

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DURSUN ODABAŞ TIP MERKEZİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

MENİNGOMYELOSEL DEFEKTİNDE PROLİDAZ AKTİVİTESİ VE İSKEMİ MODİFİYE ALBUMİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. İrfan Zengin

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Edip AKYOL

VAN - 2023

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DURSUN ODABAŞ TIP MERKEZİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

PROLİDAZ AKTİVİTESİ VE İSKEMİ MODİFİYE ALBUMİN DÜZEYLERİNİN MENİNGOMYELOSEL HASTALARINDAKİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Dr. İrfan Zengin

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Edip AKYOL

VAN - 2023

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşıp yol gösterici olan ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi M. Edip AKYOL'a saygıyı ve teşekkürü borç bilirim.

Bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, bu zorlu asistanlık sürecinde daima yanımda olduğunu gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet Arslan'a, Doç. Dr. Abdurrahman AYCAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Özkan Arabacı'ya, Dr. Öğr. Üyesi Eyüp Çetin'e ve Dr. Öğr. Üyesi Abdurrahim Taş'a teşekkür ederim.

Tezimin hazırlık aşamasında değerli katkı sunan Tıbbi Biyokimya AD öğretim üyesi Prof. Dr. Halit Demir'e teşekkür ederim.

Sosyal hayatımda ve eğitim hayatımda her zaman desteklerini hissettiğim aileme teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, meningomyelosel nedeniyle tedavi almakta olan çocuklarda ve kontrol grubunda serum prolidaz aktivitesi ve serum iskemi modifiye albümin (İMA) düzeylerinin araştırılması ve meningomyelosel patogenezindeki rolünü araştırmayı amaçladık.

Yöntem: Çalışmaya nöral tüp defekti (NTD) tanısı ile takip edilen 45 hasta ve NTD hastalığı olmadığı bilinen 45 kontrol dahil edildi. Seçilen hastalardan ailenin onamı alınarak kan örneği alınarak serum prolidaz aktivitesi ve serum iskemi modifiye albümin çalışıldı. Ayrıca hastalarda, NTD tipi, lezyon seviyesi, klinik bulgu ve hidrosefali cerrahisi varlığıyla birlikte, serum B12 vitamini, folat ve kalsiyum düzeylerine ilişkin bilgiler toplandı.

Bulgular: Takip edilen NTD hastalarının 20'si (%44,4) erkek ve 25'i kız (%55,6) idi. Bu hastaların yaş ortalaması 21,71±33,53 aydı. Hastaların 34'ünde (%75,6) meningomyelosel mevcut iken 5'inde (%11,1) meningosel, 6'sında ise (%13,3) myeloşizis bulunuyordu. Serum İMA ve serum prolidaz aktivitesi için hasta ve kontrol grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu (her iki analiz için; p=0,001). Ayrıca, meningomyelosel, meningosel, myeloşizis hastalarında prolidaz aktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı görüldü.

Sonuç: Oksidatif stres için iyi bir belirteç olan serum İMA düzeyi ve kolajen metabolizmasında önemli rol oynayan serum prolidaz aktivitesinin meningomyelosel hastalarında yüksek olduğu saptandı. Bu sonuçlar, meningomyelosel hastalarında serum prolidaz aktivitesinin ve serum İMA düzeyinin süreğen yüksekliğinin nedenlerinin incelenmesinin, NTD'lerin patogenezinin aydınlatılmasına katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: İskemi Modifiye Albümin, Meningomyelosel**,** Meningosel, Myeloşizis, Nöral Tüp Defekti, Prolidaz

ABSTRACT

Aim: In this study, it was aimed to investigate serum prolidase activity and serum ischemia modified albumin (IMA) levels in children receiving treatment for myelomeningocele and in the control group, and to compare the two groups in terms of blood levels of these enzymes.

Method: Forty-five patients followed up with the diagnosis of neural tube defect (NTD) and 45 controls known to have no NTD disease were included in the study. Serum prolidase activity and serum ischemia-modified albumin were studied by taking blood samples from the selected patients with the consent of the family. In addition, information on NTD type, lesion level, clinical findings, and the presence of hydrocephalus surgery, as well as serum B12, folate, and calcium levels were collected from the patients.

Results: Of the NTD patients followed, 20 (44.4%) were male and 25 (55.6%) were female. The mean age of these patients was 21.71±33.53 months. While 34 (75.6%) of the patients had meningocele, 5 patients (11.1%) had meningocele and 6 patients (13.3%) had myeloschisis. The difference between the patient and control group means for serum IMA and serum prolidase activity was statistically significant (for both analyses; p=0.001). However, there was no statistically significant difference in prolidase activity between patients with myelomeningocele, meningocele and myeloschisis.

Conclusion: Serum IMA level, a good marker for oxidative stress, and serum prolidase activity, that plays an important role in collagen metabolism, were found to be two-fold high in myelomeningocele patients. These results show that examining the causes of the persistent elevation of serum prolidase activity and serum IMA level in myelomeningocele patients may contribute to elucidating the pathogenesis of NTDs.

Keywords: Ischemia Modified Albumin Myelomeningocele, Meningocele, Myeloschisis, Neural Tube Defect, Prolidase,

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....I
ÖZET.....II
ABSTRACT.....I
İÇİNDEKİLER.....III
SİMGELER VE KISALTMALAR.....V
ŞEKİLLER LİSTESİ.....VI
TABLOLAR LİSTESİ.....VII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....1
1. GENEL BİLGİLER.....3
1.1. Meningomyelosel Hastalığının Tanımı ve Etiyolojisi.....5
1.1.1. Embriyoloji.....6
1.1.2. Epidemiyoloji.....9
1.1.3. Risk faktörleri.....9
1.1.4. Tanı.....12
1.1.5. Tedavi.....14
1.1.6. Prognoz.....15
1.2. Prolidaz Enzimi.....18
1.2.1. Genetik ve Biyokimya.....18
1.2.2. Aktivite.....20
1.2.3. Prolidaz Enziminin Düzenleyici Rolü.....21
1.2.4. Prolidaz Enzimi Aktivitesi ile İlişkili Hastalıklar.....23
1.3. İskemi Modifiye Albümin (İMA).....26
1.3.1. Normal İnsan Serum Albümini (HSA).....26
1.3.2. Genetik ve Biyokimya.....27
1.3.3. İskemi Modifiye Albüminin (İMA) Oluşumu.....28

1.3.4. İskemi Modifiye Albümin Düzeyi ile İlişkili Hastalıklar 30
2. GEREÇ VE YÖNTEM..... 32
2.1. Araştırmanın Yeri ve Örneklemi 32
2.2. Hasta ve Kontrol Gruplarının Seçimi 32
2.3. Etik Kurul Onayı..... 32
2.4. Örneklerin Toplanması, Saklanması ve Hazırlanması..... 32
2.5. Biyokimyasal Analizler, Analizlerde Kullanılan Cihazlar ve Teknik Araç-Gereçler..... 33
2.5.1. Prolidaz Aktivitesi Tayini 33
2.5.2. İskemi Modifiye Albümin Tayini 35
2.6. İstatistiksel Analiz..... 36
3. BULGULAR 37
3.1. Tanımlayıcı İstatistikler 37
3.2. İki değişkenli istatistikler..... 40
3.2.1. NTD alt tiplerinin hasta özelliklerine ve serum ölçüm sonuçlarına göre karşılaştırılması..... 40
3.2.2. Hasta ve kontrol gruplarının serum prolidaz aktivitesine ve serum İMA düzeyine göre karşılaştırılması 42
4. TARTIŞMA..... 44
5. SONUÇ..... 51
6. KAYNAKÇA 52

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFP	α-fetoprotein
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CBS	Sistatiyonin β-2 sentaz
DALY	Engelliliğe ayarlanmış yaşam yılı
HSA	İnsan serum albümin
HİE	Hipoksik iskemik ensefalopati
İMA	İskemi modifiye albümin
Gly	Glisin
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
MSS	Merkezi sinir sistemi
MTHFD	Metilen tetrahidrofolat dehidrojenaz
MTHFR	5,10-metilen tetrahidrofolat redüktaz
MTRR	Metiyonin sentaz redüktaz
NTD	Nöral tüp defekti
PEPD	Peptidaz D
Pro	Prolin

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Spina bifida türleri 5
Şekil 2. Birincil nörülasyon. Gelişmekte olan embriyonun şematik gösterimi 8
Şekil 3. Prolidaz tarafından katalize edilen enzimatik reaksiyon. 19
Şekil 4. Prolidazın hücresel regülasyonda enzim aktivitesinden bağımsız rolü. 23
Şekil 5. Serum albüminin yapısı. HSA toplam üç alandan meydana gelmektedir. Her alan A ve B olmak üzere iki alt alandan oluşmaktadır. 28
Şekil 6. İskemik dokuda İMA oluşumu 29

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Spinal nöral tüp defektlerinin klinik sınıflandırması (14). 3
Tablo 2. Spinal anomalilerin embriyolojik gelişim aşamalarındaki kusurlara göre sınıflandırılması (15)..... 4
Tablo 3. Nöral tüp defektleri ile ilişkilendirilen risk faktörleri (28). 11
Tablo 4. Meningomyelosel lezyonunun çeşitli seviyelerdeki bulguları (44). 13
Tablo 5. Meningomyelosel ile doğan hastalarda fonksiyonel düzeyler (47) 17
Tablo 6. İskemi Modifiye Albümin İMA artışlarla ilişkili patolojiler 30
Tablo 7. Meningomyelosel hastalarının demografik özellikleri. 38
Tablo 8. Hastaların laboratuvar ölçümleri ile elde edilen sonuçların dağılım özellikleri 39
Tablo 9. NTD alt tiplerinin hasta özelliklerine göre karşılaştırılması 41
Tablo 10. NTD alt tiplerinin serum ölçüm sonuçlarına göre karşılaştırılması 42
Tablo 11. Tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları 43

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meningomyelosel, primer nörülasyon sırasında nöral tüpün kusurlu şekilde kapanması sonucu meydana gelen doğumsal bir merkezi sinir sistemi (MSS) anomalisidir. Nöral tüpün oluşma süreci 19. günde primitif çizginin oluşmasıyla başlamakta, nöral kıvrımların orta hatta birleşerek nöral tüpü oluşturmasıyla kapanma gerçekleşmektedir. Bu sürecin beyin ve omuriliğin buluştuğu beşinci somit seviyesinde başladığı ve nöral kıvrımların fermuar benzeri bir şekilde birleşmesi ile hem kranial hem de kaudal olarak ilerlediği gösterilmiştir. Aynı zamanda, ön beyinde ikinci bir kapanma yeri belirmekte ve füzyon 2 yönde devam etmektedir. Anterior nöropor 25. günde, posterior nöropor ise 28. günde kapanmaktadır. Nöral doku ile bu yapıları örten mezoderm ve ektoderm arasındaki sinyal sistemini etkileyen bozukluklar, nöral tüpün kaynaşmamış kısımlarını örten kemik ve bağ dokuda kusurlara neden olabilmektedir (1).

Beyin ve omurganın ciddi doğum kusurları olan nöral tüp defektleri (NTD), önemli ve önlenebilir bir halk sağlığı yükü oluşturmaktadır. Dünya genelinde, her yıl yaklaşık 300.000 bebeğin NTD ile doğduğu ve bu bebeklerin yaklaşık 88.000'inin öldüğü ve aynı zamanda 8.6 milyon engelliliğe ayarlanmış yaşam yılı (DALY) kaybına neden olduğu tahmin edilmektedir. Düşük gelirli ülkelerde NTD'ler, gözlemlenebilen doğum kusurlarına bağlı neonatal ölümlerin %29'undan sorumlu olabilmektedir. Ayrıca, dünya çapında bulaşıcı hastalıklardan kaynaklanan morbidite ve mortalite azalırken doğum kusurlarının 5 yaş altı morbidite ve mortaliteye katkısı orantılı olarak artmaya devam edeceği belirtilmektedir (2, 3, 4).

Gen-gen, gen-besin ve gen-çevre etkileşimlerinin (besin dışı) NTD gelişimine katkıda bulunabileceği bilinmektedir. Çok sayıda genin, enzimin, büyüme faktörünün ve reseptörün nöral tüp gelişiminin henüz bilinmeyen mekanizmalarla kontrol edilmesinde etkileşime girdiği düşünülmekle beraber klinik veya deneysel çalışmalarda, NTD gelişiminde bu faktörlerden herhangi birinin net bir rolü olduğuna dair kesin bir kanıt elde edilememiştir (5).

Folat metabolizmasında rol alan genler ve enzimler, diğer genlere göre daha kapsamlı olarak çalışılmıştır. Önceki çalışmalarda, özellikle 5,10-metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), Metilen tetrahidrofolat dehidrojenaz (MTHFD), Sistatiyonin β-

sentaz (CBS), Metiyonin sentaz (MTR), Metiyonin sentaz redüktaz (MTRR) ve Folat Reseptörü α ve β üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. NTD patogenezinde rol alma olasılığı bulunan diğer enzimlere ilişkin çalışma sayısı oldukça düşüktür (5).

Prolidaz enzimi (peptidaz D, EC. 3.4.13.9), birincil yapılarında büyük miktarda prolin/hidroksiprolin içeren, biyolojik açıdan önemli birçok molekülün metabolizmasıyla ilgili bir sitozolik metalo-enzim olup kolajenlerin yapısındaki prolin/hidroksiprolin kalıntılarının geri dönüştürülmesinde kilit bir role sahiptir. Prolidaz enziminin aktivitesinde azalma veya artış ile ilişkili sorunların, insanlarda MSS hastalıkları da dahil olmak üzere birçok hastalığa yol açabileceği bilinmektedir. Prolidaz aktivitesinin düşük olduğu hastalarda değişken başlangıçlı (erken çocukluktan yetişkinliğe kadar) ciddi deri lezyonları, vasküler anomaliler ve değişken derecelerde zihinsel bozukluk ve gelişimsel gecikmeyi içeren oldukça farklı sağlık sorunları ile karşılaşılabilmektedir (6).

Prolidaz enzimi aktivitesinin ekstra selüler matriks yapısının düzenlenmesinde önemli bir işleve sahip olduğu bilinmektedir. Bu işlevin bozulmasının, beyin gelişimini etkileyen meningeal kusurlara yol açarak bazal membran bütünlüğünün kaybına ve serebral korteksin hücre mimarisinin bozulmasına neden olduğu belirtilmektedir (7).

Albümin, insan vücudunda en çok bulunan proteinlerden biri olup yaklaşık %40'ı kan dolaşımında dolaşmaktadır. Ayrıca lenf, interstisyel ve beyin omurilik sıvıları dahil olmak üzere çoğu hücre dışı sıvının önemli bir bileşenini oluşturan albümin, oksidatif stres, reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) üretimi ve asidoz gelişimi ile ilişkili iskemik atakların varlığında bazı değişikliklere uğramaktadır. Bu albümin varyantına iskemi modifiye albümin (İMA) adı verilmiştir (8). Daha önce yürütülmüş çalışmalarda, İMA'nın akut inme, Alzheimer hastalığı, depresyon, şizofreni, bipolar hastalık ve yenidoğan hipoksik iskemik ensefalopatisi (HİE) ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (9, 10, 11, 12).

Bu çalışmada, meningomyelosel nedeniyle tedavi almış veya tedavi almakta olan çocuklarda ve aynı serviste meningomyelosel tanısı olmayan hastalarda kan prolidaz ve İMA düzeylerinin ölçülmesi ve bu enzimlerin meningomyelosel patogenezindeki rolünün araştırması amaçlanmıştır.

1. GENEL BİLGİLER

Nöral tüp defektleri (NTD), tipik olarak embriyogenez sırasında nöral tüpün anormal gelişimi ve/veya kapanması sonucu ortaya çıkan konjenital malformasyonlardır. MSS gelişimi, distal gastrointestinal ve idrar yolları gibi diğer yapılara ek olarak omurların, paravertebral kasların ve üstteki derinin gelişimi ile yakından bütünleşen ve oluşum zamanlaması ve düzenlenmesi çok hassas olan bir süreçtir (13).

NTD terimi MSS'nin anormal gelişimini ifade ederken, daha geniş anlamda NTD'ler, MSS sorunlarına ek olarak omurların, paravertebral kasların ve derinin anormal gelişimini de içerebilmektedir. NTD'ler ayrıca tamamen kapanmamış nöral dokular ve sızan beyin omurilik sıvısı (BOS) bulunmasına göre açık veya açıkta olmayan ve BOS sızdırmayan nöral dokular bulunmasına göre kapalı olarak sınıflandırılmaktadır (Tablo 1, 2) (13).

Tablo 1. Spinal nöral tüp defektlerinin klinik sınıflandırması (14).

• **Açık nöral tüp defektleri**
Meningomyelosel
Miyeloşizis
Hemimyelomeningosel
• **Kapalı nöral tüp defektleri**
Meningosel
Posterior - lomber, sakral ve torasik
Posterior - servikal ve sınırlı dorsal miyeloşizis
Ön-sakral
Miyelosistosel
Lipomatöz malformasyon
Anormal filum terminali
Konjenital dermal sinüs
Bölünmüş kordon malformasyonu
Nörenterik kist
Kaudal regresyon ile ilişkili nöral tüp defekti

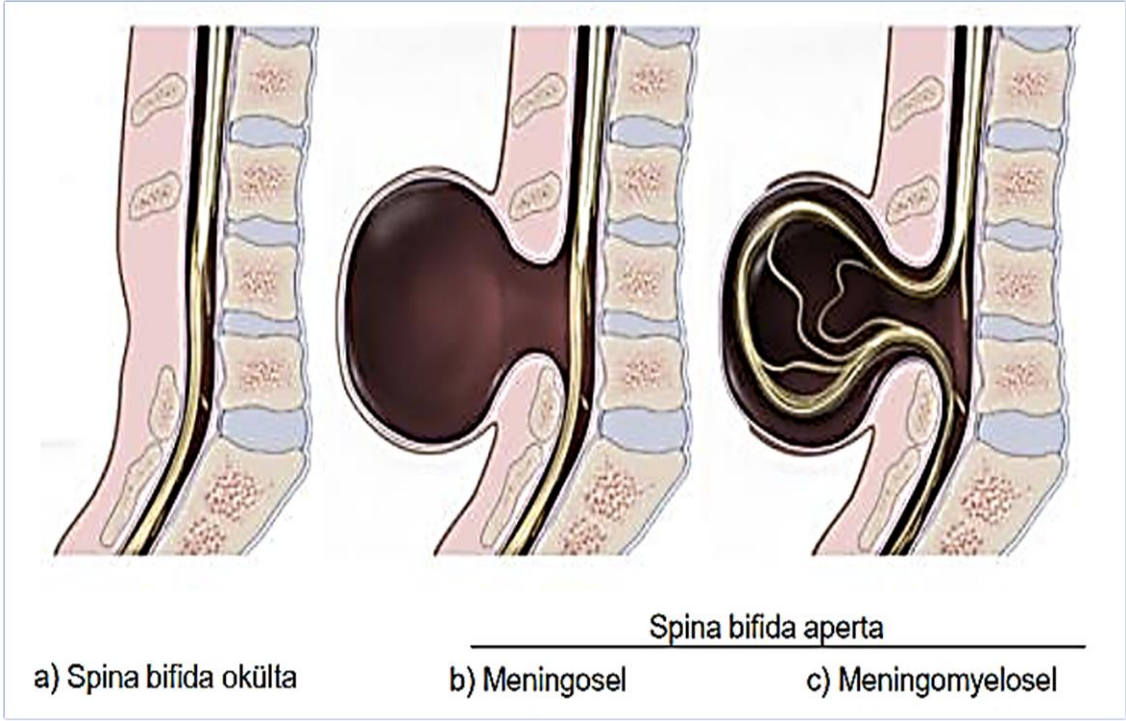
Tablo 2. Spinal anomalilerin embriyolojik gelişim aşamalarındaki kusurlara göre sınıflandırılması (15).

A. Nörülasyon evresi kusurlarına bağlı disrafizmler
1. Spina bifida aperta a. Myeloşizis b. Meningomyelosel c. Hemimenigomyelosel d. Siringomenigomyelosel e. Meningosel 2. Chiari malformasyonu 3. Dandy Walker malformasyonu 4. Kraniyum bifidum 5. Okkült kraniyal disrafizm 6. Ayrık omurilik anomalisi (split kord malformasyonu-diastomatomyeli) 7. Nöroenterik kist 8. Anterior sakral meningosel 9. Konjenital spinal dermal sinüs 10. Lumbosakral lipoma 11. Anterior ve posterior spina bifida birlikteliği
B. Kuyruk tomurcuğunun rekanalizasyonu (sekonder nörülasyon) evresi kusurlarına bağlı disrafizmler
1. Gergin omurilik sendromu (tedhered kord sendromu) 2. Okkült intrasakral meningosel 3. Basit okkült spina bifida

Spina bifida, disrafik lezyonlar için en sık kullanılan terim olup embriyolojik gelişim sırasında bir veya daha fazla vertebral arkın füzyon kusuru olarak tanımlanmaktadır. Spina bifidanın alt tipleri, nöroektoderm tutulumuyla ilişkili

malformasyonun derecesine dayanmaktadır. Spina bifida okülta ve spina bifida aperta olarak alt bölümlere ayrılabilmektedir (14).

Spina bifida okülta veya kapalı spinal disrafizm, gizli bir vertebral defekt ve minimal nöral tutulum içeren NTD'lerin en hafif şeklidir. Spina bifida aperta veya açık spinal disrafizm, nöral dokuların meningosel ve miyelomeningosel gibi dış ortamla ilişkili olduğu durumları tanımlamak için kullanılmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Spina bifida türleri *(16).*

Meningomyelosel en sık görülen açık nöral tüp defektidir. Embriyonik gelişim sırasında (döllenmeden sonraki dördüncü hafta) nöral tüpün lumbosakral bölgede kapanmaması ve sonuç olarak vertebral defektten meninkslerin ve omuriliğin herniasyonuna yol açması ile karakterizedir (17).

1.1. Meningomyelosel Hastalığının Tanımı ve Etiyolojisi

Meningomyelosel, en basit tanımı ile meninkslerin ve sinir dokusunun açık vertebral arktan protrüzyonudur (13). Medulla spinalisin herhangi bir bölgesinde görülebilmektedir. En sık görülen omurga düzeyi genelde lumbosakral bölge iken, bunu

sırasıyla lomber, torakolomber ve torakal omurga düzeyi takip etmektedir. En az sıklıkla etkilenen omurga düzeyi ise servikal bölgedir (18, 19).

1.1.1. Embriyoloji

Nöral tüpün ve çevreleyen dokuların oluşumu, gastrulasyon, birincil nörülasyon, ikincil nörülasyon ve mezodermal-kütanöz ektodermal tabakaların kapanması olmak üzere dört aşamadan oluşmaktadır. Gastrulasyon, embriyonun endodermal, mezodermal ve ektodermal katmanlarını içeren trilaminar plakanın belirgin hale geldiği 16. ve 18. günlere kadar yürüyen süreçtir. Sonrasında, ektodermal tabaka, kutanöz ve nöral ektoderm olarak farklılaşmaktadır. Nöral ektoderm, embriyonun dorsal yüzeyi boyunca longitudinal düzlemde gelişen nöral plağı meydana getirmektedir. Nörülasyon, nöral plakanın tüm MSS'yi meydana getiren nöral tüpe dönüşümüyle sonuçlanan olayları ifade etmek için kullanılmaktadır. Sakral seviyeye kadar beyin ve omuriliğin oluşumu birincil nörülasyon, omuriliğin sakrokoksigeal segmentlerinin oluşumu ile ilgili olaylar ise ikincil nörülasyon olarak tanımlanmaktadır (20).

Birincil nörülasyon

Birincil nörülasyon, embriyonun dorsal nöral ektoderminden üst sakral seviyeye kadar nöral tüpün oluşumu ve bu yapının diğer germ hücre katmanlarından ayrılmasıyla sonuçlanan bir dizi olayı tanımlamaktadır (21). Konsepsiyon sonrası 18. günde dorsal nöral ektodermin köken aldığı ektodermal tabakadan farklılaşmasıyla nöral plak oluşmuştur. Daha sonra, nöral plağın yan kenarları nöral kıvrımlar halinde yükselmekte ve aynı zamanda, nöral plağın orta hattı içeriye doğru yönelerek boşluk oluşturmaktadır. Nöral kıvrımlar, nöral tüpün kapanmasını başlatmak üzere orta hatta buluşana kadar dorsomedial yönde yükselmeye devam etmektedir. İnsan embriyosunda, nöral kıvrımların ilk füzyonu, konsepsiyon sonrası 22. günde meydana gelen ve daha sonra arka beyin-servikal bileşkenin (foramen magnum) oluşacağı seviyede görülmektedir. Kapanma genellikle ön nöral tüpü oluşturmak için rostral ve arka nöral tüpü oluşturmak için kaudal olarak ilerlemektedir (22, 23).

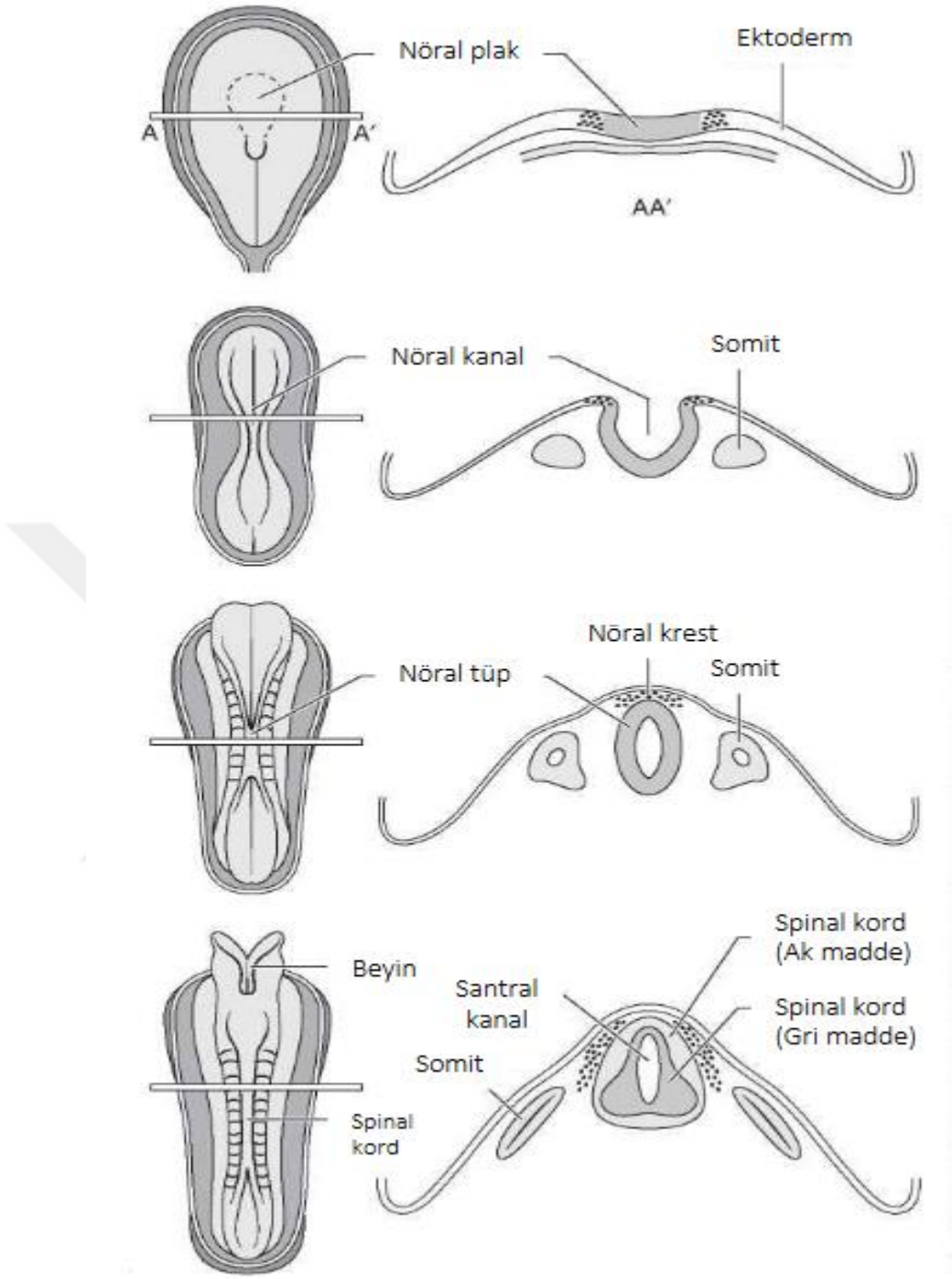
Nöral tüpün kapanması sırasında, en dorsal bölgedeki hücreler, daha sonra gangliyonları, schwann hücrelerini, pia ve araknoid hücreleri, melanositleri, adrenal

medulla hücrelerini ve baş ve yüzün bazı iskelet elemanlarını oluşturacak olan nöral kresti meydana getirmek üzere nöral tüpten ayrılmaktadırlar (Şekil 2) (24).

İkincil nörülasyon

İkincil nörülasyon, birincil nörülasyonun tamamlanmasıyla başlayan kaudal nöral tüpün oluşum sürecini tanımlamaktadır. Bu süreçte, konus medullaris, kauda ekina ve ayrıca genitoüriner sistem ve arka bağırsak bileşenleri meydana gelmektedir. Konsepsiyon sonrası 28 ila 32 gün/gün arasında kaudal hücre kütlesi, vakuolasyon, birleşme ve kanalizasyona uğramaya başlamakta; bu süreçler, ortalama 7. haftada sona ermektedir. Bu noktada vakuoller, daha önce birincil nörülasyonla oluşmuş nöral tüp kanalına bağlanmaktadır (25).

Genel bir kural olarak, çoğu açık nöral tüp defektinin birincil nörülasyon ile ilişkili sorunlardan, çoğu kapalı nöral tüp defektinin ise sekonder nörülasyon ile ilişkili sorunlardan kaynaklandığı kabul edilmektedir. Bununla birlikte, bu kuralın istisnaları da bulunmaktadır. Örneğin, daha yüksek düzeydeki (torasik ve servikal) miyelomeningosel olgularında lezyon ciltle kaplı olabilmekte ve sakral düzeydeki lezyonlar bazen açık olabilmektedir (26).



Şekil 2. Birincil nörülasyon. Gelişmekte olan embriyonun şematik gösterimi: dışarıdan görünüm (solda) ve gelecekte omuriliği oluşturacak yapının yaklaşık olarak tam ortasından enine kesit görünüm. Ayrıca, nöral plak, nöral tüp ve nöral krest hücrelerinin oluşum yerleri (27).

1.1.2. Epidemiyoloji

Meningomyelosel, en yaygın rastlanan yaşam ile bağdaşan nörülasyon bozukluğudur. Bir çalışmada, meningomyeloselin spina bifida lezyonlarının %86,8'ini oluşturan en yaygın anatomik tipi olduğu gösterilmiştir (28).

Spina bifidanın en yaygın türü olmakla birlikte meningomyeloselin gerçek prevalansı coğrafi olarak değişkenlik göstermektedir. Güney Afrika'da yürütülmüş bir çalışmanın sonucunda, meningomyelosel insidansı 1000 canlı doğumda 0,77-6,1 olarak saptanmış ve kırsal alanlarda daha da yüksek bir insidansın olduğu öne sürülmüştür (29). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılmış çalışmalarda, meningomyelosel insidansının 1000 canlı doğumda yaklaşık 0,2 ila 0,4 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, bu ülkede bulunan Latin popülasyonunda insidansın daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada, kadınlarda, erkeklere göre 3-7 kat daha fazla risk bulunduğu gösterilmiştir (30).

Gelişmiş ülkelerde, prenatal tanının daha yaygın kullanılması sayesinde NTD'lerin erken tespiti ve gebeliğin elektif olarak sonlandırılması nedeniyle NTD ile doğan bebek insidansının daha düşük olmasına katkıda bulunduğu belirtilmektedir (31).

Meningomyeloselin görülme sıklığı açısından belirgin ırksal farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin, Çin'in bazı bölgelerinde, Afrika'nın bazı bölgelerinde, orta doğuda, Tayland'da ve Hindistan'da meningomyelosel insidansının birkaç kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu ülkelerde uygulanan folat takviyesi yönergelerinin de bu farklılıklarda rol oynayabileceği belirtilmektedir (4, 17).

1.1.3. Risk faktörleri

Çeşitli klinik prezentasyonlara rağmen, tüm açık nöral tüp defektlerinin riski folat takviyesi ile azalmaktadır. Bu durum, altta yatan ortak bir mekanizma olduğunu göstermektedir. Kromozom anomalileri en sık tanımlanan genetik kusur olup bu hastalarda sıklıkla karyotipleme veya mikroarray yapılmaktadır. Bununla birlikte, nöral tüp defekti bulunan hastaların genetik yönden değerlendirilmesi konusunda fikir birliği bulunmamaktadır. Nadir olarak, bazı ailelerde, açık nöral tüp defektleri otozomal resesif veya baskın kalıtım ile oluşmaktadır (32).

Meningomyeloselin sadece %5'i pozitif aile öyküsü olan ailelerde görülürken, bu vakaların %95'inin aile öyküsü olmayan kadınların çocuklarında spontan olarak ortaya çıktığı belirtilmektedir (33).

Cinsiyet açısından değerlendirildiğinde, meningomyelosel sıklığına ilişkin elde edilen verilerin çelişkili olduğu görülmektedir. Nijerya'da ve Britanya'da yürütülen çalışmalarda erkeklerde daha sık görüldüğü saptanırken Japonya'da ve Macaristan'da yürütülen çalışmalarda aksi sonuçlar elde edilmiştir (28, 34, 35, 36).

Mevcut kanıtlar, folat metabolizmasındaki ve planar hücre polaritesinin belirlenmesinde görev alan genlerdeki bozuklukların açık nöral tüp defektlerine yol açabileceğini göstermektedir. Ayrıca, açık nöral tüp defektlerinin prevalansının, muhtemelen genetik ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık etkileşimleri yansıtacak şekilde, etnik köken ve coğrafyaya göre belirgin şekilde değiştiği bilinmektir. Çevresel risk faktörleri arasında diyet ile yetersiz folat alımı, Valproik asit kullanımı, hipertermi, obezite, diyabet ve radyasyon yer almaktadır (Tablo 3). Özellikle, folat takviyesinin açık nöral tüp defektlerinin birincil ve ikincil önlenmesinde önemli bir faktör olduğu genel kabul gören bir yaklaşım haline gelmiştir (32).

Nöral tüp defektlerinin insidansı, düşük sosyoekonomik durum ve ileri anne yaşı ile artmaktadır. Bebeğinde meningomyelosel saptanan annelerin bir sonraki doğumunda meningomyelosel bulunması olasılığının %2-3 civarında olduğu bildirilmiştir (37).

Tablo 3. Nöral tüp defektleri ile ilişkilendirilen risk faktörleri *(30)*.

• Kromozomal ve genetik durumlar
o Ebeveynde veya kardeşte nöral tüp defekti öyküsü o Trizomi 18 ve 13 o Meckel-Gruber sendromu (böbrek kistleri, nöral tüp defektleri ve polidaktili). o Roberts, Jarcho-Levin (Porto Riko'da yüksek insidansa sahip bir sendrom, omurgada çoklu kusurlar ve yelpaze benzeri kaburga anomalileri mevcut) o HARD sendromu (Hidrosefali, agyria ve retinal displazi), o VACTERAL ve VATER o X kromozomu ilişkili diğer nöral tüp defektleri.
• Normal nöral tüp oluşumunu bozan amniyotik bantlar
• Annenin çevresel faktörlere maruz kalması
o Alkol kullanımı, kafein alımı, sigara içme, hava kirliliği, içme suyundaki dezenfektan yan ürünleri, organik çözücülere, böcek ilaçlarına, nitratla ilgili bileşiklere, polisiklik aromatik hidrokarbonlara maruz kalma. o Annede ateş veya hipertermi (özellikle ilk trimesterde)
• Annede gelişen tıbbi durumlar
o Yüksek glisemik indeks ve gestasyonel diyabet mellitus, enfeksiyonlar, obezite ve stres
• Annedeki beslenme yetersizliği
o Folat, metiyonin, çinko, C vitamini, B12 vitamini ve kolin.
• Annenin kullandığı ilaçlar
o Valproik asit, karbamazepin ve metotreksat gibi çeşitli folik asit antagonistleri

1.1.4. Tanı

Nöral tüpün kapanmaması, fetal maddelerin (α-fetoprotein [AFP], asetilkolinesteraz) amniyotik sıvıya atılmasına yol açmakta ve bu maddeler NTD için biyokimyasal belirteç görevi görmektedir. Gebeliğin 16.-18. haftalarında AFP tespiti için maternal serumda yapılan tarama, risk altındaki gebelikleri belirlemede etkili bir yöntemdir.

Ultrasonografi, güvenliği, maliyet etkinliği ve duyarlılığı nedeniyle NTD'ler dahil olmak üzere fetal anomalilerin saptanması için invazif olmayan bir tarama seçeneğidir. Mevcut ultrasonografi cihazları, ayrıntılı fetal görüntülemeye olanak tanımaktadır. Tüm 2. trimester gebeliklerde rutin olarak önerilmekte ve açık/kapalı nöral tüp defektleri için maternal serum AFP taramasından daha etkili bir tarama olduğu belirtilmektedir (38).

Nöral tüp defektlerinin görüntülenmesi, fetal manyetik rezonans görüntülemenin (MRG) kullanıma girmesi ile büyük ölçüde değişmiştir. Ultrasonografi, nöral tüp defektlerinin değerlendirilmesinde birincil görüntüleme yöntemi olarak kullanılmaya devam ederken, maternal obezite, oligohidramnios ve suboptimal fetal pozisyon gibi doğru tanıları engelleyebilecek bilinen sınırlılıkları mevcuttur. MRG bu sorunlardan daha az etkilenmekte ve şüpheli ultrasonografi bulgularını doğrulamak ve ek merkezi sinir sistemi anormalliklerini dışlamak için yararlı olabilmektedir (39) (40). Ultra hızlı fetal MRG, meningomyeloselin doğum öncesi değerlendirilmesinde standart bir araç haline gelmiştir (41).

Yenidoğanda tanı, genellikle sırttaki belirgin ölçüde görülebilen lezyon nedeniyle kolaydır. Vertebral kolon defektinden, zarla kaplı kese içerisinde meninksler, BOS ve sinir dokusu görülmektedir. Meningomyeloselin klinik özellikleri lezyonunun içerisindeki dokular, hidrosefali varlığı ve ilişkili beyin anormallikleri ile belirlenmektedir (30).

Bununla birlikte, yenidoğanlar 6. haftaya kadar asemptomatik kalabilmektedir. Hidrosefali varlığında, artmış kafa içi basıncının klinik belirtileri (baş çevresinde büyüme, irritabilite, uyuşukluk ve yukarı bakışta sınırlılık) bulunabilmektedir (42). Duyu, motor ve sfinkter fonksiyonlarındaki bozulma lezyonun seviyesine bağlıdır

(Tablo 4). Spina bifida hastalarının yaklaşık %97'sinde barsak ve mesane işlevi bozulmuştur. İliopsoas ve kuadriseps gibi yerçekimine karşı koyan kaslarda fonksiyon kaybı nedeniyle ambulasyon sorunları sık görülmekte ve bu orunlar genellikle yaşla birlikte ilerlemektedir. Meningomyelosel bulunan çoğu bebekte alt ekstremitelerde ve gövdenin lezyon seviyesinin altında kalan bölgesinde tam felç ve duyu kaybı görülmektedir (43).

Tablo 4. Meningomyelosel lezyonunun çeşitli seviyelerdeki bulguları *(44)*.

Paralizi seviyesi	
T12	Alt ekstremitedeki tüm kasların tam paralizisi
L1	Zayıftan ortaya doğru kalça fleksiyonu, sartoryus kasında ele gelen kontraksiyon
L2	Güçlü kalça fleksiyonu ve orta derecede kalça addüksiyonu
L3	Normal kaça addüksiyonu ve neredeyse normal diz ekstansiyonu
L4	Normal kaça addüksiyonu, diz ekstansiyonu ve ayağın dorsifleksiyon/ inversiyonu
L5	Normal kaça addüksiyon, fleksiyon ve lateral rotasyonu; orta abdüksiyon; normal diz ekstansiyonu, orta fleksiyon; normal ayak dorsifleksiyonu; kalça ekstansiyonu yok (dorsifleksiyonda ayak ve fleksiyonda uyluğa neden olmaktadır).
S1	Normal kalça fleksiyonu ve abdüksiyon/addüksiyonu, orta ekstansiyon ve lateral rotasyon; güçlü diz fleksiyonu ve ayağın inversiyon/ eversiyonu; ayağın orta plantar fleksiyonu, tüm ayak parmaklarının ekstansiyonu, sadece ayağın baş parmağının terminal falanksının fleksiyonu; normal medial ve lateral kalça rotasyonu; ayağın intrensek kaslarının tam paralizisi (addüktör ve fleksör hallusis brevis hariç; ayak parmaklarında pençeleşmeye ve ayak tabanında düzleşmeye yol açmaktadır.
S2	Klinik olarak anormallik saptamak güçtür; büyüme ile ayak tabanında (S3 ile inerve olan) intrensek kasların güçsüzlüğüne bağlı ayak parmaklarında pençeleşmeye yol açmaktadır.

1.1.5. Tedavi

Meningomyelosel saptanan yenidoğan için doğum salonunda rutin bakım yapılması, ancak sırttaki lezyonunun kontaminasyondan korunması gerektiği belirtilmektedir. Merkezi sinir sistemi enfeksiyonunu önlemek için açık lezyonun üstü kapatılır ve bebeğe lezyon cerrahi olarak kapatılana kadar parenteral antibiyotik verilmelidir. Tipik olarak sırttaki lezyon cerrahi olarak 72 saat içinde kapatılmaktadır. Lezyon düzeyinin ve etkilenen yapıların belirlenmesi için bebek nörolojik açıdan değerlendirilmelidir (45).

Meningomyelosel bulunan fetüslerde, intrauterin sinir sistemi hasarının ilerleyici olduğu gösterilmiştir. İlk lezyona bağlı gelişen anatomik kusurun kendisinin ve ardından sinir dokusunun amniyotik sıvıya sürekli maruz kalmasına bağlı olarak ikinci bir lezyonun meydana geldiği belirtilmektedir. Bu nedenle, lezyonun hızlı bir şekilde kapatılmasının, nöral dokunun amniyotik sıvıya maruz kalmasını engelleyerek doğum prognozu düzeltebileceği düşünülmüş ve doğum öncesi onarım yaklaşımı önerilmiştir (46).

Meningomyelosel tedavisinde fetal cerrahi giderek yaygınlaşmaktadır. Doğum öncesi cerrahinin etkinliğini doğum sonrası onarıma karşı karşılaştıran bir randomize kontrol çalışması, doğum öncesi cerrahinin belirgin daha iyi sonuçları nedeniyle erken sonlandırılmıştır. Adzick ve ark. tarafından yürütülen bu çalışmada, doğum öncesi cerrahinin şant ihtiyacında azalma ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir (doğum öncesi grupta %40 ve doğum sonrası cerrahi grubunda %82). Ayrıca doğum öncesi cerrahi geçiren çocukların 30. ay zihinsel gelişim ve motor fonksiyonlarının daha iyi olduğunu sonucuna varılmıştır (46). Bunun yanında, doğum öncesi onarımın, sadece mevcut gebelikte değil, sonrasındaki gebeliklerde de uterusun incelmesi veya yırtılması dahil olmak üzere ciddi maternal morbidite ile ilişkili olduğu bilinmektedir (47).

Kifoz gibi omurga eğriliklerini ve yumru ayak gibi eklem kontraktürlerini belirlemek için ortopedik değerlendirme yapılmalıdır. Böbrek fonksiyonunu değerlendirmek ve hidronefrozu veya at nalı böbrek gibi diğer böbrek anomalilerini dışlamak için kreatinin ve kan üre nitrojen ölçümü ve renal ultrasonografi dahil olmak üzere ürolojik değerlendirme yapılmalıdır. Reflüyü değerlendirmek ve antibiyotik

profilaksisinin endike olup olmadığını belirlemeye yardımcı olmak için işeme sistoüretrografisi yapılmalıdır. Hidrosefali ve Chiari II anomalisinin değerlendirilmesi için ultrasonografi veya MRG kullanılarak kraniyal görüntüleme yapılmalıdır. Hidrosefali tedavisine yol gösterici olması için günlük baş çevresi ölçümü, irritabilite gibi nörolojik belirtilerin izlenmesi ve tekrarlanan kraniyal görüntüleme uygulanmalıdır. Serebral ventriküllerde önemli ölçüde genişleme bulunuyorsa, ventriküllerin rahatlatılması için ameliyat yapılmalıdır (45).

Meningomyelosel hastalarında uzun vadede yönetilmesi gereken sorunlar arasında bilişsel işlev bozukluğu, kalça ve omurga deformiteleri (anormal kas tonusu nedeniyle), obezite ve cinsel işlev bozukluğu yer almaktadır. Meningomyelosel ile doğan bireylerin küçük bir kısmında zihinsel yetersizlik bulunmasına rağmen, birçoğu okulda, özellikle yönetici işlevler (davranışın bilişsel kontrolü için gerekli olan bir dizi bilişsel süreç) ve ince motor becerilerinde zorluklar yaşamaktadır. Kalça displazisinin ve skolyozun yönetimi, işlevi en üst düzeye çıkarmak ve ağrıyı en aza indirmeye yönelik fizik tedavi, destekleyici araçlar ve ameliyatı içerebilmektedir. Birçok hasta büyük kas gruplarını kalori harcamak için kullanamadığından obezite gelişimi kolaylaşmakta ve ayrıca, üst ekstremitelerin kullanılarak egzersiz yapılması aşırı kullanıma bağlı yaralanmalarına neden olabilmektedir (32).

1.1.6. Prognoz

Meningomyelosel tanısının gecikmesi, kötü prognoz ve düşük hayatta kalma oranı ile ilişkilidir. Az gelişmiş ülkelerde bebek ölümlerinin yaklaşık %50'sinden sorumludur. Ayrıca, gecikmiş ve ihmal edilmiş yönetimin bağımlılık, hareketsizlik, fonksiyonel yetersizlik, kas zayıflığı, mesane ve bağırsak disfonksiyonu gibi çeşitli komplikasyonlarla ilişkisi bulunmaktadır (48). Ayrıca, hidrosefali gibi diğer bozuklukların da eşlik etmesi durumunda meningomyelosel hastalarında ölüm oranını artmaktadır (49).

Meningomyelosel bulunan hastalarda motor felç ve duyu kaybının boyutu, omurilikteki kusurun konumuna ile ilişkilidir; Lezyonun bulunduğu noktanın altındaki duyusal ve motor fonksiyonlar tipik olarak bozulmuştur. Battibugli ve ark.

meningomyelosel için yaptıkları işlevsel bir sınıflandırma ile üç kategori belirlemiştir (Tablo 5) (50).

İlk grup, torasik veya yüksek bel seviyesinde lezyonları olan ve kuadriseps kuvveti olmayan çocukları içermektedir. Bu kişiler evde gezinmek için kapsamlı bir desteğe ihtiyaç duymakta ve erken yaşlardan itibaren tekerlekli sandalye kullanmaktadır. İkinci grup, L3 ve L4 seviyelerinin etkilendiği ve iyi kuadriseps gücüne ve medial hamstring işlevine sahip olan ancak gluteus medius ve gluteus maximus işlevlerinin bozulduğu çocukları içermektedir. Bu durum, diz ekleminin medial yönünü zorlayan ve enerji açısından verimsiz olan Trendelenburg yürüyüşü ile sonuçlanmaktadır. Bu çocuklarda, ilerleyen yıllarda gelişebilecek diz eklemi artritini önlemek, fonksiyonel hareketliliği sağlamak ve postürü korumak için ayak bileği-ayak ortezleri ve koltuk değneklerinin kullanması önerilmektedir. Bu gruptaki çocukların çoğu yetişkinlikte uzun mesafeler için tekerlekli sandalye kullanmayı tercih etmektedir (45).

Üçüncü grup, sakral seviyede lezyonlarla doğan çocukları içermektedir. Bu çocuklar, yüksek sakral seviye lezyonuna bağlı ayak bileği plantar fleksörlerinde zayıflığa sahip olanlar ve daha düşük sakral seviye lezyonuna bağlı ayağın iç kaslarında bir miktar zayıflığa sahip ancak gastroknemius kuvveti iyi ve fark edilebilir yürüyüş anormalliği bulunmayanlar olarak alt gruplara ayrılabilmektedir. Bu kategorideki tüm çocuklar, yaşam boyu ambulasyon açısından çok iyi prognoza sahiptir. Plantar fleksörleri zayıf olanlar bilek-ayak ortezlerinden fayda görmekte ve genellikle koltuk değneği kullanma ihtiyacı bulunmamaktadır (45).

Tablo 5. Meningomyelosel ile doğan hastalarda fonksiyonel düzeyler (50).

Grup	Fonksiyonel düzey
Yüksek torasik-lumbal	Uzun bacak (yüksek) destekleri kullanarak kısa mesafelerde yürüyebilmektedir. Erken ergenlikten itibaren çoğu hasta mobilite için tekerlekli sandalye kullanmaktadır.
Düşük lumbal	Kısa bacak destekleri ve ön kol koltuk değnekleriyle yürüyebilmektedir.
Yüksek sakral	Bileği ve ayağı stabilize etmek için destek kullanarak yalpalama ile yürüyebilmektedir. Yürüme yetisi genellikle ergenlik boyunca korunmaktadır.

Hastaların %90'ından fazlasında görülen nörojenik mesane, temiz aralıklı kateterizasyon, mesaneyi gevşetmek için kullanılan ilaçlar ve intraveziküler basıncı azaltmak ve kontinansı artırmak için uygulanan cerrahi müdahaleleri içeren titiz bir yönetim gerektirmektedir. Mesane sorunlarının iyi yönetilmemesi; reflü nefropatisi, tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları ve bazı hastalarda böbrek yetmezliği ile sonuçlanabilmektedir. Nörojenik bağırsak kötü sağlık sonuçları ile ilişkili olmasa da sosyal kontinans yetişkin bağımsızlığının kritik bir bileşeni olduğundan önemlidir. Bağırsak yönetimi, tuvalette rektumun tamamen boşalmasını desteklemek için davranışsal yaklaşımlar ve promotilite ajanlarıyla birlikte yüksek lifli bir diyet ve/veya ilaçlarla dışkı kıvamını korumayı içermektedir (51).

Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir araştırmaya göre, meningomyelosel hastalarının hayatta kalma oranı 1960-1985 arasında %60'tan %90'a çıkmıştır. Bu artışın, son yıllarda tıp ve cerrahideki gelişmelere ve ilerlemelere bağlı olduğu düşünülmektedir (52). Agresif tedavi ve erken cerrahi onarımının, meningomyelosel hastalarında nörolojik sorunları düzeltmede, hayatta kalma oranlarını artırmada ve uzun vadeli prognozu iyileştirmede etkili olduğu belirtilmektedir (53).

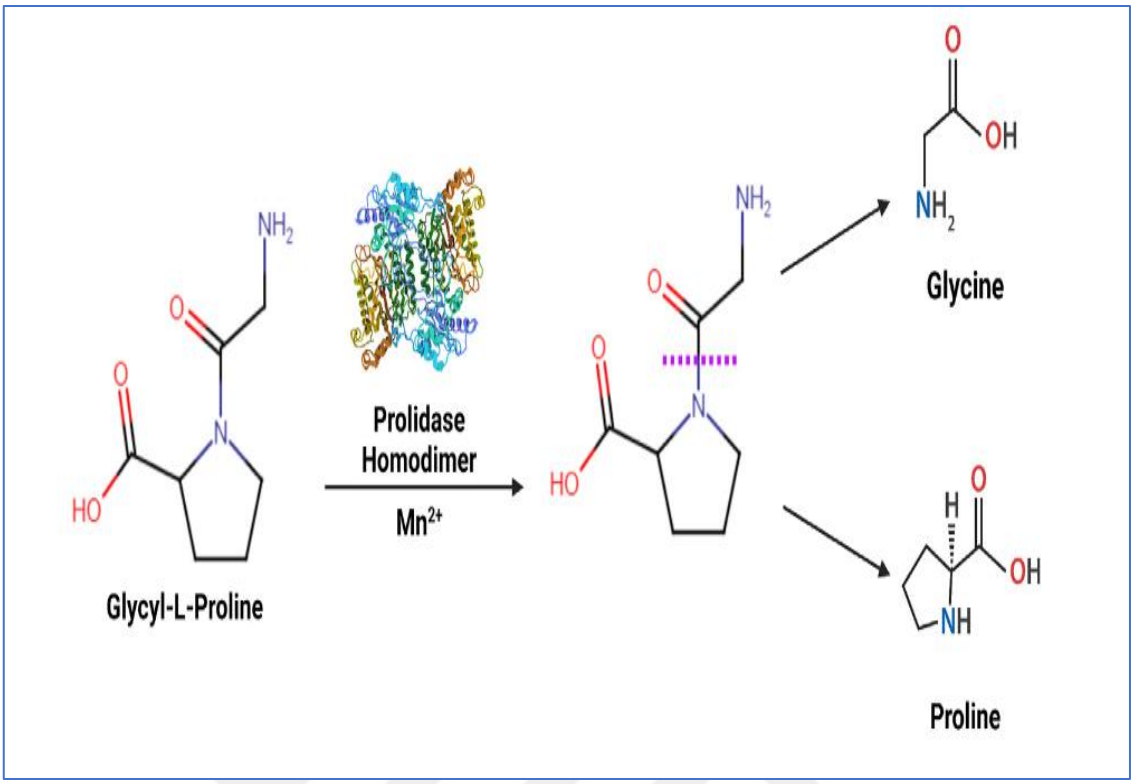
Spina bifida ile doğmuş kadınlarda doğurganlık belirgin bir şekilde azalmamakta, ancak anatomik farklılıklar, duyu bozuklukları ve hastalık bulunan çocuk sahibi olma riskinin artması nedeniyle gebe kalmaları durumunda yüksek riskli gebe olarak değerlendirilmelidir. Meningomyelosel bulunan erkek hastalar, azalmış doğurganlığa sahiptir (32).

1.2. Prolidaz Enzimi

Peptidaz D olarak da bilinen prolidaz, çeşitli memeli dokularında ve ayrıca mikroorganizmalarda bulunmuştur. Arkea, bakteri ve ökaryotlar olmak üzere her üç hücre tipinde de bulunmaktadır. Sitozolik bir enzim olup insan eritrositleri, fibroblastlar ve farklı bakteri suşları dahil olmak üzere çeşitli kaynaklardan saflaştırılmıştır. Prolidaz enziminin varlığı yaklaşık 75 yıldır bilinmektedir (54). Bergmann ve Fruton tarafından (1937) domuz intestinal mukozasının artıklarında aminopeptidaz ve karboksipeptidaz aktivitelerinin araştırılmasına yönelik yapılan çalışmada, glisin-prolin dipeptitinin bilinen diğer peptidazlardan farklı bir enzim aracılığıyla hidroliz edildiğini saptanmış ve bu enzim keşfedilmiştir (55).

1.2.1. Genetik ve Biyokimya

Prolidaz enzimi (EC 3.4.13.9), karboksiterminal bölümünde prolin veya hidroksiprolin içeren iminodipeptitleri parçalayan bir dipeptidaz olup kolajen metabolizması, matrisinin yeniden modellenmesinde ve hücre büyümesinde önemli bir rol oynamaktadır (Şekil 2). Glisil-prolin, prolidaz için en iyi substrattır. Manganeze ihtiyaç duyan homodimerik bir enzimdir (alt birim Mr ≈ 54.3KDa). İnsan prolidaz geni, kromozom 19'un kısa kolunda, 19q12→19q13.2 bölgesinde (PEPD geni), 130 kb üzerinde olup toplam 15 ekzondan oluşmaktadır (56).



Şekil 3. Prolidaz tarafından katalize edilen enzimatik reaksiyon. Prolidaz, C-terminal bölgede prolin veya hidroksiprolin kalıntısı (Xaa-Pro) içeren imidodipeptitlerin hidrolizini katalize eden bir metalopeptidazdır. Prolidaz tarafından hidrolize edilen bölge, kesikli çizgi ile gösterilmiştir (57).

En uzun izoform olan transkript varyant 1'in ürünü, 493 amino asitten oluşan standart proteindir. Buna karşılık, transkript varyantları 2 ve 3, merkezi kodlama bölgesinde iki ekzondan yoksun olup sırasıyla 452 ve 429 amino asitten oluşan proteinlere çevrilmektedir (58). İnsan prolidaz enziminin iki farklı izoformunun bulunduğu gösterilmiştir; I ve II. En yaygın olarak rastlanan prolidaz I (56 kDa), gli-pro ve ala-pro dipeptitler için daha yüksek afiniteye sahipken prolidaz II (95 kDa), met-pro için daha yüksek afiniteye ve gly-pro için çok düşük afiniteye sahiptir (59).

Yapısal olarak, insan prolidaz enzimi, her biri 493 amino asitten (AA) oluşan iki alt birimden oluşan bir homodimerdir. Bir alt birimin moleküler ağırlığı 58 kDa'dır. Her iki alt birim de N-terminal ve C-terminal bölgelerinden oluşmaktadır. Karboksil-terminal bölgesi (185-493 AA), "pita-bread" ailesinden (örneğin, aminopeptidaz P, metiyonin aminopeptidaz ve kreatinaz) peptidazlarla benzer bir yapıdadır (60). Bu

bölgede, enzimatik aktivitesi için Mn2+ iyonuna ihtiyaç duyan aktif bir merkez bulunmaktadır. Substrat (Gly-Pro), büyük oranda C-terminal bölgedeki aktif merkeze bağlanmaktadır (61). Zn2+, Mg2+, Ca2+, Co2+ gibi divalent katyonlar, PEPD'nin enzimatik aktivitesi için gerekli kofaktörler olarak saptanmıştır. Ancak bu katyonlardan birinin aktif merkezde yer alması durumunda prolidaz aktivitesinin yaklaşık %30'un altına kadar düşebildiği gösterilmiştir (62).

Prolidaz enzimi, hidrolazlar grubunda bulunmaktadır; PEPD tarafından katalize edilen enzimatik reaksiyonlar H_2O gerektirmektedir. Wilk ve ark. tarafından, rekombinant insan prolidaz enziminin katalize ettiği reaksiyon mekanizmasını ayrıntılı olarak tanımlanmıştır. İlk olarak, H_2O prolidazın aktif merkezindeki Mn2+ iyonlarına bağlanmakta ve bu durum bir hidroksil iyonunun meydana gelmesine yol açmaktadır. Ardından, Gly-Pro aktif merkeze bağlanıp enzim konformasyonunun değişmesini sağlamaktadır. Aynı zamanda, Gly-Pro'daki =O ve -NH2 grupları, karbon atomuna pozitif yüklenmeyi sağlayan manganez iyonları tarafından stabilize edilmektedir. Nükleofilik hidroksil iyonunun sağladığı enerji ile peptit bağında bir kırılma meydana gelmekte ve ürünler (Gly, Pro) aktif merkezden ayrılmaktadır. Önce Gly serbest bırakılmakta, ardından prolin serbestleşmektedir. Sonrasında, enzim orijinal konformasyonuna geri dönmektedir. Son adım, yeniden H_2O temin edilmesini ve prolidazın enzimatik aktivitesinin eski haline getirilmesini içermektedir (63).

Prolidazlar glikoprotein yapıda olup ağırlıklarının %0,5'ini karbonhidratlar oluşturmaktadır. Prolidazın aktif kısmında tiyol grubu bulunmakta, bu grubun blokaja uğraması durumunda ise aktivite azalmaktadır. Doğal enzim için optimal pH: 7.6-7.8 civarlıda olup izoelektronik noktanın pH değeri 4.4-4.5 aralığındadır (64).

1.2.2. Aktivite

Hücre dışı kolajenazlar aracılığıyla kolajenin parçalanması hücre dışında başlamakta, ancak yıkımının son adımı prolidaz aracılığı ile hücre içinde gerçekleşmektedir. Bu sitozolik enzim, birlikte kolajenin %21'ini oluşturan C-terminal prolin veya hidroksiprolin ile imidodipeptitleri ayırmaktadır. Bu nedenle, enzim aktivitesindeki artışın, hücre içinde kolajen parçalanmasının artışı ile ilişkili olduğu

düşünülmektedir. Bununla birlikte, prolidaz aktivitesinin kolajen biyosentezinin düzenlenmesinde düzenleyici bir faktör olabileceği düşünülmektedir (56).

PEPD, trans konformasyonda Gly-Pro için en yüksek özgüllük göstermektedir. Prolidaz, Gly-Pro'ya karşı en yüksek katalitik aktiviteye sahip olmasına rağmen, Ala-Pro, Phe-Pro, Met-Pro, Val-Pro ve Leu-Pro gibi diğer C-terminal prolin içeren dipeptidleri de hidrolize etmektedir (65). Birçok proteazın aksine, prolidaz sitozolde bulunmaktadır. Bununla birlikte, prolidazın bu bölgede bulunmasının temel nedeni bilinmemektedir. Ayrıca, PEPD muhtemelen diyetten sağlanan prolin içeren dipeptitlerin hidrolizinde yer aldığı enterositlerde bol miktarda eksprese edilmektedir (66).

Prolidazın doku özgüllüğü göz önünde bulundurulduğunda; en yüksek düzeyde prolidaz mRNA ekspresyonunun böbreklerde, ince bağırsakta ve duodenumda bulunduğu, eritrositler ve insan derisi fibroblastlarında da yüksek prolidaz aktivitesi rapor edildiği görülmüştür (65). Ayrıca, Guszczyn ve ark. tarafından trombosit zengin plazmanın (PRP) önemli bir prolidaz kaynağı olduğu gösterilmiştir (67).

Kolajen, Gly-Pro'nun en sık kaynağıdır. Kolajen molekülü, Gly-X-Y üçlü dizisinin yaygın olarak tekrarlandığı üç polipeptit zinciri içermektedir. Çoğunlukla X ve Y, sırasıyla prolin ve hidroksiprolinden oluşmaktadır (68). Kolajen hücre dışı matrisin (ECM) yapısal proteinini oluşturduğundan PEPD aktivitesi bu bölgenin remodelling sürecinde önemli bir rol üstlenmektedir. Kolajen yıkımı metalloproteinazlar tarafından başlatılmaktadır. Ardından, lizozomlarda katepsinler ve peptidazlar tarafından kolajen yıkım ürünlerinin proteolizi gerçekleşmektedir. Ancak, bu enzimler C-terminal prolin veya hidroksiprolin içeren dipeptitleri ve tripeptitleri parçalamamaktadır. Sitozolde etkili olan prolidaz, dipeptitlerden serbest amino asitlerin serbestleşmesini sağlamaktadır (69).

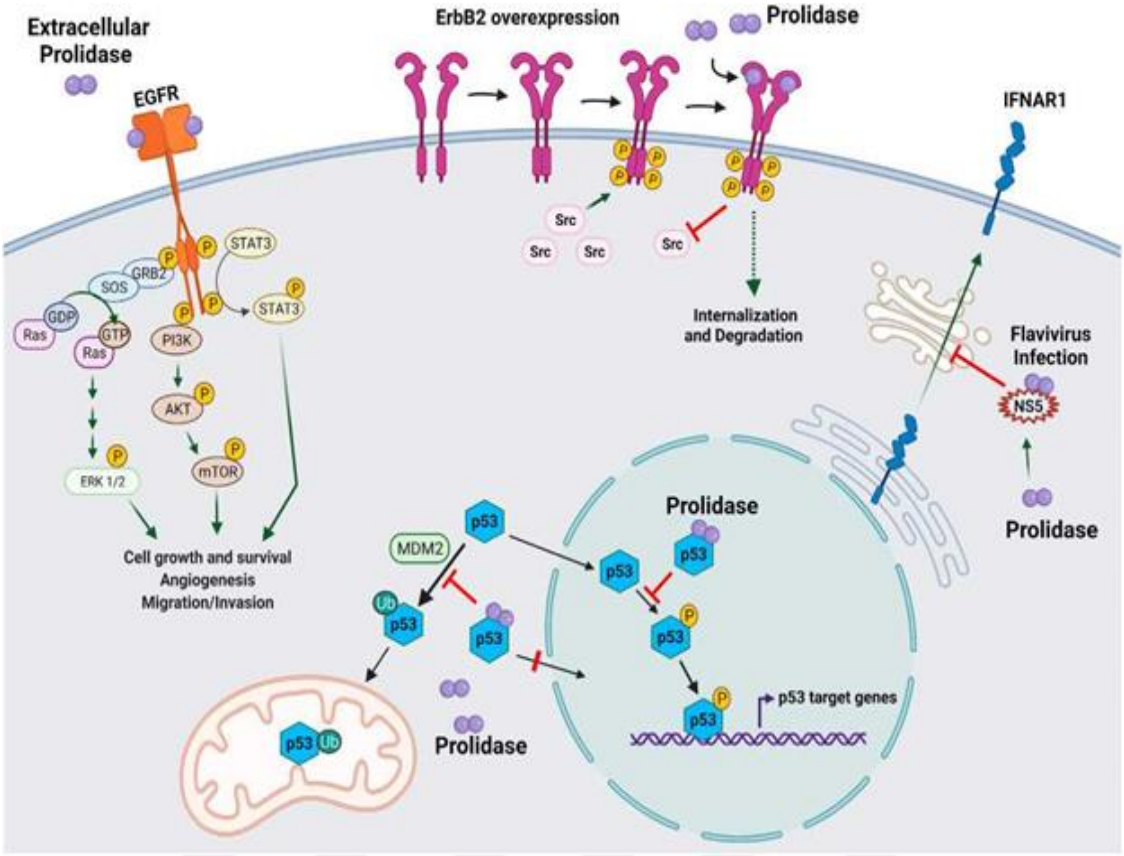
1.2.3. Prolidaz Enziminin Düzenleyici Rolü

Adams ve ark. tarafından 1952 yılında, prolidaz ile ilgili ilk rapor yayımlanmıştır (70). Sonraki on yıllar boyunca araştırmacılar tarafından bu enzimin sadece enzimatik işlevine odaklanılmıştır. Bu konudan yayımlanan makalelerin çoğu, PEPD aktivitesinde azalma veya bu enzimin yokluğundan kaynaklanan genetik bir

hastalık olan prolidaz eksikliği ile ilgilidir. Bunun yanında, kolajen metabolizması ve tümörler ile ilişkili çeşitli patolojik durumlarda bozulmuş prolidaz aktivitesi bildirilmiştir. Prolidazın biyolojik rolüne ilişkin yapılan araştırmalar için dönüm noktası, Yang ve ark. tarafından yürütülen çalışmada, PEPD'nin aynı zamanda bir epidermal büyüme faktörü (EGF) reseptörü ligandı olduğunun öne sürülmesidir (71).

İlgili çalışmadan sonra, PEPD'nin katalitik etkinliğinin dışında diğer biyolojik rolleri hakkındaki bilgiler artmıştır. Yakın zamanda, prolidaz hakkındaki bilgiler ve bu enzimin hücresel düzeyde biyomoleküllerle etkileşimleri daha ayrıntılı incelenmiştir. Araştırmacılar, prolidazın, EGFR ve HER2 reseptörlerine bağlı sinyal yollarını düzenleyen bir ligand olarak rolünü göstermiştir. PEPD'nin ayrıca p53 ve plazma serin proteazlarının işlevini ve ayrıca interferon α/β reseptörünün ekspresyonunu düzenlediği belirtilmektedir (72).

Yukarıda belirtildiği gibi, prolidaz PI3K/Akt/mTOR, ERK1/2 ve JAK/STAT3 sinyal yollarını düzenleyen bir EGFR ve HER2 reseptör ligandıdır. Normal koşullarda, prolidaz bu yolları uyarmakta ve iltihaplanma veya doku hasarı durumlarında gelişen rejenerasyon süreçlerinde rol almaktadır. Kanserlerde yaygın olarak gözlenen EGFR ve HER2 reseptörlerinin aşırı ekspresyonu durumlarında, bu enzimin bu reseptörlerin hücre içine alınmasına ve lizozomlarda parçalanmasına katkısı bulunmaktadır. PEPD-p53 kompleksinin oluşturması ile prolidaz, p53'ün aktivasyonun baskılanmasını sağlayabilmektedir. Plazmada prolidaz, konsantrasyonlarını normal bir seviyede tutarak pıhtılaşma faktörlerini aktive olmasına katkıda bulunmaktadır. PEPD ayrıca interferon α/β reseptörünün ekspresyonunu ve matürasyonunu uyararak bağışıklık sistemi yanıtının oluşmasına da katılmaktadır. Prolidaz enziminin aktivitesi hem tümör oluşumunu engelleyen hem de tümür oluşumunu kolaylaştıran etkiye sahiptir. EGFR ve HER2 degradasyonunu artırdığından, kanser hücrelerinin gerilemesini sağlayabileceği düşünülse de prolidaz tarafından serbestleştirilen prolin, HIF-1α'yı stabilize etmekte ve bu nedenle hipoksik koşullarda hücresel sağkalımı kalımı artırabilmektedir. PEPD'nin kanser oluşundaki rolünün aydınlatılmasının kanser tedavisi açısından faydalı olabileceği belirtilmektedir (72).



Şekil 4. Prolidazın hücresel regülasyonda enzim aktivitesinden bağımsız rolü. Son zamanlarda, prolidaz enziminin katalitik aktivitesinden bağımsız olarak gerçekleştirdiği biyolojik düzenleyici protein rolü ortaya çıkarılmıştır (57).

1.2.4. Prolidaz Enzimi Aktivitesi ile İlişkili Hastalıklar

Prolidaz aktivitesindeki değişiklikler birçok hastalık ve kanser türü ile ilişkilendirilmektedir. Prolidaz aktivitesindeki değişimin sadece bir hastalık durumunun varlığını değil, aynı zamanda hastalığın prognozunu da gösterebileceği belirtilmektedir (73).

Prolidaz Eksikliği

Prolidaz eksikliği, yüksek imidodipeptit düzeyi (idrarla atılan prolin/hidroksiprolin içeren dipeptitler) ile seyreden, nadir görülen otozomal resesif bir hastalıktır. Sağlıklı bireylerde, prolini geri dönüştürme etkinliğinin yaklaşık %90-95 olduğu belirtilmektedir. Prolidaz, kolajen döngüsünde ve sentezinde kilit bir rol

aldığından prolidaz enzimindeki kusurlar, vücuttaki prolin havuzunun azalması nedeniyle kolajenin düzenli geri dönüşümünde bozulmaya neden olmaktadır (74).

Fibroblastların kolajen metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir role sahip olup bu hücrelerde yüksek düzeyde prolidaz aktivitesi bulunmaktadır. Fibroblastlardaki prolidaz aktivitesinin bozulması, hipermobil eklemler gibi bağ dokusu anormallikleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bunu yanında, azalmış prolidaz aktivitesine bağlı olarak prolin düzeyinin azalması, uygunsuz yara iyileşmesine neden olabilmektedir (75).

Forlino ve ark, tarafından (2002) prolidaz eksikliği bulunan hastalardan alınan fibroblastlar ile yapılan çalışmada, bu hücrelerde sindirilmemiş prolidaz substratlarındaki artışa bağlı olarak nekroz benzeri hücre ölümü oluştuğu gösterilmiş ve prolidaz enziminin hücrenin hayatta kalması için gerekli olduğu öne sürülmüştür (76). Tüm prolidaz eksikliği hastalarında kolajen metabolizması bozulmakta, bu durum kemik yapısını ve yara iyileşmesini olumsuz etkilemektedir. Bu durumun sonucu olarak, hastalarda anormal kemik yapısı, düşük ön ve arka saç çizgisi, geniş aralıklı/bulging yapan gözler, çökük burun köprüsü, ince üst dudak ve prognatizm gibi dismorfik yüz özellikleri görülmektedir. Yara iyileşmesi olayları sırasında kolajen döngüsünün önemli rolünün bozulması nedeniyle, çoğu prolidaz eksikliği hastasının doğru şekilde büyük ülseratif yaraları bulunmaktadır (77, 78).

Kolajen bileşenlerinin geri dönüştürülmek yerine vücuttan atılması, prolidaz eksikliği bulunan hastalarda yara iyileşmesini bozan temel etken olarak gösterilmektedir. Hastalık, dermatolojik lezyonlar, gelişimin gecikmesi, splenomegali, tekrarlayan enfeksiyonlar ve otoimmün bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli diğer sorunlar ile ilişkilidir. Kronik ve tekrarlayan ülserlere ek olarak, dermatit, eritematöz papüler döküntüler, impetigo benzeri döküntüler, psöriatik deri lezyonları ve kaşıntılı egzamatöz lezyonlar gibi diğer deri de belirtileri bildirilmiştir (74).

Prolidaz aktivitesinin artışı

Enzim, kolajen yeniden sentezi ve hücre büyümesi için imidodipeptidlerden prolinin geri dönüştürülmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bunun yanında, enzim aktivitesindeki artışın, hücre içinde kolajen parçalanmasının artışı ile ilişkili olduğu

düşünülmektedir. Meme kanseri, endometriyal kanser, akciğer kanseri ve melanom gibi çeşitli kanserlerde prolidaz aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (79).

Prolidaz ve MSS Hastalıkları

Wyse ve Netto tarafından prolinin beyinde bir nörotransmitter gibi davrandığı ileri sürülmüş ve yüksek prolidaz aktivitesi sonucu meydana gelen yüksek prolin düzeyi nörolojik semptomlar ve beyin anormallikleri ile ilişkilendirilmiştir (80). Prolin, prolidaz katalitik aktivitesinin bir ürünü olduğundan yüksek prolidaz aktivitesinin sonucu olarak prolin düzeyi de artmaktadır. Kolajen veya diğer protein yapılarına dahil edilemeyen prolin, prolin oksidaz/prolin dehidrogenaz ve pirolin-5-karboksilat dehidrojenaz tarafından glutamata katabolize edilmektedir. Prolidaz enzim aktivitesindeki artışa ek olarak yukarıda bahsedilen enzimlerin aktivitesinin düşük olması durumunda meydana gelen hiperprolineminin, bilişsel ve zihinsel sorunlar, şizofreni, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı ve serebral iskemiye yol açabileceği belirtilmektedir. Bunun yanında, yüksek prolidaz aktivitesine bağlı artan prolin düzeyinin beyindeki glutamat düzeyinin ve aktivitesinin bozulmasına yol açabileceği belirtilmektedir (57).

Vural ve ark. (2010) tarafından yürütülen çalışmada, NTD saptanan fetüslerin amniyotik sıvısındaki oksidatif stres belirteçleri ve prolidaz aktivitesi, normal fetüslerin amniyotik sıvısıyla karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda, NTD bulunan fetüslerden alınan amniyotik sıvının prolidaz aktivitesi kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olarak saptanmıştır. Aynı zamanda, prolidaz aktivitesinin NTD teşhisinde kullanılmakta olan diğer biyo-belirteçler kadar yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır (81).

Bununla birlikte, prolidaz eksikliğinin orta-şiddetli derece zihinsel yetersizlik ve gelişimsel gecikme ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yüksek miktarlarda biriken prolin içeren peptitlerin MSS dokularında birikiminin bu sonuçlara yol açtığı öne sürülmüştür (82). Ayrıca, prolidaz eksikliği bulunan farelerde, prolidazın anjiyojenez gelişimindeki sinyal yollarında üstlendiği işlevin bozulmasına bağlı olarak serebral ve serebellar kortekslerde vaskülarizasyon kusurları gözlenmiştir. ECM'nin remodelling süreçlerindeki kusurlara bağlı olarak, meningeal defektlere, bazal membran

bütünlüğünün kaybına ve serebral korteksin hücre mimarisinin bozulmasına neden olabileceği belirtilmektedir (83).

1.3. İskemi Modifiye Albümin (İMA)

1.3.1. Normal İnsan Serum Albümini (HSA)

Albümin, en yaygın olarak serumda rastlanan globüler protein ailesidir. Yaklaşık %40'ı kan dolaşımında bulunurken lenfatik doku, interstisyel aralık ve beyin omurilik sıvısı dahil olmak üzere birçok hücre dışı sıvının önemli bir bileşenini oluşturmaktadır (84). Albümin proteinlerinin tümü suda çözünmekte, ayrıca konsantre tuz çözeltilerinde orta derecede çözünmektedir. Yaklaşık 10 saat boyunca 60 ◦C sıcaklığa dayanabilen asidik, yüksek çözünürlüğe sahip ve oldukça kararlı bir proteindir (85).

Albüminler yaygın olarak kan plazmasında bulunmakta ve glikozile edilmemiş olmaları nedeniyle diğer kan proteinlerinden ayrılmaktadır. Yetişkinlerde serum albümin düzeyi 3,5-5,3 g/dL arasında iken yenidoğanlarda serum albümin seviyesi yaklaşık 3,9 g/dl olup bu proteinin kandaki düzeyi postnatal 9. ayda 2,8 g/dl‘ye kadar düşmektedir. Alfa-fetoprotein, D vitamini bağlayıcı protein dahil olmak üzere diğer bazı kan taşıma proteinlerinin kökeni serum albümini ile ortak olup bu proteinlere yalnızca omurgalılarda rastlanmaktadır (86, 87).

Karaciğerde günlük 10-12g albümin sentezlenmekte ve vücutta bulunan albümün miktarı toplam proteinlerin yaklaşık %25'ini oluşturmaktadır (85). Ek olarak, böbrekler, pankreas, bağırsaklar, lenf dokusu, meme bezleri, üreme urganları ve beyin gibi ekstra hepatik dokularda daha az miktarda albümin üretilebilmektedir (88, 89).

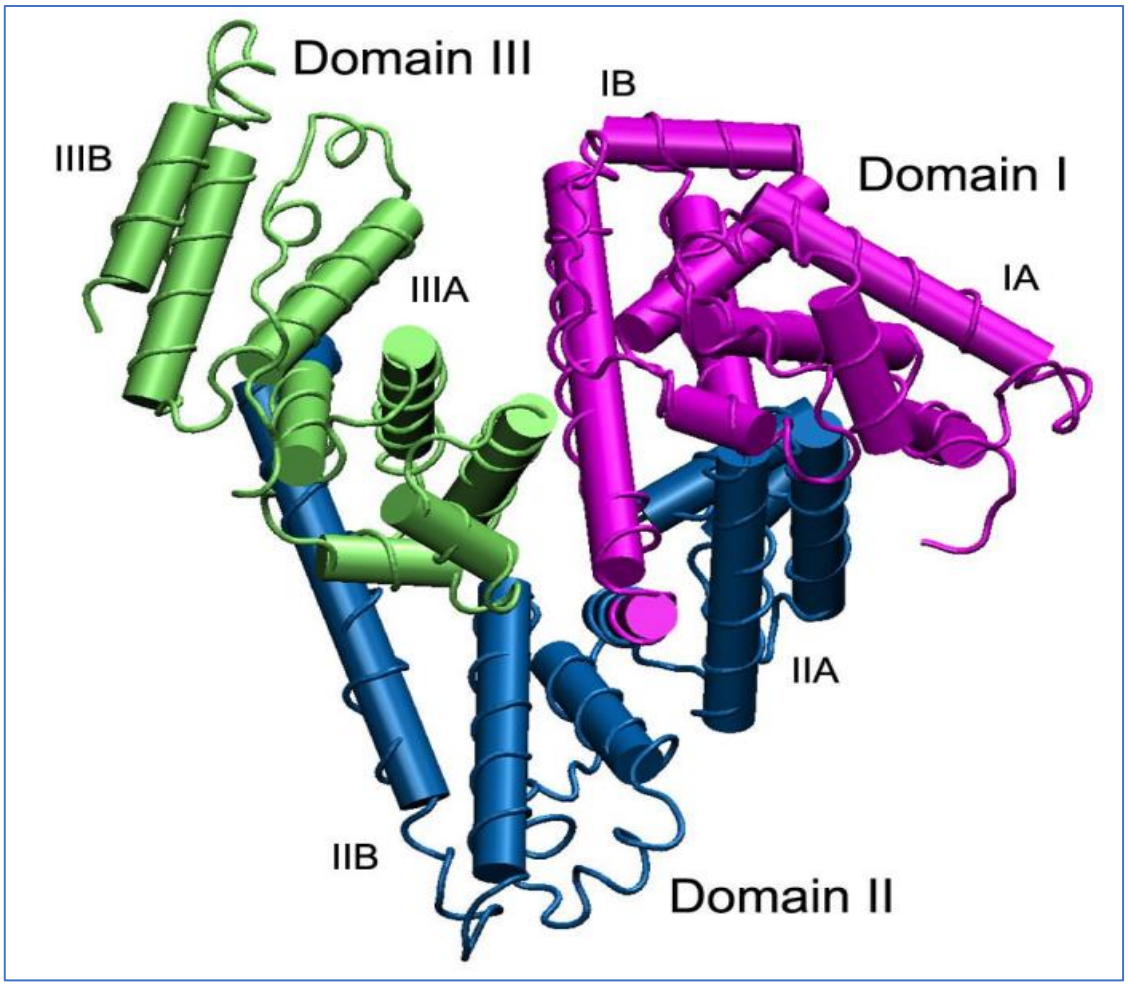
Plazma onkotik basıncının ayarlanmasında önemli bir rol oynayan albümin, kan pH’sının ayarlanmasında da tampon görevi görmektedir. Bunun yanında, aminoasit deposu gibi görev yaparak karaciğerin protein sentezi aktivitesini desteklemektedir. Ek olarak, Tiroksin, bilirübin, kortizol, östrojen, serbest yağ asitleri, varfarin ve penisilin gibi birçok ilaç ile kalsiyum, magnezyum, hemin gibi metabolizma için önemli moleküller ya da vücut için toksik olan organik veya inorganik birçok maddenin taşınmasında görev almaktadır (90).

1.3.2. Genetik ve Biyokimya

İyi tanımlanmış dört insan albümini geni, dördüncü kromozomun 4q13.3 bölgesi üzerinde tandem bir şekilde bulunmaktadır. İnsan albümin geni, 'başlık' bölgesinden ilk poli(A) bölgesine kadar toplam 16.961 nükleotid uzunluğundadır. Toplam 15 ekzondan oluşmaktadır (91).

Serum albüminin öncüsü olan preproalbümin, protein endoplazmik retikulumdan ayrılmadan önce kesilen N-terminal peptit yapısına sahiptir. Sonrasında meydana gelen proalbümin Golgi aparatına taşınmaktadır. Devamında salgı granüllerinde sınırlı proteoliz meydana gelmekte ve olgun glikozile edilmemiş albümin hücre dışı ortama salgılanmaktadır (85).

İnsan serum albümininin (HSA) tek polipeptit zinciri, 17 molekül içi disülfür bağıyla birbirine bağlanan dokuz spiral yapısı oluşturan toplam 585 amino asit kalıntısından oluşmaktadır. HSA, her biri A ve B alt alanlarına bölünmüş üç homolog alan (I, II ve III) içermektedir (Şekil 3). Albüminin birçok işleve sahip olması, çoklu bağlanma bölgelerine sahip olmasından kaynaklanmaktadır. HSA, hidrofobik moleküllerin taşınmasında önemli rol oynayan Sudlow 1 ve 2 bölgelerini, farklı yedi yağ asidi için bağlanma bölgesini (FA1-7), demir bağlanma bölgesini, çok sayıda küçük ligand bağlanma bölgesini, dört metal bağlanma bölgesini, N-terminal bölgeyi ve Cys34'ü içermektedir (92, 93).



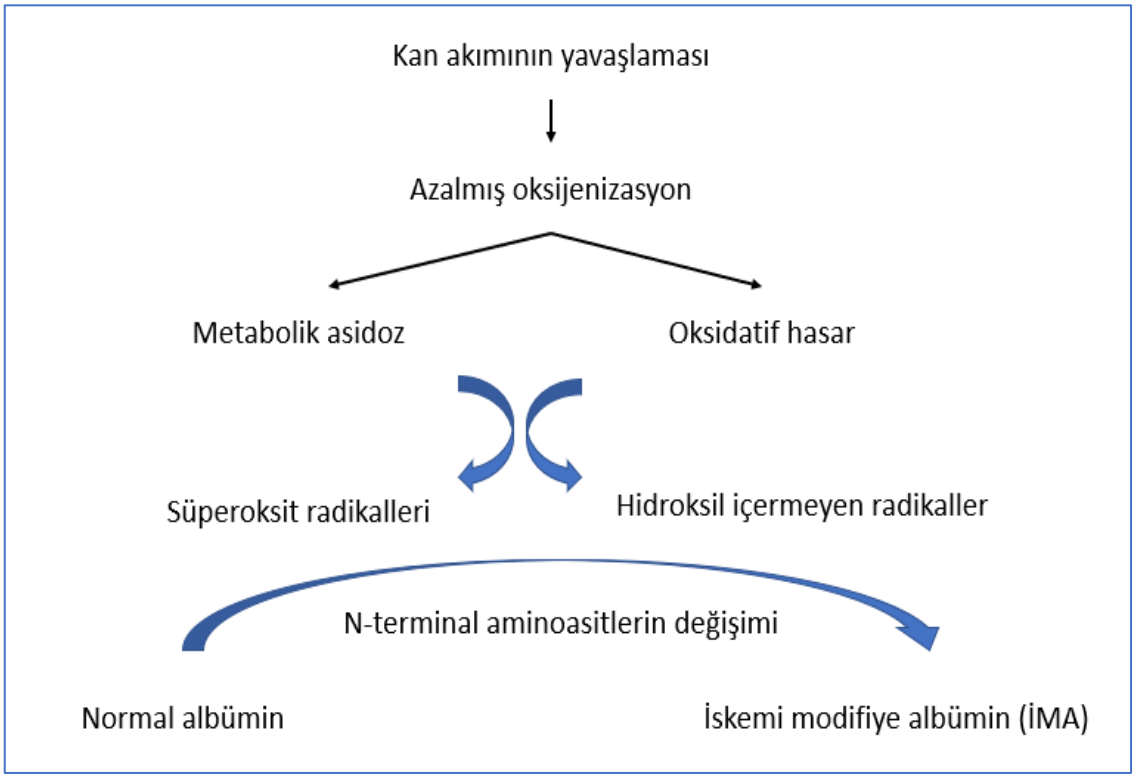
Şekil 5. Serum albüminin yapısı. HSA toplam üç alandan meydana gelmektedir. Her alan A ve B olmak üzere iki alt alandan oluşmaktadır *(94)*.

Albümin, farmakokinetik ve toksikokinetik süreçlerin yalnızca pasif değil, aynı zamanda aktif katılımcısıdır. Yapılmış çalışmalarda, albüminin α-naftilasetat ve p-nitrofenilasetat (NPA), yağ asidi esterleri, aspirin, ketoprofen glukuronid, siklofosfamid, nikotinik asit esterleri, oktanoilgrelin, nitroasetanilid, nitrofloroasetanilid ve organofosfor pestisitler gibi moleküllere karşı albüminin esteraz veya psödoesteraz aktivitesi gösterdiği saptanmıştır (95, 96).

1.3.3. İskemi Modifiye Albüminin (İMA) Oluşumu

İlk kez 1990'ların başında, iskemik doku değişimlerine maruz kalmanın albüminin N-terminalinde değişikliğe yol açtığı, bu değişikliğin, albüminin metallere bağlanma kapasitesini azalttığı ve bunun sonucunda IMA oluşumuna yol açtığı

keşfedilmiştir (97). Serum albümininin İMA'ya dönüşümü için önerilen mekanizmalar arasında hipoksi, asidoz, süperoksit-radikal hasarı, enerji-bağımlı membran hasarı ve serbest demir ve bakıra maruz kalma yer almaktadır. Farklı iskemi-reperfüzyon modellerinde Miyokard ve diğer organlar ile yapılan çalışmalarda, İMA oluşumunun güçlü bir şekilde yüksek oksidatif stres durumuna bağlı olduğu hipotezini destekleyen veriler elde edilmiştir (Şekil 4) (98).



Şekil 6. İskemik dokuda İMA oluşumu (99).

Normal koşullarda kandaki İMA düzeyi, total albümin düzeyinin yaklaşık %1-2‘si kadarını oluşturmaktadır. İskeminin meydana geldiği hastalarda ise bu oranın %6-8‘e kadar arttığı gösterilmiştir (98). İMA’nın iskemi esnasında üretildiği ve kanda saptanabilecek düzeye ulaştığı belirtilmektedir. Klinik çalışmalarda, İMA‘nın koroner sendromu bulunan hastalarda iskeminin meydana gelmesinden sonra dakikalar içinde arttığı, yaklaşık 6-12 saat yüksek seyrettiği ve 24 saat sonra kandaki bazal seviyesine döndüğü gösterilmiştir (100).

1.3.4. İskemi Modifiye Albümin Düzeyi ile İlişkili Hastalıklar

Yürütülmüş çalışmalarda, İMA düzeyi artışının birçok patoloji ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Tablo 6). İMA, miyokard enfarktüsü ve serebrovasküler olaylar, diabetes mellitus, böbrek yetmezliği, hipotiroidizm ve hipertiroidizm dahil olmak üzere iskemi ve oksidatif stres ile ilişkili çeşitli hastalıklar için erken bir biyolojik belirteç olarak önerilmiştir (101, 102, 103, 104).

Tablo 6. İskemi Modifiye Albümin İMA artışlarla ilişkili patolojiler (98).

1. Serebrovasküler - iskemik inme, subaraknoid ve intrakraniyal kanama
2. Koroner arter hastalıkları
3. Periferik vasküler hastalık - arter tıkanıklığı, derin ven trombozu, mezenterik enfarktüs
4. Son dönem böbrek hastalığı
5. İlerlemiş karaciğer sirozu
6. Akut enfeksiyonlar
7. Maligniteler
8. Sistemik skleroz
9. İntrauterin bozukluklar – normal gebelikler, endometriozis, komplike doğumlar
10. Prostat hastalıkları – hiperplazi veya kanser

Çok sayıda çalışmada, serebral enfarktüs, MI, pulmoner enfarktüs ve mezenterik enfarktüs gibi akut iskemik durumlarda İMA düzeylerinin anlamlı olarak yükseldiği gösterilmiştir (105). Türedi ve ark tarafından, çeşitli hastalıklarda İMA ölçümünün yararlılığının araştırıldığı birçok çalışma yürütülmüştür. Çalışmalarından birinde, pulmoner emboli hastalarında sağlıklı deneklerle karşılaştırıldığında İMA düzeylerinin arttığını bulmuşlardır (106). Diğer bir çalışmada pulmoner emboli tanısında İMA ve D-dimerin etkililiği karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada, pulmoner emboli tanısında İMA'nın D-dimer'e üstünlüğü bulunmamakla birlikte alternatif bir belirteç olabileceği

bildirilmiştir. Ayrıca İMA'nın maliyetinin çok daha uygun olduğunun altı çizilmiştir (107).

Komplike olmayan gebeliklerde bile, gebelik ilerledikçe oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunda artış meydana geldiği bilinmektedir. Lipid peroksidasyonun, ROS'un lipidlerle etkileşimi sonucu gerçekleştiği belirtilmektedir. Gebelik sırasında plasenta tarafından maternal dolaşımda lipid peroksit ürünlerinde artışa yol açan, lipid peroksitleri üretimi gerçekleştirilmektedir. Peroksidasyonun nihai ürünlerinden biri olan malondialdehitin (MDA) lipid peroksidasyonunun iyi bir belirteci olduğu bilinmektedir. Bahinipati ve Mohapatra tarafından yürütülen çalışmada, maternal serum MDA ile İMA düzeyinin arttığı ve MDA ve İMA - İMA/Alb arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunduğu saptanmış, bu nedenle gebelikte serum İMA'nın artışının oksidatif stres artışının önemli bir göstergesi olduğu öne sürülmüştür (108).

Umblikal kord kanında İMA düzeyinin incelenmesinin, bebeklerde olası nörolojik komplikasyonların tanısında ve tahmininde faydalı olabileceği belirtilmektedir. 2015 yılında yürütülen bir çalışmada, yenidoğan ensefalopatisi bulunan yenidoğanlarda göbek kordonu kanı İMA düzeylerinin sağlıklı bebeklere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (109). Yakın zamanda yürütülmüş bir diğer çalışmada, İMA'nın gebelik yaşına göre küçük bebeklerde neonatal nörolojik hasarı öngörmede faydalı bir belirteç olabileceği öne sürülmüştür (110). Bu nedenle, İMA düzeyinin erken postnatal dönemde iskemik ensefalopati tanısında belirteç olarak ve çocuklarda geç dönem posttravmatik nörolojik komplikasyonların bir göstergesi olarak kullanılabileceği belirtilmektedir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Araştırmanın Yeri ve Örneklemi

Bu çalışma; Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda tanı, tedavi ve takip işlemleri yapılan 90 hasta ile yürütülmüştür.

2.2. Hasta ve Kontrol Gruplarının Seçimi

Çalışmaya NTD tanısı ile takip edilen 45 hasta ve NTD hastalığı olmadığı bilinen ve aynı serviste başka nedenler ile takip edilen 45 hasta dahil edilmiştir. çalışmaya dahil edilen hastaların yaş ve cinsiyet dağılımlarının benzer olması sağlanmıştır. Seçilen hastalardan ailenin onamı alınarak kan örneği alınmıştır.

2.3. Etik Kurul Onayı

Bu çalışma, Helsinki Bildirgesi'ne göre insan denekleri içeren tıbbi araştırmaların etik ilkelerine göre yapılmıştır. Çalışmamız Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 02.11.2022/03 numaralı karar ile onaylanmıştır. Tüm bebeklerin ailelerinden onam alınmıştır.

2.4. Örneklerin Toplanması, Saklanması ve Hazırlanması

NTD bulunan hastalardan alınan venöz kan prolidaz ve İMA izolasyonu yapılana kadar -80°C'de dondurulmuştur. Saklanan kanların sayısı 90'a ulaşınca prolidaz ve İMA izolasyonu işlemine geçilmiştir. -80°C'den alınan kanlar, soğuk kar tipi buz içerisinde bekletilen petri kabının üzerine alınmıştır.

EDTA'lı tüplerde bulunan kanlar 15 ml'lik plastik tüplere aktarılmıştır. Bu tüpler 1200 rpm'de 10 dakika çevrilmiş ve ardından üstündeki serum yeni ve steril ependorf tüplere alınmıştır. Sonrasında, solüsyon-doku karışımı pastör pipet yardımıyla karıştırılarak iyice homojenize edilmiştir. Ardından, bu karışım, oda sıcaklığında nükleoprotein komplekslerinin tamamen parçalanması için 5dk süre ile bekletilmiştir. Bu aşamadan sonra numuneler +4°C'de 3500 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş ve santrifüj

sonrası üste kalan süpernatant kısmı steril 1,5 ml'lik yeni bir ependorf tüpe aktarılarak pelet kısmı atılmıştır.

Yeni bir ependorf tüpe aktarılan numunelerin üzerine her bir tüp için 0,2 ml soğuk kloroform ilave edilerek 15 saniye (sn) şiddetli bir şekilde vortekslenmiş ve 2-3 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon aşamasından sonra numuneler 12000xg'den fazla olmayacak şekilde 15 dk santrifüj edilmiştir.

2.5. Biyokimyasal Analizler, Analizlerde Kullanılan Cihazlar ve Teknik Araç-Gereçler

2.5.1. Prolidaz Aktivitesi Tayini

Kullanılan Çözeltiler:

1. Ön inkübasyon çözeltisi : pH:7'de 50 mmol/L Tris HCl tamponu içerisinde, 1 mmol/L GSH , 50 mmol/L $MnCl_2$ çözdürüldü. 0.788 g tris-HCI alındı, 1N NaOH ile Ph 7'ye ayarlandı, toplam hacim bidistile ile 100 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan tampondan koyu renkli bir şişeye 20 ml alındı. 0.1978g $MnCl_2.4H_2O$ tartıldı, 20 ml'lik tamponda eritildi. 0.614g GSH yine aynı tamponda eritildi.

2. Substrat çözeltisi: Ön inkübasyon çözeltisi içerisinde 144 mmol/L glisil-prolin dipeptidi çözdürüldü. Ancak substrat çözeltisi için pH:7.8'lik Tris HCl tampon kullanıldı. Ph'sı 7 olan tampondan koyu renkli bir şişeye 10 ml alındı. Bu tamponun Ph'sı 1N NaOH ile 7.8'e ayarlandı. 0.2479 g gly-pro 10 ml Ph'sı 7.8 olan tampon içinde eritildi.

3. Tepkimeyi durdurma çözeltisi : 1 mL glasiyal asetik asit kullanıldı. Toplam 50 ml glasiyal asetik asit koyu renkli bir şişeye ayırıldı.

4. Ninhidrin çözeltisi (modifiye (optimize) chinard çözeltisi) : 0.5 mol/L'lik ortofosforik asit içerisinde 3 g/dL olacak şekilde ninhidrin manyetik karıştırıcı ve ısı yardımıyla 70 °C'de eritildi. Mevcut ortofosforik asitin % derişimi, özkütlesi ve m_A'sı üzerinden hesaplanır.

$M=(\& \times d \times 10) / m_A$ $M_{FOSFORİK\ ASİT}$= yy M bulunur.

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$ "yy" x V_1 = 0.5 x 100 ml V_1="vv" ml, % ….'lık fosforik asit 25˚C'de alınıp, bidistile ile 100 ml'ye tamamlanır. 0.5 M'lık ortofosforik asit çözeltisi elde edilir. Bu 100 ml'lik çözelti içerisinde 3 g ninhidrin eritildi. Prolin standardı: 5 mg L-prolin bir miktar deiyonize su içerinde çözdürülüp son hacmi 100 mL ye tamamlandı. [S] / Standart absorbansı yerine prolinin molar absorbans katsayısı olan 27,2 değeri kullanılabilmektedir.

Ölçümün yapılışı:

1. Her numune için numune küveti ve numune körü küveti oluşturuldu.

2. Numune tüpü hazırlanışı:

a. 100 µl serum ile 100 µl serum fizyolojik karıştırıldı.
b. Karışımdan 25 µl alındı, 75 µl ön inkübasyon solüsyonuyla (pH:7'de 50 mmol/L Tris HCl tamponu içerisinde, 1 mmol/L GSH , 50 mmol/L $MnCl_2$) karıştırıldı.
c. 2 No'lu karışım 37˚C'de 30 dk. İnkübe edildi.
d. İnkübasyondan sonra Gly-Pro içeren ph'7.8 olan çözeltiden 100 µl eklendi ve 37˚C'de 5 dk. İnkübe edildi.
e. Karışıma 1ml glasiyel asetik asit eklendi.
f. Karışım üzerine Ph:7.8'de tris-HCI tamponundan 300 µl ve 1 ml ninhidrin çözeltisi eklendi.
g. Tüpün ağzı kapatılarak 90˚C su banyosunda 20 dakika bekletildi.
h. Karışım buz banyosuna tabi tutulup soğutulup hiç bekletilmeden 515 nm'de absorbanslar okundu.

3. Numune körü tüpü hazırlanışı

a. 100 µl serum ile 100 µl serum fizyolojik karıştırıldı.
b. Karışımdan 25 µl alındı, 75 µl ön inkübasyon solüsyonuyla (pH:7'de 50 mmol/L Tris HCl tamponu içerisinde, 1 mmol/L GSH, 50 mmol/L $MnCl_2$) karıştırıldı.
c. 2 No'lu karışım 37˚C'de 30 dk. İnkübe edildi.
d. Karışıma 1ml glasiyel asetik asit eklendi.
e. Karışım üzerine Ph:7.8'de tris-HCI tamponundan 300 µl ve 1 ml ninhidrin çözeltisi eklendi.

f. Tüpün ağzı kapatılarak 90˚C su banyosunda 20 dakika bekletildi.
g. Karışım buz banyosuna tabi tutulup soğutulup hiç bekletilmeden 515 nm'de absorbanslar okundu.

**Saf suya karşı hem numune küvetleri hem numune körü küvetleri okundu.

**Molar absorbans katsayısı yerine [S] / Standart absorbansı kullanılabilir.

Standart hazırlama: 1 ml glasiyel asetik asit, 300 µl ph:7.8 tris-HCI, 1 ml ninhidrin çözeltisi, 1 ml standart.

Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması:

Prolidaz aktivite düzeyi: $= \frac{(A-B) \text{ x } [S] \text{ x Faktör}}{S}$

A: İnkübasyon tüpü absorbans değeri

B: Sıfır zaman tüpü absorbans değeri (inkübasyonsuz)

[S] : Standart konsantrasyonu (mmol/L)

S: Standart absorbans değeri

Faktör: Dilüsyon değerleri/inkübasyon peryodu

Faktör : (Preink. Ortamındaki sulandırma x İnk. Ortamındaki sulandırma) / İnkübasyon zamanı

Faktör: (8x2) / 5'

Prolidaz aktivite düzeyi : $= \frac{(A-B) \text{ x } [S] \text{ x Faktör}}{S}$ 1 litrede 1 dakikada oluşan mmol prolin miktarı

Serumda aktivite tayini: 1 µmol substratı 1 dakikada değişikliğe uğratan enzim miktarı olarak yapılmıştır. Birim U/L olarak tanımlanmıştır.

2.5.2. İskemi Modifiye Albümin Tayini

200 µl serum1 g/l kobalt klorür çözeltisinden 50 µl eklendi, karıştırıldı ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 1, 5 g/l DTT çözeltisinden 50 µl eklendi ve karıştırıldı. Oda sıcaklığında 2 dakika daha inkübe edildi. NaCl'ün 9.0 g/l çözeltisinden 1 ml eklendi. Numune körleri de benzer şekilde DTT eklenmeden hazırlandı. Test karışımlarının absorbansları 470 nm'de okundu. Sonuçlar, absorbans ünitelerinde değerlendirildi.

2.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın verilerinin istatistiksel anlamda değerlendirilmesi amacıyla SPSS 20.0 paket programı kullanılacak, kan örneklerinden elde edilen ekspresyon oranları Sınıf İçi Korelasyon katsayısı ile uyum bakımından değerlendirilecek. Ayrıca bu gruplar arasındaki ve kontrol grubu ile arasındaki farklılıkların araştırılması amacıyla Tek Yönlü Varyans Analizi ve/veya parametrik olmayan karşılığı olan Kruskal Wallis analizi uygulanacaktır. Farklılığı yaratan grupların belirlenmesi amacıyla çoklu karşılaştırma testlerinden faydalanılacaktır. Ayrıca çalışmanın demografik verilerinin gruplar bakımından karşılaştırılması amacıyla Student's t testi ve/veya Mann Whitney U testi kullanılacak kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise ki-kare a da Fisher'in exact testi uygulanacaktır. Çalışmanın sonuçlarının özetlenmesi amacıyla ortalama±standart sapma, ortanca (minimum-maksimum) ve frekans dağılımları kullanılacaktır.

3. BULGULAR

3.1. Tanımlayıcı İstatistikler

Takip edilen hastaların 20'si (%44,4) erkek ve 25'i kız (%55,6) idi. Bu hastaların yaş ortalaması 21,71±33,53 ay, ortanca yaşı 1 aydı (yaş aralığı: 1-164 ay). Yaş grupları göz önünde bulundurulduğunda; hastaların 25'inin yenidoğan (hastaların %55,6'sı) bebekler olduğu görüldü. Hastaların 34'ünde meningomyelosel mevcut iken (%75,6), 5'inde (%11,1) meningosel, 6'sında ise (%13,3) myeloşizis bulunuyordu. Lezyon seviyesi göz önünde bulundurulduğunda; hastaların 21'inde (%46,7) lomber, 12'sinde (%26,7) lumbosakral bölgenin etkilendiği görüldü. Hastaların sadece 2'sinde (%4,4) torakal lezyon mevcuttu. Hastanın klinik bulguları göz önünde bulundurulduğunda; 33'ünün (%73,3) plejik olduğu, 4'ünde (%8,6) plejiye ek olarak pes ekinovarus bulunduğu, 8'inin ise (%17,8) paraplejik olduğu saptandı. Hastaların 23'üne (%51,1) hidrosefali cerrahisi uygulanırken 22'sinde (%48,9) cerrahi gereksinimi yoktu (Tablo 7).

Doğumdaki anne yaşı göz önünde bulundurulduğunda; ortalama yaş 28,38±5,73, ortanca yaş ise 28 yıl (yaş aralığı: 17-45 yıl) olarak saptandı. Hastalarda kese boyutunun ortalama 5,16±1,68×5,84±1,72 olduğu belirlendi.

Tablo 7. Meningomyelosel hastalarının demografik özellikleri.

	Sayı	Yüzde (%)
Cinsiyet		
Erkek	20	44,4
Kadın	25	55,6
Yaş		
Yenidoğan	25	55,6
1-12 ay	4	8,9
Beş yaş altı	8	17,8
Beş yaş ve üzeri	8	17,8
Tanı		
Meningomyelosel	34	75,6
Meningosel	5	11,1
Myeloşizis	6	13,3
Lezyon seviyesi		
Torakolomber	10	22,2
Torakal	2	4,4
Lomber	21	46,7
Lumbosakral	12	26,7
Klinik bulgu		
Plejik	33	73,3
Plejik+pes ekinovarus	4	8,9
Paraparetik	8	17,8
Hidrosefali cerrahisi		
Evet	23	51,1
Hayır	22	48,9
Toplam	**45**	**100**

Hastaların laboratuvar ölçümleri ile elde edilen sonuçların dağılım özellikleri Tablo 8'de sunuldu. Hastalarda prolidaz aktivitesi ortalama 2,21±0,7 IU/L iken serum iskemi modifiye albümin düzeyi ortalama 0,40±0,013 ABSUs idi. Ayrıca, hastalardaki ortalama serum B12 vitamini düzeyi 247,39±11,79 pg/mL iken ortalama serum folat düzeyi ise 14,15±3,32 mcg/dL olarak belirlendi. Ortalama serum TSH düzeyi 5,26±4,99 mU/L ve ortalama T4 hormonu düzeyi 3,15±5,83 mcg/dL olarak belirlendi. Ek olarak, hastalarda ölçülen serum kalsiyum düzeyi ortalama 9,21±0,87 mg/dL olarak saptandı.

Tablo 8. Hastaların laboratuvar ölçümleri ile elde edilen sonuçların dağılım özellikleri

	Ortalama	**Standart sapma**	**Ortanca**	**Min.**	**Maks.**
Prolidaz aktivitesi (IU/L)	2,21	0,7	2,21	2,11	2,31
İMA (ABSUs)	0,40	0,013	0,41	0,37	0,42
B12 vitamini (pg/mL)	247,39	113,79	230,00	83,00	542,00
Folat (ng/mL)	14,15	3,32	14,80	2,90	19,80
TSH (mU/L)	5,26	4,99	3,39	0,75	24,78
T4 (mcg/dL)	3,15	5,83	1,10	0,62	24,10
Kalsiyum (mg/dL)	9,21	0,87	9,30	7,00	11,50
Potasyum (mmol/L)	4,66	0,51	4,60	3,50	5,70
Sodyum (mmol/L)	137,38	3,33	137,00	128,00	145,00
Kreatin (mg/dL)	0,46	0,22	0,40	0,18	1,40
Üre (mg/dL)	18,35	8,45	17,00	4,00	40,00
BUN (mg/dL)	9,34	6,27	7,94	1,87	41,00
Hemoglobin (g/dl)	14,20	3,64	13,10	8,20	21,60

Normal ölçüm aralıklarına göre değerlendirildiğinde, hastaların 29'unda (%64,4) B12 vitamini düzeyinin normal aralıklarda (187-583 pg/mL) olduğu, 16'sında (%35,6) ise bu değerin referans değerinin altında olduğu görüldü. Ayrıca, çocukların 44'ünde folat düzeyinin normal aralıklarda (3-17 ng/mL) olduğu, bir çocukta ise bu değerin alt sınıra oldukça yakın olduğu saptandı (2,90 ng/mL). Çocukların %84,4'ünün serum kalsiyum düzeyleri normal aralıktaydı (8.4-10.8 mg/dL).

3.2. İki değişkenli istatistikler

3.2.1. NTD alt tiplerinin hasta özelliklerine ve serum ölçüm sonuçlarına göre karşılaştırılması

NTD alt tipleri hasta özelliklerine göre karşılaştırılıp sonuçlar Tablo 9'da sunuldu. Meningomyelosel hastalarının %61,8'i (21 çocuk) kadın cinsiyete sahip iken meningosel hastalarının %40'ı (2 çocuk) ve myeloşizis hastalarının %33,3'ü (2 çocuk) kadın cinsiyete sahipti. Meningomyelosel lezyonlarının %50'si (17 çocuk) lomber bölgede saptanırken meningosel lezyonlarının %40'ı (2 çocuk) ve myeloşizis lezyonlarının %40'ı (2 çocuk) lomber bölgedeydi. Meningomyelosel hastalarının %88,3'ü (30 çocuk) plejik olup bu çocukların ikisinde pes ekinovarus da bulunuyordu. Bununla birlikte, meningosel hastalarının %80'i paraparetik idi. Meningomyelosel hastalarının %47,1'inde (16 çocuk) ve meningosel hastalarının %40'ında (2 çocuk) hidrosefali cerrahisine ihtiyaç duyulurken myeloşizis hastalarının %83,3'ünde (5 çocuk) hidrosefali cerrahisi uygulandı. Ki kare analizinde, cinsiyet, lezyon seviyesi, klinik bulgu ve hidrosefali cerrahisi ile NTD alt tipleri arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 9. NTD alt tiplerinin hasta özelliklerine göre karşılaştırılması

	Meningomyelosel		Meningosel		Myeloşizis	
	Sayı	**Yüzde* (%)**	**Sayı**	**Yüzde* (%)**	**Sayı**	**Yüzde* (%)**
Cinsiyet						
Erkek	13	38,2	3	60,0	4	66,7
Kadın	21	61,8	2	40,0	2	33,3
Lezyon seviyesi						
Torakolomber	8	23,5	1	20,0	1	16,7
Torakal	2	5,9				
Lomber	17	50,0	2	40,0	2	33,3
Lumbosakral	7	20,6	2	40,0	3	50,0
Klinik bulgu						
Plejik	28	82,4	1	20,0	4	66,7
Plejik+pes ekinovarus	2	5,9			2	33,3
Paraparetik	4	11,8	4	80,0		
Hidrosefali cerrahisi						
Evet	16	47,1	2	40,0	5	83,3
Hayır	18	52,9	3	60,0	1	16,7

*****Sütun yüzdesi verilmiştir.

NTD alt tipleri hasta özelliklerine göre karşılaştırılıp sonuçlar Tablo 10'da sunuldu. Kruskal Wallis testinde serum prolidaz aktivitesi, İMA, B12 vitamini, Folat, TSH, T4 ve kalsiyum düzeyi ile NTD alt tipleri arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 10. NTD alt tiplerinin serum ölçüm sonuçlarına göre karşılaştırılması

	Meningomyelosel	**Meningosel**	**Myeloşizis**
	Ortalama ±SS	**Ortalama ±SS**	**Ortalama ±SS**
Prolidaz aktivitesi (IU/L)	2,20 ±0,06	2,20 ±0,07	2,22 ±0,08
İMA (ABSUs)	0,40 ±0,01	0,41 ±0,01	0,40 ±0,02
B12 vitamini (pg/mL)[a]	269,37 ±111,17	150,00 ±53,34	204,00 ±122,72
Folat (ng/mL)[b]	14,21 ±2,96	11,58 ±4,95	15,95 ±2,98
TSH (mU/L)[c]	4,99 ±5,13	7,45 ±6,83	4,93 ±1,77
T4 (mcg/dL)[d]	3,74 ±6,61	1,39 ±0,39	1,24 ±0,41
Kalsiyum (mg/dL)[e]	9,22 ±0,94	9,40 ±0,66	8,97 ±0,71

Mann-Whitney U testinde, serum prolidaz aktivitesi ve serum İMA düzeyi ile cinsiyet arasında anlamlı ilişki saptanmadı (serum prolidaz aktivitesi için: U=200,0 p=0,251 ve serum İMA için: U=226,0 p=0,581). Ayrıca, Spearman korelasyon testi sonucunda hasta yaşı ile serum prolidaz aktivitesi ve serum İMA düzeyi arasında anlamlı korelasyon ilişkisi saptanmadı (serum prolidaz aktivitesi için: korelasyon katsayısı: -0,089, p=0,560 ve serum İMA için: korelasyon katsayısı: 0,218, p=0,150).

3.2.2. Hasta ve kontrol gruplarının serum prolidaz aktivitesine ve serum İMA düzeyine göre karşılaştırılması

İMA ve prolidaz için tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Tablo 11'de verildi. Tablo 11 incelendiğinde, serum İMA ve serum prolidaz aktivitesi için hasta ve kontrol grup ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemli bulundu (her iki analiz için; p=0,001). Buna göre hasta grubunda İMA ve prolidaz değerleri kontrol grubuna göre yüksek olarak tespit edildi.

Tablo 11. Tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

	Grup	**Sayı**	**Ortalama±SS**	**Ortanca**	**Min.**	**Maks.**	**p değeri**
İMA	Hasta	45	0.40±0.01	0.41	0,37	0,42	**0,001**
	Kontrol	45	0.22±0.01	0.21	0,20	0,24	
Prolidaz	Hasta	45	2.21±0.06	2.21	2,11	2,31	**0,001**
	Kontrol	45	1.07±0.04	1.06	1,01	1,15	

4. TARTIŞMA

Sıklıkla meningomyelosel ve miyeloşizis olarak adlandırılan spina bifida aperta, merkezi ve periferik sinir sisteminde yıkıcı fiziksel, nörolojik ve psikolojik sekellere neden olan karmaşık bir konjenital sorundur (111). Lezyon, meninkslerin ve omuriliğin nöral tüpün orta hattındaki füzyon defektinden dışarı çıkması sonucu oluşan ve beyin omurilik sıvısı içeren bir kese (meningomyelosel) ya da merkezinde hatalı şekillenmiş ve displastik nöral doku içeren düz bir oluk (miyeloşizis) oluşturması ile karakterizedir. Meningomyelosel hastalarında, lezyonun seviyesine bağlı olarak değişen derecelerde alt ekstremite paraplejisi, iskelet deformiteleri, bağırsak ve mesane inkontinansı, arka beyin herniasyonu, hidrosefali ve nörobilişsel bozukluklar bulunmaktadır (112).

Meningomyeloselin cinsiyet ile ilişkisinin incelendiği çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Alatise ve arkadaşları (2006) tarafından Nijerya'daki bir hastanede takip edilen toplam 106 hasta ile yürütülen çalışmada, erkek cinsiyetin oranı %54,7, kadın cinsiyetin oranı ise %45,3 olarak belirlenmiştir (28). Malakounides ve arkadaşları (2013) tarafından İngiltere'deki bir hastanede 1970-2011 tarihleri arasında doğan çocuklar ile yapılan çalışmada kadın cinsiyetin erkek cinsiyete oranı 1,2/1 olarak saptanmıştır (34). Ehara ve arkadaşları (1998) tarafından Japonya'da yapılan bir çalışmada ise kadın cinsiyetin oranı %53 olarak raporlanmıştır (35). Kim ve arkadaşları (2018) tarafından Birleşik Devletler' de, 4448 çocuk ile yapılan çalışmada ise kadın cinsiyetin oranı %51,9 olarak saptanmıştır. Çalışmada, kadın cinsiyetinin oranı %55,6 olarak saptandı. Daha önce yürütülmüş çalışmalarda, cinsiyetle ilgili bu farklılıkların, genetik faktörler ve cinsiyet seçimi ile ilişkili olabileceği değerlendirilmektedir.

Anne yaşı, çeşitli konjenital anomaliler ile ilişkilendirilen bir faktördür. İleri anne yaşı ile kromozom yapısında yaşa bağlı çok sayıda değişikliğin meydana geldiği ve bu değişimlerin nöral tüp defektlerine yol açabileceği belirtilmektedir (113). Bununla birlikte, anne yaşı ve nöral tüp defektleri arasındaki ilişkinin saptanmasına yönelik çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Šípek ve arkadaşları (2009) tarafından Çek Cumhuriyeti'nde yürütülen bir çalışmada, 1961-1999 yılları arasında doğmuş spina bifidalı toplam 2420 çocuk değerlendirilmiş ve çalışmanın sonucunda ileri anne yaşı ile spina bifida varlığı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (114). Öte yandan, Berihu ve

arkadaşları (2019) tarafından Etiyopya'da yürütülen bir çalışmada, 35 yaş ve üzeri ve 20 yaş altı anne yaşının nöral tüp defekti varlığı ile güçlü bir şekilde ilişkili oldu rapor edilmiştir. Çalışmanın sonucunda, 20 yaş altı anne yaşının nöral tüp defekti varlığı ile ilişkisinin, bu yaş grubundaki beslenme problemleri ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (115). Çalışmada, ortalama anne yaşı 28,38±5,73 iken ortanca anne yaşı 28 olarak belirlendi.

Meningomyelosel en sık görülen açık nöral tüp defekti olarak bilinmektedir. Çalışmada, hastaların %75,6'sında meningomyelosel saptanırken %11,1'inde meningosel ve %13,3'ünde ise myeloşizis varlığı saptandı.

Alanyazın çalışmasında, lezyon seviyesinin sıklığına ilişkin farklı sonuçların elde edildiği görülmüştür. Borgstedt-Bakke ve arkadaşları (2017) tarafından yürütülen çalışmada, lomber lezyonların oranı %83, torakal lezyonların oranı %8,6 ve sakral lezyonların oranı %7 olarak saptanmıştır (116). Kim ve arkadaşları (2018) tarafından, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Ulusal Spina Bifida Hasta Veri Tabanı'nda (National Spina Bifida Patient Registry -NSBPR) yer alan veriler ile yapılan çalışmada toplam 4448 çocuğun verileri değerlendirilmiş, çalışmanın sonucunda lomber lezyonların oranı %29.8, torakal lezyonların oranı %19.2 ve sakral lezyonların oranı % 19.8 olarak saptanmıştır (117). İlhan ve arkadaşları (2017) tarafından İzmir'deki üçüncü basamak bir hastanede takip edilen toplam 40 hasta ile yürütülen çalışmada, meningomyelosel hastalarında lomber lezyonların oranı %80, torakolomber lezyonların oranı %12,5 ve sakral lezyonların oranı %7,5 olarak saptanmıştır (118).

Çalışmada, tüm hastalar göz önünde bulundurulduğunda (meningomyelosel + meningosel + myeloşizis), lomber lezyonların oranı %46,7, torakal lezyonların oranı %4,4 ve lumbosakral lezyonların oranı %26,7 olarak saptandı. Sadece meningomyelosel hastaları göz önünde bulundurulduğunda ise lomber lezyonların oranının %50,0, torakal lezyonların oranının %5,9 ve lumbosakral lezyonların oranının %20,6 olduğu görüldü. Çalışmalarda elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıkların, NTD tipleri için tanımlanmış adlandırmaların birbirinin yerine kullanılabilmesi ile kimi çalışmalarda lezyon seviyesinin radyolojik olarak saptanması ve kimi çalışmalarda ise lezyon seviyesinin klinik belirtilere göre belirlenmesinden kaynaklanmış olabileceği düşünüldü.

Meningomyelosel ile ilişkili hidrosefalinin patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır; ancak öne sürülmüş bir teoriye göre, meningomyelosel defektinden uygunsuz in-utero BOS akışı, normal BOS drenaj yollarının az gelişmesine yol açmaktadır (119). Bu teori, defektin daha erken kapatılmasının daha hafif nörolojik bozukluklar ve daha az doğum sonrası hidrosefali ile sonuçlanacağı öngörüsüyle doğum öncesi meningomyelosel tamirinin değerlendirildiği ilk hayvan çalışmaları ve insan çalışmaları için bilimsel temelin atılmasını sağlamıştır. Yürütülmüş çalışmalara göre, meningomyelosel defektinin doğum sonrası kapanmasını takiben bildirilen meningomyelosel ile ilişkili hidrosefali insidansı %57 ile %86 arasında değişmektedir. (120).

Kim ve arkadaşları (2018) tarafından yürütülen çalışmada, toplam 4448 hastadaki torakal lezyonların %92,2'sinde, lomber lezyonların %82,4'ünde ve sakral lezyonların %60,7'sinde hidrosefali cerrahisi yapıldığı gösterilmiştir (117). İlhan ve arkadaşları (2017) tarafından yürütülen çalışmada meningomyelosel hastalarının %77,5'inde hidrosefali bulunduğu, ve hastaların %55'ine hidrosefali cerrahisi uygulandığı rapor edilmiştir (118). Çalışmada, hastaların %51,1'ine hidrosefali cerrahisi uygulanırken %48,9'unda ise cerrahi yapılmadığı görüldü. Sadece meningomyelosel hastaları göz önünde bulundurulduğunda, hastaların %41,1'ine hidrosefali cerrahisi uygulanırken %52,9'unda ise cerrahi yapılmadığı belirlendi.

Anne veya çocuk serum B12 vitamini düzeyinin düşük olmasının nöral tüp defekti ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir. Wilson ve arkadaşları (1999) yürütülen çalışmada, anne de veya çocuğunda, metiyonin sentaz redüktaz (MTRR) enziminin aktivitesini etkileyen genetik sorunların ve B12 vitamini yetersizliğinin varlığının artmış nöral tüp defekti riskiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, annede MTRR gen polimorfizmiyle birlikte B12 vitamini yetersizliğinin bulunmasının nöral tüp defekti riskinde 5 kat artış, çocukta MTRR gen polimorfizmi ile birlikte B12 vitamini yetersizliğinin bulunmasının ise nöral tüp defekti riskinde 2,5 kat artış ile ilişkili olduğu raporlanmıştır (121). Bununla birlikte, Akyol ve arkadaşları (2023) tarafından yürütülen çalışmada, çocukta ölçülen serum B12 vitamini, kalsiyum ve folat düzeylerinin nöral tüp defekti varlığı ile primer ilişkili olmadığı raporlanmıştır (122).

Çalışmada, hastaların %35,6'sında B12 vitamini yetersizliği bulunduğu saptandı. B12 vitamini düzeyini değerlendirmek için genellikle toplam serum B12 vitamini konsantrasyonları kullanılmaktadır. Bu yaklaşım için B12 eksikliğini güvenilir bir şekilde teşhis edebilecek tek bir belirteç olmadığından sadece B12 ölçümü, yüksek oranda yanlış negatif sonuçlara neden olabilmektedir. Bu nedenle, metil malonik asit (MMA) ve aktif B12 vitamini 'holotranskobalamin (holoTC)' gibi farklı biyo-belirteçlerin kullanılmasının B12 vitamini durumunun değerlendirilmesinde yardımcı olabileceği belirtilmektedir (123).

Prolidaz aktivitesinin yaş ve cinsiyet açısından anlamlı farklılık göstermediği belirtilmektedir. Çalışmada, bezer şekilde yaş ve cinsiyet ile prolidaz aktivitesi arasında anlamlı ilişki bulunmadığı saptanmadı. Bunun yanında, tanı, lezyon seviyesi, klinik ve hidrosefali cerrahisi öyküsü ile prolidaz aktivitesi arasında anlamlı ilişki bulunmuyordu.

Prolidaz enzimi, kolajenin geri dönüşümü sırasında hız sınırlayıcı basamağı katalize etmekte ve protein metabolizması, kolajen döngüsü ve matriksin yeniden şekillenmesinde önemli yer tutmaktadır. Bu nedenle, yara iyileşmesi, inflamasyon, anjiyogenez ve hücre proliferasyonu gibi birçok fizyolojik süreçte ve karsinogenezde çok önemli bir rol oynamaktadır. Prolidaz aktivitesinin yüksekliği veya düşüklüğü, farklı hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir. Yüksek prolidaz aktivitesinin, son ürünü olan prolin aminoasidinin beyin dokusunda birikimine yol açarak bilişsel defisit ve zihinsel engel ile şizofreni, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı ve serebral iskemiye yol açabileceği gösterilmiştir. Bunun yanında, düşük prolidaz aktivitesinin zihinsel yetersizlik ve gelişimin gecikmesi ile ilişkili olduğu öne sürülmektedir (57).

Prolidaz aktivitesindeki değişimin olası MSS etkilerini inceleyen az sayıda bulunmakta olup bu çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Karacan ve arkadaşları tarafından (2020) epilepsi bulunan 61 hasta ve sağlıklı 32 kontrol ile yürütülen çalışmada, antiepileptik tedavi alan epilepsi hastası çocuklarda serum prolidaz aktivitesinin belirgin olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir (124). Buna karşın, Ayas ve arkadaşları tarafından (2019) epilepsi bulunan 27 hasta ve sağlıklı 31 kontrol ile yürütülen çalışmada ise serum prolidaz aktivitesinin ile epilepsi varlığı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (125). Bununla birlikte, Ceylan ve arkadaşları tarafından (2019)

pediatrik bipolar bozukluk tanısı almış 27 hasta ve sağlıklı 31 kontrol ile yürütülen çalışmada, pediatrik bipolar bozukluk bulunan çocuklarda serum prolidaz aktivitesinin belirgin olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir (126).

Çalışmada, NTD bulunan hastalarda serum prolidaz aktivitesinin kontrol grubuna göre yaklaşık iki kat yüksek olduğu belirlendi. Ayrıca, meningomyelosel, meningosel, myeloşizis hastalarında prolidaz aktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı görüldü. Literatür taramasında, prolidaz aktivitesi ile NTD varlığı arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışma saptanmadı.

İnsan embriyosunda, nöral tüpün oluşma süreci 19. günde başlamakta ve anterior nöropor 25. günde, posterior nöropor ise 28. günde kapanmaktadır. Dolayısıyla, kapanma ile ilişkili kusurların 19.-28. günlerde aktif olarak işleyen genetik ve metabolik süreçler ile ilişkili olması beklenmektedir. Toy ve arkadaşları tarafından (2009) yürütülen bir çalışmada, fetal gelişme geriliği bulunan annelerin serum prolidaz aktivitesinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiştir (127). Birçok dokuda prolidaz aktivitesi ve kusurları incelenmiş olmakla birlikte, ilgili dönemdeki (19. ve 28. günler) fetüse ait prolidaz kaynakları ve fetüsün prolidaz aktivitesi bilinmemektedir. Bu nedenle, fetal prolidaz aktivitesi yüksekliğinin NTD oluşumuna yol açmış olabileceği gibi fetal prolidaz aktivitesi yüksekliği ve NTD oluşumuna yol açmış olabilecek olası ortak faktör veya faktörlerin varlığı da göz önünde bulundurulmalıdır.

Özellikle kardiyak hastalıklarda, kalp kası hasarının başlangıcından önce iskeminin erken değerlendirilmesi, enfarktüse ilerleyişin önlenebilmesi ve daha sonraki komplikasyonları önlemek için yararlı olabileceği belirtilen İMA; ayrıca, çeşitli psikiyatrik hastalıklarda, çeşitli kanserlerde, iskemik inmede, intrauterin gelişme geriliğinde ve gebelik ve doğum komplikasyonlarının değerlendirilmesinde sıkça çalışılan bir biyo-belirteçtir (8). Deneysel ve klinik çalışmalarda, normal gebeliğin erken evrelerinde ve normal gebeliğin üçüncü trimesterinde anne kanındaki IMA düzeylerinin arttığı doğrulamıştır. Normal gebelikte anne kan serumu IMA seviyelerinin gebeliğin ilk üç ayında yaklaşık 2 kat arttığı ve tüm gebelik dönemi boyunca sürekli olarak yüksek kaldığı gösterilmiştir (128).

Papageorghiou ve arkadaşları (2008) tarafından, gebeliğin erken evrelerindeki anormal intrauterin hipoksinin, reperfüzyon sırasında trofoblastlarda oksidatif hasara neden olabileceği ve gebeliğin 20. haftasından sonra preeklampsinin klasik semptom kompleksine (proteinüri, hipertansiyon) ek olarak kullanılabileceği saptanmıştır (129). Başka bir çalışmada, plasenta yetmezliğine bağlı fetal büyüme geriliği olan gebelik komplikasyonlarında, ikinci trimesterin sonunda ve doğumdan hemen sonra alınan örneklerde, maternal serum IMA düzeylerinde normal gebeliğe göre 1,5 kat artış bulunduğu gösterilmiştir (130). Reddy ve arkadaşları (2018) tarafından yürütülen bir sistematik derleme ve meta analiz çalışmasında, anne serumunda ve fetal kord kanında ölçülen İMA düzeyinin normal gebelik ve preeklampsi için bir biyo-belirteç olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (131).

Nöral tüp defektinde İMA düzeylerini ve klinik önemini incelemeye yönelik çalışma sayısı çok azdır. Güzelmansur ve arkadaşları (2018) tarafından bir yürütülen bir çalışmada, nöral tüp defekti olan bir fetüse sahip gebelerde serum İMA düzeyinin normal gebe kadınlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu raporlanmıştır (132). Özyer ve arkadaşları (2019) tarafından yürütülen diğer bir çalışmada da ikinci trimester gebeliği bulunan toplam 61 gebe değerlendirilmiş, çalışmanın sonucunda, benzer sonuç elde edilmiştir (133). Yakın zamanda yayımlanan yeni bir çalışmada elde edilmiş sonuçlar da bu verileri doğrulamaktadır (134).

İMA düzeyleri, daha çok akut iskemik olayları değerlendirilmesi açısından incelense de yakın zamanda Erol ve arkadaşları (2022) tarafından yürütülen çalışmada, artmış İMA seviyelerinin, altta yatan akut olmayan iskemik bir durumun en iyi göstergesi olabileceği gösterilmiştir (135).

İMA düzeyleri, aynı zamanda oksidatif stresin önemli bir biyo-belirteci olarak gösterilmektedir. Akdağ ve arkadaşları (2020) tarafından kronik ürtiker hastası çocuklar ve kontrol grubu ile yapılan çalışmada, kronik ürtiker hastası çocuklarda diğer oksidatif stres bulgularıyla birlikte serum İMA düzeyinin anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır (136). Beta talasemi hastası çocuklar ve kontrol grubuyla yürütülen diğer çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (137).

Çalışmada, nöral tüp defekti bulunan hastalarda serum İMA seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptandı. Ayrıca, serum İMA seviyesi ile cinsiyet ve yaş arasında anlamlı ilişki bulunmadığı görüldü. ek olarak, nöral tüp defektleri tipleri arasında serum İMA seviyesi açısından anlamlı fark bulunmadığı saptandı. Literatür incelemesinde, nöral tüp defekti bulunan çocuklarda serum İMA seviyesini araştıran çalışma rastlanmadı. Bununla birlikte, çalışmada elde edilen sonuçlar, meningomyelosel, meningosel ve myeloşizis hastalarında süreğen oksidatif strese bağlı iskemi olabileceğini göstermektedir. Nöral tüp defekti ve süreğen iskemi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi için kapsamlı çalışmaların yürütülmesi gerekmektedir.

Kısıtlılıklar

Serum İMA seviyesi, serum albümin seviyesi ile doğrudan ilişkili olduğundan, serum albümin konsantrasyonundaki değişiklikler serum İMA konsantrasyonunu da etkileyebilmekte ve sonuçların yanlış yorumlanmasına neden olabilmektedir. Gebelik durumundaki kan albümin düzeyi de serum İMA düzeyini etkileyebilme durumu mevcut olup Meningomyelocel hastalarının annelerinden gebeyken çalışma için kan alamadığımızdan dolayı çocukların da albümin düzeyi çalışılmadı. Çalışmamızda albümin düzeyi değerlendirilmemiştir.

5. SONUÇ

Nöral tüp defekti bulunan hastalarda, serum prolidaz aktivitesinin ve serum İMA düzeyinin kontrol grubuna göre yaklaşık 2 kat daha yüksek olduğu saptandı. Bununla birlikte, meningomyelosel, meningosel ve myeloşizis hastaları arasında serum prolidaz aktivitesi ve serum İMA düzeyi açısından anlamlı fark bulunmadığı görüldü.

Kemik ve cilt defekti bulunan farklı hasta gruplarında serum prolidaz aktivitesi ve serum İMA düzeyinin orantılı olarak yükseldiği görüldü.

Önemli bir morbidite sorunu olan meningomyelosel hastalığının patofizyolojisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Çalışmanın sonucunda, oksidatif stres için iyi bir belirteç olabileceği belirtilen iskemi modifiye albüminin düzeyinin ve kolajen metabolizmasında önemli bir rol oynayan serum prolidaz aktivitesinin meningomyelosel hastalarında yüksek olduğu saptandı. Gelecekteki çalışmalarda meningomyelosel hastalarındaki serum prolidaz aktivitesinin ve serum İMA düzeyinin süreğen yüksekliğinin nedenlerinin incelenmesine odaklanılmasının, nöral tüp defektlerinin patogenezinin aydınlatılmasına katkıda bulunabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışma, NTD hastalarında serum prolidaz aktivitesi ve serum İMA düzeyinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamızın NTD bulunan hastalarda bu tarz çalışmalar için öncülük edebileceğini düşünüyoruz.

6. KAYNAKÇA

1. Shaer CM, Chescheir N, Schulkin J. Myelomeningocele: a review of the epidemiology, genetics, risk factors for conception, prenatal diagnosis, and prognosis for affected individuals. Obstet Gynecol Surv. 2007 62(7): 471-9.

2. Christianson AL, Howson CP, Modell B. Global report on birth defects: the hidden toll of dying and disabled children. White Plains (NY): March of Dimes Birth Defects Foundation 2006 sf: 28.

3. Blencowe H, Cousens S, Modell B, Lawn J. Folic acid to reduce neonatal mortality from neural tubedisorders. International Journal of Epidemiology 2010 39(Suppl 1): 110–121.

4. Zaganjor I, Sekkarie A, Tsang BL, Williams J, Razzaghi H, Mulinare J, Sniezek JE, Cannon MJ, Rosenthal J. Describing the Prevalence of Neural Tube Defects Worldwide: A Systematic Literature Review. PLoS One 2016 11(4): e0151586.

5. Padmanabhan R. Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects. Congenit Anom (Kyoto) 2006 46(2): 55-67.

6. Insolia V, Priori EC, Gasperini C, Coppa F, Cocchia M, Iervasi E, Ferrari B, Besio R, Maruelli S, Bernocchi G, Forlino A, Bottone MG. Prolidase enzyme is required for extracellular matrix integrity and impacts on postnatal cerebellar cortex development. J. Comp Neurol 2020 1;528(1): 61-80.

7. Insolia V, Piccolini VM. Brain morphological defects in prolidase deficient mice: first report. Eur J Histochem. 2014 17;58(3): 2417.

8. Shevtsova A, Gordiienko I, Tkachenko V, Ushakova G. Ischemia-Modified Albumin: Origins and Clinical Implications. Dis Markers 2021 19;2021: 9945424..

9. Okda MA, El Kabany RA, Soliman HS, ElKholy MS, Ischemia-modified albumin for evaluating severityand predicting prognosis in patients with acute cerebrovascular disease. Menoufia Medical Journal 2020 33(3): sf 1072–1076.

10. Altunoglu E, Guntas G, Erdenen F, Akkaya E, Topac I, Irmak H, Derici H, Yavuzer H, Gelisgen R, Uzun H. Alzheimer's disease and protein oxidation. Geriatrics & Gerontology International 2015 15: 872-880.

11. Karaaslan Ö, Hacımusalar Y, Amuk ÖC, Bal C. Evaluation of ischemia modified albumin levels in major depression patients. Journal of Surgery and Medicine 2019 3(8): 557–560.

12. Tunç S, Atagün Mİ, Neşelioğlu S, Bilgin YY, Başbuğ HS, Erel Ö. Ischemia-modified albumin: a unique marker of global metabolic risk in schizophrenia and mood disorders. Psychiatry and Clinical Psychopharmacology 2018 29(2):123–129.

13. Song RB, Glass EN, Kent M. Spina Bifida, Meningomyelocele, and Meningocele. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2016 46(2):327-45.

14. McComb JG. A practical clinical classification of spinal neural tube defects. Childs Nerv Syst. 2015 31(10): 1641-57.

15. Baykaner MK, Erşahin Y, Mutluer MS, Özek MM: Pediatrik Nöroşirürji. Türk Nöroşirürji Derneği Yayını No: 15. Ankara, 2014 sf: 111-122.

16. Brea CM, Munakomi S. Spina Bifida. [Updated 2023 Feb 12]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559265/.

17. Copp AJ, Adzick NS, Chitty LS, Fletcher JM, Holmbeck GN, Shaw GM. Spina bifida. Nat Rev Dis Primers 2015 30(1): 15007.

18. Kantar HN, Spina Bifida'lı Çocuklarda Cerebellum Morfometrisinin Mrg ile Değerlendirilmesi, Yüksek lisans Tezi, Tez Dan: Muzaffer ŞEKER, Konya, 2021 sf: 20-21.

19. Akyol ME, & Arabaci O. Servikal Meningomyelosel-Tek Merkezli Deneyimi. Van Tıp Dergisi 2023 30(1), 72-77.

20. du Plessis A & Volpe J. Neural Tube Development. In: Volpe's Neurology of the Newborn. Elsevier 2018: 3-30.

21. Monsoro-Burq AH, Bontoux M, Vincent C, Le Douarin NM. The developmental relationships of the neural tube and the notochord: short and long term effects of the notochord on the dorsal spinal cord. Mech Dev. 1995 53(2):157-70.

22. Manning S, Madsen J, Jennings R. Pathophysiology, prevention and potential treatment of neural tube defects. Ment Retard Dev Disabil Res Rev. 2000 27(3): 515-24.

23. Detrait ER, George TM, Etchevers HC, Gilbert JR, Vekemans M, Speer MC. Human neural tube defects: developmental biology, epidemiology, and genetics. Neurotoxicol Teratol. 2005 27(3): 515-24.

24. Richtsmeier JT, Flaherty K. Hand in glove: brain and skull in development and dysmorphogenesis. Acta Neuropathol. 2013 125(4): 469-89.

25. Harding BN, Copp AJ. Malformations. In: Graham DI, Lantos PL, eds. Greenfield's Neuropathology. Vol. 1. 7th ed. London: Arnold Publishers 2002: 357-48.

26. Sun JC, Steinbok P, Cochrane DD. Cervical myelocystoceles and meningoceles: long-term follow-up. Pediatr Neurosurg. 2000 (3): 118-22.

27. Cowan WM. The development of the brain. Sci Am. 1979 241(3): 113-33.

28. Alatise OI, Adeolu AA, Komolafe EO, Adejuyigbe O, Sowande OA. Pattern and factors affecting management outcome of spina bifida cystica in Ile-Ife, Nigeria. Pediatr Neurosurg. 2006 42(5): 277-83.

29. Fieggen G, Fieggen K, Stewart C, Padayachy L, Lazarus J, Donald K, Dix-Peek S, Toefy Z, Figaji A. Spina bifida: a multidisciplinary perspective on a many-faceted condition. S Afr Med J. 2014 104(3): 213-7.

30. Sahni M, Alsaleem M, Ohri A. Meningomyelocele. [Updated 2022 Sep 5]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Erişim adresi: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536959/.

31. Trudell AS, Odibo AO. Diagnosis of spina bifida on ultrasound: always termination? Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2014 28(3): 367-77.

32. Doherty D, Walker WO, Neural Tube Defects, Editor(s): Aminoff MJ, Daroff RB, Encyclopedia of the Neurological Sciences (Second Edition), Academic Press 2014: 360-365,.

33. Chen CP. Prenatal diagnosis, fetal surgery, recurrence risk and differential diagnosis of neural tube defects. Taiwan J Obstet Gynecol. 2008 47(3): 283-90.

34. Malakounides G, Lee F, Murphy F, Boddy SA. Single centre experience: long term outcomes in spina bifida patients. J Pediatr Urol. 2013 9(5): 585-9.

35. Ehara H, Ohno K, Ohtani K, Koeda T, Takeshita K. Epidemiology of spina bifida in Tottori Prefecture, Japan, 1976-1995. Pediatr Neurol. 1998 19(3): 199-203.

36. Attila Rab, Prenatal diagnosis and further clinical characteristics of spina bifida, Asian Pacific Journal of Reproduction 2013 2(1): 52-57.

37. Papp C, Adám Z, Tóth-Pál E, Török O, Váradi V, Papp Z. Risk of recurrence of craniospinal anomalies. J Matern Fetal Med. 1997 6(1): 53-7.

38. Varinder K, Jyoti S. Neural Tube Defects: A Comprehensive Review. International Journal of Science and Research 2017 4(7): 270-275.

39. Levine D, Barnes PD, Madsen JR, Li W, Edelman RR. Fetal central nervous system anomalies: MR imaging augments sonographic diagnosis. Radiology 1997 204(3): 635-42.

40. Coakley FV, Glenn OA, Qayyum A, Barkovich AJ, Goldstein R, Filly RA. Fetal MRI: a developing technique for the developing patient. AJR Am J Roentgenol. 2004 182(1): 243-52.

41. Mirsky DM, Schwartz ES, Zarnow DM. Diagnostic features of myelomeningocele: the role of ultrafast fetal MRI. Fetal Diagn Ther. 2015 37(3): 219-25.

42. Avagliano L, Massa V, George TM, Qureshy S, Bulfamante GP, Finnell RH. Overview on neural tube defects: From development to physical characteristics. Birth Defects Res. 2019 111(19): 1455-1467.

43. Williams EN, Broughton NS, Menelaus MB. Age-related walking in children with spina bifida. Dev Med Child Neurol. 1999 41(7): 446-9.

44. Taveras JM, pile-Spelmann J: Neuroradiology. 3rd ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 1996.

45. Liptak GS, Dosa NP. Myelomeningocele. Pediatr Rev. 2010 31(11): 443-50.

46. Adzick NS, Thom EA, Spong CY, Brock JW 3rd, Burrows PK, Johnson MP, Howell LJ, Farrell JA, Dabrowiak ME, Sutton LN, Gupta N, Tulipan NB, D'Alton ME, Farmer DL; MOMS Investigators. A randomized trial of prenatal versus postnatal repair of myelomeningocele. N Engl J Med. 2011 364(11): 993-1004.

47. Meller C, Covini D, Aiello H, Izbizky G, Portillo Medina S, Otaño L. Update on prenatal diagnosis and fetal surgery for myelomeningocele. Arch Argent Pediatr. 2021 119(3): e215-e228.

48. Woodhouse CR. Myelomeningocele: neglected aspects. Pediatr Nephrol. 2008 23(8): 1223-31.

49. Rodrigues AB, Krebs VL, Matushita H, de Carvalho WB. Short-term prognostic factors in myelomeningocele patients. Childs Nerv Syst. 2016 32(4): 675-80.

50. Battibugli S, Gryfakis N, Dias L, Kelp-Lenane C, Figlioli S, Fitzgerald E, Hroma N, Seshadri R, Sullivan C. Functional gait comparison between children with myelomeningocele: shunt versus no shunt. Dev Med Child Neurol. 2007 49(10): 764-9.

51. Doherty D, Walker WO. Neural Tube Defects, Editor(s): Aminoff MJ, Daroff RB, Encyclopedia of the Neurological Sciences (Second Edition), Academic Press, 2014: 360-365.

52. Alruwaili AA, M Das J. Myelomeningocele. [Updated 2022 Jun 27]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546696/.

53. Oncel MY, Ozdemir R, Kahilogulları G, Yurttutan S, Erdeve O, Dilmen U. The effect of surgery time on prognosis in newborns with meningomyelocele. J Korean Neurosurg Soc. 2012 51(6): 359-62.

54. Surazynski A, Miltyk W, Palka J, Phang JM. Prolidase-dependent regulation of collagen biosynthesis. Amino Acids 2008 35(4): 731-8.

55. DAVIS NC, SMITH EL. Purification and some properties of prolidase of swine kidney. J Biol Chem. 1957 224(1): 261-75. .

56. Namiduru ES. Prolidase. Bratisl Lek Listy. 2016 117(8): 480-5.

57. Eni-Aganga I, Lanaghan ZM, Balasubramaniam M, Dash C, Pandhare J. PROLIDASE: A Review from Discovery to its Role in Health and Disease. Front Mol Biosci. 2021 31(8): 723003.

58. NCBİ. PEPD peptidase D [Homo sapiens (human)]. Erişim tarihi: 05.02.2023. Erişim adresi: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5184.

59. Uramatsu S, Liu G, Yang Q, Uramatsu M, Chi H, Lu J, Yamashita K, Kodama H. Characterization of prolidase I and II purified from normal human erythrocytes: comparison with prolidase in erythrocytes from a patient with prolidase deficiency. Amino Acids 2009. 37(3):543-51.

60. Lowther WT, Matthews BW. Metalloaminopeptidases: common functional themes in disparate structural surroundings. Chem Rev. 2002 102(12): 4581-608.

61. Wilk P, Uehlein M, Piwowarczyk R, Dobbek H, Mueller U, Weiss MS. Structural basis for prolidase deficiency disease mechanisms. FEBS J. 2018 285(18): 3422-3441.

62. Sabuncu T, Boduroglu O, Eren MA, Torun AN, Aksoy N. The Value of Serum Prolidase Activity in Progression of Microalbuminuria in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. J Clin Lab Anal. 2016 30(5): 557-62.

63. Wilk P, Uehlein M, Kalms J, Dobbek H, Mueller U, Weiss MS. Substrate specificity and reaction mechanism of human prolidase. FEBS J. 2017 284(17): 2870-2885.

64. Phang JM., Yeh GC., Scerıver.: Disorders of proline and hydroxyproline metabolism. İn theMetabolic and Molecular Basis of Inherited Disease, (7th Ed)ScriverRC., Blandet al., SlyWS., (Eds) Mc Graw Hill, Montreal, 1995; 1125-41.

65. Lupi A, Tenni R, Rossi A, Cetta G, Forlino A. Human prolidase and prolidase deficiency: an overview on the characterization of the enzyme involved in proline recycling and on the effects of its mutations. Amino Acids. 2008 Nov;35(4):739-52.

66. Josefsson L, Sjöström H, Norén O. Intracellular hydrolysis of peptides. Ciba Found Symp. 1977 (50): 199-207.

67. Guszczyn T, Surażyński A, Zaręba I, Rysiak E, Popko J, Pałka J. Differential effect of platelet-rich plasma fractions on β1-integrin signaling, collagen biosynthesis, and prolidase activity in human skin fibroblasts. Drug Des Devel Ther. 2017 22(11): 1849. - 1857.

68. Kadler KE, Baldock C, Bella J, Boot-Handford RP. Collagens at a glance. J Cell Sci. 2007 120(Pt 12): 1955-8.

69. Phang JM, Liu W, Zabirnyk O. Proline metabolism and microenvironmental stress. Annu Rev Nutr. 2010 21(30): 441-63.

70. Adams E, Smith EL. Peptidases of erythrocytes. II. Isolation and properties of prolidase. J Biol Chem. 1952 198(2): 671-82.

71. Yang L, Li Y, Ding Y, Choi KS, Kazim AL, Zhang Y. Prolidase directly binds and activates epidermal growth factor receptor and stimulates downstream signaling. J Biol Chem. 2013 288(4): 2365-75.

72. Misiura M, Miltyk W. Current Understanding of the Emerging Role of Prolidase in Cellular Metabolism. Int J Mol Sci. 2020 21(16): 5906.

73. Kitchener RL, Grunden AM. Prolidase function in proline metabolism and itsmedical and biotechnological applications. J Appl Microbiol. 2012 113(2): 233-47.

74. Spodenkiewicz M, Spodenkiewicz M, Cleary M, Massier M, Fitsialos G, Cottin V, Jouret G, Poirsier C, Doco-Fenzy M, Lèbre AS. Clinical Genetics of Prolidase Deficiency: An Updated Review. Biology (Basel) 2020 9(5): 108.

75. Dolenga M, Hechtman P. Prolidase deficiency in cultured human fibroblasts: biochemical pathology and iminodipeptide-enhanced growth. Pediatr Res. 1992 32(4): 479-82.

76. Forlino A, Lupi A, Vaghi P, Icaro Cornaglia A, Calligaro A, Campari E, CettaG. Mutation analysis of five new patients affected by prolidase deficiency: thelack of enzyme activity causes necrosis-like cell death in cultured fibroblasts. Hum Genet. 2002. 111(4-5): 314-22.

77. Falik-Zaccai TC, Khayat M, Luder A, Frenkel P, Magen D, Brik R, Gershoni-Baruch R, Mandel H. A broad spectrum of developmental delay in a large cohort of prolidase deficiency patients demonstrates marked interfamilial and intrafamilial phenotypic variabil. ity. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2010 153B(1): 46-56.

78. Süßmuth K, Metze D, Muresan AM, Lehmberg K, Zur Stadt U, Speckmann C, Park JH, Marquardt T, Oji V, Goerge T. Ulceration in Prolidase Deficiency: Successful Treatment with Anticoagulants. Acta Derm Venereol. 2020 100(1): adv00002.

79. Cechowska-Pasko M, Pałka J, Wojtukiewicz MZ. Enhanced prolidase activity and decreased collagen content in breast cancer tissue. Int J Exp Pathol. 2006 87(4): 289-96.

80. Wyse AT, Netto CA. Behavioral and neurochemical effects of proline. Metab Brain Dis. 2011 26(3): 159-72.

81. Vural M, Camuzcuoglu H, Toy H, Aksoy N. Amniotic fluid prolidase activity and oxidative status in neural tube defects. Fetal Diagn Ther. 2010 28(1): 34-9.

82. Hui KS, Lajtha A. Activation and inhibition of cerebral prolidase. J Neurochem. 1980 35(2): 489-94.

83. Insolia V, Piccolini VM. Brain morphological defects in prolidase deficient mice: first report. Eur J Histochem. 2014 58(3): 2417.

84. Ahn SM, Simpson RJ. Body fluid proteomics: Prospects for biomarker discovery. Proteomics Clin Appl. 2007 1(9): 1004-15.

85. Peters, T Jr. All about albumin. In Biochemistry, Genetics, and Medical Applications; Academic Press Ltd: London, 1996.

86. Haefliger DN, Moskaitis JE, Schoenberg DR, Wahli W. Amphibian albumins as members of the albumin, alpha-fetoprotein, vitamin D-binding protein multigene family. J Mol Evol. 1989 29(4): 344-54.

87. Li S, Cao Y, Geng F. Genome-Wide Identification and Comparative Analysis of Albumin Family in Vertebrates. Evol Bioinform Online 2017 13: 1176934317716089.

88. Shamay A, Homans R, Fuerman Uet al, Expression of albumin in nonhepatic tissues and its synthesis by the bovine mammary gland, Journal of Dairy Science 2005 88(2): 569–576.

89. Ahn SM, Byun K, Cho K, Kim JY, Yoo JS, Kim D, Paek SH, Kim SU, Simpson RJ, Lee B. Human microglial cells synthesize albumin in brain. PLoS One 2008 30;3(7): e2829.

90. Smi A, Othani W, Kobayashi K, Ohmura T, Yokoyama K, Nishida M, Suyama T. Blood Proteins. Biotechnol. 1993 227: 293-8.

91. Nishio H, Heiskanen M, Palotie A, Bélanger L, Dugaiczyk A. Tandem arrangement of the human serum albumin multigene family in the sub-centromeric region of 4q: evolution and chromosomal direction of transcription. J Mol Biol. 1996 259(1): 113-9.

92. Al-Harthi S, Lachowicz JI, Nowakowski ME, Jaremko M, Jaremko Ł. Towards the functional high-resolution coordination chemistry of blood plasma human serum albumin. J Inorg Biochem. 2019 198: 110716.

93. Lexa KW, Dolghih E, Jacobson MP. A structure-based model for predicting serum albumin binding. PLoS One 2014 9(4): e93323.

94. Belinskaia DA, Voronina PA, Batalova AA, Goncharov NV. Serum Albumin. Encyclopedia 2021 1: 65–75.

95. Goncharov NV, Belinskaia DA, Razygraev AV, Ukolov AI. [On the Enzymatic Activity of Albumin]. Bioorg Khim. 2015 41(2): 131-44.

96. Lee WQ, Affandi IS, Feroz SR, Mohamad SB, Tayyab S. Evaluation of pendimethalin binding to human serum albumin: Insights from spectroscopic and molecular modeling approach. J Biochem Mol Toxicol. 2017 31(2).

97. Bar-Or D, Curtis G, Rao N, Bampos N, Lau E. Characterization of the Co(2+) and Ni(2+) binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin. An insight into the mechanism of a new assay for myocardial ischemia. Eur J Biochem. 2001 268(1): 42-7.

98. Sbarouni E, Georgiadou P, Voudris V. Ischemia modified albumin changes - review and clinical implications. Clin Chem Lab Med. 2011 49(2): 177-84.

99. Dursun A, Okumus N, Zenciroglu A. Ischemia-modified albumin (IMA): could it be useful to predict perinatal asphyxia?. J Matern Fetal Neonatal Med. 2012 25(11): 2401-5.

100. Sbarouni E, Georgiadou P, Kremastinos DT, Voudris V. Ischemia modified albumin: is this marker of ischemia ready for prime time use? Hellenic J Cardiol. 2008 49(4): 260-6.

101. Collinson PO, Gaze DC. Ischaemia-modified albumin: clinical utility and pitfalls in measurement. J Clin Pathol. 2008 61(9): 1025-8.

102. Bhagavan NV, Lai EM, Rios PA, Yang J, Ortega-Lopez AM, Shinoda H, Honda SA, Rios CN, Sugiyama CE, Ha CE. Evaluation of human serum albumin cobalt binding assay for the assessment of myocardial ischemia and myocardial infarction. Clin Chem. 2003 49(4): 581. -5.

103. Bilgi M, Keser A, Katlandur H, Sahin E, Kalkan AO, Yildiz M, Kiyici A, Keles M. Evaluation of the Relationship Between Microalbuminuria and Urine Ischemia-Modified Albumin Levels in Patients with Diabetic Nephropathy. J Clin Lab Anal. 2017 31(3): e22058.

104. Reddy VS, Bukke S, Mahato K, Kumar V, Reddy NV, Munikumar M, Vodelu B. A meta-analysis of the association of serum ischaemia-modified albumin levels with human hypothyroidism and hyperthyroidism. Biosci Rep. 2017 37(1): BSR20160268.

105. Mentese A, Mentese U, Turedi S, Gunduz A, Karahan SC, Topbas M, Turan A, Patan T, Turkmen S, Okur G, Eminagaoglu MS. Effect of deep vein thrombosis on ischaemia-modified albumin levels. Emerg Med J. 2008 25(12): 811-4.

106. Turedi S, Gunduz A, Mentese A, Karahan SC, Yilmaz SE, Eroglu O, Nuhoglu I, Turan I, Topbas M. Value of ischemia-modified albumin in the diagnosis of pulmonary embolism. Am J Emerg Med. 2007 25(7): 770-3.

107. Turedi S, Gunduz A, Mentese A, Topbas M, Karahan SC, Yeniocak S, Turan I, Eroglu O, Ucar U, Karaca Y, Turkmen S, Russell RM. The value of ischemia-modified albumin compared with d-dimer in the diagnosis of pulmonary embolism. Respir Res. 2008 9(1): 49.

108. Bahinipati J, Mohapatra PC. Ischemia Modified Albumin as a Marker of Oxidative Stress in Normal Pregnancy. J Clin Diagn Res. 2016 10(9): BC15-BC17.

109. Lv H, Wang Q, Wu S, Yang L, Ren P, Yang Y, Gao J, Li L. Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy-related biomarkers in serum and cerebrospinal fluid. Clin Chim Acta. 2015 23(450): 282-97.

110. ayman C, Öztekin O, Serkant U, Yakut I, Aydemir S, Kosus A. Ischemia-Modified Albumin May Be a Novel Marker for Predicting Neonatal Neurologic Injury in Small-For-Gestational-Age Infants in Addition to Neuron-Specific Enolase. Am J Perinatol. 2017 34(4):. 349-358.

111. Danzer E, Johnson MP, Adzick NS. Fetal surgery for myelomeningocele: progress and perspectives. Dev Med Child Neurol. 2012 54(1): 8-14.

112. Mitchell LE, Adzick NS, Melchionne J, Pasquariello PS, Sutton LN, Whitehead AS. Spina bifida. Lancet. 2004 364(9448): 1885-95.

113. Chen Y, Wang X, Li L, Lu S, Zhang Z. New cut-off values for screening of trisomy 21, 18 and open neural tube defects (ONTD) during the second trimester in pregnant women with advanced maternal age. BMC Pregnancy Childbirth. 2020 20(1): 776.

114. Sípek A, Horácek J, Gregor V, Rychtaríková J, Dzurová D, Masátová D. Neural tube defects in the Czech Republic during 1961-1999: incidences, prenatal diagnosis and prevalences according to maternal age. J Obstet Gynaecol. 2002 22(5): 501-7.

115. Berihu BA, Welderufael AL, Berhe Y, Magana T, Mulugeta A, Asfaw S, Gebreselassie K. Maternal risk factors associated with neural tube defects in Tigray regional state of Ethiopia. Brain Dev. 2019 41(1): 11-18.

116. Borgstedt-Bakke JH, Fenger-Grøn M, Rasmussen MM. Correlation of mortality with lesion level in patients with myelomeningocele: a population-based study. J Neurosurg Pediatr. 2017 19(2): 227-231.

117. Kim I, Hopson B, Aban I, Rizk EB, Dias MS, Bowman R, Ackerman LL, Partington MD, Castillo H, Castillo J, Peterson PR, Blount JP, Rocque BG. Treated

hydrocephalus in individuals with myelomeningocele in the National Spina Bifida Patient Registry. J Neurosu. rg Pediatr. 2018 22(6): 646-651.

118. İlhan Ö, Özdemir SA, Özdemir N, Akbay S, Kanar B, Memur Ş, Bor M, Özer EA. Meningomyelosel Olgularında Prognozu Etkileyen Faktörler ve Eşlik Eden Anomaliler: 40 Olguluk Deneyim. Jinekoloji-Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi 2017 14(4): 163-167.

119. McLone DG, Knepper PA. The cause of Chiari II malformation: a unified theory. Pediatr Neurosci. 1989 15(1): 1-12.

120. McCarthy DJ, Sheinberg DL, Luther E, McCrea HJ. Myelomeningocele-associated hydrocephalus: nationwide analysis and systematic review. Neurosurg Focus 2019 47(4): E5.

121. Wilson A, Platt R, Wu Q, Leclerc D, Christensen B, Yang H, Gravel RA, Rozen R. A common variant in methionine synthase reductase combined with low cobalamin (vitamin B12) increases risk for spina bifida. Mol Genet Metab. 1999 67(4): 317-23.

122. Akyol ME, Ebiri FND, Taspinar F, Yüksek V, Tuncer O, Arslan, Taspinar M. The Role Of Matrix Metalloproteinases in Neural Tube Defect. Eastern J Med. 2023 28(1): 194-202.

123. Senousy SM, Farag MK, Gouda AS, El Noury MA, Dabbous OA, Gaber KR. Association between biomarkers of vitamin B12 status and the risk of neural tube defects. J Obstet Gynaecol Res. 2018 44(10): 1902-1908.

124. Karacan N. The Serum Prolidase Enzyme Activity as a Biomarker for Evaluation of the Subclinical Vascular Damage in Children with Epilepsy. Ann Indian Acad Neurol. 2020 23(6): 787-791.

125. Ayas ZO, Kotan D, Akdogan M, Gunel ME. Serum Prolidase Enzyme Activity Level: Not a Predictive Biomarker for Epilepsy. Eurasian J Med. 2019 51(1): 27-30.

126. Ceylan MF, Tural Hesapcioglu S, Kasak M, Senat A, Erel O. Increased prolidase activity and high blood monocyte counts in pediatric bipolar disorder. Psychiatry Res. 2019 271: 360-364.

127. Toy H, Camuzcuoglu H, Arioz DT, Kurt S, Celik H, Aksoy N. Serum prolidase activity and oxidative stress markers in pregnancies with intrauterine growth restricted infants. J Obstet Gynaecol Res. 2009 35(6): 1047-53.

128. Bahinipati J, Mohapatra PC. Ischemia Modified Albumin as a Marker of Oxidative Stress in Normal Pregnancy. J Clin Diagn Res. 2016 10(9): BC15-BC17.

129. Papageorghiou AT, Prefumo F, Leslie K, Gaze DC, Collinson PO, Thilaganathan B. Defective endovascular trophoblast invasion in the first trimester is associated with increased maternal serum ischemia-modified albumin. Hum Reprod. 2008 Apr;23(4):803-6. .

130. Rossi A, Bortolotti N, Vescovo S, Romanello I, Forzano L, Londero AP, Ambrosini G, Marchesoni D, Curcio F. Ischemia-modified albumin in pregnancy. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2013 170(2): 348-51.

131. Reddy VS, Duggina P, Vedhantam M, Manne M, Varma N. Maternal serum and fetal cord-blood ischemiamodified albumin concentrations in normal pregnancy and preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. J Matern Fetal Neonatal Med. 2018 31(24): 3255-66.

132. Güzelmansur I, Ustün Y, Engin-Ustün Y, Oztürk O, Yaman H. Serum ischemia modified albumin levels in pregnancies with neural tube defects. J Reprod Med. 2012 57(1-2): 49-52.

133. Özyer S, Ozel S, Karabulut E, Kahyaoglu S, Neselioglu S, Erel O, Engin-Ustun Y. Oxidative-Antioxidative Markers in Pregnant Women with Fetal Neural Tube Defects. Fetal Pediatr Pathol. 2021 40(2): 93-102.

134. Ocal O et al.Maternal Serum and Fetal Cord Blood Concentrations of Thiol/ Disulfide and Ischemia-Modified Albumin as Predictors of Neural Tube Defects. Turk Neurosurg. 2023 33(1): 134-139.

135. Erol SA, Tanacan A, Altinboga O, Ozturk FH, Ozgu BS, Tasci Y, Neselioglu S, Erel O, Sahin D. Evaluation of Fetal Serum Thiol/Disulfide Homeostasis and Ischemia-Modified Albumin Levels in Fetal Distress. Fetal Pediatr Pathol. 2022 41(3): 426-435.

136. Akdag S, Ozmen S, Ercan N, Bostanci I, Neselioglu S. Assessment of thiol/disulphide homoeostasis and ischaemia-modified albumin and their relationship with disease severity in children with chronic urticaria. Cutan Ocul Toxicol. 2020 39(3): 269-273.

137. Odaman Al I, Ayçiçek A, Ersoy G, Bayram C, Neşelioğlu S, Erel Ö. Thiol Disulfide Homeostasis and Ischemia-modified Albumin Level in Children With Beta-Thalassemia. J Pediatr Hematol Oncol. 2019 41(7): e463-e466.