

2007 , Cilt 20, Say 3



MMJ

Marmara Medical Journal

**Marmara Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Dergisi**



ISSN: 1309-9469



Marmara Medical Journal

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi

Editör

Prof. Dr. Mithat Erenus

Koordinatörler

Seza Arbay, MA

Dr. Vera Bulgurlu

Editörler Kurulu

Prof. Dr. Mehmet Ağırbaşı
Prof. Dr. Serpil Bilsel
Prof. Dr. Safiye Çavdar
Prof. Dr. Tolga Dağlı
Prof. Dr. Haner Direskeneli
Prof. Dr. Kaya Emerk
Prof. Dr. Mithat Erenus
Prof. Dr. Zeynep Eti
Prof. Dr. RainerVV. Guillery
Prof. Dr. Oya Gürbüz
Prof. Dr. Hande Harmancı
Prof. Dr. Hızır Kurtel
Prof. Dr. Ayşe Özer
Prof. Dr. Tülin Tanrıdağ
Prof. Dr. Tufan Tarcan
Prof. Dr. Cihangir Tetik
Prof. Dr. Ferruh Şimşek
Prof. Dr. Dr. Ayşegül Yağcı

Prof. Dr. Berrak Yeğen
Doç. Dr. İpek Akman
Doç. Dr. Gül Başaran
Doç. Dr. Hasan Batirel
Doç. Dr. Nural Bekiroğlu
Doç. Dr. Şule Çetinel
Doç. Dr. Mustafa Çetiner
Doç. Dr. Arzu Denizbaşı
Doç. Dr. Gazanfer Ekinci
Doç. Dr. Dilek Gogas
Doç. Dr. Sibel Kalaça
Doç. Dr. Atila Karaalp
Doç. Dr. Bülent Karadağ
Doç. Dr. Handan Kaya
Doç. Dr. Gürsu Kıyan
Doç. Dr. Şule Yavuz
Asist. Dr. Asım Cingi
Asist. Dr. Arzu Uzuner



Marmara Medical Journal

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi

DERGİ HAKKINDA

Marmara Medical Journal, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi tarafından yayımlanan multidisipliner ulusal ve uluslararası tüm tıbbi kurum ve personele ulaşmayı hedefleyen bilimsel bir dergidir. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, tıbbın her alanını içeren özgün klinik ve deneysel çalışmaları, ilginç olgu bildirimlerini, derlemeleri, davet edilmiş derlemeleri, Editöre mektupları, toplantı, haber ve duyuruları, klinik haberleri ve ilginç araştırmaların özetlerini, ayırıcı tanı, tanınız nedir başlıklı olgu sunumlarını, ilginç, fotoğraflı soru-cevap yazıları (photo-quiz), toplantı, haber ve duyuruları, klinik haberleri ve tıp gündemini belirleyen güncel konuları yayınlar.

Periyodu: Marmara Medical Journal -Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi yılda 3 sayı olarak OCAK,MAYIS VE EKİM AYLARINDA yayınlanmaktadır.

Yayına başlama tarihi:1988

2004 Yılından itibaren yalnızca elektronik olarak yayınlanmaktadır

Yayın Dili: Türkçe, İngilizce

eISSN: 1309-9469

Temel Hedef Kitle: Tıp alanında tüm branşlardaki hekimler, uzman ve öğretim üyeleri, tıp öğrencileri

İndeklendiği dizinler: EMBASE - Excerpta Medica ,TUBITAK - Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu , Türk Sağlık Bilimleri İndeksi, Turk Medline,Türkiye Makaleler Bibliyografyası ,DOAJ (Directory of Open Access Journals)

Makalelerin ortalama değerlendirme süresi: 8 haftadır

Makale takibi -iletişim

Seza Arbay

Marmara Medical Journal (Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi)

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı,

Tıbbiye cad No:.49 Haydarpaşa 34668, İSTANBUL

Tel: +90 0 216 4144734

Faks: +90 0 216 4144731

e-posta: mmj@marmara.edu.tr

Yayıncı

Plexus BilişimTeknolojileri A.Ş.

Tahran Caddesi. No:6/8, Kavaklıdere, Ankara

Tel: +90 0 312 4272608

Faks: +90 0312 4272602

Yayın Hakları: *Marmara Medical Journal* 'in basılı ve web ortamında yayınlanan yazı, resim, şekil, tablo ve uygulamalar yazılı izin alınmadan kısmen veya tamamen herhangi bir vasıta ile basılamaz. Bilimsel amaçlarla kaynak göstermek kaydıyla özetleme ve alıntı yapılabilir.



Marmara Medical Journal

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi

YAZARLARA BİLGİ

Marmara Medical Journal – Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisine ilginize teşekkür ederiz.

Derginin elektronik ortamdaki yayınına erişim www.marmaramedicaljournal.org adresinden serbesttir.

Marmara Medical Journal tıbbın klinik ve deneysel alanlarında özgün araştırmalar, olgu sunumları, derlemeler, davet edilmiş derlemeler, mektuplar, ilginç, fotoğraflı soru-cevap yazıları (photo-quiz), editöre mektup, toplantı, haber ve duyuruları, klinik haberleri ve ilginç araştırmaların özetlerini yayınlamaktadır.

Yılda 3 sayı olarak Ocak, Mayıs ve Ekim aylarında yayınlanan Marmara Medical Journal hakemli ve multidisipliner bir dergidir. Gönderilen yazılar Türkçe veya İngilizce olabilir.

Değerlendirme süreci

Dergiye gönderilen yazılar, ilk olarak dergi standartları açısından incelenir. Derginin istediği forma uymayan yazılar, daha ileri bir incelemeye gerek görülmezsin yazarlarına iade edilir. Zaman ve emek kaybına yol açılmaması için, yazarlar dergi kurallarını dikkatli incelemeleri önerilir.

Dergi kurallarına uygunluğuna karar verilen yazılar Editörler Kurulu tarafından incelenir ve en az biri başka kurumdan olmak üzere iki ya da daha fazla hakeme gönderilir. Editör, Kurulu yazıyı reddetme ya da yazara(lara) ek değişiklikler için gönderme veya yazarları bilgilendirerek kısaltma yapmak hakkına sahiptir. Yazarlardan istenen değişiklik ve düzeltmeler yapıldıkça kadar, yazılar yayın programına alınmamaktadır.

Marmara Medical Journal gönderilen yazıları sadece online olarak <http://marmaramedicaljournal.org/submit> adresinden kabul etmektedir.

Yazıların bilimsel sorumluluğu yazarlara aittir. Marmara Medical Journal yazıların bilimsel sorumluluğunu kabul etmez. Makale yayına kabul edildiği takdirde **Yayın Hakkı Devir Formu** imzalanıp dergiye iletilmelidir.

Gönderilen yazıların dergide yayınlanabilmesi için daha önce başka bir bilimsel yayın organında yayınlanmamış olması gerekir. Daha önce sözlü ya da poster olarak sunulmuş çalışmalar, yazının başlık sayfasında tarihi ve yeri ile birlikte belirtilmelidir. Yayınlanması için başvuruda bulunulan makalelerin, adı geçen tüm yazarlar tarafından onaylanmış olması ve çalışmanın başka bir yerde yayınlanmamış olması ya da yayınlanmak üzere değerlendirilmedi olmaması gerekmektedir. Yazının son halinin bütün yazarlar tarafından onaylandığı ve çalışmanın yürütüldüğü kurum sorumluları tarafından onaylandığı belirtilmelidir. Yazarlar tarafından imzalanarak onaylanan üst yazıda ayrıca tüm yazarların makale ile ilgili bilimsel katkı ve sorumlulukları yer almalı, çalışma ile ilgili herhangi bir mali ya da diğer çıkar çatışması var ise bildirilmelidir. (*)

(*) Orijinal araştırma makalesi veya vaka sunumu ile başvuran yazarlar için üst yazı örneği:

"Marmara Medical Journal'de yayımlanmak üzere sunduğum (sunduğumuz) "...-" başlıklı makale, çalışmanın yapıldığı laboratuvar/kurum yetkilileri tarafından onaylanmıştır. Bu çalışma daha önce başka bir dergide yayımlanmamıştır (400 sözcük – ya da daha az – özet şekli hariç) veya yayınlanmak üzere başka bir dergide değerlendirilmedi bulunmamaktadır.

Yazıların hazırlanması

Derginin yayın dili İngilizce veya Türkçe'dir. Türkçe yazılarda Türk Dil Kurumu Türkçe Sözlüğü (<http://tdk.org.tr>) esas alınmalıdır. Anatomik terimlerin ve diğer tıp terimlerinin adları Latince olmalıdır. Gönderilen yazılar, yazım kuralları açısından Uluslararası Tıp Editörleri Komitesi tarafından hazırlanan "Biomedikal Dergilere Gönderilen Makalelerde Bulunması Gereken Standartlar " a (Uniform Requirements For Manuscripts Submitted to Biomedical Journals) uygun olarak hazırlanmalıdır.

(<http://www.ulakbim.gov.tr/cabim/vt>)

Makale içinde kullanılan kısaltmalar Uluslararası kabul edilen şeklide olmalıdır (<http://www.journals.tubitak.gov.tr/kitap/ma>)

knasyaz/) kaynağına başvurulabilir. Birimler, Ağırlıklar ve Ölçüler 11. Genel Konferansı'nda kabul edildiği şekilde Uluslararası Sistem (SI) ile uyumlu olmalıdır.

Makaleler Word, WordPerfect, EPS, LaTeX, text, Postscript veya RTF formatında hazırlanmalı, şekil ve fotoğraflar ayrı dosyalar halinde TIFF, GIF, JPG, BMP, Postscript, veya EPS formatında kabul edilmektedir.

Yazı kategorileri

Yazının gönderildiği metin dosyasının içinde sırasıyla, Türkçe başlık, özet, anahtar sözcükler, İngilizce başlık, özet, İngilizce anahtar sözcükler, makalenin metni, kaynaklar, her sayfaya bir tablo olmak üzere tablolar ve son sayfada şekillerin (varsa) alt yazıları şeklinde olmalıdır. Metin dosyanızın içinde, yazar isimleri ve kurumlara ait bilgi, makalede kullanılan şekil ve resimler **olmamalıdır**.

Özgün Araştırma Makaleleri

Türkçe ve İngilizce özetler yazı başlığı ile birlikte verilmelidir.

(i)Özetler: Amaç (Objectives), Gereç ve Yöntem (Materials and Methods) ya da Hastalar ve Yöntemler (Patients and Methods), Bulgular (Results) ve Sonuç (Conclusion) bölümlerine ayrılmalı ve 200 sözcüğü geçmemelidir.

(ii) Anahtar Sözcükler Index Medicus Medical Subject Headings (MeSH) 'e uygun seçilmelidir.

Yazının diğer bölümleri, **(iii) Giriş, (iv) Gereç ve Yöntem / Hastalar ve Yöntemler, (v) Bulgular, (vi) Tartışma ve (vii) Kaynaklar**'dir. Başlık sayfası dışında yazının hiçbir bölümünün ayrı sayfalarda başlatılması zorunluluğu yoktur.

Maddi kaynak , çalışmayı destekleyen burslar, kuruluşlar, fonlar, metnin sonunda teşekkürler kısmında belirtilmelidir.

Olgu sunumları

İngilizce ve Türkçe özetleri kısa ve tek paragraflık olmalıdır. Olgu sunumu özetleri ağırlıklı olarak mutlaka olgu hakkında bilgileri içermektedir. Anahtar sözcüklerinden sonra giriş, olgu(lar) tartışma ve kaynaklar şeklinde düzenlenmelidir.

Derleme yazıları

İngilizce ve Türkçe başlık, İngilizce ve Türkçe özet ve İngilizce ve Türkçe anahtar

kelimeler yer almalıdır. Kaynak sayısı 50 ile sınırlanması önerilmektedir.

Kaynaklar

Kaynaklar yazıda kullanılış sırasına göre numaralanmalıdır. Kaynaklarda verilen makale yazarlarının sayısı 6 dan fazla ise ilk 3 yazar belirtilmeli ve İngilizce kaynaklarda ilk 3 yazar isminden sonra " et al.", Türkçe kaynaklarda ise ilk 3 yazar isminden sonra " ve ark. " ibaresi kullanılmalıdır.

Noktalamalara birden çok yazarlı bir çalışmayı tek yazar adıyla kısaltmamaya ve kaynak sayfalarının başlangıç ve bitimlerinin belirtilmesine dikkat edilmelidir. Kaynaklarda verilen dergi isimleri **Index Medicus'a** (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez/query.fcgi?db=nlmcatalog>) veya **Ulakbim/Türk Tıp Dizini'ne uygun olarak kısaltılmalıdır**.

Makale: Tuna H, Avcı Ş, Tükenmez Ö, Kokino S. İnmeli olguların sublukse omuzlarında kas-sinir elektrik uyarımının etkinliği. Trakya Univ Tıp Fak Derg 2005;22:70-5.

Kitap: Norman IJ, Redfern SJ, (editors). Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone, 1996.

Kitaptan Bölüm: Phillips SJ, Whisnant JP Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis, and Management. 2nd ed. New York: Raven Pres, 1995:465-78.

Kaynak web sitesi ise: Kaynak makalerdeki gibi istenilen bilgiler verildikten sonra erişim olarak web sitesi adresi ve erişim tarihi bildirilmelidir.

Kaynak internet ortamında basılan bir dergi ise: Kaynak makaledeki gibi istenilen bilgiler verildikten sonra erişim olarak URL adresi ve erişim tarihi verilmelidir.

Kongre Bildirileri: Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992:1561-5.

Tablo, şekil, grafik ve fotoğraf

Tablo, şekil grafik ve fotoğraflar yazının içine yerleştirilmiş halde gönderilmemeli. Tablolar, her sayfaya bir tablo olmak üzere yazının gönderildiği dosya içinde olmalı ancak yazıya ait şekil, grafik ve fotoğrafların her biri ayrı bir imaj dosyası (jpeg yada gif) olarak gönderilmelidir.

Tablo başlıkları ve şekil altyazıları eksik bırakılmamalıdır. Şekillere ait açıklamalar yazının gönderildiği dosyanın en sonuna yazılmalıdır. Tablo, şekil ve grafiklerin numaralanarak yazı içinde yerleri belirtilmelidir. Tablolar yazı içindeki bilginin tekrarı olmamalıdır.

Makale yazarlarının, makalede eğer daha önce yayınlanmış alıntı yazı, tablo, şekil, grafik, resim vb var ise yayın hakkı sahibi ve yazarlardan yazılı izin almaları ve makale üst yazısına ekleyerek dergiye ulaştırmaları gerekmektedir.

Tablolar Metin içinde atıfta bulunan sıraya göre romen rakkamı ile numaralanmalıdır. Her tablo ayrı bir sayfaya ve tablonun üst kısmına kısa ancak anlaşılır bir başlık verilerek hazırlanmalıdır. Başlık ve dipnot açıklayıcı olmalıdır.

Sütun başlıkları kısa ve ölçüm değerleri parantez içinde verilmelidir. Bütün kısaltmalar ve semboller dipnotta açıklanmalıdır. Dipnotlarda şu semboller: (\pm , \bar{x} , \bar{s}) ve P değerleri için ise *, **, *** kullanılmalıdır.

SD veya SEM gibi istatistiksel değerler tablo veya şekildin altında not olarak belirtilmelidir.

Grafik, fotoğraf ve çizimler ŞEKİL olarak adlandırılmalı, makalede geçtiği sıraya göre numaralanmalı ve açıklamaları şekil altına yazılmalıdır Şekil alt yazıları, ayrıca metnin son sayfasına da eklenmelidir. Büyütmeler, şekilde uzunluk birimi (bar çubuğu içinde) ile belirtilmelidir. Mikroskopik resimlerde büyüme oranı ve boyama tekniği açıklanmalıdır.

Etik

Marmara Medical Journal'a yayınlanması amacı ile gönderilen yazılar Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, İyi Laboratuvar Uygulamaları Kılavuzu esaslarına uymalıdır. Gerek insanlar gerekse hayvanlar açısından etik koşullara uygun olmayan yazılar yayınlanmak üzere kabul edilemez. Marmara Medical Journal, insanlar üzerinde yapılan araştırmaların önceden Araştırma Etik Kurulu tarafından onayının alınması şartını arar. Yazarlardan, yazının detaylarını ve tarihini bildirecek şekilde imzalı bir beyan ile başvurmaları istenir.

Çalışmalar deney hayvanı kullanımını içeriyorsa, hayvan bakımı ve kullanımında yapılan işlemler yazı içinde kısaca

tanımlanmalıdır. Deney hayvanlarında özel derişimlerde ilaç kullanıldıysa, yazar bu derişimin kullanılma mantığını belirtmelidir.

İnsanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmaların sonuçlarını bildiren yazılarda, Kurumsal Etik Kurul onayı alındığını ve bu çalışmanın yapıldığı gönüllü ya da hastalara uygulanacak prosedürlerin özelliği tümüyle kendilerine anlatıldıktan sonra, onaylarının alındığını gösterir cümleler yer almalıdır.

Yazarlar, bu tür bir çalışma söz konusu olduğunda, uluslararası alanda kabul edilen kılavuzlara ve TC. Sağlık Bakanlığı tarafından getirilen ve 28 Aralık 2008 tarih ve 27089 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan "Klinik araştırmaları Hakkında Yönetmelik" ve daha sonra yayınlanan 11 Mart 2010 tarihli resmi gazete ve 25518 sayılı "Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelikte Değişiklik Yapıldığına Dair Yönetmelik" hükümlerine uyulduğunu belirtmeli ve kurumdan aldıkları Etik Komitesi onayını göndermelidir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar için de gereken izin alınmalı; yazıda deneklere ağrı, acı ve rahatsızlık verilmemesi için neler yapıldığı açık bir şekilde belirtilmelidir.

Hasta kimliğini tanıttak fotoğraf kullanıldığında, hastanın yazılı onayı gönderilmelidir.

Yazı takip ve sorularınız için iletişim:

Seza Arbay
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Dekanlığı,
Tıbbiye Caddesi, No: 49, Haydarpaşa
34668, İstanbul
Tel: +90 0 216 4144734
Faks: +90 0 216 4144731
e-posta: mmj@marmara.edu.tr

İÇİNDEKİLER

Orjinal Araştırma

EFFECTS OF HOMOCYSTEINE ON eNOS AND DDAH GENE EXPRESSION LEVELS IN PRIMARY HUMAN UMBILICAL ENDOTHELIAL CELL CULTURE <i>Mustafa Akkiprik, Duygu Çevik, Ayşe Özer, Kaya Emerk</i>	144
HORMONES AND SEXUAL FUNCTIONING IN MENOPAUSAL TRANSITION <i>Emine Coşar, Mithat Erenus</i>	150
THE EFFECTS OF DEXMEDETOMIDINE INFUSION ON THE FORMATION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES DURING MESENTERIC ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY IN RATS <i>Feyza İnci, İ. Varlık Doğan, Zeynep Eti, Mustafa Deniz, F. Yılmaz Göğüş</i>	154
ALL VULVAR NEOPLASMS AND PRENEOPLASTIC LESIONS WHICH WERE DIAGNOSED IN ZEYNEP KAMİL HOSPITAL BETWEEN 2000-2006 YEARS <i>Handan Çetiner, Gözde Kır, Mustafa Sakallı, Ateş Karateke</i>	161
TRAUMATIC CHILDHOOD DEATHS IN AFYONKARAHISAR <i>Yücel Yavuz, Yusuf Yürümez, Hüda verdi Küçüker, Hüseyin Fidan, Mevlüt Korkmaz</i>	167
NONINVASIVE DOPPLER AND ULTRASOUND PARAMETERS TO PREDICT FETAL ANEMIA DUE TO RED BLOOD CELL ALLOIMMUNIZATION <i>Rıza Madazli</i>	172
Olgu Sunumu	
TONGUE AND UVULAR EDEMA CAUSED BY BRASSICA ARVENSIS <i>Gulbin Aygencel, Emine Akıncı, Ayfer Keles, Ahmet Demircan</i>	179
AN UNCONSUMMATED MARRIAGE: A CASE REPORT <i>Ersin Akpınar, Esra Saatçi</i>	182
CREST SYNDROME AND RENAL INVOLVEMENT <i>Özlem Tarçın, Orhan Tarçın, Mihriban Özcivan, Hasan Aydın, Arzu Tiftikçi</i>	186
COMPLETE DIPHALLUS IN A 14 YEARS OLD BOY <i>Abdulkadir Tepeler, Mert Ali Karadağ, Ünsal Özkuvancı, Erhan Sarı, Yalçın Berberoğlu, Ahmet Yaser Müslümanoğlu</i>	190
MR FINDINGS OF FORGOTTEN SURGICAL PED IN SURGICAL AREA <i>Selçuk Peker, İbrahim Sun, M Necmettin Pamir</i>	193
Derleme	
THE EFFECT OF LONG-TERM TAMOXIFEN USAGE ON THE LOWER PART OF FEMALE GENITAL TRACT IN BREAST CANCER SURVIVORS: A REVIEW <i>Yusuf Yıldırım, Emrah Toz</i>	196
THE EFFECT OF ENDOCANNABINOID SYSTEM ON ENERGY METABOLISM AND OBESITY <i>Emel Tüfekçi Alphan, Nevin Yılmaz</i>	202



ARAŞTIRMA YAZISI

HOMOSİSTEİNİN İNSAN GÖBEK KORDON VEN ENDOTEL HÜCRE KÜLTÜRÜNDE eNOS ve DDAH GEN EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİSİ

Mustafa Akkiprik¹, Duygu Çevik², Ayşe Özer¹, Kaya Emerk²

¹Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye²Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZET

Amaç: Artmış plazma homosistein seviyeleri, miyokard enfarktüsü, felç ve periferik vasküler hastalıklarda bağımsız bir risk faktördür. Bu çalışmada, homosisteinin nitrik oksit (NO) sentezini, biyoyararlanımını ve yıkımını nasıl etkilediğini ortaya koymak amacı ile endotel hücre kültüründe endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) ve dimetilarginin dimetilaminohidrolaz (DDAH) gen ekspresyonları ile NO düzeyleri araştırılmıştır.

Yöntem: Çalışmada insan göbek kordon ven endotel hücre kültürü (HUVEC) yapılmış ve kültür hücreleri 10, 50, 100, 500 ve 1000 µM homosistein konsantrasyonları ile 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra bu hücrelerden (~1x10⁶ hücre) total RNA izolasyonu yapılarak ters transkriptaz (RT) reaksiyonu ile komplementer DNA (cDNA) eldesi sağlanmıştır. Elde edilen cDNA örnekleri eNOS ve DDAH transkriptlerine özgü primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile çoğaltılmıştır. PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonrasında dijital jel görüntüleme sistemi ile dansitometrik olarak ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca hücre kültürü medyumlarından elektrokemilüminesans yöntemi ile NO analizleri yapılmıştır.

Bulgular: Elde edilen veriler ışığında, homosisteinin endotel hücre kültüründe eNOS ve DDAH gen ekspresyonları üzerine istatistiksel anlamlılık yaratacak herhangi bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Buna karşın homosisteinin NO düzeyine hafif bir baskılayıcı etkisi olduğu görülmüştür.

Sonuç: Sonuç olarak, homosisteinin NO üzerine etkisinin eNOS ve DDAH gen ekspresyonları düzeyinde olmadığı bu nedenle özellikle substrat düzeyinde denetim mekanizmaları üzerine yoğunlaşılması gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Homosistein, eNOS, DDAH, Nitrik oksit (NO)

EFFECTS OF HOMOCYSTEINE ON eNOS AND DDAH GENE EXPRESSION LEVELS IN PRIMARY HUMAN UMBILICAL ENDOTHELIAL CELL CULTURE

ABSTRACT

Aim: Elevated plasma homocysteine levels are independent risk factors for myocardial infarction, stroke and peripheral vascular disease. The aim of this study was to investigate effects of homocysteine on nitric oxide (NO) synthesis, bioavailability and degradation by analysis gene expression levels of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) and also NO levels in endothelial cell line.

Material and Methods: Human umbilical vein endothelial cell culture (HUVEC) was performed and incubated with various homocysteine concentrations (10µM, 50µM, 100µM, 500µM, 1000µM). After that, total RNA was extracted from these cells and converted to cDNA. These cDNA samples were amplified with PCR for eNOS and DDAH genes. Then the products were run in agarose gel electrophoresis and analysed for densitometric measurement by gel imaging system. In addition, NOx was analysed in cell culture mediums with electrochemiluminesans method.

İletişim Bilgileri:

Prof. Dr. Kaya Emerk

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

e-mail: kemerk@ttnet.net.tr

Marmara Medical Journal 2007;20(3);144-149



Results: All these studies show that homocysteine has no statistically significant effect on eNOS and DDAH gene expressions in endothelial cell culture. On the other hand, homocysteine has a minor suppressive effect on NOx levels.

Conclusion: These data suggest that the effect of homocysteine on NO levels is not through gene expression levels of eNOS and DDAH but it is at substrate level.

Keywords: Homocysteine, eNOS, DDAH, Nitric oxide (NO)

GİRİŞ

Homosistein, metiyonin metaboliti olarak bulunan, sülfür taşıyan bir amino asittir. Homosistein, metiyonin metabolizması sırasında, iki metabolik yolun kesişmesinde anahtar rolü oynar. Plazmada birçok formda bulunur: 70-80% proteine bağlı, 20-30% disülfid ve çok az bir miktarda serbest ve indirgenmiş halde bulunur¹. Homosistein ya transsülfürasyon yolu ile sistatinyonine sonra da sistine katabolize olur ya da metiyonin haline yeniden metillenir. Homosisteininin metillenmesi folat ve kobalamin bağımlı bir enzim olan metiyonin sentaz tarafından yapılır. Artmış plazma homosistein seviyeleri, miyokard enfarktüsü, felç ve periferik vasküler hastalıklarda bağımsız bir risk faktörü olarak belirtilmiştir. Folik asit, vitamin B6 ve vitamin B12 eksikliği, sistatinyon β -sentaz ve 5,10-metilentetrahidrofolat redüktaz gibi metabolizmasında yer alan değişik enzimlerin eksiklikleri, plazma homosistein düzeyinin artmasına yol açmaktadır. Homosistein vasküler fonksiyonu bozarak aterosklerozda komplikasyon riskini artırır².

Hiperhomosisteineminin ateroskleroza yol açma mekanizmalarından bir tanesi de NO yolağıdır³. Endotelial NO vazodilatatördür ve anti-trombosit etkileri vardır. Hiperhomosisteinemide endotel bağımlı relaksasyonun bozulması NO'nun biyo-yararlanımının azalması sonucunda olmaktadır. Biyo-yararlanımın azalması başlıca; üretiminin azalmasından, degradasyonunun artmasından veya nitrozotiyol türevlerinin oluşmasından kaynaklanmaktadır. Homosisteinin NO üretimini etkilediği bilinen bir konu olmasına rağmen mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır⁴.

Asimetrik dimetilarjinin (ADMA), özellikle endotel hücreleri tarafından sentezlenen NO

yolağının önemli bir endojen regülatörüdür. ADMA düzeyindeki artışın, endotel disfonksiyonunun derecesi ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir ve ADMA'nın endotel disfonksiyonunun yeni bir belirteci olabileceği ileri sürülmektedir⁵. ADMA, çoğunlukla endotel hücrelerde ve böbrekte bulunan dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi tarafından L-sitrüline ve dimetilamine metabolize olur⁶. ADMA düzeyinin artmasının önemli bir nedeni DDAH fonksiyon yetersizliğidir^{7,8}.

Bu çalışmada, hiperhomosisteineminin nitrik oksit (NO) üzerine etkisini ortaya koyarak daha önce elde edilen ancak netleşmemiş sonuçlara ışık tutmak amacı ile endotel hücre kültüründe endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) gen ekspresyonları ile NO düzeyleri araştırılmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Etik Kurul Komitesince onaylanmıştır. Göztepe Sosyal Sigortalar Kurumu Hastanesi Doğum Servisi'nden normal doğum yapan hastalara ait göbek kordonları steril HEPES tampon salin (HBS) içerisine alınarak, 1-3 saat içerisinde Jaffe ve arkadaşlarının metoduna uygun olarak endotel hücreleri kollejenaz ile izole edildi⁹. Hücreler, % 20 fetal dana serumu, amfoterisin B penisilin/ streptomisin içeren medyum 199 (M2520) ile kültür kablarına ekildi ve 37°C'lık %5'lik CO2 inkübatörüne konuldu. Prekonfluent oluncaya kadar iki günde bir medyumları değiştirildi. Prekonfluent primer kültür hücrelerinin medyumları atılarak, yerine normal medyum, 10 mmol/L, 50 mmol/L, 100 μ mol/L, 500 μ mol/L ve 1000 μ mol/L L-homosistein'li medyumlar konuldu. Yirmi dört saat inkübasyondan sonra, medyumlar ependorflara 1'er ml paylaştırılarak NO cihazı



ile NO ölçümü yapılması için -20° C'a kaldırıldı, hücreler ise -70° C' de saklandı.

Hücrelerden (~1x10⁶ hücre) total RNA izolasyonu Qiagen Rneasy Mini Kiti kullanılarak protokolüne uygun olarak yapıldı. RNA'nın saflığını ve miktar tayinini spektrofotometre ölçümleri ile yapıldı. Bunun için kullanılacak küvetler 0.1 M NaOH ve 1mM EDTA çözeltisi ve daha sonra %0.1 DEPC'li saf su ile yıkandı. RNA dilüsyonu 1/50 olacak şekilde hazırlanarak örnekler 260 ve 280 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülüp, absorbans değerleri saptandıktan sonra, [A₂₆₀x40xDF] eşitliğine göre mililitredeki RNA miktarı mg olarak hesaplandı. Ardından Qiagen Omniscript RT kiti kullanılarak ters transkriptaz (RT) reaksiyonu ile komplementer DNA (cDNA) eldesi sağlandı. Elde edilen cDNA örnekleri eNOS ve DDAH transkriptlerine özgü primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile çoğaltıldı. PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonrasında dijital jel görüntüleme sistemi ile dansitometrik olarak ölçümleri yapılmış ve referans gen olarak β-aktin geni kullanılmıştır.

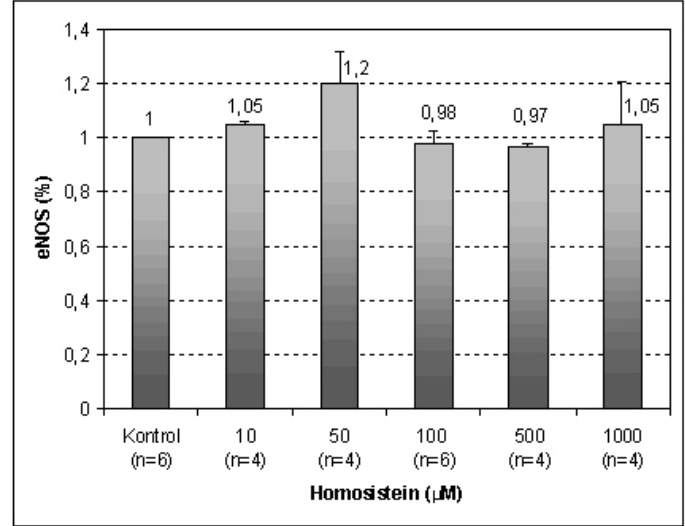
Jel görüntüsünün yoğunluk ölçümleri önce kendi pozitif kontrolü olan β -aktin ile oranlanmış daha sonra her çalışma grubundaki örnek kendi grubuna ait kontrole oranlanmıştır. İstatistiksel analizler "Instant 2.0" programı kullanılarak, nonparametrik Mann-Whitney testi ile yapılmıştır. Tüm gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında p>0,05'dir ve istatistiksel olarak anlamsızdır.

Nitrit oksit ölçümleri ise, NO'nun metabolitleri (NO_x) olan nitrit ve nitratın tekrar NO'ya çevrilmesi ve ozon ile reaksiyonu sonucunda oluşan kemilüminesana dayalı teknikle ölçen, yüksek derecede sensitif detektöre sahip olan Sievers model 280i NO analizör (NOA) kullanılarak yapılmıştır.

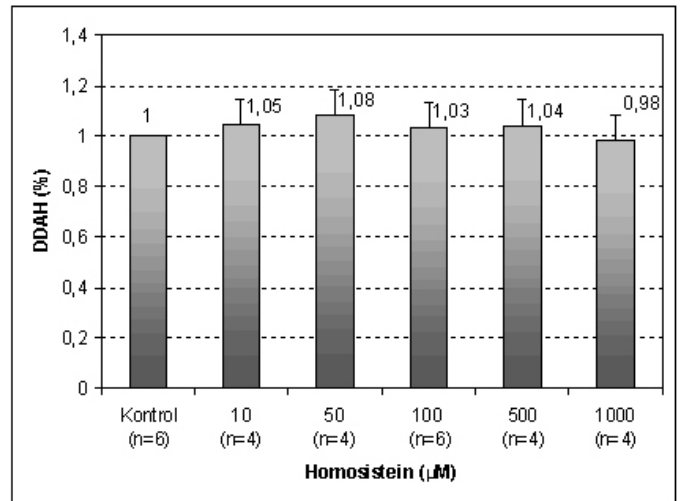
BULGULAR

Hücre kültürleri çeşitli konsantrasyonlarda (10, 50, 100, 500 ve 1000 µmol/L) Hcy (homosistein) ile 24 saat inkübe edildikten sonra eNOS ve DDAH gen ekspresyon değişimleri referans gen β-aktin ile

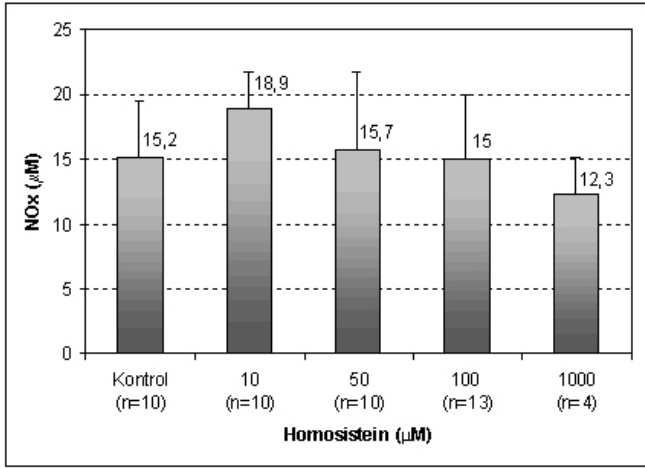
kıyaslandığında elde edilen sonuçlar Şekil 1 ve 2'de; NO metabolitlerinin ölçümleri ise Şekil 3'de görülmektedir.



Şekil 1: HUVEC'lerin homosisteinin farklı konsantrasyonlarda (0, 10,50, 100, 500, 1000 mM) 24 saat süre ile inkübasyonu sonrasındaki eNOS gen ekspresyonu değişimleri. eNOS jel görüntüsünün yoğunluk ölçümünün kendi pozitif kontrolüne ve daha sonra kendi grubuna ait kontrole oranlarının grafiği.



Şekil 2: HUVEC'lerin homosisteinin farklı konsantrasyonlarda (0, 10,50, 100, 500, 1000 mM) 24 saat süre ile inkübasyonu sonrasındaki DDAH gen ekspresyonu değişimleri. DDAH jel görüntüsünün yoğunluk ölçümünün kendi pozitif kontrolüne ve daha sonra kendi grubuna ait kontrole oranlarının grafiği.



Şekil 3: HUVEC'lerin homosisteinin farklı konsantrasyonlarda (0, 10, 50, 100, 500, 1000 mM) 24 saat süre ile inkübasyonu sonrasındaki NO metabolitlerinin (NOx) düzeyleri.

TARTIŞMA

Aterosklerotik kalp hastalıkları son derece önemli olup batı ülkelerinde bir numaralı ölüm nedenidir. Artmış homosistein seviyelerinin, ateroskleroza ve kardiyovasküler hastalıklara yol açtığı bilinmektedir^{2,10}. Homosistein, bu etkisini endotel hasarı yolu ile göstermektedir. Homosisteinin vasküler hastalıklara yol açma patogenezi NO'nun önemli bir yeri olduğu düşünülmektedir³.

Hiperhomosisteineminin endotel bozukluğunu hangi mekanizma ile gerçekleştirdiği açıklığa kavuşmamıştır. Her ne kadar hiperhomosisteinemi MCP-1 ekspresyonunu artırarak monositlerin intimaya girişini hızlandırır da eNOS ekspresyonuna önemli bir etkisi gösterilememiştir¹¹. Bu bulgular normal miktarda NO sentezi olduğunu ancak NO miktarlarının bir başka mekanizma ile azaldığını ve/veya eNOS'un inhibe edildiğini göstermektedir.

Homosisteinin, NO üzerine etkisini inceleyen araştırma grupları birbiri ile çelişen sonuçlar elde etmişlerdir. Homosisteinin NO sentezini artırdığını gösteren çalışmaların yanı sıra¹²⁻¹⁵, homosisteinin NO sentez aktivitesine etki etmeden, NO düzeyini azalttığı bulgularıda mevcuttur¹⁶.

Yapılan bazı çalışmalar homosisteinin NO biyoyararlanımını azalttığını göstermektedir.

Homosistein, NO biyoaktivitesini birçok mekanizma ile azaltabilir. Bu mekanizmalardan en önemlileri homosisteinin oksidatif stres yaratması ve NO'yu S-nitrozohomosistein haline çevirerek ortamdan uzaklaştırmasıdır. NO katabolizması sırasında otooksidasyonla, homosisteine bağımlı oksijen serbest radikallerinin üretildiği gösterilmiştir¹⁷. NO'nun homosisteinin serbest tiol grubu ile anormal etkileşimi sonucu yıkılması, NO'nun biyoyararlanımını azaltabilir. Tioller, NO ile reaksiyona girerek, S-nitrozotioller oluştururlar. Ancak, S-nitrozotioller, guanilat siklazı aktive etme yolu ile, hem vazodilatör hem de antitrombotik etkiler oluşturabilirler¹⁸. Upchurch ve ark. 1997'de yaptıkları bir çalışmaya göre ise, homosistein doza bağımlı olarak, glutation peroksidaz mekanizması ile, NO'nun biyoyararlanımını azaltmaktadır¹². Stamler ve ark. 1993'de yaptıkları bir çalışmaya göre ise homosisteine uzun süre maruz kalma (3 saatten fazla), NO cevabını bozmuştur³. Bunlara karşılık yapılan bir çalışmada endotel hücrelerinin, homosisteine 15 dakika gibi kısa bir süre maruz kalmasının bile NO salınmasını uyardığını, ve vazodilatör ve antitrombotik bir madde olan S-NO-Hcy oluşumu ile sonuçlandığını göstermiştir¹⁷.

Bu çalışma, homosisteinin 24 saat inkübasyon sonrasında, homosisteinin değişik konsantrasyonlarda, eNOS ekspresyonu üzerine etkisi olmadığını göstermiştir. İstatistiksel olarak da eNOS ekspresyon düzeylerinde herhangi bir fark saptanamamıştır. Bu konuda yapılan diğer çalışmalarda da eNOS ekspresyon düzeylerinde bir fark olmadığı ileri sürülmüştür. Chow ve ark.¹⁶, insan göbek endotel hücrelerinde yaptıkları çalışma ile homosisteinin eNOS ve iNOS aktivitesine etki etmediğini, Zhang ve ark.⁴, ise endotel hücrelerini 24 saat 10µM, 20µM, ve 50µM homosisteinle uyarılma ile eNOS düzeyinde değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Sığır aortik endotel hücrelerinde yapılan başka bir çalışmada ise 24 saatlik inkübasyon sonrasında eNOS proteini ve bazal NOS aktivitesi seviyelerinde bir değişiklik olmadığı saptanmıştır¹⁹. Bu konuda yapılan çalışmaların bir kısmında ise tam tersi sonuçlar gözlemlenmiş ve eNOS ekspresyonu



artmış olarak bulunmuştur. Sıçan aort halkası²⁰ ve sıçan aort endotel hücrelerinde¹⁵ yapılan benzer çalışmalarda eNOS ekspresyonunun arttığı bulunmuştur. Bu çalışmalar arasındaki en önemli fark kültüre karşı hayvan deneyi olmasıdır.

Çalışmamızda, homosisteinin eNOS ekspresyonu üzerine etkisi olmadığı görülmüş ve S-nitrozohomosistein oluşumu ile NO düzeylerini etkilediği düşünülerek NOx seviyeleri incelenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında, her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, fizyolojik doz olan 10µM konsantrasyonda NOx seviyelerinde hafif bir artış, daha yüksek dozlarda azalma, denediğimiz en yüksek toksik doz olan 1000µM'da daha da azalma gözlemlenmiştir.

Yapılan araştırmalar plazma ADMA düzeylerinin hiperhomosisteinemi gibi patolojik durumlarda arttığını göstermektedir²¹. Çalışmamızda, DDAH gen ekspresyonlarında bir değişiklik bulamadığımızdan ADMA düzeylerindeki beklenen artışın onun yıkımından sorumlu enzim olan DDAH'nin ekspresyonunun azalmasına değil DDAH'nin aktivitesinin azalmasına bağlı olabileceğini ima eder. DDAH'nin aktif bölgesinde aktif bir sistein bulunur. Bu sistein homosistein ile oksitlenirse enzimin inaktif olması kaçınılmazdır. Ancak henüz hücre içinde iki molekül arasında böyle bir etkileşim gösterilememiştir. Bir diğer olasılık da hiperhomosisteineminin sebep olduğu oksidatif olaylara bağlı hasarlanma mekanizmalarıdır. Çalışmamızda 24 saat homosistein inkübasyonu sonrasında DDAH gen ekspresyonu incelenmiş olup, daha uzun süreli, örneğin 48 saat homosistein inkübasyonlarında DDAH ekspresyon düzeyinin muhtemel düşüşünün gözlemlenebileceği unutulmamalıdır.

Sonuç olarak, bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda homosistein ile 24 saat boyunca inkübe edilen HUVEC serisinde eNOS ve DDAH gen ekspresyonlarının istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermediği saptanmıştır. NOx düzeyleri için ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir miktar düşüş olduğu gözlemlenmiştir. Her ne kadar literatürde homosisteinin NO

düzeylerini düşürdüğüne dair yayınlar varsa da bu düşüşün enzim ekspresyonuna bağlı olmadığı ve NO'nun kullanılabilir kısmını muhtemelen nitrozotiol türevlerinin oluşması aracılığı ile azaltmasına bağlı olduğu çalışmamızda anlaşılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Finkelstein JD. Homocysteine: a history in progress. Nutrition Reviews 2000; 58: 193-204.
2. Hofmann MA, Lalla E, Lu Y, et al. Hyperhomocysteinemia enhances vascular inflammation and accelerates atherosclerosis in a murine model. J Clin Invest. 2001; 107: 675-683.
3. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, et al. Adverse vascular effects of Homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. J Clin Invest 1993; 91: 303-318.
4. Zhang XH. Effects of homocysteine on endothelial NO production. Am. J Physiol Renal Physiol 2000; 279: F671-F678.
5. Tran CT, Leiper JM, Vallance P. The DDAH/ADMA/NOS pathway. Atheroscler Suppl 2003; 4: 33-40.
6. Vallance P, Leone A, Calver A, et al. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. Lancet 1992; 339: 572-575.
7. MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M, et al. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylaminohydrolase. Br J Pharmacol 1996; 119: 1533-1540.
8. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cookie JP. Novel mechanism for endothelial dysfunction: Dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. Circulation 1999; 99: 3092-3095.
9. Jaffe EA.: Culture and identification of large vessel endothelial cells. In: Jaffe E.A, ed. Biology of Endothelial Cells. Boston: Martinus Nijhoff Publishers, 1984:1-11
10. Harker LA, Ross R, Slichter SJ, Scott CR. Homocystine-induced arteriosclerosis. The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. J Clin Invest. 1976; 58: 731-741.
11. Wang G, O K. Homocysteine stimulates the expression of monocyte chemoattractant protein-1 receptor (CCR2) in human monocytes: possible involvement of oxygen free radicals. Biochem J. 2001; 357: 233-240.
12. Upchurch GR Jr, Welch GN, Fabian AJ, Pigazzi A, Keaney JF Jr, Loscalzo J. Stimulation of endothelial nitric oxide production by homocyst(e)ine. Atherosclerosis 1997; 132: 177-185.
13. Welch GN, Upchurch GR Jr, Farivar RS, et al. Homocysteine-induced nitric oxide production in vascular smooth-muscle cells by NF-kappa B-dependent transcriptional activation of Nos2. Proc Assoc Am Physicians 1998; 110: 22-31.
14. Ikeda U, Ikeda M, Minota S, Shimada K. Homocysteine increases nitric oxide synthesis in cytokine-stimulated vascular smooth muscle cells. Circulation 1999; 99: 1230-1235.
15. Wang S, Wright G, Harrah J, et al. Short-term exposure to homocysteine depresses rat aortic contractility by an endothelium-dependent mechanism. Can J Physiol Pharmacol 2000; 78: 500-506.



16. Chow K, Cheung F, Lao TT, O K. Effect of homocysteine on the production of nitric oxide in endothelial cells. Clin Exp Pharmacol Physiol 1999; 26: 817-818.
17. Starkebaum G, Harlan JM. Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. J Clin Invest 1986; 77: 1370-1376.
18. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. J Biol Chem 1991; 266: 4244-4250.
19. Jin L, Abou-Mohamed G, Caldwell RB, Caldwell RW. Endothelial cell dysfunction in a model of oxidative stress. Med Sci Monit 2001; 7: 585-591.
20. Tyagi SC, Smiley LM, Mujumdar VS. Homocyst(e)ine impairs endocardial endothelial function. Can J Physiol Pharmacol 1999; 77: 950-957.
21. Stuhlinger MC, Tsao PS, Her JH, Kimoto M, Balint RF, Cooke JP. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. Circulation 2001; 104: 2569-2575.



ORIGINAL RESEARCH

HORMONES AND SEXUAL FUNCTIONING IN MENOPAUSAL TRANSITION

Emine Coşar¹, Mithat Erenus²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye ²Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ABSTRACT

Objective: The relative contribution of hormones (androgens and estrogen) to female sexuality and psychosocial status is controversial in menopausal transition.

Materials and Methods: We compare the changes of hormonal and psychosocial factors in perimenopausal women with the changes of sexual function.

Results: Among DHEAS, FSH, LH, estradiol and free Testosterone (T), free T is the only variable that is significantly associated ($P<0.05$) with sexual satisfaction.

Conclusion: Sexual functioning declines with the menopausal transition. Endogenous hormone levels except androgens do not seem to explain this decline.

Keywords: Hormones, Sexuality, Menopausal transition

MENOPOZAL GEÇİŞ DÖNEMİNDE HORMONLAR VE SEKSÜEL FONKSİYONLAR

ÖZET

Amaç: Menopozal geçiş döneminde hormonların (androjen ve östrojenler) kadın seksüalitesine ve psikososyal durumuna etkisi tartışmalıdır.

Yöntem: Bu çalışmamızda perimenopozal hastalarda hormonal değişimlerin seksüel fonksiyonlar üzerine değişimini inceledik.

Bulgular: DHEAS, FSH, LH, östradiol ve serbest testosteron arasında yalnızca serbest testosteronun anlamlı olarak etki ettiğini gördük ($P<0.05$).

Sonuçlar: Menopozal geçiş döneminde seksüel fonksiyonlarda bir miktar azalma olmuştur, bu azalmayı androjenler dışında diğer endojen hormonlarla açıklamak zordur.

Anahtar Kelimeler: Hormonlar, Seksüel fonksiyonlar, Menopozal geçiş dönemi

INTRODUCTION

Women attending gynecology clinics often complain of increasing sexual and psychosocial problems¹. The relative contribution of hormones (androgens and estrogen) to female sexuality and psychosocial status is controversial. In menopausal transition, low libido, blunted motivation, decreased well-being, and fatigue are symptoms due to female androgen deficiency². Studies so far show that testosterone levels reach an apparent level in the early reproductive years (third decade of life) and then decrease with age. Women in their forties have approximately half the level

of circulating total testosterone as that of women in their twenties³. Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) shows similar changes to those described for testosterone but has an even more pronounced age-related decrease⁴. On the longitudinal analyses low (estradiol) E2 levels significantly adversely affect women's sexual interest and responsiveness but not sexual activity⁵. A significant and negative association between E2 level and dyspareunia has also been found^{5,6}.

Rosen reported three randomized controlled studies that suggest the importance of (testosterone) T in postmenopausal women⁷.

İletişim Bilgileri:

Emine Coşar, M.D.

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve

Doğum Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

e-mail: dremineay@hotmail.com

Marmara Medical Journal 2007;20(2);150-153



Lobo found that sexual desire increased in postmenopausal women treated with estrogen and T over estrogen alone⁸. The Melbourne Women's Midlife Health Project showed T levels in women naturally undergoing the menopausal transition are more related to age than to the final menstrual period⁹.

Hormonal changes during the menopausal transition occur in a period. In these years dense psychosocial factors affect women's sexuality. Dennerstein et al. reported that some of the social transitions like losing or gaining a partner in midlife, age-related health problems had adverse or positive effects on women's sexual function¹⁰.

The aim of this study is to compare changes of hormonal factors in perimenopausal women with the changes of sexual function.

MATERIAL AND METHOD

From January to April 2001, a total of 85 Turkish women aged 40-54 were recruited to participate in this study at Marmara University Hospital. Premenopausal status was defined as having an FSH level of no higher than 30 m IU/ml, three consecutive menstrual cycles in 3 months preceding baseline visit, absence of surgical menopause, no hormonal therapy, and a BMI between 22 and 27. Exclusion criteria were pregnancy, having serious medical problems that could affect menopausal transition time or their variables, or having a history of drug or alcohol abuse. All participants gave a written informed consent form for their participation in the study.

The study participants completed a three-part psychosocial questionnaire designated by the primary investigator. The first part included psychosocial information such as education level, marital status, financial and career satisfaction, number and ages of children. Then we tabulated the current number of psychosocial factors. The second part included 18 questions on sexual satisfaction. The questionnaire included these items: feelings for partner, passionate love for partner, satisfied with partner, sexual responsivity-arousal/orgasm during sexual activities and enjoyment of sexual activities,

frequency of sexual activities, libido-sexual thoughts or fantasies-, partner difficulties in sexual performance. The third part was about menopausal symptoms and ability to control disturbing symptoms. The scores on the sexual satisfaction scale ranged from 8 to 40 (little sexual satisfaction – high sexual satisfaction). Chronbach's alpha for this scale was 0.70 for data collected in 1 year indicating acceptable reliability¹¹. FSH was measured by automated Microparticulate Enzyme Immunoassay (Abbott Diagnostics IMX Analyser; Abbott Laboratories, Abbott Park,IL). Correlation coefficients were 0.98. Estradiol was measured by using a double-antibody RIA kit purchased from Diagnostic Products Corp. (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA). DHEAS were measured with an automated chemiluminescent enzyme immunoassay (DPC) using the Immulite Automated Analyser (Immulite; Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA). Serum free testosterone level was measured by using double-antibody RIA, the between assay coefficient of variation at a testosterone level of 2 nmol /L was 10%.

Statistical analyses were performed SPSS, version 13 (Chicago,IL). Student's t-test and linear regression analyses were used where appropriate.

RESULTS

The mean age of the women was 45.9 ± 1.9 years. The median parity was 2 (range, 0 to 3). Free testosterone levels changed minimally during the 1 year period decreasing 3.26 ± 0.47 U, sexual satisfaction scores also decreased from a mean score of 25.43 ± 6.27 to 24.91 ± 5.91 ; these were all significant ($P < 0.05$). The results of the other hormones, shown in Table I, suggest that free T was the only variable that is significantly associated ($P < 0.05$) with sexual satisfaction. All the parameters of the questionnaire, libido, sexual responsivity, frequency of sexual activities, partner's problems did not show association with blood hormone levels except free T.



Table I: Association of hormone levels with sexual functioning at the beginning and year 1

Hormone levels	Basal		Year1	
	R ²	P	R ²	P
Free T	0.099	0.003	0.087	0.006
DHEAS (µmol/l)	0.014	0.282	0.007	0.459
FSH (mIU/l)	0.018	0.225	0.004	0.564
LH (mIU/l)	0.002	0.709	0.01	0.360
Estradiol (pg/ml)	0.014	0.275	0.001	0.731

DISCUSSION

In this study, the level of free T was correlated with sexual satisfaction in perimenopausal women.

We found a minimal, but significant decrease in free T levels in the one year period. Sexual satisfaction scores also minimally decreased. The evidence from double-blind placebo-controlled clinical trials suggests androgens affect sexual functioning. It was found that testosterone had significant positive effects over that of estrogen alone on mood and on sexual functioning^{12,13}. Burger et al. demonstrated no change in T levels after menopause, and Gerber et al. found a nonsignificant decrease in free T during 5 years^{14,15}.

Our study does not show a relationship between low sexual satisfaction scores and low estradiol, DHEAS levels (P>0.05) in menopausal transition. Dennerstein et al. also found no direct relationship between mood scores and hormone levels in the early or late menopausal transition phases⁵. They found no direct effect of hormones or menopausal status on mood but they found that the menopausal transition had an indirect effect on negative mood scores¹⁶. In another randomized double-blind study Dennerstein et al. showed significant positive effects of estrogen on mood and sexuality. 49 oophorectomized women received 0.05 µm ethinyl estradiol; 250 µm levonorgestrel; ethinyl estradiol plus norgestrel; and placebo in random order for 3 months each daily. No androgen comparison was included in the study design, but the powerful effects of ethinyl estradiol on mood¹⁷ and sexuality¹⁸ were shown.

In conclusion, sexual functioning declines with the menopausal transition. Endogenous hormone levels except androgens do not seem to explain this decline. Nonhormonal factors – like psychological, physical, racial and relational- on sexual functioning in middle-aged women have also been investigated in further studies.

REFERENCES

1. Sarrel P, Whitehead M. Sex and menopause: defining the issues. *Maturitas* 1985;7:217-224.
2. Davis SR. Androgen treatment in women. *Med J Aust* 1999;170:545-549.
3. Zumoff B, Strain GW, Miller LK, et al. twenty four hour mean plasma testosterone concentration declines with age in normal premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metabol* 1995;80:1429-1430.
4. Ravaglia G, Forti P, Maioli F, et al. The relationship of dehydroepiandrosterone sulphate (DHEAS) to endocrine-metabolic parameters and functional status in the oldest-old. Results from an Italian study on healthy free-living over ninety-year-olds. *J Clin Endocrinol Metabol* 1996;81:1173-1178.
5. Dennerstein L, Randolph J, Taffe J, et al. Hormones, mood, sexuality, and the menopausal transition. *Fertil and Steril* 2002;77:S42-S48.
6. Avis NE, Stellato R, Crawford S, Johannes C, et al. Is there an association between menopause status and sexual functioning? *Menopause* 2000;7:297-309.
7. Rosen R. Androgens and women's sexuality: scientific, clinical, and regulatory perspectives. Lecture. Vancouver, BC: International society for the study of Women's Sexual Health, October 11,2002.
8. Lobo R. Comparative effects of oral esterified estrogens with and without methyltestosterone on endocrine profiles and dimensions of sexual function in postmenopausal women with hypoactive sexual desire. *Fertil Steril* 2003;79:1341-1352.
9. Dennerstein L, Dudley E, Burger H, et al. Are changes in sexual functioning during midlife due to aging or menopause? *Fertil Steril* 2001;76:456-460.
10. Dennerstein L, Leher P. Modelling mid-aged women's sexual functioning: a prospective, population-based study. *J Sex Marital Ther* 2004;30:173-183.
11. Nunnally J. Psychometric theory. 2nd ed New York: McGraw Hill, 1978:701.



12. Davis SR, McCloud P, Strauss BJG, et al. Testosterone enhances eustrodiols effects on postmenopausal bone density and sexuality. *Maturitas* 1995;21:227-236.
13. Sarrel P, Dobay B, Wiita B. Estrogen and estrogen-androgen replacement in postmenopausal women dissatisfied with estrogen only therapy. *J Reprod Med* 1998;43:847-856.
14. Burger H, Dudley E, Hopper J, et al. Prospectively measured levels of serum FSH, estradiol, and the dimeric inhibins during the menopausal transition in a population based cohort of human. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4025-4030.
15. Gerber JR, Johnson JV, Bunn JY, et al. A longitudinal study of the effects of free testosterone and other psycho social variables on sexual function during the natural traverse of menopause. *Fertil Steril* 2005;83:643-648.
16. Dennerstein L, Lehert P, Burger H, et al. Mood and the menopausal transition. *J Nerv Ment Dis* 1999;187:685-691.
17. Dennerstein L, Burrows GD, Hyman G, et al. Hormon therapy and affect. *Maturitas* 1979;1:247-259.
18. Dennerstein L, Lehert P, Burger H, et al. Factors affecting sexual functioning of women in the midlife years. *Climacteric* 1999;2:254-262.



ORIGINAL RESEARCH

THE EFFECTS OF DEXMEDETOMIDINE INFUSION ON THE FORMATION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES DURING MESENTERIC ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY IN RATS

Feyza İnci¹, İ. Varlık Doğan¹, Zeynep Eti¹, Mustafa Deniz², F. Yılmaz Göğüş¹, Feyza Yağmur³
¹Department of Anesthesiology, School of Medicine, Marmara University, Istanbul, Turkey ²Department of Physiology, School of Medicine, Marmara University, İstanbul, Turkey ³Department of Biochemistry, School of Medicine, Marmara University, Istanbul, Turkey

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to evaluate the effect of dexmedetomidine infusion on the formation of reactive oxygen species during mesenteric ischemia-reperfusion injury in rats.

Methods: Twenty-eight male Sprague-Dawley rats weighing between 300-320 g were divided into four groups (n=7). The first two groups underwent sham operation; group 1 was the control group and group 2 received 5 µg/kg/h dexmedetomidine iv infusion. Ischemia-reperfusion (I/R) was produced in the remaining two groups (group 3 and 4) by ligation of the superior mesenteric artery for 30 min followed by 60 min of reperfusion period. Group 3 (I/R-S) rats were control I/R rats receiving 0.9% NaCl infusion and group 4 (I/R-D) rats received 5 µg/kg/h dexmedetomidine iv infusion during I/R. Tissue samples were obtained from the ileum for the measurement of luminol and lucigenin enhanced chemiluminescence (CL), tissue myeloperoxidase activity, malondialdehyde (MDA) and glutathione levels.

Results: Luminol CL levels, tissue myeloperoxidase activity (p<0.05). and MDA levels (p<0.05) were significantly higher in I/R-S group compared with sham-operated groups and I/R-D group. Glutathione levels of I/R-S group was significantly higher than those of I/R-D group (p<0.05).

Conclusion: We concluded that dexmedetomidine infusion can prevent the increase in reactive oxygen species during mesenteric ischemia-reperfusion injury in rats.

Keywords: α₂-adrenergic agonists, Dexmedetomidine; Ischemia-reperfusion injury; Reactive oxygen species

DEKSMEDETOMİDİN İNFÜZYONUNUN SIÇANLARDA MEZENTER İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA OLUŞAN REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı; sıçanlarda oluşturulan mezenter iskemi-reperfüzyon modelinde intravenöz uygulanan deksmedetomidinin reaktif oksijen ürün düzeyi üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

Yöntem: 300-320 g ağırlığında, 28 adet, erkek, Sprague-Dawley cinsi sıçan dört gruba ayrıldı (n:7). Sham operasyonu geçiren iki gruptan; grup 1'deki sıçanlara (Kontrol grup, Grup K) ilaç uygulanmazken grup 2'deki sıçanlara 5 mg/kg/s deksmedetomidin infüzyonu yapıldı. Diğer iki gruba (grup 3 ve 4) superior mezenter arter ligasyonu ile 30 dk iskemi ve ardından 60 dk reperfüzyon uygulandı (I/R). İskemi-reperfüzyon sırasında Grup 3'deki (I/R-S) sıçanlara 0.9% NaCl ve grup 4'deki (I/R-D) sıçanlara 5 mg/kg/h deksmedetomidin infüzyonu yapıldı. İleumdan, luminal ve lusigenin kemiluminesans (KL), doku miyeloperoksidaz aktivitesi, malondialdehid (MDA) ve glutatyon seviyesi ölçümleri için doku örnekleri alındı.

Bulgular: Luminol KL seviyesi, doku miyeloperoksidaz aktivitesi (p<0.05) ve MDA seviyesi (p<0.05) I/R-S grubunda sham grupları ve I/R-D grubuna göre belirgin yüksek bulundu. Glutatyon seviyesi, I/R-S grubunda I/R-D grubundan belirgin yüksek bulundu (p<0.05).

Sonuç: Sıçanlarda intravenöz deksmedetomidin infüzyonunun mezenter iskemi-reperfüzyon modelinde oluşan reaktif oksijen türlerindeki artışı engellediği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Deksmmedetomidin; İskemi-reperfüzyon hasarı; Serbest oksijen radikalleri

İletişim Bilgileri:

Feyza İnci, M.D.
Marmara University Hospital Anesthesiology Department Altunizade,
İstanbul, Turkey
e-mail: feyzainci@hotmail.com

Marmara Medical Journal 2007;20(3);154-160



INTRODUCTION

Ischemia is the condition suffered by tissues when deprived of blood flow resulting in inadequate nutrient and oxygen supply. Depending on the time and intensity of the ischemia, when oxygen is reintroduced to the tissues, tissue injury can be further exacerbated due to reperfusion injury. Reperfusion injury refers to the tissue damage inflicted when blood flow is restored after an ischemic period of more than about ten minutes. Restarting blood flow after ischemia is typically more damaging than the ischemia itself because the ischemia sets the stage for oxygen to generate free radicals rather than to contribute to cellular energy production¹.

Mesenteric ischemia-reperfusion (I/R) injury of the intestine is a common and often devastating clinical occurrence and performs a fundamental role in the pathophysiology of several clinical-surgical conditions². Intestinal ischemia is generally the result of arterial occlusion by thrombi or embolisms and, more frequently, by non-occlusive processes resulting in low mesenteric flow such as hypovolemia, cardiac insufficiency, sepsis, the administration of α -adrenergic agents or digitalis³. One of the major factors that induces intestinal injury after reperfusion is the generation of free radicals from oxygen molecules, derived from the electron transport chains of the mitochondria, xanthine-oxidase (XO) metabolism, endothelial cells, prostaglandins and activated neutrophils⁴.

Most of these patients with I/R injury are admitted to the intensive care unit (ICU) during the postoperative period and require sedation and analgesia to reduce anxiety, tolerate mechanical ventilation and provide pain relief. In the presence of the I/R injury, the effects of sedative agents on the release of reactive oxygen species becomes an important issue affecting the rate of morbidity and mortality.

The highly selective and potent α_2 -adrenergic agonist dexmedetomidine is an effective sedative, anxiolytic and analgesic agent used in postoperative patients requiring mechanical

ventilation in the ICU and the aim of this experimental study was to evaluate the effects of dexmedetomidine infusion on the formation of reactive oxygen species during a mesenteric ischemia-reperfusion model in rats.

METHODS

The study protocol was approved by the Marmara University School of Medicine Animal Care and Use Committee. The animals were housed individually in a temperature controlled environment ($20\pm 1^\circ\text{C}$), maintained on a 12h light/ dark cycle, and provided with food and water ad libitum.

Twenty-eight adult, male Sprague-Dawley rats weighing 300-320 g were divided into four groups (n=7). Anesthesia was induced with 100 mg/kg ketamine administered intraperitoneally. An intratracheal cannula was inserted from a midline incision for a tracheostomy to facilitate breathing and a polyethylene catheter was inserted into the right vena jugularis for intravenous infusions. After midline laparotomy, the intestines were carefully removed and the superior mesenteric artery (SMA) isolation was performed in all rats. Ischemia was produced by occlusion of the SMA at its origin from the aorta with atraumatic microvascular clamp. The absence of arterial pulsation distal to the clamp and pallor of the small intestine confirmed the adequate occlusion. After 30 minutes of mesenteric ischemia, the clamp was removed allowing reperfusion of the mesenteric vasculature for 60 min. Adequate reperfusion was confirmed by return of arterial pulsation and recoloration of the small intestine. The first two groups underwent sham operation without clamping SMA and the rats were followed up for 90 min to simulate the I/R interval in the other groups. During the 90 min. Group 1 received no medication (sham operated-control) and Group 2 received 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ dexmedetomidine infusion (sham operated-dexmedetomidine). Group 3 and 4 underwent intestinal ischemia-reperfusion injury. Group 3 rats were control I/R rats receiving 5 ml/kg/h 0.9% NaCl infusion while Group 4 rats received 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$



dexmedetomidine infusion during 90 minutes of I/R period. All rats were sacrificed and the tissue samples were obtained from the ileum for measurement of luminol and lucigenin enhanced chemiluminescence (CL), tissue myeloperoxidase activity, lipid peroxidase and glutathione levels.

Chemiluminescence: Ileum specimens were put into vials containing 3 ml PBS-HEPES buffer at room temperature. Reactive oxygen species were quantitated after the addition of enhancers (0.2 mM lucigenin and 0.2 mM luminol). CL was done using a scintillation counter. Counts were obtained at 5 s intervals and the results are given as a counting period of 5 min. Counts were corrected for wet tissue weight and expressed as relative light units per milligram tissue (rlu/mg).

Lipid peroxidation: The degree of lipid peroxidation was determined by monitoring thiobarbituric acid (TBA) reactive substance formation. Tissue samples were homogenized in trichloroacetic acid (TCA) (1g tissue+9 ml 10% TCA). After centrifugation, at 3000 rpm for 15 min, the supernatant was added to an equal volume of 0.67% TBA and rested in a 100°C water bath for 15 min. The absorbance of the samples were measured at 535 nm after cooling to room temperature. Lipid peroxidation end products levels were determined in terms of malondialdehyde (MDA) from 1.56×10^5 M/cm extinction coefficient and expressed as nmol MDA/gram tissue.

Tissue myeloperoxidase (MPO) activity: Tissue MPO activity was measured on samples, weighing 0.2-0.3 g. Tissue samples were homogenized in 10 volume of ice-cold potassium phosphate buffer (20 mM K_2HPO_4 ; pH:7.4). The homogenate was centrifugated at 12000rpm for 10 min at 4°C. The supernatant was discarded and the pellet was then rehomogenized with an equivalent volume of 50 mM acetic acid containig 5%

hexadecyltrimethylammonium bromide (HETAB). Myeloperoxidase activity was assessed by measuring the H_2O_2 dependent oxidation of O-dianizidine 2HCl. One unit of enzyme activity was defined as the amount of the MPO present that caused a change in absorbance of 1.0/min at 460 nm and 37°C.

Glutathione level : 0.5 ml of the supernatant which was obtained after a centrifugation at 2500 rpm for 10 min, was added to 2 ml 0.3M Na_2HPO_4 . After adequate mixing, 0.5 ml DTNB (5,5-dityobis-2nitrobenzoic acid) was added and the absorbance was measured at 412 nm.

Statistical analysis: The values were represented as mean \pm SD. Statistical differences were analysed by using one-way analyses of variance (ANOVA) and Tukey test. P values <0.05 were considered significant.

RESULTS

Luminol CL levels were significantly higher in the I/R-S group compared with the sham-operated groups and the I/R-D group ($p < 0.001$). There was no difference between the sham-operated control group and the I/R-D group (Table I).

Lucigenin CL levels were not different between groups ($p > 0.05$) (Table II).

Tissue myeloperoxidase activity was significantly higher in the I/R-S group compared with the sham operated groups and the I/R-D group ($p < 0.001$). There was no difference between the sham operated groups and the I/R-D group (Table III).

The glutathione levels of the I/R-D group was significantly lower than those of the I/R-S group ($p < 0.005$) (Table IV).

The MDA levels of the I/R-S group was significantly higher than the sham-operated groups and the I/R-D group ($p < 0.005$) (Table V).

**Table I:** Results of all groups

	Sham-operated	Sham-operated-D	I/R-S	I/R-D
Luminol CL levels	11.41±1.44	12.95±1.60	24.02±1.89**	11.93±1.91
Lucigenin CL levels	22.04±3.92	20.62±2.99	25.36±3.94	20.29±4.97
Myeloperoxidase activity	42.65±4.91	49.03±4.02	89.81±5.35**	53.50±4.41
Glutathione levels	2.08±0.39	2.16±0.37	2.59±0.49*	1.93±0.24
Lipid peroxidation	12.45±8.19	13.37±8.65	21.16±8.10*	16.73±7.15

Values are mean±SD

I/R-S: Ischemia-reperfusion-saline, I/R-D: Ischemia-reperfusion-dexmedetomidine

*p<0.05 compared with other groups

**p<0.001 compared with other groups

I: Results of all groups

Table II: Lucigenin chemiluminescence levels (AUC rlu/mg tissue)

Sham-operated	Sham-operated-D	I/R-S	I/R-D
22.04±3.92	20.62±2.99	25.36±3.94	20.29±4.97

Values are mean±SD, p>0.05

I/R-S: Ischemia-reperfusion-saline

I/R-D: Ischemia-reperfusion-dexmedetomidine

II: Lucigenin chemiluminescence levels (AUC rlu/mg tissue)

Table III: Tissue myeloperoxidase activity (ml/min)

Sham-operated	Sham-operated-D	I/R-S	I/R-D
42.65±4.91	49.03±4.02	89.81±5.35*	53.50±4.41

Values are mean±SD

I/R-S: Ischemia-reperfusion-saline, I/R-D: Ischemia-reperfusion-dexmedetomidine

*p<0.001 compared with other groups

III: Tissue myeloperoxidase activity (ml/min)

Table IV: Glutathione levels (µmol/L)

Sham-operated	Sham-operated-D	I/R-S	I/R-D
2.08±0.39	2.16±0.37	2.59±0.49*	1.93±0.24

Values are mean±SD

I/R-S: Ischemia-reperfusion-saline, I/R-D: Ischemia-reperfusion-dexmedetomidine

*p<0.05 compared with I/R-D group

IV: Glutathione levels (µmol/L)

Table V: Lipid peroxidation (nmolMDA/ g tissue)

Sham-operated	Sham-operated-D	I/R-S	I/R-D
12.45±8.19	13.37±8.65	21.16±8.10*	16.73±7.15

Values are mean±SD

I/R-S: Ischemia-reperfusion-saline, I/R-D: Ischemia-reperfusion-dexmedetomidine

*p<0.05 compared with other groups

V: Lipid peroxidation (nmolMDA/ g tissue)



DISCUSSION

The present data provide evidence that the selective α_2 -adrenergic agonist, dexmedetomidine may attenuate the excessive release of the reactive oxygen species during mesenteric ischemia-reperfusion injury in rats.

Ischemia-reperfusion injury is a common pathology in surgical patients during general anesthesia as well as postoperative period in ICU. Massive and abrupt release of reactive oxygen species after reperfusion followed by endothelial dysfunction or neutrophil infiltration triggers the oxidative damage⁵. Dysfunction induced by free radicals may thus be a major component of ischemic diseases of the heart, bowel, liver, kidney and brain. In the study of Bhaskar et al⁶, tissue activity of myeloperoxidase was increased, α -tocopherol level was decreased and histology indicated morphological changes in the colon during colonic I/R injury in rats. The authors suggested that colonic mucosal damage occurs during I/R and free radicals generated by the infiltrated neutrophils may play a role in this damaging process. Therefore, administration of anesthetic and sedative agents with anti-oxidant capacity during the perioperative period and ICU stay in patients with mesenteric I/R injury might attenuate the harmful consequences of possible ischemic injury.

In recent years; there has been a growing interest in the use of α_2 -adrenergic agonist agents as useful adjuncts during general anesthesia or ICU sedation. Clonidine, the prototypical α_2 agonist and dexmedetomidine, the recently described one, have potent analgesic, sedative and sympatholytic effects. The experimental studies evaluating the effects of these agents on I/R injury, mostly used models of myocardial, brain or retinal ischemia. Reichhalter et al⁷ evaluated the area at risk and area of infarction by photometric quantification in a rat myocardial I/R model in which the left anterior descending coronary artery ligation lasted for 30 min and was followed by a 150-min reperfusion. They found that the rats who received iv n-alil

clonidine (alinidine) before and after ligation had a significantly smaller area of infarction in relation to the area at risk than the control group and suggested that the cardioprotective effects of alinidine may be explained by a reduction in heart rate and blood pressure. The results of an another rat coronary I/R model suggested that α_2 -adrenergic receptor stimulation had a potent antiarrhythmic effect on ischemia-reperfusion-induced ventricular arrhythmias and these effects were reversed by the α_2 -adrenergic antagonist yohimbine⁸. Yuan et al⁹ evaluated the effects of adrenoceptor modulation on hypoxic-ischemic brain damage produced by unilateral carotid artery ligation combined with hypoxia (6% or 8% O₂ in N₂) in immature rats. They found that post-treatment with clonidine reduced brain injury by 45% compared with saline controls and mortality increased after α_2 -adrenergic antagonist (prazosin, yohimbine) treatment. These results suggested that the activation of central α_2 -adrenergic receptors provided neuroprotection during reperfusion after hypoxic-ischemic brain injury.

Dexmedetomidine has a relatively high ratio of α_2/α_1 activity (1620:1) and therefore is considered as a full agonist of the α_2 receptor without unwanted cardiovascular and respiratory effects at therapeutic doses¹⁰. The experimental studies evaluating the effects of this agent on I/R injury are limited to models of global or focal cerebral hypoxia-ischemia. Kuhmonen et al¹¹ examined the effects of dexmedetomidine on the cerebral infarct volume produced by transient (90 min occlusion and reperfusion) and permanent middle cerebral artery occlusion. They found that the rats receiving 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dexmedetomidine had smaller (20-30%) infarct volume after transient occlusion. In Jolkkonen et al's study¹² assessing the effect of dexmedetomidine and glutamate receptor antagonists on infarct volume in rat focal cerebral ischemia, dexmedetomidine decreased total ischemic volume by 40% compared to NaCl-treated rats and the efficacy was better compared to that of the competitive NMDA receptor antagonist.



It is well known that a variety of mechanisms are important for the development of I/R injury such as the release of excitatory aminoacids (adrenalin, noradrenalin and glutamate), intracellular calcium elevation and reactive oxygen species formation. Although the results of experimental studies suggested that α 2-adrenergic agonist agents have a protective effect on ischemia-reperfusion injury especially in cerebral ischemia models, the exact mechanisms by which they reduce ischemic damage are controversial. At the cellular level, the effects of α 2-adrenoceptor activation are inhibition of voltage-operated calcium channels, neuronal membrane hyperpolarization, inhibition of adenylate and guanylate cyclase and at the supracellular level they reduce excitatory neurotransmitter release¹³⁻¹⁵. The most popular theory for the mechanism of neuroprotective effect is the reduction of excitatory neurotransmitter release and alleviation of the potential detrimental effects of metabolizing excessive noradrenaline which can lead to the formation of free radicals. Talke et al¹⁶ evaluated the effects of dexmedetomidine on hypoxia-evoked glutamate release and glutamate receptor activity in the rat hippocampus and demonstrated that dexmedetomidine decreased glutamate release from hippocampal rat brain slices during hypoxic stress, but did not alter calcium changes mediated by the stimulation of glutamate receptors during hypoxic conditions. Similarly, it was demonstrated that dexmedetomidine can selectively attenuate ischemia-induced increases in striatal norepinephrine concentrations¹⁷. However, recently Engelhard et al¹⁸ investigated whether neuroprotection seen with dexmedetomidine is associated with suppression of peripheral or central sympathetic tone during ischemia and demonstrated that the increase of circulating catecholamine concentrations during cerebral ischemia was suppressed with dexmedetomidine by 95% compared with control animals, but it did not suppress elevation in brain norepinephrine and

glutamate concentration suggesting that the neuroprotective effects of dexmedetomidine are not related to the inhibition of presynaptic norepinephrine or glutamate release in the brain. As it was shown that inhibition of oxidative deamination of catecholamines decreases H_2O_2 production during reperfusion, we tested the hypotheses that α 2-adrenergic agonist, dexmedetomidine attenuates the increase in the formation of free radicals during mesenteric I/R injury and we demonstrated that luminol CL level, especially sensitive to hydrogen peroxide and hypochloride, tissue MPO activity, TBARS and glutathione levels in the I/R-D group were significantly lower than those of the I/R-S group. The present study, to our knowledge is the first one that evaluates the effects of dexmedetomidine on the formation of reactive oxygen species during mesenteric I/R injury.

According to our data we concluded that, α 2-adrenergic agonist dexmedetomidine can attenuate the increase in the formation of reactive oxygen species due to the mesenteric ischemia-reperfusion injury in rats. Further studies are needed to evaluate the exact mechanism of the anti-oxidant effect of dexmedetomidine.

REFERENCES

1. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-163.
2. Stefanutti G, Vejchapipat P, Williams SR, Pierro A, Eaton S. Heart energy metabolism after intestinal ischaemia and reperfusion. *J Pediatr Surg* 2004; 39: 179-183.
3. Stoney RJ, Cunningham CG. Acute mesenteric ischemia. *Surgery* 1993; 114: 489-490.
4. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994; 81: 637-647.
5. Kharbanda RK, Peters M, Walton B, et al. Ischemic preconditioning prevents endothelial injury and systemic activation during ischemia-reperfusion in humans in vivo. *Circulation* 2001; 103: 1624-1630.
6. Bhaskar L, Mathan MM, Balasubramanian KA. Oxygen free radical-induced damage during colonic ischemia/reperfusion in rats. *Mol Cell Biochem* 1995; 151: 9-14.
7. Reichhalter R, Lillie C, Kobinger W. Effects of alinidine on survival and infarct size in rats with coronary artery occlusion. *Eur J Pharmacol* 1988; 157: 75-81.
8. Cai JJ, Morgan DA, Haynes WG, Martins JB, Lee HC. α 2-adrenergic stimulation is protective against ischemia-reperfusion-induced ventricular arrhythmias



- in vivo. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002; 283: 2606-2611.
9. Yuan SZ, Runold M, Hagberg H, Bona E, Lagercrantz H. Hypoxic-ischaemic brain damage in immature rats: effects of adrenergic modulation. Eur J Paed Neurol 2001; 5: 29-35.
 10. Virtanen R, Savola JM, Saano V, Nyman L. Characterization of the selectivity, specificity and potency of medetomidine as an α_2 -adrenoceptor agonist. Eur J Pharmacol 1988; 150: 9-14.
 11. Kuhmonen J, Haapalinna A, Sivenius J. Effects of dexmedetomidine after transient and permanent occlusion of the middle cerebral artery in the rat. J Neural Transm 2001; 108: 261-271.
 12. Jolkkonen J, Puurunen K, Koistinaho JR, et al. Neuroprotection by the α_2 -adrenoceptor agonist, dexmedetomidine, in rat focal cerebral ischemia. Eur J Pharmacol 1999; 372: 31-36.
 13. Nacif-Coelho C, Correa-Saler C, Chang LL, Maze M. The hypnotic response to the α_2 -adrenoceptor agonist, dexmedetomidine in the locus coeruleus of the rat. Anesthesiology 1994; 81: 1527-1534.
 14. Surprenant A, Horstman DA, Akbarali H, Limbird LE. A point mutation of the α_2 -adrenoceptor that blocks coupling to potassium but not calcium currents. Science 1992; 257: 977-980.
 15. Vulliemoz Y, Shen H, Virag I. α_2 Adrenoceptor agonists decrease cyclic guanosine 3'5' monophosphate in the mouse brain. Anesthesiology 1996; 85: 544-550.
 16. Talke P, Bickler PE. Effects of dexmedetomidine on hypoxia-evoked glutamate release and glutamate receptor activity in hippocampal slices. Anesthesiology 1996; 85: 551-557.
 17. Matsumoto M, Zornow MH, Rabin BC, Maze M. The α_2 -adrenergic agonist, dexmedetomidine, selectively attenuates ischemia-induced increases in striatal norepinephrine concentrations. Brain Res 1993; 627: 325-329.
 18. Engelhard K, Werner C, Kaspar S, et al. Effect of the α_2 -agonist dexmedetomidine on cerebral neurotransmitter concentrations during cerebral ischemia in rats. Anesthesiology 2002; 96: 450-457.



ARAŞTIRMA YAZISI

ZEYNEP KAMİL HASTANESİNDE 2000-2006 YILLARI ARASINDA TANI ALMIŞ VULVAR NEOPLAZİLER VE PRENEOPLASTİK LEZYONLARIN DÖKÜMÜ

Handan Çetiner, Gözde Kır, Mustafa Sakallı, Ateş Karateke
Zeynep Kamil Hastanesi, Patoloji Bölümü, Üsküdar/İstanbul, Türkiye

ÖZET

Amaç: Vulvar lezyonların genital sistem içerisinde nispeten seyrek görülmesi nedeniyle, bu bölgeye ait arşiv materyalini gözden geçirmeyi ve sınıflandırmayı ve bazı nadir görülen olguları literatür bilgileri ışığında tartışmayı amaçladık.

Yöntem ve Bulgular: Zeynep Kamil Hastanesi Patoloji Laboratuvarının 2000-2006 yılları arasındaki arşivinde yer alan 94 vulvar lezyonun hematoxilen-eosin (H-E) boyalı ve gerekiyorsa immunohistokimyasal olarak boyanmış kesitleri incelendi. Olguların 15 i malign, 57 si benign ve 22 adeti de premalign sınıfında yer almakta idi. Malign tümörlerin de; 9 adeti skuamöz hücreli karsinom, 4 adeti malign melanom, 1 adeti bazal hücreli karsinom ve 1 adeti de PNET/Ewing tümörü idi.

Sonuç: Vulvar lezyonlar nispeten seyrek görülen, özellikle differensiyel VİN gibi bazı formları da tanı ve tedavisi oldukça zor ve tartışmalı lezyonlardır. Bu nedenle daha fazla olgu içeren çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Vulva, Neoplazi, Preneoplastik Lezyon

ALL VULVAR NEOPLASMS AND PRENEOPLASTIC LESIONS WHICH WERE DIAGNOSED IN ZEYNEP KAMİL HOSPITAL BETWEEN 2000-2006 YEARS

ABSTRACT

Objective: Benign and especially malignant and premalignant lesions of vulva are relatively infrequent in gynecologic system lesions. Because of its infrequency we aimed to review and classify archival material of this area and discuss some diagnostically important and some rarely seen cases under the light of literature.

Methods and Results: We reviewed archival material of 94 cases in Zeynep Kamil Hospital Pathology Laboratory. Hematoxylin-Eosin (HE) sections and if needed immunohistochemically stained sections of the cases have been re-examined. There were 15 cases of malignant tumors, 57 cases of benign tumors and 22 cases of premalignant lesions. Of malignant tumors; 9 cases were squamous carcinoma, 4 cases were malignant melanoma, 1 case was basal cell carcinoma and 1 case was PNET/Ewing

Conclusion: Since the vulvar lesions are infrequently seen lesions and some of them are like differentiated VIN, really hard to diagnosis, there may be need further studies involving a large number of cases

Keywords: Vulva, Neoplasm, Preneoplastic lesion

GİRİŞ

Vulva tümörleri, genital sistem tümörleri arasında, vajen tümörlerinden sonra en seyrek görülen grubu oluşturur.^{1,2}

Yaş ortalaması genel olarak malign tümörler için 60-70 olarak bildirilirken, benign tümörler için herhangi bir oran veya yaş ortalamasından söz edilmemektedir. Benign tümörler içerisinde papillom, malign tümörler

İletişim Bilgileri:

Dr. Handan Çetiner
Zeynep Kamil Hastanesi, Patoloji Bölümü, Üsküdar/İstanbul, Türkiye
e-mail: cetiner.h@superonline.com

Marmara Medical Journal 2007;20(3);161-166



içerisinde de skuamöz hücreli karsinom, görülme sıklığı açısından ilk sırada yer almaktadır³.

Yurdumuz koşullarında; vulvanın benign ve malign tümörlerinde ve özellikle de preneoplastik lezyonlarda eksikliği çekilen istatistiksel veri toplanmasının giderilmesine yönelik minimal bir yaklaşım sağlamak ve sonraki çalışmalara ilham vermek açısından ve nispeten seyrek görülen bu bölgeye ait neoplastik ve preneoplastik lezyonları literatür bilgileri ışığında irdelemek amacıyla çalışmamızı planladık.

MATERYAL VE METOT

Zeynep Kamil Hastanesi Patoloji Bölümünde, Ocak 2000-Eylül 2006 tarihleri arasında tanı almış 94 adet vulvar neoplastik ve preneoplastik lezyon yeniden incelendi. H+E ile boyanmış parafin kesitleri ve immunohistokimyasal olarak boyanmış kesitleri değerlendirildi. Birden fazla doku örneği olan olgularda tanı için en uygun olan 1-4 kesit çalışmaya dahil edildi.

Olguların yaş, lokalizasyon ve tanılarına göre ayrımı yapıldı. Yaş grupları dekadlara göre ayrıldı. Her dekadda hangi lezyonun, hangi lokalizasyonda ve ne sıklıkta görüldüğü tespit edildi. Benign, malign ve premalign lezyonların yaş ve tipleri tespit edilerek gruplandırıldı. Nadir görülen ve/veya patolojik ve klinik yönden özelliği olan

olgular; klinikopatolojik önemli yönleri ile irdelendi.

BULGULAR

Ocak 2000-Temmuz 2006 arasında bölümümüzde tanı almış toplam 94 adet vulvar lezyonun 57(%61) adeti benign, 15(%16) adeti malign tümördür. Ayrıca 22 (%23) adet preneoplastik lezyon mevcuttur. Benign neoplaziler sıklık sırasıyla; bartholin gland kisti 19 adet(%33), fibroepitelyal polip 13 adet (%23), epidermal kist 6 adet (%11), skuamöz papillom 4 adet(%7), papiller hidradenoma 4 adet(%7) vestibuler papillom ,intradermal nevüs, hemanjiom ,leiomyom 2şer adet(% 4)ve birer adet (%2) anjiomyofibroblastom, anjiokeratom inflamatuvar kloakajenik polip, endometriosis, syringoma, mezonefrik kist ve steatokistoma simplekstir.

Toplam 15 adet malign tümör ise sıklık sırasına göre: skuamöz hücreli karsinom 9 adet (%60), malign melanom 4 adet (%26), bazal hücreli karsinom 1 adet(%7), ve PNET/Ewing 1 adet (%7) dir.

Preneoplastik lezyonlardan VIN lar toplam 11 adet olup , bunların 7 adeti(%64) VIN I, 2 adeti(%18) VIN II ve 1 adeti(%9) VIN III ve 1 adeti de(%9) direk olarak VIN III kabul edilen diferansiye VIN dir.

Malign, benign ve premalign olguların yaş gruplarına göre dağılımları Tablo I , Tablo II ve Tablo III de gösterilmiştir.

Tablo I: Malign Olguların Yaşlara Göre Dağılımı

	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79
Skuamöz hücreli karsinom				2	4	3
Malign melanom		2		1	1	
Bazal hücreli karsinom						1
PNET/Ewing	1					

**Tablo II: Benign Olguların Yaşlara Göre Dağılımı**

	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79
Bartholin kisti	3	11	3	1	1	
Fibroepitelyal polip		2	8	2	1	
Kondiloma aküminatum	8	1	3	1		
Epidermal kist	1	2		2		1
Skvamöz papillom		1	2			
Hidradenoma papilliferum			2			
Hemanjiom	1		2			
Leiomyom	1			1		
Vestibuler papillom	1			1		
Nevüs(intradermal)				1	1	
Anjiomyofibroblastom			1			
Endometriosis	1					
Steatokistoma simpleks			1			
Mezonefrik kist				1		
Syringoma				1		
İnflamatuvar kloakojenik polip					1	
Anjiokeratom				1		

Tablo III: Preneoplastik Lezyonların Yaşlara Göre Dağılımı

	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79
VIN1	2			1	3	1
VIN2					1	1
VIN3					1	1

TARTIŞMA

Vulva tümörleri, kadın genital sistem tümörleri içerisinde, vajen tümörlerinden sonra en az görülen gruptur. Genital kanserlerin yaklaşık %3 ü vulva yerleşimlidir.^{1,2}

Literatürde yaş ortalaması malign tümörlerde ; 60-70 olarak bildirilirken, en sık malign tümör skuamöz hücreli karsinom, en sık benign tümör ise papillom olarak belirtilmektedir.³

Bizim serimizde malign tümörlerde yaş ortalaması 54 olarak görülmektedir. Bu ortalama literatürle karşılaştırıldığında oldukça genç bir yaş sayılır.Olgularımız arasında bulunan ve genç yaşta görülen bir adet PNET/Ewing'in yaş ortalamasını bir

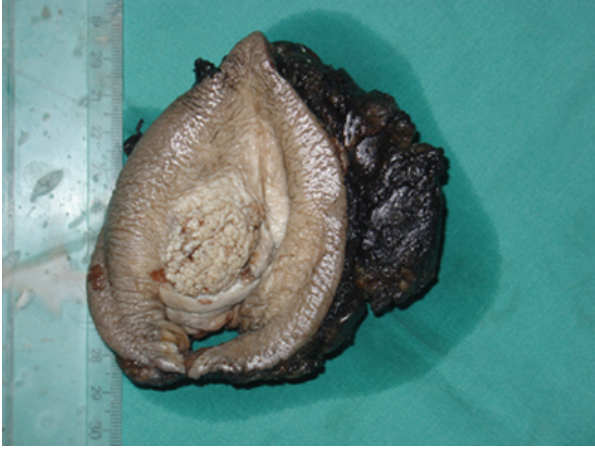
miktar düşürdüğü düşünülürse de, bu, durumu tamamen açıklamaz.Belki de bulunduğumuz yöreye özgü olabilecek bu özellik daha geniş seriler ve istatistiksel çalışmalarla araştırılması gerekmektedir.

Serimizde literatürle uyumlu olarak skuamöz hücreli karsinom % 60 ile (9 adet) en sık görülen malign tümördür. Genel olarak vulvar skuamöz karsinomların dörtte üçü labialarda (özellikle labia majoralarda) yer alırken, geri kalanlarsa klitoris ve furçette yer almaktadır.⁴ Bu çalışmadaki 9 olgudan ikisinde tümör klitoral yerleşimli(%22) geri kalanlar ise, biri labia minorada olmak üzere(%11) labia yerleşimlidir (%78).

Skvamöz karsinom olgularımızdan biri 3,2x2,5x1cm ölçülerde , labia major



yerleşimli, 55 yaşındaki bir kadında gelişim göstermiş verrüköz karsinomdur (Resim 1).



Vulvanın verrüköz karsinomu, gerçek insidansı net olarak bilinmeyen, oldukça nadir görülen bir skuamöz hücreli karsinom tipidir.⁵

Bu tip karsinomun insidansının net olarak bilinmemesinin nedenlerinden biri de, Buschke Loewenstein dev kondilomundan ayırt edecek kriterlerin tam olarak ortaya koyulmamasıdır.⁶

Malign melanomlar vulvar tümörlerin değişik serilerde %3,6 ila %10 unu oluştururlar.^{7,8}

Vulvar malign melanomlar prepubertal kızlarda görülmemekte, sonrasında muntazam bir şekilde yaşla birlikte artmaktadır.^{6,9}

Bizim çalışmamızda malign melanomlar bütün malign tümörlerin %26sını oluştururken, 4 olgudan ikisi 4. dekatta, biri 6., ve biri de 7. dekattadır. Bu sonuçlar olgu sayısının az olması nedeniyle istatistiki olarak anlamlı olmamakla birlikte literatürle uyumlu kabul edilebilir.

Toplam 3 malign melanom olgumuzun, biri nodüler tip olarak belirlenirken, diğer iki olgu da tümörler herhangi bir tipe oturtulamamıştır. Tiplendirilemeyen her iki tümör de iki ayrı odak halinde gelişim göstermiştir. Bu iki olguda tümörlerin iki ayrı odak halinde geliştiği kabul edilirken, satelit nodül, intransit metastaz ve epidermotropik metastaz antiteleri gözönünde bulundurulmuştur.

Dökümü yapılan yaklaşık beş yıllık sürede birer adet tespit edilen iki malign tümör, bazal hücreli karsinom ve vulvar PNET/Ewing dir.

Bazal hücreli karsinom, vulva için insidansı %5-7 olarak bildirilmekle birlikte, Fox kitabında 6 bazal hücreli karsinom olgularının jinekolojik onkoloji merkezlerinden ziyade daha önceki basamaklarda tedavi edildikleri için gerçek görülme sıklığının %20-30 gibi yüksek olabileceğini bildirmektedir. Fox'un bu tespitinin tersine bizim tek bir bazal hücreli karsinom olgumuz mevcuttur ki bu da vulvar malign tümörlerimizin %7'sini oluşturmaktadır.

Vulvar PNET/Ewing ise bölümümüzde tanı almış, literatürdeki 7. olgudur.¹⁰⁻¹⁵ Olguya, yuvarlak hücreli malign tümörlere tanısıl amaçlı, uygulanması önerilen, CD99 dahil olmak üzere geniş bir immunohistokimyasal panel uygulanmış ayrıca PNET/Ewing için oldukça karakteristik olan (t11;22)(q24;q12) translokasyonuna yönelik moleküler genetik çalışma bir dış merkezde yapılmıştır.^{16,17}

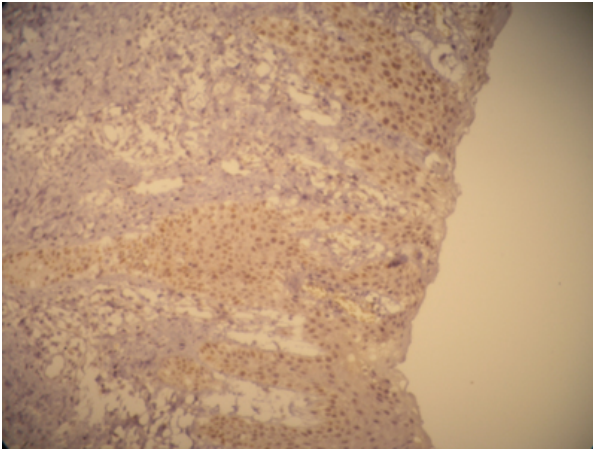
Vulvar benign tümörler için belirli bir oran ve yaş ortalamasına literatürde rastlanılmamakla birlikte papillomun en sık görülen tümör olduğu bildirilmektedir.¹⁸ Skuamöz papillom, fibroepitelyal polip ve vestibuler papillom gibi polipoid benign tümörlerin hepsini papillom adı altında toplarsak, bizim serimizde de en sık görülen benign tümörün (%33) papillomatöz tümörler olduğunu söyleyebiliriz. Serimizde yer alan 11 adet kondiloma aküminata hernekadar benign tümörlerden sayılsa da, cinsel yolla bulaşan, etyolojisinde human papilloma virus (HPV) un bulunması ve %30-50⁹ oranında servikal HPV enfeksiyonu ile ilişkili olabilmesi ile diğer benign tümörlerden ayrı bir yere sahiptir. Nitekim olgularımızdan birinde vulvada yer alan lezyon yanısıra servikte de düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon tespit edilmiştir.

Serimizde yer alan toplam 11 adet preneoplastik lezyonun tamamı VIN'lerden oluşmaktadır. Bu terim; önceden Bowen hastalığı, Bowenoid papülozis, Queyrat eritroplazisi, in situ skuamöz hücreli



karsinom ve atipili distrofi gibi bir kısmı klinik görünümle ilgili bütün durumları içermektedir⁶. Genel olarak VIN terimi “skuamöz epitelde maturasyon kaybı, oryantasyon bozukluğu, değişik derecelerde sitolojik atipi ve tipik veya atipik mitozları” içermektedir. Bu preneoplastik lezyonlar genellikle koilositik atipi, multinükleasyon, verrüko papiller morfoloji taşıyarak serviksin intraepitelyal skuamöz lezyonları ile paralellik gösterirler.¹⁹ Öte yandan sıklıkla skuamöz karsinomla ilişkili ancak HPV ile ilişkisi çok nadir olan ve “diferansiye VIN” olarak adlandırılmış alt grupta histopatolojik özellikler de farklılıklar gösterir. Bu grup; skuamöz

diferansiyasyon, parakeratoz, anatomozlar oluşturan “rete ridge”ler, skuamöz inci formasyonu, az derecede nükleer atipi ve belirgin nükleol ile karakterlidir ve direk olarak VIN III olarak kabul edilerek yönetilir.^{19,20} Ayrıca bu grupta p53 boyanma patterni tanı koymada yardımcı bir yöntem olarak önerilmektedir. Bizim bu gruptaki tek olgumuzda da; retelerin birleşmesi, parakeratoz, belirgin intersellüler köprüler gibi tipik histopatolojik görünüm yanısıra immunohistokimyasal olarak ta üst sıralara kadar p53 boyanması saptanmıştı (Resim 2).



Genital lezyonlar arasında nispeten seyrek görülen vulvar neoplaziler ve preneoplastik lezyonlar hasta ve hekimler tarafından kolayca tespit edilebilecek bir bölgede olmaları nedeni ile tedavi ve takipte fazla bir sorun oluşturmazlar. Ancak özellikle

diferansiye VIN gibi preneoplastik lezyonların tanısı, tedavisi ve takibi açısından klinisyen ve patoloğların dikkatli olmaları gerektiğini ve bu konuda bilgi birikimimizi artırabilmek açısından daha geniş vulvar lezyon serilerinin irdelenmesinin yararlı olacağını söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Prat J Female reproductive system. In: Damjanov I, Linder J, editors. Anderson's Pathology, 10th ed. Philadelphia: Mosby, 1996:2231-2309.
2. Husseinzadeh N, Wesseler T, Schneider D, Schellas H, Nahhas W: Prognostic factors and the significance of cytologic grading in invasive squamous cell carcinoma of the vulva: clinicopathologic study. Gynaecol Oncol 36:192-199, 1990
3. Ansink A, Heinz A. Epidemiology and aetiology of squamous cell carcinoma of the vulva. Eur J Obs Gynaecol Reprod Biol 48:111-115, 1993
4. Stoler MH, Mills SE, Frierson HF JR. The vulva and vagina. In: Carter D, Greenson JK, Oberman HA, Reuter V, Stoler MH eds. Sternberg's diagnostic and surgical pathology. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004: 2333-2376.
5. Japaze H, Dinh T V, Woodruff J D. Verrucous carcinoma of the vulva: study of 24 cases. Obs and Gynecol 60:462-466, 1982
6. Fox H, Buckley CH. Neoplastic diseases of the vulva and associated structures. In: Fox H, Wells M eds. Obstetrical and Gynaecological Pathology. 5th ed. London: Churchill Livingstone, 2003: 95-146.
7. Pierson KK. Malignant melanomas and pigmented lesions of the vulva. In: Wilkinson EJ (ed) Pathology of the vulva and vagina. Churchill Livingstone, 1987, New York, pp155-179.
8. Bradgate M G, Rollason T P, McConkey C, Powell J. Malignant melanoma of the vulva: a clinicopathological study of 30 women. British J of Obstet and Gynecol 97:124-133, 1990
9. Wilkinson JW. Premalignant and malignant tumors of the vulva. In: Kurman RJ, ed. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. 5th ed. New York: Springer-Verlag, 2002: 99-149.
10. Vang R, Tauberger JK, Mannion JM et al. Primary vulvar and vaginal extraosseous Ewing's Sarcoma/Peripheral Neuroectodermal Tumor: Diagnostic confirmation with CD99 immunostaining and reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Int J Gynecol Pathol 19(2):103-109, April 2000
11. Scherr G, D'abbling III G, Ouzounian J. Peripheral primitive neuroectodermal tumor of the vulva. Gynecol Oncol 54:254-258, 1994
12. (abs) Parades E, Duarte A, Coucero A et al. A peripheral neuroectodermal tumor of the vulva. Acta Med Port 8(3): 161-163, 1995
13. (abs) Takeshima N, Tabata T, Nishida H et al. Peripheral primitive neuroectodermal tumor of the vulva: report of case with imprint cytology. Acta Cytol 45(6):1049-1052, Nov-Dec 2001
14. (abs) Lazura T, Alsanad IA, Meuric S et al. Primary uterin and vulvar Ewing's sarcoma/PNET in children: two unusual locations. Ann Pathol 21(3): 263-266, Jun 2001



15. (abs)Habib K, Finet JF, Plantier F et al. Rare lesion of the vulva. Arch Anat Cytol Pathol 40(2-3):158-159,1992
16. Weidner N, Tjoe J. Immunohistochemical profile of monoclonal antibody O13:antibody that recognizes glycoprotein p30/32 MIC2 and is useful in diagnosing Ewing's sarcoma and peripheral neuroepithelioma. Am J of Surg Pathol 18(5):486-494, 1994
17. Lee CS, Southey MC, Waters K, Kannourakis G, Georgiou T, Armes JE, Chow CW, Venter DJ. EWS/FLI-1 fusion transcript detection and MIC2 immunohistochemical staining in the diagnosis of Ewing's sarcoma. Pediatr Pathol Lab Med 16:379-392,1996
18. Polat A, Aydın Ö, Düşmez. Mersin ilinde 1989-1999 yılları arasında görülen kadın genital sistem tümörlerinin dağılımının değerlendirilmesi. Türk Patoloji Dergisi 16(1-2):34-38,2000
19. Haefner HK, Tate JE, McLachlin CM, Crum CP. Vulvar intraepithelial neoplasia: Age, morphological phenotype, papillomavirus DNA and coexisting invasive carcinoma. Human Pathol 26(2): 147-154,1995
20. Yang B, Hart WR. Vulvar intraepithelial neoplasia of the simplex (differentiated) type A clinicopathologic study including analysis of HPV and p53 expression. Am J Surg Pathol 24(3):429-441,2000



ORIGINAL RESEARCH

TRAUMATIC CHILDHOOD DEATHS IN AFYONKARAHISAR

Yücel Yavuz¹, Yusuf Yürümez¹, Hüdaverdi Küçüker², Hüseyin Fidan³, Mevlüt Korkmaz⁴
¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Acil Tıp, Afyonkarahisar, Türkiye ²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Adli Tıp, Afyonkarahisar, Türkiye ³Afyon Kocatepe Üniversitesi, Anestezi ve Reanimasyon, Afyonkarahisar, Türkiye ⁴Afyon Kocatepe Üniversitesi, Çocuk Cerrahisi, Afyonkarahisar, Türkiye

ABSTRACT

Objective: We aimed to research the epidemiological and clinical properties of childhood deaths from autopsy records in Afyonkarahisar.

Method: State prosecution files, autopsy reports, place investigations and death examination protocols of 122 cases among children 0 to 17 years were studied.

Results: Seventy five (61.5%) of 122 were boys, mean age 9.1±5.4. The highest mortality was among children 5 to 9 years with 36 (29.5%) cases. Prominent mortality causes of trauma were motor vehicle accidents (59.8%). The origin of mortality causes were accidents (103 cases (84.4%)), suicide (11 cases (9.0%)) and homicide (8 cases (6.6%)). Mortality from motor vehicle accidents was most frequent (34.2%) among children 5 to 9 years. Thirty five (42.0%) of motor vehicle accidents were from trauma in vehicles. The most frequent wounded sides of the body were head and neck region (69.7%). Autopsy was performed in 26 (21.3%) cases.

Conclusion: Motor vehicle accidents and falls are the leading causes in childhood traumas and motor vehicle accidents were mostly as pedestrian traumas. Mostly head and neck injuries were experienced and deaths occurred on scene. Besides, judicious physical evaluation may be enough to diagnose the mortality cause.

Keywords: Childhood, Injury, Death, Autopsy

AFYONKARAHİSAR'DA TRAVMAYA BAĞLI ÇOCUKLUK DÖNEMİ ÖLÜMLERİ

ÖZET

Amaç: Bu çalışmamızın amacı, otopsi kayıtlarından yararlanarak bölgemizdeki travmaya bağlı çocukluk dönemi ölümlerinin epidemiyolojik ve bazı klinik özelliklerinin değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: 0-17 yaşları arasındaki 122 olgunun savcılık dosya belgeleri, otopsi raporları, olay yeri inceleme ve ölü muayene tutanakları incelenmiştir.

Bulgular: Toplam 122 olgunun 75'i (%61.5) erkek ve yaş ortalamaları 9.1±5.4 idi. En yüksek mortalite oranının 36 olgu (%29.5) ile 5-9 yaş arasında olduğu belirlendi. En önemli ölüm sebebinin kaza (%84.4) olduğu ve kazalar içinde de en sık 73 vaka (% 59.8) ile motorlu taşıt kazalarının görüldüğü tespit edildi. Motorlu taşıt kazalarının en sık 25 olgu (%34.2) ile 5-9 yaş arasındaki çocuklarda görüldüğü saptandı. Motorlu taşıt kazalarının 38'inin (%58.0) araç dışı kaza olduğu tespit edildi. En sık yaralanan vücut bölgesinin, 85 olgu (%69.7) ile baş-boyun bölgesi olduğu belirlendi. Toplam 26 olguda (%21.3) otopsi yapıldığı saptandı.

Sonuç: Çocukluk çağı travmalarında, motorlu taşıt kazalarının ve yüksekten düşmelerin ön planda olduğu ve çoğunlukla taşıt kazalarının yayaya çarpma şeklinde meydana geldiği görülmektedir. En fazla baş-boyun bölgesinin etkilendiği, ölümlerin çoğunlukla olay yerinde olduğu ve ölüm sebebinin tayininde adli dış muayenenin yeterli olduğu anlaşılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Çocukluk Dönemi, Yaralanma, Ölüm, Otopsi

INTRODUCTION

Injuries are the most important cause of mortality and disability during childhood and

adolescence^{1,2}. They are the cause of more than 50% of all the childhood deaths among children ages 1 to 19 years. Injuries remain

İletişim Bilgileri:

Yücel Yavuz, M.D.

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Acil Tıp, Afyonkarahisar, Türkiye

e-mail: yyavuz@aku.edu.tr

Marmara Medical Journal 2007;20(3);167-171



the major factor in 44% of the death among children 1 to 4 years of age, and 74% from 15 to 19 years³. Motor vehicle accidents (MVAs) are the leading causes of death in children aged 1-19 years, followed by homicide or suicide (predominantly with firearms) and drowning⁴.

Injuries remain the major problem because of the effects on social, physiological, economic and medical issues. Besides, they are a severe problematic part of public health^{5,6}. It is important to find out the origin and causes of childhood deaths to guide health policy. Besides, different legal approaches are also needed for different causes.

We aimed to study the epidemiological and clinical properties of childhood deaths from the autopsy records in Afyonkarahisar.

METHODS

State prosecution files, autopsy reports, evident place investigations and death examination protocols of 136 cases among children 0 to 17 years were studied. All the cases were from between 2000 and 2004. Fourteen cases were excluded from the study because the cause of death was not trauma. Age, sex, evident place, type, origin, death cause, injured body parts, injury severity scores and autopsy records were evaluated. The cases were divided into four groups as 0-4, 5-9, 10-14 and 15-17 years. Percentage was used as definitive statistics. Means were expressed as mean \pm standard deviations (SD).

RESULTS

One hundred and twenty two (89.7%) of the 136 evaluated cases of judicial death examination and autopsies in the last five years among children 0 to 17 years were trauma cases. Seventy five (61.5%) were boys, 47 (38.5%) were girls mean age 9.1 ± 5.4 . The mean age of the boys was 9.3 ± 5.1 and the mean age of the girls was 8.8 ± 5.8 . The highest mortality was in 2004 with 48 cases (38.3%) and among children 5 to 9 years with 36 (29.5%) cases. The second highest mortality group was among children 15 to 17 years with 34 (27.9%) cases. When sex was compared, boys were more frequent among children 5 to 9 years with 24 (32.0%) cases and girls were more frequent among children 0 to 4 years with 16 (34.0%) cases (Table I). Prominent mortality causes of trauma were MVAs (73 cases (% 59.8)), falling (20 cases (%16.4)), firearm wounds (9 cases (%7.4)) and drowning (7 cases (%5.7)), respectively. Mortality from MVAs was most frequent (25 cases (%34.2)) among children 5 to 9 years (Table II). Prominent mortality causes of trauma were MVAs in both boys and girls (Table III). The origin of mortality causes was accidents (103 cases (%84.4)), suicide (11 cases (%9.0)) and homicide (8 cases (%6.6)). Accidents were most frequent among children 5 to 9 years with 34 (33.0%) cases, and accidents were most frequent in boys (62 cases (%60.2)). Seven (63.6%) of the suicides were boys and nine (81.8%) were among children 15 to 17 years (Table IV).

Table I. Distribution of traumatic childhood deaths according to sex and age groups.

Age Group	Gender				Total	
	Male		Female		n	%
	n	%	n	%		
0-4	16	21.3	16	34.0	32	26.2
5-9	24	32.0	12	25.5	36	29.5
10-14	15	20.0	5	10.6	20	16.4
15-17	20	26.7	14	29.9	34	27.9
Total	75	100.0	47	100.0	122	100.0



Table II. Distribution of traumatic childhood deaths according to etiology and age groups

Age Group	Etiology										Total	
	MVA		Fall		Gunshot		Drowning		Other			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
0-4	20	27.5	6	30.0	0	0	3	42.8	3	23.1	32	26.2
5-9	25	34.2	7	35.0	0	0	2	28.6	2	15.4	36	29.5
10-14	12	16.4	0	0	3	33.3	2	28.6	3	23.1	20	16.4
15-17	16	21.9	7	35.0	6	66.7	0	14.3	5	38.4	34	27.9
Total	73	100.0	20	100.0	9	100.0	7	100.0	13	100.0	122	100.0

Table III. Distribution of traumatic childhood deaths according to etiology and gender

Etiology	Gender				Total	
	Male		Female			
	n	%	n	%	n	%
MVA	43	57.3	30	63.8	73	59.8
Fall	14	18.7	6	12.9	20	16.4
Gunshot	8	10.6	1	2.1	9	7.4
Drowning	5	6.7	2	4.2	7	5.7
Other	5	6.7	8	17.0	13	10.7
Total	75	100.0	47	100.0	122	100.0

Table IV. Distribution of traumatic childhood deaths according to origin and gender

Origin	Gender				Total	
	Male		Female			
	n	%	n	%	n	%
Accident	62	82.7	41	87.2	103	84.4
Suicide	7	9.3	4	8.5	11	9.0
Homicid	6	8.0	2	4.3	8	6.6
Total	75	100	47	100	122	100

Fifty two (71.2%) cases of MVAs occurred on city roads and 21 (28.8%) on intercity roads. Thirty five (42.0%) MVAs were from trauma in vehicles. Thirty eight (58.0%) cases of MVAs occurred by vehicle crashing into pedestrians.

The most frequent wounded areas of the body were the head and neck regions (85 cases (69.7%)), thorax (18 cases (24.2%)), extremities (15 cases (12.3%)) and abdomen (10 cases (9.1%)), respectively.

The most frequent mortality cause was brain and medulla spinalis injuries (80 cases (65.6%)) and the next was haemorrhagic shock [13 cases (10.7%)] . The mean injury severity scores of the trauma patients who died in hospital were 29.4±10.9 (min:9-max:59).

Eighty (75.9%) fatal trauma cases occurred on the scene, 13 (9.2%) occurred in the emergency unit and 29 (14.8%) died in hospital services. Autopsy was performed in 26 (21.3%) cases, while judicious external



examination was performed in 96 (78.7%) cases.

DISCUSSION

Childhood injuries are a major public health problem worldwide, and injuries are the leading cause of death for children from early childhood through adolescence^{7,8}. In industrialised countries, trauma remains the leading cause of death⁹. The more serious injuries that lead to hospitalization, absence from school and other daily activities and, in the worst cases, to permanent disability, form about 5–10% of all children's injuries^{10,11}. These injuries, along with fatal accidents, cause not only major suffering to the children and their families but also a large economic burden to society^{12,13}.

Several factors influence childhood injuries, including age, sex, behavior, and environment. Of these, age and sex are the most important factors affecting the patterns of injury. Male children younger than 18 years have higher injury and mortality rates². The mortality rate of traumatic injury reach 55% in boys while it reaches 45% in girls as the study of Esposito et al¹⁴ stated in USA. However, Souminen et al⁹ found that the rate was 65% in boys and 35% in girls in a study carried out in Finland. It was found to be 69% in boys and 31% in girls in a study carried out in United Arab Emirates (UAE)¹⁵. Besides, our mortality rate was found comparable with the study of Finland and UAE. Th mortality rate was quite high in boys compared to the mortality rate in girls. Perhaps in part because of their more aggressive behavior and exposure to contact sports.

Mortality rates and injury types differ among different age groups in childhood traumas. The mortality rate was highest (55%) among children 15 to 18 years according to the study in Turkey¹⁶. It was found as 28% in children 0 to 5 years and 38% in children 11 to 15 years of age. In the infant and toddler age group, falls were a common cause of severe injury, whereas bicycle-related mishaps, with or without the interaction of motor vehicles, were the main causes of injury among older

children and adolescents⁴. The highest mortality was 28% in children among 1 to 4 years of age, according to a study carried out in UAE¹⁵. Falls were the most encountered injury cause, however traffic accidents were the most lethal injury cause. Falls were the most encountered injury cause among children 6 to 13 years of age in Turkey¹⁷. Besides, mortality was mostly encountered among children 5 to 9 years of age and vehicle accidents were the most encountered cause in our study.

Traffic injuries and pedestrian injuries in particular are an important and preventable cause of severe morbidity to children¹⁸. MVAs are the leading cause of death among children over the age of 1 year, accounting for 18 percent of all deaths and 37 percent of all deaths due to trauma². MVAs were the most encountered mortality cause among adults and children in many studies carried out in Europe, America, Japan and Africa^{9,14,19,20}. The majority of all injuries (58.2 per cent) and deaths (59.3 per cent) in children were caused by road traffic accidents in Helsinki⁹. Martin et al²¹ stated that the majority of school children experience bicycle accidents and vehicle accidents outside the vehicles. Furthermore, Remers et al²² found that children experience bicycle and pedestrian injuries more than adults. However, falls were found as the leading cause of injury in nonmortal traumas¹⁷. MVAs were found as the leading cause of injury as other studies state, and the majority of mortalities were experienced with vehicle crash outside the vehicles in our study. Besides, falls were the following cause of mortality following vehicle accidents.

Studies state that the frequency of murders is increasing in childhood deaths in Europe. The frequency of murders was found as 11% by Salacin et al²³ in Adana, 18.8% by Aksoy et al²⁴ in İstanbul, and 15.7% by Karagoz et al⁷ in Antalya. However, we found 6.6% in Afyonkarahisar. This lower frequency of murder may be explained by the cosmopolitan structures of other cities compared to Afyonkarahisar.



Anatomical and physiological properties of children are known to influence the mortality rates from head traumas. Of pediatric traumatic deaths, 75% result from head injury²⁵. Among children, the CNS is the most commonly injured isolated system. Because CNS injury is the leading cause of death among injured children, it is the principal determinant of outcome⁴. Head and neck injury was the major type of injury causing death (57.5%)¹⁶. 85.6 percent had head injury alone, or combined with other injuries⁹. Besides, our study also stated that head and neck injuries were the leading mortality cause.

In conclusion, MVAs and falls are the leading causes in childhood traumas and MVAs were mostly as pedestrian traumas. Mostly head and neck injuries were experienced and deaths were on scene. Besides, judicious physical evaluation may be enough to diagnose the mortality cause. We suggest that new prevention strategies for vehicle accidents and improving health services will decrease the childhood mortality from trauma.

REFERENCES

1. Sala D, Fernandez E, Morant A, et al. Epidemiologic aspects of pediatric multiple trauma in a Spanish urban population. *J Pediatr Surg* 2000;35:1478-1481.
2. Hauda II WE. Pediatric trauma. In: Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski JS, editors. *Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide*. International ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2003:1614-623.
3. Ruddy RM, Fleisher GR. An Approach to the Injured Child. In: Fleisher GR, Ludwig S, Henretig FM, eds. *Textbook of Pediatric Emergency Medicine*. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2000:1339-1350.
4. Nguyen TD. Considerations in pediatric trauma. *Online eMedicine Journal*. October 2, 2003; topic3223.
5. Bulut M, Korkmaz A, Akkose S et al. Epidemiologic and clinical features of childhood falls. *Ulus Travma Derg* 2002;8:220-223.
6. Wheatley J, Cass DT. Traumatic deaths in children: the importance of prevention. *Med J Aust* 1989;150:72-8.
7. Karagöz YM, Atılgan M, Karagöz SD, et al. Forensic childhood autopsy. *The Bulletin of Legal Medicine*. 1999;4:120-122.
8. Parkkari J, Kannus P, Niemi S, et al. Childhood deaths and injuries in Finland in 1971–1995. *Int J Epidemiol* 2000;29:516-523.
9. Suominen P, Kivioja A, Ohman J, et al. Severe and fatal childhood trauma. *Injury* 1998; 29:425-430.
10. Stefansdottir A, Mogensen B. Epidemiology of childhood injuries in Reykjavik 1974–1991. *Scand J Prim Health Care* 1997;15:30–34.
11. Holmdahl L, Ortenwall P. Causes and consequences of trauma in Swedish county 1989–1992. *Eur J Surg* 1997;163:83–92.
12. Borgman MA, Williams JM, Prescott JE. Injury in West Virginia: an introduction to injury control and prevention. *W V Med J* 1994;90: 279–283.
13. Lindqvist KS, Brodin H. One-year economic consequences of accidents in a Swedish municipality. *Accid Anal Prev* 1996;28:209–219.
14. Esposito TJ, Sandal ND, Dean JM, Hansen JD, Reynolds SA, Battan K. Analysis of preventable pediatric trauma deaths and inappropriate trauma care in Montana. *J Trauma* 1999;47:243-253.
15. Bener A, Al-Salman KM, Pugh RNH. Injury mortality and morbidity among children in the United Arab Emirates. *Eur J Epidemiol* 1998;14:175-178.
16. Türkmen N, Fedakar R. Unnatural childhood deaths autopsied in Bursa, Turkey between 1996-2001. *Anadolu Tıp Derg* 2002;4:142-151.
17. Sözüer EM, İkizceli İ, Avşaroğulları L, Yürümez Y, Yavuz Y, Yücel M. Trauma caresteristic of primary-school-age children in the Emergency Department. *Türkiye Acil tıp Derg* 2004;4:64-467.
18. Durkin MS, Laraque D, Lubman I. Epidemiology and prevention of traffic injuries to urban children and adolescents. *Pediatrics* 1999;103: 74-78.
19. Meel BL. Mortality of children in the Transkei region of South Africa. *Am J Forensic Med Pathol* 2003;24:141-147.
20. Nakahara S, Wakai S. Diffirences between Japanese pre-school and school-age pedestrian mortality and morbidity trends. *Public Health* 2002;116:166-172.
21. Martin V, Langley B, Coffman S. Patterns of injury in pediatric patients in one Florida community and implications for prevention programs. *J Emerg Nurs* 1995 ;21:12-16.
22. Remmers D, Regel G, Neumann C. Pediatric polytrauma. A retrospective comparison between pediatric, adolescent and adult polytrauma. *Unfallchirurg* 1998; 10:388-394.
23. Salaçın S, Alper B, Çekin N. Local caresteristic of fatal childhood accident in Adana, Turkey. *Adli Tıp Derg* 1992;8:125-130.
24. Aksoy E, İnancı A, Çolak B, et al. Childhood deaths, in: 1st Congress of Forensic Science, Adana, April 12–15, 1994;233-235.
25. Scheidler MG, Lynch JM, Ford HR. Pediatric Trauma. In Peitzman AB, Rhodes M, Schwap CW eds: *The Trauma Manuel*. 2th Ed. Philadelphia, PA. Lippincott Williams & Wilkins; 2004: 446-460.



ORIGINAL RESEARCH

NONINVASIVE DOPPLER AND ULTRASOUND PARAMETERS TO PREDICT FETAL ANEMIA DUE TO RED BLOOD CELL ALLOIMMUNIZATION

Rıza Madazlı

*Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi,
İstanbul, Türkiye*

ABSTRACT

Objective: To evaluate the screening efficiency of ultrasound and Doppler measurements in the prediction of fetal anemia in alloimmunized pregnancies.

Materials and Method: In a prospective study, 24 nonhydropic fetuses with red blood cell alloimmunization were evaluated with ultrasound and Doppler imaging. Middle cerebral artery peak systolic velocity, intrahepatic umbilical venous maximum velocity, liver length, and spleen perimeter were measured. Results before first fetal blood sampling or delivery were analyzed.

Results: Eighteen fetuses were anemic and required intrauterine transfusion, and 6 were not severely anemic at birth. Middle cerebral artery Doppler imaging was the best predictor of fetal anemia (94.4%), followed by intrahepatic umbilical venous maximum velocity (72.2%). Sensitivity was low for spleen perimeter (55.5%) and liver length (50%). The areas under the curve equal to 0.972, 0.861, 0.667 and 0.528 for middle cerebral artery peak systolic velocity, intrahepatic umbilical venous maximum velocity, liver length, and spleen perimeter respectively were determined for the prediction of fetal anemia.

Conclusion: Middle cerebral artery peak systolic velocity is the best available noninvasive test in the prediction of fetal anemia.

Keywords: Rh alloimmunization, Fetal anemia, Doppler, Ultrasonography

RH UYUŞMAZLIĞINA BAĞLI FETAL ANEMİNİN BELİRLENMESİNDE DOPPLER VE ULTRASOUND PAREMETRELERİ

ÖZET

Amaç: Rh uyuşmazlığına bağlı fetal aneminin belirlenmesinde Doppler ve ultrason ölçümlerinin etkinliğinin değerlendirilmesi.

Materyal ve Metod: Rh izoimmünizasyonu olan nonhidropik 24 fetusa ultrason ve Doppler uygulandı. Orta serebral arter pik sistolik velositesi, intrahepatik umbilikal ven maksimum velositesi, karaciğer uzunluğu ve dalak çevresi ölçümleri yapıldı. İntrauterin kan transfüzyonu öncesi elde edilen son veriler değerlendirilmeye alındı.

Bulgular: 18 fetusta anemi tespit edilerek intrauterin kan transfüzyonu uygulandı, 6 fetus ise noninvaziv metodlar ile takip edilerek kan transfüzyonu uygulanmadan doğurtuldu. Orta serebral arter pik sistolik velosite ölçümü fetal anemi belirlenmesinde (%94.4) en etkili yöntem olarak tespit edildi. İntrahepatik umbilikal ven maksimum velosite, dalak çevresi ve karaciğer uzunluğunun fetal anemiyi belirlemedeki sensitivite sırasıyla %72.2, %55.5 ve %50 olarak saptandı. Orta serebral arter pik sistolik velosite, intrahepatik umbilikal ven maksimum velosite, dalak çevresi ve karaciğer uzunluğunun fetal anemiyi belirlemedeki etkinlikleri ROC eğrisinin altında kalan alan olarak değerlendirildiğinde sırasıyla 0.972, 0.861, 0.667 ve 0.528 olarak tespit edildi.

Sonuç: Orta serebral arter pik sistolik velosite fetal aneminin belirlenmesinde en etkili noninvaziv yöntemdir.

Anahtar Kelimeler: Rh alloimmünizasyon, Fetal anemi, Doppler, Ultrasonografi

İletişim Bilgileri:

Prof. Dr. Rıza Madazlı,
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp
Fakültesi, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye
e-mail: madazli@superonline.com

Marmara Medical Journal 2007;20(3);172-178



INTRODUCTION

The aim of prenatal management of red blood cell alloimmunized pregnancies is to identify affected fetuses, correct their anemia by transfusion and deliver them at the optimal time. The correct timing of the first intrauterine blood transfusion (IUT) remains a challenge for the clinician. Transfusing a fetus too early, when only mild anemia is present, will unnecessarily increase the number of transfusions needed to reach a gestational age at which delivery can take place safely. By accurately predicting the need for transfusion, that is when the fetus is moderately-to-severely anemic, optimal timing of these procedures will lead to a minimum number of transfusions. Improved outcome can be expected by reducing the number of invasive procedures.

The gold standard test for the detection of fetal anemia remains fetal blood sampling (FBS), which allows accurate quantification of the degree of fetal anemia but carries with it a procedure related risk of fetal loss and fetomaternal hemorrhage, which can increase antibody levels^{1,2}. Amniocentesis for amniotic fluid Δ optical density at 450 nm (OD450) measurement is still considered an essential management tool in rhesus disease. This test is also invasive, with inherent risks, and its predictive value has been questioned³.

The diagnosis of intrauterine fetal anemia using non-invasive procedures has been the goal of many investigators. In the past decade, using two dimensional and Doppler ultrasound, many parameters have been evaluated for the detection of fetal anemia. Doppler assessment of blood flow velocities in the fetal middle cerebral artery (MCA), fetal aorta (Ao) and intrahepatic umbilical vein (IHUV), and ultrasound measurements of fetal liver length and spleen perimeter have been suggested as valuable noninvasive predictors of fetal anemia⁴⁻⁹.

The aim of this study was to assess and compare the clinical use of peak systolic blood flow velocity measurements in the fetal middle cerebral artery (MCA-PSV), intrahepatic umbilical vein maximal flow velocity (IHUV), together with estimations of

liver length and spleen perimeter in predicting fetal anemia in pregnancies complicated by red cell alloimmunization.

METHODS

The study was carried out in the Department of Obstetrics and Gynecology, Cerrahpaşa Faculty of Medicine. The study was approved by the Hospital's Ethics Committee, and all women who participated in the study gave informed consent. The study population consisted of 24 women with singleton non-hydronic fetuses referred to our unit for suspected fetal red cell anti-D alloimmunization. The maternal antibody titers ranged from 1: 16 to 1: 512. At the first visit, women referred with rhesus alloimmunization were grouped according to history as follows: mild (term delivery with phototherapy) (n = 2); moderate (previous neonatal exchange transfusion following delivery at term) (n = 9); or severe (previous fetal transfusion, fetal death due to hydrops or neonatal exchange transfusion at < 34 weeks) (n = 13). Patients with mild history of anemia were seen every 4 weeks before 28 weeks and every 2 weeks thereafter, provided the non-invasive tests were normal and the antibody titer was < 1:32. Visits were scheduled every 1–2 weeks in patients with a moderate or severe history or a rapidly rising antibody level. Abnormal noninvasive assessment and/or rising antibodies were indications for invasive procedures. All Doppler and ultrasonography results included in this study were obtained on the same day of fetal blood sampling for measurement of hemoglobin concentration. Fetal hemoglobin estimation was performed by cordocentesis from the umbilical vein at the placental cord insertion; blood was ready for intrauterine transfusion if necessary. The first 1 mL was discarded to avoid possible mixing with maternal blood, and then 1–2 mL fetal blood was taken for fetal hemoglobin determination. Intravascular transfusion was then performed if fetal anemia was confirmed. Significant fetal anemia was defined as a hemoglobin value of >4 SD below the mean for gestational age¹⁰. Hemoglobin deficit (D Hb = normal Hb (50th centile)–measured Hb) was estimated for each fetus. The normal Hb value for each



gestational age was obtained from Nicolaides¹⁰, and the 50th centile was used as the normal reference range.

At every visit, Doppler measurements of MCA peak systolic velocity and IHUV maximum velocity, as well as ultrasound measurements of liver length and spleen perimeter were performed according to previously described methods^{4-6,9}. Briefly, color Doppler imaging was used to identify the circle of Willis and the MCAs in a cross-section through the fetal head. The pulsed Doppler sample volume was placed in the proximal part of the MCA, preferably with a 0-degree angle between the ultrasound beam and the vessel. If this could not be obtained, onscreen angle correction was applied, to ensure that the angle of insonation was less than 30 degrees. The gate size was adjusted to match the size of the vessel. When at least five identical consecutive waveforms were observed, the image was frozen and an onscreen calliper was used to measure the peak systolic velocity. The maximum velocity in the IHUV was measured in a cross-section of the fetal abdomen. The sample volume was placed at approximately one third of the distance between the abdominal wall and the portal vein, with the gate adjusted to the diameter of the vessel. A steady flow velocity pattern of 5 seconds was obtained before freezing the image. The maximum velocity was measured by placing a calliper with the horizontal lines on the edge of the Doppler signal. Maximum fetal liver length was measured in a parasagittal scan of the fetal abdomen from the diaphragm to the lower edge of the right liver. The fetal spleen perimeter was measured by the trace method in the same cross-sectional plane as used for the fetal stomach. All ultrasound and Doppler studies were performed by the author with an ATL 3000 machine with a 5-MHz curved array transducer. The results were plotted on previously published graphs^{4-6,9}. For all measurements, values greater than the 95th percentile were considered abnormal, except for the MCA measurement, for which the cut-off value of 1.5 multiples of median was used. The decision to perform FBS was given using all available information such as history, fetal

movements, antibody titers, and included results of fetal ultrasound and Doppler findings. In all 18 cases in which FBS was performed, fetal anemia was confirmed and transfusion was carried out immediately.

The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value were calculated from 2-2 tables. A receiver-operator characteristic (ROC) curve was constructed and the area under the curve (AUC) was used to compare the screening efficiency of various variables for predicting fetal anemia.

RESULTS

Of the 24 pregnancies, 6 cases were monitored by serial noninvasive assessments without any procedure. In all of these 6 cases antibody levels were stable and most of the noninvasive tests were within the reference range. The mean gestational age at delivery was 36, 8±1,7 weeks (range 34–39 weeks) and 2 were found to be RhD-negative postnatally. One of the neonates from this group required exchange transfusion after the delivery.

Eighteen fetuses underwent first fetal blood sampling/intravascular transfusion at a mean gestational age of 26±3,9 weeks. The hemoglobin values at the first procedure were 4–8 gr/dl (median 6 gr/dl) and Δ Hb was between 3-4 grams, 5-6 grams and >6 grams in 6, 9 and 3 of the cases respectively. The anemic fetuses received a median of two IUTs (range 1-4). The mean gestational age at delivery was 34, 2±2,7 weeks (range 32–38 weeks). All neonates are alive and well.

The results of the MCA peak velocity values at the time of first FBS or at delivery is shown in Figure 1. The test characteristics of the four noninvasive tests are given in the Table I. The sensitivities and false-positive rates (receiver operating characteristic curve - ROC) for the detection of fetal anemia by ultrasound and Doppler measurements are illustrated in Figure 2. The areas under the curve equal to 0.972, 0.861, 0.667 and 0.528 for MCA-PSV, IHUV, liver length, and spleen perimeter respectively were determined for the prediction of fetal anemia (Table II).



Table I. Test characteristics of ultrasound and Doppler measurements as predictors of fetal anemia in 24 red blood cell–alloimmunized pregnancies

Test	MCA	IHUV	Spleen	Liver
True positive	17	13	10	9
False positive	0	0	3	1
True negative	6	6	3	5
False negative	1	5	8	9
Sensitivity (%)	94.4	72.2	55.5	50
Specificity (%)	100	100	50	83.3
PPV (%)	100	100	76.9	90
NPV (%)	85.7	54.5	27.3	35.7

Table II. The screening efficiency of ultrasound and Doppler measurements as predictors of fetal anemia.

Parameters	AUC	SE	Significance
Middle cerebral artery peak systolic velocity	0.972	0.033	0.001
Umbilical vein maximal flow velocity	0.861	0.074	0.009
Liver length	0.667	0.123	0.230
Spleen perimeter	0.528	0.139	0.841

AUC, Area under receiver-operator characteristic curve

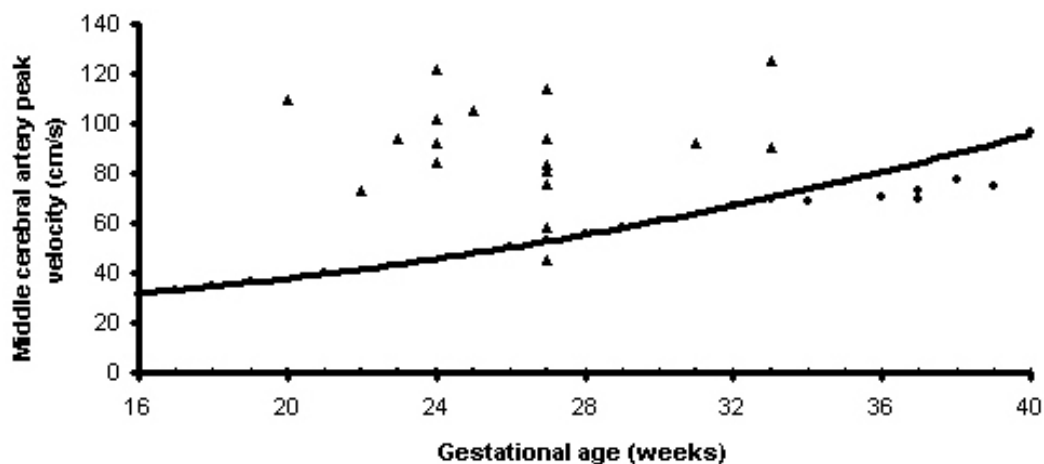


Figure 1: Middle cerebral artery peak velocity values at time of first FBS or at delivery. Triangles, anemic fetuses; circles, nonanemic fetuses. Line, 1.5 multiples of median in normal pregnancies.

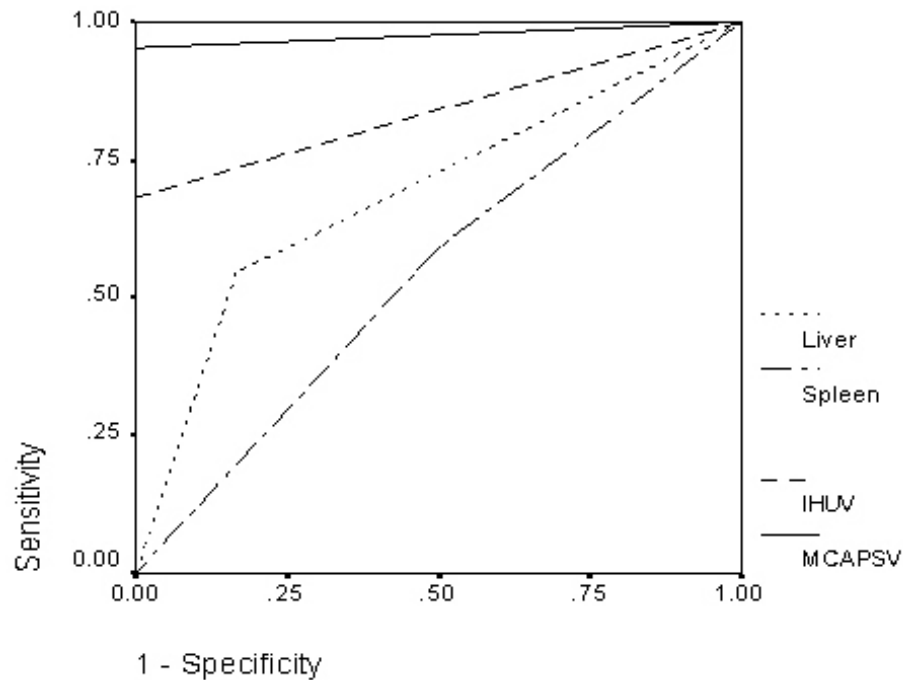


Figure 2: The receiver-operator characteristic curves showing the prediction performance of ultrasound and Doppler measurements for fetal anemia.

DISCUSSION

Theoretically, ultrasound scanning and Doppler technology to detect biophysical and hemodynamic changes associated with fetal anemia seem to have the potential for developing effective noninvasive testing. Such tests are needed because the current invasive strategies, namely serial amniocentesis to directly assess amniotic fluid bilirubin (D optical density 450) values or cordocentesis, are associated with fetal loss and maternal morbidity. Moreover, the reliability of amniocentesis has been questioned, especially in the early to mid-second trimester. The availability of the successful treatment of anemic fetuses, especially before hydrops develops, by intrauterine blood transfusions has further increased the importance of detecting at risk fetuses.

This prospective study confirms the effectiveness of non-invasive management of red blood cell alloimmunization. As, in all cases in which FBS was performed according to history, antibody titers, and results of fetal ultrasound and Doppler findings, fetal anemia was confirmed and transfusion was carried

out immediately. Those 6 cases in which pregnancy was followed without performing any invasive procedure all delivered non moderate-severe anemic fetuses that did not need IUT. Similar findings were also gained in the study performed by Dukler et al¹¹. In their prospective study, 16 nonhydropic fetuses with red blood cell alloimmunization were evaluated with ultrasound and Doppler imaging. Non-invasive management correctly defined 6 severely anemic fetuses that required IUTs and 10 pregnancies that did not need any invasive procedure.

This study also demonstrates that Doppler measurements of fetal blood flow velocities are superior tests to liver and spleen measurements in the prediction of fetal anemia in red blood cell alloimmunization. MCA peak systolic velocity measurement with a sensitivity and specificity of 94.4% and 100% respectively, is the most accurate parameter and the best available noninvasive test in the management of pregnancies at risk for fetal anemia. In two other studies in which direct comparison of the diagnostic accuracy of the non-invasive tests have been performed; Iskaros et al⁹ reported umbilical vein maximal flow velocity measurement to



be a better predictive test than liver length and spleen perimeter measurements in fetal anemia. Dukler et al¹¹ comparing the diagnostic accuracy of MCA peak systolic velocity, intrahepatic umbilical venous maximum velocity, liver length, and spleen perimeter demonstrated that Doppler measurements were superior tests to ultrasound measurements and MCA peak systolic velocity measurement with a 100% sensitivity and specificity was the most accurate parameter in the prediction of fetal anemia. They also stated that invasive diagnostic techniques could safely be avoided when normal MCA flow velocity was found.

Non-invasive Doppler ultrasound has shown impressive capabilities in the diagnosis of anemia. Velocity changes are thought to result from increased cardiac output and decreased viscosity of fetal blood (ie, a hyperdynamic circulation)¹². Although flow velocities in all fetal vessels will be increased, the MCA is particularly suitable for assessment because of its easy visualization with color Doppler imaging and usually an angle of insonation close to 0 degrees can readily be obtained. In 1995, Mari et al¹³ reported that MCA-PSV Doppler measurements could accurately predict fetal anemia in a prospective series of 16 pregnancies complicated by maternal red blood cell alloimmunization. Since that initial report, various other studies have strongly confirmed the efficacy of MCA peak systolic velocity in the prediction of fetal anemia with sensitivities ranging from 64 - 100%.¹⁴⁻¹⁸. MCA PSV can be used to detect degrees of fetal anemia justifying invasive fetal testing and intrauterine transfusion^{11,14}. The MCA-PSV rises progressively as anemia worsens¹⁶. The use of the middle cerebral artery peak systolic velocity for the diagnosis of fetal anemia has led to a more than 70% reduction in the number of invasive tests, which often cause fetal death, in the assessment of red-cell alloimmunized pregnancies¹⁴.

With measurement of the IHUV maximum flow velocity, we achieved 72.2% sensitivity, with no false-positive result. The sensitivity of 83 % was found by Iskarios et al (9) and Dukler et al¹¹ with false-positive rates of 0%

and 20% respectively. This test seems less accurate than MCA velocities, but may still have a role as an additional tool in the evaluation of fetuses at risk for anemia.

Ultrasound measurements of spleen perimeter and liver length had sensitivities and false-positive rates of 55.5% and 50% and 50% and 16.6% respectively. These results may be explained by our understanding of the underlying pathophysiologic mechanisms. As the hemolytic disease progresses, the fetal liver and spleen may increase in size because of the increased production of red blood cells, at least temporarily. The fetus may, however, be able to compensate for the breakdown of red blood cells. In such cases, a fetus may have a large liver and spleen but would not necessarily be severely anemic. Conversely, more rapid breakdown of red blood cells may prevent the fetus from adapting to hemolysis, and anemia may develop without clear evidence of hepatosplenomegaly. The present and other studies which compare the role of spleen and liver measurements and Doppler parameters in the prediction of fetal anemia favor the use of Doppler^{9,11}.

In conclusion, this prospective study confirms the effectiveness of non-invasive management of red blood cell alloimmunization. Measurement of the PSV in the MCA in fetuses at risk for anemia due to maternal red cell alloimmunization provides an accurate, non-invasive and useful clinical test in the prediction of fetal anemia. Its use would prevent unnecessary invasive procedures and cordocentesis could be considered in those fetuses that develop ascites or a high MCA-PSV.

REFERENCES

1. Maxwell DJ, Johnson P, Hurley P, Neales K, Allan L, Knott P: Fetal blood sampling and pregnancy loss in relation to indication. *Br J Obstet Gynaecol* 1991; 98:892-897.
2. Bowman JM, Pollock JM, Peterson LE, Harman CR, Manning FA, Menticoglou SM: Fetomaternal hemorrhage following funipuncture: increase in severity of maternal red-cell alloimmunization. *Obstet Gynecol* 1994; 84:839-843.
3. Oepkes D. Invasive versus non-invasive testing in red-cell alloimmunized pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 92: 83-89.



4. Mari G, Deter RL, Carpenter RL, Rahman F, Zimmerman R, Moise KJ. Non-invasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. *N Engl J Med* 2000; 342:9-14.
5. Oepkes D, Meerman RH, Vandenbussche FP, Van Kamp IL, Kok FG, Kanhai HH. Ultrasonographic fetal spleen measurement in red blood cell alloimmunized pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:121-128.
6. Roberts AB, Mitchell JM, Pattison NS. Fetal liver length in normal and isoimmunized pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 161:42-46.
7. Steiner H, Schaffer H, Spitzer D, Batka M, Graf AH, Staudach A. The relationship between peak velocity in the fetal descending aorta and hematocrit in rhesus isoimmunization. *Obstet Gynecol* 1995; 85:659-662.
8. Kirkinen P, Jouppila P. Umbilical vein blood flow in rhesus-isoimmunization. *Br J Obstet Gynaecol* 1983; 90:640-643.
9. Iskaros J, Kingdom J, Morrison JJ, Rodeck CH. Prospective non-invasive monitoring of pregnancies complicated by red cell alloimmunization. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 11:432-437
10. Nicolaides KH, Soothill PW, Clewell WH, Rodeck CH, Mibashan RS, Campbell S. Fetal haemoglobin measurement in the assessment of red cell isoimmunisation. *Lancet* 1988; 1: 1073 -1075.
11. Dukler D, Oepkes D, Seaward G, Windrim R, Ryan G. Noninvasive tests to predict fetal anemia: A study comparing Doppler and ultrasound parameters. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188:1310-1314.
12. Rightmire DA, Nicolaides KH, Rodeck CH, Campbell S. Fetal blood velocities in Rh isoimmunization: relationship to gestational age and to fetal hematocrit. *Obstet Gynecol* 1986; 68:233-236.
13. Mari G, Adrignolo A, Ahuhamad AZ, P. et al. Diagnosis of fetal anemia with Doppler ultrasound in the pregnancy complicated by maternal blood group immunization. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 5:400-405
14. Mari G, Deter RL, Carpenter RL, et al. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. *N Engl J Med* 2000; 342: 9-14.
15. Bullock R, Martin WL, Coomarasamy A, Kilby MD. Prediction of fetal anemia in pregnancies with red-cell alloimmunization: comparison of middle cerebral artery peak systolic velocity and amniotic fluid OD450. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005; 25: 331-334
16. Mari G, Detti L, Oz U, Zimmerman R, Duerig P, Stefos T. Accurate prediction of fetal hemoglobin by Doppler ultrasonography. *Obstet Gynecol* 2002; 99: 589-593.
17. Deren O, Onderoglu L. The value of middle cerebral artery systolic velocity for initial and subsequent management in fetal anaemia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 101: 26-30.
18. Scheier M, Andrade-Hernandez E, Carmo A, Dezerega V, Nicolaides KH. Prediction of fetal anemia in rhesus disease by measurement of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 23: 432-436.



CASE REPORT

TONGUE AND UVULAR EDEMA CAUSED BY BRASSICA ARVENSIS

Gulbin Aygencel, Emine Akıncı, Ayfer Keles, Ahmet Demircan
Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

ABSTRACT

Acute uvular and tongue edema are potentially life-threatening conditions with a variety of causes. Allergy, infection, trauma or physical causes should be excluded. We report a case of a patient who suffered angioedema of the tongue and uvula following ingestion of Brassica arvensis (Charlock mustard, wild mustard).

A 53-year old woman presented to our Emergency Department with swelling of the tongue and uvula, and dysphagia. The symptoms occurred after the ingestion of raw leaves of Brassica (Sinapis) arvensis in a salad. On physical examination, uvular edema was observed. The patient was successfully managed with intravenous prednisolone and chlorphenoxamine. After a 24-h observation, the patient was discharged in good health.

In the light of this recent case, the clinician should be aware of the potential side effects of herbs or herbal medicines.

Keywords: Uvular edema, Herbs, Brassica arvensis, Side effects

BRASSICA ARVENSIS'E BAĞLI DİL ve UVULA ÖDEMİ

ÖZET

Bir çok sebebe bağlı gelişebilen akut uvula ve dil ödemi yaşamı tehdit edebilen nadir durumlardan biridir. Allerji, infeksiyon, travma ve fiziksel nedenler altta yatan patolojiler açısından araştırılmalıdır. Bu yazıda Brassica arvensis (yabani hardal veya Charlock hardalı) tüketiminden sonra gelişen, dilde ve uvulada anjiyoödem ile giden bir olgu sunulmuştur.

53 yaşında bayan hasta Acil Servisimize ağız içinde ve dilde şişlik ve yutma güçlüğü şikayeti ile başvurdu. Hasta şikayetlerinin vahşi hardal yaprakları içeren bir salatayı yedikten sonra geliştiğini ifade etti. Fizik muayenesinde de oral kavitede, dilde ve uvulada ödem tesbit edildi. Hastaya intravenöz steroid ve antihistaminik tedavisi başlandı. Belirti ve bulguları 24 saat sonunda gerileyen hasta gerekli öneriler ile taburcu edildi.

Bu olgunun bulguları ışığında, klinisyenlerin bitki ve bitkisel ilaçların yan etkileri konusunda da dikkatli olmaları önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Uvula ödemi, Bitkiler, Brassica arvensis ,Yan etkileri

INTRODUCTION

Angioedema of the tongue and oropharynx is a rare and potentially life threatening adverse reaction related to inhaled or ingested allergens, infection, trauma or physical causes¹.

Toxic constituents or allergens contained in plants are occasionally reported as factors triggering a toxic or allergic reaction in subjects who undergo folk medical practices or eat these plants^{2,3}.

İletişim Bilgileri:

Gulbin Aygencel M.D.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Ankara,
Türkiye

e-mail: gencel69@hotmail.com

Marmara Medical Journal 2007;20(3);179-181



We report the case of a woman who presented to the emergency department with uvular and tongue edema. The reaction occurred after ingestion of *Brassica arvensis*, used for cooking purposes in some eastern Mediterranean countries.

CASE REPORT

A 53-year old woman presented to our emergency department with a chief complaints of sore throat, swelling of the tongue and soft palate, dysphagia and mild shortness of breath. According to her history, the symptoms occurred an hour after the ingestion of raw wild mustard leaves in a salad for dinner.

The patient was generally in good health. There was no history of drug, trauma, fever, chills or recent upper airway disease symptoms. Her past medical history was unremarkable. Physical examination revealed an alert patient who appeared to be mildly anxious. Vital signs were normal. Examination of the head and neck revealed uvular and soft palate edema. The remainder of the physical examination was entirely normal. Laboratory investigations included CBC, urinalysis, serum electrolytes, hepatic and renal function tests, and arterial blood gas were normal.

The patient was successfully managed with intravenous prednisolone and chlorphenoxamine therapy. She was discharged with complete resolution of her symptoms of uvular edema after 24-hr observation and treatment.

DISCUSSION

Uvular edema presents as foreign body sensation, sore throat, hoarseness, dysphagia, gagging and signs of upper airway obstruction¹. The etiology may be related to inhaled or ingested allergens, drugs, some medications, trauma, infection, tumors, radiotherapy, some diseases or physical agents^{1,4-6}. Hereditary angioedema, a genetic disorder of the complement system, is also presented with uvular edema¹. In this case, the reaction occurred after ingestion of the plant, *Brassica arvensis*, and was probably due

either to an allergic reaction or to toxic elements in the plant. Type 1 hypersensitivity reaction is the usual cause of such an emergency, but toxic elements can produce the same effect.

Treatment of uvular edema is similar to anaphylaxis or severe allergic reactions¹. Our patient responded to prednisolone and antihistamine. The good outcome of our patient with drug therapy may be the result of the small amount of intake or early admission to the emergency department or less toxicity of the plant.

Brassica arvensis, known as wild or Charlock mustard, is a perennial herb of the Cruciferae family, endemic to the Mediterranean region. Leaves of the plant, raw or cooked, are added to salads or used as potherb. Immature flowering stems are cooked in much the same way as broccoli. An edible oil is obtained from the seed, it is used mainly for cooking purposes, but also for salads, can be rich in erucic acid which is toxic. The seed is used as a mustard flavouring. The juice of the roots is used in the treatment of chronic coughs and bronchial catarrh. The seed, powdered, with salt is said to be a folk remedy for cancer⁷.

In veterinary literature, many reports on disease occurring in brassica-fed dairy cattle may be found⁸. Few case reports about the human toxicity of this plant exist⁷.

In conclusion, in the light of this recent case, the emergency physician should be familiar with the potential serious side effects of herbs or herbal medicines. Because of the life threatening potential, physicians should evaluate and manage the uvular edema patient very carefully.

REFERENCES

1. Goldberg R, Lawton R, Newton E, et al. Evaluation and management of acute uvular edema. *Ann Emerg Med* 1993; 22: 251-255.
2. Chan TYK, Tam HP, Lai CK, et al. A multidisciplinary approach to the toxicologic problems associated with the use of herbal medicines. *Ther Drug Monit* 2005; 27: 53-57.
3. Savage A, Hutchings A. Poisoned by herbs. *Br Med J* 1987; 295: 1650-1651.
4. Kuo DC, Barish RA. Isolated uvular angioedema associated with ACE inhibitor use. *J Emerg Med* 1995; 13: 327-230.



5. Koussidis GA, Mountantonakis S, Petrichou CC. Folk remedies still in use: a case of soft palate and uvular edema due to Ecbalium elaterium. *Int J Clin Pract* 2002; 56: 817.
6. Eray O, Tuncok Y, Eray E, et al. Severe uvular angioedema caused by intranasal administration of Ecbalium elaterium. *Vet Human Toxicol* 1999; 41: 376-378.
7. Brassica napus arvensis. Available at: <http://alienplant.nier.go.kr/kor/html/>
8. Morton JM, Campbell PH. Disease signs reported in south-eastern Australian diary cattle while grazing Brassica species. *Aust Vet J* 1997; 75: 109-113.



CASE REPORT

AN UNCONSUMMATED MARRIAGE: A CASE REPORT

Ersin Akpınar, Esra Saatçı

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

ABSTRACT

Vaginismus is described as “recurrent or persistent involuntary contraction of the perineal muscles surrounding the outer third of the vagina when vaginal penetration is attempted with penis, finger, tampon, or speculum. The purpose of this case report is to investigate the treatment model of a patient with vaginismus who benefited from Cognitive Behavioral Therapy (CBT) in a couple (woman 21, man 23 years old) admitting to family practice for treatment of vaginismus. The duration of marriage was 19 months. The marriage was unconsummated. The diagnosis was made using DSM-IV criteria. They were assessed initially and after treatment by Golombok-Rust Inventory of Sexual Satisfaction (GRISS) index. The initial scores of communication, sensuality, erectile dysfunction and premature ejaculation and the total scores of the GRISS indicated accompanying sexual dysfunction in the man. Sensate focus and gradual desensitization (vaginal self-dilatation) methods with cognitive restructuring techniques were used. The overall sexual functioning of the woman showed improvement.

Keywords: Vaginismus, Primary care, Cognitive behavioral therapy

OLGU SUNUMU: TAMAMLANMAMIŞ BİR EVLİLİK

ÖZET

Vajinismus, penis, parmak, tampon veya spekulum penetrasyon girişimi halinde vajenin dış 1/3'ünü çevreleyen perineal kasların tekrarlayıcı veya persistan istemsiz kontraksiyonu olarak tanımlanır. Bu olgu sunumu, aile hekimliği polikliniğine başvuran ve Bilişsel Davranış Terapisi'nden (BDT) yarar gören vajinismuslu bir hastanın tedavi modelini ele almaktadır. Çift 19 aydır evliydi ancak cinsel birleşme sağlanamamıştı. Tanı DSM-IV kriterlerine göre kondu. Tedavi öncesi ve sonrasında çiftte Golombok-Rust Inventory of Sexual Satisfaction (GRISS) endeksi uygulandı. İletişim, cinsel istek, erektil disfonksiyon, prematür ejakülasyon puanları ve toplam puan, erkekte de cinsel disfonksiyon olduğunu gösterdi. Tedavide, bilişsel yeniden yapılandırma teknikleri ile birlikte sensate focus ve kademeli duyarsızlaştırma (kendi kendine vajinal dilatasyon) yöntemleri kullanıldı. Kadının cinsel fonksiyonları iyileşme gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Vajinismus, Birinci basamak, Bilişsel davranışsal terapi

INTRODUCTION

Sexual dysfunction (SD) in women is a multifactor condition with anatomical, physiological, medical, psychological and social components. Data reveal that up to 76% of women have some type of SD.^{1,2} Women's SD includes disorders of sexual

desire, arousal, orgasm and/or sexual pain, which result in significant personal distress and may compromise women's health and quality of life. Vaginismus was categorized as “a sexual pain disorder” in Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders (DSM)-III-R³, DSM-IV⁴, and the report of the

İletişim Bilgileri:

Esra Saatçı, M.D.

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği Anabilim Dalı,
Adana, Türkiye

e-mail: esaatci@cu.edu.tr

Marmara Medical Journal 2007;20(3);182-185



International Consensus Development Conference on Female Sexual Dysfunction⁵ and in other nosologies such as the American College of Obstetricians and Gynecologists-1995, American Psychiatric Association-1994, World Health Organization-1992. The sexual pain disorders are the only pain problems in the DSM-IV⁴ other than “pain disorder” and this appears to reflect the idea that sexual pain disorders are of a special type associated with sexual activity. Vaginismus is defined as an involuntary contraction of the muscles of the outer third of the vagina. The contraction interferes with coitus and occurs during attempts at penetration with, for example, a penis, finger, speculum or menstrual tampon⁶. The pelvic floor muscles involved in these contractions, surround the urethra, vagina and anus and are under voluntary control. However, the pelvic floor muscles can also contract involuntarily, as seen during orgasm⁵. These contractions are spastic, as opposed to the rhythmic contractions during orgasm⁶. Vaginistic reactions are often associated with a defense mechanism emerging with experience⁷. Vaginismus leads couples to seek treatment in primary care clinics. The purpose of this case report is to investigate the treatment model of a vaginismus patient who benefited from Cognitive Behavioral Therapy (CBT). The couple was assessed using Golombok-Rust Inventory of Sexual Satisfaction (GRISS) index. GRISS is a 28-item questionnaire for the assessment of sexual dysfunction. The female version produces subscale scores of anorgasmia, vaginismus, non-communication, infrequency, avoidance, non-sensuality and dissatisfaction as well as a total score. The male version produces subscale scores of impotence, premature ejaculation, non-communication, infrequency, avoidance, non-sensuality and dissatisfaction as well as a total score. The GRISS is used by sexual dysfunction clinics and relationship counsellors to monitor the state and improvement of their patients and clients. It

has also been used in clinical trials of pharmacological products that are designed for the treatment of sexual dysfunction.

CASE REPORT

A couple who suffered from nonconsummation of marriage admitted to family practice clinic of Cukurova University and was assessed using GRISS index (Table I)^{8,9}. The woman was 21 and the man was 23 years old. The duration of the marriage was 19 months. The marriage was unconsummated. We diagnosed vaginismus using DSM-IV criteria. After the initial assessment, brief information about sexual anatomy and sexual physiology was given to the couple using pictures, and printed material. The couple was asked to refrain from direct sexual interaction in the beginning of the therapy in order to avoid performance anxiety. Sensate focus to increase sensual awareness and gradual desensitization (vaginal self-dilatation) methods to desensitize the woman with cognitive restructuring techniques were used. In sensate focus exercises, the couple was told to touch each other's body to increase sensual awareness. A cognitive restructuring technique was used to change the dysfunctional thoughts interfering with sexual functioning. After the anxiety level decreased, the couple was told to perform gradual vaginal self-dilatation technique to desensitize the woman. At the last stage of CBT, the couple gradually attempted sexual intercourse. The importance of communication was emphasized during sessions. After five sessions (once a week lasting 35 minutes) the couple was assessed again using GRISS (Table I). Treatment was continued until the symptoms were improved. The overall sexual functioning of the woman improved at the end of the therapy. There was significant improvement in avoidance, impotence and premature ejaculation scores of man.



Table I: Golombok-Rust Inventory of Sexual Satisfaction (GRISS) scores of the couple

Scores of GRISS	Female		Male	
	Pretreat.	Posttreat.	Pretreat.	Posttreat.
Communication	3.81	2.21	3.93	4.02
Satisfaction	7.50	3.06	6.44	4.98
Avoidance	6.21	2.87	1.81	1.14
Sensuality	3.45	1.12	6.19	5.85
Vaginismus/Erectile Dysfunction	8.94	2.43	5.75	4.20
Anorgasmia/Premature Ejaculation	8.42	3.98	6.40	3.75

Pretreat: Pre-treatment

Posttreat: Post-treatment

DISCUSSION

The couple satisfactorily consummated their marriage after the sixth session. The woman seemed to benefit from the therapy more than the man. The results showed significant improvement in all GRISS subscale scores (vaginismus, anorgasmia, frequency, communication, satisfaction, avoidance, and sensuality). Our results indicating the efficacy of cognitive behavioral interventions for vaginismus are in accordance with studies by Biswas and Schnyder et al.^{10,11}. The initial scores of communication, sensuality, impotence, and premature ejaculation and the total scores of the GRISS indicated accompanying sexual dysfunction of the man. It was not a surprise as some items of GRISS were related to consummation. Those items might have increased the scores, especially on the premature ejaculation and impotence subscales. Studies also indicate a high frequency of male sexual dysfunction among partners of women with vaginismus^{12,13}. Vaginismus was also found to be common in partners of men with nonorganic erectile dysfunction^{14,15}.

We directed CBT strategies toward not only the woman but the couple, and the man also seemed to benefit. There was significant improvement in avoidance, impotence and premature ejaculation scores. Nevertheless, the man was satisfied with his sexual relationships both before and after the therapy. Surprisingly, neither the man nor the woman reported any problem related to impotence or premature ejaculation during the sessions¹¹⁻¹⁵.

In more conservative subcultures the bride is expected to be a virgin. A bride has to verify her virginity to her husband and his family in the first night of the marriage. This tradition may increase the anxiety during the first sexual interaction especially for couples who do not have sufficient information and experience about sex. As a common tradition, before the wedding feast, one of the elder female family members shares with the bride her sexual experience about the first night. Our clinical observation shows that the shared information may sometimes contain unrealistic and catastrophic information such as claims that consummation for women causes unendurable pain and sickness for several days. This kind of information may lead to sexual dysfunction and may complicate the sexual problem. In our case, we used GRISS which does not include parameters related to traditional myths. Further studies should include other parameters such as personality characteristics, comorbid psychopathology, and so forth, to identify the characteristics of vaginismus.^{16,17} Sexual dysfunction cannot be considered as one generic problem. Dyspareunia, vaginismus, reduced arousal, and aversion to sexual contact were uncommon problems and were associated with other psychological and physical difficulties. Women with these ICD-10 diagnoses were also much more likely to have consulted their general practitioners about sexual matters than women who received a single diagnosis of lack or loss of sexual desire. This suggests that many people do not regard lack or loss of sexual desire as a



serious difficulty. Setting aside this diagnosis reduces the prevalence of any sexual problem to 27% for women and 16% for men^{18,19}. Thus we need further evidence that the relatively common complaint of lack or loss of sexual desire is an obstacle to satisfactory sexual relations or that a medical solution is indicated; for many people, reduced sexual interest or response may be a normal adaptation to stress or an unsatisfactory relationship. Women's high consultation rate, as well as their willingness to seek help for such problems, makes it possible for family doctors to become involved. However, general practitioners need to be alert to the possibility of a sexual problem and may need training on how to manage this at a primary care level.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the staff of the family medicine outpatient clinic and the couple in the study.

REFERENCES

1. Frank E, Anderson C, Rubinstein D. Frequency of sexual dysfunction in normal couples. *N Engl J Med* 1978; 299: 111-115.
2. Spector I, Carey M. Incidence and prevalence of the sexual dysfunction: a critical review of the empirical literature. *Arch Sex Behav* 1990; 19: 389-408.
3. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 3rd ed. Revised. Washington, DC. American Psychiatric Press, 1987. 290-296.
4. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th ed. Washington, DC. American Psychiatric Press, 1994. 493-538.
5. Basson R, Berman J, Burnett A, et al. Report of the international consensus development conference on female sexual dysfunction: definitions and classifications. *J Urol* 2000; 163: 888-893.
6. Perry JD, Whipple B. Pelvic muscle strength of female ejaculators: evidence in support of a new theory of orgasm. *J Sex Res* 1981; 17: 22-39.
7. Dekkers WJ. F.J.J. Buytendijk's concept of an anthropological physiology. *Theor Med Bioeth*. 1995;16:15-39.
8. Rust J, Golombok S. The GRISS: A psychometric instrument for the assessment of sexual dysfunction. *Arch Sex Behav* 1986; 15: 153-161.
9. Tugrul C, Oztan N, Kabakci E: The standardization of Golombok-Rust Inventory of Sexual Satisfaction. *J Turkish Psychiat* 1993; 4: 83-88 [in Turkish].
10. Biswas A, Ratman S. Vaginismus and outcome of treatment. *Ann Acad Med Singapore* 1995; 24 : 755-758.
11. Schnyder U, Schnyder-Luthi C, Ballinari P, Blaser A: Therapy for vaginismus in vivo versus in vitro desensitization. *Can J Psychiatry* 1998; 43 : 941-944.
12. Wolff CG. Sexual dysfunction to the rescue. Prim care companion *J Clin Psychiatry* 2003;5:139-140.
13. Bancroft J, Tyrer G, Warner P. The classification of sexual problems in women. *J Sex Med* 1982;2:30-37.
14. Gabbard GO. Musings on the report of the International Consensus Development Conference on Female Sexual Dysfunction: definitions and classifications. *J Sex Marital Ther* 2001; 27 : 145-147.
15. Sadovsky R. Asking the questions and offering solutions: The ongoing dialogue between the primary care physician and the patient with erectile dysfunction *Rev Urol* 2003;5(Suppl 7):35-48.
16. Masters W, Johnson V. Human sexual inadequacy. Boston: Little Brown. 1970.18-24.
17. Kabakci E, Batur S. Who benefits from cognitive behavioral therapy for vaginismus? *J Sex Marital Ther* 2003; 29 : 277-288.
18. Nazareth I, Boynton P, King M. Problems with sexual function in people attending London general practitioners: cross sectional study. *BMJ* 2003;327:423-429.
19. Humphery S, Nazareth I. GPs' views on their management of sexual dysfunction. *Fam Pract* 2001;18:516-8.



CASE REPORT

CREST SYNDROME AND RENAL INVOLVEMENT

Özlem Tarçın¹, Orhan Tarçın², Mihriban Özcivan³, Hasan Aydın¹, Arzu Tiftikçi⁴

¹Marmara University Hospital, Division of Endocrinology and Metabolism, İstanbul, Türkiye ²Gumussuyu Military Hospital, Division of Gastroenterology, İstanbul, Türkiye ³Istinye Government Hospital, Department of Dermatology, İstanbul, Türkiye ⁴Marmara University Hospital, Division of Gastroenterology, İstanbul, Türkiye

ABSTRACT

A 66 year-old woman with a history of Raynaud's phenomenon for 30 years, presented with fingertip calcification and ulceration. She complained of discharge of small stones from these ulcerated lesions for several years and dysphagia in the past year. On physical examination, we noticed mild telangiectasias on her face. Calcifications were observed on her foot and hand radiographs. Laboratory findings revealed normal Ca⁺⁺ and PO₄, but the serum parathyroid hormone level was elevated on two occasions. Anticentromer antibody and ANA were positive, whereas anti-Scl 70 was negative. At gastroscopy, esophageal aperistaltism was found and esophagogastroduodenography(EGDG) was suggested. Esophageal dysmotility was found in EGDG and with these findings we decided the patient had CREST syndrome. Hyperparathyroidism was thought to be secondary to calcinosis cutis. We know that during the progression of this disease, the calcinosis type of systemic sclerosis can be characterized by renal involvement and secondary hyperparathyroidism, but it is rarely seen with the CREST syndrome. Because the CREST syndrome is a slowly progressing disease, we believe hyperparathyroidism in this patient developed after many years of hypertension due to the renal disease.

Keywords: CREST syndrome, Renal involvement, Scleroderma, Hypertension

CREST SENDROMU VE BÖBREK TUTULUMU

ÖZET

Otuz yıldır Raynaud's fenomeni tanısı olan 66 yaşındaki kadın hasta, parmak uçlarında kalsifikasyon ve ülserasyon şikayeti ile başvurdu. Bu ülser bölgelerden küçük taşların koparak düştüğünü ifade ediyordu. Son yıllarda disfaji şikayeti de gelişen hastanın fizik muayenesinde yüzünde telenjiaktazileri mevcuttu. El ve ayak grafilerinde kalsifikasyonlar gözlemlendi. Kan tetkiklerinde kalsiyum ve fosfor düzeyleri normal ancak iPTH yüksekti. Anti-Scl 70 antikoru negatif iken ANA ve Anti-sentromer antikoru pozitif bulundu. Gastroskopisinde ösefagial aperistaltizm gözlemlendi ve Ösefagus-Mide-Duedonum(ÖMD) grafisi planlandı. ÖMD'de ösefagial dismotilitenin varlığı, hastada CREST sendromu olduğunu kanıtlıyordu. Hiperparatiroidinin ise kalsinozise ikincil geliştiği düşünüldü. Progresif Sistemik Sklerozisin kalsinozis tipinde böbrek tutulumu ve sekonder hiperparatiroidi geliştiği bilinmektedir. Ancak CREST sendromu çok yavaş ilerleyen bir hastalık olduğundan sekonder hiperparatiroidizm çok nadiren görülür. Vakamız bu açıdan nadir görülen, böbrek tutulumu ve hipertansiyon ile giden CREST sendromu olarak değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: CREST sendromu, Hipertansiyon, Skleroderma, Böbrek tutulumu

INTRODUCTION

CREST syndrome is a limited type of scleroderma which includes Calcinosis cutis,

Raynaud's phenomenon, Esophageal dysfunction, Sclerodactyly and Telangiectasia. Patients with CREST syndrome are typically women and are older

İletişim Bilgileri:

Özlem Tarçın, M.D.

Marmara University Hospital, Division of Endocrinology and Metabolism, İstanbul, Türkiye

e-mail: ozlemtarcin@yahoo.com

Marmara Medical Journal 2007;20(3);186-189



than patients with systemic sclerosis (SSc) with a long history (10-15 years) of Raynaud's phenomenon; skin involvement is limited to the digits or hands, face, feet and forearms; nail fold capillary dilatation; and early onset of facial and digital telangiectasias. Also, there is a high incidence (70-80%) of anticentromere antibodies (ACA) in CREST, whereas Scl-70 is more frequently associated with SSc¹.

Renal involvement and secondary hyperparathyroidism has previously been reported, mostly in SSc, but can also rarely occur in the CREST syndrome² which is known as "scleroderma renal crisis" or "scleroderma kidney". J.Serup and H.K. Hagdrup³ reported that secondary hyperparathyroidism is common in patients with aberrant calcifications as a regulatory mechanism to maintain a normal calcium concentration in the blood. But there were no differences in the levels of total calcium, phosphate, magnesium, alkaline phosphatase, acid phosphatase, albumin and serum creatinine.

CASE REPORT

We report a 66-year-old woman who had initially presented with Raynaud's phenomenon 30 years previously. Her complaint usually occurred on cold days or in cold water, initially presenting as pale and cold digits which progressed to painful, purple finger tips. In the last 10 years, first she began having fingertip ulcerations and perforations, then the same symptoms began in her toes. She noticed that some small things like stones came out of these very painful ulcerations, which healed slowly. In addition, she complained of dysphagia and heartburn in the last year. The patient had had hypertension for 5 years regulated with Verapamil at 120 mg/day.

On physical examination, her blood pressure was 150/90 mmHg, and her heart rate was 94/min. Skin hardness and thickening were palpated at the volar faces of the hands and toes. There was a hard, hyperkeratotic, round lesion (0.5cm in diameter) on the left hand third phalanx volar face and another round

hyperkeratotic lesion (1 cm in diameter) on the left foot first phalanx volar face, from which the patient reported that a small stone and suppuration had recently discharged (Figure 1). In addition, we noticed clubbing and flexion-like shape deformation of the fingers, but typical sclerodactyly was not found.



Figure 1: Round hyperkeratotic lesion at the left foot first phalanx volar face

Radiographs of bilateral hand and foot showed remarkable cutaneous calcifications, especially near the fingertips (Figure 2). On skin biopsy; epidermal hyperkeratosis, irregular acantosis and connective tissue increment in the dermis were seen. A deep biopsy performed from the calcinosis seen in the left hand radiogram revealed calcification.

In laboratory findings, the Ca⁺⁺ level was mildly elevated once (10.6mg/dl) but on follow-up turned to normal levels. Alkaline phosphatase and PO₄ levels were in normal ranges. The parathyroid hormone was checked for differentiation of calcinosis cutis and was found to be high (218.4pg/ml, 15-65 pg/ml normal ranges) on two occasions. Mg was mildly high (2.6 and 2.8mg/dl; 1.8-2.5 normal ranges), CRP and Romatoid Factor (RF) were positive; ESR was 31mm/h. Blood urea level was elevated (45.5 mg/dl; 12.6-42.6



normal ranges) but creatinin level was normal. According to these findings, we suspected the patient had CREST syndrome or systemic scleroderma. As we expected, the anti-centromere antibody and anti-nuclear antibody (ANA) were positive, whereas anti-Scl 70 and anti-ds DNA were found negative.



Figure 2: Cutaneous calcifications (arrows) near the first fingertip of the left hand on the radiogram

We thought that hyperparathyroidism could have developed secondary to calcium deposition or to primary hyperparathyroidism, thus we tested 24 hour urine Ca⁺⁺ and creatinine clearance. Urine Ca⁺⁺ was normal (121mg/d; normal ranges 100-300mg/d) but creatinine clearance was found low (31ml/dk). These results led us to the conclusion that hyperparathyroidism may have been secondary to renal failure, which can be renal involvement due to the CREST syndrome.

We planned a gastroscopy and eosophagogastroduedonography (EGD) because of dysphagia. In gastroscopy, aperistaltic eosophagus, hiatal hernia and pyloric dysfunction were found. In EGD, eosophageal dysmotility was observed.

In conclusion, we decided that this patient had CREST syndrome. We know that in the

CREST syndrome, pulmonary hypertension and biliary cirrhosis may appear, so an echocardiography was performed and pulmonary pressure was found in the normal range. In the laboratory findings, no problem with hepatic function appeared. As treatment for CREST, the patient was put on 100mg/day D-Penisillamine and 30mg/day Nifedipin.

The patient was informed about this rare disease and an informed consent form was signed by her.

DISCUSSION

Calcification of the skin may occur in all forms of SSc, but is most commonly seen as part of the CREST syndrome. Generally, dystrophic calcification associated with massive collagen degeneration results in calcinosis⁴. The mineral deposits in dystrophic calcinosis cutis secondary to the CREST syndrome have been identified as amorphous calcium hydroxy-apatite^{5,6}. The pathogenesis of calcinosis is not well understood, but the calcium can ulcerate the skin, be expelled as chalky material and cause recurrent episodes of local inflammation⁷. This calcification is associated with an underlying tissue abnormality and collagen degeneration allows increased intracellular calcium influx⁸.

The calcinosis type of systemic sclerosis is characterized by secondary hyperparathyroidism developed during the progression of the disease. Secondary hyperparathyroidism is common in systemic sclerosis, in particular in patients with aberrant calcifications, usually with normal calcium and phosphate plasma levels. During the disease, in order to maintain a normal calcium concentration in the blood, secondary hyperparathyroidism develops³.

Progressive systemic sclerosis is frequently associated with renal involvement. This complication is characterized by the sudden onset of severe arterial hypertension and untreated hypertension is followed by rapidly progressive oliguric renal failure ("scleroderma kidney" or "scleroderma renal crisis")⁹. But such extensive changes are



unusual in patients with the CREST syndrome.

Steen VD et al² found that 18% of the patients having systemic scleroderma and only 1% of the patients who classified as having the CREST syndrome variant at the time of onset of “scleroderma renal crisis”. All these persons had telangiectasiae but not calcinosis of the fingers. In most patients, renal crisis developed early during their illness and no patient with renal disease had a serum creatinine value greater than 1.3mg/dl. According to this study, isolated mild hypertension does not serve to predict subsequent development of “scleroderma kidney” and is probably not etiologically related to the renal vascular abnormalities of progressive systemic sclerosis. But there is still some disagreement concerning the frequency of arterial hypertension in patients with progressive systemic sclerosis and the question of whether or not this finding alone comprises evidence of renal involvement.

Four months after the beginning of the treatment, the calcium ion level had returned to normal ranges in our patient. Some of the patient’s complaints had decreased. This led us to believe that hypercalcemia was related to the CREST syndrome and had developed in consequence of secondary hyperparathyroidism. Mild hypermagnesemia continued although we could not find any reason or relation to the disease.

We did not perform a renal biopsy on the patient but we found some laboratory findings which supported probable renal involvement, which is very rare in the CREST syndrome.

This case may be an important guide concerning the follow-up of patients with the CREST syndrome, which is rarely seen together with severe calcinosis, renal failure and hyperparathyroidism.

REFERENCES

1. Tu JH, Eisen AZ. Scleroderma. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolf C, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick BT, editors. Fitzpatrick’s Dermatology in General Medicine. Vol.2. Fifth Edition. New York: McGraw-Hill Co.:1999: 2023-2033.
2. Steen VD, Medsger TA, Osial TA, Ziegler GL, Shapiro AP, Rodnan GP. Factors predicting development of renal involvement in progressive systemic sclerosis. *The Am J Med* 1984; 76: 779-786.
3. Serup J, Hagdrup HK. Parathyroid hormone and calcium metabolism in generalized scleroderma. *Arch Dermatol Res* 1984; 276: 91-95.
4. Kawakami T, Soma Y, Mizoguchi M, Saito R. Immunohistochemical expression of transforming growth factor β 3 in calcinosis in a patient with systemic sclerosis and CREST syndrome. *Br Ass Dermatol* 2000; 143: 1097-1131.
5. Veerapen K, Watt I, Dieppe P. Severe subcutaneous calcification in the “CREST” syndrome: evidence of high turnover of calcific deposits. *Br J Rheumatol* 1987; 26: 89-92.
6. Faure G, Daculsi G, Netter P, Gaucher A, Kerebel B. Apatites in heterotopic calcifications. *Scanning Electron Microsc* 1982; 4: 1629-1634.
7. Buchowski JM, Ahn NU, Ahn UM, McCarthy EF. Disproportionately severe calcinosis cutis in an 88-year-old patient with CREST syndrome. *Skeletal Radiol* 2001; 30: 478-481.
8. Lucke T, Fallowfield M, McHenry P. Idiopathic calcinosis cutis of the penis. *Br J Dermatol* 1997; 593: 161-71.
9. Rodnan GP: Progressive systemic sclerosis (scleroderma). In: McCarty DJ, ed. *Arthritis and Allied Conditions*, 9th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1979; 762-809.



CASE REPORT

COMPLETE DIPHALLUS IN A 14-YEAR-OLD BOY

Abdulkadir Tepeler, Mert Ali Karadağ, Ünsal Özkuvancı, Erhan Sarı, Yalçın Berberoğlu, Ahmet Yaser Müslümanoğlu

Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji, İstanbul, Türkiye

ABSTRACT

We herein present an unusual case of 14-year-old boy with complete diphallus and bifid scrotum. He was not aware of his extragenital abnormality until he was examined by a surgeon before circumcision. During surgery, the hypoplastic penis was resected and a single scrotum was constructed by removing the band of skin separating the compartments. The rugose skin was then joined, giving scrotal continuity.

Keywords: Diphallus, urethra, bifid scrotum

14 YAŞINDAKİ ERKEK ÇOCUĞUNDA KOMPLET DİFALLUS

ÖZET

14 yaşında komplet difalluslu ve bifid skrotumlu olgu sunacağız. Hasta ekstragenital anomalisinden, sünnet oluncaya kadar ve bir cerrah tarafından görülmeden önce farkında değildi. Ameliyatta, kompartmanları ayıran cilt bandı kaldırılarak skrotum rekonstrükte edildi ve hipoplastik penis rezeke edildi. Geriye kalan deri birleştirilerek, skrotal devamlılık sağlandı.

Anahtar Kelimeler: Difallus, üretra, bifid skrotum

INTRODUCTION

Diphallus, or duplication of the penis or clitoris is a rare anomaly that occurs once in every 5 million live births¹. This was the second diphallus case at our institution².

The extent of duplication and the number of accompanying anomalies vary greatly from a double glans arising from a common shaft to complete duplication of the phallus accompanied by multiple anomalies such as ectopic scrotum, prepenile scrotum, bifid scrotum, bladder exstrophy, wide symphysis and imperforate anus. We herein discuss a diphallic boy with bifid scrotum.

CASE REPORT

A 14-year-old male was referred from a state hospital to our institute because of abnormal genitalia. He was not aware of abnormal genitalia because the hypoplastic ventral glans

was covered by its prepusium until examined by a surgeon before circumcision. The birth history was normal. The mother and father were healthy. The family history was significant in that a paternal first cousin had hypospadias.

Examination of genitalia revealed a well-formed penis with normally located and functioning urethra and an unseparated accessory smaller ventral penis and a rotated glans with a blind depression at its tip (Figs 1-2). There were two penile shafts located one above the other with two corpora cavernosa. Normal erection of each fallus was observed. The skrotum was bifid and each compartment contained a testicle. Abdominal and other physical examination were normal. The blood analyses were within normal ranges; ultrasonography showed bilateral normal kidneys. Voiding-cystourethrography

İletişim Bilgileri:

Abdulkadir Tepeler, M.D.

Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji, İstanbul, Türkiye

e-mail: akadirtepelers@yahoo.com

Marmara Medical Journal 2007;20(3);190-192



revealed a normal single bladder and urethra and no vesicoureteric reflux.

A vertical incision over the raphe was used to expose the accessory penis. Then it was liberated by a circumferential incision and dissected up into the pelvis. This hypoplastic phallus was then excised and the associated portion of the ventral penis shaft was closed in layers. A single scrotum was constructed by removing the band of skin separating the compartments. The rugose skin was then joined, giving scrotal continuity. The postoperative period was uneventful (Figure 3).



Figure 3: Postoperatively a well formed single penis



Figure 1: Dorsal well-formed penis and an unseparated accessory smaller ventral penis are seen.



Figure 2: Lateral vision of diphallus

DISCUSSION

Diphallus is a rare congenital anomaly occurring once in 5 million live births. The first case was reported in 1609. Neugebauer in 1898, and Nesbit and Bromme in 1933 reviewed cases in the literature³⁻⁶. Diphallus has been classified in different ways, such as glandular, bifid, concealed, complete, hemidiphallus and triple penis^{7,8}. Schneider classified diphalluses in three groups; diphallia of glans alone, bifid diphallia, complete diphallia. Villanova and Raventos have added a fourth category: pseudodiphallia^{8,9}.

The urethra shows a range of variations, ranging from functioning double urethras to complete absence of urethra in each penis. The majority has a single corpus cavernosum in each phallus. The meatus may be normal, epispadic, or hypospadiac, and the scrotum may be normal or bifid. Associated congenital anomalies are present in the majority of the cases. Bladder, urethra, scrotum, uterus and vaginal duplications, bifid clitoris, anterior ectopic anus, colon, rectum and terminal ileum duplications, mental retardation, spinal anomalies, anal atresia, 11 pairs of costae, renal maldescensus, diplopodia of the left foot, intestinal malrotation, umbilical hernia, ectopic bowel segment have been documented in the literature^{7,10}.

Multiple embryological explanations for diphallus exist and have been summarized by Wilson and Hallowell^{3,8}. Almost all authors



are in consensus that the anomaly is due to a defect of fusion of the genital tubercle. Hallowell et al. have suggested that it results from the failure of fusion of mesodermal bands or presentation of the opportunity of mesoderm to surround two urethral anlage³.

Treatment of diphallus usually includes excision of the duplicated penile structure and its urethra. Therefore, all the patients with diphallia have to be examined carefully because of the high incidence of other systemic anomalies³.

REFERENCES

1. Viswanatha RT, Chandrasekharam V. Diphallus with duplications of cloacal derivatives. J Urol 1980; 124: 555-558
2. Mutlu N, Baykal M, Merder E, Culha M, Canbazoglu N. Diphallus with urethral duplication. Int Urol and Neph 1999; 31(2): 253-255.
3. Hallowell JG., Witherington R., Ballagas AJ. Embryologic considerations of diphallus and associated anomalies. J Urol 1977; 117: 728-732.
4. Neugebauer FL. 37 Fälle von Verdoppelung der äusseren Geschlechtsteile. Monatschr F Geburtsch U Gynäk. 1898; 7: 550-555.
5. Neugebauer FL. 37 Fälle von Verdoppelung der äusseren Geschlechtsteile. Monatschr F Geburtsch U Gynäk. 1898; 7: 645-648.
6. Nesbit RM, Bromme W. Double penis and double bladder with report of case. Am J Roentgen 1933; 30: 497.
7. Ravi K, Madan MS. Complete duplication of bladder, urethra and external genitalia. J Urol 1987; 137: 1243-1245.
8. Wilson JSP, Horton C (eds). Diphallus plastic and reconstructive surgery of genital area 1973; 1888-1891.
9. Vilanova X, Raventos A. Pseudodiphallia-a rare anomaly. J Urol. 1954; 71: 338-346.
10. Azmy AF. Complete duplication of the hindgut and lower urinary tract with diphallus. J Pediatr Surg. 1990; 25: 647-649.



OLGU SUNUMU

CERRAHİ ALANDA UNUTULAN PAMUK PEDİN MR BULGULARI

Selçuk Peker, İbrahim Sun, M Necmettin Pamir
Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZET

Yabancı cisim reaksiyonu, granülom oluşumu ile seyreden kronik inflamasyondur. Cerrahi girişimlerden aylar veya yıllar sonra klinik semptomla sebep olabilen yabancı cisim reaksiyonları bildirilmiştir. Bu olgu sunumunda daha önce uygulanan kraniyotomi sırasında unutulmuş cerrahi pamuk pedin, meningiom nüksü düşünülerek hastanın kraniyotomi ameliyatına neden olması bildirilmektedir. Bu olgu sunumunda çok nadir olmasına karşın daha önce intrakraniyal tümör nedeniyle ameliyat olan hastalarda yabancı cisim reaksiyonuna bağlı granülom oluşumunun görüntüleme yöntemleri ile tümör nüksü imajı verebileceğinin önemi vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yabancı cisim reaksiyonu, Meningioma nüksü, Granüloma

MR FINDINGS OF FORGOTTEN SURGICAL PAD IN SURGICAL AREA

ABSTRACT

Foreign body reaction is a specific type of chronic inflammation characterized by granuloma formation. Foreign body granulomas have been reported to cause clinical symptoms anywhere from months to decades after a surgical procedure. Here, we report a case where a forgotten surgical cotton pad was thought to be a tumoral recurrence and the patient underwent craniotomy. In this case report, we emphasize that although it is very rare, granuloma of foreign body reaction can give a false image of tumoral recurrence.

Keywords: Foreign body, Meningioma recurrence, Granuloma

GİRİŞ

Kraniyotomi sırasında kanama kontrolü sağlamak için cerrahi pamuk pedler rutin olarak kullanılmaktadır. Bu konuda büyük özen gösterilmesine karşın çok nadir de olsa bu pedlerin cerrahi alanda unutulabilmesi söz konusu olabilir. Bu durum yabancı cisim reaksiyonu, granülom oluşumu ile karakterize kronik bir inflamasyonu başlatır¹⁻³. Yabancı cisim reaksiyonuna bağlı gelişen granülasyon nöroradyolojik görüntüleme ne yazık ki nüks tümör imajı verebilmektedir⁴.

Bu makalede, intrakraniyal tümör nedeniyle kraniyotomi yapılmış ve cerrahi alanda unutulmuş olan pamuk ped nedeniyle kitle etkisi yapan granülasyon dokusu gelişmiş olan bir olgu sunulacaktır.

OLGU SUNUMU

Ellibeş yaşında bayan hasta generalize tonik-klonik nöbet geçirme hikayesi ile kliniğimize başvurmuştur. Hastanın tıbbi hikayesinden, 3 yıl önce sağ frontal meningioma nedeni ile kraniyotomi olduğu öğrenildi. Nörolojik muayenesinde patolojik bir bulguya rastlanmadı. Kranial magnetik rezonans görüntüleme (MRI) de; eski tümör ile aynı lokalizasyonda, heterojen kontrast tutulumu gösteren lezyon saptandı (Şekil 1). T2 ağırlıklı MR görüntülerinde kitlenin santralinin hipointens olduğu izlendi. Nüks meningioma ya da yabancı cisim olabileceği düşünülen bu kitle nedeniyle hastanın ameliyatı planlandı. Kraniyotomi yapıldığında, kitlenin cerrahi alandaki pamuk ped ve bunun

İletişim Bilgileri:

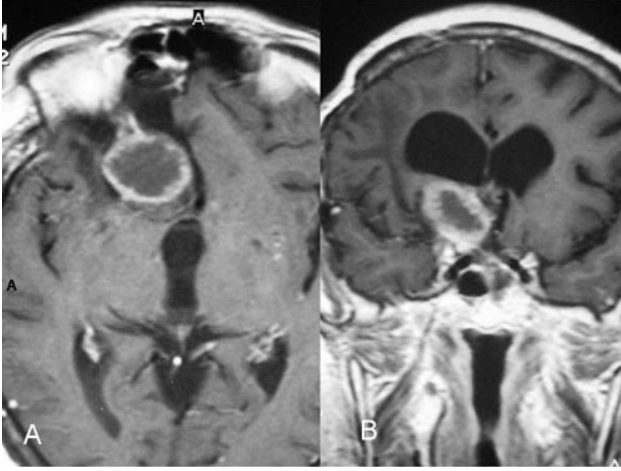
Dr. Selçuk Peker, Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
e-mail: peker@atlas.net.tr

Marmara Medical Journal 2007;20(3);193-195

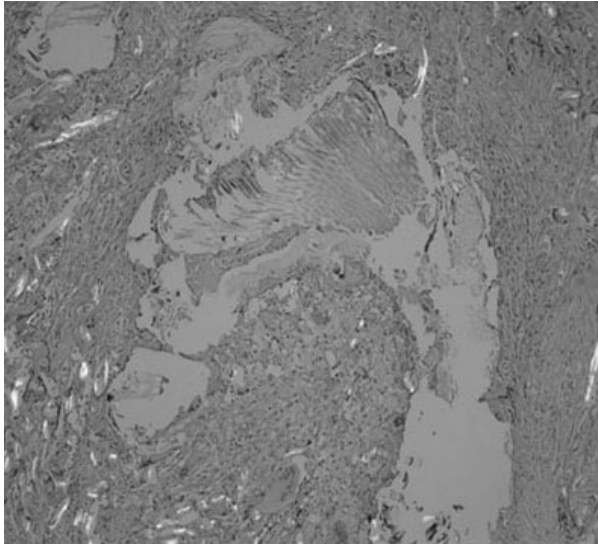


etrafında oluşmuş granülasyon dokusu olduğu saptandı. Cerrahi pamuk ped ve etrafındaki granülasyon dokusu çıkarıldı. Çevre dokudan alınan örneğin histopatolojik incelemesinde yabancı cisim reaksiyonu ve kronik inflamasyon saptandı (Şekil 2-3).

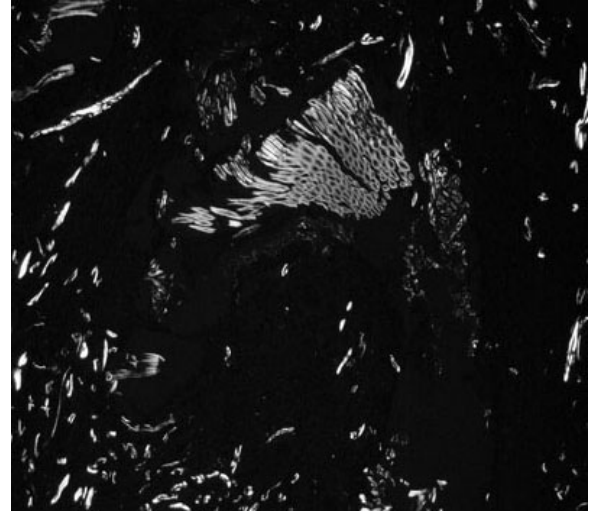
Hastanın ameliyat sonrası birinci yıl kontrolünde genel durumunun iyi olduğu ve nöbet yakınmasının olmadığı saptandı. Kontrol MR incelemesinde yeni bir kitleye rastlanmadı.



Şekil 1: Eksize edilmiş, yabancı cisim granülatöz reaksiyonun mikroskopik görüntüsü. Multinükleer dev hücreler ve pamuk fiberleri izlenmektedir. (HEx200).



Şekil 2: Şekil 1 deki görüntünün aynı alanı polarize mikroskopta çift kırılım gösterildi. (x200 polarized light microscopy).



Şekil 3: Aksiyal (A) ve koronal (B) preoperatif T1 ağırlıklı kontrastlı kranial magnetik rezonans görüntüleri. Operasyon lojunda tümör nüksünü düşündüren kitle görülmekte.

TARTIŞMA

Tümör grade'i meningiomların nüks etmesinde en önemli etkidir. Benign meningiomlar %7-20 arasında nüks ederken, anaplastik meningiomlarda bu rakam %50-78'e kadar çıkmaktadır⁵. Operasyon bölgesinde kontrast tutan lezyon görüldüğünde ilk akla gelen tümörün nüksüdür. Ayırıcı tanıda abse, radyasyon nekrozu, enfarkt içine kanama veya normal operasyon skarı düşünülmelidir⁶.

Literatüre bakıldığında nüks meningiomu taklit eden hemostaz için kullanılan pamuklara bağlı yabancı cisim granülasyonu bildirilmiştir⁷. Cerrahi sırasında unutulmuş spanç veya pamuk ped, diğer cerrahi branşlarda daha sık karşılaşılan komplikasyonlardan olmasına rağmen, nöroşirürji literatüründe nadiren bildirilmiştir⁹.

Komputerize tomografi ve MRI, yabancı cismi olgularında tanı koymada çok etkin yöntemler değildirler. Kraniyotomi hikayesi olan hastalarda T1 ağırlıklı MR incelemelerde hipointens görünüm ile T2 ağırlıklı incelemelerde heterojen hiperintensite saptanması durumunda nadir de olsa yabancı cisim reaksiyonu düşünülmelidir⁸. Bu olguda kranial kontrastlı tomografide kitlenin hipodens görülmesi bir yabancı cisim reaksiyonu olabileceğini düşündürmüştür.



MR görüntülerinde etrafı yoğun kontrast tutan, merkezi hipointens bir kitle öncelikli olarak yabancı cisim reaksiyonunu düşündürmelidir.

Bu olguda operasyon bölgesinden çıkarılan pamuk pedin, 1x1 cm boyutunda serbest bir pamuk olduğu görüldü. Kliniğimizde pamuk pedler'in hepsine 10 cm boyutunda siyah renkte radyopak ip takılmaktadır. Bu siyah ip, hem cerrahi sahadan dışarıda kalarak pamuğun varlığını hatırlatarak unutulmasını önlemekte hem de radyopak olması nedeniyle direkt grafide görülmektedir.

Operasyon sonrasında yapılan kontrol görüntülemeleri de en azından bu durumun daha erken saptanmasına olanak sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Cotran R, Kumar V, Robbins S. Pathologic basis of disease, Philadelphia: WB Saunders Co, 1989
2. Murphy JR, Shay SS, Moses FM, Braxton J, Jacques DP, Wong RK. Suture granuloma masquerading as malignancy of the biliary tract. Dig Dis Sci 1990; 35: 1176-1179.
3. Jaaskelainen J. Seemingly complete removal of histologically benign intracranial meningioma: late recurrence rate and factors predicting recurrence in 657 patients. A multivariate analysis. Surg Neurol 1986; 26: 461-469.
4. Menkü A, Akdemir H, Tucer B, Konaş O, Durak C. Foreign body granuloma mimicking recurrence of convexity meningioma. Turkish Neurosurg 2003;13: 53-56.
5. Kolles H, Niedermayer I, Schmitt C, et al. Triple approach for diagnosis and grading of meningiomas. Acta Neurochir Wien 1995; 137: 174-181.
6. Epstein AL, Russel EJ, Bedrlin E, Novetsky GJ, Lobo N. Suture granuloma: An unusual cause of an enhancing ring lesion in the postoperative brain. J Comput Asist Tomogr 1982; 6: 815-817.
7. Feldman R, Marcovici A, Suarez M, Godrich JT. Foreign Body granuloma mimicking intracranial meningioma: case report and review of literature. Neurosurgery 1999; 44: 855-859.
8. Visteh AG, Apostolides PJ, Dean B, Spetzler RF. Magnetic resonance image of postcraniotomy retained cotton or rayon. Case illustration. J Neurosurg 1998;88: 928-933.
9. Brochert A, Reynolds T, Baker R. MR in a case of muslin-induced granuloma. Neuroradiology 2003; 45: 82-84.



REVIEW

THE EFFECT OF LONG-TERM TAMOXIFEN USAGE ON THE LOWER PART OF FEMALE GENITAL TRACT IN BREAST CANCER SURVIVORS: A REVIEW

Yusuf Yıldırım, Emrah Toz

Aegean Obstetrics and Gynecology Training and Research Hospital, Obstetrics and Gynecology Unit, Izmir, Turkey

ABSTRACT

Tamoxifen (TAM), an anti-estrogenic synthetic drug, is widely used in the treatment of breast cancer. Due to its partial agonistic effect, long-term TAM usage may give rise to both pre-malignant and malignant uterine corpus lesions and functioning ovarian cysts. However, there are little data in the literature on the association between TAM usage and female lower genital tract lesions, such as cervical polyp and intraepithelial neoplasia (CIN), in breast cancer survivors. The present 'review' provides a current update on this topic.

Keywords: Tamoxifen, Breast cancer, Female lower genital tract

MEME KANSERİNDE UZUN SÜRELİ TAMOKSİFEN KULLANIMININ KADIN AŞAĞI GENİTAL TRAKTUS ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

Sentetik anti-östrojenik bir ilaç olan Tamoksifen (TAM) meme kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Uzun süreli TAM kullanımı parsiyel agonistik etkisine bağlı olarak pre-malign ve malign uterin korpus lezyonları ve fonksiyonel ovaryen kistlere yol açabilir. Bununla birlikte, meme kanseri öyküsü olan hastalarda TAM kullanımı ile aşağı kadın genital sistemi lezyonları, örneğin servikal polip ve servikal intra-epitelyal neoplazi (CIN), arasındaki ilişki hakkında literatürde çok az veri vardır. Mevcut 'review' bu konu hakkında güncel bir derleme sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Tamoksifen, Meme kanseri, Kadın aşağı genital sistemi

INTRODUCTION

A synthetic drug Tamoxifen (TAM) originally developed by Imperial Chemical Industries (ICI, England) in 1966 has been widely used in the adjuvant treatment of breast cancer¹. 'The National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project' (NSABP) has also recommended it as a chemopreventive drug in high risk population for breast cancer².

In spite of many years of investigations, there are still many controversies regarding the

magnitude of risk of the genital pathologies, the optimal diagnostic methods of these pathologies and the value of active surveillance in TAM treated breast cancer patients³⁻⁸.

An ambivalent drug 'TAM' has both antagonist and agonist effects. Its effects on the female genital tract depend on the ambient estradiol concentration and the menopausal status of the woman⁹. In postmenopausal women the agonistic effects

İletişim Bilgileri:

Emrah Toz, M.D.

Aegean Obstetrics and Gynecology Training and Research Hospital, Obstetrics and Gynecology, Izmir, Turkey

e-mail: dremrah212@hotmail.com

Marmara Medical Journal 2007;20(3);196-201



are more prominent. Additionally, some TAM metabolites such as Met-E have agonistic activity, too, but their relevance to the overall agonistic effect of the drug on the human female genital tract is debatable¹⁰.

Depending on its weak estrogenic effect, TAM can give rise to various epithelial and non-epithelial uterine corpus lesions, such as endometrial polyp, hyperplasia, and cancer and uterine sarcoma^{11,12}. Our previous study also demonstrated that a substantial rate of TAM-treated women with breast cancer (17.6%) have developed functioning ovarian cysts some of which require surgical intervention¹³. Apart from TAM's these apparent effects on the upper part of the female genital tract, it may also affect other parts of the female genital tract such as the cervical and vaginal squamous epithelium, due to the presence of estrogen receptors (ERs) in these structures¹⁴. However, there are few data on TAM-related female lower genital lesions in English scientific literature.

The present review has focused on presenting and discussing current knowledge on the relationship between female lower genital tract changes and long term TAM usage in breast cancer survivors. Relevant literature was traced using Medline by entering the following words and word groups 'Tamoxifen', 'lower part of female genital tract', 'abnormal cervical cytology', 'cervix uteri', 'vagina', 'cervical and vaginal squamous epithelium', 'female urethra', 'pelvic floor', 'sexual dysfunction'.

UTERINE CERVIX AND CERVICOVAGINAL SMEARS

With its weak estrogenic effect on local tissues, it is reported that TAM increases the incidence of cervical polyps as well as endometrial polyps^{9,10,15,16}. Fotiou et al compared the histopathologic features of curettage and laparotomy specimens of 56 TAM-treated patients who presented with abnormal bleeding. All patients were under TAM treatment (10-40 mg daily) for a period ranging from 5 months to 15 years. Cervical and endometrial polyps were the most

common findings in the curettage material (44%)¹⁷.

In 1977, the first cytological observations regarding TAM showed that TAM-treated postmenopausal women had estrogenised rather than atrophic smears¹⁸. The use of TAM is associated with an increased karyopycnotic and maturation indices of cervicovaginal smears. These are related to the estrogen-like effect of TAM on the vaginal and cervical epithelium^{14,19-21}. However, there is some evidence that the effects of TAM on cervicovaginal squamous epithelium change with the duration of TAM usage. Yokosuka et al reported that in contrast to increasing intermediate squamous cells (IMT), superficial cells (ST) decreased during TAM administration for up to 4 years; but when the TAM therapy was continued for longer than 4 years, IMT showed a gradual decrease and ST increased gradually. The caryopicnotic index values also showed similar changes²².

Long-term TAM therapy is not found in relation to an increased risk of cervical inflammation²³. On the cervical smears of these women, however, a high incidence (from 19% to 40%) of 'small blue cells', which have fine hyperchromatic chromatin and small nucleoli, is observed without other coexisting pathologies such as neuro-endocrine malignancy²⁰⁻²⁴. These cells are currently considered to represent proliferative 'reserve cells' of the cervicovaginal epithelium, stimulated by the agonistic effect of TAM. But these cells are not observed in women under hormone replacement therapy (HRT), so an ER-independent mechanism of action for this observation may be considered most likely²⁰.

In the cervicovaginal smears of TAM-treated women there is a higher incidence of benign reactive atypia or atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS), without accompanying increase in the risk of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) or invasive cervical cancer. In a retrospective study, Gill et al reported that atypical cells were seen more frequently in the women who received



TAM (32 of 52 patients, 61%) compared with women who had no TAM therapy at the time of the smear (6 of 21 patients, 28%; $P=0.05$). Of the 19 patients who had a pap smear categorized as ASCUS, 13 had undergone a subsequent cervical biopsy. Varying degrees of reactive changes were noted, but none showed dysplasia or changes diagnostic of human papilloma virus (HPV) infection¹⁴. In a review of the effects of TAM on the female genital tract, Fornander et al showed no difference in the occurrence of cervical cancers in a group of breast cancer patients treated with TAM compared with controls²³.

VAGINA AND SEXUAL FUNCTION

Leucorrhea is a commonly reported side effect of selective estrogen receptor modulators (SERMs) such as TAM, but somewhat paradoxically it appears to worsen vaginal dryness. The etiology of the leucorrhea is unknown; a possible estrogenic stimulation of the vagina has been suggested^{15,25,26}.

A possible association between TAM and mesenchymal lesions in the lower part of the female genital tract, such as fibroepithelial stromal polyp, superficial vulvovaginal and cervicovaginal myofibroblastoma, and angiomyo-fibroblastoma has been suggested^{15,16,27,28}. Since most of these neoplasms are ER positive, some investigators have suggested that TAM might play a key role in their development or growth due to its weak estrogenic effects^{27,28}.

While the psychological impact of breast cancer diagnosis and subsequent cytotoxic chemotherapy can cause profound changes in sexual function, TAM itself may increase the incidence of sexual dysfunction in breast cancer survivors. Some studies also indicate that TAM treatment is associated with decreased sexual desire and increased dyspareunia rates²⁹⁻³². In a study designed to specifically assess the effects of TAM on sexual function in women with breast cancer, 22 of 41 sexually active subjects (54%) experienced pain or discomfort during sexual intercourse, unrelated to previous chemotherapy³³. Animal studies demonstrated

that the vaginal responses of increased blood flow and fluid transudate production are estrogen dependent³⁴⁻³⁶. In another animal study, Kim et al reported that TAM treatment significantly reduced vaginal blood flow and increased ER expression possibly reflecting a compensatory up regulation under conditions of ER antagonism³⁷. There is also some evidence that TAM treatment may possibly be associated with decreasing arginase activity in the vaginal epithelium. Arginase has been shown to modulate vascular responses in female genital tissue by decreasing intracellular arginine pools and inhibiting nitric oxide (NO) synthesis through substrate competition. The decrease in arginase activity in TAM infused rats may be reflective of a compensatory down regulation in the local vasculature to maintain vaginal perfusion. Alternatively, since arginase has been shown in other tissues to be critical for regulating cell growth via the polyamine synthesis pathway^{38,39}; the lower arginase activity may be an early physiological change that eventually results in vaginal atrophy with prolonged TAM treatment.

URETHRA AND PELVIC FLOOR TISSUE

The female urinary tract has a complex control system which depends on the adequate interaction between several nervous system centers and the anatomic integrity of the bladder, urethra, and pelvic floor. Based on the importance of urethral vessels for continence^{40,41}. Faria et al studied and reported that TAM led to periurethral blood flow changes measured by Doppler velocimetry (decreased pulsatility and resistance indices) and an increasing number of periurethral vessels, but they concluded that the clinical relevance of these findings was not clear⁴².

Hypoestrogenism is generally considered an important causal factor for pelvic floor dysfunction including urinary incontinence, anal incontinence and pelvic organ prolapse^{43,44}; although a certain beneficial role of HRT in improving the function of the pelvic floor has recently been questioned⁴⁵.



TAM, as a member of the SERMs family, is known to exert estrogen-like effects on the lower genital tract; but its effect on pelvic organ prolapse and incontinence is controversial^{46,47}. Vardy et al investigated short term urogenital effects in a double blind study involving 57 healthy postmenopausal women randomized to raloxifene, TAM, conjugated equine estrogen (CEE), and placebo for 20 weeks. Both raloxifene and TAM appeared to worsen prolapse and the difference was statistically significant compared with CEE and placebo. In particular, prolapse was worsened in 60% of the patients on TAM, compared with only 18% of the patients in the placebo group and 22% of the patients in the CEE group, 33% of patients on TAM complained of incontinence⁴⁶. In contrast to this study, clinical experience with long-term TAM usage in breast cancer survivors has not supported an increased incidence of urinary incontinence⁴⁷.

CONCLUSION

Although there are relatively little data about the pathologic effects of TAM on the lower part of female genital tract, long-term TAM usage seems to be associated with not only uterine corpus and ovarian pathologies but also cervical, vaginal, urinary and pelvic floor pathologies some of which could potentially affect quality of life (Table I). The physicians interested in both gynecology and breast diseases should be aware of these pathologic effects. We recommend that all TAM users should be followed up with annual pelvic examination and cervicovaginal Pap smear, even if they have not experienced any gynecologic symptoms. We also address that carrying out new clinical trials regarding the possible relationship between the use of new anti-hormonal agents, such as aromatase inhibitors, and the development of benign and malignant lower genital tract lesions could be interesting.

Table I. TAM-related lower genital tract lesions in women with breast cancer

I. Cervical polyps
II. Abnormal cervico-vaginal cytological findings;
-Increased karyopycnotic and maturation indices
-Benign atypical changes and ASCUS
-The presence of 'small blue cells'
III. Fibroepithelial tumors such as fibroblastoma
IV. Vaginal atrophy resulting in dyspareunia and sexual dysfunction
V. Leucorrhea
VI. Urogenital prolapse

ASCUS: Atypical squamous cells of undetermined significance

REFERENCES

- Ugwumadu AH, Carmichael PL, Neven P. Tamoxifen and the female genital tract. *Int J Gynecol Cancer* 1998; 8: 6-15.
- Fisher B, Constantino JP, Wickerham DL, et al. Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90 : 1371-1388.
- Committee on Gynecologic Practice, The American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG committee opinion: Tamoxifen and endometrial cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 2001; 73: 77-79 .
- Love CD, Muir BB, Scrimgeour JB, Leonard RC, Dillon P, Dixon JM. Investigation of endometrial abnormalities in asymptomatic women treated with tamoxifen and an evaluation of the role of endometrial screening. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2050-2054.
- Neven P, Vernaev H. Guidelines for monitoring patients taking tamoxifen treatment. *Drug Saf* 2000; 22: 1-11.
- Senkus-Konefka E, Konefka T, Jassem J. The effects of tamoxifen on the female genital tract. *Cancer Treat Rev* 2004; 30: 291-301.



7. Neven P, Vergote I. Tamoxifen, screening and new oestrogen receptor modulators. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2001; 15: 365-380.
8. Lhomme C, Pautier P, Zagame L, et al. Endometrial surveillance of women on tamoxifen. *Gynecol Obstet Fertil* 2003; 31: 647-656.
9. Cohen I. Benign gynecologic conditions in tamoxifen treated patients. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194: 1204-1205.
10. Katzenellenbogen BS, Norman MJ, Eckert RL, Peltz SW, Mangel WF. Bioactivities, estrogen receptor interactions, and plasminogen activator-inducing activities of tamoxifen and hydroxy-tamoxifen isomers in MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Res* 1984; 44: 112-119.
11. Le Donne M, Lentini M, De Meo L, Benedetto V, Mesiti M. Uterine pathologies in patients undergoing tamoxifen therapy for breast cancer: ultrasonographic, hysteroscopic and histological findings. *Eur J Gynaecol Oncol* 2005; 26: 623-626.
12. Yildirim Y, Inal MM, Sancı M, Yildirim YK, Mit T, Polat M, et al. Development of uterine sarcoma after tamoxifen treatment for breast cancer: report of four cases. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15: 1239-1242.
13. Inal MM, Incebiyik A, Sancı M, Yildirim Y, Polat M, Pilanci B, et al. Ovarian cysts in tamoxifen-treated women with breast cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 120: 104-106.
14. Gill BL, Simpson JF, Somlo G, McGonigle KF, Wilczynski SP. Effects of tamoxifen on the cytology of the uterine cervix in breast cancer patients. *Diagn Cytopathol* 1998; 19: 417-422.
15. Varras M, Polyzos D, Akkrivis CH. Effects of tamoxifen on the human female genital tract: review of the literature. *Eur J Gynaecol Oncol* 2003; 24: 258-268.
16. Nucci MR, Young RH, Fletcher CDM. Cellular pseudosarcomatous fibroepithelial stromal polyps of the lower female genital tract: an unrecognized lesion often misdiagnosed as sarcoma. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 231-240.
17. Fotiou S, Tserkezoglou A, Hadjieleftheriou G, Apostolikas N, Karydas I, Stravolemos K. Tamoxifen associated uterine pathology in breast cancer patients with abnormal bleeding. *Anticancer Res* 1998; 18: 625-629.
18. Ferrazzi E, Cartei G, Mattarazzo R, Fiorentino M. Oestrogen-like effect of tamoxifen on vaginal epithelium. *BMJ* 1977; 1: 1351-1352.
19. Daniel Y, Inbar M, Bar-Am A, Peyser MR, Lessing JB. The effects of tamoxifen treatment on the endometrium. *Fertil Steril* 1996; 65: 1083-1089.
20. Yang YJ, Trapkin LK, Demoski RK, Bellerdine J, Powers CN. The small blue cell dilemma associated with tamoxifen therapy. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125: 1047-1050.
21. Friedrich M, Mink D, Villena-Heinsen C, Woll Hermann A, Schmidt W. Tamoxifen and proliferation of vaginal and cervical epithelium in postmenopausal women with breast cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 80: 221-225.
22. Yokosuka K, Teshima H, Katase K, Fujimoto I, Yamauchi K, Hasumi K, et al. Effects of long-term administration of tamoxifen on vaginal epithelium and complications of endometrial lesions in breast cancer patients. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1995; 47: 125-132.
23. Fornander T, Rutqvist LE, Wilking N. Effects of tamoxifen on the female genital tract. *Ann NY Acad Sci* 1991; 622: 469-476.
24. Opjorden SL, Caudill JL, Humphrey SK, Salomao DR. Small cells in cervical vaginal smears of patients treated with tamoxifen. *Cancer* 2001; 93: 23-28.
25. Silfen SL, Ciaccia AV, Bryant HU. Selective estrogen receptor modulators: tissue specificity and differential uterine effects. *Climacteric* 1999; 2: 268-283.
26. Chalas E, Costantino JP, Wickerham DL, Wolmark N, Lewis GC, Bergman C, et al. Benign gynecologic conditions among participants in the Breast Cancer Prevention Trial. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192: 1230-1237.
27. Ganesan R, McCluggage WG, Hirschowitz L, Rollason TP. Superficial myofibroblastoma of the lower female genital tract: report of a series including tumours with a vulva location. *Histopathology* 2005; 46: 137-143.
28. Varras M, Akkrivis C, Demou A, Kitsiou E, Antoniou N. Angiomyofibroblastoma of the vagina in a postmenopausal breast cancer patient treated with tamoxifen: clinicopathologic analysis of a case and review of the literature. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16: 581-585.
29. Mourits MJ, De Vries EG, Willemse PH, Ten Hoor KA, Hollema H, Van der Zee AG. Tamoxifen treatment and gynecologic side effects: a review. *Obstet Gynecol* 2001; 97: 855-866.
30. Marttunen MB, Cacciato B, Hietanen P, Pyrhönen S, Tiitinen A, Wahlström T, et al. Prospective study on gynaecological effects of two antioestrogens tamoxifen and toremifene in postmenopausal women. *Br J Cancer* 2001; 84: 897-902.
31. Morales L, Neven P, Timmerman D, Christiaens MR, Vergote I, Van Limbergen E, et al. Acute effects of tamoxifen and third generation aromatase inhibitors on menopausal symptoms of breast cancer patients. *Anticancer Drugs* 2004; 15: 753-760.
32. Mourits MJ, Bockermann I, de Vries EG, van der Zee AG, ten Hoor KA, van der Graaf WT, et al. Tamoxifen effects on subjective and psychosexual wellbeing in a randomized breast cancer study comparing high-dose and standard-dose chemotherapy. *Br J Cancer* 2002; 86: 1546-1550.
33. Mortimer JE, Boucher L, Baty J, Knapp DL, Ryan E, Rowland JH. Effect of tamoxifen on sexual functioning in patients with breast cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1488-1492.
34. Park K, Ahn K, Lee S, Ryu S, Park Y, Azadzi KM. Decreased circulating levels of estrogen alter vaginal and clitoral blood flow and structure in the rabbit. *Int J Impot Res* 2001; 13: 116-124.
35. Min K, Munarriz R, Kim NN, Goldstein I, Traish A. Effects of ovariectomy and estrogen and androgen treatment on sildenafil mediated changes in female genital blood flow and vaginal lubrication in the animal model. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 1370-1376.
36. Min K, Munarriz R, Kim NN, Choi S, O'Connell L, Goldstein I, et al. Effects of ovariectomy and estrogen replacement on basal and pelvic nerve stimulated vaginal lubrication in an animal model. *J Sex Marital Ther* 2003; 29: 77-84.
37. Kim SW, Kim NN, Jeong SJ, Munarriz R, Goldstein I, Traish AM. Modulation of rat vaginal blood flow and estrogen receptor by estradiol. *J Urol* 2004; 172: 1538-1543.



38. Li H, Meininger CJ, Kelly KA, Hawker JR, Morris SM, Wu G. Activities of arginase I and II are limiting for endothelial cell proliferation. *Am J Physiol* 2002; 282: 64-69.
39. Morris SM Jr. Recent advances in arginine metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004; 7: 45-51.
40. Raz S, Caine M, Zeigler M. The vascular component in the production of intraurethral pressure. *J Urol* 1972; 108: 93-96.
41. Rud T, Andersson KE, Asmussen M, Hunting A, Ulmsten U. Factors maintaining the intraurethral pressure in women. *Invest Urol* 1980; 17: 343-347.
42. Faria CA, Sartori MG, Baracat EC, de Lima GR, Girao MJ. Effects of tamoxifen on Doppler velocimetry parameters of periurethral vessels in postmenopausal women. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2005; 16: 56-59.
43. Albertazzi P, Sharma S. Urogenital effects of selective estrogen receptor modulators: a systematic review. *Climacteric* 2005; 8: 214-220.
44. Rekers H, Drogendijk AC, Valkenburg HA, Riphagen F. The menopause, urinary incontinence and other symptoms of the genito-urinary tract. *Maturitas* 1992; 15: 101-111.
45. Grodstein F, Lifford K, Resnick NM, Curhan GC. Post menopausal hormone therapy and risk of developing urinary incontinence. *Obstet Gynecol* 2004; 103: 254-260.
46. Vardy MD, Lindsay R, Scotti RJ, Mikhail M, Richart RM, Nieves J, et al. Short term urogenital effects of raloxifene, tamoxifen, and estrogen. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 81-88.
47. Ganz PA, Desmond KA, Leedham B, Rowland JH, Meyerowitz BE, Belin TR. Quality of life in long-term, disease-free survivors of breast cancer: a follow-up study. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 39-49.



DERLEME

ENDOKANABİNOİD SİSTEMİN , ENERJİ METABOLİZMASI VE OBEZİTEYE ETKİSİ

Emel Tüfekçi Alphan¹, Nevin Yılmaz²

¹Marmara Üniversitesi, Sağlık Eğitim Fakültesi, Sağlık Eğitimi, İstanbul, Turkey ²Virginia Commonwealth Üniversitesi, Tıp Fakültesi , Hepatoloji , Richmond, USA

ÖZET

Son zamanlarda hint keneviri ve onun majör psikotropik komponenti olan, $\Delta 9$ -tetrahidrokanabinol, KB_1 kanabinoid reseptörleri ve endojen bağlarını içeren endokanabinoidlerin, enerji dengesini kontrol ederek iştahı stimüle ettiği ve vücut ağırlığını artırdığı belirlenmiştir. Hayvan çalışmalarında ve insanlarda yapılan klinik çalışmalarda, endokanabinoid sistemin, besin alımını santral ve periferik mekanizmalarla kontrol ettiği, lipogenez ve yağ birikimini stimüle ettiği gösterilmiştir. Bu makalede, endokanabinoid sistemin oluşumu, reseptörleri, bağları ve bu fizyolojik sistemin enerji metabolizması ve obezite üzerine olan etkisi tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Endokanabinoid system, Esrar, Obezite , Enerji metabolizması

THE EFFECT OF ENDOCANNABINOID SYSTEM ON ENERGY METABOLISM AND OBESITY

ABSTRACT

Recently, it has been defined that Marijuana and its major psychotropic component $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol, $CB1$ cannabinoid receptors and endocannabinoids which include endogenous ligands stimulate appetite and increase body weight by controlling energy balance.

It has been shown in the animal experiments and human clinical studies that the endocannabinoid system controls food intake by central and peripheral mechanism and stimulates lipogenesis and fat accumulation.

The formation of endocannabinoid system and its receptors, ligands and energy metabolism of this physiological system and its effect on energy metabolism have been discussed.

Key words: Endocannabinoid system, Marijuana, Obesity, Energy balance

GİRİŞ

ENDOKANABİNOİD SİSTEM (EKS) NEDİR?

EKS, son yıllarda tanımlanan fizyolojik bir sistemdir. Endokanabinoidler, Kanabinoid reseptör tip 1 (KB_1) ve Kanabinoid reseptör tip 2 (KB_2) reseptörlerine bağlanabilen endojen yağlardır. KB_1 , enerji dengesi ve vücut ağırlığını kontrol eden hipotalamik nükleustaki nöronlarda ve besin isteğinin oluşmasına aracılık ettiğine inanılan mezolimbik sistemdeki nöronlarda bulunur.

İletişim Bilgileri:

Dr. Emel Tüfekçi Alphan

Marmara Üniversitesi Sağlık Eğitim Fakültesi, Sağlık Eğitimi, İstanbul, Turkey

e-mail: emel_alphan@yahoo.com

Açlıkta, besin alımını sağlamak için KB_1 'in aktive olması gereklidir, KB_1 'in aktive edilmesi lezzetli bir besinin alımını stimüle eder. KB_1 'in stimüle edilmesi, hem nükleus akumbenste bulunan dopaminin, hem de hipotalamustaki iştah açıcı ve iştahı baskılayıcı bazı araçların salınımına neden olur^{1,2,3}. Son yıllarda yapılan çalışmalar, KB_1 'in, enerji metabolizmasını düzenleyen yağ dokusu ve sindirim sistemi (SS) gibi bazı organlarda da bulunduğunu kanıtlamıştır. Hayvan modellerinde, KB_1 'in kalıcı olarak

Marmara Medical Journal 2007;20(3);202-214



aşırı aktive edilmesi ile, EKS sentezinin uyarılmasının, obeziteye ve obezitenin sürdürülmesine katkıda bulunduğu kanıtlanmıştır. Periferde, KB₁'in aktive edilmesinin yağ dokularında lipogenezi uyardığı ve yağ asidi oksidasyonunu ve serbest yağ asidi klirensini arttıran adiponektin üretimini arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca obez hayvanlardan çıkarılan yağ dokularının KB₁'i "upregülasyon"a uğrattığı gösterilmiştir^{4,5}. Bu sonuçlarla, obezite ve obeziteye eşlik eden kalp-damar hastalığı risk faktörlerinin tedavisinde, yeni kuşak ilaç olan KB₁ blokerlerinin geliştirilmesinin yolu açılmıştır^{6,7}. EKS, enerji dengesinin bileşenlerinden; yeme davranışını, karaciğerde yağ üretimini, kaslara glikoz alımını ve pankreatik fonksiyonları düzenler.

- EKS'nin santral ve periferik stimülasyonu; kilo alma, yağ üretimi ve depolanması, insülin direnci, dislipidemi, gecikmiş glikoz homeostazı ile sonuçlanır.
- EKS, obezitenin artmasına yol açar,
- EKS, kilo almaya neden olan yeme mekanizmalarını etkiler,
- EKS reseptörlerinin baskılanması, metabolik sendrom bileşenlerinin hepsini düzelterek, metabolik sendrom prevalansını düşürür.
- EKS'nin yeme davranışını, enerji dengesini, karaciğer yağ üretimini ve glikoz homeostazını değiştirdiği gösterilmiştir.

EKS, ayrıca: ağrı algısı, motor kontrol, hatırlama ve öğrenme, immün ve inflamatuvar yanıtlar, sinirlerin korunması, intra oküler basınç gibi çok sayıda fizyolojik süreci de etkiler^{1,2,3,6}.

ENDOKANABİNOİD SİSTEMİN BİLEŞENLERİ

Reseptörler, Bağlar, Endokanabinoidlerin Oluşumu ve İnaktivasyonu

Kanabis Sativa'nın iştah açıcı ve antiemetik özellikleri olduğu bilinmektedir. Kanabis sativa (kendir, hint kenevir-i-esrar) "kanabinoid" adı verilen ve kimyasal olarak 21 karbonlu bir alkaloid içeren bir bitkidir. Farmakolojik açıdan aktif bileşenleri Δ9-tetrahidrokanabinol (THK), kanabidiol (KBD) ve Kanabinol (KBN)'dür. Kanabinoid terimi şimdi kanabinoid reseptörlerini aktive edebilen bütün bu maddeler için

kullanılmaktadır. Kanabis Sativa yüzyıllardır tıbbi ve rekreasyonel amaçlarla kullanılmaktadır. Kanabis Sativa bitkisinin açlık ve besin alımının uyarılmasını da içeren fizyolojik ve psikolojik etkileri olduğu, MS 300 yılından beri bilinmektedir. 19.yüzyılda, Avrupa Tıp Topluluğu, esrarın, oföri, relaksasyon, analjezik etkisi olduğuna ve iştahı artırdığına dair kanıtları yayınlamıştır^{2,3}. Kanabislerin inhalasyonu ile, öncelikle şekerli barlar, bisküvi ve kek gibi atıştırmalıkların tüketiminde ve sıklığındaki artışla kalori alımının arttığı gözlenmiş, buna karşın şekerli içeceklerin (kola ve meyve suyu gibi) veya lezzetli katı maddelerin (patates cipsi gibi) tüketimini daha az etkilediği bulunmuştur. Çeşitli şekillerde verilen atıştırmalıklar üzerinde THK'nin benzer etkileri rapor edilmiştir. İlacın iştah açıcı etkileri, anoreksiya nervozada, AIDS'li hastalarda kilo kaybı ve iştah kaybının tedavisinde klinik olarak kullanılmıştır⁸. Son zamanlarda, batı toplumundaki hekimler, illegal ilaçlardan birisi olmasına rağmen, bir THK analogu olan nabilone'u, anti kanser ilaçlarının oluşturduğu kusma ve bulantıyı önlemek için yaygın olarak kullanmışlardır. THK, ABD'de antiemetik ve iştah açıcı olarak kullanılan lisanslı bir ilaçtır^{1,2,3,6}. Yapılan bir araştırmada, kanabinoid reseptör antagonisti rimonabantın (SR141716), "Lipid Raft-Mediated" yoluyla insanlardaki meme kanserinde hücre çoğalmasını baskıladığı gösterilmiştir⁸.

Araşidonik asit türevleri olan kanabisler, bitkilerde çok nadirdir. Yapılan bir araştırmada, İsrail yapımı çikolatalarda endokanabinoide benzer bir bileşik olan oleamid saptanmıştır⁹. Oleamid, soya fasulyesi, fındık, yulaf ve darıda da bulunur. Oleamid, yağ asidi amid hidrolazın inhibitörüdür, bu enzimin oleamidi anandamide yıkabileceği, böylece besinlerin endojen anandamid düzeylerini etkileyebileceği düşünülmektedir. Oleamidin yüksek dozlarının (200 mg/kg), aktivasyon, sedasyon ve ağrı kesici gibi anandamide benzer etkileri bulunmuştur⁹.

Kanabislerin aktif bileşeni Δ9-tetrahidrokanabinol (THK), 1964'te izole edilmiştir, fakat, kanabinoid reseptörleri ve endojen



bağlarının keşfi, son 15 yılda gerçekleşmiştir ve bu keşifler, önemli endojen sinyal sistemi olan endokanabinoid sistemin temel özelliklerinin bulunmasına olanak tanımıştır¹⁻³. Tablo 1’de endokanabinoid sistemin tarihçesi özetlenmiştir.

KB ve KB2 Reseptörleri

EKS’de KB₁ ve KB₂ adı verilen 2 adet kanabinoid reseptörü vardır. KB₁, ilk tanımlanan reseptördür ve santral sinir sisteminde bulunur^{2,3}. KB₂ reseptörleri, primer olarak immün sistemde salgılanırlar, enerji homeostazında ve besin alımında rolleri yoktur. 1990’da ilk kanabinoid reseptörünün özellikleri belirlenmiştir. Bu reseptöre KB₁ adı verildikten sonra, ikinci kanabinoid reseptörü 1993’te klonlanmıştır.

KB₁ ve KB₂ reseptörlerinin her ikisi de G-proteine bağlı reseptörlerdir ve hücre içi sinyalleri uyaran özel hücre dışı taşıma fonksiyonu olan hücre membranlarına bağlı proteinlerin farklı familyasındadırlar². Sinir sistemi içinde, KB₁ reseptörleri, santral ve periferik nöronların her ikisinden de salgılanırlar. Fonksiyonlarından birisi, nörotransmitter salınımını baskılamaktır. KB₁ reseptörleri, santral sinir sisteminde (SSS) yüksek düzeylerde olup, özellikle, beynin bilişsel fonksiyonu olan bölgelerinde yer alırlar. Endokanabinoid sistemin, motor aktivite ve hafıza işlemlerinde önemli rolleri vardır. KB₁ reseptörlerinin çoğu, presinaptik nöronlarda eksprese edilirler.

KB₁ reseptörleri, nöronlarda olduğu kadar, astrositlerde de bulunur. Astrositlerdeki KB₁’in aktivasyonu, beyine enerji sağlayan glikoz oksidasyonunun ve ketogenezin artmasıyla sonuçlanır. Perivasküler astrositler, serebral arter ve nöronların arasında lokalize olmuşlardır ve komşu nöronlara enerji sağlarlar. Bu yüzden astrositlerdeki KB₁’in aktivasyonu, sağlanan enerjinin, kandan nöronlara geçişini düzenleyebilir³.

KB₁ reseptörleri, enerji homeostazını kontrol eden santral ve periferik bölgelerin çoğunda bulunur. SSS’nin dışında, KB₁ reseptörleri, yağ dokusu, sindirim sistemi, pankreas ve kas gibi periferik doku ve organlarda bulunur. Vazodilatasyon, endotelial büyüme ve çoğalma gibi olası etkileri nedeniyle de, kalp ve damar sisteminde de önemi bulunmaktadır. KB₂ reseptörleri ise, immün sistem ve kan hücrelerinde bulunur. KB₂ reseptörlerinin, besin alımı ve enerji homeostazında önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir^{1,3,4,6}. Fizyolojik olarak EKS’nin, enerji dengesini modüle etme, yeme davranışı, hepatik lipogenez ve belki de glikoz homeostazında rolü olduğuna dair kanıtlar, hayvan çalışmalarında ve insanlarda yapılan klinik çalışmalarda ortaya konmuştur^{7,10} (Şekil 1).

Endojen Kanabinoid Reseptör Bağlar

Endojen kanabinoid reseptörlerinin bağları; KB₁/KB₂ agonisti olan anandamid ve 2-araşidonil-gliserol’dür (2-AG) ve bunları KB₁ aktive eder. KB₁ reseptörlerinin özelliklerinin belirlenmesinden birkaç yıl sonra, ilk iki endojen kanabinoid reseptör bağı veya kanabinoidler keşfedilmiştir². İlk bağ, N-Araşidonil Etanolamin veya AEA, Anandamid olarak isimlendirilmiştir. İkinci bağ, 2-Araşidonil Gliserol veya 2-AG olarak adlandırılmıştır. Anandamid ve 2-AG, üzerinde en çok çalışılan kanabinoidlerdendirler, prekürsörleri farklı olan biyosentetik yollarla hücre membranlarının fosfolipidlerinden sentezlenirler. Her iki bağ da, KB₁ reseptörlerini bağlayarak aktive eden, endojen yağ türevleridirler. KB₁ ve KB₂ reseptörlerinin her ikisi de agonisttir. 2-AG kanabinoidin sinyal görevine ilave olarak, çeşitli metabolik süreçlerde de görev almasından dolayı, genellikle, dokulardaki ve hücrelerdeki 2-AG seviyeleri, anandamiden daha yüksektir^{2,3,12,13}.



Tablo I: Endokanabinoid Sistemin Tarihçesi (2)

YIL	BULGULAR
1964	Kanabis Sativa'nın aktif yapısı delta 9 THK, izole edildi
1988	Sıçan beyinlerinde, kanabinoid bağlama sisteminin yeri keşfedildi.
1990	Sıçanların G proteini ile bağlantılı kanabinoid reseptör tip 1 (KB ₁) klonlandı
1991	İnsan KB ₁ reseptörü klonlandı.
1992	İlk endojen kanabinoid olan anandamid keşfedildi.
1993	Periferdeki CB ₂ reseptörü klonlandı.
1995	Mide ve beyindeki ikinci endokanabinoid olan 2-araşidonil gliserol (2AG) izole edildi.
2000-2005	KB ₁ reseptörlerinin yaygın olduğunun bulunması ile periferik EKS karakterize edildi ve EKS'nin obezitedeki rolü, sigara bağımlılığı, kalp-damar sistemi ve metabolik fonksiyonları ile ilgili çalışmalar yapıldı.

	Aktivite alanı	Mekanizma	Klinik etkisi	KB ₁ blokajının etkileri
	Hipotalamus Nukleus akumbens	↑ Besin alımı	Vücut ağırlığının ve Bel ölçüsünün artması	↓ Besin alımı
	Yağ dokusu	↓ Adiponektin ↑ Lipogenez	Dislipidemi İnsülin direnci	↑ Adiponektin ↓ Lipogenez
	Kaslar	↓ İnsülinin uyardığı glikoz alımı	İnsülin direnci	↑ Glikoz alımı
	Karaciğer	↑ Yağ asidi sentezini düzenleyen enzimler	Dislipidemi İnsülin direnci Yağlı karaciğer	↓ Lipogenez
	Sindirim Sistemi	↓ Tokluk sinyalleri Motilite ve mide boşalması	Vücut Ağırlığının artması Enerji alımının artması	↑ Tokluk sinyalleri

□ ; Azalma, □ artış .

Şekil 1: Endokanabinoid sistemin santral ve periferik aktivite alanı, Mekanizması, Klinik etkisi² ve KB₁ blokajının etkileri¹¹

Endokanabinoidlerin Oluşumu ve İnaktivasyonu

Araşidonik asit türevleri olan endokanabinoidler, ihtiyaç olduğunda, sentezlenir, bağlanır ve KB₁ reseptörlerini aktive ederek, hızla yıkılırlar. Anandamid ve 2-AG, uzun zincirli yağ asitlerinden olan araşidonik asitten elde edilirler. Anandamid ve 2-AG fosfolipide bağlı olarak sentezlenir. Ön maddelerinden, anandamid ve 2-AG oluşumunu katalize eden enzimler; fosfolipaz olan N-açilfosfatidiletanolamin ve diaçilgliserol lipazdır (DAG). SSS'nin çoğunda, diğer nörotransmitterler gibi, fizyolojik ve patolojik uyarılara yanıt olarak,

sentetik enzimlerinin aktivasyonu ile ihtiyaç duyulduğunda kullanılmak üzere önceden yapılır ve depo edilir^{2,3}. Anandamid ve 2 AG, enzimatik hidrolizi takiben, hücrelerin içine 2 adım mekanizması ile taşınarak elimine edilir. Bu hızlı deaktivasyon sürecinden dolayı endokanabinoidler, öncelikle, komşu hücrelerin yüzeylerindeki endokanabinoid reseptörlerine bağlanırlar, aktive olarak sentez yerlerine hareket ederler^{12,13}.

Biyosentezlendikten sonra, endokanabinoidler, hücre dışı boşluğa hızla salgılanırlar. Beyinde ise, postsinaptik nöron membranlarından salgılanırlar, KB₁ reseptörlerinin aktive olduğu yerde,



presinaptik nöron membranına arkadan bağlanarak hızla yayılırlar. Bu, bağlanmalarda, daha az nörotransmitterin presinaptik hücrelerde salgılanmasına neden olan olaylar zinciri ile oluşan bir döngüdür. Bu süreç, nörotransmitterlerin “retro-grade süpresyonu” olarak bilinir¹⁻⁴.

ENERJİ DENGESİ, YAĞ VE GLİKOZ METABOLİZMASINDA EKS’NİN ROLÜ

Enerji homeostazının düzenlenmesi ve sübstrat metabolizması çok karmaşıktır ve bunda pek çok fizyolojik sistemin, nöral ve biyokimyasal yolların rolü olduğu bilinir. Enerji dengesinde, kısa veya uzun süreli araçların rolü vardır. Örneğin; sindirim sistemi hormonları ve enzimler, hipotalamik peptidler, yağ asitleri, yağ oksidasyonu ve yağ dokusu hormonları gibi. Yağ metabolizmasında; yağ dokularındaki lipogenez ve lipolizde, karaciğerde; de novo lipogenez, trigliserid metabolizması ve peroksimal proliferatif aktivatör reseptörleri (PPARs), glikoz metabolizmasında; glikoneogenez, insülini uyaran glikoz alımı ve PPAR gamayı da içine alan pek çok metabolik olay, enerji dengesinde önemlidir. Elde edilen bulgularda, EKS’nin enerji dengesi, glikoz ve lipid metabolizması da dahil olmak üzere, santral ve periferik sinir sistemindeki pek çok fonksiyonun fizyolojik düzenlenmesini de içerdiği belirlenmiştir^{2,3}. Enerji dengesi ve sübstrat metabolizmasını düzenleyen hipotalamik ve leptini düzenleyen fizyolojik yollar gibi fizyolojik süreçler bilinmektedir¹⁴. Leptin, kan-beyin bariyerini geçerek hipotalamusta reseptörlerine bağlanır ve sinyallerin aktive edilmesiyle, besin alımı baskılanır, enerji harcaması artar. Leptini eksik farelere leptin verildiği zaman, obezite ve hiperglisemi, hiperinsülinemi ve hiperkortizolemi gibi metabolik anormalliklerin geriye döndüğü görülmüştür. Bununla birlikte leptin eksikliğinden kaynaklanan obezitede, başlangıçtaki hipotez, destek bulamamıştır. Gerçekten pek çok obez kişide, leptin konsantrasyonlarının yüksek olmasına rağmen, bir Türk ailenin üç çocuğu da dahil olmak üzere az sayıda konjenital leptin eksikliği olan vaka tanımlanmıştır. İnsanda leptin reseptör mutasyonu olan tek bir

aile bildirilmiştir. Bu bulgu, insanlardaki leptin yokluğunda bile, leptin reseptörleri sağlıklı ise hipotalamustan salgılanan bazı faktörlerin uyarılmayı sürdürdüğünü düşündürmektedir¹⁵. Önceleri, yapılan çalışmalarda, leptin konsantrasyonlarının 20 kat fazlasının verilmesi sonucunda, ılımlı bir ağırlık kaybının olması, obez kişilerde leptin direnci olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Evrimsel bakış açısına göre, leptinin fizyolojik fonksiyonu, belki de, insan vücudunun yıllarca süren kıtlıklar nedeniyle, vücut yağını depolamaya programlanmış olmasından kaynaklanmaktadır. İnsülin ve leptin sekresyonu arasında bağlantı olduğu fikri kabul edilmektedir. İnsülinin yükselmesi, leptin seviyelerini yükseltir. Bu, total yağ miktarında herhangi bir değişiklik olmaksızın, öğün sonrası leptinin yükselmesini açıklamaktadır. Metabolik (glikoz, yağ ve proteinler) ve mideye ait düzenleyiciler (kolesistokinin ve ghrelin), enerji dengesinin kısa süreli düzenleyicileridirler. Ayrıca, bazı peptidler, nörotransmitterler, sitokinler, steroid hormonlar ve 11-β-hidroksistereoid dehidrogenaz enzimi gibi pek çok molekül, enerji metabolizmasını etkiler^{7,14}. Son zamanlarda, endokanabinoid sistem ve leptin arasında kuvvetli bir ilişki olduğu rapor edilmiştir. Genetik olarak obez ve leptin sinyallerinde defekt olan kemirgenlerde, hipotalamik endokanabinoid seviyelerin yükseldiği gösterilmiştir ve leptin eksikliği olan ob/ob farelere akut leptin tedavisi yapıldıktan sonra bu seviyeler düşmüştür^{5,16}. Bugün, pek çok kanıt, endokanabinoidlerin iştah açıcı olduğunu ve beslenmeyi ve vücut ağırlığını düzenleyen sistemin anahtar bileşenlerinden biri olduğunu göstermiştir. Diyete bağlı obezitesi olan farelerde, insanlarda da bulunan visceral obezite ve diyabetle karakterize olan abdominal obezite sendromunun özellikleri gelişmiştir. Bu modelde kullanılan KB₁ antagonisti SR141716’nın, insanlardaki obezitenin ve iştah artışının tedavisinde yeni bir alternatif olabileceği görülmektedir⁵. Cota ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, endojen kanabinoid sistemin, KB₁ antagonistlerinin, periferde lipogenetik süreci bloke ederek ve SSS’de besin alımını



düzenleyerek, çift etkili bir mekanizmayla enerji homeostazını modüle etmesi, obeziteye karşı savaşta kullanılabilmesi fikrini ortaya koymuştur⁷. Endokanabinoid sistem, hem hipotalamik hem de ekstra hipotalamik yollarla enerji homeostazını etkiler ve EKS'nin net etkisi anabolik olmasıdır. Ayrıca periferde, enerji homeostazını düzenleyen metabolik fonksiyonlar için değişik seviyelerde koordinasyonu sağlayan endokanabinoid hareketler de anaboliktir. Endokanabinoid sistemin ayrıca, hayatın erken dönemlerinde de, besin alımı ve enerji depolamasını kolaylaştıracak önemli bir rolü olduğu bulunmuştur. Gerçekten, endokanabinoidler ve KB₁, anne sütü alan yeni doğmuş farelerde de bulunur². Endokanabinoidlerin, beyinin ve maternal sütün gelişiminde var olması; neonatal gelişimde, emmenin oral motor kontrolünde, KB₁ reseptörlerinin kritik rolünün kanıtıdır¹⁷. Yeni doğmuş fare yavrularında yapılan bir araştırmada, doğumdan sonraki yaşamın ilk gününde, KB₁ antagonisti SR141716A (20 mg/kg) ile endokanabinoid sistemin bloke edilmesinin, emmenin baskılanmasına neden olduğu ve fiziksel büyümeyi tamamen engellediği ve 1 hafta içinde ölüme neden olduğu gösterilmiştir. Böylece, yaşamın ilk 24 saatinde, endokanabinoidlerin büyümeye olan etkisi ve doğum sonrası ilk günde, memelilerin sütlerinde (kolostrumda) 2-AG'nin varlığı kanıtlanmıştır⁹. Yapılan son çalışmalardan birinde, insanlardaki obezitenin ve endokanabinoid sistemin bileşenlerinin genetik polimorfiziminin birlikte olduğu gösterilmiştir³. EKS'nin periferde, glikoz ve yağ metabolizmasındaki etkileri göz önüne alındığında; EKS'nin, özellikle, kalp-damar hastalığı risk faktörlerinin oluşumunda ve metabolik profilde de bir rolü olduğunu düşündürmektedir². Kola ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, kanabinoidlerin ve ghrelinin her ikisinin de, karaciğer ve yağ dokusunda Activated Protein Kinaz (AMPK) aktivitesini baskımlarken, hipotalamus ve kalp dokusunda AMPK aktivitesini uyardığı gösterilmiştir. Bu bilgiler, endokanabinoidlerin ve ghrelinin, sadece hipotalamusta iştah açıcı etkilerinin olmadığını, aynı zamanda, periferik

dokulardaki metabolizmalar üzerine de etkili olduğunu göstermektedir¹⁸.

EKS ile ilgili bilgiler, son 10 yılda belirlenmiştir. EKS ile ilgili ilk çalışmalar, SSS ve besin alımına etkisi konusuna yoğunlaşmıştı; son zamanlarda, EKS'nin, pek çok periferik doku ve organdaki endojen sinyal sisteminden oluştuğu konusundaki bilgi netleşmiştir. EKS'nin direkt ve indirekt olarak enerji dengesini kontrol ederek, pek çok dokuda metabolik etkisi olduğu belirlenmiştir^{2,3,7,11}.

PERİFERİK ve SANTRAL EKS SİNYALLERİ

Enerji homeostazı ve metabolizmasının düzenlenmesinde, beyinden merkezlenen ve yağ dokusu, karaciğer ve sindirim sisteminin de dahil olduğu pek çok periferik dokuda EKS sinyalleri oluşur. Anandamid ve 2-AG, KB₁ reseptörlerini aktive ettikleri zaman, santral ve periferik, pek çok fizyolojik süreci düzenleyen hücre içi sinyali şelale şeklinde tetiklerler. Endokanabinoidler, periferik ve santral sinyallerle, enerji alımını ve harcanmasını düzenleyen ve hipotalamustaki nöropeptitlerle periferdeki afferent yolu takip ederek, enerji homeostazını düzenlerler^{2,3,7}. Şekil 2'de beyin ve periferdeki besin alımının kontrolünde etkili olan endokanabinoid hareketlerin potansiyel yerleri şematize edilmiştir⁷. Besin alımının santral düzenlenmesi, arkuat nükleus (Ark), lateral hipotalamus (LHA) ve paraventriküler nükleusu (PVN) da içeren hipotalamik nükleus ve önbeyinin hareket merkezi ve beyindeki dorsal vagal komplekstir. Barsak peptidleri ghrelin ve Nöropeptid Y (NPY), besin alımını etkileyen beyindeki Ark'ta olduğu kadar, vagal afferentlerle lokal olarak da hareket ederler. Hücresel düzeyde endokanabinoidler, metabotropik reseptör aktivasyonu ve depolarizasyon veya ikisi birlikte, intraselüler Ca²⁺ iyonlarını yükseltgeyerek salgılanırlar. Transmitter salınımını baskıladıkları yerde, nöronlarda, gerileyen sinyaller olarak hareket edebilirler. Ayrıca KB₁ reseptörleri, endokanabinoidlerin sinir sistemi destek dokusu olan ve KB₁ reseptörlerinde de bulunan gliadan da yapılırlar. KB₁ reseptörleri, yağ dokusunda, karaciğerde,



sindirim sistemi boyunca bulunurlar ve yağ dokusunda adiponektin salgısı sentezini azaltarak ve karaciğerde yağ asidi sentezini geciktirerek, periferik metabolik etkiler boyunca, beyine giden sinyallerle enerji dengesi, yağ ve glikoz metabolizmasını etkilerler^{2,3,5,7}.

YAĞ DOKUSU BİR ENDOKRİN ORGANDIR

Yağ dokusunun, yüksek düzeyde aktif ve kompleks bir metabolik ve endokrin organ olduğu artık bilinmektedir. Yağ dokusundan, sitokinler, inflamatuvar araçlar, yağ asitleri, leptin, adiponektinler gibi lokal (otokrin/parakrin) ve sistemik (endokrin) seviyelerde aktif olan değişik biyoaktif faktörler salgınır ve eksprese edilirler. Eferent sinyallere ilaveten, yağ dokusu, SSS'den gelen hormonlar kadar (örneğin; insülin, glukagon, GLP-1, glukokortikoidler, tiroid hormonu ve katekolaminler), geleneksel hormon sisteminden gelen afferent sinyallere de cevap verebilmek için çeşitli reseptörleri eksprese ederler².

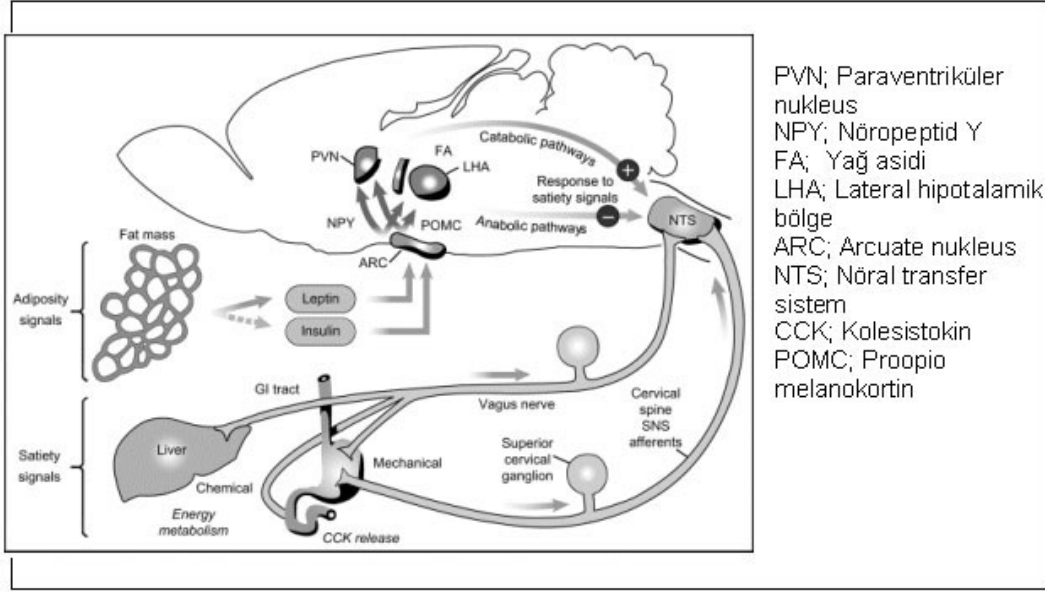
Yağ dokusu, enerji metabolizması ve nöroendokrin fonksiyonlar da dahil olmak üzere, çeşitli biyolojik süreçleri koordine eden periferdeki organlarla haberleşmeyi sağlayan metabolik mekanizmaları içerir. Yağ dokusunun önemli endokrin fonksiyonları, yağ doku fazlalığı ve eksikliği şeklinde zıt etkilerle kendini gösterir. Özellikle visceral yağ fazlalığı ile karakterize olan obezite, insülin direnci, hiperglisemi, dislipidemi, hipertansiyon, protrombotik ve proinflamatuvar durumları da içerir. Lipodistrofi, metabolik sendromun özelliklerinden birisidir^{2,3}.

KB₁ AKTİVASYONUNUN SANTRAL ETKİLERİ: ENERJİ DENGESİ ve YEME DAVRANIŞI

Endokanabinoidler ve KB₁, hipotalamusta üretilir ve eksprese edilirler. Beyinde, hipotalamik KB₁, dansitesi en düşük düzeyde olmasına rağmen, aktive edildikleri zaman, KB₁'lerin özellikle etkinlikleri artar⁸. KB₁ aktivasyonunun önemli santral etkisi, enerji dengesi ve beslenme davranışını düzenlemektir. Mezolimbik bölgeye veya

hipotalamusa, endokanabinoidlerin enjekte edilmesi, besin alımını uyarır. Normal şartlar altında, açlık, endokanabinoid düzeylerini artırırken, yemek yeme, hipotalamustaki endokanabinoid düzeylerini azaltır. Hayvan modellerinde, KB₁'in çıkarılması zayıflamaya ve diyetle bağlı obeziteye dirençle sonuçlanır^{19,20}. Önceleri EKS tarafından enerji alımının düzenlenmesinin, santral yolaklarla olduğu düşünülürdü. Beyindeki EKS'nin, besin alımının kontrolünü, 2 seviyede yaptığı düşünülmektedir.

EKS, muhtemelen ödüllendirme mekanizmalarını içeren mezolimbik yollar boyunca, yüksek düzeydeki bir dürtü ile, besin alım isteğini ve tüketimini artırabilir. Ayrıca, EKS, kısa süreli açlıktan sonra, hipotalamusta aktive edilen iştahın açılması için oreksijenik ve anorektik medyatörler gibi diğer medyatörleri, geçici olarak düzenler. Beyindeki EKS'nin bu çift yönlü aktivitesini anlamak; duyuşal çekicilik veya ödüllendirme özellikleri gibi beslenmeyi motive eden limbik önbeyindeki açlık/tokluk veya homeostatik sinyallerle hipotalamusun katılımını belirlemek için önemlidir^{2,6}. EKS'nin enerji dengesi ve beslenmedeki santral yolakların rolünü gösteren pek çok çalışma vardır. Örneğin; KB₁'in, endojen olarak veya beslenmeyi uyarıcı THK gibi bitkisel kanabinoid agonistleri ile aktivasyonu ve beyin hipotalamik bölgesine veya mezolimbiklerin içine endokanabinoidlerin direkt olarak enjekte edilmesi, farelerde besin alımını uyarır^{7,19}. Tersine, besinden yoksun bırakılan KB₁'i eksik fareler, daha az besin tüketirler. Sıçanlarda endokanabinoidler, açlıkta, açlık süresince limbik önbeyin ve hipotalamusta en yüksek düzeydedir ve yeme sırasında ve yemekten hemen sonra, endokanabinoidlerin seviyesi düşer. Dahası, hipotalamusta, endokanabinoid seviyelerinin değişmesi ile kan leptin seviyeleri arasında ters yönde bir korelasyon vardır. Leptin, hipotalamik oreksijenik ve anorektik sinyallerin düzenlenmesinde, anahtar rol oynayan bir nörohormondur⁶. Aşağıda, KB₁ reseptör aktivasyonunun, enerji dengesi ve beslenme davranışı üzerine etkilerini gösteren çeşitli çalışmalar özetlenmiştir.



Şekil 2: Beyin ve periferde besin alımının kontrolünde EKS'nin potansiyel yerleri

Kirkham ve arkadaşları²⁰ yaptıkları çalışmada, sıçanların beyin bölgelerindeki anandamid ve 2-AG seviyelerini, lezzetli bir yemek sırasında veya doyduktan sonra direkt olarak ölçmüşler ve serbest olarak yedirilen farelerde, endokanabinoid seviyelerinin, açlık sırasında limbik ön beyindeki 2-AG ve anandamid seviyelerini yükselttiğini göstermişlerdir. Açlık sırasında hipotalamustaki 2-AG seviyeleri yükselir. Tersine, yeme sırasında, hipotalamustaki 2-AG seviyeleri azalır. Tok sıçanlarda herhangi bir değişiklik yoktur. Besin alımı ile ilgili olmayan serebellumda endokanabinoid seviyelerinin herhangi bir manipulasyondan etkilenmediği de bildirilmiştir.

Pek çok hayvan çalışmasında, endokanabinoid verilmesi ile besin alımının uyarıldığı gösterilmiştir. Hao ve arkadaşları, endokanabinoidlerin iştah üzerine etkilerini, farelere endokanabinoid anandamid verildikten sonra besin alımını ölçerek ortaya koymuşlardır. Hipotalamusta norepinefrin ($p < 0.01$) ve 5 hidroksi triptanın (serotonin) konsantrasyonlarının anlamlı olarak yükselmesiyle, besin alımının % 44 oranında artmasının birlikte olduğu bulunmuştur²⁰. Benzer şekilde, kemirgenlerin hipotalamuslarının içine anandamidin, enjekte edilmesiyle, KB_1 reseptörlerinin aktive olduğu ve yemenin baskılandığı, Jamshidi ve

arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada da belirtilmiştir¹⁹.

Limbik ön beyindeki nukleus akumbensin içine 2-AG injeksiyonunun doza bağlı olarak potansiyel yemeyi uyardığı, Kirkham ve arkadaşları tarafından kanıtlanmıştır²⁰. Bu bulgularla, açlık ve yeme sırasında beyinde endokanabinoid düzeylerinin değiştiği direkt olarak gösterilmiştir.

Hayvan bulguları ile, KB_1 reseptörlerinin uyarılmasının, beslenmenin kontrolü ve diyetle ilgili obezitenin gelişmesinde anahtar rol oynayan bir bileşen olduğu ileri sürülmüştür. Ravinet-Trillou ve arkadaşlarının çalışmasında⁴, KB_1 -/- farelerin daha zayıf ve diyetle ilgili obeziteye daha dirençli oldukları bulunmuştur. KB_1 -/- farelerin, yüksek yağlı bir diyetle, ılımlı tip kontrollerle karşılaştırıldıklarında, obezite gelişimine dirençli oldukları, her iki grupta da benzer besin alımı olmasına rağmen, standart diyetle beslenen 20 haftalık KB_1 -/- farelerin, ılımlı tip farelerden % 24 daha az kilo aldıkları belirlenmiştir.

KB1 AKTİVASYONUNUN PERİFERİK ETKİLERİ: HEPATİK LİPOGENEZ, GLİKOZ HOMEOSTAZI ve YAĞ DOKUSU METABOLİZMASI

Periferik EKS, KB_1 reseptörleri boyunca hepatik lipogenez, glikoz homeostazı ve yağ



dokusu metabolizmasını modüle ederek fonksiyon görür. Enerji homeostazındaki beslenme davranışı, EKS'nin santral etkileri ile tam olarak açıklanamamıştır. KB1 reseptörlerinin uyarılmasıyla, kilo alımını ortaya koyan kanıtlar, sadece besin alımına değil, aynı zamanda besin alımından bağımsız metabolik süreçlere de bağlanabilir. Gerçekten beslenmenin santral etkilerinin ötesinde, EKS'nin hepatik lipogenez, glikoz homeostazı ve yağ dokusu metabolizmasını düzenleyen farklı dokuların periferik fonksiyonlarını da gösteren çalışmalar vardır⁵.

Hepatik Lipogenez: Osei-Hyaman ve arkadaşları, endojen kanabinoidlerin metabolik etkileri için periferik bir hedef olarak, karaciğerin olası rolünü araştırmışlardır¹¹. Hepatosit, miyofibroblast, endotel, karaciğer yıldız hücreleri (stellate; KYH) ve muhtemelen kolanjiyositlerin, karaciğerdeki endokanabinoid reseptörlerini ekprese ettiği saptanmıştır²¹. Farelerde yapılan bu araştırmadaki sonuçlar, hepatositler uyarıldıklarında lipojenik transkripsiyon faktörü SREBP-1c ve bunun hedef enzimleri olan asetil CoA karboksilaz-1 ile yağ asidi sentez ekspresyonunu başlatan ve de novo yağ asidi sentezini de artıran KB₁'i ekprese ettiğini göstermektedir. Bu mekanizma ile, farelerde endojen kanabinoidlerden biri olan anandamidin, karaciğerdeki düzeylerinde ve KB₁'in aracılık ettiği yağ asidi sentezinde artışla ilgili olduğu saptanan diyetle bağlı obezitenin gelişmesine katkı sağlayabileceği ileri sürülmüştür. KB₁ reseptörlerini ekprese eden izole edilmiş hepatositlerde veya karaciğerdeki de novo sentezi, KB₁ reseptörlerinin daha kısa sürede yapılmasını sağlar. Tersine, KB₁ -/- fareler bu değişikliklere dirençlidir ve sonuçta yağlı karaciğer gelişir^{11,22}. Yağlı karaciğerin, kronik karaciğer hastalığı gelişmesinde kofaktör olduğu artık bilinmektedir. Alkoliklerin % 90-100'ünde, obezlerin % 60-80'inde, kronik hepatit C hastalarının ise % 30-70'inde karaciğer yağlanması saptanmaktadır²³. Yağlı karaciğer, başlı başına kronik karaciğer hastalığının nedenlerinden biri olduğu gibi, hepatit C vakalarında fibrozis gelişimini kolaylaştırmaktadır ki, ilerlemiş fibrozis, siroza ve karaciğer yetmezliğine yol açmakta

ve günümüzde, bu vakalarda radikal tedavi, ancak karaciğer nakli ile mümkün olmaktadır. EKS, karaciğer yıldız hücrelerinin aktivasyonunu düzenleyerek, karaciğer fibrogenezinde rol oynuyor olabilir. KYH'leri KB₁, KB₂ reseptörlerini ekprese etmektedirler²⁴. KB₂ aktivasyonu bu hücrelerde kollajen ve DNA sentezini azaltmaktadır. Sonuçta yapılan araştırmalar, kronik karaciğer hastalığı-fibrozis gelişiminde kanabis bağımlılığının, bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermiştir²⁴.

Glikoz homeostazı: Yüksek yağlı beslenmeden sonra, ılımlı tip hayvanlarla karşılaştırıldığında KB₁ -/- fareler, intraperitoneal insülin enjeksiyonuna daha düşük glikoz cevabı verirler⁴. Aynı zamanda, KB₁ reseptörlerinin izole edilmiş iskelet kaslarında yapılmış deneylerde, daha önce yapılmış deneylerde olduğu gibi, glikoz alımının %68 oranında arttığı bulunmuş ve gliseminin iyileşmesine katkı sağladığı gösterilmiştir³.

Yağ dokusu metabolizması: KB₁ reseptörlerinin uyarılmasının, beyaz yağ dokusundaki adiponektini ve viseral yağlardaki AMP kinazın ekspresyonunu azalttığı, adipoz doku lipoprotein lipaz ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir².

ENDOKANABİNOİD SİSTEMİN AŞIRI AKTİVİTESİ VE FİZYOLOJİK ETKİLERİ

EKS, sadece ihtiyaç duyulduğunda, kısa bir süre için aktivite gösteren, normalde sessiz fizyolojik bir sistemdir. Bununla birlikte, EKS'nin aşırı aktivitesi veya obez fenotiplerin ekspresyonuna yol açması henüz açıklığa kavuşmamasına rağmen, insanlardaki obezite ve genetik hayvan modellerinde ve diyetle bağlı obezitede kuvvetlice aktif olduğuna dair kanıtlar vardır².

Di Marzo ve arkadaşları¹⁶, EKS'nin obez hiperfajik farelerde, hipotalamik endokanabinoid düzeylerinin yükseldiğini ve aşırı aktif olduğunu kanıtlamışlardır. Obez fenotipler için, bu durumdan leptin reseptöründeki defekt sorumludur ve db/db fareler, diyabete yatkındırlar. Leptin sinyallerindeki bu eksiklik, bu farelerin



hipotalamuslarındaki endokanabinoid seviyelerindeki yükselme ile birlikte. Leptin direnci olan Zucker fa/fa sıçanlarda, normal leptin reseptörleri olan fakat, leptin eksikliği olan ob/ob fareler gibi obezitedeki diğer genetik modellerde de hipotalamustaki endokanabinoid düzeyleri yükselir. Leptini olmayan genç ob/ob farelerde, anandamidin değil, 2-AG nin hipotalamik düzeyleri, zayıf kontrol grubundan daha yüksektir.

Leptinle tedavi edilen ob/ob farelerde, hipotalamik 2-AG düzeyleri, zayıf kontrol grubunun düzeyleri ile benzerdir, anandamid ise çok düşüktür. Bu bulgular, endokanabinoidlerle leptinin, negatif etkilerinin olduğunun kuvvetli kanıtlarıdır ve EKS formunun, leptinin enerji alımını ve vücut ağırlığını düzenleyen homeostatik sistemin bir parçası olduğunu gösterir^{3,6,16}. Sipe ve arkadaşları²⁵, insanlardaki obezitenin, endokanabinoid sistemin, genetik olarak fonksiyon görememesi nedeniyle olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmada, anandamid degradasyonunu sağlayan primer enzim FAAH'daki bir duyu kaybı mutasyonu ile, insanlardaki Beden Kitle İndeksi (BKİ)'nin artması arasında bir ilişki olduğunu bulmuşlardır. Engeli ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada da²⁶, obez kadınlarda FAAH'da azalma olurken, sirküle eden endokanabinoidlerde yükselme olduğu saptanmıştır.

Diyete bağlı obezitesi olan hayvan modellerinde, KB₁ reseptörleri ekspresyonu ve endokanabinoid düzeylerin yükseldiğine dair kanıtlar bulunmuştur. Bensaid ve arkadaşları²⁷, farelerin yağ dokularında KB₁ reseptörlerinin ekspresyonunu ölçmüşler ve zayıf farelerle karşılaştırdıkları zaman, obez (fa/fa) farelerin yağ dokularında KB₁ reseptörlerinin mRNA ekspresyonunu, 3-4 kat daha fazla "upregülasyon"a uğrattığını bulmuşlardır. Benzer şekilde, farklı olmayan adipositlerle karşılaştırdıkları zaman, farklılaşmış adipositlerde, KB₁ reseptörlerinin mRNA ekspresyonunu "upregülasyon" a uğrattığı gözlenmiştir. Bu bulgularla, yağ depolarının ve buna bağlı olarak vücut ağırlığının düzenlenmesinde, KB₁ reseptörlerinin rolü olduğunu kanıtlanmıştır.

Osei-Hyiaman ve arkadaşları, standart diyetle ve yüksek yağlı diyetle beslenen KB₁ -/- ve ılımlı tip farelerin karaciğerlerindeki anandamid ve 2-AG düzeylerini ölçmüşlerdir. Yüksek yağlı diyet, kontrol grubunda obeziteyi indüklemek için kullanılmıştır. 3 hafta sonra standart diyet alan farelere göre, yüksek yağlı diyet alan KB₁ -/- ve ılımlı tip farelerin her ikisinde de anandamid düzeylerinin anlamlı bir şekilde yükseldiği, bu yükselmenin KB₁ -/- farelerde, ılımlı tip farelerden daha düşük olduğu bulunmuştur. İlave olarak, yüksek yağlı diyeti alanlarda, KB₁ reseptörleri de daha fazla eksprese olmuştur. Bu nedenle, yüksek yağlı diyetle beslenen ılımlı tip farelerdeki yağ asidi sentezinin, aynı diyeti alan KB₁ -/- farelerdeki yağ asidi sentezinden anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür. Bu gözlemler, genetik ve diyete bağlı obezitenin her ikisinde de, periferik EKS'nin aktivitesinin yükseldiğine işaret etmektedir¹¹.

KB₁'in PERİFERİK LOKALİZASYONU ve METABOLİK AKTİVİTELERİ

Besin alımı ve vücut ağırlığı ile ilgili yapılan çalışmalarda, kontrol grubuna göre KB₁ -/- farelerin daha zayıf ve daha az ağırlıkta oldukları ve vücut ağırlığındaki kayıpların, yağdan olduğunu göstermiştir. Ayrıca, KB₁ ile yapılan çift beslenme çalışmalarında, KB₁ -/- farelerde ve kontrol grubunda, daha zayıf fenotipe sahip yetişkin farelerin, besin alımından bağımsız mekanizmalarla, belki de metabolik sürecin gecikmiş olmasına rağmen, KB₁ -/- genç farelerin besin alımını azaltarak, daha zayıf oldukları bulunmuştur^{8,28}. Benzer sonuçlar, yüksek yağ ve kalori tüketen KB₁ -/- farelerde de rapor edilmiş^{5,25} ve bu çalışmada, KB₁ -/- farelerin, diyete bağlı obeziteye dirençli olduğu bulunmuştur. Aynı yayında, Ravinet-Trillou ve arkadaşları tarafından, KB₁'i olmayan hayvanlarda, besin alımının azalmasından kısmen bağımsız olan pek çok metabolik parametrede dramatik bir düzelme olduğu da belirtilmiştir. Diyete bağlı obezitede, KB₁ antagonisti-rimonabant verilen farelerde, vücut ağırlığının ve vücut yağındaki azalmanın sürdürüldüğü ve bu azalmanın anlamlı olduğu ve geçici anorektik etkiye neden olduğu gösterilmiştir^{1,5}. Bu



bilgiler, KB₁ antagonistlerinin, enerji depolanması ve enerji harcamasını da içeren periferik dokulardan başka, başlangıçta sinir bölgelerini de hedefleyen çift etkili bir mekanizmayla antiobezite ilacı gibi aktivite gösterebildiğini kanıtlamaktadır¹. Endokanabinoid sistemin, adipositler, hepatositler, gastrointestinal sistem ve iskelet kaslarını da içeren periferik dokuda hareket ederek, metabolik fonksiyonları kontrol etme aktivitesinin, obezitenin de dahil olduğu çeşitli hastalıkların tedavisinde umut vaad eden ilaçlar üzerinde kullanılması fikrini geliştirmiştir^{29,30}. KB₁ reseptör antagonistlerinin, sıçanlarda, akut ve uzun süreli besin alımını baskıladığı, KB₁ antagonitleri ile tedavi edilen sıçan ve insanların her ikisinde de, vücut ağırlığındaki azalmanın sürdürüldüğü belirlenmiştir. KB₁ reseptör antagonistlerinin keşfi, çok sayıda ilaç firmasını harekete geçirmiştir. Global obezitenin ve yanı sıra çocukluk obezitesinin de artış göstermesi, iştahın düzenlenmesi ile ilgili araştırmaları hızlandırmıştır. Bu homeostatik sisteme yapılacak bir müdahale, obezite tedavisinde yararlı olacaktır³⁰. Endokanabinoid sistemin, hastaların ihtiyacına yönelik yeni tedavi edici yaklaşımları sonunda, KB₁ antagonisti rimonabantın, obezitenin tedavisindeki faz III klinik çalışmaları, Sanofi-Aventis firması tarafından başlatılmış ve pek çok sayıda prelinik ve klinik çalışma yapılmış ve sonuçları yayınlanmıştır^{31,32}. Hayvan çalışmalarından elde edilen bulgulardan

sonra, çoklu kardiometabolik risk faktörlerinin tedavisinde de rimonabantın etkisini belirlemek amacıyla klinik çalışma programları başlatılmıştır ve sonuçları alınmaya başlanmıştır. Bu çalışma programlarının bazıları aşağıda belirtilmiştir (Tablo 2)³³⁻³⁷.

- Obezitede Rimonabant (RIO)
 - RIO-Europe³³
 - RIO-Lipids³⁴
 - RIO-North America (NA)³⁵
 - RIO-Diabetes^{36,37}
- Rimonabant and Sigara kullanımı çalışmaları (STRATUS)³⁸
 - STRATUS-United States
 - STRATUS-Europe
 - STRATUS-Worldwide

Bu klinik çalışmaların sonuçları aşağıda özetlenmiştir:

- RIO-Europe sonuçları³³
 - 1507 hasta, 1 yıl izlendi.
 - 20 mg/gün doz rimonabant verildi.
 - Ortalama kilo kaybı; 7.2 kg , trigliseridlerde % 8.8 oranında azalma, HDL’de % 28.8 oranında artış; bel ölçüsünde azalma ve insulin duyarlılığında iyileşme.
 - Katılımcıların % 32.1’indeki kilo kaybı \geq % 10.
 - 20 mg/gün doz, metabolik sendromlu hastaların % 50’sinde belirtilerin azalmasına yol açtı.

Tablo 2 . Rimonabant (RIO) klinik çalışma protokolleri

RIO-Europe ⁽³³⁾	RIO-Lipids ⁽³⁴⁾	RIO-NA ⁽³⁵⁾	RIO-Diabetes ⁽³⁶⁾
N = 1507	N = 1033	N = 3045	N = 1045
BMI \geq 30 kg/m ² veya >27 kg/m ² ve eşlik eden hastalıklar*	BMI 27–40 kg/m ² ve dislipidemi	BMI \geq 30 kg/m ² veya >27 kg/m ² ve eşlik eden hastalıklar*	BMI 27–40 kg/m ² ve tip 2 diyabet
1 yıl	1 yıl	2 yıl	1 yıl
• Randomize, çift kör, plasebo- kontrollü hipokalorik diyet (600 kcal/gün eksilterek) 5 mg veya 20 mg rimonabant ilave edilerek değerlendirildi.			
• Ağırlık, bel ölçüsü, metabolik sendrom, ve kardiyometabolik risk faktörleri ölçüldü			
Potansiyel CNS etkileri Hospital Anxiety and Depression scale (HAD) ile değerlendirildi			



- RIO-Lipid sonuçları³⁴
 - 1036 kilolu veya obez, lipidemisi olan hasta.
 - 1 yıl takip edildi.
 - 20 mg/gün doz rimonabant verildi.
 - 9.08 kg'lık ağırlık kaybı, plasebo ile karşılaştırıldığında; bel çevresi, HDL, trigliserid, CRP düzeylerinde ve insülin duyarlılığında anlamlı düzelmeler oldu.
 - Rimonabantı 20 mg/gün alan metabolik sendromlu hastaların yarısında çalışma sonunda metabolik sendrom devam etmedi.
 - RIO-Kuzey Amerika sonuçları³⁵
 - 3045 hasta, 2 yıl izlendi
 - 20 mg/gün doz rimonabant verildi
 - Ortalama kilo kaybı 7,4 kg, trigliseritlerde % 9.9 azalma, HDL'de % 24.5 artış, bel ölçüsünde azalma ve insülin duyarlılığında iyileşme oldu.
 - Katılımcıların % 32.8'indeki kilo kaybı \geq %10.
 - Başlangıçla karşılaştırıldığında; %34,8 olan metabolik sendrom, 2 yılın sonunda sadece % 22.5 oranında idi.
 - RIO-Diyabet sonuçları³⁶
 - 1045 kilolu veya obez tip 2 diyabetli hasta, 1 yıl izlendi.
 - 20 mg/gün doz rimonabant verildi.
 - 5.3 kg kilo kaybı, A1C de % 0.6'lık azalma ve HDL, trigliserid ve bel ölçümlerinde anlamlı iyileşme sağlandı.
 - Çalışmanın sonunda, metabolik sendromu olan hastalardan; 20 mg/gün rimonabant alanların %64'ünde, plasebo alanların %74'ünde metabolik sendrom vardı.
- Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Birliği (FDA), Kannabinoid-1 (KB₁) reseptör blokleri rimonabantın (ticari adı: Acomplia) kilo verdirici ilaç olarak onaylandığını fakat, sigarayı bıraktırıcı ajan olarak onaylanmadığını, 20 şubat 2006 tarihinde açıklamıştır.
- Sonuç olarak; endokanabinoidlerin, besin alımını ve dolayısıyla enerji homeostazını düzenlediği, keşfedilen KB₁ antagonisti rimonabantın, obezitenin tedavisinde, yağ ve glikoz metabolizmasının düzenlenmesinin sağlanmasında etkili olduğu, yapılan hayvan

deneyleriyle ve insanlardaki klinik çalışmalarla kanıtlanmıştır.

Rimonabantın bu olumlu etkilerinin, özellikle RIO çalışmalarında 1-2 yıl süre içinde 5,3-9.08 kg kaybına neden olmasının, 600 kalorilik ılımlı bir kalori kısıtlaması ile gerçekleştiği belirlenmiştir. Yaşam tarzı değişikliği ile (%58'e varan olumlu etki) birleştirildiği takdirde, bu etkinin daha belirgin olacağı açıktır. Böylece, rimonabantla birlikte, yaşam tarzı değişikliklerinin (sağlıklı beslenme davranışı ve düzenli egzersiz) sağlanması, sağlıklı beslenmenin yaşam tarzı haline gelmesinde rimonabantın besin alımını ve iştahı düzenleyici etkisinden de yararlanarak, davranış değişikliğine yönelik eğitimle birlikte, bu etkinin insanların sağlıklarına olumlu bir katkı sağlayacağını düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

1. Pagotta U, Vicennati V, Pasquali R. The endocannabinoid system and the treatment of obesity. *Annals of Medicine*; 2005:270-275.
2. Define Understand Acknowledge Highlight Review. The Endocannabinoid System and the Regulation of Energy Metabolism. Eds: Jorge Plutzky and Stephen C. Woods. Brought by Sanofi-Aventis U.S.LLC. *Diabetes Care* 2006;(9)
3. Cota D, Woods SC. The role of the endocannabinoid system in the regulation of energy homeostasis. *Endocrinology and Diabetes* 2005;12 (5):338-351.
4. Ravinet-Tirollou C, Delgorge C, Menet C, Arnone M, Soubrie P. CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. *Internal Journal Obesity Related Metabolic Disorder* 2004;28:640-648.
5. Ravinet-Trillou C, Arnone M, Delgorge C, Gonalans N, Keane P, Maffrand JP, Soubrie P. Anti-obesity effect of SR141716, a CB1 receptor antagonist, in diet-induced obese mice. *American Journal Physiology Regul Integr Comp Physiology* 2003;284:R345-R353.
6. Di Marzo V, Bifulco M, De Petrocellis L. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nature Reviews/ Drug Discovery* 2004;3:771-84.
7. Cota D, Marsicano G, Tschöp M, et al. The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *The Journal of Clinical Investigation* 2003;112:423-31
8. Sarnataro D, Pisanti S, Santoro A, Gaggero P, Malfitano AM, Laezza C, Bifulco M. The Cannabinoid CB1 Receptor Antagonist Rimonabant (SR141716) Inhibits Human Breast Cancer Cell Proliferation through a Lipid Raft-Mediated Mechanism *Mol Pharmacol* 2006; 70:1298-1306,



9. Mechoulam R, Berry EM, Avraham Y, Marzo VD, Fride E. The Endocannabinoid System, mechanism of action and Function. *Endocannabinoids, feeding and suckling-from our perspective. International Journal of Obesity* 2006;30:24-28.
10. Mattes RD, Engelman K, Shaw LM, Elsohly MA. Cannabinoids and appetite stimulation. *Pharmacol Biochem Behav* 49:187-195, 1994.
11. Osei-Hyiaman D, DePetriello M, Pacher P, Liu J, Radaeva S, Bátkai S, Harvey-White J, Mackie K, Offertáler L, Wang L, Kunos G. Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *Journal of Clinical Investigation* 2005 ;115:1298-1305.
12. Howlett A C, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, Felder CC, Herkenham M, Mackie K, Martin BR, Mechoulam R, Pertwee RG. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of Cannabinoid Receptors. *International Union Pharmacology* 2002; 54 (2):161-202.
13. Giuffrida A, Beltramo M, Piomelli D. Mechanisms of Endocannabinoid Inactivation: Biochemistry and Pharmacology. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2001;298:7-14.
14. Komer J, Aronne LJ. The emerging science of body weight regulation and its impact on obesity treatment. *Journal of Clinical Investigation* 2003;111:565-570.
15. Farooqi IS, O'Rahilly S. Recent advances in the genetics of severe childhood obesity. *Arch Dis Child* 2000; 83: 31-34.
16. Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L, Liu J, Bátkai S, Jarai Z, Fezza F, Miura GI, Palmiter RD, Sugiura T, Kunos G. Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature (London)*. 2001;410:822-825.
17. Fride E, Bregman T, Kirkham TC. Endocannabinoids and Food Intake: Newborn Suckling and Appetite Regulation in Adulthood. *Experimental Biology and Medicine* 2005;230:225-234.
18. Kola B, Hubina E, Tucci SA, Kirkham TC, Garcia EA, Mitchell SE, Williams LM, Hawley SA, Hardie DG, Grossman AB, Korbonits M. Cannabinoids and Ghrelin Have Both Central and Peripheral Metabolic and Cardiac Effects via AMP-activated Protein Kinase. *J.Biol.Chem.*,2005;280(26):25196-25201.
19. Jamshidi N, Taylor DA. Anandamide administration into the ventromedial hypothalamus stimulates appetite in rats. *British Journal Pharmacology* 2001;134:1151-1154.
20. Kirkham TC, Williams CM, Fezza F, Marzo V. Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation : stimulation of eating by arachidonoyl glycerol. *British Journal Pharmacology* 2002;136:550-557.
21. Sato M, Suzuki S, Senoo H. Hepatic stellate cells: unique characteristics in cell biology and phenotype. *Cell Struct Funct.* 2003;28:105-112.
22. Hao S, Avraham Y, Mechoulam R, Berry EM. Low dose anandamide affects food intake, cognitive function, neurotransmitter and corticosterone levels in diet-restricted mice. *Eur J Pharmacology* 2000;392:147-156.
23. Powell EE, Jonsson JR, Clouston AD. Steatosis: Co-factor in other liver disease .An update. *Annals of Hepatology* 2005;42: 5-13.
24. Valdes DZ, Rodriguez GP, Tapia NCC, et al.The endocannabinoid system in chronic liver disease . *Annals of Hepatology* 2005;42:248-254.
25. Sipe JC, Waalen J, Gerber A, et al.Oweweight and obesity associated with a missense polymorphism in fatty acid amide hydrolase (FAAH). *Internal Journal Obesity Related Metabolic Disorders* 2005;29:755-759.
26. Engeli S, Bohnke J, Feldpausch M, et al. Activation of the peripheral endocannabinoid system in human obesity. *Diabetes* 2005;54:2838-2843.
27. Bensaid M, Gary-Bobo M, Esclançon A, et al. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 increases Acip30 mRNA expression in adipose tissue of obese fa/fa rats and cultured adipocyte cells. *Mol Pharmacology* 2003;63:908-914.
28. Lichtman AH, Cravatt BF. Food for thought: endocannabinoid modulation of lipogenesis *Journal Clinical Investigation* 2005 ;115(5): 1130-1133.
29. Pagotto U, Marsicano G, Cota D, Lutz B, Pasquali R. The emerging role of the endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance. *Endocrine Reviews* 2005; 27 (1): 73-100.
30. Druce M, Bloom SR. The regulation of appetite. *Archives of Disease in Childhood* 2006;91:183-187.
31. Williams CM, Kirkham TC. Anandamide induces overeating: mediation by central cannabinoid receptors. *Psychopharmacology* 1999;143:315-317.
32. Pacher P, Bátkai S, Kunos G. The Endocannabinoid System as an Emerging Target of Pharmacotherapy. *Pharmacol Rev* 2006;58:389-462.
33. Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rössner S, RIO-Europe Study Group. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1 year experience from the RIO-Europe study. *Lancet* 2005;1389-97.
34. Despres JP, Golay A, Sjostrom L, et al. Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *New England Journal of Medicine* 2005; 353:2121-2134.
35. Pi-Sunyer FX, Aronne LJ, Heshmati HM et al. Effect of rimonabant, a cannabinoid -1 receptor blocker, on weight and cardiometabolic risk factors in overweight or obese patients: RIO-North America: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006;295:761-775.
36. Scheen AJ, Finer N, Hollander P, Jensen MD, Van Gaal LF. Efficacy and tolerability of rimonabant in overweight or obese patients with type 2 diabetes: a randomised controlled study *The Lancet* 2006;368:1660-1672.
37. Cleland SJ, Sattar N. Does rimonabant pull its weight for type 2 diabetes? *The Lancet* 2006;368: 1632-1634.
38. Horvath TL. Endocannabinoids and the regulation of body fat: the smoke is clearing. *The Journal of Clinical Investigation.* 2003 ;112:323-326.