,0±5,02	0,001
PLT (L/mm ³)*	230±106,6	177,8±77,9	0,008
Kalsiyum (mg/dL)*	9,1±0,9	8,2±0,93	0,001
Üre (mg/dL)*	29,2±14,1	28,7±11,5	0,66
Kreatinin (mg/dL)*	0,98±0,21	0,94±0,15	0,10

* Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.
PLT: Trombosit sayısı

Tablo 3. Nörogelişimsel sorun gelişen bebeklerin nörogelişimsel sorunu olmayan bebeklerle karşılaştırılması.

	Nörogelişimsel sorun saptanan bebekler (n=7)	Nörogelişimsel sorunu olmayan bebekler (n=20)	p
Gebelik yaşı (hafta)*	36,8±3,4	36,4±3,1	0,76
Doğum ağırlığı (g)*	2872±586	2926±824	0,76
Erkek cinsiyet	4 (57)	12 (60)	0,89
Vaginal doğum	0 (0)	12 (60)	0,008
Postnatal yaş (saat)*	37±53,9	33,3±55,7	0,40
Hemolitik hastalık	2 (28)	7 (35)	0,75
KD öncesi hematokrit (%)*	39,7±9,1	38,5±8,3	0,93
KD öncesi T. bilirubin düzeyi (mg/dL)*	22,3±10,1	17,9±5,6	0,52
İlk 24 saatte KD	5 (71)	17 (85)	0,42

* Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

mayan bebekler karşılaştırıldığında, her iki grupta gebelik haftası, cinsiyet ve doğum ağırlıkları açısından fark bulunmamıştır. Ancak, nörogelişimsel sorun gelişen bebeklerde sezaryenle doğum oranı, nörolojik etkilenmesi olmayan bebeklere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla saptanmıştır ($p=0,008$). Nörogelişimsel sorun belirlenen bebeklerin diğer bebeklere kıyasla, KD öncesi daha yüksek bilirubin değerlerine sahip oldukları ve bu hastaların da %71'ine ilk 24 saat içinde KD uygulandığı saptanmıştır. Ancak bu durum istatistiksel farka yol açmamıştır. Diğer klinik ve laboratuvar parametreler açısından gruplar arasında anlamlı istatistiksel fark saptanmamıştır (Tablo 3). Nörolojik etkilenim gerçekleşen bebeklerde, hemoliz bulgusu açısından gruplar arası fark olmadığı, fakat erkek bebeklerin bu grupta daha fazla oldukları görülmüş, ancak istatistiksel fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimi olguların yalnızca 10'unda bakılabilmiş olup, bu olgularda G6PD düzeyinin normal olduğu saptanmıştır. İki bebekte (%7) hipoglisemi, dört bebekte (%14) hipokalsemi, iki bebekte (%7) trombositopeni, bir bebekte (%3,7) hiponatremi ve iki bebekte (%7) KD sonrası alınan kan kültüründe üreme görülmüştür. Çalışmaya alınan hasta grubunda mortalite olmamıştır.

TARTIŞMA

Sarılık yenidoğan döneminde sık görülen, genellikle kendiliğinden düzelen iyi seyirli bir klinik durumdur. Bilirubin düzeyinin belli bir sınırı aşması sonrasında ortaya çıkan bilirubin ensefalopatisi kalıcı ve geri dönüşümsüz nörolojik hasara yol açması nedeniyle önemlidir. Bilirubin düzeyinin fizyolojik düzeyleri aştığı durumlarda tedavi amacıyla fototerapi, nörotoksite riski taşıyan daha yüksek bilirubin düzeylerinde KD uygulanmaktadır. Çalışmamızda, üç yıllık bir süre içinde Yenidoğan Kliniğinde KD uygulanan olgular değerlendirilmiş, yaklaşık 1/4'ünde KD uygulamasına karşın bilirubin ensefalopatisine bağlı nörolojik sekel geliştiği belirlenmiştir. Özellikle ilk 24 saatte KD gerektiren hiperbilirubinemi sıklığının yüksek olduğu görülmüştür.

Ciddi hiperbilirubineminin KD ile tedavi edilmesi ilk olarak 1940'lı yıllarda başlamıştır⁽⁸⁾. Rh uygunsuzluğu, en sık endikasyon olup, KD gereksiniminin

%20-70 arasında değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir⁽⁹⁾. Anti-D immunoglobulin uygulamalarının yaygınlaşmasıyla Rh uygunsuzluğuna bağlı KD azalmakla birlikte, günümüzde ABO uygunsuzluğuna bağlı ağır hiperbilirubinemi nedeniyle KD en sık neden olarak görülmektedir^(9,10). Çalışmamızda da, literatürle benzer şekilde ABO uygunsuzluğuna bağlı ağır hiperbilirubinemi en sık KD endikasyonu olarak bulunmuştur.

Literatürde hiperbilirubinemi sıklığının erkek bebeklerde daha fazla olduğu bildirilmiştir⁽¹¹⁾. Çalışmamızda da, erkek bebek sıklığı daha fazla bulunmuştur. Yine, erkek bebeklerde ciddi hiperbilirubinemi ve bilirubin ensefalopatisi sıklığının kız bebeklere göre daha fazla olduğu bildirilmektedir^(11,12). Daha önce yapılan gözlemsel çalışmalarda da, erkek bebeklerde kız bebeklere kıyasla daha yüksek bilirubin seviyeleri görülmüştür. Benzer şekilde ABD Kernikterus çalışmasında erkek bebeklerde etkilenme, kız bebeklerden iki kat fazla saptanmıştır⁽¹³⁾. Becu-Villabos ve ark.⁽¹⁴⁾ erkek cinsiyet varlığında, bilirubin ilişkili etkilenime yatkınlık olduğunu ve bu durumun kesin olarak açıklanamamış olsa da intrauterin gonadotropinden kaynaklanabileceğini, geç embriyonik ve erken postnatal yaşamda santral sinir sistemi gelişimi üzerinde etkilerinin olabileceğini belirtmişlerdir⁽¹⁴⁾. Çalışmamızda, bilirubine bağlı nörolojik sorun gelişen bebeklerde cinsiyetle ilişki bulunmamıştır. Olgu sayısının yetersiz olmasının bu duruma yol açmış olabileceği düşünülmüştür.

İlk olarak 1960'lı yıllarda Yunanistan'dan yapılan kernikterus çalışmasında, G6PD eksikliğinin önemli hiperbilirubinemi nedeni olduğu tanımlanmıştır⁽¹⁹⁾. Daha sonrasında yapılan araştırmalarda da, bu durum desteklenmiştir. Ancak bu çalışmadaki olguların çoğunda G6PD enzim düzeyi çalışılamamış olmasından dolayı değerlendirilememiş olması çalışmanın önemli bir kısıtlayıcı yönüdür.

Doğum şekli ile hiperbilirubinemi riskinin araştırıldığı bir çalışmada; vakum ile doğum bir risk etmeni olarak bildirilirken, sezaryen ile doğan bebeklerde sarılık gelişme riskinin daha düşük olduğu bildirilmiştir⁽¹⁵⁾. Çalışmamızda, literatürden farklı olarak bebeklerin yalnızca %44,4'ü vaginal doğum ile doğmuş ve iki grupta da hiçbir bebekte sefal hematoma saptanmamıştır. Sezaryen ile doğan bebeklerde daha fazla nörolojik sorun belirlenmiştir. Bu durum, önem-

li perinatal sorunu olan ve antenatal etkilenme belirlenen bebeklerin doğumunda, obstetrisyenlerin sezaryen ile doğumu öncelikle yeğlemiş olabilmesi ve bu olgularda erken dönemde beslenmenin daha yetersiz olması ile kısmen açıklanabilir.

Türk Neonatoloji Derneği 2016 önerilerinde de belirtildiği gibi, kan değişimi işleminde, ısılanmış, lökosit düzeyi azaltılmış, bebek kan grubu ile uyumlu kan ile KD işlemi gerçekleştirilir. Rh hemolitik hastalığı için, ABO uygun Rh negatif veya O grubu Rh negatif ve salin ya da yenidoğana uyumlu plazmada çözünmüş eritrosit süspansiyonu kullanılmalıdır. ABO uyumsuzluğu için kan değişiminde ise O grubu Rh uyumlu eritrositler yeğlenmelidir. Kan değişiminde kullanılacak kan ek solüsyonu uzaklaştırılmış eritrosit ve eritilmiş taze donmuş plazma içermelidir ve ortalama hematokrit değeri %45-60 arasında istenmektedir. Eritrosit O grubu veya maternal ABO grubu ile uyumlu Rh negatif, plazma tercihen AB grubundan olmalı ve annenin antikor geliştirdiği herhangi bir eritrosit antijenini içermemeli ve anne serumu ile çapraz karşılaştırması uyumlu olmalıdır ^(16,17). Ancak eritrosit süspansiyonu ile taze donmuş plazma karışımının hazırlanamadığı durumlarda tam kan da kullanılabilir ⁽¹⁸⁾. Her ne kadar tam kan karışımlarına bağlı sensitizasyon reaksiyonlarının daha fazla olabileceği belirtilse de çalışmamızda bu durum izlenmemiştir ^(16,17). Tam kan ile yapılan kan değişimine bağlı komplikasyon sıklığı da literatürde farklılıklar göstermektedir ⁽¹⁵⁾. Hipokalsemi, hipoglisemi, apne, bradikardi gibi işleme bağlı komplikasyonların %5,2-17 sıklığında görüldüğü bildirilmiştir ⁽¹⁸⁾. Benzer şekilde taze donmuş plazma ve eritrosit süspansiyonu ile hazırlanan karışımlarla yapılan KD durumunda %5-10 oranında akut komplikasyon (hipoglisemi, bradikardi, siyanoz, tromboz gibi) görülebilmektedir. Mortalite oranı tüm KD'lerinde %0,3-1,5 arasında değişmekte olup, daha çok klinisyenin deneyimine ve işlemin yapıldığı merkezin teknik donanımına göre farklılık göstermektedir ⁽¹⁸⁾. Fototerapinin yaygın kullanımı, riskli olabilecek gebelerin erken belirlenmesi ve sensitizasyon reaksiyonlarının önlenmesi ile KD sıklığı azaltılmaya çalışılsa da, gerekli durumlarda bu işlemin KD konusunda deneyimli olan merkezlerde yapılması uygun bir yaklaşım olacaktır.

Çalışmamızda, KD ile ilişkili nekrotizan enterokolit ve böbrek yetmezliği gibi ciddi komplikasyonlar izlenmedi ve hiçbir olguda bu komplikasyonlara bağlı kalıcı sekel ve ölümle karşılaşılmadı. KD'ne bağlı en sık görülen komplikasyonlar ise hipokalsemi (%14), trombositopeni (%7) ve hipoglisemi (%7) idi. Hipokalsemi tablosu tam kanda antikoagülan olarak kullanılan ACD miktarı ile ilişkilendirilmiş olup, trombositopeni masif yapılan transfüzyona ikincil gelişen bir komplikasyon olarak karşımıza çıkmaktadır.

Hemoliz hiperbilirubinemi gelişiminde major risk faktörüdür, ancak aynı zamanda bilirubin nörotoksitesinin oluşmasını da arttırabilmektedir. Hemoliz ile giden durumlarda nonhemolitik durumlara kıyasla beyin hasarının arttığı bazı araştırmalarda gösterilmiştir ^(20,21). Geçmiş yıllarda Rh izoimmunizasyonu sıkça suçlanırken, alınan sıkı koruyucu önlemler sayesinde eski önemini yitirmiş olsa da gelişmekte olan ülkeler için hala önemini korumaktadır. Sonuç olarak, çalışmamızda Rh izoimmunizasyonuna bağlı KD yapılan bebeklerin oranı %40,7 idi. Genel olarak kabul edilen görüş, hemolitik hastalıklarda bilirubin ilişkili nörotoksitenin daha fazla olduğu yönde olsa da, aynı bilirubin düzeyinde hemoliz olmadan da nörotoksitate gelişebildiği gösterilmiştir ^(22,23). Wennberg ve ark. ⁽²⁴⁾ Pilot Kernikterus çalışmalarında, hemolizi olan ve olmayan olguların benzer otopsi bulgularına sahip olduğunu göstermişlerdir. Bir diğer çalışmada, Chen ve ark. ⁽²⁵⁾ hiperbilirubinemik olan bebekleri iki grupta değerlendirmiş ve KD oranı hemolitik grupta daha fazla olmasına rağmen, hastaların uzun dönem izlemlerinde nörolojik izlemlerini benzer olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda, nörolojik etkilenimi olan ve olmayan hastaların değerlendirilmesinde hemolitik hastalık oranları gruplar arasında benzer olarak bulunmuştur. Bu durum akla yüksek bilirubin seviyesine olan maruziyet süresinin temel belirleyici faktör olduğunu düşündürmektedir. Bir diğer önemli nokta ise kan beyin bariyerinin geçirgenlik durumudur. Fetal yaşamda oluşmadığı ve yaşamın ilk günlerinde bu bariyerin olmadığı kabul edilmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda, ankonjuge bilirubinin anormal şekilde arttığı durumlarda serebral ekstrasellüler boşluğa penetre olduğu, bunun da bilirubin ilişkili nörotoksositeye ve kernikterus tablosuna yol açtığı düşünülmektedir ⁽²⁶⁾. Bu durum özellikle ilk 24 saatte yapılan KD sıklıkla-

rının artmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak, çalışmamızda nörolojik etkilenim gösteren bebeklerin %71'i ilk 24 saat içinde KD yapılan olgular olup, diğer iki bebek ise geç gelen bebeklerdir. Amerika Birleşik Devletleri'nde, 1992-2004 yılları arasında 125 infantın akut bilirubin ensefalopati ve/veya postiktirik sekel gelişen bebeklerin değerlendirildiği geniş kapsamlı bir çalışmada, mortalite ve morbiditenin erken dönemde sarılık gelişen bebeklerde daha fazla olduğu gösterilmiştir⁽¹³⁾.

Hiperbilirubineminin önlenmesi ve tedavisinde en önemli nokta ciddi hiperbilirubinemi gelişiminin önüne geçilmesidir.

Sonuç olarak, bu çalışmada, KD yapılan bebeklerde, erkek cinsiyet, ilk 24 saatte başlayan sarılık ve grup uyumsuzluklarının daha fazla olduğu gösterilmiştir. ABO ve Rh uyumsuzluğunun hala en sık KD yapılma nedeni olmasından dolayı, bu grup olgularda erken taburculukların önüne geçilmesi, ailelerin bilgilendirilmesinin sağlanması ve taburculuk sonrası yakın izlemleri ile KD sıklığı azaltılabilir.

KAYNAKLAR

1. Ip S, Chung M, Kulig J, O'Brien R, Sege R, Glick S et al. An evidence-based review of important issues concerning neonatal hyperbilirubinemia. *Pediatrics* 2004;114:130-53. <https://doi.org/10.1542/peds.114.1.e130>
2. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics* 2004;114:297-306. <https://doi.org/10.1542/peds.114.1.297>
3. Burke BL, Robbins JM, Bird TM, Hobbs CA, Nesmith C, Tilford JM. Trends in hospitalizations for neonatal jaundice and kernicterus in the United States. *Pediatrics* 2009;123:524-532. <https://doi.org/10.1542/peds.2007-2915>
4. Murray N, Roberts I. Haemolytic disease of the newborn. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2007;92:83-88. <https://doi.org/10.1136/adc.2005.076794>
5. Türk Neonatoloji Derneği. Yenidoğan sarılıklarında yaklaşım, izlem ve tedavi rehberi 2014.
6. Badiie Z. Exchange transfusion in neonatal hyperbilirubinemia: experience in Isfahan, Iran. *Singapore Med J* 2007;48:421-3.
7. Yel S, Kelekçi S, Konca Ç, Yolbaş İ, Şen V, Katar S. Kan grubu uyumsuzluğu bulunmayan yenidoğanlarda kan değişimi sonuçları. *Dicle Tıp Dergisi* 2012;40:231-36. <https://doi.org/10.5798/diclemedj.0921.2013.02.0260>
8. Steven M, Shapiro MD. Definition of the clinical spectrum of kernicterus and bilirubin-induced neurologic dysfunction. *Journal of Perinatology* 2005;25:54-59. <https://doi.org/10.1038/sj.jp.7211157>
9. Bujandric N, Grujic J. Exchange transfusion for severe neonatal hyperbilirubinemia: 17 Years' Experience from Vojvodina, Serbia. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2016;32:208-14. <https://doi.org/10.1007/s12288-015-0534-1>
10. Lopriore E, Rath ME, Liley H, Smits-Wintjens VE. Improving the management and outcome in haemolytic disease of the foetus and newborn. *Blood Transfus* 2013;(4):484-96.
11. Maisels MJ, Watchko JF. Treatment of jaundice in low birth weight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003;88:459. <https://doi.org/10.1136/fn.88.6.F459>
12. Bülbül A, Okan F, Uslu S, Işçi E, Nuhoğlu A. Term bebeklerde hiperbilirubineminin klinik özellikleri ve risk etmenlerinin araştırılması. *Türk Pediatri Arşivi* 2005;40:204-210.
13. Johnson L, Bhutani VK, Karp K, Sivieri EM, Shapiro SM. Clinical report from the pilot kernicterus registry (1992 to 2004). *J Perinatol* 2009;29:25-45. <https://doi.org/10.1038/jp.2008.211>
14. Becu-Villabos D, Gonzalez Iglesias A, Diaz-Torga G, et al. Brain sexual differentiation and gonadotropins secretion in the rat. *Cell Mol Neurobiol* 1997;17:699-715. <https://doi.org/10.1023/A:1022542221535>
15. Rekha BS, Patricia L, Angela D, Maria L. Dehydration and hypernatremia in breastfed term healthy neonates. *Indian J of Ped* 2006;73:39-41. <https://doi.org/10.1007/BF02758258>
16. Türk Neonatoloji Derneği. Kan ürünleri transfüzyon rehberi 2016.
17. Wong RJ, DeSandre GH, Sibley E, Stevenson DK. Neonatal jaundice and liver disease. In: Neonatal-Perinatal Medicine: Diseases of the Fetus and Infant, 8th ed, Martin RJ, Klaus MH, Fanaroff AA, Walsh MC (Eds), Mosby and Elsevier, Philadelphia 2006. p.1446.
18. Watchko J, Maisels J. Enduring controversies in the management of hyperbilirubinemia in preterm neonates. *Semin Fetal Neonatal Ed* 2006;3:136-140.
19. Kaplan M, Hammerman C. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and severe neonatal hyperbilirubinemia: a complexity of interactions between genes and environment. *Semin Fetal Neonatal Med* 2010;15:148-56. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2009.10.007>
20. Maisels MJ, Bhutani VK, Bogen D, Newman TB, Stark AR, Watchko JF. Hyperbilirubinemia in the newborn infant ≥ 35 weeks' gestation: an update with clarifications. *Pediatrics* 2009;124:1193-98. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-0329>
21. Kaplan M, Bromiker R, Hammerman C. Hyperbilirubinemia, hemolysis and increased bilirubin neurotoxicity. *Semin Perinatol* 2014;38:429-37. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2014.08.006>
22. Newman TB, Maisels MJ. Does hyperbilirubinemia damage the brain of healthy full-term infants? *Clin Perinatol* 1990;17:331-358.
23. Newman TB, Maisels MJ. Evaluation and treatment of jaundice in the term newborn: a kinder, gentler approach. *Pediatrics* 1992;89:809-18.
24. Wennberg RP, Ahlfors CE, Bhutani VK, Johnson LH, Shapiro SM. Toward understanding kernicterus: a challenge to improve the management of jaundiced newborns. *Pediatrics* 2006;21:474-85. <https://doi.org/10.1542/peds.2005-0395>
25. Chen WX, Wong VC, Wong KY. Neurodevelopmental outcome of severe neonatal hemolytic hyperbilirubinemia. *J Child Neurol* 2006;21:474-79. <https://doi.org/10.1177/08830738060210061301>
26. Brito MA, Pereira P, Barroso C, Aronica E, Brites D. New autopsy findings in different brain regions of a preterm neonate with kernicterus: neurovascular alterations and up-regulation of efflux transporters. *Pediatr Neurol* 2013;49:431-8. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2013.08.020>

46, XY cinsiyet gelişim bozukluğunun nadir bir nedeni: Persistan müller kanalı sendromu

A rare cause of a 46, XY disorders of sex development: Persistent müllerian duct syndrome

Sezer ACAR¹, Ahu PAKETÇİ¹, Hüseyin ONAY², Korcan DEMİR¹, Oğuz ATEŞ³, Ece BÖBER¹, Ayhan ABACI¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Endokrinolojisi Bilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, İzmir

³Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Ana Bilim Dalı, İzmir

ÖZ

Persistan müller kanalı sendromu (PMKS) görece nadir görülen 46,XY cinsiyet gelişim bozukluğudur ve klinik olarak normal dış genital yapıya sahip erkeklerde inmemiş testis, uterus ve fallop tüpleri gibi müller kanal türevlerinin varlığı ile karakterizedir. Bu hastalık sıklıkla müller yapıların regresyonunda rol oynayan anti-Müllerian hormon (AMH) veya onun reseptörü olan AMH reseptör tip 2 (AMHR2) genindeki genetik bozukluğun sonucunda ortaya çıkmaktadır. Genetik nedenleri ortaya konulmuş olguların %45'inde AMHR2 mutasyonu saptandığı bildirilmektedir. En sık başvuru bulguları bilateral kriptorşidizm veya transvers testiküler ektopidir. Uterus ve tüplerin varlığı genellikle kriptorşidizm için yapılan ameliyat sırasında saptanmaktadır. Burada, bilateral inmemiş testis nedeni ile yapılan laparoskopik girişim sırasında müller yapıları (uterus ve fallop tüpleri) saptanan ve önceden bildirilen bir homozigot AMHR2 mutasyonu tanımlanan PMKS'li bir olgu sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Anti-müllerian hormone, inmemiş testis, Persistan müller kanalı sendromu

ABSTRACT

Persistent müllerian duct syndrome (PMDS) is a relatively rare form of a 46,XY disorders of sex development and clinically characterized by undescended testes and the presence of müllerian duct derivatives such as a uterus and fallopian tubes in males with normal external genitalia. The disease is frequently caused either by the genetic defect of the anti-müllerian hormone (AMH) or its receptor AMH receptor type 2 (AMHR2) gene. AMHR2 mutations have been reported in 45% of genetically proven cases with PMDS. The most common referral findings are bilateral cryptorchidism or transverse testicular ectopia. The presence of uterus and tubes is usually detected during surgery for cryptorchidism. Herein we have presented a PMDS patient with previously reported homozygous AMHR2 mutation, in whom müllerian structures (uterus and fallopian tubes) were detected during laparoscopic intervention performed with the indication of bilateral undescended testis.

Keywords: Anti-müllerian hormone, undescended testis, persistent müllerian duct syndrome

Alındığı tarih: 29.07.2017

Kabul tarihi: 29.10.2017

Yazışma adresi: Doç. Dr. Ayhan Abacı, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Endokrinolojisi Bilim Dalı, Narlıdere - 35340 - İzmir - Türkiye

e-mail: dr.acarsezer@gmail.com

GİRİŞ

Persistan (kalıcı) müller kanalı sendromu (PMKS), görece nadir görülen bir genetik hastalık olup, müller yapıların (uterus fallop tüpleri, vajenin üst kısmı) gerilememesi ile karakterize 46, XY cinsiyet farklılaşma bozukluğudur ⁽¹⁾. PMKS genellikle müller

yapıların intrauterin dönemdeki gerilemesinde rol oynayan anti-müllerian hormon (AMH) veya AMH reseptör tip 2 (AMHR2) genlerindeki fonksiyon kaybıdır ⁽¹⁾. Transforming growth factor- β (TGF- β) ailesinden olan AMH, sertoli hücresinden üretilmektedir ve AMHR2 üzerinden etki göstererek müller yapıların

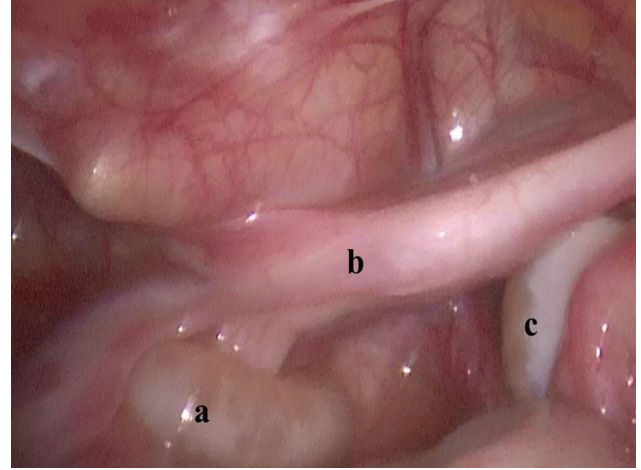
regresyonunu sağlamaktadır ^(2,3). Sıklığı net olarak bilinmemekle birlikte, PMKS'nin ilk tanımlandığından bu yana literatürde yaklaşık 200 olgu bulunmaktadır ⁽¹⁾. En sık başvuru bulguları tek taraflı veya bilateral inmemiş testis, inguinal herni, transvers testiküler ektopidir ^(1,4). Bu bulgulara sahip olgular, sıklıkla çocuk cerrahisi tarafından yapılan düzelme ameliyatları sırasında müller yapıların saptanması sonucunda PMKS tanısı almaktadır ^(1,4). Bunun yanında, hematüri, hemospermi, karın ağrısı, libido kaybı, infertilite yakınmaları ile PMKS tanısı alan erişkin olgular da bildirilmiştir ^(1,5,6).

PMKS hastalarının %85'inden AMH veya AMHR2 mutasyonları sorumlu iken, %15'inde etiyolojik neden saptanamamaktadır ⁽⁷⁾. Genetik nedenleri ortaya konulmuş olguların %45'inin AMHR2 mutasyonu olduğu bildirilmektedir ⁽⁸⁾. Bu iki durum klasik olarak serum AMH düzeyine göre birbirinden ayrılmaktadır. Serum AMH düzeyinin çok düşük olması AMH gen mutasyonunu, normal veya yüksek olması ise AMHR2 gen mutasyonunu desteklemektedir ^(5,7). AMHR2 12q13.13'te lokalize olup, 11 ekzondan oluşmaktadır ⁽⁷⁾. İlk üç ekzon ekstraselüler, dördüncü ekzon transmembran, geri kalan kısımlar ise intraselüler yapıyı kodlamaktadır ⁽⁷⁾. AMHR2 mutasyonları çoğunlukla otozomal resesif olarak kalıtılmaktadır, ancak literatürde bazı olgularda otozomal dominant ve X'e bağlı geçiş de bildirilmektedir ^(3,7,9). Bu olgu raporunda, bilateral inmemiş testis nedeni ile yapılan laparoskopik girişim sırasında müller yapıları (uterus ve fallop tüpleri) saptanan ve AMHR2 geninde mutasyonu tanımlanan PMKS olgusu sunulmuştur.

OLGU

On beş aylık ve bilateral inmemiş testisi bulunan haricen erkek görünümlü olgu, cinsiyet gelişim bozukluğu açısından değerlendirilmek üzere Çocuk Cerrahisi Bölümü tarafından gönderildi. Hastanın doğumdan bu yana bilateral inmemiş testis açısından Çocuk Cerrahisi tarafından takip edildiği, 2 hafta önce testislerin indirilmesi amacı ile laparoskopik girişim yapıldığı öğrenildi. Bu girişim sırasında müller yapıları (uterus, fallop tüpleri) ve bilateral over görünümlü gonad saptandığı (Resim 1) ve bunu üze-

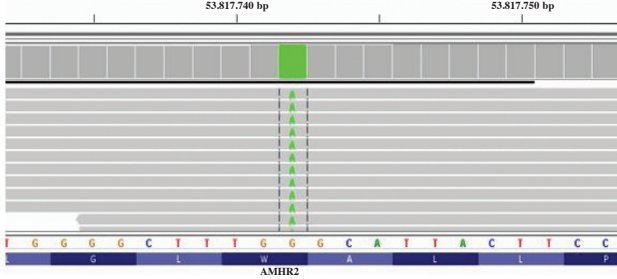
rine gonad biyopsisi yapılarak ameliyatın sonlandırıldığı bildirildi. Yirmi yedi yaşındaki annenin ilk gebeliğinden, miadında ve 2800 g olarak doğan olgunun anne-babası arasında akrabalık yoktu. Soygeçmişinde benzer hastalık öyküsü bulunmuyordu.



Resim 1. Laparoskopi sırasında saptanan uterus (b) ve gonadlar (a, c).

Genital değerlendirmede gergin penis boyu 4,5 cm ölçüldü. Üretranın normal yerleşimde olduğu görüldü. Hipoplazik yapıda olan skrotumda veya inguinal alanlarda gonad palpe edilemedi. Sistemik muayenede ek bir özellik saptanmadı. Laboratuvar incelemesinde foliküler uyarıcı hormon (FSH) 1,27 IU/mL (1,27-19,26 IU/mL), lüteinleştirici hormon (LH) <0,2 IU/mL (0,03-3,9 IU/mL), total testosteron <0,1 ng/mL, dihidroepiandrostenodion-sülfat (DHEA-S) 5,2 µg/dL (1-41 µg/dL), androstenodion <0,30 ng/mL (0,6-3,1 ng/mL), 17-hidroksi-progesteron 0,13 ng/mL (0,63-12,2 ng/mL) olarak saptandı ve hastanın bu laboratuvar değerleri prepubertal döneme göre normal olarak değerlendirildi. Human chorionic gonadotropin (hCG) testi sonrasında bakılan total testosteron düzeyi 3,39 ng/mL olarak saptandı ve bu testosteron yanıtı normal olarak (Δ Testosteron >1 ng/mL) değerlendirildi. Gonad biyopsisinin normal testis histolojisi ile uyumlu olduğu rapor edildi. Karyotipi 46, XY olarak saptandı. AMH düzeyi 105 ng/mL (33,4-342,5) olarak ölçüldü. PMKS düşünülen olgunun AMHR2 geni birinci ekzonunda daha önce bildirilmiş olan c.24G>A (p. W8X) nonsense (anlamsız) mutasyonu homozigot

olarak saptandı (Şekil 1). Anne ve babanın AMHR2 geninde c.24G>A (p.W8X) heterozigot mutasyon saptandı ve aileye genetik danışma verildi. Hasta, müller yapıları çıkarılması ve orşiopeksi yapılması sonrasında poliklinik izleme alındı.



Şekil 1. Yeni nesil dizi analizi yöntemi ile hastanın AMHR2 geninde saptanan homozigot c.24G>A (p.W8X) mutasyonu.

TARTIŞMA

İntra-abdominal yerleşimli testisler, müllerian kalıntıları ve normal erkek dış genital yapıya sahip PMKS tanılı olgumuzda daha önce tanımlanmış bir AMHR2 mutasyonu saptandı (c.24G>A, p.W8X). Bugüne kadar tanımlanmış 60'tan fazla AMHR2 gen mutasyonu bulunmaktadır (7). Hastamızda saptanan nokta mutasyonu sonucunda, 11 ekzondan oluşan bu genin, birinci ekzonun 24. pozisyonundaki guanin (G) nükleotidi adenin (A) nükleotidi ile yer değiştirmiştir. Bunun sonucunda, triptofan aminoasidini kodlayan UGG kodonu UGA stop kodonuna dönüşmüştür ve protein sentezinin erken dönemde sonlanmasına yol açmıştır. Bu mutasyon, bilateral inmemiş testis ve tek taraflı inguinal şişlik nedeni ile başvuran ve transvers testiküler ektopi saptanmış PMKS'li bir olguda bildirilmektedir (10). Aynı mutasyon olmasına rağmen, bu hastamızda her iki testis abdominal yerleşimli saptanmıştır. Testis inişinde önemli rol oynayan AMH ve ilgili reseptörü olan AMHR2'deki mutasyonlar farklı kliniklere yol açabilmektedir.

Gestasyonun erken dönemlerinde her iki cinsiyette müller ve wolf yapıları birlikte bulunmaktadır. Erkek olgularda, gestasyonun yedinci haftasından sonra sertoli hücrelerinden salgılanan AMH, ilgili reseptörü olan AMHR2 ile etkileşerek müller yapılarının regresyonunu sağlamaktadır (3,7). Buna karşılık, AMH ve AMHR2'deki fonksiyon kaybettirici mutas-

yonlar varlığında müllerian kanal gerilemeyerek uterus, fallop tüpleri, serviks ve vajen üst kısmına farklılaşmaktadır (3,7). Bu patolojilere ek olarak bu hastalarda, testis iniş anomalileri (bilateral inmemiş veya transvers testis) de sıklıkla saptanmaktadır (7,11). PMKS olgularındaki bu patolojinin, AMH'nın etki gösterememesi veya testislerin müllerian yapı kalıntılarına yapışık kalmasından dolayı ortaya çıkmış olabileceği ileri sürülmektedir (11,12).

Erkek cinsiyet gelişim bozukluğu olarak tanımlanan PMKS olgularının %85'lik kısmında AMH veya AMHR2 genlerinde mutasyon saptanabilirken, geri kalan kısmına ise bu genlerde mutasyon saptanmadığı bildirilmektedir (8). Hangi gende bozukluk olduğuna dair karar, AMH düzeyine göre verilmektedir. Genel olarak AMH düzeyinin çok düşük veya ölçülemeyecek düzeyde olması AMH gen defektini işaret etmektedir (3,7,8). Ancak, literatürde AMH geninde mutasyon saptanıp normal AMH düzeyine sahip olguda bulunmaktadır (13). Bu olgu raporunda saptanan mutasyonun AMH sentezini engellemediği, ancak hormon aktivitesini bozarak biyoinaktif bir moleküle neden olduğu öne sürülmektedir. AMHR2 mutasyonlarında ise reseptör aktivitesine göre serum AMH düzeyi normal veya yüksek beklenmektedir (5,7,11). Literatürde benzer mutasyon saptanan olguda AMH düzeyi yüksek bildirilmesine karşın, bu olgu raporunda AMHR2 mutasyonu (c.24G>A) saptadığımız olgunun AMH düzeyi normal sınırlarda saptanmıştır. Erken bir stop kodon oluşumu ile sonuçlanan bu mutasyon, reseptörün sentezlenmemesini engellemektedir. Bu nedenle, Korkmaz ve ark. (10) tarafından aynı mutasyonun tanımlandığı olgudaki gibi, olgumuzda da serum AMH düzeyinin yüksek olması gerekirdi. Olgumuzdaki serum AMH (yarı ömür 1,5-2 gün) ölçümü hCG uyarı testinden iki gün sonra yapıldı. Bu nedenle, uygulanan hCG sonrasında artan intratestiküler testosteron düzeyinin, sertoli hücrelerinden sentezlenen AMH'yı güçlü bir şekilde inhibe ettiği ve yüksek olması beklenen serum AMH düzeyinin normal sınırlara çekilmiş olabileceğini düşünmekteyiz (14,15). Bu ilişkiyi net olarak açıklayabilmek için, orşiopeksi sonrasında, hCG testi ile sentezlenen testosteron etkisinin geçtiği bir dönemde, serum AMH düzeyinin yine ölçülmesi planlandı. Ancak, bazı

nedenlerden dolayı bu ölçüm gerçekleştirilemedi.

Belirgin bir kliniği bulunmayan olgularda, ailenin fark etmemesi veya rutin muayenelerde genital muayenenin yapılmaması durumunda bu hastalık kolaylıkla atlanabilir. Çocukluk çağında genellikle tesadüfi olarak inmemiş testis veya inguinal herni operasyonları sırasında saptanabilmektedir. Ender olarak, erişkin dönemde de bildirilmektedir ⁽⁶⁾. Testislerin skrotum dışında yerleştiği durumlarda, yaşamın altıncı ayından sonra tedrici olarak germ hücre kaybı gerçekleşmektedir ⁽¹⁶⁾. Bununla birlikte, testis skrotomdan ne kadar uzağa yerleşirse, germ ve leydig hücre kaybının ve infertilite riskinin o kadar yüksek olduğu ileri sürülmektedir ⁽¹⁶⁾. İnfertilite nedeni ile başvuru PMKS tanısı konulan inmemiş testisi saptanan erişkin olgularda sperm sayısının ve testosteron sentezinin etkileneceği olduğu bildirilmektedir ^(5,6,17). Her iki testisi abdomende yerleşik bulunan olgumuzun yapılan gonad biyopsisinde, seminifer tübüllerinin histolojisi ve germ hücrelerinin normal yapıda olduğu rapor edildi. Bunun yanında, olgumuzun germ hücreleri hakkında net bilgi verebilmek için testisler indirildikten sonra uzun süreli izlem ve puberte sonrası sperm sayılarının değerlendirilmesi gerekmektedir. Ayrıca, operasyon sırasında müller kalıntılarına yapışık halde bulunan testislerin serbestleştirilip skrotuma indirilmesi sırasında da yapı ve fonksiyonlarının etkilenebileceği göz ardı edilmemelidir.

İnfant dönemde bu olguların testis ve müller kalıntı histolojisi normal iken erken müdahale edilmez ise zaman içinde malign değişim gösterebildiği bilinmektedir. Bu olgulardaki malign değişim sıklığının yaşla birlikte artmakla beraber, %5-18 arasında olduğu bildirilmektedir ⁽¹⁾. Bu hastalarda embriyonel karsinom, seminom, yolk salk tümörü ve teratom geliştiği rapor edilmektedir ^(1,3). Bir çalışmada, inmemiş testis olgularındaki tümör geliştirme riskinin abdominal testis yerleşimli olgularında ingüinal yerleşimli olanlardan daha yüksek olduğu ve bu riskin testisin indirilmesi sonrasında da devam ettiği ileri sürülmektedir ⁽¹⁸⁾. Bu olguda, yapılan testis biyopsisinde histolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmesinde tümör bulgusu saptanmadı. Ameliyat sonrası tümör geliştirme riskinin ortadan kalkmaması nedeni ile düzenli aralıklar ile izlemine devam edil-

mesi planlandı.

Sonuç olarak, bu olgu raporu ile erkek fenotipinde olan ve bilateral inmemiş testis olgularında iç genital yapıların olası cinsiyet gelişim bozuklukları açısından erken dönemde (ilk 6 ay) değerlendirilmesi gerekliliğini ve olası riskler (infertilite, testiküler malignite riski) açısından erken müdahalenin önemi vurgulamak istedik.

Not: Bu olgu raporu 26-30 Nisan 2017 tarihinde Antalya'da düzenlenen XXI. Ulusal Pediatrik Endokrinoloji Kongresi'nde sunulmuştur.

Hasta Onayı: Hastadan bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Farikullah J, Ehtisham S, Nappo S, Patel L, Hennayake S. Persistent Mullerian duct syndrome: lessons learned from managing a series of eight patients over a 10-year period and review of literature regarding malignant risk from the Müllerian remnants. *BJU Int* 2012;110:1084-1089. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2012.11184.x>
2. Rey RA, Grinspon RP. Normal male sexual differentiation and aetiology of disorders of sex development. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011;25:221-238. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2010.08.013>
3. Nalbantoğlu Ö, Demir K, Korkmaz HA, Büyükinan M, Yıldız M, Tunç S, et al. A novel mutation of AMH in three siblings with persistent Mullerian duct syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2015;28:1379-1382. <https://doi.org/10.1515/jpem-2014-0501>
4. Kaul A, Srivastava KN, Rehman SM, Goel V, Yadav V. Persistent müllerian duct syndrome with transverse testicular ectopia presenting as an incarcerated inguinal hernia. *Hernia* 2011;15:701-4. <https://doi.org/10.1007/s10029-010-0707-7>
5. Demir O, Kizer O, Sen V, Esen AA. Persistent müllerian duct syndrome in adult men diagnosed using laparoscopy. *Urology* 2011;78:566. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2010.11.015>
6. Smith-Harrison L, Patel MS, Smith RP, Schenkman NS. Persistent Müllerian duct structures presenting as hematuria in an adult: Case report of robotic surgical removal and review of the literature. *Urol Ann* 2015;7:544-6. <https://doi.org/10.4103/0974-7796.164859>
7. Mazen I, El-Gammal M, McElreavey K, Elaidy A, Abdel-Hamid MS. Novel AMH and AMHR2 Mutations in Two Egyptian Families with Persistent Müllerian Duct Syndrome. *Sex Dev* 2017;11:29-33. <https://doi.org/10.1159/000455019>

8. Josso N, Rey RA2, Picard JY. Anti-mullerian hormone: a valuable addition to the toolbox of the pediatric endocrinologist. *Int J Endocrinol* 2013;2013:674105. <https://doi.org/10.1155/2013/674105>
9. Messika-Zeitoun L, Gouédard L, Belville C, Dutertre M, Lins L, Imbeaud S, et al. Autosomal recessive segregation of a truncating mutation of anti-Müllerian type II receptor in a family affected by the persistent Müllerian duct syndrome contrasts with its dominant negative activity in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(9):4390-7. <https://doi.org/10.1210/jcem.86.9.7839>
10. Korkmaz Ö, Özen S, Özcan N, Bayındır P, Şen S, Onay H, et al. Persistent mullerian duct syndrome with transverse testicular ectopia: a novel amh receptor mutation. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2017 Jan 17. <https://doi.org/10.4274/jcrpe.4058>
11. Josso N, di Clemente N, Gouedard L. Anti-Mullerian hormone and its receptors. *Mol Cell Endocrinol* 2001;179:25-32. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(01\)00467-1](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(01)00467-1)
12. Behringer RR, Finegold MJ, Cate RL. Mullerian-inhibiting substance function during mammalian sexual development. *Cell* 1994;79:415-25. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90251-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90251-8)
13. Menabo S, Balsamo A, Nicoletti A, Gennari M, Pirazzoli P, Cicognani A, et al. Three novel AMH gene mutations in a patient with persistent mullerian duct syndrome and normal AMH serum dosage. *Horm Res* 2008;70(2):124-8. <https://doi.org/10.1159/000137664>
14. Claes A, Ball BA, Almeida J, Corbin CJ, Conley AJ. Serum anti-Mullerian hormone concentrations in stallions: developmental changes, seasonal variation, and differences between intact stallions, cryptorchid stallions, and geldings. *Theriogenology* 2013;79:1229-1235. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.03.019>
15. Young J, Chanson P, Salenave S, Noel M, Brailly S, O'Flaherty M, et al. Testicular anti-mullerian hormone secretion is stimulated by recombinant human FSH in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:724-8. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0542>
16. Wilkerson ML, Bartone FF, Fox L, Hadziselimovic F. Fertility potential: a comparison of intra-abdominal and intracanalicular testes by age groups in children. *Horm Res* 2001;55:18-20. <https://doi.org/10.1159/000049958>
17. Patil V, Muktinaini S, Patil R, Verma A. Persistent Müllerian duct syndrome: A case report. *Indian J Surg* 2013;75:460-462. <https://doi.org/10.1007/s12262-013-0831-6>
18. Giwercman A, Bruun E, Frimodt-Møller C, Skakkebaek NE. Prevalence of carcinoma in situ and other histopathological abnormalities in testes of men with a history of cryptorchidism. *J Urol* 1989;142:998-1001. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)38967-X](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)38967-X)

Combined use of genetic and immunohistochemical analysis is a critical step in differential diagnosis of sarcoglycanopathies

Genetik ve immünohistokimyasal incelemelerin birlikte kullanımı sarkoglikanopatilerin ayırıcı tanısında önemli bir basamaktır

Gülden DİNİZ¹, Aycan UNALP², Filiz HAZAN², Figen ÖZGÖNÜL¹, Sabiha TÜRE³, Galip AKHAN³

¹Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji ve Pediatrik Nöroloji Bölümü, İzmir

²İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Pediatrik Nöroloji ve Genetik Bölümü, İzmir

³İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Nöroloji Ana Bilim Dalı, İzmir

Dear Editors,

As essential components of the membrane integrity during muscular contraction, sarcoglycan (SGC) proteins at the cell membrane form a subcomplex closely linked with the dystrophin- associated glycoprotein (DAG) complex ⁽¹⁾. Deficiencies of alpha-, beta-, delta-, and gamma- sarcoglycans cause autosomal recessive (type 2) limb- girdle muscular dystrophies (LGMDs) and no definitive treatment exists for LGMDs ^(1,2). Physical therapy, stretching exercises which increase range of motion of affected structures, and also prevent contractures, anti-obesity measures, surgical treatment of orthopedic complications, mechanical and/or respiratory armamentarium to ease ambulation, mobility, and respiration are among some of the therapeutic approaches used to prolong survival and improve quality of life. The patient should be closely observed for the development of cardiac involvement such as cardiomyopathy, and also emotional support should be provided ⁽²⁾. In the differential diagnosis of LGMDs most commonly seen Duchenne and Becker muscular dystrophies (DMD/ BMD) should be considered. However differential diagnosis can not be made among these entities based

solely on clinical information. Therefore immunohistochemical staining of muscle biopsy specimens is mandatory for accurate diagnosis ⁽¹⁻³⁾.

In our earlier study, we reported 20 clinically diagnosed muscular dystrophy patients (4 siblings) with defective gamma- sarcoglycan expressions found in the histopathological examination of their muscle biopsy specimens ⁽⁴⁾. Although there were defective expressions of gamma-sarcoglycan protein in all biopsy specimens, the culprit genetic defects could be determined in only nine of them. Most cases had silent homozygous or heterozygous mutations ⁽⁴⁻⁷⁾. After this report, we have also diagnosed 19 new patients (3 siblings) with LGMD. Interestingly some of these patients presented with multiple sarcoglycan defects ⁽⁸⁻¹⁰⁾. In addition, dystrophin gene mutations were determined in a sibling who demonstrated permanent gamma-sarcoglycan deficiency with normal dystrophin expression as detected on the histopathological examination of the muscle biopsy specimen (Table 1).

All histopatological examinations of muscle biopsies were performed at Pathology Laboratories of Behcet Uz Children's Hospital and Tepecik Hospital. Genetic analyses were performed at Duzen Laboratory

Alındığı tarih: 30.05.2017

Kabul tarihi: 27.06.2017

Yazışma adresi: Doç. Dr. Gülden Diniz, Kibris Sehitleri Cad. 51/11 Al, 35220 - İzmir - Türkiye
e-mail: agdiniz@gmail.com

Table 1. Histopathologic and genetic features of patients.

Patient	Age	Sex	CK	Defective SGC (IHC)	Defective gene	Genetic pathology	Gene defects
GK	21	F	5300	gamma	gamma	compound heterozygosity	R116H(c.G347A) maternal S287N(c.G860A) paternal
MY	6	M	4500	gamma	gamma	compound heterozygosity	I218T(c.T653T) maternal R116H(c.G347A) paternal S287N(c.G860A) paternal+ maternal
ŞD	9	M	15000	gamma	-	-	-
DAÇ	11	M	17500	gamma	gamma	heterozygot	c.G860A (S287N)
FK	11	M	5000	gamma	gamma and alpha	heterozygot	c.G347A (R116H) SGCG/ duplication of exon 10 SGCA
KŞ/KŞ	8/5	M/M	2200/6100	gamma	gamma	heterozygot	c.G347A (R116H)
MK/İK	6/8	M/M	5000/13000	gamma	gamma	compound heterozygosity	c.808-801DELGT Exon 8 LOH
NU	7	F	10000	gamma	gamma	compound heterozygosity	R116H(c.G347A) S287N(c.G860A)/duplication of exon 1-10 SGCA
OH	10	M	7500	gamma	alpha	-	Intragenic amplification SGCA
İT	6	M	11000	gamma	-	-	-
ARU	10	M	7500	gamma	gamma	silent mutation	c.T312G c.T705C
YÖ	2	M	1312	gamma	gamma	heterozygot and silent mutation	c.G347A (R116H) c.T705C
NSÖ	7	F	11000	gamma	gamma	silent mutation	c.T312G c.T705C
AT/NT	2/6	F/M	7500/15700	gamma	gamma	homozygot	c.S25delT
EK	3	F	13000	gamma	gamma	Silent mutation	c.T312G c.T705C
AE/AE	6/8	M	35000/13000	gamma	gamma	Silent mutations	c.T312G c.T705C(L235L) c.T228C
EG/OG	11/7	M/M	9000/7000	gamma	dystrophin	Homozygot deletion	Deletions of exon 45- 47
ÇG	1	M	11000	All SGCs	beta	homozygot gene deletion	Total gene deletion SGCB
TA	5	M	15000	alpha and gamma	alpha	homozygot novel deletion	Deletion of 3. Exon, SGCA
FÇ/SÇ	8/6	M/M	16000	alpha and gamma	alpha	homozygot novel mutation	c.226 C > T (p.L76 F) SGCA
İY	12	M	1700	gamma	gamma	heterozygot.	c.T312G(L104L)
MMK	0	F	200	beta	beta	heterozygot intronic	c.244-21 T/C d (rs225170)
ID/RD	7	F	24068	alpha and gamma	alpha	Homozygot mutation	c.G101A (R34H)
AI	44	M	1189	alpha	alpha	Homozygot mutation	c.C850T (R284C)
NM	9	F	5323	gamma	gamma	Homozygot mutation	c.G848A (C283Y)
ZG	5	F	250	All SGCs	gamma	Heterozygot mutation	c.G347A (R116H)
BE	3	F	5313	All SGCs	gamma and beta	compound heterozygosity (gamma) and homozygot mutations (beta)	c.T312G (L104L)rs1800351 c.G860A (S287N)/
EB	14	F	250	beta	beta	Intronic difference	c. G265A (V89M) SGCB
HK	1	F	7000	alfa and gamma	alfa	heterozygot and silent mutation	c.T244-21C (rs225170) c.G347A (R116H) c.T705C(L235L)
LC	21	F	600	gamma	beta	Homozygot. mutation	C.265.G/A (V89M) SGCB
SB	26	F	800	Alpha and gamma	beta	Intronic difference	c.244-21 T/C i (rs225170)
ZS	6	M	500	beta	gamma	compound heterozygosity (gamma)	c.G347A (R116H) c.G860A (S287N)/

from January 2007 through December 2014. Immunohistochemical analysis (IHC) was repeated to confirm the diagnosis. Individual patient database

was reviewed in all cases, and clinical information of patients was recorded including age, gender, detailed family history and consanguinity. Neurological exa-

mination and laboratory findings were also evaluated. We tried to determine the spectrum of genetic defects in immunohistochemically proven cases of sarcoglycanopathies, to correlate the findings with clinical phenotypes and to display the regional differences as for the clinical, histopathological, and genetic characteristics of sarcoglycanopathies^(11,12).

As a known fact because of the potential variations in residual SGC expressions, genotype of sarcoglycanopathies can not be predicted accurately based solely on variable SGC expressions. Therefore, immunoanalysis of skeletal muscle sections for four SGCs must be performed⁽⁵⁻⁷⁾. Besides, concomitant reduction in the levels of dystrophin, and any SGC may play a critical role in the differential diagnosis of dystrophinopathies among sarcoglycan-deficient LGMDs. Therefore, it is a challenging issue to discriminate between an entity of dystrophinopathy caused by defective expressions of SGCs and a LGMD induced by defective expression of dystrophin. Since, siblings of this series demonstrated dystrophin gene deletions, despite normal sarcolemmal dystrophin staining pattern, dystrophinopathies were also considered in the differential diagnosis.

Patients with LGMD or primary dystrophinopathies may not be differentiated based on clinical evidence. Probably, many male patients with LGMD might be underestimated, and these patients might be misdiagnosed as having DMD or BMD⁽⁸⁻¹⁰⁾. If these patients can be subjected to appropriate immunohistochemical examinations and molecular analysis, then normal staining pattern of dystrophin can be revealed, and an autosomal recessive mode of inheritance can be disclosed. On the contrary, patients with dystrophinopathy may demonstrate normal - regional absence or mosaic pattern of sarcolemmal staining patterns with anti-SGC antibodies. These variations in staining may signify that cell membrane-associated dystrophin glycoprotein complex may have different abnormal presentations⁽⁴⁾. Therefore, accurate diagnosis requires careful analysis using immunohistochemical staining in combination with genetic study^(1,2). In addition, we must keep on mind that, there can be some neuromuscular diseases presented with focal sarcoglycan defects as detected during

immunohistochemical analysis of muscle biopsy specimen⁽¹³⁾.

In summary, as an important corollary not only the primarily deficient SGC gene, but also all related genes should be analyzed. Besides, patterns of genetic complexity associated with LGMDs should be considered in the differential diagnosis of muscular dystrophies^(2,4,8-10,13).

CONFLICT of INTEREST: The authors had received financial support from Izmir Katip Çelebi University.

REFERENCES

1. Dubowitz V, Sewry CA, Oldfors A. Muscle Biopsy: A practical approach. Philadelphia: Saunders; 2013, 276-302.
2. Sandonà D, Betto R. Sarcoglycanopathies: Molecular pathogenesis and therapeutic prospects. *Expert Rev Mol Med* 2009;11:e28. <https://doi.org/10.1017/S1462399409001203>
3. Ferreira AF, Carvalho MS, Resende MB, Wakamatsu A, Reed UC, Marie SK. Phenotypic and immunohistochemical characterization of sarcoglycanopathies. *Clinics (Sao Paulo)* 2011;66:1713-19.
4. Diniz G, Hazan F, Yildirim HT, Unalp A, Polat M, Serdaroglu G, et al. Histopathological and genetic features of patients with limb girdle muscular dystrophy type 2C. *Turk Patoloji Derg* 2014;30(2):111-7. <https://doi.org/10.5146/tjpath.2014.01239>
5. Pogue R, Anderson LV, Pyle A, Sewry C, Pollitt C, Johnson MA, et al. Strategy for mutation analysis in the autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. *Neuromuscul Disord* 2001;11:80-7. [https://doi.org/10.1016/S0960-8966\(00\)00154-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8966(00)00154-1)
6. Klinge L, Dekomien G, Aboumoussa A, Charlton R, Epplen JT, Barresi R, et al. Sarcoglycanopathies: Can muscle immunoanalysis predict the genotype? *Neuromuscul Disord* 2008;18:934-41. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2008.08.003>
7. Trabelsi M, Kavian N, Daoud F, Commere V, Deburgrave N, Beugnet C, et al. Revised spectrum of mutations in sarcoglycanopathies. *Eur J Hum Genet* 2008;16:793-803. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2008.9>
8. Diniz G, Tosun Yildirim H, Gokben S, Serdaroglu G, Hazan F, Yazarbas K, et al. Concomitant alpha- and gamma-sarcoglycan deficiencies in a Turkish boy with a novel deletion in the alpha-sarcoglycan gene. *Case Rep Genet* 2014;2014:248561. <https://doi.org/10.1155/2014/248561>
9. Diniz G, Tosun Yildirim H, Akinci G, Hazan F, Ozturk A, Yazarbas K, et al. Sarcolemmal alpha and gamma sarcoglycan protein deficiencies in Turkish siblings with a novel missense mutation in the alpha sarcoglycan gene. *Pediatr Neurol* 2014;50(6):640-7. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2013.12.024>
10. Diniz G, Tekgul H, Hazan F, Yazarbas K, Tukun A. Sarcolemmal deficiency of sarcoglycan complex in an

- 18-month-old Turkish boy with a large deletion in the beta sarcoglycan gene. *Balkan J Med Genet* 2016;18(2):71-76.
11. Moreira ES, Vainzof M, Suzuki OT, Pavanello RC, Zatz M, Passos-Bueno MR. Genotype-phenotype correlations in 35 Brazilian families with sarcoglycanopathies including the description of three novel mutations. *J Med Genet* 2003;40:E12.
<https://doi.org/10.1136/jmg.40.2.e12>
12. Dinçer P, Akçören Z, Demir E, Richard I, Sancak O, Kale G, et al. A cross section of autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies in 38 families. *J Med Genet* 2000;37:361-7.
<https://doi.org/10.1136/jmg.37.5.361>
13. Koehler K, Milev MP, Prematilake K, Reschke F, Kutzner S, Jühlen R, et al. A novel TRAPPC11 mutation in two Turkish families associated with cerebral atrophy, global retardation, scoliosis, achalasia and alacrima. *J Med Genet* 2017;54(3):176-185.
<https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2016-104108>

PTPN11 geninde Heterozigot mutasyon saptanan Noonan sendromu olgusu

A case of Heterozygous mutation of Noonan syndrome in PTPN11 gene

Hüseyin Anıl KORKMAZ

Balıkesir Atatürk Devlet Hastanesi, Pediatri Endokrinoloji Bölümü, Balıkesir

Noonan sendromu hücre proliferasyonu, farklılaşması, yaşamı ve metabolizması ile ilişkili sinyal iletiminde görevli ras ilişkili mitojen-aktif protein kinaz yolağındaki mutasyonlardan kaynaklanan otozomal dominant geçişli genetik bir hastalıktır.

Anne ve babası arasında akrabalık olmayan kız olgu boy kısalığı olması nedeniyle çocuk endokrin polikliniğine yönlendirildi. Sağlıklı bir annenin ilk gebeliğinden sezaryen ile otuz sekizinci gestasyon haftasında 2300 g doğan 15 yaşında kız olgunun, öyküsünden pediatri kardiyoloji bölümünde, valvüler pulmoner stenoz ve mitral yetmezlik tanılarıyla izlendiği ve infant döneminde kardiyak operasyon geçirdiği öğrenildi. Fizik muayenesinde, boy: 131,6 cm (<3 p), boy SDS: -4,73, ağırlık: 28,7 kg (<3 p), ağırlık SDS: -5,31 olarak saptandı. Hedef boy: 150,65 ve hedef boy SDS: -1,95 olarak saptandı. Dismorfik yüz görünümü olan olgunun fizik incelemesinde, yele boyun, hipertelorizm, epikantus, aşağı dönük palpebral fissürler, düşük ve arka rotasyonlu kulak, üçgen yüz, mikrognati, yüksek damak, ayrık meme başları, kardiyak operasyon skarı ve pektus ekskavatum saptandı (Şekil 1). Boy kısalığına yönelik yapılan incelemelerde, tam kan sayımı, biyokimyasal analizi ve tiroid fonksiyon testleri normal saptandı. Fizik muayene bulguları Noonan sendromu ile uyumlu olması nedeniyle yapılan genetik çalışmada PTPN11 geninde p.D61G heterozigot mutasyonu

belirlendi. Noonan sendromu tanısı olan olguya boy kısalığı olması ve boy uzama hızlarının yetersiz olması nedeni ile 45 mikrogram/kg/doz büyüme hormonu tedavisi başlandı.



Şekil 1. Noonan sendromu olgusunun fenotipik görünümü.

Bu çalışmada, kısa boyu, kraniofasial anomalileri ve dismorfik bulguları ile Noonan sendromu tanısı konan kız olgu sunulmuştur. Şıklar ve ark.'nın ⁽¹⁾ yap-

Alındığı tarih: 10.05.2017
Kabul tarihi: 08.06.2017

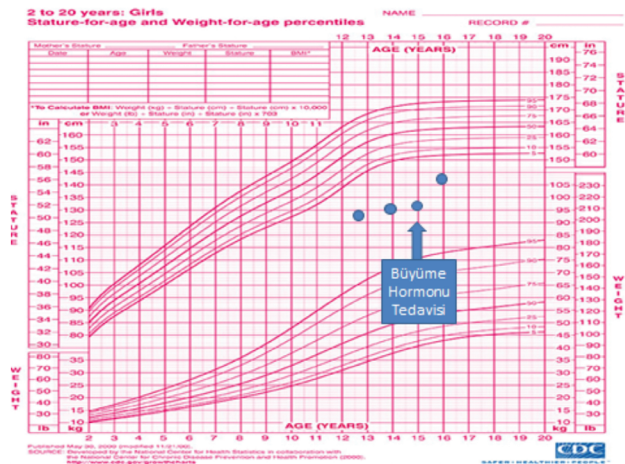
Yazışma adresi: Uzm. Dr. Hüseyin Anıl Korkmaz, Balıkesir Atatürk Devlet Hastanesi, Pediatri Endokrinoloji Bölümü, Yıldız Mahallesi, Soma Caddesi, Merkez, 10020, Balıkesir
e-mail: drkorkmazanil@hotmail.com

tığı Ulusal Noonan sendromlu hastaların klinik özelliklerinin incelendiği çok merkezli çalışmada, 124 olguya karakteristik yüz görünümü ve kısa boyu olması ile tanı konulmuştur. Hastamızda boy kısalığı, yele boyun, pektus ekskavatum, ayrıık meme başları, valvüler pulmoner stenoz ve dismorfik yüz görünümü nedeni ile Noonan sendromu tanısı aldı ve PTPN11 geninde heterozigot mutasyon saptanarak tanı doğrulanmıştır. Noonan sendromu olan olgularda büyüme hormonu eksikliği, nörosekresyon bozuklukları ve büyüme hormonu insensivitesi boy kısalığından sorumludur ⁽²⁾. Bazı klinik çalışmalarda, PTPN11 geninde mutasyon saptanan Noonan sendromlu olguların kısa boya, düşük IGF-1 düzeylerine ve normal veya yüksek büyüme hormonu düzeylerine sahip olduğu gösterilmiştir ^(2,3). Ulusal Noonan sendromlu olgular incelendiğinde, 47 olgu büyüme hormonu tedavisi almış ve büyüme hormonu tedavisi

alan olgularda önemli oranda boy kazancı sağlamıştır ⁽¹⁾. Olgumuza 45 mikrogram/kg/dozunda büyüme hormonu tedavisi başlandı ve 8 cm/yıl boy uzaması saptandı (Şekil 2). Tartaglia ve ark.'nın ⁽⁴⁾ yaptığı Noonan sendromlu PTPN11 geninde mutasyon saptanan olguların genotip-fenotip korelasyon çalışmasında, %70,6'sında pulmoner stenoz ve %78'inde pektus deformitesi saptanmıştır. Olgumuzda da pulmoner stenoz ve pektus ekskavatum deformitesi mevcuttu. Noonan sendromu olan olgulara boy kazancı sağlamak ve erken tanı almaları için farkındalık sağlanmalı, büyüme hormonu tedavisi başlanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Şıklar Z, Genens M, Poyrazoğlu Ş, Baş F, Darendeliler F, Bundak R, et al. The Growth Characteristics of Patients with Noonan Syndrome: Results of Three Years of Growth Hormone Treatment: A Nationwide Multicenter Study. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2016;8:305-312. <https://doi.org/10.4274/jcrpe.3013>
2. Binder G, Neuer K, Ranke MB, Wittekindt NE. PTPN11 mutations are associated with mild growth hormone resistance in individuals with Noonan syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5377-5381. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-0995>
3. Rocca Serra-Nedelec A, Edouard T, Treguer K, Tajan M, Araki T, Dance M, et al. Noonan syndrome-causing SHP2 mutants inhibit insulin-like growth factor 1 release via growth hormone-induced ERK hyper activation, which contributes to short stature. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109:4257-4262. <https://doi.org/10.1073/pnas.1119803109>
4. Tartaglia M, Kalidas K, Shaw A, Song X, Musat DL, van der Burgt I, et al. PTPN11 mutations in Noonan syndrome: molecular spectrum, genotype-phenotype correlation, and phenotypic heterogeneity. *Am J Hum Genet* 2002;70:1555-1563. <https://doi.org/10.1086/340847>



Şekil 2. Noonan sendromu olgusunun büyüme eğrisi.

A

Abacı A, 242
Acar S, 242
Ahıskalıoğlu A, 203
Akay B, 8
Akçay Delen Y, 95
Akgün G, 65
Akgün ZE, 65
Akhan G, 247
Aksoy Yıldırım G, 209
Aktaş G, 183
Aktepe N, 183
Aldıç G, 215
Alıcı H.A, 203
Alkan Özdemir S, 236
Arı FH, 129
Arun Özer E, 236
Asilsoy S, 101
Ateş O, 242
Atılğan N, 215
Aydemir I, 227
Aydın A, 22,183
Aydın D, 8
Aydın M, 141
Aydın T, 69

B

Bağ Ö, 101
Bahceci S, 129
Balaban İ, 113
Balci A, 215
Ballı Ş, 65, 86
Baş S, 167
Başer G, 73
Berksoy Atas E, 101
Besen Ş, 178
Biçer Kaya E, 39
Bilen M, 164
Binici Cevher N, 15
Binici Y, 29
Binzet M, 69
Bolkent G, 157
Böber E, 242
Bulut OM, 65, 86

C

Can D, 101,129,215
Ceylan S.S, 221
Conkar S, 191

Ç

Çağlar A, 1

Çalık B, 209

Çalkavur Ş, 53
Çelebi A, 65,86
Çelik K, 53
Çelik T, 215
Çelikkaya M.E, 203
Çetin Çivi K, 152
Çetinkaya B, 221
Çevik A, 86
Çiftçi E, 157
Çoban K, 53
Çobanoğlu M, 39
Çoker M, 95
Çolak R, 53
Çopur Öztürk E, 133
Çukurova İ, 60

D

Demir K, 242
Demirgören SB, 22
Diniz G, 60,247
Doğulu N, 157
Duman M, 1

E

Ekinci M, 203
Elmacıoğlu S, 215
Engin Ö, 209
Erdoğan B, 152
Ergon Yangın E, 53
Ergun P, 95
Ergüney Ö.D, 203
Erkul I, 197
Eskici H, 215

F

Fırıncı B, 203

G

Garipçin P, 164
Gök D, 105
Gölboyu B.E, 203
Görkem SB, 147
Güllü UU, 113
Günay H, 39
Güneşçar R, 215
Güntürkün Aydınlık F, 105
Gürcü B, 227
Gürol A, 29

H

Hakan N, 141
Hazan F, 247
Hergüner Ö.M, 178

İ

İlhan Ö, 236
İnce E, 157
İnce T, 183
İncecik F, 178
İpekçi F, 209

K

Kaçmaz T, 73
Kağnıcı M, 95
Kandemir T, 197
Kanık A, 60
Kanık TE, 129
Kara SS, 113
Kara Tural T, 157
Karahana E, 69,73
Karakaya M.A, 203
Karakoyun M, 164
Karaman K, 209
Karaman S, 129
Karataş S, 167
Karbuz A, 157
Karkıner ŞC, 129
Kartı Ö, 69,73
Kavurma C, 22
Kaya E, 121
Keskin Usturalı E, 60
Kırlı Ö, 197
Kocabaş Aldemir B, 157
Korkmaz A, 69
Korkmaz AH, 63
Korkmaz H.A, 247
Köyliüoğlu G, 161
Kulan C.A, 209
Kusbeci T, 69
Kutlu A, 15
Küçük L, 39
Küçük Ü, 60
Küçüközkan T, 141

M

Manav V, 167
Mert M, 161
Mete M, 227
Muratlı A, 209

N

Nacaroglu TH, 129

O

Okumuş N, 141
Olukman Ö, 53
Onay H, 242
Oral Ahıskalıoğlu E, 203

Ö

Öner T, 65
Örmen M, 22
Örnek Y, 161
Özbek A, 22
Özbilgin K, 227
Özcebe HL, 133
Özçelikörs Y, 152
Özdemir Alkan S, 53
Özdemir Kardaş F, 45
Özdemir T, 161
Özek G, 101
Özer E, 22
Özgönül F, 247
Öztürk C, 164
Öztürk H, 77

P

Paketçi A, 242
Pamukçu Ö, 147

S

Sarı Yıldırım H, 105
Sayan A, 161

Sevinç İ, 197
Sözbilen CM, 39
Sözmen Yıldırım E, 95
Sütçüoğlu S, 236

Ş

Şahin N, 8
Şaylıgil Ö, 77

T

Taş D, 133
Topçu B, 209
Tuğlu M.İ, 227
Tutanç M, 215
Tuygun N, 141
Türe S, 247
Türk R, 45
Türker Y, 121
Türkmen S.N, 197
Tüzün Z, 133

U

Uçar Kalkan S, 95

Ü

Ünal S, 215
Ünalp A, 169,247
Ünlü H, 133
Ünlü Ünsal Ü, 227
Ünsal U, 73
Ünver M, 209
Üzüm Ö, 164

Y

Yayık A.M, 203
Yaykaşlı OK, 121
Yıldız Kerimoğlu G, 45
Yılmaz HE, 65,86
Yılmaz İ, 121
Yöntem S, 105
Yücel KI, 65, 86

Z

Zenciroğlu A, 141
Zengin ÖM, 69

KONU DİZİNİ

Cilt 7, 2017

A

Adenoid, 101
Adölesan obezitesi, 39
Ailesel Akdeniz ateşi, 164
Akut batın, 161
Alerji, 101
Alkol, 227
Alveolar soft part sarkom, 152
Anemi, 73
Anksiyete, 29
Anne sütü, 22
Anne, 29
Anti-müllerian hormone, 242
Antibiyotik ilişkili ishal, 1
Apendiks epiploika torsiyonu, 161
Asetil salisilat, 113
Ateş, 141
Atipik el-ayak-ağız hastalığı, 157
Atrioventriküler blok, 86
Ayırıcı tanı, 152

B

Bağlanma, 22
Beden algısı, 133

Bilgi düzeyi, 29

Bilirubin ensefalopatisi, 236

C

Cinsel istismar, 197
Cumhuriyet dönemi sağlık politikaları, 77

Ç

Çocuk bakımı, 77
Çocuk hasta, 105
Çocuk, 1,8,101,147,215
Çocuklar, 45,141,178
Çocuklarda, 191
Çocukluk çağı, 169

D

Deli bal, 121
Deri prick test, 129
Dezenfeksiyon, 221
Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu, 15
Dirençli nöbet, 169
Doğum yaralanmaları, 53
Dr. Behçet Uz, 77
Düşme riski ölçeği, 105

E

Ekzema herpetikum, 157
Elektrolit, 22
ELISA, 95
Emzirme başarısı, 183
Emzirme, 183
Enterovirüs, 157
Epilepsi, 178
Ergen, 133
Eştanı, 15

F

Femoral, 147
Femur başı epifiz kayması, 39

G

Galektin-3, 95
Göç, 8
Grayanotoksin-III, 121
Günübirlik cerrahi, 29

H

Hastanede düşme, 105
Hipertansiyon, 191

İ

İmmünohistokimya, 152
İn-situ tespit, 39
İndirek hiperbilirubinemi, 236
İnguinal herni, 203
İnhalasyon, 221
İnmemiş testis, 242
İntravenöz immünglobulin, 113
İskemik inme, 178

K

Kan değişimi, 236
Kardivasküler etkiler, 121
Karın ağrısı, 164
Katekolamin, 65
Katepsin-D, 95
Kateter, 147
Kawasaki hastalığı, 113
Ketojenik diyet, 169
Kız çocuk, 197
Kızamık-kızamıkçık-kabakulak aşısı, 129
Kistik fibrozis, 215
Kitotriyozidaz, 95
Komplikasyon, 147
Konjenital düzeltilmiş transpozisyon, 86
Konjenital retinoskizis, 69
Konsensus, 169
Koruyucu sağlık, 77
Küf mantarı, 101

L

Laringeal yeniden innervasyon, 209

M

M470V, 215

Maküla, 69

MPS, 95

Mukopolisakkaridoz, 95

N

Nebulizer, 221
Nöral tüp defekti, 227

O

Okulöncesi dönem, 15
Onikomadezis, 157

Ö

Öğretmenler, 45
Özyeterlilik, 133,183

P

Pars plana vitrektomi, 73
Pediatri, 221
Persistan müller kanalı sendromu, 242
Polimorfik ventriküler taşikardi, 65
Postoperatif analjezi, 203
Primer apendajitis epiploika, 161
Probiyotik, 1
Psikiyatri hemşiresi, 197
Psikiyatrik bozukluk, 197
Psikofarmakoloji, 15
Pulmoner stenoz, 86

R

Rekürren sinir, 209
Renal skar, 191
Risk faktörleri, 53,178

S

Sağlık planları, 77
Sağlık, 8
Sekonder nörilasyon, 227
Senkop, 65
Serbest sinir grefti, 209
Sevme, 45
Sinir transpozisyonu, 209
Sub-İLM hemoraji, 73

T

Temassız kızılötesi termometre, 141
Transversus abdominis plan bloku, 203

U

Uç-yan sinir anastomozu, 209
Ultrasonografi, 203
Uzamış febril miyalji, 164

V

Vida yiv sayısı, 39
Vokal kord palsi, 209
Vokal kord paralizi, 209
Vücut sıcaklık ölçümü, 141

Y

Yaşam içi kan basıncı izlemi, 191
Yaşam kalitesi, 133
Yaygınlık, 15
Yenidoğan, 53,236
Yumurta alerjisi, 129
Yüksek çözünürlüklü optik koherans tomografi, 69

SUBJECT INDEX

A

Abdominal pain, 164
Acetylsalicylic acid, 113
Acute abdomen, 161
Adenoid, 101
Adolescent obesity, 39
Adolescent, 133
Alcohol, 227
Allergy, 101
Alveolar soft part sarcoma, 152

Ambulatory blood pressure monitoring, 191
Anemia, 73
Anti-müllerian hormone, 242
Antibiotic-associated diarrhea, 1
Anxiety, 29
Atrioventricular block, 86
Attachment, 22
Attention deficit hyperactivity disorder, 15

Atypical hand-mouth-foot disease, 157

B

Bilirubin encephalopathy, 236
Birth injury, 53
Body temperature measurement, 141
Breast milk, 22
Breastfeeding success, 183
Breastfeeding, 183

- C**
Cardiovascular effects, 121
Cathecolamin, 65
Cathepsin-D, 95
Catheter, 147
Child patient, 105
Child, 101,215
Childhood, 169
Children welfare, 77
Children, 1,8,45,141,147,178,191
Chitotriosidase, 95
Comorbidity, 15
Complication, 147
Congenital retinoschisis, 69
Congenitally corrected transposition, 86
Consensus, 169
Cystic fibrosis, 215
- D**
Day care surgery, 29
Differential diagnosis, 152
Disinfection, 221
Dr. Behcet Uz, 77
- E**
Eczema herpeticum, 157
Egg allergy, 129
Electrolyte, 22
ELISA, 95
End-to-side nerve anastomosis, 209
Enterovirus, 157
Exchange transfusion, 236
- F**
Fall in hospital, 105
Fall risk scale, 105
Familial Mediterranean fever, 164
Femoral, 147
Fever, 141
Free nerve graft, 209
- G**
Galectin-3, 95
Girl child, 197
Grayanotoxin-III, 121
- H**
Health care plans, 77
Health care policies of the Turkish
republic period, 77
Health, 8
High-resolution optical coherence
tomography, 69
Hypertension, 191
- I**
Immigration, 8
Immunohistochemistry, 152
In-situ fixation, 39
Indirect hyperbilirubinemia, 236
Information level, 29
Inguinal hernia, 203
Inhalation, 221
Intravenous immunoglobulin, 113
Ischemic stroke, 178
- K**
Kawasaki disease, 113
Ketogenic diet, 169
- L**
Laryngeal re-innervation, 209
Liking, 45
- M**
M470V, 215
Macula, 69
Mad honey, 121
Measles-rubella-mumps vaccine, 129
Mold, 101
Mother, 29
MPS, 95
Mucopolysaccharidoses, 95
- N**
Nebulizers, 221
Nerve transposition, 209
Neural tube defect, 227
Newborn, 53,236
Non-contact infrared thermometer, 141
- O**
Onikomadesis, 157
- P**
Pars plana vitrectomy, 73
Pediatrics, 221
Persistent müllerian duct syndrome, 242
- Polymorphic ventricular tachycardia, 65
Post-stroke epilepsy, 178
Postoperative analgesia, 203
Preschool age, 15
Prevalence, 15
Preventive medicine, 77
Primary epiploic appendagitis, 161
Probiotics, 1
Prolonged febrile myalgia, 164
Psychiatric disorder, 197
Psychiatric nurse, 197
Psychopharmacology, 15
Pulmonary stenosis, 86
- Q**
Quality of life, 133
- R**
Recurrent nerve, 209
Refractory seizure, 169
Renal scar, 191
Risk factors, 53,178
- S**
Screw threads, 39
Secondary neurulation, 227
Self-efficacy, 133,183
Sexual abuse, 197
Skin prick test, 129
Slipped capital femoral epiphysis, 39
Sub-ILM hemorrhage, 73
Syncope, 65
- T**
Teachers, 45
Torsion of appendices epiploicae, 161
Transversus abdominis plane block, 203
- U**
Ultrasonography, 203
Undescended testis, 242
- V**
Vocal cord palsy, 209
Vocal cord paralysis, 209
- W**
Weight perception, 133