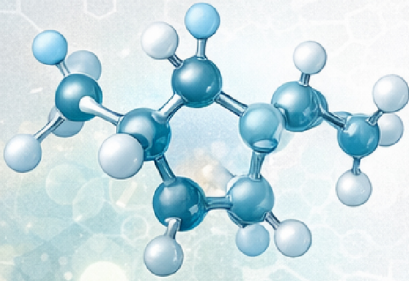


ENDOKRİNOLOJİ *ve* METABOLİZMA HASTALIKLARI ALANINDA ÖZGÜN KONULAR



Editör
BAŞAK HANEDAN

BİDGE Yayınları

Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Alanında Özgün Konular

Editör: BAŞAK HANEDAN

ISBN: 978-625-372-990-5

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 2025-12-25

BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374

Yayın hakları © BİDGE Yayınları

www.bidgeyayinlari.com.tr - bidgeyayinlari@gmail.com

Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.

Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9 Çankaya /
Ankara



ÖNSÖZ

Bu kitap bölümünde aterosklerotik kardiyovasküler hastalık riskinin değerlendirilmesi, risk artırıcı faktörlerin değerlendirilmesi, kan analizleri, kardiyovasküler görüntüleme, sağaltım ve takip aşamaları ele alındı.

Cushing hastalığı plazma kortizol düzeylerinin artmasıyla ilişkilidir. Uzun süreli plazma kortizol düzeyleri diabetes mellitus, hipertansiyon, dislipidemi, kemik kırıkları, kardiyovasküler hastalıklar, tromboemboli, enfeksiyonlara karşı duyarlılık artışına neden olur. Bu kitapta Cushing hastalığıyla ilgili son gelişmeler, klinik bulgular, tanı ve sağaltım seçeneklerine değinildi.

Prof. Dr. BAŞAK HANEDAN
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ

İÇİNDEKİLER

DİSLİPİDEMİ	1
<i>MEHMET BELER, ERHAN ÖNALAN</i>	
CUSHİNG SENDROMU	15
<i>MEHMET BELER, ERHAN ÖNALAN</i>	
CUSHING SYNDROME	28
<i>ONOUR CHASAN</i>	
LUPUS NEFRİTİNE GÜNCEL YAKLAŞIMLAR	39
<i>GAMZE ERGÜN</i>	
LÖSEMİ HÜCRE HATLARINDA KAFEİK ASİT FENETİL ESTER (CAPE)'İN İLAÇ DİRENCİ ÜZERİNE ETKİSİ	61
<i>MAHMUT SAMİ İNCE</i>	

BÖLÜM 1

DİSLİPİDEMI

Mehmet BELER¹
Erhan ÖNALAN²

A. ATEROSKLEROTİK KARDİYOVASKÜLER HASTALIK (ASCVD) RİSKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

• Kardiyovasküler riskin bütüncül olarak değerlendirilmesi, riski artıran etkenlerin belirlenmesi, ilişkili semptom ve bulguların gözden geçirilmesi ve uygun tanısal incelemelerin başlatılması önerilir.

Kardiyovasküler Riskin Değerlendirilmesi

• 40 yaş üzerindeki asemptomatik erkeklerde ve 50 yaş üzerindeki kadınlarda ya da postmenopozal dönemde, kardiyovasküler risk faktörlerini belirlemek amacıyla lipid profili taraması yapılması düşünülmelidir (Mach & ark., 2019: 111).

¹ Uzman Doktor, Fethi Sekin Şehir Hastanesi, Aile Hekimliği, Orcid: 0000-0003-0690-5866

² Doçent Doktor, Fırat Üniversitesi, İç Hastalıkları, Orcid: 0000-0001-5395-0390

– ASCVD riski zaman içinde değişkenlik gösterdiğinden, düzenli aralıklarla yeniden değerlendirme yapılması önemlidir.

– Risk değerlendirmesi için çeşitli skarlama sistemleri bulunmaktadır.

→ Tercihen, risk değerlendirmesinin ÷lkeye özğü epidemiyolojik veriler ve toplum risk profilleri temel alınarak yapılması önerilir.

– Sistemik Koroner Risk Tahmin (SCORE) sistemi (Mach & ark., 2019: 111 , HeartScore, n.d.: 1)

→ Avrupa toplumlarında kullanım için geçerliliğı gösterilmiştir.

– ASCVD risk hesaplayıcısı (ASCVD Risk Estimator, n.d.: 1)

→ Kafkas ve Afrika kökenli Amerikalı pop÷lasyonlarda doğrulanmıştır.

– Ailede ailesel dislipidemi veya erken yaşıta ortaya çıkan ölümc÷l ya da ölümc÷l olmayan kardiyovask÷ler hastalık öyküsü varsa, daha genç bireylerde de tarama yapılması göz önünde bulundurulmalıdır.

Kardiyovask÷ler Risk Kategorileri (Mach & ark., 2019: 111)

Çok Yüksek Risk Grubu

→ Belgelendirilmiş ASCVD varlığı

Bu gruba aşağıdaki klinik durumlar dâhildir:

• Akut koroner sendrom (AKS) öyküsü

• Kronik koroner sendrom

• Perkütan koroner girişim (PCI) veya koroner arter bypass greft ameliyatı (CABG) geçirmiş olmak

- İnme veya geçici iskemik atak (GİA) öyküsü
- Periferik arter hastalığı
- Koroner anjiyografi, bilgisayarlı tomografi (BT) ya da karotis ultrasonunda anlamlı aterosklerotik plak saptanması

→ Hedef organ hasarı eşlik eden diabetes mellitus (DM)

Örnek: mikroalbüminüri, retinopati, nöropati; ayrıca üç veya daha fazla majör risk faktörünün bulunması (hipertansiyon, sigara, obezite, sedanter yaşam tarzı, ileri yaş gibi—“risk artırıcı faktörler” bölümüne bakınız) veya 20 yılı aşan erken başlangıçlı tip 1 DM varlığı.

→ Şiddetli kronik böbrek hastalığı (KBH)

Tahmini glomerüler filtrasyon hızı (eGFR) $<30 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$.

→ SCORE $\geq 10\%$

→ Ailesel hiperkolesterolemi (AH)

Eşlik eden ASCVD varlığı veya ek bir majör risk faktörünün bulunması durumunda çok yüksek risk grubuna girer.

Yüksek Risk Grubu

→ Belirgin derecede yüksek tek risk faktörleri

- Total kolesterol (TK) $>8 \text{ mmol/L}$
- LDL-kolesterol $>4.9 \text{ mmol/L}$
- Kan basıncı $\geq 180/110 \text{ mmHg}$
- Majör ek risk faktörü olmayan ailesel hiperkolesterolemi

→ Hedef organ hasarı olmayan DM, ancak hastalık süresinin ≥ 10 yıl olması veya başka bir risk faktörünün eklenmesi

→ Orta dereceli KBH

eGFR 30–59 mL/dk/1.73 m².

→ SCORE $\geq 5\%$ ve $< 10\%$

Orta Risk Grubu

→ Genç hastalarda DM varlığı

Tip 1 DM < 35 yaş veya Tip 2 DM < 50 yaş başlangıcı olup, hastalık süresi < 10 yıl olan ve ek risk faktörü bulunmayan bireyler bu gruba girer.

→ SCORE $\geq 1\%$ ve $< 5\%$

Düşük Risk Grubu

→ SCORE $< 1\%$ olan bireyler düşük kardiyovasküler risk kategorisinde değerlendirilir.

ASCVD İçin Risk Artırıcı Faktörlerin Değerlendirilmesi(Mach & ark., 2019: 111)

- Kronik tütün kullanımı veya pasif dumana maruz kalma
- Diabetes mellitus
- Fiziksel aktivite yetersizliği
- Metabolik sendrom veya obezite
- Psikososyal stres veya sosyal yoksunluk
- Ailede erken başlangıçlı kardiyovasküler hastalık öyküsü (erkeklerde < 55 yaş, kadınlarda < 60 yaş)
- Preeklampsi veya erken menopoz öyküsü
- Kronik immün aracılı inflamatuvar hastalıklar
- Majör psikiyatrik bozukluklar
- HIV enfeksiyonu için tedavi görmek
- Kronik böbrek hastalığı

- Atrial fibrilasyon
- Sol ventrikül hipertrofisi
- Obstrüktif uyku apne sendromu
- Alkole bağı olmayan yağlı karaciğer hastalığı

Semptom ve Bulgular

- Ksantomlar
 - Tendonlarda, tüberoeruptif özellikte veya avuç içinde yerleşimli olabilir.
- Arcus cornealis
 - Özellikle 45 yaşından önce saptanması, ailesel hiperkolesterolemi (AH) açısından ipucu sağlayabilir (Mach & ark.,2019: 111)
- Ayak bileği-kol indeksi <0.9
 - Değerin 0.9'un altında olması periferik arter hastalığını düşündürebilir (Grundy & ark., 2018: e1082).

B.HASTALIK YÖNETİMİ

Tanısal Değerlendirmeler (Mach & ark., 2019: 111Burgess & ark., 2018: 619, Ridker & ark., 2009:1175, Therapeutic Guidelines Limited, 2018:1)

Kan Tetkikleri

- Lipid Profili
 - Total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol ve trigliserid düzeylerini içerir.
 - Açlık ve tokluk ölçümleri arasında klinik açıdan anlamlı bir fark olmamakla birlikte; belirgin hipertrigliseridemi (>4.5 mmol/L), daha önce hiperlipidemi öyküsü olan hastalar veya ailesel

lipid bozukluğu şüphesi bulunan bireylerde açlık örneği tercih edilebilir.

→ Non-HDL kolesterol = Total kolesterol – HDL-kolesterol.

- Apolipoprotein B (ApoB)

→ Trigliserid yüksekliği, DM, obezite, metabolik sendrom veya çok düşük LDL düzeylerinin bulunduğu bireylerde non-HDL kolesterole kıyasla daha uygun bir belirteç olarak değerlendirilebilir.

- Lipoprotein(a) [Lp(a)]

→ Mümkünse her yetişkin bireyde yaşam boyu en az bir kez ölçülmesi önerilir.

→ 430 nmol/L üzerindeki düzeyler, heterozigot ailesel hiperkolesterolemi ile benzer düzeyde yaşam boyu ASCVD riski taşır.

- Yüksek duyarlıklı C-reaktif protein (hs-CRP)

→ >2 mg/L olan değerler artmış kardiyovasküler risk ile ilişkilidir.

- Karaciğer fonksiyon testleri ve kreatin kinaz

→ Tedavi öncesi bazal düzeyleri belirlemek amacıyla istenir.

- Ailesel hiperkolesterolemi şüphesinde genetik analiz

→ LDL reseptörü, ApoB veya PCSK9 genlerindeki fonksiyonel mutasyonların belirlenmesi için DNA temelli incelemeler yapılabilir.

Kardiyovasküler Görüntüleme

Düşük veya orta risk kategorisindeki bireylerde, ASCVD riskini yeniden sınıflandırmak amacıyla görüntüleme yöntemleri kullanılabilir.

- Bilgisayarlı tomografi anjiyografi

→ Koroner arter kalsiyum (CAC) skorunun ve plak yapısının değerlendirilmesini sağlar.

→ CAC >100 Agatston veya koroner lümen darlığının %50'nin üzerinde olması, ASCVD riskinin daha yüksek olduğuna işaret eder.

- Karotis veya femoral arter ultrasonu

→ Aterosklerotik plakların veya intima-media kalınlığının değerlendirilmesinde kullanılabilir.

Sekonder Dislipidemiye Yönelik İncelemeler

- HbA1c ve tiroid fonksiyon testleri

→ Tip 2 diabetes mellitus ve hipotiroidiye ekarte etmek amacıyla istenir.

TEDAVİ (Mach & ark., 2019: 111)

- Uygulanacak tedavi yaklaşımının yoğunluğu, hastanın başlangıç LDL düzeyine ve ASCVD için taşıdığı risk faktörlerine göre belirlenir.

- LDL-C ve ApoB içeren lipoproteinlerin düşürülmesi, kardiyovasküler olay riskini anlamlı ölçüde azaltır.

- Ailesel hiperkolesterolemi (AH) tanısının konulması, daha agresif bir tedavi stratejisini gerektirir.

- Tanıda kullanılan ölçütler:

- Dutch Lipid Clinic Network kriterleri

- Simon Broome kriterleri

- Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterleri

- Kardiyovasküler risk düzeyi ne olursa olsun, tüm bireylere kalp sağlığını destekleyen yaşam tarzı değişiklikleri önerilmelidir.

- Sağlıklı beslenme:
 - Tam tahıllar, sebzeler, meyveler, balık açısından zengin; doymuş yağ oranı düşük beslenme düzeni önerilir.
- Fiziksel aktivite:
 - Haftada en az 150 dakika orta şiddette veya 75 dakika yüksek şiddette egzersiz yapılması tavsiye edilir.
- Sigaranın bırakılması
- Alkol tüketiminin sınırlandırılması
- BKI'nın 20–25 kg/m² aralığında tutulması; bel çevresinin erkeklerde <94 cm, kadınlarda <80 cm olması hedeflenmelidir.

Farmakolojik tedavi (Tablo 1)

- Birinci basamak ilaç tedavisi statinlerdir.
- Yüksek ve çok yüksek riskli gruplar için yüksek yoğunluklu statin; düşük ve orta riskli gruplar için orta yoğunluklu statin düşünülmelidir.

Tablo 1. Lipid düşürücü ajanların önerilen dozları

Lipid Düşürücü Ajan	Önerilen Dozlar	Uygulama Yolu
Statinler	Orta yoğunluklu statin: LDL-C düşüşü %30–49 Yüksek yoğunluklu statin: LDL-C düşüşü >%50	
Rosuvastatin	5–10 mg/gün (gece) 20–40 mg/gün (gece)	Ağızdan
Atorvastatin	10–20 mg/gün (gece) 40–80 mg/gün (gece)	Ağızdan
Simvastatin	20–40 mg/gün (gece)	Ağızdan
Pravastatin	40–80 mg/gün (gece)	Ağızdan
Lovastatin	40 mg/gün (gece)	Ağızdan
Kolesterol Emilim İnhibitörleri		

Ezetimib	10 mg/gün	Ağızdan
PCSK9 İnhibitörleri		
Evolokumab	140 mg 2 haftada bir veya 420 mg/ay Homozigot FH'de LDL hedefleri sağlanamazsa: 420 mg haftada 2 kez	Deri altı
Alirokumab	75 mg haftada 2 kez; gerekirse 150 mg haftada 2 kez veya 300 mg/ay	Deri altı
İnkisiran	Başlangıç 284 mg; ardından 3. ay, sonrasında her 6 ayda bir	Deri altı
Fibratlar		
Fenofibrat	Statinlerle kombinasyonda günlük 200 mg'a kadar	Ağızdan
n-3 Yağ Asitleri (EPA/DHA)	2-4 g/gün	Ağızdan
Safra Asidi Bağlayıcıları		
Kolestiramin	4 g/gün; yanıtı göre 1-4 bölünmüş dozda toplam 36 g/gün'e kadar	Ağızdan
Kolestipol	5 g/gün; yanıtı göre 1-2 bölünmüş dozda toplam 30 g/gün'e kadar	Ağızdan
Colesevelam	Statin veya ezetimib ile birlikte: 3.75 g/gün (1-2 bölünmüş doz) Monoterapi: 4.375 g/gün (1-2 bölünmüş doz)	Ağızdan

Kaynak: Mach & ark., 2019: 111; Ridker & ark., 2009:1175; NICE, 2022a;1
NICE, 2022b;1

NICE, 2022c;1 NICE, 2022d;1 NICE, 2022e;1 NICE, 2022f;1 NICE, 2022g;1

→ Tedavi hedefine ulaşmak için statin dozu, hastanın tolere edebildiği en yüksek düzeye kadar artırılmalıdır.

İkinci basamak tedavi: Ezetimib

→ Statin tedavisine rağmen hedef lipid düzeylerine ulaşamayan hastalarda statinlerle kombine olarak kullanılabilir.

PCSK9 inhibitörleri

→ Statin ve ezetimibin maksimum tolere edilen dozlarına rağmen lipid hedeflerine ulaşamayan çok yüksek riskli hastalarda endikedir.

Statin intoleransı

→ Bu durumda ezetimib ± PCSK9 inhibitörü tedavisi değerlendirilebilir.

Safra asidi bağlayıcıları

→ Tedavi hedeflerine ulaşamayan hastalarda statinlerle kombine tedavi seçeneği olarak düşünülebilir.

Fibratlar

→ LDL-C düzeyleri hedefe ulaşmış olsa bile trigliserid >2.3 mmol/L olan hastalarda kullanım için uygun olabilir.

n-3 Yağ Asitleri (EPA ve DHA)

→ Statin tedavisine rağmen trigliserid 1.5–5.6 mmol/L aralığında seyreden, yüksek veya çok yüksek riskli hastalarda düşünülmelidir.

C. İZLEM

- LDL-C, tedavi izleminin birincil hedefi olmalıdır; non-HDL-C ve ApoB ise ikincil hedefler olarak değerlendirilebilir.

- Tedaviye başlandıktan veya doz ayarlaması yapıldıktan 4–8 hafta sonra tedavi yanıtı yeniden değerlendirilmelidir (Mach & ark., 2019: 111)

- Sonraki takip sıklığı, bireyin risk profiline ve tedavi hedeflerine ulaşma durumuna göre değişir; hedef değerler sağlandıktan sonra genel olarak 6–12 ayda bir izlem önerilir.

- Akut koroner sendrom (AKS) sonrası lipid düzeyleri 4–6 hafta içinde tekrar ölçülmelidir.

- Olası yan etkiler açısından değerlendirme yapılmalıdır:
- Transaminitis, miyopati veya diyabet gelişim sıklığında artış

Statin tedavisi ve karaciğer enzimleri (Mach & ark., 2019: 111)

- ALT düzeyinin normal üst sınırın (ULN) ≥ 3 katına yükselmesi durumunda statin kesilmelidir.

- Karaciğer enzimleri 4–6 hafta sonra tekrar kontrol edilmeli; ALT normale döndüğünde statin dikkatli bir şekilde yeniden başlanması düşünülebilir.

Kreatin kinaz (CK) ve statin kullanımı (Mach & ark., 2019: 111)→ CK $>5 \times$ ULN ise:

- Statin tedavisi kesilir.
- Böbrek fonksiyonları değerlendirilir.
- CK düzeyi 2 haftada bir izlenir.

→ CK $<5 \times$ ULN ise:

- Semptom yoksa lipid düşürücü tedavi devam edilebilir, CK düzeyleri 2–6 haftada bir izlenir.

- Miyalji varsa statin kesilir; CK normale dönene kadar beklenir ve daha sonra dikkatli bir şekilde yeniden başlanması değerlendirilir.

KAYNAKÇA

1. Mach, F., Baigent, C., Catapano, A. L., Koskinas, K. C., Casula, M., Badimon, L., Chapman, M. J., De Backer, G. G., Delgado, V., Ference, B. A., Graham, I. M., Halliday, A., Landmesser, U., Mihaylova, B., Pedersen, T. R., Riccardi, G., Richter, D. J., Sabatine, M. S., Taskinen, M. R., Tokgozoglu, L., & Wiklund, O. (2019). *ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. European Heart Journal*. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>
2. HeartScore. (n.d.). Retrieved August 14, 2022, from https://www.heartscore.org/en_GB
3. ASCVD Risk Estimator. (n.d.). Retrieved August 14, 2022, from https://tools.acc.org/ldl/ascvd_risk_estimator/index.html#!/calculate/estimator/
4. Grundy, S. M., Stone, N. J., Bailey, A. L., Beam, C., Birtcher, K. K., Blumenthal, R. S., Braun, L. T., de Ferranti, S., Faiella-Tommasino, J., Forman, D. E., Goldberg, R., Heidenreich, P. A., Hlatky, M. A., Jones, D. W., Lloyd-Jones, D., Lopez-Pajares, N., Ndumele, C. E., Orringer, C. E., Peralta, C. A., & Saseen, J. J. (2018). *AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APHA/ASPC/NLA/PCNA guideline on the management of blood cholesterol: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guideline*. *Circulation*, 139, e1082. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000625>
- 5 Burgess, S., Ference, B. A., Staley, J. R., Freitag, D. F., Mason, A. M., Nielsen, S. F., Thompson, S. G., Holmes, M. V., & EPIC-CVD Consortium. (2018). Association of LPA variants with risk of coronary disease and the implications for lipoprotein(a)-lowering therapies: A Mendelian randomization analysis. *JAMA Cardiology*, 3, 619–627.

6. Ridker, P. M., Danielson, E., Fonseca, F. A. H., Genest, J., Gotto, A. M. Jr., Kastelein, J. J. P., Koenig, W., Libby, P., Lorenzatti, A. J., MacFadyen, J. G., Nordestgaard, B. G., Shepherd, J., Willerson, J. T., & Glynn, R. J. (2009). Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: A prospective study of the JUPITER trial. *The Lancet*, 373, 1175–1182.
7. Therapeutic Guidelines Limited. (2018). *Lipid modification*. Melbourne: Author. Retrieved July 10, 2023, from <https://www.tg.org.au>
8. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). (2022). *British National Formulary: Evolocumab*. Retrieved October 29, 2022, from <https://bnf.nice.org.uk/drugs/evolocumab/>
9. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). (2022). *British National Formulary: Alirocumab*. Retrieved October 29, 2022, from <https://bnf.nice.org.uk/drugs/alirocumab/>
10. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). (2022). *British National Formulary: Inclisiran*. Retrieved October 29, 2022, from <https://bnf.nice.org.uk/drugs/inclisiran/>
11. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). (2022). *British National Formulary: Fenofibrate*. Retrieved October 29, 2022, from <https://bnf.nice.org.uk/drugs/fenofibrate/>
12. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). (2022). *British National Formulary: Cholestyramine*. Retrieved October 29, 2022, from <https://bnf.nice.org.uk/drugs/cholestyramine/>
13. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). (2022). *British National Formulary: Colestipol*. Retrieved October 29, 2022, from <https://bnf.nice.org.uk/drugs/colestipol/>

14. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). (2022). *British National Formulary: Colesevelam*. Retrieved October 29, 2022, from <https://bnf.nice.org.uk/drugs/colesevelam/>

BÖLÜM 2

CUSHING HASTALIĞINDA KLİNİK BULGULAR, TANI VE SAĞALTIM SEÇENEKLERİ

Mehmet BELER¹
Erhan ÖNALAN²

Tanım

• Cushing sendromu (CS), dolaşımdaki kortizol düzeylerinin uzun süre yüksek kalmasına bağlı olarak ortaya çıkan belirti ve bulguların genel adıdır.

– Cushing hastalığı (CD) ise, adrenokortikotropik hormon (ACTH) salgılayan bir hipofiz adenomuna bağlı gelişen kortizol fazlalığını ifade eder ve CS'den ayırt edilmelidir.

A. NEDENLER (Barbot & ark., 2020: 101380, Nieman, 2015: M33)

- Sık görülen nedenler
 - Glukokortikoidlerin dışarıdan uygulanması veya ağız yoluyla alınması
 - Bronşiyal astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve romatolojik hastalıklar gibi kronik durumlarda kortikosteroid kullanımı

¹ Uzman Doktor, Fethi Sekin Şehir Hastanesi, Aile Hekimliği, Orcid: 0000-0003-0690-5866

² Doçent Doktor, Fırat Üniversitesi, İç Hastalıkları, Orcid: 0000-0001-5395-0390

→ Steroid bileşenleri içeren geleneksel veya bitkisel takviyelerin tüketimi

- Nadir nedenler

- Endojen Cushing sendromu

- Endojen nedenler iki gruba ayrılır:

→ ACTH-bağımlı: Hipofiz adenomu veya ektopik ACTH üreten tümörler

→ ACTH-bağımsız: Adrenal adenom, karsinom veya adrenal hiperplaziye bağlı otonom kortizol üretimi

- Pediatrik popülasyonda (Stratakis, 2012: 793, Lodish & ark., 2018: 451)

- Sık görülen nedenler:

→ Yetişkinlerde olduğu gibi dışsal glukokortikoid maruziyeti

- Yaş grubuna göre endojen nedenler:

→ 7 yaş üstü çocuklar: En yaygın neden ACTH salgılayan hipofiz mikroadenomudur; makroadenom daha nadir görülür.

→ 7 yaş altı çocuklar: Adrenal bezden aşırı kortizol üretimi (adenom, karsinom veya bilateral adrenal hiperplazi gibi)

- Pediatrik Cushing sendromu ile ilişkili sendromik veya genetik durumlar:

→ Primary Pigmented Adrenocortical Nodular Disease (PPNAD)

→ Massive Macronodular Adrenal Hyperplasia (MMAD)

→ McCune–Albright sendromu (MAS)

B. BULGULAR VE SEMPTOMLAR (Barbot & ark., 2020: 101380, Nieman, 2015: M33)

- Pratik noktalar

- Semptomlar oldukça geniş bir yelpazede görülebilir ve birçok organ sistemiyle örtüşebilir.

- Klinik tablo çoğu zaman özgül değildir.

- Doğru tanı koyabilmek için hastanın genel klinik görünümünün bütüncül olarak değerlendirilmesi gerekir.

- Belirtiler genellikle ilerleyicidir ve zamanla kötüleşebilir.

- Sık görülen klinik özellikler

- Hiperkortizolizm bulguları ile başvuran genç hipertansiyon hastası

- Açıklanamayan kilo artışı, ciltte incelme, kolay morarma, mor strialar gibi cilt değişiklikleri

- Bağışıklık baskılanmasını düşündüren tekrarlayan veya ağır enfeksiyonlar

- Açıklanamayan osteopeni veya kırıklar

- Kadınlarda akne, hirsutizm, açıklanamayan amenore $\pm$ infertilite (öncelikle PCOS gibi diğer nedenler dışlanmalıdır)

- Yeni başlayan veya açıklanamayan duygudurum değişiklikleri, hafıza zayıflığı, irritabilite ya da bilişsel gerileme (bilişsel semptomlar için ayırıcı tanı düşünülmelidir)

- **Cushing sendromu için patognomonik kabul edilen bulgular**

- Mor renkli abdominal strialar

- İnce ve kolay zedelenen cilt

- Karın, yüz ve gövde merkezli yağ birikimi

- Proksimal kaslarda güçsüzlük ve ekstremitelerde kaslarda erime

- Adrenal nodül veya insidentaloma varlığı
- Çocuklarda
 - Büyüme geriliği veya boy persentillerinde düşme
 - Gecikmiş puberte, erken puberte ya da virilizasyon bulguları
- Fiziksel görünümde belirgin değişiklik
 - Hastalık öncesi fotoğraflarla karşılaştırıldığında vücut şekli veya ağırlığında hızlı ve dikkat çekici değişim
- Tanıda gecikme potansiyeli
 - Hastalar çok sayıda ve farklı uzmanlık alanlarına başvurabilir; çünkü bulgular sistemlere özgü olabilir.
- Eksojen steroid kullanımı mutlaka sorgulanmalıdır
 - Tanısal değerlendirmeye başlamadan önce, reçetesiz veya kayıt dışı tamamlayıcı ürünler dâhil, steroid içeren olası ajanlar düşünülmeli ve kesilmelidir

C. TARAMA TESTİ (Nieman, 2015: M33, Nieman & ark., 2008: 1526, Nieman, 2018: 259)

- Hiperkortizolizm taraması, hastanın özellikleri ve mevcut merkezdeki kaynaklara bağlı olarak aşağıdaki bir veya birden fazla birinci basamak test ile başlatılabilir:
 - 24 saatlik idrarda serbest kortizol (24-s UFC)
 - 24 saat boyunca atılan toplam kortizol miktarını ölçer.
 - Test en az iki ayrı günde yapılmalıdır.
 - Gece geç saat tükürük kortizölü (LNSC)
 - Kortizölün normal sirkadiyen ritmindeki (gece düşüklüğü) kaybı tespit eder.

- En az iki geç gece tükürük örneği gereklidir.
- 1 mg deksametazon baskılama testi (DST)
- 1 mg oral deksametazon geçe 23:00–00:00 saatleri arasında verilir.
- Ertesi sabah 08:00–09:00 arasında serum kortizol düzeyi ölçölür.
- Sabah kortizolünün baskılanmaması, hiperkortizolizmi düşündürür.

D. İKİNCİ BASAMAK TESTLER (Nieman, 2015: M33, Nieman & ark., 2008: 1526, Nieman, 2018: 259)

• Taramada pozitif sonuçlar elde edildiğinde, tanının doğrulanması ve kortizol fazlalığının kaynağının belirlenmesi için hastanın bir endokrinoloji uzmanına yönlendirilmesi önemlidir.

• Aşağıdaki testler kullanılır:

– Sabah serum ACTH düzeyi: ACTH-bağımlı ve ACTH-bağımsız nedenlerin ayırt edilmesini sağlar.

→ ACTH baskılanmış ise: ACTH-bağımsız (adrenal kaynak düşündürür).

→ ACTH yüksek ise: ACTH-bağımlı (hipofiz veya ektopik kaynak olasılığını destekler).

– Yüksek doz deksametazon baskılama testi

– CRH (kortikotropin salgılatıcı hormon) uyarı testi

– Hipofiz MRG

– Karın bölgesinin MRI veya BT taraması

E. TEDAVİ

• İlk öncelik semptomların kontrol altına alınmasıdır; özellikle

– Kardiyovasküler riskin azaltılması veya stabilize edilmesi,
ve

– Uzun süreli kortizol fazlalığına bağlı immünsüpresyon sonucunda gelişen enfeksiyonların tedavi edilmesi

• Kesin tedavi, hiperkortizolizme yol açan altta yatan nedenin ortadan kaldırılmasını gerektirir.

Hipertansiyon

• Cushing sendromu tanısal değerlendirme aşamasında olsa bile antihipertansif tedavi başlanmalıdır (Ferriere & Tabarin, 2020: 101381).

• Tercih edilen ilaç grupları şunlardır (Ferriere & Tabarin, 2020: 101381):

– Anjiyotensin-2 reseptör blokerleri (ARB) veya anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ACE-i)

→ Renin-anjiyotensin sistemi üzerindeki etkileri nedeniyle birinci basamak olarak tercih edilirler.

→ Sık kullanılan ilaçlar: perindopril, enalapril, telmisartan, valsartan

– Mineralokortikoid reseptör antagonistleri (MRA)

→ Hipokalemi varlığında endikedir.

→ Yaygın kullanılan ilaç: spironolakton

– Kalsiyum kanal blokerleri

→ Sık kullanılan ilaçlar: amlodipin, felodipin

– Alfa blokerler

→ Sık kullanılan ilaçlar: prazosin, terazosin

Diyabet

- Acil kontrol (kan glukoz düzeylerinde hızlı düşüş gerektiğinde) (Ferriere & Tabarin, 2020: 101381)

- İnsülin enjeksiyonu veya infüzyonu kullanılmalıdır.

- Uzun dönem tedavi (Ferriere & Tabarin, 2020: 101381)

- Metformin: İnsülin direncini azaltır.

- Sülfonilüreler: Örneğin gliklazid, glimepirid.

- Diğer ajanlar (PPAR- γ agonistleri): Pioglitazon, rosiglitazon.

- Tedavi, hastanın risk profili ve mevcut klinik durumuna göre bireyselleştirilmelidir.

- Özellikle genetik yatkınlığı olan veya visceral yağlanması devam eden bireylerde insülin direnci ve kardiyovasküler risk sürebilir (Colao & ark., 1999: 2664, Giordano & ark., 2013: 311).

Diğer Komorbiditeler

- Osteoporoz için tarama yapılmalı ve uygun tedavi başlanmalıdır (Ferriere & Tabarin, 2020: 101381).

- Psikiyatrik eş tanılar değerlendirilip yönetilmelidir (Ferriere & Tabarin, 2020: 101381).

Spesifik Tedavi (Ferriere & Tabarin, 2020: 101381, Nieman & ark., 2015: 2807)

- Cushing sendromunun spesifik tedavisi, hastalığın etiyolojisine bağlıdır.

- CS'nin nedeni eksojen steroid kullanımı olduğunda:

→ Glukokortikoidlerin kademeli olarak azaltılması gerekir. Bu yaklaşım, adrenal kriz (Addison krizi) gelişimini önlemek için önemlidir.

→ Yavaş bir azaltma süreci, endojen adrenal fonksiyonun yeniden toparlanmasına olanak tanır.

- Cerrahi tedavi (Ferriere & Tabarin, 2020: 101381, Nieman & ark., 2015: 2807)

- Cushing hastalığında:

- Hipofiz tümörünün transsfenoidal rezeksiyonu birinci basamak tedavidir.

- Birçok vakada kür sağlar ve komplikasyon oranı düşüktür.

- Ektopik veya adrenal tümörlerin rezeksiyonu (örneğin adrenal bez, akciğer veya pankreas kaynaklı tümörler).

- Cerrahi, genellikle ilk tercih edilen tedavi yöntemidir, ancak:

- Tümör çıkarılamıyorsa veya cerrahi mümkün değilse, ya da

- Cerrahinin kortizol fazlalığını anlamlı ölçüde azaltması beklenmiyorsa alternatif tedaviler düşünülür.

- Radyoterapi (Ferriere & Tabarin, 2020: 101381, Nieman & ark., 2015: 2807)

- Tümörün cerrahi olarak çıkarılamadığı durumlarda veya ameliyat öncesi tümör boyutunu küçültmek amacıyla (neoadjuvan) uygulanabilir.

- Genellikle ikinci basamak tedavidir.

- Medikal tedavi (Ferriere & Tabarin, 2020: 101381, Nieman & ark., 2015: 2807)

- Amaç kortizol üretimini baskılamaktır.
- Cerrahi ya da radyoterapi ile yeterli kontrol sağlanamadığında, veya
- Cerrahi riskleri azaltmak amacıyla uygulanabilir.
- Hipofiz hedefli ilaçlar:
 - Somatostatin analogu: pasireotid (günde iki kez enjeksiyon şeklinde uygulanır)
 - Dopamin agonisti: kabergolin
- Adrenal hedefli ilaçlar (Ferriere & Tabarin, 2020: 101381, Nieman & ark., 2015: 2807):
 - Steroidogenez inhibitörleri: ketokonazol, metirapon, osilodrostat
 - Adrenolitik ajan: mitotan
- Glukokortikoid reseptör antagonisti (Ferriere & Tabarin, 2020: 101381, Nieman & ark., 2015: 2807):
 - Mifepriston (özellikle diyabet eşlik eden Cushing sendromunda tercih edilir)

F. İZLEM VE TAKİP (Barbot & ark., 2020: 101380, Nieman & ark., 2008: 1526)

- Cushing sendromu olan hastalarda metabolik komplikasyon gelişme riski artmıştır.
- Hekimlerin aşağıdaki durumları düzenli olarak taraması ve takip etmesi gerekir:
 - Hipertansiyon
 - Diyabet

– Kardiyovasküler hastalık: Cushing sendromlu hastalarda miyokard enfarktüsü ve kalp yetmezliği riski artmıştır (Barbot & ark., 2020: 101380.)

– Metabolik sendrom

– Dislipidemi

– Trombotik komplikasyonlar

→ Cushing sendromu pıhtılaşma faktörlerini artırarak protrombotik bir durum oluşturur.

– Osteoporoz

– Nöropsikiyatrik bozukluklar

→ Depresyon, anksiyete, bipolar bozukluk

→ Çocuklarda obsesif-kompulsif bozukluk ve okul başarısında düşme görülebilir.

– Miyopati

→ Proksimal kaslarda atrofi ve güçsüzlük gelişebilir.

→ Aerobik ve direnç egzersizleri, kortizol ilişkili kas kaybını azaltmaya yardımcı olabilir.

– Enfeksiyon riskinde artış

→ Özellikle diyabet eşlik ettiğinde risk daha da yükselir.

– Yaşam kalitesinde düşme

→ Ağrı, yorgunluk, uyku bozuklukları, psikolojik ve bilişsel sorunlara bağlı olarak fiziksel ve sosyal işlevsellikte belirgin bozulmalar gelişebilir.

Ne Zaman Sevk Edilmeli

- Taramada pozitif sonuç alınan tüm hastalar

– Gecikmeden bir endokrinoloji uzmanına veya endokrin hastalıklar konusunda deneyimli bir uzman hekime yönlendirilmelidir.

- Sevkin temel amacı, hiperkortizolizmin kaynağının belirlenmesidir.

Kaynakça

1. **Barbot, M., Zilio, M., & Scaroni, C.** (2020). Cushing's syndrome: Overview of clinical presentation, diagnostic tools and complications. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 34(2), 101380.
2. **Nieman, L. K.** (2015). Cushing's syndrome: Update on signs, symptoms and biochemical screening. *European Journal of Endocrinology*, 173(4), M33–M38.
3. **Stratakis, C. A.** (2012). Cushing syndrome in pediatrics. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 41(4), 793–803.
4. **Lodish, M. B., Keil, M. F., & Stratakis, C. A.** (2018). Cushing's syndrome in pediatrics: An update. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 47(2), 451–462.
5. **Nieman, L. K., Biller, B. M. K., Findling, J. W., Newell-Price, J., Savage, M. O., Stewart, P. M., & Montori, V. M.** (2008). The diagnosis of Cushing's syndrome: An Endocrine Society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93(5), 1526–1540.
6. **Nieman, L. K.** (2018). Diagnosis of Cushing's syndrome in the modern era. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 47(2), 259–273.
7. **Ferriere, A., & Tabarin, A.** (2020). Cushing's syndrome: Treatment and new therapeutic approaches. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 34(2), 101381.
8. **Colao A, Pivonello R, Spiezia S, Faggiano A, Ferone D, Filippella M, Marzullo P, Lombardi G.** (1999). Persistence of increased cardiovascular risk in patients with Cushing's disease after five years of successful cure. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(8), 2664–2672.
9. **Giordano C, Guarnotta V, Pivonello R, Amato MC, Simeoli C, Ciresi A, Cozzolino A, Colao A.** (2013). Is diabetes in Cushing's syndrome only a consequence of hypercortisolism? *European Journal of Endocrinology*, 170(2), 311–319.

10. **Nieman LK, Biller BMK, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM, Montori VM.** (2015). Treatment of Cushing's syndrome: An Endocrine Society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100(8), 2807–2831.

BÖLÜM 3

Recent Updates in Cushing Syndrome

ONOUR CHASAN¹

Introduction

Cushing syndrome was first described in 1912 by Harvey Cushing (Cushing, 1964). Cushing syndrome is associated with high plasma cortisol levels (Nieman et al., 2025). Prolonged excess cortisol leads to numerous morbidities, these include diabetes, hypertension, dyslipidemia, bone loss, fractures, cardiovascular diseases, thromboembolism, and increased susceptibility to infections (Pivonello et al., 2016). Moreover, mortality is increased 2-fold relative to the general population (Dekkers et al., 2013).

Epidemiology and Etiology

Cushing syndrome is divided into exogenous and endogenous forms, with the exogenous form being the most common (Gadelha, Gatto, Wildemberg, & Fleseriu, 2023). The long-term use of glucocorticoids administered for immunosuppression in the treatment of various diseases leads to exogenous Cushing syndrome (Lacroix, Feelders, Stratakis, & Nieman, 2015).

¹Endocrinology and Metabolism Specialist, Orcid: 0000-0001-5755-3704

Endogenous Cushing syndrome is rare, with an incidence of 1.8 to 3.2 cases per million people annually (Bolland et al., 2011; Wengander, Trimpou, Papakokkinou, & Ragnarsson, 2019).

Based on adrenocorticotrophic hormone (ACTH), endogenous Cushing syndrome is classified as ACTH-dependent or ACTH-independent. ACTH-dependent Cushing syndrome occurs in 70–80% of cases, whereas ACTH-independent Cushing syndrome occurs in 20–30% (Gadelha et al., 2023). The most common cause of ACTH-dependent Cushing syndrome is ACTH-secreting pituitary adenomas, which occur in 85% of cases and are referred to as Cushing disease. Tumors that secrete ACTH outside the pituitary gland are termed ectopic Cushing syndrome and occur for 15% of ACTH-dependent cases (Nieman et al., 2025). Cushing syndrome caused by pituitary or adrenal disease occurs 3–4 times more often in women than in men, whereas ectopic Cushing syndrome affects men and women equally (Reincke & Fleseriu, 2023).

In Cushing disease, most pituitary tumors are microadenomas (< 10 mm), macroadenomas ($\geq$ 10 mm) occur in only about 4–10% (Katznelson et al., 1998). Among all cases of Cushing syndrome, cortisol-secreting adenomas account for 20.9%, primary bilateral macronodular adrenocortical hyperplasia for 6.2%, primary pigmented nodular adrenocortical hyperplasia for 1.8%, and adrenocortical carcinoma for 1%, while other causes are very rare (Zhou et al., 2019). Ectopic Cushing syndrome most commonly originates from a lung site, lung neuroendocrine tumors account for more than 25% of cases, followed by small-cell lung carcinoma (20%), thymic neuroendocrine tumors (11%), pancreatic neuroendocrine tumors (8%), medullary thyroid carcinoma (6%), and pheochromocytomas (5%) and others (Isidori & Lenzi, 2007). In approximately 19% of patients, the ectopic source cannot be identified (Ilias et al., 2005).

Clinical Features, Comorbidities and Complications

Clinical features vary among individual with Cushing syndrome, and signs and symptoms occur with differing frequencies. The clinical signs include moon face, facial plethora, cervical fat pad, central obesity, hirsutism, acne, hair thinning, edema, ecchymosis, and purple striae. Recent weight gain, overweight, and obesity are frequently observed. Impaired glucose tolerance or diabetes, hypertension, and dyslipidemia are metabolic disturbances that occur as a result of prolonged cortisol excess. Bone health is impaired; osteopenia, osteoporosis, and bone fractures occur. It also affects the muscular system, leading to muscle weakness. Cognitive impairment and psychiatric disturbances also occur. Both genders may experience loss of libido (Braun et al., 2019).

Cushing syndrome leads to numerous severe and potentially fatal acute complications, including cardiovascular, thromboembolic, and infectious events. Acute myocardial infarction represents a cardiovascular complication of CS, stroke may also develop (Dekkers et al., 2013; Schernthaner-Reiter et al., 2021). Hypercoagulability is increased, and deep venous thrombosis and pulmonary embolism may develop (Dekkers et al., 2013; Rudman et al., 2025; Schernthaner-Reiter et al., 2021). Hypokalemia may also develop (Schernthaner-Reiter et al., 2021).

Due to the immunosuppressive effects of cortisol, susceptibility to opportunistic and common acquired infections is increased (Hasenmajer et al., 2020), which may lead to fatal complications (Dekkers et al., 2013; Schernthaner-Reiter et al., 2021).

Diagnosis

The Endocrine Society guideline recommends performing screening tests, personalized to the individual patient, to avoid false-positive and false-negative results (Fleseriu et al., 2021; Nieman et al., 2008).

These tests include the 1-mg overnight dexamethasone suppression test (1-mg DST), 24-hour urinary free cortisol (UFC) measurement, and late-night salivary cortisol (LNSC) assessment. When Cushing syndrome is clinically suspected, a careful evaluation of glucocorticoid use should be undertaken first, and exogenous Cushing syndrome must be excluded. Subsequently, for biochemical assessment, initial tests—1-mg DST, UFC, or LNSC—should be performed. 2 to 3 measures are recommended to diagnose Cushing syndrome. UFC and LNSC should be repeated 2 times because of significant inpatient variability that can lead to false-positive or false-negative results (Fleisher et al., 2021; Nieman et al., 2008).

If two of the three screening tests are positive, Cushing syndrome is confirmed. In cases of high clinical suspicion with normal or discordant test findings, second-step dynamic tests, including the desmopressin stimulation test or the combined 2-day low-dose dexamethasone–CRH stimulation test, should be performed, or referral to a specialized center should be considered (Reincke & Fleisher, 2023).

After confirming Cushing syndrome, ACTH levels are measured to differentiate ACTH-dependent from ACTH-independent causes. If ACTH levels are < 10 pg/mL, ACTH-independent Cushing syndrome is indicated, and adrenal causes are investigated. The adrenal glands are evaluated using computed tomography or magnetic resonance imaging. Results showing ACTH values between 10 and 20 pg/mL do not allow definitive classification and therefore require reevaluation. This pattern may be observed in mild adrenal Cushing syndrome; if laboratory and clinical findings are consistent with Cushing syndrome, an ACTH-dependent cause should be considered. ACTH concentration is >20 pg/mL, ACTH-dependent causes of Cushing syndrome are investigated. At this stage, imaging studies are performed, and

pituitary magnetic resonance imaging is obtained. If an adenoma is present and measures ≥ 10 mm, Cushing disease is considered confirmed (Gadelha et al., 2023).

Pituitary adenomas measuring < 6 mm, or cases in which no adenoma is visualized, are evaluated with bilateral inferior petrosal sinus sampling (BIPSS). In adenomas measuring 6–9 mm, although expert opinions vary, BIPSS is favored by most clinicians (Hayes & Grossman, 2022).

BIPSS is the gold standard for distinguishing pituitary Cushing syndrome from ectopic Cushing syndrome (Fleseriu et al., 2021). In BIPSS, a central-to-peripheral ACTH ratio of ≥ 2 at baseline or ≥ 3 after stimulation is compatible with Cushing disease, whereas a ratio of < 2 at baseline or < 3 after stimulation is compatible with ectopic Cushing syndrome (Hayes & Grossman, 2022). BIPSS was initially performed using CRH; likewise, desmopressin demonstrates comparable diagnostic performance (Valizadeh, Ahmadi, Ebadinejad, Rahmani, & Abiri, 2022). If BIPSS is not available, high-dose dexamethasone suppression, CRH, or desmopressin tests may be used; however, their sensitivity and specificity are lower when used alone, and they should be combined with additional imaging studies (Gadelha et al., 2023).

If BIPSS is in favor of ectopic Cushing syndrome, the initial studies for tumor localization include computed tomographic evaluation of the neck, thorax, and abdomen. Gallium-68 DOTATATE positron emission tomography has higher sensitivity for tumor detection compared with computed tomographic imaging (Reincke & Fleseriu, 2023).

Treatment

The first-line treatment for all forms of Cushing syndrome is surgery directed at the tissue that secretes excess ACTH or cortisol (Nieman et al., 2015).

Medical therapy is used for persistent or recurrent disease after surgery, during the interval before radiotherapy becomes fully effective for Cushing Disease, or as first-line treatment in severe hypercortisolism requiring rapid control (Feelders et al., 2019; Nieman et al., 2015).

Steroidogenesis inhibitors can be used in all forms of endogenous Cushing syndrome, these include ketoconazole, levoketoconazole, metyrapone, mitotane, etomidate and osilodrostat (Feelders et al., 2019; Nieman et al., 2015; Varlamov, Han, & Fleseriu, 2021).

Etomidate is highly effective in reducing cortisol levels in severe hypercortisolism; however, due to its sedative properties, its use should be restricted to intensive care settings (Preda, Sen, Karavitaki, & Grossman, 2012).

The use of mitotane is limited because of significant adverse effects and it is used as adjuvant therapy in adrenocortical carcinoma (Ruggiero et al., 2022).

If Cushing disease does not achieve remission after surgery or recurs, repeat transsphenoidal surgery is suggested, particularly in patients with evidence of incomplete resection or a residual pituitary lesion on imaging (Fleseriu et al., 2021; Nieman et al., 2008). In Cushing disease, cabergoline and pasireotide can be used in cases of mild hypercortisolism. (Pivonello, De Leo, Cozzolino, & Colao, 2015).

Mifepristone, a glucocorticoid receptor blocker, can be used in all forms of Cushing syndrome. (Molitch, 2022).

Radiotherapy/radiosurgery is used as a second-line treatment in persistent or recurrent Cushing disease after unsuccessful surgery (Fleseriu et al., 2021; Katznelson, 2022).

Bilateral adrenalectomy is an treatment option for patients with occult or metastatic ectopic ACTH secretion, or for those with severe, life-threatening ACTH-dependent disease that can not be rapidly controlled with medical therapy (Nieman et al., 2015).

Conclusion

Endogenous Cushing syndrome is a rare condition; however, it constitutes a significant cause of morbidity and mortality. Therefore, timely and accurate diagnosis, as well as appropriate treatment, are essential for improving patient outcomes.

References

- Bolland, M. J., Holdaway, I. M., Berkeley, J. E., Lim, S., Dransfield, W. J., Conaglen, J. V., . . . Toomath, R. J. (2011). Mortality and morbidity in Cushing's syndrome in New Zealand. *CLINICAL ENDOCRINOLOGY*, 75(4), 436-442.
- Braun, L. T., Riester, A., Obwald-Kopp, A., Fazel, J., Rubinstein, G., Bidlingmaier, M., . . . Reincke, M. (2019). Toward a diagnostic score in Cushing's syndrome. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 766.
- Cushing, H. (1964). The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations (pituitary basophilism). *Journal of Neurosurgery*, 21(4), 318-347.
- Dekkers, O. M., Horváth-Puhó, E., Jørgensen, J. O. L., Cannegieter, S. C., Ehrenstein, V., Vandenbroucke, J. P., . . . Sørensen, H. T. (2013). Multisystem morbidity and mortality in Cushing's syndrome: a cohort study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(6), 2277-2284.
- Feelders, R. A., Newell-Price, J., Pivonello, R., Nieman, L. K., Hofland, L. J., & Lacroix, A. (2019). Advances in the medical treatment of Cushing's syndrome. *The lancet Diabetes & endocrinology*, 7(4), 300-312.
- Fleseriu, M., Auchus, R., Bancos, I., Ben-Shlomo, A., Bertherat, J., Biermasz, N. R., . . . Carmichael, J. D. (2021). Consensus on diagnosis and management of Cushing's disease: a guideline update. *The lancet Diabetes & endocrinology*, 9(12), 847-875.
- Gadelha, M., Gatto, F., Wildemberg, L. E., & Fleseriu, M. (2023). Cushing's syndrome. *The Lancet*, 402(10418), 2237-2252.
- Hasenmajer, V., Sbardella, E., Sciarra, F., Minnetti, M., Isidori, A. M., & Venneri, M. A. (2020). The immune system in Cushing's syndrome. *Trends in endocrinology &*

metabolism, 31(9), 655-669.

- Hayes, A. R., & Grossman, A. B. (2022). Distinguishing Cushing's disease from the ectopic ACTH syndrome: Needles in a haystack or hiding in plain sight? *Journal of Neuroendocrinology*, 34(8), e13137.
- Ilias, I., Torpy, D. J., Pacak, K., Mullen, N., Wesley, R. A., & Nieman, L. K. (2005). Cushing's syndrome due to ectopic corticotropin secretion: twenty years' experience at the National Institutes of Health. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(8), 4955-4962.
- Isidori, A. M., & Lenzi, A. (2007). Ectopic ACTH syndrome. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 51, 1217-1225.
- Katznelson, L. (2022). Role of radiation in the treatment of Cushing disease. *Pituitary*, 25(5), 740-742.
- Katznelson, L., Bogan, J. S., Trob, J. R., Schoenfeld, D. A., Hedley-Whyte, E. T., Hsu, D. W., . . . Klibanski, A. (1998). Biochemical assessment of Cushing's disease in patients with corticotroph macroadenomas. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 83(5), 1619-1623.
- Lacroix, A., Feelders, R. A., Stratakis, C. A., & Nieman, L. K. (2015). Cushing's syndrome. *The Lancet*, 386(9996), 913-927.
- Molitch, M. E. (2022). Glucocorticoid receptor blockers. *Pituitary*, 25(5), 733-736.
- Nieman, L. K., Biller, B. M., Findling, J. W., Murad, M. H., Newell-Price, J., Savage, M. O., & Tabarin, A. (2015). Treatment of Cushing's syndrome: an endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100(8), 2807-2831.
- Nieman, L. K., Biller, B. M., Findling, J. W., Newell-Price, J., Savage, M. O., Stewart, P. M., & Montori, V. M. (2008).

- The diagnosis of Cushing's syndrome: an endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93(5), 1526-1540.
- Nieman, L. K., Castinetti, F., Newell-Price, J., Valassi, E., Drouin, J., Takahashi, Y., & Lacroix, A. (2025). Cushing syndrome. *Nature Reviews Disease Primers*, 11(1), 4.
- Pivonello, R., De Leo, M., Cozzolino, A., & Colao, A. (2015). The treatment of Cushing's disease. *Endocrine reviews*, 36(4), 385-486.
- Pivonello, R., Isidori, A. M., De Martino, M. C., Newell-Price, J., Biller, B. M., & Colao, A. (2016). Complications of Cushing's syndrome: state of the art. *The lancet Diabetes & endocrinology*, 4(7), 611-629.
- Preda, V. A., Sen, J., Karavitaki, N., & Grossman, A. B. (2012). Therapy in endocrine disease: etomidate in the management of hypercortisolaemia in Cushing's syndrome: a review. *European Journal of Endocrinology*, 167(2), 137-143.
- Reincke, M., & Fleseriu, M. (2023). Cushing syndrome: a review. *Jama*, 330(2), 170-181.
- Rudman, Y., Michaelis, M., Shimon, I., Dotan, I., Shochat, T., Kushnir, S., . . . Akirov, A. (2025). Can we predict the risk of venous thromboembolism in patients with Cushing's syndrome: a nationwide cohort analysis. *Pituitary*, 28(1), 10.
- Ruggiero, E., Tizianel, I., Caccese, M., Lombardi, G., Pambuku, A., Zagonel, V., . . . Ceccato, F. (2022). Advanced adrenocortical carcinoma: from symptoms control to palliative care. *Cancers*, 14(23), 5901.
- Schernthaner-Reiter, M. H., Siess, C., Micko, A., Zauner, C., Wolfsberger, S., Scheuba, C., . . . Luger, A. (2021). Acute and life-threatening complications in Cushing syndrome: prevalence, predictors, and mortality. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 106(5), e2035-e2046.

- Valizadeh, M., Ahmadi, A. R., Ebadinejad, A., Rahmani, F., & Abiri, B. (2022). Diagnostic accuracy of bilateral inferior petrosal sinus sampling using desmopressin or corticotropin-releasing hormone in ACTH-dependent Cushing's syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 23(5), 881-892.
- Varlamov, E. V., Han, A. J., & Fleseriu, M. (2021). Updates in adrenal steroidogenesis inhibitors for Cushing's syndrome—a practical guide. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 35(1), 101490.
- Wengander, S., Trimpou, P., Papakokkinou, E., & Ragnarsson, O. (2019). The incidence of endogenous Cushing's syndrome in the modern era. *CLINICAL ENDOCRINOLOGY*, 91(2), 263-270.
- Zhou, J., Zhang, M., Bai, X., Cui, S., Pang, C., Lu, L., . . . Xing, B. (2019). Demographic Characteristics, Etiology, and Comorbidities of Patients with Cushing's Syndrome: A 10-Year Retrospective Study at a Large General Hospital in China. *International journal of endocrinology*, 2019(1), 7159696.

BÖLÜM 4

LUPUS NEFRİTİNE GÜNCEL YAKLAŞIMLAR

GAMZE ERGÜN¹

Giriş

Böbrek tutulumu, sistemik lupus eritematozus (SLE) hastalığında sık görülür. Lupus nefritinin (LN) tanısı sırasında hastaların büyük bir kısmında yüksek plazma kreatinin konsantrasyonu ve/veya idrar tahlili anormallliği mevcuttur (Almaani ve ark., 2017: 825).

Epidemiyoloji

SLE hastalarının çoğunda, LN hastalığın erken döneminde gelişir (Almaani ve ark., 201: 825; KDIGO 2021: 1; Rojas-Rivera ve ark., 2023: 1384; Ortega, 2010: 557; Parikh ve ark., 2020: 265). Klinik olarak belirgin böbrek hastalığı, SLE'li hastaların yaklaşık yarısında ortaya çıkar ve LN'li hastaların yaklaşık yüzde 10'unda son dönem böbrek hastalığı gelişir (Almaani ve ark., 2017: 825; Lim ve ark., 2014: 357; Sommers ve ark., 2014: 369; Izmirly ve ark., 2017: 2006; Dall'Era, 2017: 1996; O'Flynn ve ark., 2011: 75; Alarcon, 2011: 3; Cervera ve ark., 1993: 113; Wang, 1997: 248; Cervera, 2003: 299; Kasitanon ve ark., 2005: 4003; To ve ark., 2005: 4003; Alarcon ve ark., 2005: 4003)

¹ Uzman Doktor, Bartın Devlet Hastanesi, Nefroloji, Orcid: 0000-0003-1605-7231

Avrupa ile karşılaştırıldığında Amerika Birleşik Devletleri'ndeki SLE'li hastalarda LN insidansı daha yüksektir ve bu kısmen ırksal ve etnik farklılıkları yansıtabilir (Cervera ve ark., 1993: 113; Cervera, 2003: 299; Kasitanon ve ark., 2005: 4003; To ve ark., 2005: 4003). LN insidansı, SLE'li Siyah hastalarda (%34 ila 51), Hispanik hastalarda (%31 ila 43) ve Asyalı hastalarda (%33 ila 55) beyaz hastalardan (%14 ila 23) daha yüksektir (Parikh, 2020: 265; Lim ve ark., 2014: 357; Sommers ve ark., 2014: 369; Izmirly ve ark., 2017: 2006; Dall'Era, 2017: 1996; Feldman ve ark., 2013: 65). LN Siyah hastalar ve Hispanik hastalarda, beyaz hastalara kıyasla daha şiddetli altta yatan histopatoloji, daha yüksek serum kreatinin konsantrasyonları ve daha fazla proteinüri ile ortaya çıkma eğilimindedir (Lim ve ark., 2014: 357; Contreras ve ark., 2006: 1846). Ek olarak, siyah hastalar, hispanik hastalar ve sosyoekonomik düzeyi düşük olanlar, beyaz hastalara ve daha yüksek sosyoekonomik statüye sahip olanlara göre daha kötü bir prognoza sahiptir. Ancak, siyah popülasyonlarda LN'nin daha yüksek sıklığı, sosyoekonomik faktörler için düzeltme yapıldıktan sonra bile devam etmektedir (Feldman ve ark., 2013: 65; Contreras ve ark., 2006: 1846; Barr ve ark., 2003: 2039).

Patofizyoloji

LN, klasik bir immün kompleks glomerülonefriti formu olarak kabul edilse de, patofizyolojisi karmaşıktır. Patogenez, hem periferik kanda hem de böbreklerde genlerin ekspresyonunu içerebilir bu da; nötrofil aktivasyonuna ve interferon ekspresyonunun artmasına,

miyeloid hücre ve proinflamatuvar transkriptomların regülasyonuna yol açabilir (Almaani ve ark., 2017: 825; Rovin ve ark., 2029: 2081; Banchererau, 2016: 551; Arazi ve ark., 2019: 902; Der ve ark., 2014: 915). Nötrofiller ve ölmekte olan nötrofiller, antijene özgü otoantikor üretimine izin veren nükleer antijenlerin kaynağı haline gelen kromatin, histonlar ve immünostimülatör proteinlerden oluşan nötrofil ekstraselüler tuzaklarını serbest bırakır (Villanueva ve ark., 2011: 538). LN'deki kompleman aktivasyonu, endotel hasarı ve böbrekte inflamasyonun artması yoluyla böbreğe zarar verebilir (Birmingham ve ark., 2017: 47).

SLE'de (ve diğer immün kompleks aracılı glomerüler hastalıklarda) görülen glomerüler hasar örüntüsü genellikle immün birikimin oluşum yeri ile ilişkilidir ve bunlar öncelikli olarak anti-çift sarmallı DNA (anti-dsDNA) antikorlarından kaynaklanır. (O'Flynn ve ark., 2011: 75).

Klinik

Böbrek hastalığı genellikle SLE hastaların çoğunda, plazma kreatinin konsantrasyonunun artışı veya anormal idrar tahliliyle tespit edilir. LN hastalarda en sık görülen renal patoloji proteinürüdür (Almaani ve ark., 2017: 825; Ortega, 2010: 557; Parikh, 2020: 265). Diğer yaygın klinik bulgular arasında eritrosit silendirleri, silendir olmadan mikroskopik hematüri, böbrek fonksiyon bozukluğu, nefritik düzeyde proteinüri, nefrotik sendrom ve hipertansiyon

bulunur (Almaani ve ark., 2017: 825). Sonuç olarak, SLE'li tüm hastalar rutin olarak böbrek hastalığı açısından izlenmelidir.

Çoğu LN, SLE tanısı konulduktan kısa bir süre sonra ortaya çıkar (genellikle ilk 6 ila 36 ay içinde) (Almaani ve ark., 2017: 825; Seligman ve ark., 2002: 726). SLE'li hastaların yaklaşık %30' unda plazma kreatinin konsantrasyonu yükselir (Anders ve ark., 2020: 7).

Nadiren, hastalarda böbrek tutulumuna dair herhangi bir klinik belirti olmaksızın böbrek biyopsisinde önemli anormallikler gözlemlenen sessiz LN olabilir. Böbrek hastalığının klinik kanıtı olmayan hastalarda böbrek biyopsisi yapılan çalışmalarda bazı hastalarda mezangiyal, fokal veya diffüz proliferatif glomerülonefrit bulunmuştur. Sessiz LN'li hastalarda böbrek hastalığı genellikle klinik olarak sessiz kalır ve iyi böbrek prognozu ilişkilidir (Gonzalez-Crespo, 1996:568; Wada ve ark., 2004: 105, Zabaleta-Lanz, 2006: 845).

Tanı

LN tanısı ideal olarak böbrek biyopsisi ile doğrulanır (KDIGO 2021, 1; Rojas-Rivera ve ark, 2023: 1384; KDIGO, 2024: 105). Böbrek biyopsisi, böbrek tutulumunu tanımlamak, böbrek hasarının diğer nedenlerini dışlamak ve LN'nin histopatolojik alt tipini belirlemek için önemlidir. Biyopsiler ayrıca hastalık aktivitesini ve kronisitesini değerlendirmek için de oldukça önemlidir.

Böbrek tutulumuna dair klinik veya laboratuvar bulgusu olan (örneğin proteinüri, aktif idrar sedimenti, yükselmiş serum kreatinin ve/veya azalmış glomerüler filtrasyon hızı [GFR]) SLE'li çoğu hastada böbrek biyopsisi yapılmalı ve doğru tanı konulmalı ve LN'nin histolojik alt tipi belirlenmelidir. Ancak, diğer tüm invaziv prosedürlerde olduğu gibi, prosedürü uygulamadan önce kişiselleştirilmiş bir risk-fayda değerlendirmesi gereklidir.

Genellikle aşağıdaki klinik belirtilerden bir veya daha fazlasına sahip hastalarda böbrek biyopsisi önerilir:

- Günde 500 mg'dan fazla idrar protein atılımı.
- Kalıcı hematüri (çoğu dismorfik olan büyük büyütmeli alan başına beş veya daha fazla eritrosit) ve/veya sellüler silendir içeren aktif bir idrar sedimenti.
- Başka bir mekanizmaya açıkça atfedilemeyen yükselen bir serum kreatinini

Yaklaşımımız, Avrupa Romatoloji Dernekleri Birliği (eski adıyla Avrupa Romatizma Karşı Birliği)/ Avrupa Böbrek Derneği-Avrupa Diyaliz ve Transplant Derneği (EULAR/ERA-EDTA) ortak kılavuzlarında yer alan böbrek biyopsisi endikasyonlarıyla tutarlıdır (Fanouriakis, 2020: 713).

LN'nin doğasını ve sınıfını belirlemek aşağıdaki nedenlerden dolayı önemlidir:

- Tedavi histolojik alt tipe (yani, Uluslararası Nefroloji Derneği/Böbrek Patolojisi Derneği [ISN/RPS] sınıfı, aktivite derecesi ve kronisite) ve interstisyel nefrit ve trombotik mikroanjiyopati gibi komplike lezyonlara göre yönlendirilir.

- Biyopsi ayrıca LN dışındaki patolojileri da belirleyebilir. Klinik prezentasyon, histolojik bulguların ciddiyetini doğru bir şekilde yansıtmayabilir. Örnek olarak, nadiren, hastanın minimal proteinürisi ve normal serum kreatinin seviyesi olsa bile proliferatif lupus mevcut olabilir.

Genellikle, günde 500 mg'dan az proteinürisi olan ve aktif idrar sedimenti olmayan hastalarda böbrek biyopsisi önerilmez. Bu tür hastalarda fokal veya diffüz LN veya lupus membranöz nefropatisi olma olasılığı düşüktür. Bu hastalarda minimal mesangial veya mesangial proliferatif hastalık olabilir ve bunların hiçbiri immünosüpresif tedavi gerektirmez. Bu tür hastalar, artan proteinüri, aktif idrar sedimentinin ortaya çıkması ve/veya serum kreatinin seviyesinde artış gibi ilerleyici hastalık belirtileri açısından izlenmelidir. Bu belirtiler daha şiddetli bir lezyona dönüşümü gösterir ve böbrek biyopsisini gerektirir (Wang ve ark., 2022: 1150).

Histopatolojik klasifikasyon

Böbrek biyopsisinden elde edilen klinikopatolojik korelasyonlara dayalı olarak SLE ile ilişkili glomerüler bozukluklar altı farklı

klasifikasyona ayrılır. LN aktivitesi ve kroniklik indeksleri ayrıca aktif ve kronik lezyonların tanısına daha fazla ayrıntı sağlamak için önerilmiştir (Bajema ve ark., 2018: 789).

- Minimal mezengial lupus nefriti (Sınıf I)
- Mezengialproliferatif lupus nefriti (Sınıf II)
- Fokal lupus nefriti (Sınıf III)
- Diffüz lupus nefriti (Sınıf IV)
- Membranöz lupus nefriti (Sınıf V)
- İlerisklerozan lupus nefriti (Sınıf VI)

Tedavi

Lupus nefritinin (LN) optimal tedavisi, böbrek biyopsisinde mevcut olan morfolojik bulguların sınıflandırılmasına göre değişir. İmmünoşüpresif tedavi, aktif fokal (sınıf III) veya difüz (sınıf IV) LN veya lupus membranöz nefropati (sınıf V LN) veya fokal veya difüz (sınıf III/IV) ve membranöz (sınıf V) LN'nin bir kombinasyonunu tedavi etmek için kullanılır.

Lupus nefriti olan tüm hastalara, hastalık aktivitesinin derecesi ve türü ne olursa olsun, kontrendike olmadıkça hidroksiklorokin tedavisi verilmelidir.

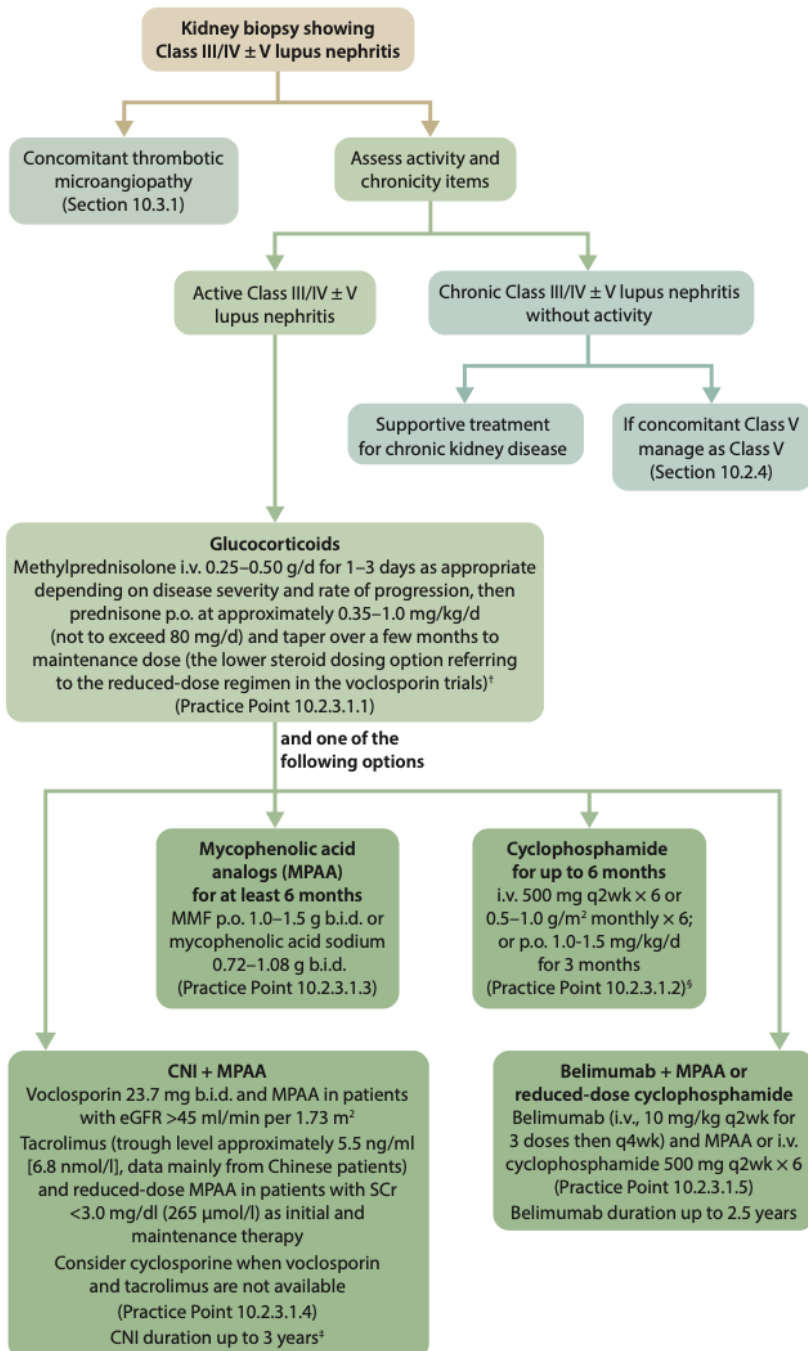
Böbrek hastalığı için destekleyici önlemler -LN'li tüm hastalarda genel destekleyici önlemler arasında diyet sodyum ve protein kısıtlaması, kan basıncı kontrolü, renin-anjiyotensin sistem inhibisyonu ile proteinürinin en aza indirilmesi ve dislipidemi tedavisi (varsa) bulunur. Sodyum-glukoz kotransporter 2 (SGLT2)

inhibitörleri de faydalı olabilir. Bu yaklaşım, LN'nin yönetimi için Böbrek Hastalığı: Küresel Sonuçların İyileştirilmesi (KDIGO) klinik uygulama kılavuzları ile tutarlıdır (KDIGO, 2024: 105).

Sınıf I ve Sınıf II Lupus Nefriti Tedavisi

Sınıf I ve sınıf II lupus nefritinde nefrotik düzeyde proteinüri yok ise ekstrarenal patolojiler tedavi edilir, nefrotik düzeyde proteinürisi var ise minimal değişiklik hastalığı gibi tedavi verilir (KDIGO, 2024: 105).

Sınıf III ve Sınıf IV Lupus Nefriti Tedavisi



Fokal veya diffüz LN tedavisinin iki ana bileşeni vardır: böbrek hasarını yavaşlatmak veya durdurmak için antiinflamatuvar ve immünosupresif ajanlarla ilk tedavi, ardından SLE'nin kronik otoimmün süreçlerini kontrol etmek ve hasarlı nefronların onarımını teşvik etmek için uzun süreli idame immünosupresif tedavi.

Böbrek biyopsisinde aktif lezyonları olan fokal veya diffüz LN olan hastalar immünosüpresif tedavi almalıdır. Aktivitesi olmayan tek başına kronik lezyonları olanlar genellikle immünosupresif tedavi ile tedavi edilmemeli ve bunun yerine kronik böbrek hastalığı (KBH) için destekleyici tedavi görmelidir. Bununla birlikte, bu hastalar SLE'lerinin ekstra-renal belirtilerini tedavi etmek için immünosüpresif tedaviye ihtiyaç duyabilir (KDIGO, 2024: 105).

Aktif fokal veya diffüz LN'li hastalar için, ilk tedavi için birinci basamak seçenekler şunları içerir:

- Çift immünosüpresif tedavi

Bu tedavi glukokortikoidlerden ve aşağıdaki ajanlardan birinden oluşur:

- Mikofenolat mofetil (MMF) veya enterik kaplı mikofenolat sodyum (EC-MPS).
- İntravenöz (IV) veya çok daha az yaygın olarak oral siklofosamid.

- Üçlü immünosupresif tedavi – Bu tedavi glukokortikoidlerden artı aşağıdaki ajan kombinasyonlarından birinden oluşur:
 - Belimumab artı MMF (veya EC-MPS) veya siklofosfamid.
 - Bir kalsinörin inhibitörü (CNI; voklosporin, takrolimus veya siklosporin) artı MMF (veya EC-MPS).

Çoğu hasta için, diğer ikili veya üçlü tedaviler yerine ilk tedavi için glukokortikoidler artı MMF veya glukokortikoidler artı MMF ve belimumab veya bir CNI ile üçlü tedavi önerilir. MMF alamayan veya almak istemeyen hastalar için siklofosfamid (yani sırasıyla siklofosfamid artı glukokortikoidler veya siklofosfamid artı belimumab artı glukokortikoidler) ile ikili veya üçlü tedavi makul bir alternatiftir (Fanouriakis, 2024: 15). Bazı hasta özellikleri ve tercihlerinin yanı sıra tedavinin potansiyel toksisiteleri de ilk tedavi seçimini etkileyebilir:

- Hızla bozulan böbrek fonksiyonu ve/veya biyopside şiddetli LN- Hızla kötüleşen böbrek fonksiyonu ve/veya böbrek biyopsisinde ciddi aktivite (örneğin yüksek kresent oranı) olan hastalarda, bazı klinisyenler yüksek doz IV siklofosfamid içeren bir rejimi tercih eder.

- Proteinüri derecesi- Daha yüksek başlangıç proteinüri (≥ 3 g/gün) olan hastaların glukokortikoidler artı MMF ve bir CNİ ile üçlü tedaviden yararlandığı gösterilmiştir (Fanouriakis, 2024: 15). Buna karşılık, belimumab bu tür hastalarda o kadar etkili olmayabilir (Rovin ve ark., 2022: 403).

- Önceki LN alevlenme geçmişi -belimumab, glukokortikoidler ve MMF veya siklofosfamid ile üçlü tedavi, belimumab'ın LN alevlenme riskini azalttığını öne süren bir post hoc analizden elde edilen verilere dayanarak, önceki LN alevlenme öyküsü olan hastalar için yararlı olabilir (Rovin ve ark., 2021: 2070).

- Temel böbrek fonksiyonu- Bu ilaçların potansiyel nefrotoksitesi nedeniyle böbrek fonksiyonunu önemli ölçüde azalmış hastalarda CNİ'lar dikkatli kullanılmalı veya kaçınılmalıdır.

- SLE'nin ekstrarenal belirtileri -SLE'nin ekstrarenal belirtilerinin varlığı, LN için tedavi seçimini etkileyebilir. Örnek olarak, belimumab'ın şiddetli veya refrakter artritli hastalar için yararlı olduğu bulunmuştur; bu nedenle, belimumab, glukokortikoidler ve MMF veya siklofosfamid ile üçlü tedavi, bu durumda alternatif rejimlere tercih edilebilir. Ek olarak, intravenöz siklofosfamid içeren LN rejimleri, enflamatuvar veya demiyelinizan merkezi sinir sistemi

hastalığı, şiddetli diffüz alveolar kanama ve/veya şiddetli miyokardit gibi SLE'nin belirli ciddi, potansiyel olarak yaşamı tehdit eden belirtileri olan hastalarda tercih edilebilir.

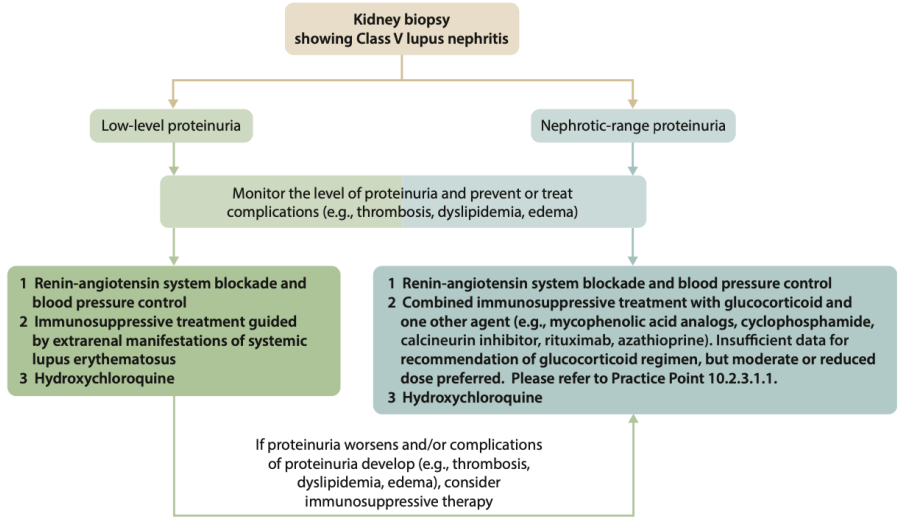
- Glukokortikoid maruziyeti- CNI (özellikle voklosporin), MMF ve glukokortikoidler ile üçlü tedavi, glukokortikoidlerin daha hızlı azaltılmasını kolaylaştırabilir (Rovin ve ark., 2021: 2070), bu da glukokortikoidlere ve bunlarla ilişkili yan etkilere maruz kalmayı azaltabilir.

- Doğurganlık -Siklofosfamid doğurganlığı olumsuz yönde etkileyebileceğinden, doğurganlıkla ilgili endişeleri olan hastalar için MMF bazlı bir rejim tercih edilir. Bununla birlikte, MMF teratojeniktir ve LN'li hastalarda hamilelik, hamilelikle uyumlu ilaçlarda remisyon elde edilene kadar ertelenmelidir.

- Uyum- Oral tedaviye bağlı kalmakta zorlanabilecek hastalar için, IV siklofosfamid bazlı bir rejim MMF tabanlı bir rejime tercih edilebilir.

Bu rejimlerin kullanılmasına rağmen, klinik yanıt oranları düşük kalmaktadır (Fanouriakis ve ark., 2020: 713). Klinik yanıt tanımları çalışmalar arasında değişiklik gösterse de, çağdaş randomize çalışmalardan elde edilen veriler yaklaşık yüzde 20 ila 40'lık tam yanıt oranları göstermiştir (Izmirly ve ark., 2024: 54).

Sınıf V Lupus Nefriti Tedavisi



Kaynak: Kidney International (2024) 105 (Suppl 1S), S1–S69

İmmünosüpresif tedavi endikasyonları- Saf (yani, eşzamanlı fokal veya diffüz LN olmadan) membranöz lupus nefritli hastalarda immünosüpresif tedavi endikasyonları konusunda fikir birliği eksikliği vardır. Genel olarak, çoğu uzman, immünosüpresif ilaçların; saf membranöz LN’li hastalara nefrotik sendromlu veya nefrotik sendromun yokluğunda, immünosüpresif olmayan tedaviye rağmen kalıcı proteinüri>3,5 g/gün, serum kreatininde bazalının üzerinde ilerleyici bir artış veya böbrek biyopsisinde karışık membranöz ve proliferatif lezyonlar var ise uygulanması gerektiği

konusunda hemfikiridir. Daha az proteinüri derecesi olan hastalarda immünosüpresif tedavinin rolü konusunda daha az anlaşma vardır. Bazı uzmanlar, böbrek biyopsisinde geniş kronik hasar kanıtı olmayan (örneğin, glomerüloskleroz, interstisyel fibroz ve tübüler atrofi) membranöz LN ve proteinüri ≥ 1 g/gün (bazı uzmanlar $\geq 0,5$ ila $0,7$ g/gün eşik kullanır) olan hastaların immünosüpresif tedavi alması gerektiğini önermektedir. Bu yaklaşımın gerekçesi, bu hastaların genellikle kendiliğinden remisyon yaşamaması ve bu miktarda proteinüri uzun vadede ilerleyici böbrek hasarı riskini artırmasıdır (Fanouriakis ve ark., 2020: 713). Proteinüri < 1 g/gün olan hastalarda ise membranöz LN'i immünosüpresif tedavi ile tedavi edilmez, bunun yerine immünosüpresyon ihtiyacı ekstrarenal belirtilere göre şekillendirilir (Fanouriakis ve ark., 2020: 713). İmmünosüpresif olmayan tedaviye ek olarak immünosüpresif tedaviyi tek başına immünosüpresif olmayan tedavi ile karşılaştıran saf membranöz LNli hastalarda randomize çalışma yoktur. Bu nedenle, hangi hastaların immünosüpresif tedavi alması gerektiğine dair kararlar, uzmanların klinik deneyimleri de dahil olmak üzere daha düşük kaliteli verilere dayanarak verilir.

İmmünosüpresif tedavi seçimi – Eşzamanlı membranöz LN ve fokal veya diffüz LN'ye sahip hastalar, tek başına diffüz LN fokalına sahip olanlarla aynı yaklaşımla tedavi edilir (Fanouriakis ve ark., 2024: 15). İmmünosüpresyon için seçilen saf membranöz LN li hastalar için, ilk tedavi seçenekleri aşağıdakileri içerir (KDIGO, 2024: 105):

- Çift immünosüpresif tedavi- Çift immünosüpresif tedavi glukokortikoidlerden ve şu ajanlardan birinden oluşur: MMF veya EC-MPS, IV siklofosfamid, bir kalsinörin inhibitörü (CNI; takrolimus veya siklosporin).

- Üçlü immünosupresif tedavi- Üçlü immünosüpresif tedavi glukokortikoidlerden artı şu ajan kombinasyonlarından birinden oluşur: Bir CNI (siklosporin, takrolimus veya siklosporin) artı MMF (veya EC-MPS), Belimumab artı MMF (veya EC-MPS) veya siklofosfamid.

İleri Sklerozan Lupus Nefriti

Sınıf VI LN’de kronisite yüksek olduğundan dolayı immunsupresif tedavi önerilmez (KDIGO, 2024: 105).

Sonuç

Sonuç olarak, SLE hastalarında renal tutulum çok sık görülür, hastalar nu açıdan mutlaka izlenmelidir. LN optimal tedavisi ise, böbrek biyopsisinde mevcut olan morfolojik bulguların sınıflandırılmasına göre değişir.

Kaynakça

Almaani S, Meara A, Rovin BH. (2017). Update on Lupus Nephritis. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. , 12: 825.

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Glomerular Diseases WorkGroup. KDIGO 2021 Clinical Practice Guideline for the Management of Glomerular Diseases. *Kidney Int* 2021, 100: S1.

Rojas-Rivera JE, García-Carro C, Ávila AI, Espino M, Espinosa M, Fernández-Juárez G, Fulladosa X, Goicoechea M, Macía M, Morales E, Quintana LF, Praga M. (2023). Diagnosis and treatment of lupus nephritis: a summary of the Consensus Document of the Spanish Group for the Study of Glomerular Diseases (GLOSEN) *Clinical kidney journal*. Mar 22;16(9):1384-1402. doi: 10.1093/ckj/sfad055. PMID: 37664575; PMCID: PMC10468759.

Ortega LM, Schultz DR, Lenz O, Pardo V, Contreras GN. (2010) Review: Lupus nephritis: pathologic features, epidemiology and a guide to therapeutic decisions. *Lupus*, 19:557.

Parikh SV, Almaani S, Brodsky S, Rovin BH. (2020) Update on Lupus Nephritis: Core Curriculum. *American journal of kidney diseases*, 76:265.

Lim SS, Bayakly AR, Helmick CG, Gordon C, Easley KA, Drenkard C. (2014) The incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus, 2002-2004: The Georgia Lupus Registry. *Arthritis Rheumatology*., 66:357.

Somers EC, Marder W, Cagnoli P, Lewis EE, DeGuire P, Gordon C, Helmick CG, Wang L, Wing JJ, Dhar JP, Leisen J, Shaltis D, McCune WJ (2014). Population-based incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus: the Michigan Lupus Epidemiology and Surveillance program. *Arthritis Rheumatology*, 66:369.

Izmirly PM, Wan I, Sahl S, Buyon JP, Belmont HM, Salmon JE, Askanase A, Bathon JM, Geraldino-Pardilla L, Ali Y, Ginzler EM, Putterman C, Gordon C, Helmick CG, Parton H. (2017) The Incidence and Prevalence of Systemic Lupus Erythematosus in New York County (Manhattan), New York: The Manhattan Lupus Surveillance Program. *Arthritis Rheumatology*, 69:2006.

Dall'Era M, Cisternas MG, Snipes K, Herrinton LJ, Gordon C, Helmick CG. (2017) The Incidence and Prevalence of Systemic Lupus Erythematosus in San Francisco County, California: The California Lupus Surveillance Project. *Arthritis Rheumatology*, 69:1996.

O'Flynn J, Flierman R, van der Pol P, Rops A, Satchell SC, Mathieson PW, van Kooten C, van der Vlag J, Berden JH, Daha MR.. (2011) Nucleosomes and C1q bound to glomerular endothelial cells serve as targets for autoantibodies and determine complement activation. *Molecular immunology*, 49:75.

Alarcón GS. (2011) Multiethnic lupus cohorts: what have they taught us? *Reumatología clínica* 7:3.

Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, Doménech I, Aydintug AO, Jedryka-Góral A, de Ramón E. (1993) Systemic lupus erythematosus: clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. The European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. *Medicine (Baltimore)*, 72:113.

Seligman VA, Lum RF, Olson JL, Li H, Criswell LA. (2002) Demographic differences in the development of lupus nephritis: a retrospective analysis. *The American journal of medicine*, 112:726.

Wang F, Wang CL, Tan CT, Manivasagar M. (1997) Systemic lupus erythematosus in Malaysia: a study of 539 patients and comparison of prevalence and disease expression in different racial and gender groups. *Lupus*, 6:248.

Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, Mejía JC, Aydintug AO, Chwalinska-Sadowska H, de Ramón E, Fernández-Nebro A, Galeazzi M, Valen M, Mathieu A, Houssiau F, Caro N, Alba P, Ramos-Casals M, Ingelmo M, Hughes GR. (2003) Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. *Medicine (Baltimore)*, 82:299.

Kasitanon N, Magder LS, Petri M. (2006) Predictors of survival in systemic lupus erythematosus. *Medicine (Baltimore)*, 85:147.

To CH, Petri M. (2005) Is antibody clustering predictive of clinical subsets and damage in systemic lupus erythematosus? *Arthritis Rheumatology*, 52:4003.

Alarcón GS, McGwin G Jr, Petri M, Reveille JD, Ramsey-Goldman R, Kimberly RP. (2002) Baseline characteristics of a multiethnic lupus cohort: PROFILE. *Lupus*, 11:95.

Feldman CH, Hiraki LT, Liu J, Fischer MA, Solomon DH, Alarcón GS, Winkelmayer WC, Costenbader KH. (2013) Epidemiology and sociodemographics of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis among US adults with Medicaid coverage, 2000-2004. *Arthritis Rheumatology*, 65:75

Contreras G, Lenz O, Pardo V, Borja E, Cely C, Iqbal K, Nahar N, de La Cuesta C, Hurtado A, Fornoni A, Beltran-Garcia L, Asif A, Young L, Diego J, Zachariah M, Smith-Norwood B (2006) Outcomes in African Americans and Hispanics with lupus nephritis. *Kidney international*, 69:1846.

Barr RG, Seliger S, Appel GB, Zuniga R, D'Agati V, Salmon J, Radhakrishnan J. (2003) Prognosis in proliferative lupus nephritis: the role of socio-economic status and race/ethnicity. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 18:2039.

Rovin BH, Caster DJ, Cattran DC, Gibson KL, Hogan JJ, Moeller MJ, Roccatello D, Cheung M, Wheeler DC, Winkelmayer WC, Floege J. (2019) Management and treatment of glomerular diseases (part 2): conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney International*; 95:281.

Banchereau R, Hong S, Cantarel B, Baldwin N, Baisch J, Edens M, Cepika AM, Acs P, Turner J, Anguiano E, Vinod P, Kahn S, Obermoser G, Blankenship D, Wakeland E, Nassi L, Gotte A, Punaro M, Liu YJ, Banchereau J, Rossello-Urgell J, Wright T, Pascual V. (2016) Personalized Immunomonitoring Uncovers Molecular Networks that Stratify Lupus Patients. *Cell*, 165:551.

Arazi A, Rao DA, Berthier CC, Davidson A, Liu Y, Hoover PJ, Chicoine A, Eisenhaure TM, Jonsson AH, Li S, Lieb DJ, Zhang F, Slowikowski K, Browne EP, Noma A, Sutherby D, Steelman S, Smilek DE, Tosta P, Apruzzese W, Massarotti E, Dall'Era M, Park M, Kamen DL, Furie RA, Payan-Schober F, Pendergraft WF 3rd, McInnis EA, Buyon JP, Petri MA, Putterman C, Kalunian KC, Woodle ES, Lederer JA, Hildeman DA, Nusbaum C, Raychaudhuri S, Kretzler M, Anolik JH, Brenner MB, Wofsy D, Hachohen N,

Diamond B. (2019) The immunecell landscape in kidneys of patients with lupus nephritis. *Nature Immunology*, 20:902.

Der E, Suryawanshi H, Morozov P, Kustagi M, Goilav B, Ranabothu S, Izmirly P, Clancy R, Belmont HM, Koenigsberg M, Mokrzycki M, Rominiecki H, Graham JA, Rocca JP, Bornkamp N, Jordan N, Schulte E, Wu M, Pullman J, Slowikowski K, Raychaudhuri S, Guthridge J, James J, Buyon J, Tuschl T, Putterman C. (2019) Tubular cell and keratinocyte single-cell transcriptomics applied to lupus nephritis reveal type I IFN and fibrosis relevant pathways. *Nature Immunology*, 20:915.

Villanueva E, Yalavarthi S, Berthier CC, Hodgins JB, Khandpur R, Lin AM, Rubin CJ, Zhao W, Olsen SH, Klinker M, Shealy D, Denny MF, Plumas J, Chaperot L, Kretzler M, Bruce AT, Kaplan MJ. (2011) Netting neutrophils induce endothelial damage, infiltrate tissues, and expose immunostimulatory molecules in systemic lupus erythematosus. *Journal of immunology*, 187:538.

Birmingham DJ, Bitter JE, Ndukwe EG, Dials S, Gullo TR, Conroy S, Nagaraja HN, Rovin BH, Hebert LA. (2016) Relationship of Circulating Anti-C3b and Anti-C1q IgG to Lupus Nephritis and Its Flare. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*, 11:47.

Anders HJ, Saxena R, Zhao MH, Parodis I, Salmon JE, Mohan C. (2020) Lupus nephritis. *Nature reviews. Disease primers*, 6:7.

Gonzalez-Crespo MR, Lopez-Fernandez JJ, Usera G, Poveda MJ, Gomez-Reino JJ. 1996 Outcome of silent lupus nephritis. *Seminars in Arthritis Rheumatology*, 26:468.

Wada Y, Ito S, Ueno M, Nakano M, Arakawa M, Gejyo F. (2004) Renal outcome and predictors of clinical renal involvement in patients with silent lupus nephritis. *Nephron Clinical Practice*, 98:105.

Zabaleta-Lanz ME, Muñoz LE, Tapanes FJ, Vargas-Arenas RE, Daboin I, Barrios Y, Pinto JA, Bianco NEI. (2006) Further description of early clinically silent lupus nephritis. *Lupus*, 15:845.

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Lupus Nephritis Work Group. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the management of LUPUS NEPHRITIS. (2024) *Kidney International*; 105: S1.

Fanouriakis A, Kostopoulou M, Cheema K, Anders HJ, Aringer M, Bajema I, Boletis J, Frangou E, Houssiau FA, Hollis J, Karras A, Marchiori F, Marks SD, Moroni G, Mosca M, Parodis I, Praga M, Schneider M, Smolen JS, Tesar V, Trachana M, van Vollenhoven RF, Voskuyl AE, Teng YKO, van Leew B, Bertsias G, Jayne D, Boumpas DT. (2019) Update of the Joint European League Against Rheumatism and European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association (EULAR/ERA-EDTA) recommendations for the management of lupus nephritis. *Annals of Rheumatic Disease*, 79:713.

Wang S, Spielman A, Ginsberg M, Petri M, Rovin BH, Buyon J, Broder A. (2022) Short- and Long-Term Progression of Kidney Involvement in Systemic Lupus Erythematosus Patients with Low-Grade Proteinuria. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*, 17:1150.

Bajema IM, Wilhelmus S, Alpers CE, Bruijn JA, Colvin RB, Cook HT, D'Agati VD, Ferrario F, Haas M, Jennette JC, Joh K, Nast CC, Noël LH, Rijnink EC, Roberts ISD, Seshan SV, Sethi S, Fogo AB.. (2018) Revision of the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society classification for lupus nephritis: clarification of definitions, and modified National Institutes of Health activity and chronicity indices. *Kidney International*, 93:789.

Fanouriakis A, Kostopoulou M, Andersen J, Aringer M, Arnaud L, Bae SC, Boletis J, Bruce IN, Cervera R, Doria A, Dörner T, Furie RA, Gladman DD, Houssiau FA, Inês LS, Jayne D, Kouloumas M, Kovács L, Mok CC, Morand EF, Moroni G, Mosca M, Mucke J, Mukhtyar CB, Nagy G, Navarra S, Parodis I, Pego-Reigosa JM, Petri M, Pons-Estel BA, Schneider M, Smolen JS, Svenungsson E, Tanaka Y, Tektonidou MG, Teng YO, Tincani A, Vital EM, van Vollenhoven RF, Wincup C, Bertsias G, Boumpas DT.. (2024) EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus: 2023 update. *Annals of Rheumatic Disease*, 83:15.

Rovin BH, Furie R, Teng YKO, Contreras G, Malvar A, Yu X, Ji B, Green Y, Gonzalez-Rivera T, Bass D, Gilbride J, Tang CH, Roth DA. (2022) A secondary analysis of the Belimumab International Study in Lupus Nephritis trial examined effects of belimumab on kidney outcomes and preservation of kidney function in patients with lupus nephritis. *Kidney Internationale*, 101:403.

Rovin BH, Teng YKO, Ginzler EM, Arriens C, Caster DJ, Romero-Diaz J, Gibson K, Kaplan J, Lisk L, Navarra S, Parikh SV, Randhawa S, Solomons N, Huizinga RB. (2021) Efficacy and safety of voclosporin versus placebo for lupus nephritis (AURORA 1): a double-blind, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*, 397:2070.

Izmirly PM, Kim MY, Carlucci PM, Preisinger K, Cohen BZ, Deonaraine K, Zaminski D, Dall'Era M, Kalunian K, Fava A, Belmont HM, Wu M, Putterman C, Anolik J, Barnas JL, Diamond B, Davidson A, Wofsy D, Kamen D, James JA, Guthridge JM, Apruzzese W, Rao DA, Weisman MH. (2024) Longitudinal patterns and predictors of response to standard-of-care therapy in lupus nephritis: data from the Accelerating Medicines Partnership Lupus Network. *Arthritis Research Therapies*, 26:54.

Fanouriakis A, Kostopoulou M, Cheema K, Anders HJ, Aringer M, Bajema I, Boletis J, Frangou E, Houssiau FA, Hollis J, Karras A, Marchiori F, Marks SD, Moroni G, Mosca M, Parodis I, Praga M, Schneider M, Smolen JS, Tesar V, Trachana M, van Vollenhoven RF, Voskuyl AE, Teng YKO, van Leew B, Bertsias G, Jayne D, Boumpas DT. (2020) 2019 Update of the Joint European League Against Rheumatism and European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association (EULAR/ERA-EDTA) recommendations for the management of lupus nephritis. *Annals of Rheumatic Diseases*, 79:713.

BÖLÜM 5

LÖSEMİ HÜCRE HATLARINDA KAFEİK ASİT FENETİL ESTER (CAPE)'İN İLAÇ DİRENCİ ÜZERİNE ETKİSİ

MAHMUT SAMİ İNCE¹

Giriş

Akut myeloid lösemi (AML), hematopoetik kök hücrelerin farklılaşmasındaki bozukluk ve kontrolsüz çoğalma sonucunda ortaya çıkan, blastik hücrelerin baskın olduğu bir hastalıktır (Shipley & Butera, 2009: 649). Hastalığın tedavisinde kullanılan standart kemoterapötik yaklaşımlar başlangıçta etkili olsa da, birçok olguda tedaviye yanıtızsızlık veya erken nüks gözlenmektedir. Bu olumsuz tablonun en önemli nedenlerinden biri çoklu ilaç direncidir (multidrug resistance, MDR). MDR; hücre içine giren ilaçların etkinliğini azaltan çeşitli biyolojik mekanizmaları içerir. MDR1 geni tarafından kodlanan P-glikoprotein başta olmak üzere MDR ilişkili protein, akciğer direnç proteini ve meme kanseri direnç proteini gibi eflüks pompaları ilaçların hücre dışına atılmasını sağlar. Ayrıca topoizomera ve glutatyon sentetaz enzim aktivitelerindeki artış ve anti-apoptotik bcl-2 geninin aşırı ekspresyonu da sitotoksik etkilere

¹ Uzman Doktor, Konya Şehir Hastanesi, İç Hastalıkları ve Yoğun Bakım, Orcid: 0000-0003-4832-1404

karşı direncin artmasına katkıda bulunmaktadır (Wood & ark., 1994: 504).

Doğal ürünlerin antikanser potansiyeli üzerine yapılan araştırmalar son yıllarda giderek artmıştır. Bu ürünlerden biri olan propolis, bal arıları tarafından toplanan reçineli bir maddedir ve bünyesinde pek çok biyolojik açıdan aktif bileşen barındırır. Propolisin en dikkat çekici bileşenlerinden biri kafeik asit fenetil ester (CAPE)'dir. CAPE'in antienflamatuar, antiviral ve antikanser özellikleri pek çok hücre kültürü modelinde gösterilmiştir. HeLa, HL60 ve MCF7 hücre hatlarında yapılan deneysel çalışmalar, CAPE'in oksidatif stres mekanizmaları üzerinden antikanser etki gösterebildiğini ortaya koymuştur. Bunun yanında, CAPE'in HL60 hücrelerinde apoptozu uyardığı, bu etkiyi de bcl-2 ekspresyonunu azaltarak, bax ekspresyonunu artırarak ve kaspaz-3 aktivasyonunu tetikleyerek gerçekleştirdiği rapor edilmiştir (Son & Lewis, 2002: 468; Chen & ark., 2001: 5615; Borrelli & ark., 2002: 38; Bhimani & ark., 1993: 4528)

Bu bağlamda, çalışmamızda CAPE'in HL60, K562 ve NB4 lösemik hücre hatları üzerindeki etkilerinin incelenmesi ve özellikle ilaç direncinin aşılmasındaki rolünün değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada üç farklı insan lösemik hücre hattı kullanıldı. HL60 hücre hattı akut promiyelositik lösemi tanılı bir hastadan elde edilmiş olup in vitro koşullarda farklılaşabilme özelliği taşımaktadır (Gallagher & ark., 1979: 713). NB4 hücre serisi, t(15;17) translokasyonu taşıyan insan akut promiyelositik lösemi olgusundan türetilmiş olup retinoik asit ile granülositik maturasyon göstermektedir (Lanotte & ark., 1991: 1080). K562 hücreleri kronik myeloid löseminin blastik kriz fazından türetilmiş, philadelphia

kromozomu pozitif olup bcr/abl füzyon geni ekspresyonu nedeniyle apoptoza dirençlidir (Lozzio & Lozzio, 1975: 321).

Hücreler %10 fetal bovin serum, %1 L-glutamat ve %1 penisilin/streptomisin içeren RPMI-1640 besiyerinde, %5 CO₂ içeren 37 °C'deki inkübatörde kültüre edildi.

Hücre sayımı için 5 mL hücre süspansiyonu 1200 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi, süpernatant uzaklaştırıldı ve pellet 3 mL ortam içinde yeniden süspanse edildi. Daha sonra 50 µL hücre süspansiyonu ile 50 µL tripan mavisini karıştırıldı. Bu karışımdan 10 µL Thoma lamına alınarak hücre sayımı yapıldı. Mililitre başına hücre sayısı şu formül ile hesaplandı: Hücre/mL = Hücre sayısı × 10⁴ × 2 (dilüsyon katsayısı).

Hücre canlılığının değerlendirilmesi için 25000 hücre/mL yoğunluğunda süspansiyon hazırlandı ve opak duvarlı 96 kuyucuklu plakalara ekildi. Azasitidin, desitabin, sitarabin (ara-C) ve CAPE farklı dozlarda eklendi ve hücreler 37 °C'de 4 gün inkübe edildi. Sonrasında her kuyucuğa 50 µL CellTiter-Glo® çözeltisi eklendi ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. Hücre canlılığı, üretici firmanın önerileri doğrultusunda CellTiter-Glo® lüminesans testi ile değerlendirildi.

İstatistiksel analizler GraphPad Prism v6 yazılımı ile yapıldı. Karşılaştırmalarda Student t-testi kullanıldı ve p<0.05 anlamlı kabul edildi.

Bulgular

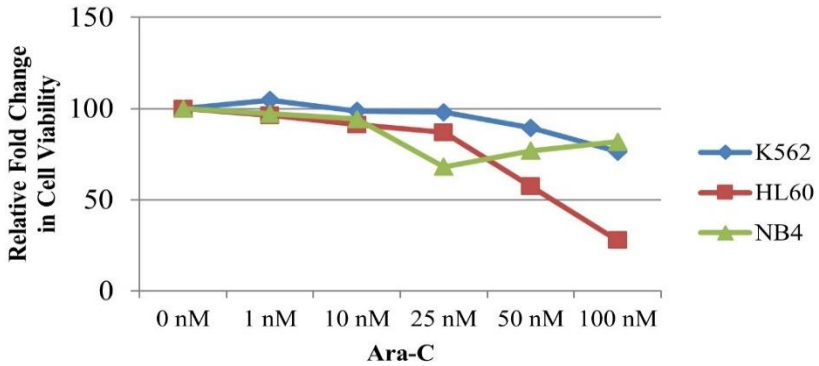
Çalışmada ilk olarak ara-C uygulamasının hücre canlılığı üzerine etkisi incelendi (Tablo 1). K562 hücrelerinde 100 nM ara-C uygulamasından sonra canlılık %76,40, NB4 hücrelerinde %81,6 olarak belirlendi. HL60 hücrelerinde ise 50 nM konsantrasyonda canlılık %57,39 düzeyine indi. Bu bulgular, özellikle K562 hattında

olmak üzere tüm hücre serilerinin Ara-C'ye karşı belirgin direnç geliştirdiğini ortaya koydu (Şekil 1).

Tablo 1. Farklı Ara-C Dozlarında Hücre Canlılığı

Ara-C Konsantrasyonu	Hücre Hatları % Canlılık $\pm$ SD (Standart Sapma)		
	K562	HL60	NB4
0 nM	100 $\pm$ 3.57	100.00 $\pm$ 12.09	100 $\pm$ 21.86
1 nM	104.64 $\pm$ 10.08	96.27 $\pm$ 38.24	97.16 $\pm$ 2.69
10 nM	98.68 $\pm$ 14.39	91.14 $\pm$ 30.88	94.33 $\pm$ 3.97
25 nM	97.99 $\pm$ 0.71	86.94 $\pm$ 6.66	68.14 $\pm$ 12.42
50 nM	89.45 $\pm$ 5.30	57.39 $\pm$ 6.09	76.89 $\pm$ 10.47
100 nM	76.40 $\pm$ 4.03	27.81 $\pm$ 3.06	81.86 $\pm$ 20.14

Şekil 1. Ara-C Dozlarına Bağlı Hücre Canlılığı Değişimi (Rölatif Kat Artışı)

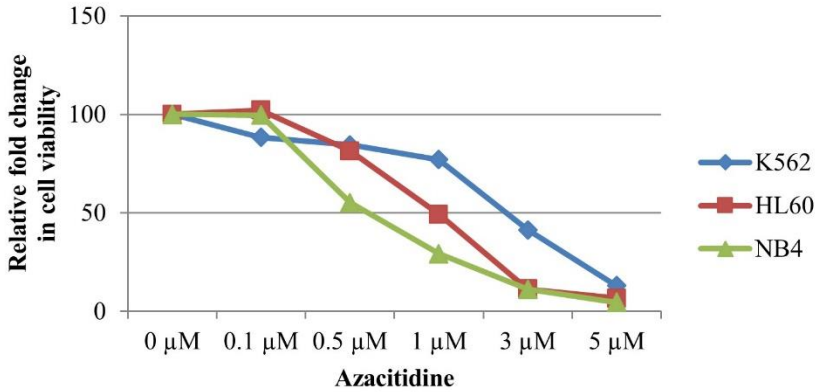


Azasitidin uygulamasında 1 μ M konsantrasyon, HL60 ve NB4 hücrelerinde canlılığı sırasıyla %49,29 ve %29,2'ye düşürürken, K562 hücrelerinde %77,01 düzeyinde korundu (Tablo 2). Böylece Ara-C sonuçlarına benzer biçimde K562 hücrelerinin azasitidine karşı da daha dirençli olduğu saptandı (Şekil 2).

Tablo 2. Farklı Azasitidin Dozlarında Hücre Canlılığı

Azasitidin Konsantrasyonu	Hücre Hatları % Canlılık $\pm$ SD		
	K562	HL60	NB4
0 μ M	100 $\pm$ 8.97	100 $\pm$ 1.27	100 $\pm$ 47.34
0.1 μ M	88.34 $\pm$ 1.56	102.14 $\pm$ 13.07	99.63 $\pm$ 60.86
0.5 μ M	84.56 $\pm$ 8.67	81.32 $\pm$ 21.59	55.20 $\pm$ 26.06
1 μ M	77.01 $\pm$ 7.73	49.29 $\pm$ 6.10	29.20 $\pm$ 8.39
3 μ M	41.37 $\pm$ 12.45	11.25 $\pm$ 1.21	11.09 $\pm$ 2.45
5 μ M	12.98 $\pm$ 3.71	6.60 $\pm$ 0.48	4.54 $\pm$ 0.57

Şekil 2. Azasitidin Dozlarına Bağlı Hücre Canlılığı Değişimi (Rölatif Kat Artışı)

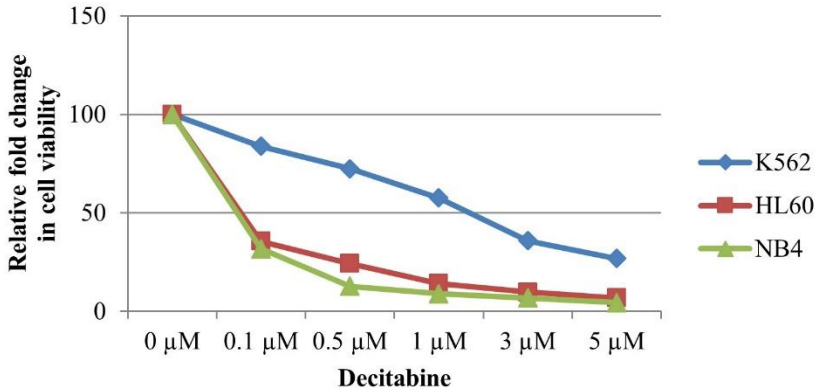


Desitabin uygulamalarında da benzer bir eğilim gözlemlendi. 0,5 μ M dozunda HL60 ve NB4 hücrelerindeki canlılık sırasıyla %24,26 ve %12,71'e kadar azalırken, K562 hücrelerinde %72,30 düzeyinde kaldı (Tablo 3). Daha düşük doz olan 0,1 μ M desitabin, HL60 ve NB4'te %50'nin üzerinde canlılık azalmasına yol açarken, K562 hücre hattı bu koşullarda da direnç gösterdi (Şekil 3).

Tablo 3. Farklı Desitabin Dozlarında Hücre Canlılığı

Desitabin Konsantrasyonu	Hücre Hatları % Canlılık $\pm$ SD		
	K562	HL60	NB4
0 μ M	100.00 $\pm$ 16.77	100.00 $\pm$ 14.96	100.00 $\pm$ 11.68
0.1 μ M	83.73 $\pm$ 20.15	35.49 $\pm$ 10.41	31.70 $\pm$ 6.98
0.5 μ M	72.30 $\pm$ 10.98	24.26 $\pm$ 1.97	12.71 $\pm$ 4.10
1 μ M	57.49 $\pm$ 17.79	14.06 $\pm$ 4.11	8.89 $\pm$ 2.56
3 μ M	35.81 $\pm$ 12.47	9.75 $\pm$ 1.88	6.84 $\pm$ 1.34
5 μ M	26.82 $\pm$ 6.91	6.84 $\pm$ 0.55	4.34 $\pm$ 0.47

Şekil 3. Desitabin Dozlarına Bağlı Hücre Canlılığı Değişimi (Rölatif Kat Artışı)

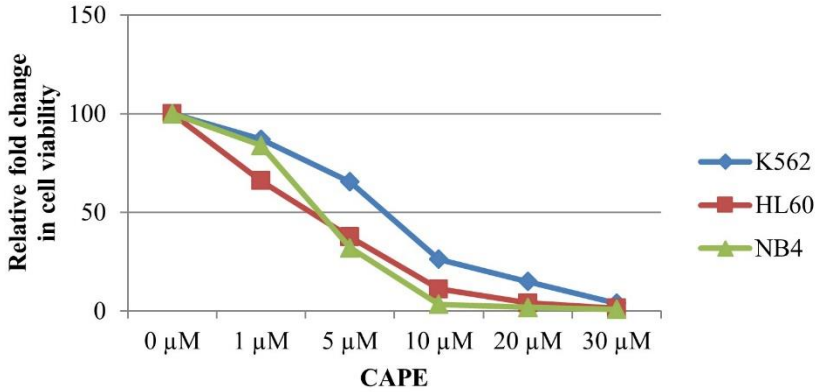


CAPE tedavisi tüm hücre serilerinde canlılığı anlamlı ölçüde azalttı. 5 μ M konsantrasyonda K562’de canlılık %65,41 iken, HL60 ve NB4 hücrelerinde sırasıyla %37,54 ve %32,51 olarak saptandı (Tablo 4). Bu konsantrasyon, HL60 ve NB4 hücrelerinde %50’nin üzerinde azalma sağlarken, K562’de benzer bir etkinin ortaya çıkması için yaklaşık 7–8 μ M düzeylerine ihtiyaç duyuldu (Şekil 4). Bu nedenle 5 μ M CAPE, kombine ilaç deneyleri için uygun bir konsantrasyon olarak kabul edildi.

Tablo 4. CAPE Dozlarına Bağlı Hücre Canlılığı

CAPE Konsantrasyonu	Hücre Hatları % Canlılık $\pm$ SD		
	K562	HL60	NB4
0 μ M	100 $\pm$ 23.75	100 $\pm$ 7.86	100 $\pm$ 45.71
1 μ M	87.03 $\pm$ 13.25	65.98 $\pm$ 16.82	83.86 $\pm$ 19.01
5 μ M	65.41 $\pm$ 10.45	37.54 $\pm$ 4.87	32.01 $\pm$ 0.79
10 μ M	26.21 $\pm$ 5.68	11.14 $\pm$ 1.62	3.41 $\pm$ 0.14
20 μ M	14.97 $\pm$ 0.96	4.13 $\pm$ 0.07	1.89 $\pm$ 0.68
30 μ M	3.90 $\pm$ 0.19	1.49 $\pm$ 0.23	0.82 $\pm$ 0.08

Şekil 4. Farklı Dozlarda CAPE'in Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi



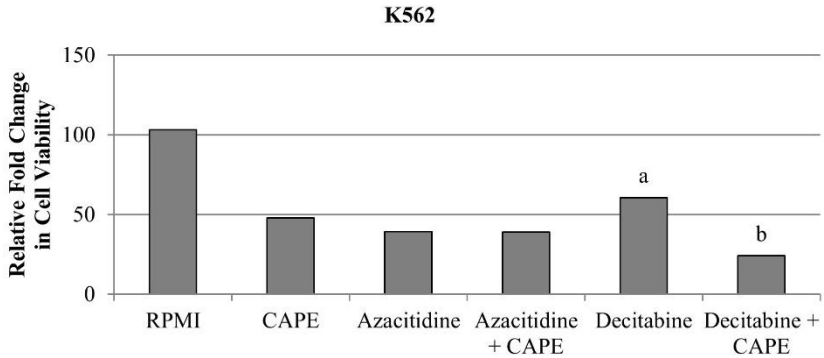
Dirençli olduğu bulunan K562 hücre hattında desitabin ile CAPE birlikte uygulandığında canlılık %60,65'ten %23,99'a düştü ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Buna karşın, azasitidin ile CAPE kombinasyonu benzer bir etki göstermedi (Tablo 5). Desitabin ile CAPE'nin birlikte kullanımı, desitabin tek başına uygulandığında elde edilenden daha belirgin bir canlılık azalması oluşturdu (Şekil 5).

Tablo 5. Sitozin Nükleozid Analogları ile CAPE'in Birlikte Kullanımının Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi

	K562 Hücre Hattı % Canlılık $\pm$ SD
RPMI	103.07 $\pm$ 5.74
CAPE (5 μ M)	47.88 $\pm$ 3.29
Azasitidin (1 μ M)	39.23 $\pm$ 14.46
Azasitidin + CAPE	38.99 $\pm$ 7.69
Desitabin (1 μ M)	60.65 $\pm$ 1.20 ^a
Desitabin + CAPE	23.99 $\pm$ 3.44 ^b

a-b: $p < 0.05$

Şekil 5. K562 Hücre Serisinde CAPE'nin Azasitidin ve Desitabine Direnç Üzerine Etkisi



Ara-C'ye dirençli hücrelerde CAPE eşliğinde tedavi canlılık üzerinde dramatik bir azalma yarattı. K562 hücrelerinde canlılık %66,30'dan %16,88'e, HL60 hücrelerinde ise %83,24'ten %10,05'e geriledi (Şekil 6–7). NB4 hücrelerinde Ara-C tek başına anlamlı bir etki oluşturmazken, CAPE ile birlikte uygulandığında canlılık %42,72'ye düştü (Tablo 6, Şekil 8). Bu azalmalar Ara-C tekli tedavi

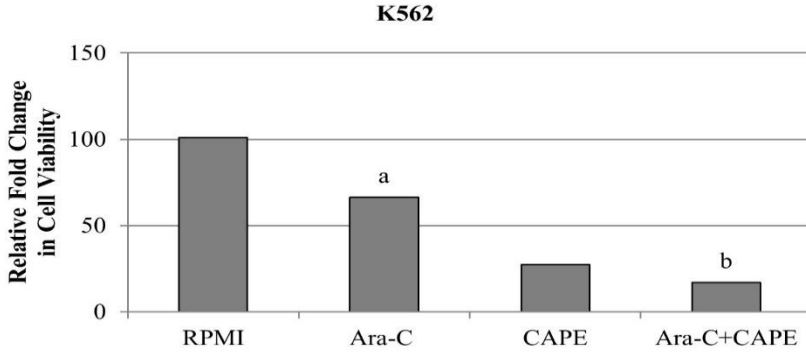
ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p<0.01$; $p<0.001$ ve $p<0.05$).

Tablo 6. CAPE ve Ara-C Kombinasyonunun Hücre Canlılığına Etkisi

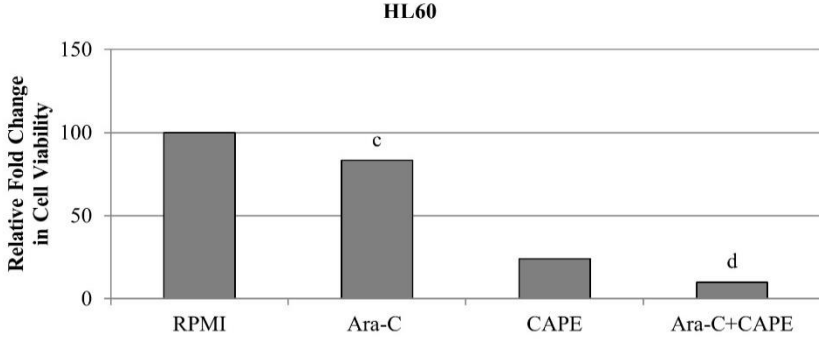
	Hücre Hatları % Canlılık $\pm$ SD		
	K562	HL60	NB4
RPMI	101.15 $\pm$ 4.51	100.00 $\pm$ 10.16	100.04 $\pm$ 18.73
Ara-C (25 nM)	66.30 $\pm$ 1.27 ^a	83.24 $\pm$ 13.09 ^c	122.25 $\pm$ 31.7 ^e
CAPE (5 μ M)	27.44 $\pm$ 2.54	23.91 $\pm$ 1.52	76.28 $\pm$ 5.18
Ara-C+CAPE	16.88 $\pm$ 3.62 ^b	10.05 $\pm$ 1.55 ^d	42.72 $\pm$ 5.05 ^f

a-b, c-d: $p<0.001$; e-f: $p<0.05$

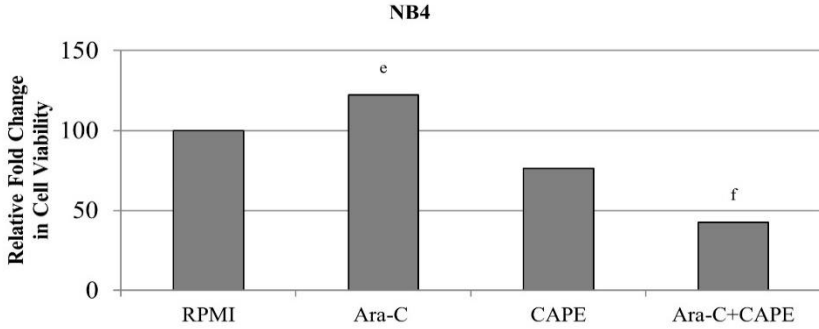
Şekil 6. K562 Hücre Serisinde Ara-C ve CAPE'in Kombine Kullanımının Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi



Şekil 7. HL60 Hücre Serisinde Ara-C ve CAPE'in Kombine Kullanımının Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi



Şekil 8. NB4 Hücre Serisinde Ara-C ve CAPE'in Kombine Kullanımının Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi



Tartışma

Akut myeloid lösemi (AML), genetik ve epigenetik değişiklikler sonucu kemik iliği, kan ve diğer dokularda blast hücrelerinin birikimi ile karakterize ciddi bir hematolojik malignitedir. Hastaların yaklaşık %30'u genç erişkinlerde, %50'si

ise ileri yaş grubunda uygulanan tedavilere yanıt verememektedir (Shipley & Butera, 2009: 649). Goldie ve Coldman dirençli hücrelerin tanı anında mevcut olduğunu, tedaviye duyarlı hücreler elimine edildikçe bu klonların çoğaldığını ve hastalık seyrini belirlediğini göstermiştir (Goldie & Coldman, 1983: 923). Tedaviye yanıtızlığın birçok hasta ve hastalık ilişkili faktöre bağı olduğı bilinmekle birlikte, ilaç direnci başarısızlığın en önemli nedenlerinden biri olarak öne çıkmaktadır (Mesa & Tibes, 2012: 1496).

Ara-C, AML tedavisinde yaygın olarak kullanılan nükleozid analoglarından biridir. DNA polimeraz inhibisyonu veya DNA zincirine bağlanarak uzamayı durdurması aracılığıyla etki gösterir (Johnson, 2001: 929). Direnç mekanizmalarının tam olarak açıklanamamış olmasına karşın, ilacın aktif metaboliti olan ara-CTP düzeyini azaltan mekanizmaların temel rol oynadığı bildirilmektedir. HL60 ve K562'nin de yer aldığı beş farklı hücre hattında yapılan bir çalışmada, ara-C'ye dirençli alt klonların varlığı saptanmış; membran taşıyıcı kapasitelerinde azalma, fosforilasyonda hız kısıtlayıcı enzim olan deoksistidin kinaz (DCK) aktivitesinde düşüş ve defosforilasyondan sorumlu sitozolik nükleotidaz-II (CN-II) aktivitesinde artış belirlenmiştir. Özellikle ara-C'nin hücre içine girişini sağlayan hENT1 taşıyıcısındaki azalma, DCK aktivitesindeki düşüş ve CN-II aktivitesindeki artış direnç gelişiminde kritik faktörler olarak tanımlanmıştır (Negoro & ark., 2011: 911).

Son yıllarda AML tedavisinde azasitidin ve desitabin gibi sitozin nükleozid analogları da kullanılmaya başlanmıştır. Bu ajanlar düşük dozlarda DNA'ya entegre olarak DNA metiltransferazları geri dönüşsüz şekilde bağlar, böylece hipometilasyon oluşturarak tümör baskılayıcı genlerin yeniden aktivasyonuna yol açar (Jones & Baylin, 2002: 415; Lübbert & Minden, 2005: 38; Yoo & Jones, 2006:

37). Bu mekanizma sayesinde yoğun tedavi alamayan hastalarda mortalite ve morbiditede azalma sağlanabilmektedir.

Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu şekilde HL60, NB4 ve özellikle K562 hücrelerinin Ara-C'ye dirençli olduğu görüldü. Bcr/abl füzyon geninin eksprese edildiği K562 hattındaki direnç, Philadelphia kromozomu pozitif akut lösemilerde tedaviye yanıtıslığı açıklayan mekanizma ile tutarlıdır. Nitekim U937 ve HL60 hücrelerinde Ara-C sonrası apoptoza özgü morfolojik değişiklikler rapor edilirken, K562'de benzer bulgulara rastlanmamıştır (Akiyama & ark., 1999: 774).

Azasitidin ve desitabin tedavilerine karşı HL60 ve NB4 hücrelerinde belirgin canlılık azalması gözlenirken, K562 hattında direnç devam etmiştir. Özellikle desitabinin düşük dozlarda daha güçlü etkinlik göstermesi literatürle uyumludur. Hollenbach ve ark., HL60 ve THP-1 hücrelerinde yaptıkları karşılaştırmada her iki ajanın da DNMT-1 yıkımına, DNA hipometilasyonuna ve DNA hasarına yol açtığını, ancak bu etkinin desitabinle 2–10 kat daha düşük konsantrasyonlarda elde edildiğini göstermiştir. Bununla birlikte azasitidin 1 µM üzerindeki dozlarda daha etkili olduğu, total protein sentezini azalttığı, RNA'ya inkorporasyonu nedeniyle hücre döngüsü üzerinde farklı etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Hollenbach & ark., 2010: e9001).

Çalışmamızda doğal bir bileşik olan propolisin etkin maddesi CAPE'nin, HL60 ve NB4 hücrelerinde 5 µM gibi düşük konsantrasyonlarda, K562'de ise 7–8 µM düzeylerinde canlılığı azalttığı belirlendi. Ara-C, azasitidin ve desitabine dirençli K562 hattında dahi CAPE'nin etkili olması, farklı mekanizmalar aracılığıyla dirençli hücrelerde de etkinlik gösterebileceğini düşündürdü. Literatürde CAPE'nin glioma, meme kanseri, melanom ve T hücreli ALL dahil farklı hücre hatlarında düşük mikromolar konsantrasyonlarda antiproliferatif etki gösterdiği rapor edilmiştir (Avci & ark., 2011: 41; Brudzynski & Carlone, 2004: 389; Lee &

ark., 2003: 2281; Rossi & ark., 2002: 530). Bu veriler CAPE'nin farklı yollar üzerinden antikanser etki gösterebileceğini desteklemektedir.

Bizim bulgularımızda da CAPE'nin Ara-C, azasitidin ve desitabin ile birlikte kullanılması, özellikle K562'de desitabin kombinasyonu dışında tüm dirençli hücre hatlarında canlılık azalmasını belirgin şekilde artırdı. Literatürde CAPE'nin bu ilaçlarla kombinasyonuna ilişkin çalışmaya rastlanmamıştır. Elde edilen sinerjik etkinin apoptoz yolları, antioksidan mekanizmalar ve çoklu ilaç direnç genleri üzerindeki etkilerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim CAPE'nin HL60 hücrelerinde DNA fragmentasyonu, bcl-2 baskılanması, bax artışı ve kaspaz-3 aktivasyonu yoluyla apoptoz indüklediği; glutatyon düzeylerini azaltarak proliferasyonu engellediği ve NF- κ B yollarını inhibe ettiği gösterilmiştir (Chen, Shiao & Wang, 2001: 143; Son & Lewis, 2002: 468; Lee & ark., 2008: 987). Ayrıca CAPE'nin MDR1 ekspresyonunu baskıladığı ve bu yolla kemoterapiye duyarlılığı artırabileceği de rapor edilmiştir (Omene, Wu & Frenkel, 2012: 1279).

Desitabin ile CAPE kombinasyonu dirençli hücrelerde belirgin bir duyarlılık sağlarken, azasitidin ile aynı etkinin görülmemesi bu iki ajanın mekanizmalarının farklı olduğuna işaret etmektedir. Desitabin ve Ara-C'nin hücre içinde benzer yollarla aktif metabolitlerine dönüştüğü, DCK aktivitesine bağımlı oldukları ve özellikle bcr/abl füzyonu ile tirozin kinaz aktivitesi artmış K562 hattında direnç gelişiminin daha belirgin olduğu bilinmektedir (Qin & ark., 2007: 4225). Buna karşın azasitidine direnç gelişiminde G2-M kontrol noktasının yeniden yapılanması ve UCK-2 mutasyonunun rol oynadığı gösterilmiştir (Sripayap & ark., 2014: 294). Çalışmamızda CAPE'nin bu farklı mekanizmalara etki ederek direnç gelişimini engelleyebileceği ve özellikle tirozin kinaz aktivitesi artmış hücrelerde ilaca duyarlılığı artırabileceği öne sürülmektedir.

Sonuç olarak, CAPE'nin HL60, NB4 ve K562 hücre serilerinde proliferasyonu baskıladığı, tek başına veya özellikle desitabin ve Ara-C ile birlikte kullanıldığında direnç mekanizmalarını kırarak tedavi etkinliğini artırdığı saptandı. Bu veriler, CAPE'nin gelecekte dirençli lösemilerde alternatif tedavi stratejilerinde değerlendirilebilecek güçlü bir aday olabileceğini göstermektedir.

Kaynakça

- Akiyama, H., Suzuki, K., Ino, T., Katsuda, I. & Hirano, M. (1999). Evaluation of cytarabine-induced apoptosis in leukemic cell lines: Utility of annexin V method. *Rinsho Byori*, 47 (8), 774–779.
- Avci, C., Gunduz, C., Baran, Y., Sahin, F., Yilmaz, S., Dogan, Z. & Turgut, M. (2011). Caffeic acid phenethyl ester triggers apoptosis through induction of loss of mitochondrial membrane potential in CCRF-CEM cells. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 137 (1), 41–47.
- Bhimani, R., Troll, W., Grunberger, D. & Frenk, K. (1993). Inhibition of oxidative stress in HeLa cells by chemopreventive agents. *Cancer Research*, 53 (19), 4528–4533.
- Borrelli, F., Izzo, A., Di Carlo, G., Maffia, P., Russo, A., Maiello, F. & Capasso, F. (2002). Effect of a propolis extract and caffeic acid phenethyl ester on formation of aberrant crypt foci and tumors in the rat colon. *Fitoterapia*, 73 (1), 38–43.
- Brudzynski, K. & Carlone, R. (2004). Stage-dependent modulation of limb regeneration by caffeic acid phenethyl ester (CAPE): Immunocytochemical evidence of a CAPE-evoked delay in mesenchyme formation and limb regeneration. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 301 (5), 389–400.
- Chen, Y., Shiao, M. & Wang, S. (2001). The antioxidant caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis associated with selective scavenging of hydrogen peroxide in human leukemic HL-60 cells. *Anticancer Drugs*, 12 (2), 143–149.

- Chen, Y., Shiao, M., Hsu, M., Tsai, T. & Wang, S. (2001). Effect of caffeic acid phenethyl ester, an antioxidant from propolis, on inducing apoptosis in human leukemic HL-60 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (11), 5615–5619.
- Gallagher, R., Collins, S., Trujillo, J., McCredie, K., Ahearn, M., Tsai, S. & Metzgar, R. (1979). Characterization of the continuous, differentiating myeloid cell line (HL-60) from a patient with acute promyelocytic leukemia. *Blood*, 54 (3), 713–733.
- Goldie, J. & Coldman, A. (1983). Quantitative model for multiple levels of drug resistance in clinical tumors. *Cancer Treatment Reports*, 67 (10), 923–931.
- Hollenbach, P., Nguyen, A., Brady, H., Williams, M., Ning, Y., Richard, N. & McDevitt, M. (2010). A comparison of azacitidine and decitabine activities in acute myeloid leukemia cell lines. *PLoS ONE*, 5 (2), e9001.
- Johnson, S. (2001). Nucleoside analogues in the treatment of haematological malignancies. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 2 (6), 929–943.
- Jones, P. & Baylin, S. (2002). The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nature Reviews Genetics*, 3 (6), 415–428.
- Lanotte, M., Martin-Thouvenin, V., Najman, S., Balerini, P., Valensi, F. & Berger, R. (1991). NB4, a maturation inducible cell line with t(15;17) marker isolated from a human acute promyelocytic leukemia (M3). *Blood*, 77 (5), 1080–1086.
- Lee, Y., Kao, C., Tsai, P., Tsai, T., Chiou, S., Wu, W. & Chiou, J. (2008). Caffeic acid phenethyl ester preferentially enhanced radiosensitizing and increased oxidative stress in

- medulloblastoma cell line. *Child's Nervous System*, 24 (9), 987–994.
- Lee, Y., Kuo, H., Chu, C., Wang, C., Lin, W. & Tseng, T. (2003). Involvement of tumor suppressor protein p53 and p38 MAPK in caffeic acid phenethyl ester-induced apoptosis of C6 glioma cells. *Biochemical Pharmacology*, 66 (12), 2281–2289.
- Lozzio, C. & Lozzio, B. (1975). Human chronic myelogenous leukemia cell-line with positive Philadelphia chromosome. *Blood*, 45 (3), 321–334.
- Lübbert, M. & Minden, M. (2005). Decitabine in acute myeloid leukemia. *Seminars in Hematology*, 42 (3), 38-42.
- Mesa, R. & Tibes, R. (2012). MPN blast phase: Clinical challenge and assessing response. *Leukemia Research*, 36 (12), 1496–1497.
- Negoro, E., Yamauchi, T., Urasaki, Y., Nishi, R., Hori, H. & Ueda, T. (2011). Characterization of cytarabine-resistant leukemic cell lines established from five different blood cell lineages using gene expression and proteomic analyses. *International Journal of Oncology*, 38 (4), 911–919.
- Omene, C., Wu, J. & Frenkel, K. (2012). Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) derived from propolis, a honeybee product, inhibits growth of breast cancer stem cells. *Investigational New Drugs*, 30 (4), 1279-1288.
- Qin, T., Youssef, E., Jelinek, J., Chen, R., Yang, A., Garcia-Manero, G. & Issa, J. (2007). Effect of cytarabine and decitabine in combination in human leukemic cell lines. *Clinical Cancer Research*, 13 (14), 4225-4232.

- Rossi, A., Ligresti, A., Longo, R., Russo, A., Borrelli, F. & Sautebin, L. (2002). The inhibitory effect of propolis and caffeic acid phenethyl ester on cyclooxygenase activity in J774 macrophages. *Phytomedicine*, 9 (6), 530–535.
- Shipley, J. & Butera, J. (2009). Acute myelogenous leukemia. *Experimental Hematology*, 37 (6), 649-658.
- Son, S. & Lewis, B. (2002). Free radical scavenging and antioxidative activity of caffeic acid amide and ester analogues: structure-activity relationship. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (3), 468-472.
- Sripayap, P., Nagai, T., Uesawa, M., Kobayashi, H., Tsukahara, T., Ohmine, K. & Suzumiya, J. (2014). Mechanisms of resistance to azacitidine in human leukemia cell lines. *Experimental Hematology*, 42 (4), 294–306.
- Wood, P., Burgess, R., MacGregor, A. & Yin, J. (1994). P-glycoprotein expression on acute myeloid leukaemia blast cells at diagnosis predicts response to chemotherapy and survival. *British Journal of Haematology*, 87 (3), 509-514.
- Yoo, C. & Jones, P. (2006). Epigenetic therapy of cancer: Past, present and future. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5 (1), 37-50.

