T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KİSTİK FİBROZİS HASTALARINDA TERDE KLOR MİKTARI TAYİN YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. TUNCAY SEYREKEL

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2014



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KİSTİK FİBROZİS HASTALARINDA TERDE KLOR MİKTARI TAYİN YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. TUNCAY SEYREKEL

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. GONCAGÜL HAKLAR

İSTANBUL 2014

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın temel amacı, diğer tüm araştırmalar gibi, bilime katkıda bulunmak, bu uzun ve zorlu yola bir kaldırım taşı eklemektir. Bu sebeple gerek dünyada gerek ülkemizde sık görülen ve toplumsal bir sorun haline gelmiş olan bir hastalığı (kistik fibrozis) tez konusu olarak seçtik. Yapılmış olan birçok araştırmadan farklı olarak, tanı sürecini klinikle koordine edebilmek amacıyla hastanemiz Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Göğüs Hastalıkları Bilim Dalı ile birlikte çalıştık.

Bu çalışmaya katkıda bulunan başta değerli hocam, hoşgörülü, güler yüzlü yaklaşımıyla sürekli bana yol gösteren, desteğini hiç esirgemeyen ve bu zorlu süreci daha kolay geçirmemi sağlayan Prof. Dr. Goncagül HAKLAR olmak üzere Prof. Dr. Önder ŞİRİKÇİ'ye teşekkür ederim. Çocuk Göğüs Hastalıkları Bilim Dalı Bölümü'nden Prof. Dr. Bülent KARADAĞ'a da katkısından dolayı teşekkür ederim.

Bilgi birikimleri ve mesleki deneyimlerini aktarmak suretiyle gerekli donanımı edinmemi ve verimli bir eğitim süreci geçirmemi sağlayan hocalarım Prof. Dr. Nesrin KARTAL ÖZER'e, Prof. Dr. Ahmet Süha YALÇIN'a, Doç. Dr. Betül KARADEMİR'e ve Yrd. Doç. Dr. Saime BATIREL'e de emekleri ve katkıları için teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca mesai arkadaşlarım Dr. Pınar ÖZDİLEK, Dr. Medeni ARPA, Dr. Özgür BAYKAN, Dr. Ali YAMAN ile çalışmama sponsor olan UTSAT Şirketi'ne ve bizzat işgücü ile katkıda bulunan şirket çalışanlarından Erman BAĞLARBAŞI ve Emin AKI'ya, Çocuk Göğüs Hastalıkları Bilim Dalı Sekreteri Sibel SÖNMEZ ve aynı bölüm personeli Mehmet Bey'e de teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ i
İÇİNDEKİLER ii
ÖZET iv
ABSTRACT v
ŞEKİLLER DİZİNİ vi
TABLOLAR DİZİNİ vii
KISALTMALAR: viii
1. GİRİŞ ve AMAÇ: 1
2. GENEL BİLGİ: 3
2.1. Kistik fibrozis hastalığının tarihçesi 3
2.2. Kistik fibrozis geni ve mutasyon alt tipleri 4
2.3. Etiyopatogenez 5
2.3.1. Solunum sistemi hastalıkları ve patogenezi 8
2.3.2. Gastrointestinal sistem hastalıkları ve patogenezi: 9
2.3.3. Üreme sistemi hastalıkları ve patogenezi: 11
2.3.4. Beslenme bozukluğu ve enerji dengesizliğinin patogenezi: 11
2.3.5. Böbrek hastalıkları ve patogenezi: 12
2.4. Klinik bulgular: 12
2.5. Tanı : 13
2.5.1 Yenidoğan Tarama Programı: 15
2.5.2. Ter Testi : 16
2.5.3. Mutasyon Analizi: 17
2.6. Tedavi : 18
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER: 20
3.1. Hasta ve kontrol gruplarının oluşturulması: 20

3.1.1. Çalışmaya alınan hasta grubunun özellikleri:…… 20

3.1.2. Çalışmaya alınan kontrol grubunun özellikleri:.....21

3.1.3. Çalışmaya alınmama kriterleri:.....21

3.2. Kullanılan yöntemler :.....21

3.3. İstatistiksel değerlendirme.....26

4. BULGULAR:.....27

5. TARTIŞMA ve SONUÇ:.....35

6. KAYNAKLAR:.....41

ÖZET

Kistik Fibrozis (cystic fibrosis, CF) çoklu organ etkilenimi gösteren kalıtımsal pediatrik bir hastalıktır. CF tanısı klinik olarak fenotipik özelliklerin varlığına ve kistik fibrozis transmembran regülatör (cystic fibrosis transmembrane regulator, CFTR) disfonksiyonunun kanıtlanmasına dayanmaktadır. CFTR disfonksiyonu, CF gen mutasyonunun belirlenmesi veya iki farklı seferde ter klor konsantrasyonunun yüksek olarak ölçülmesi ile gösterilebilir. Ter iletkenliğinin ölçülmesi, kolay uygulaması ve daha az örnek hacmine ihtiyaç duyması ile alternatif bir yöntem olabilir. Amacımız, ter iletkenlik ölçümlerinin tanısal etkinliğini değerlendirmek ve ter klor ölçüm yöntemleriyle karşılaştırmaktır.

Çalışma, Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Pediatrik Göğüs Hastalıkları ve Biyokimya Laboratuvarında yürütüldü. Çalışmaya 162 vaka (62 CF ve 100 kontrol) dahil edildi. Gruplar arasında anlamlı bir cinsiyet farklılığı gözlenmedi (CF grubunda %50.7 erkek ve kontrol grubunda % 43 erkek, P=0.303). CF grubu içi medyan yaş (aralık) 8 (3.25-14) yıl ve kontrol grubu için 25 (4-34.25) yıl olarak hesaplandı (P<0.001). Ter örneklerinde Gibson-Cooke yöntemi ile kantitatif pilokarpin iyontoforezi ile toplama sonrası klor konsantrasyonları Schales & Schales yöntemiyle manuel titrasyon ile, veya Makroduct coil sistemi ile toplama sonrası Sherwood Kloridometre ile titrimetik klor ölçümü veya 'kulometrik end-point' yöntemi ile iletkenlik ölçümü (CF Δ Collection System, UTSAT/Turkey) olarak gerçekleştirildi. İstatistiksel analizler MedCalc 11.6.0 ile yapıldı.

Çalışma-içi ve çalışmalararası kesinlikler 40,70 ve 130 mmol/L Cl- konsantrasyonları içeren ticari kontrol örnekleri ile gerçekleştirildi. Çalışma-içi kesinlikler sırasıyla manuel titrasyon için %10.3, %8.9 ve %10.8, Sherwood kloridometre için %7.57, %6.77 ve %6.41, ve konduktivite ölçümleri için %0.54, %0.21, and %0.47 olarak hesaplandı. Çalışmalararası kesinlikler sırasıyla manuel titrasyon için %4.19, %6.01 ve %5.50, Sherwood kloridometre %6.16 , %6.78 ve% 7.06, ve konduktivite ölçümleri için %2.72, %2.13 ve %1.08 olarak belirlendi. Doğruluk çalışmlarında manuel ile % 10'dan fazla olan hata, konduktivite ölcümleri için %4'ün altında idi. ROC analizinde Sherwood kloridometre ölçümlerinde 61 mmol/L eşik değeri için %95 duyarlılık and 100% hassaslık elde edildi (AUC: 0.997; %95% CI: 0.972-1.000; p<0.001). Benzer şekilde, konduktivite ölçümleri için 54.1 mmol/L eşik değeri için %96,67 duyarlılık ve %100 özgüllük belirlerlendi (AUC: 0.9994; %95% CI: 0.975-1.000; p<0.001).

Sonuç olarak, çalışmamız konduktivite ölçümlerinin tanıda kantitatif klor ölçümleri kadar güvenilir olabileceğini ve tanısal amaçla kullanma potansiyelinin değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kistik fibrozis, Ter klor ölçümü

ABSTRACT

Cystic fibrosis (CF) is an inherited pediatric disease with multiorgan manifestations. CF diagnosis is based on the presence of clinical phenotypic features of the disease and the evidence of cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) dysfunction. The dysfunctional CFTR can be demonstrated by identification of mutations of the CF gene, abnormal potential difference, or elevated sweat chloride concentrations on two different occasions. The measurement of sweat conductivity is an altenative method as it is easier to perform and requires a smaller sample volume. Our aim was to assess the diagnostic efficiency of sweat conductivity values and compare it with sweat chloride concentration measurements.

This study was carried out at the Pediatric Pulmonology Unit and Biochemistry Laboratory of Marmara University Pendik Research and Training Hospital. A total of 162 cases (62 CF and 100 controls) were enrolled. There was no statistically significant gender difference between groups (50.7% male in CF group and 43% male in control group, P=0.303). Median age (range) for CF group was 8 yrs (3.25-14) and for control group was 25 yrs (4-34.25) (P<0.001). Sweat was collected either with quantitative pilocarpine iontophoresis (QPI) by Gibson-Cooke method followed by chloride concentration measurement by manual titration according to Schales & Schales, or by Macroduct coil system followed either by titrimetric chloride measurement by Sherwood Chloridometer or conductivity measurement by a coulometric end point method (CF Δ Collection System, UTSAT/Turkey). Statistical analyses were performed using MedCalc 11.6.0.

Within-run and between-run imprecisions were determined using commercially available control samples with Cl- concentrations of 40, 70 ve 130 mmol/L. Within-run imprecisions were 10.3%, 8.9%, and 10.8% for manual titration, 7.57%, 6.77%, and 6.41 % for Sherwood Chloridometer, and 0.54%, 0.21%, and 0.47% for conductivity measurement, respectively. Between-run imprecisions were 4.19%, 6.01%, and 5.50 % for manual titration, 6.16 %, 6.78 %, and 7.06 % for Sherwood Chloridometer, and 2.72%, 2.13%, and 1.08% for conductivity measurement, respectively. Bias studies revealed more than 10% error for manual method, where the error values were less than 4 % for conductivity measurements. In the ROC analysis Sherwood Chloridometer measurements resulted in 95% sensitivity and 100% specificity for a cut-off value of 61 mmol/L (AUC: 0.997; %95% CI: 0.972-1.000; p<0.001). Likewise, conductivity measurements resulted in 96,67% sensitivity and 100%

specificity for a cut-off value of 54.1 mmol/L (AUC: 0.9994; %95% CI: 0.975-1.000; p<0.001).
In conclusion, our study suggests that conductivity might be as reliable as quantitative sweat chloride analysis to diagnose or exclude CF, and thus its potential as a definitive diagnostic tool for CF should be considered.

Key Words: Cystic fibrosis, Sweat chloride measurment

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Ortalama yaşam süresinin yıllara göre değişimi 17

Şekil 2. Kistik fibrozis sistem belirtileri 20

Şekil 3 KFTR defektine bağlı klor kanalı disfonksiyonu 21

Şekil 4. KF hastalığı tanısı için izlenecek yolu gösteren algoritma 27

Şekil 5. İyontoforez cihazı 31

Şekil 6. Terin kollektörlerle toplanması 31

Şekil 7. Toplama işlemi tamamlanmış kollektör.....32

Şekil 8. Manuel yöntem ile kloridimetrenin tüm gruplar için çizdirilen Bland-Altman grafiği 38

Şekil 9. Manuel yöntem ile kulometrik 'end point' yöntemin tüm gruplar için çizdirilen Bland-Altman grafiği.....39

Şekil 10. Kloridimetre ile kulometrik 'end point' yöntemin tüm gruplar için çizdirilen Bland-Altman grafiği 40

Şekil 11. Kistik fibrozis hastaları ile kontrol olgularında tanı için gerekli klor eşik değerinin belirlenmesi amacıyla çizilen ROC eğrisi 42

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. KF'nin görülme sıklığı ve taşıyıcılık oranı 17

Tablo 2. Bazı Avrupa Ülkelerinde KF Gen Mutasyon Oranı 202

Tablo 3 Kistik Fibroziste Uygulanacak Beslenme Stratejileri.....21

Tablo 4. Çalışmaya dahil edilen olgularin demografik verileri 35

Tablo 5. Çalışma içi ve çalışmalar arası değişimler.....36

Tablo 6. Her üç yöntemin bias (=hata) açısından karşılaştırılması kullanılarak doğruluk çalışması gerçekleştirildi.....36

Tablo 7. Tüm olguların her üç yöntemle ölçülen ter klor konsantrasyonları 37

Tablo 8. Kontrol ve hasta gruplarında üç farklı yöntemle ölçülen ter klor konsantrasyonlarının karşılaştırılması 37

Tablo 9. Ter klor ölçümünün ≥60 mmol/L olduğu grup için her üç yöntemin karşılaştırıldığı Passing-Bablok regresyon analizi (n=62).....41

Tablo 10. Ter klor ölçümünün <60 mmol/L'den olduğu grup için her üç yöntemin karşılaştırıldığı Passing-Bablok regresyon analizi (n=100).....41

KISALTMALAR

KF: Kistik fibrozis

KFTR: Kistik fibrozis transmembran kondüktans regülatör

ÜSY: Üst solunum yolu

ABPA: Allerjik bronkopulmoner aspergillozis

GİS: Gastrointestinal sistem

FEV: Zorlu ekspiratuvar hacim (= forced expiratory volume)

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kistik fibrozis (KF), erkek ve kadınlarda eşit oranda görülen ve görülme sıklığı toplumlar arasında farklılık gösteren sistemik bir hastalıktır. Diğer ırklara göre beyaz ırkta daha fazla görülen hastalığın beyazlardaki hastalık sıklığı 1/3330 iken, taşıyıcılık sıklığı 1/29'dur. Hastalık tüm sistemlerdeki ekzokrin bezleri etkiler. Temel bozukluk, ter ve tükürük bezlerinde, trakeobronşiyal ağaç, kalın barsak ve pankreasa ait ekzokrin bezlerde anormal yapıda salgıların oluşmasıdır. Bu salgıların yapısının anormal olmasının sebebi ise öncelikle genetik anormallikler sonucu bozuk yapıdaki bir kistik fibrozis transmembran kondüktans regülatör (KFTR) genidir. Buna bağlı olarak yapısı bozulan sodyum kanallarından anormal NaCl emilimi olur ve koyu kıvamlı salgılar oluşur. KF, toplumda sık görülmesi, ağır ve ilerleyici klinik seyri, büyüme ve gelişme geriliği yapması, kronik ve ölümcül olması ve aile ile topluma getirdiği maddi yüke ek olarak hasta çocuk ve ailesinde psikososyal bozukluğa yol açmasından dolayı çok önemli bir hastalıktır. KF hastaları için ortalama yaşam süresi 30-33 yıldır. Bazı hastalar nadiren de olsa 40-50 yıl kadar yaşayabilirler. 50 yıldan fazla yaşayan KF hastası sayısı ise çok azdır. Ölümün en sık sebebi tekrarlayan akciğer enfeksiyonlarıdır. Bu nedenle KF'i düşündüren olgularda, erken tanı büyük önem kazanmaktadır. Yaklaşık 50 yıldır KF tanısı için kullanılan ter testi, günümüzde KF tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızın amacı ter testi uygulama yöntemleri arasında karşılaştırma yapmak, sonuçları hastaların klinik durumlarıyla birlikte değerlendirmek ve en uygun yöntemi belirleyerek KF tanısına katkıda bulunmaktır.

2. GENEL BİLGİ

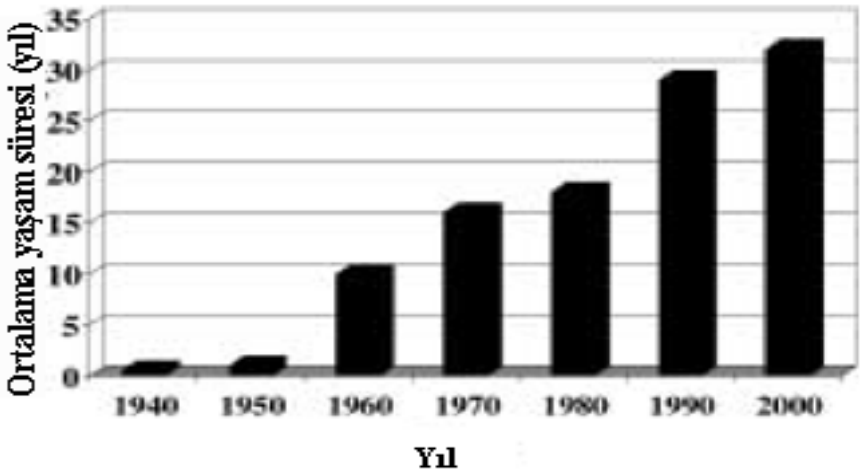
2.1. Kistik fibrozis hastalığının tarihçesi

Kistik fibrozis (KF) ilk olarak, öpüldüğünde tuzlu tat alınan bebeklerin kısa bir süre sonra ölmesi ile fark edilen ve araştırılmaya başlanan bir hastalıktır (1-3). Bu hastalığın pankreasta oluşturduğu lezyonlar ise ilk kez 1595 yılında ortaya konmuştur (4). Bu pankreas lezyonlarının akciğer hastalıkları ile birlikte olduğu ise ancak 1900'lü yılların başında anlaşılmaya başlanmıştır (5).

1938 yılında Dr. Andersen kistik fibrozis'in klinik ve patolojik bulgularını tanımlamış ve hastalığı ilk tarifleyen kişi olmuştur (6). Bundan beş yıl sonra, 1943 yılında Dr. Farber hastalığın patogenezindeki koyu mukus tıkaçlarına ithafen hastalığa "Mukoviskozidoz" adını vermiştir (7). Bu hastalığın otozomal resesif kalıtım gösterdiği Dr. Andersen ve Dr. Hodges'in birlikte yaptığı bir araştırma sonucu ortaya konmuştur (8). 1953 yılında Paul di Sant'Agnese KF hastalarının terlerinde tuz konsantrasyonun arttığını gözlemlemiştir (9).

1970'li yıllarda KF hastalarındaki pankreas ekzokrin salgısında düşük bikarbonat düzeyleri (10), esansiyel yağ asidi anormallikleri (11;12), prostaglandin düzeylerinde farklılıklar (13) gibi çeşitli metabolik bozukluklar tanımlanmış ve bu anormalliklerin düzeltilmesine yönelik tedavi yaklaşımlarının devreye girmesine bağlı olarak hastaların ortalama yaşam süreleri uzamaya başlamıştır.

Bundan yaklaşık on yıl sonra temel bozukluğun epitel dokusu hasarı ve buna bağlı olarak gelişen klor iletimindeki bozukluk olduğu saptanmıştır (14). 1989 yılında ise yedinci kromozomun q22-31 bölgesinden kistik fibrozis geni klonlanmıştır (15-17). Hastalığın fizyopatogenezinin anlaşılmaya başlanması ile birlikte tedavide de gelişmeler olmuş ve bu sayede ilk zamanlarda 2 yıl olan ortalama yaşam süresi günümüzde 40'lı yaşlara kadar uzatılmıştır (Şekil 1) (18).



Şekil 1. Ortalama yaşam süresinin yıllara göre değişimi

2.2. Kistik fibrozis geni ve mutasyon alt tipleri

KF, otozomal resesif olarak kalıtılır. İnsidansı popülasyonlar arasında farklılık göstermektedir; beyaz ırkta görülme sıklığı 1/3330 iken, bu oran Asyalı Amerikalı'larda 1/32100'e kadar düşmektedir. KF, bu görülme sıklığı ve öldürücü bir hastalık olması sebebiyle 'beyaz ırkın en yaygın ölümcül kalıtsal hastalığı' olarak anılmaktadır. Görülme sıklığı açısından kadınlarla erkekler arasında belirgin fark yoktur (Tablo 1) (19).

Yedinci kromozomun uzun kolunda yer alan KF geni, KFTR adı verilen ve epitelyum hücrelerinin apikal membranlarında yerleşip ATP bağımlı klor kanalı olarak fonksiyon gören bir proteini salgılar. KFTR geninde 1600'den fazla mutasyon saptanmıştır. En sık rastlanan mutasyon, genin 508. pozisyonunda bir fenilalanin kaybının olduğu mutasyondur. bu mutasyon, delesyon sonucu ortaya çıkar ve F508del olarak adlandırılır. Bu mutasyon, beyaz ırkta en sık görülen mutasyon olup Türkiye'de %25-30 civarında bu mutasyona rastlanmaktadır (Tablo 2) (19).

Tablo 1. KF'nin görülme sıklığı ve taşıyıcılık oranı

	Görülme Sıklığı	**Taşıyıcılık Oranı**
Beyaz	1/3330	1/29
Hispanik	1/9000	1/46
Afrikalı Amerikalı	1/15000	1/60
Asyalı Amerikalı	1/32100	1/90

Tablo 2. Bazı Avrupa Ülkelerinde KF Gen Mutasyon Oranı

Bazı Avrupa ülkelerinde sıklığı %1'den fazla olan mutasyonların oranları

	Avusturya	Belçika	Cek Cumh.	Danimarka	Estonya	Fransa	Almanya	İtalya	İspanya	Hollanda	Türkiye	İngiltere
F508del	63.7	75.5	71.6	87.2	54.0	66.8	73.2	51.1	54.4	74.4	34.8	75.3
N1303K		2.9	3.0	1.0		1.4	1.2	4.8	2.5		6.4	
G542X	2.1	2.7	2.2			3.1	1.2	4.8	7.7	1.3	2.8	1.7
W1282X		1.5						1.2				
394delTT				1.9	15.0							
G551D	1.1						1.3					3.1
1677delTA											2.8	

2.3. Etiyopatogenez

KF geninden sentezlenen KFTR proteinindeki bozukluk KF hastalığının oluşmasının ana sebebidir (20-22). KF, temel olarak bir epitel bozukluğu hastalığıdır. Tüm ekzokrin epitelleri etkileyebilen bu hastalık, epitel hücresi membranındaki KFTR adlı klor kanalının defekti sonucu ortaya çıkar (23). KFTR'deki yapısal ve fonksiyonel bozukluk akciğer, pankreas, karaciğer, bağırsaklar, ter bezleri ve epididim gibi organların epitelyum plazma hücre membranında Cl^- transportunun bozulmasına neden olur (şekil 2) (14;21;24;25). Normal anyon akımı için gerekli olan ekzokrin kanallardaki bozulma sonucunda yavaşlayan su hareketi, mukus dehidratasyonu ve kanallarda tıkanıklığa yol açar. En sık tutulan organ

akciğerdir. Meydana gelen bronşiyal obstrüksiyon ve staz kronik enfeksiyon, inflamasyon, fibrozis, bronşiektazi ve kistik dilatasyona neden olur. Hastalık adını da neden olduğu kistik dilatasyon ve ileri evredeki fibrozisten almaktadır (23).

KFTR proteini, anyonların, membranın elektrokimyasal gradiyenti ile her iki yöne pasif olarak hareket edebildiği bir kanal oluşturur (26). Epitelyal hücrelerin apikal yüzeyinde yerleşen bu protein, transepitelyal iyon transportunda görev alır ve bu fonksiyonu sayesinde akciğer, pankreas, ter bezleri ve bağırsak gibi birçok ekzokrin epitelde iyon transportunun dengelenmesinde rol oynar (24;27;28). Epitel dışında hava yolu düz kas hücrelerinde de bulunup kas kasılmasında kalsiyum salınımını düzenlediği gösterilmiş olan bu proteinin ayrıca bağışıklık yanıtının bozulmasında da rol oynayabileceği öne sürülmektedir. Bu yerleşim ve fonksiyon, KF'li hastalardaki hava yolu duyarlılığı ve astım benzeri klinik bulguları açıklayabilir (29).

İnsan vücudunda yaygın olarak dağılmış halde bulunan 4 milyon civarında ter bezi vardır. Bunların yaklaşık 3 milyon adedi ekrin ter bezleridir. Yaklaşık olarak 1 milyon adet de apokrin ter bezi bulunmaktadır. Ekrin ve apokrin ter bezlerinin her ikisi de sempatik sinir sistemi tarafından uyarılır. Ekrin ter bezleri kokusuz ve şeffaf bir sıvı salgılarlar. Bu sıvı, buharlaşma yoluyla ısı kaybına yol açarak vücut sıcaklığının düzenlenmesine yardımcı olur. Ekrin bezlerin salgı fonksiyonunu gerçekleştiren bölümü bir ultrafiltrat üretir. Ter kanallarından geçerken sodyum ve diğer elektrolitlerin geri emilimi gerçekleşir ve sonuç olarak vücut elektrolit dengesini bozmayan, hipotonik bir ter salgılanmış olur (30;31). KF'li hastalarda ise KFTR kanalı normal fonksiyon görmediği için klorun ve sodyumun geri emilimi gerçekleşemez, bu yüzden de KF hastalarının terinde sodyum klorür yoğunluğu artar. Bu artış ter testi kullanılarak ölçülebilir ve KF tanısı konulabilir (Şekil 3).

KF'li hastaların ter bezlerinde meydana gelen bu emilim ve salgılanma anormalliğine benzeyen bir anormallik vücuttaki hemen tüm ekzokrin bezleri, farklı şekil ve derecelerde de olsa, benzer şekilde etkiler. Bezlerde üç farklı anormallik gözlenmiştir (32):

1. Visköz veya katı formda eozinofilik materyalin lümeni tıkaması (pankreas, bağırsak bezleri, intrahepatik safra kanalları, safra kesesi, submaksiller bezler)

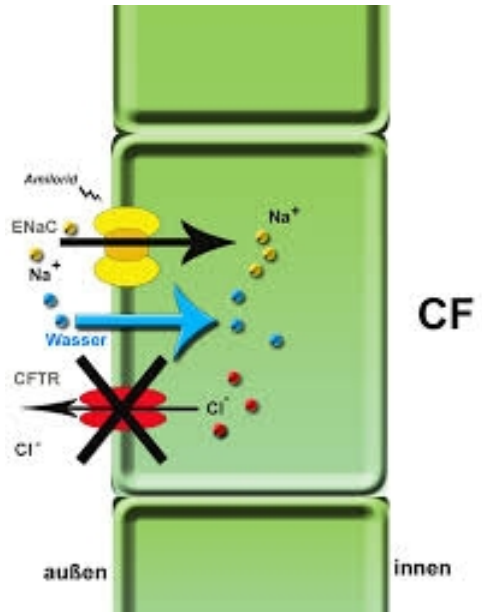
2. Histolojik olarak normal, fakat aşırı miktarda salgının tıkayıcı etkisi (trakeobronşiyal bezler ve Brunner bezleri)

3. Normal histolojide, fakat sodyum ve kloru fazla miktarda içeren salgının tıkayıcı etkisi (ter, parotis ve tükürük bezleri).

Duodenal salgılar, yoğun ve anormal yapıdaki mukopolisakkaritleri içerirler (33). Üreme organları daha çok erkeklerde etkilenir ve azospermi şeklinde bir etkilenim söz konusudur. Az sayıda kadın hasta, yoğun salgılara bağlı olarak gebe kalmakta güçlük çekebiliyor olsa da, kadın KF hastalarının çoğu sağlıklı çocuklar doğurabilmektedirler.



Şekil 2. Kistik fibrozis sistem belirtileri



Şekil 3. KFTR defektine bağlı klor kanalı disfonksiyonu

2.3.1. Solunum sistemi hastalıkları ve patogenezi

KF hastalarının %90'ından fazlasının ölüm sebebi solunum yetmezliğidir (32). Bu nedenle akciğer tutulumu, hastaların klinik durumunu, yaşam kalitesini ve yaşam süresini belirleyen temel faktördür.

Morbidite ve mortalitenin ana sebebi, ilerleyici bronşiektaziye ve sonuçta solunum yetmezliğine neden olan kronik bronkopulmoner enfeksiyon ve enflamasyonlardır. Erken pulmoner değişiklikler olan küçük hava yolları obstrüksiyonlarını bronşiyal bezlerin hipertrofisi takip eder ve sonuç olarak mukus tıkaçları oluşur. Hava yolu ve akciğer parankimindeki akut ve kronik enflamatuvar ve yapısal değişiklikler hava yolu obstrüksiyonlarına, havalanma artışına, yaygın fibrozis, doku kaybı ve ventilasyon-perfüzyon bozukluklarına yol açar. Hava yolu obstrüksiyonu ve hipoksi ciddileştikçe hastalarda pulmoner hipertansiyon gelişerek ilerleyici sağ ventrikül yetmezliğine neden olur. Düşük PaO_2 düzeyi, zamanla kalp kasılmasını etkileyerek geç dönemde sol ventrikül fonksiyonlarını da bozabilir (38,39). Akciğer hastalığının patogenezine daha ayrıntılı bakacak olursak:

1. **Mukus bozuklukları:** KFTR fonksiyonundaki bozukluk nedeniyle sodyumun emilimi artar ve klor emilimi bozulur. Hava yolu yüzeyinde oluşan dehidratasyon, siliyer

fonksiyonları bozar ve mukus stazına neden olur. Bunun sonucunda da kronik bakteriyel enfeksiyon başlar.

2. **Persistan inflamatuvar sürecin etkisi:** KF'de hava yolunda belirgin bakteriyal kolonizasyon ve sürekli nötrofil ağırlıklı enflamasyon bulunmaktadır. Daha önceleri enfeksiyonun enflamasyonu tetiklediği düşünülürken, son zamanlarda KF'li yenidoğanlarda yapılan çalışmalarda artmış nötrofil sayılarının ve interlökin-8 konsantrasyonlarının gösterilmesi ile enfeksiyonların başlangıcından önce bile KF'de havayolunda aşırı bir enflamatuvar yanıtın bulunduğu gösterilmiştir. Polimorfonükleer lökositler ve enflamatuvar sitokinler (interlökin-8, interlökin-6, tümör nekrotizan faktör-α) KF'deki ilerleyici akciğer hasarındaki immün aracılı enflamasyonda anahtar rol oynamaktadırlar (34;35). Sonuç olarak KF'de gösterilebilir enfeksiyon olmasa bile ortaya çıkabilen inflamasyon ve buna katkıda bulunan oksidatif stres, akciğer hastalığı patogenezinde rol oynar.
3. **Artmış nötrofil aktivitesi ve proteazların etkisi:** KF ile ilişkili kronik akciğer hastalığındaki uzamış endobranşiyal proteaz aktivitesi, akciğere özgü bağışıklık cevabının birçok basamağına zarar verir (36). Artmış lökosit elastaz aktivitesi ise doğumsal ve edinilmiş bağışıklığın birçok elemanını olumsuz etkileyerek hava yolundaki direnci azaltır. Bu nedenle KF'yi sadece epitelyal bir hastalık olarak değil, aynı zamanda bir nötrofil hastalığı olarak da değerlendirmek gerekir (37).
4. **Pseudomonas enfeksiyonunun etkisi:** *Pseudomonas aeruginosa* siliyer hareketleri olumsuz etkiler. Ayrıca oksidatif stresi artırıp KFTR aracılı klor transferini bozarak KF'li kişilerde akciğer hastalığı bulgularının artışına neden olabilir (19).

2.3.2. Gastrointestinal sistem hastalıkları ve patogenezi

Kistik fibrozis olgularının çoğunda sindirim sistemi belirtilerine de rastlanmaktadır. Pankreas tutulumu ve KFTR genotipi arasında - akciğer tutulumunun aksine - sıkı bir ilişki vardır. KF'de koyu ve yapışkan salgıların kanalları tıkaması sonucunda pankreasın sindirim enzimlerinde yetersizlik ortaya çıkar. Kanal lumeninde biriken salgılar, önce tıkanma ve kanalda genişlemeye neden olur, sonrasında ise ekzokrin pankreas dokusunun hasarı ve fibrozis gelişir (38). Ekzokrin pankreas yetmezliği ile başlayan beslenme yetersizliğine kronik enfeksiyon süreci de katkıda bulunur ve gelişen yaygın, kronik enfeksiyonlar akciğerleri de etkileyerek ileri evrede akciğer fonksiyonlarında gerilemeye, akciğerde yapısal bozukluklara

yol açar. Beslenme yetmezliği sonucu ayrıca kemik mineral yoğunluğu azalabilmekte, pubertede gecikme gibi komplikasyonlar görülebilmektedir.

Hastalığın erken dönemlerinde pankreasta meydana gelen fonksiyon bozukluğu sonucunda sindirim enzimleri salgılanamadığı için hastalarda beslenme bozukluğu ortaya çıkmakta ve bu durum, gelişme geriliğine yol açmaktadır.

Pankreasta KFTR özellikle sentrilobüler ve duktal epitelyum membran hücrelerinde bulunur. Bu hücrelerden çok fazla miktarda sodyum bikarbonat salgılanmaktadır. Fizyolojik koşullarda lümene salgılanan klor, bikarbonatla yer değiştirmektedir; KF'de anormal KFTR bulunması, bu yer değiştirmenin gerçekleşmesini kısıtlamakta ve salgının vizkositesini artırmaktadır. Pankreas kanallarında genişleme ile başlayan histolojik anormallikler, asiner atrofi ve fibrozis şeklinde ilerler. Hastalığın son dönemlerinde asiner doku tamamen kaybolur ve kanallar tamamen tıkanır (50).

KF'li hastaların % 85'inde pankreas yetmezliği gelişir. Bu oranın %65'i yenidoğan döneminde görülürken, çocukların %20'sinde pankreas fonksiyon bozukluğu 3 yaş civarında ortaya çıkmaktadır. Pankreas fonksiyon bozukluğu olan hastaların prognozu genellikle kötüdür. Önce ekzokrin fonksiyonları bozulan pankreasta, zamanla adacık hücre harabiyeti gelişir ve bunun sonucunda endokrin fonksiyonlar da bozulur. Erişkin KF hastalarının %30'unda buna bağlı olarak insülin eksikliği ve diabetes mellitus görülmektedir. KF hastalarında gastroösefajiyal reflü ve Barret ösefagusu görülme sıklığı normalden fazladır. Çölyak ve Crohn hastalığı da KF'de görülebilir (51, 52).

KF'te barsaklar hem birincil mukozal KFTR bozukluğuna, hem de pankreas ve safra yolları tutulumuna bağlı olarak etkilenir ve emilim bozukluğuna bağlı klinik belirtiler ortaya çıkar. Özellikle klor salgılanmasındaki bozulma sonucunda yenidoğanlarda mekonyum ileusu meydana gelir. Mekonyum ileusu KF'nin en erken klinik belirtisidir. KF'li yenidoğanlard mekonyum ileusu görülme sıklığı %10-18 arasındadır. Distal intestinal obstrüksiyon her yaşta görülebilirse de, en sık adölesan ve erişkinlerde ortaya çıkmaktadır. Bu tıkanma, anormal yapıdaki barsak salgıları ve anormal barsak hareketlerine bağlı olarak, ileum son kısmı, çekum ve kolonun ilk bölümünde mukuslu fekaloidin birikmesi sonucu oluşur (51, 52).

KF'nin hepatobiliyer komplikasyonları akciğer hastalıklarından sonra ikinci en sık ölüm sebebidir. Karaciğerde KFTR sadece safra kanalının ve safra kesesisinin epitel hücrelerinde bulunur; hepatositlerde bulunmaz. KF'deki bozuk KFTR sonucunda anormal

kanal salgısı ve bu salgının tıkaçlar oluşturması ile intrahepatik safra yollarında tıkanıklıklar oluşur. Hidrofobik safra asitlerinin hücre membranlarına verdiği zarar, staza bağlı bakteri kolonizasyonları ve sitonkilerin oluşturduğu enflamatuvar ortam sonucu karaciğer progresif olarak periportal fibrozis, köprüleşme fibrozisi ve fokal biliyer siroza ilerler. İleri evre hasarlarda ösefajiyel varisler, portal hipertansiyon ve bu komplikasyonlar sonucunda ölüm görülebilmektedir. Pankreas tutulumunun aksine karaciğer tutulumunda genotip-fenotip ilişkisi yoktur. KF'de siroz görülme oranı düşük olup en sık rastlanan karaciğer patolojisi, karaciğerde yağlanmadır. Safra taşı ve buna bağlı safra kesesi hastalıklarının görülme sıklığı da oldukça yüksektir (39).

2.3.3. Üreme sistemi hastalıkları ve patogenezi

KF'li erkek hastaların tamamına yakını infertildir. İnfertilite, çoğunlukla obstrüktif azospermiye bağlıdır. Erkek KF hastalarında epididim, vas deferens ve seminal kanallarda çift taraflı atrofi vardır ve hatta vas deferensin doğumsal yokluğu da görülebilmektedir. KF'li kadınlar ise fertildirler, fakat servikal mukus kalınlığındaki ve vizkositesindeki artış gebe kalmayı zorlaştırır.

2.3.4. Beslenme bozukluğu ve enerji dengesizliğinin patogenezi

KF'li hastalarda beslenme bozukluğu ve buna bağlı olarak gelişen büyüme geriliği, prognozu etkileyen önemli bir sorundur. Malnütrisyon, enerji ihtiyacının artmasına, alım azlığına, kronik enfeksiyon ve enflamasyona, pankreas yetmezliğinden dolayı görülen malabsorbsiyonla oluşan kayıplara bağlıdır. Önerilen günlük kalori (recommended dietary allowance) sağlıklı çocukların % 120-140'ı kadarıdır. Beslenme durumu hastalığın prognozunu ve bilişsel fonksiyonları etkilemektedir. Erken yaşta beslenme desteği yapılmaya başlanmalıdır. Yağda eriyen vitaminler, esansiyel yağ asitleri, prealbümin, albümin, trigliseritler, kolesterol ve bazı eser elementler malnütrisyondan etkilenir. KF'li hastalarda malnütrisyon en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. Kronik öksürük, kusma ve takipne kalori kaybına ve anoreksiye katkıda bulunur. Bu hastalarda bazen ciddi beslenme desteği verildiği halde gereken yüksek enerji ihtiyacı karşılanamayabilmektedir.

2.3.5. Böbrek hastalıkları ve patogenezi

KF hastalarının idrarında sodyum klorür atılımı azalır, idrar konsantrasyonunda bozukluk görülebilir. Hastaların hipokalemik hipokloremik metabolik alkaloz tablosuna (Psödobartter sendromu) eğilimleri vardır (32).

2.4. Klinik bulgular

KF hastalığı çok fazla klinik bulguya neden olur. Klinik bulgular hastanın yaşına, tutulan sistemlere ve hastalığın ağırlığına göre değişir. Tüm yaş gruplarında en sık akciğer bulgularına rastlanır, bunu gastrointestinal bulgular izler.

Akciğerlerde ortaya çıkan inflamasyon ve infeksiyonlar sonucunda öksürük, hırıltılı solunum, solunum sıkıntısı, takipne, retraksiyonlar ve tüm bunların sonucu olarak da hipoksi, henüz yenidoğan döneminde gelişebilir. Akciğer grafisinde yer değiştiren atelektaziler, havalanma artışı ve pnömoniye ait bulgular ortaya çıkabilir. Süt çocukluğu ve çocukluk döneminde ise üst solunum yolu (ÜSY) ile ilgili en önemli iki patoloji kronik rinosinüzit ve nazal polip olup hastaların yaklaşık yarısında bu patolojilere rastlanır. ÜSY'ndaki bu patolojiler bir yandan hastanın yaşam kalitesini düşürürken, öte yandan alt solunum yollarında ciddi infeksiyonlara yol açabilir. Adölesan ve erişkin dönemde de sık tekrarlayan pansinüzit, nazal polip, akciğer enfeksiyonları ve bronşiektazi görülebilmekte, ayrıca olguların %1-15'inde de alerjik bronkopulmoner aspergillozis (ABPA)'e rastlanmaktadır (32). KF hastalarında allerjiye yatkınlık, astım, IgE ve IgG seviyelerinde artış ile deri testi cevaplarında yükseklik genel popülasyona göre daha sık görülmektedir. Bu bulgular eğer hafif dereceli KF hastalarında görülürse tanıda gecikme veya tanı sürecinin zorlaşmasına yol açabilir (40). Böyle durumlarda güvenilir, etkinliği kanıtlanmış bir tanı yöntemi olan ter testi ayırıcı tanıyı ve hastalığın kesin tanısını koymayı oldukça kolay hale getirmektedir.

Gastrointestinal sistemde en erken ortaya çıkan bulgu, mekonyum ileusu'dur. Mekonyum ileusu olan bebeklerde intestinal obstrüksiyon, peritonit, intestinal atrezi ve perforasyon gibi komplikasyonlar gelişebilir (32). Olguların %15'inde rastlanması nedeniyle rektal prolapsus varlığında KF araştırılmalıdır. Pankreatik yetmezlik, KF'li olguların %85-90'ında görülür ve yağlı, kötü kokulu, çok miktarda dışkılama ile distansiyon problemleri görülebilir. Bunların sonucunda kilo alamama ve malabsorbsiyon bulguları gelişir. Yağda

eriyen vitamin eksiklikleri sonucu kanama diyatezi, ciltte döküntüler, raşitizm ve keratokonjonktivit gibi komplikasyonlar gelişebilir. İntrahepatik kanalların tıkanması sonucu gelişen fokal biliyer siroz hastaların %5'inde görülür (32).

Endokrin sistem tutulumu diyabet ve vitamin D eksikliğine bağlı osteopeni şeklinde kendini göstermektedir. Ayrıca yine vitamin D eksikliği ve ilaveten kortikosteroid tedavisine bağlı olarak osteoporoz da görülebilir (32).

Ürogenital sisteme ait klinik bulgular ise kongenital bilateral vas deferens yokluğu ve buna bağlı azospermi nedeniyle ortaya çıkan erkek infertilitesi (%90), kadınlarda koyu yapışkan mukus nedeniyle kronik servisit ve fertilite bozukluklarıdır. Bunların dışında böbrek taşları ve ilerleyen dönemlerde böbrek yetmezliği görülebilir (32).

Büyüme gelişme geriliği de KF'un sık görülen komplikasyonlarından birisidir. Büyüme, gebelik sürecinde başlayan ve pubertal gelişimin tamamlanmasına kadar süren dinamik bir süreçtir. KF'li çocuklarda büyümenin değerlendirilmesi hastalık aktivitesi ve tedaviye cevabın izlenmesi için şarttır.

Sağlıklı yaşıtlarıyla karşılaştırıldığında, KF'li hastalarda doğumlarından erişkin yaşlarına kadar büyüme ve gelişmede gerilik gözlenmektedir. Büyüme geriliği adölesan dönem süresince daha da belirginleşmekte ve beraberinde iskelet olgunlaşmasında ve puberte başlangıcında gecikmeyi de getirmektedir. Büyüme, malabsorbsiyon ve malnütrisyon harici farklı nedenlerden de etkilenmektedir. KF'de büyümeyi etkileyen majör faktörler temel olarak beslenme yetersizliği, kronik enflamasyon, DM, karaciğer hastalıkları ve kortikosteroid tedavisidir (53, 54).

2.5. Tanı

1970'li yılların başlarına kadar KF tanısının akciğerin yapısal bozukluklarının görüntülenmesi ve pankreas fonksiyon bozukluğuna bağlı anormal laboratuvar sonuçları alınması gibi klinik kanıtlar ile konulabileceğine inanılıyordu. Ter testinin önemli bir test olduğu, ancak sadece doğrulama amaçlı kullanılabileceği düşünülüyordu. KF'nin Mendelyan resesif kalıtımlı bir hastalık olduğu fark edildikten sonra, pozitif bir aile öyküsünün tanıya yardımcı olabileceği ortaya konmuştur (33).

Günümüzde laboratuvar testleri ve genetik testler KF tanısında klinik bulguların önüne geçmiştir. Ancak tanıda klinik bulguların ve özellikle laboratuvar - klinik uyumunun önemini yadsımamak gereklidir. Bu anlamda, tanı yöntemlerinin ayrıntılı incelenmesine geçmeden önce KF hastalarını sınıflandırmak daha doğru olacaktır.

Kistik fibrozis hastaları, fenotiplerine göre üç gruba ayrılırlar (19);

1. Tipik (klasik) KF:

Bir veya daha fazla KF fenotipik özelliği taşıyan ve ter testi >60 mmol/L olan hastalar klasik (tipik) KF hastası olarak adlandırılırlar. Bu hastalarda süregen akciğer enfeksiyonları, beslenme ve mide barsak sistemi anormallikleri, terleme yoluyla tuz kaybı ve erkek hastalarda tıkayıcı azospermiye bağlı olarak kısırlık görülür.

2. Atipik KF:

Bu hastalarda da en azından bir KF fenotipik özelliği mevcuttur ancak bunların ter testi sonuçları normal veya sınırdadır (<40 mmol/L veya 40-60 mmol/L). Bu hastalara tanı konabilmesi için ter testi yeterli değildir; ya her iki CFTR geninde mutasyon gösterilmesi, veya nazal potansiyel farkı ölçümü ile KFTR fonksiyonunun bozuk olduğunun kanıtlanması gereklidir.

3. KFTR ile ilişkili hastalıklar:

Bu grup aslında KF fenotipleri arasında yer almamalıdır, çünkü bu gruptaki hastalar herhangi bir tanı yöntemi ile KF tanısı konamayan ancak KFTR mutasyonu taşıma insidansı yüksek hastalıkları bulunan hastalardır. Bu hastalıklar şunlardır:

- ABPA
- Akut veya tekrarlayan pankreatit
- İzole obstrüktif azospermi
- Kronik rinosinüzit
- Yaygın bronşiektazi
- Yaygın panbronşiyolit

2.5.1. Yenidoğan Tarama Programı

Son yıllarda KF hastalığında en önemli gelişme birçok ülkede yenidoğan tarama programının uygulamaya konmasıdır. Bu tarama testi çok pahalı olmayan ve geniş gruplara uygulanabilen bir test olup topuk kanında immunreaktif tripsinojen (IRT) analizine dayanır. KF'li yenidoğanlarda IRT değeri yüksektir, fakat sağlıklı yenidoğanlarda da yüksek olabilir. Ancak KF'li bebeklerde bu değer bir kaç ay yüksek kalırken, sağlıklı yenidoğanlardaki yanlış pozitif değerler bir kaç haftada normale döner. Yenidoğan KF taramasının özgüllüğünü arttırmak için doğumda ölçülen IRT değerleri yüksek olan bebeklerde test tekrarlanır ve ikinci yapılan testin sonucunda da IRT yüksekse bu bebeklere ter testi yapılır. Bununla birlikte bir çok yenidoğan tarama programı, ikinci IRT testi yerine mutasyon analizi yapmayı tercih etmekte ve mutasyon analizi sonucu her iki gende mutasyon taşıyan bebeklere KF tanısı konulmaktadır. Eğer istenirse mutasyon analizinden sonra ter testi yapılarak tanı doğrulanabilir (41;42).

Birçok ülkede uzun zamandan beri yenidoğanda KF tarama testi olarak kanda IRT düzeyi bakılması kullanılmakta iken, ülkemizde henüz bir tarama programı uygulanmamaktadır. Kanda IRT seviyesi yükselmesinin pankreas kanalının tıkanmasına bağlı olduğu düşünülmekte olup, bu ölçümün tarama testi olarak kullanılmasının mantığı da budur. Ancak son yıllarda tipik KF bulguları bulunmayan ve pankreas uyarım testleri de normal olan bir çok KF olgusuna rastlanmıştır (43). Böyle olguların çoğunda her ne kadar kesin tanı mutasyonların saptanması ile konulabilmekteyse de mutasyonların saptanmasındaki güçlük ve ter testinin kolay uygulanabilirliği, görece ucuzluğu, hasta için ağrısız ve acısız olması gibi avantajları ve bu avantajlarına rağmen yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip olması ter testinin değerini arttırmakta ve günümüzde bile KF tanısında altın standart test olmasını sağlamaktadır.

Kendisi veya ailesinde KF öyküsü olan gebelerde 16-18. gebelik hastalarında alınan amniyon sıvısında düşük alkalen fosfataz düzeyinin gösterilmesi veya 15. gebelik haftasından itibaren USG ile fetusta artmış mekonyum dansitesinin gösterilmesi, genişlemiş barsak luplarının ve mekonyum peritonitinin saptanması ile de tanı konulabilir. Ayrıca günümüzde özel olarak geliştirilmiş DNA probları sayesinde hastalığın antenatal tanısı da yapılabilmektedir (44-46).

Tüm bu tanı yöntemlerine rağmen hastaların %75-80'ine beş yaşından önce tanı konulabiliyorken, %10-15'ine ancak ergenlik döneminde tanı konulabilmektedir. Tıkayıcı ve/veya yapısal akciğer hastalığı ile birlikte infertilite şikayetleriyle başvuran bir erkekte akla gelecek hastalıkların başında KF olmalıdır, çünkü 40'lı ve hatta 50'li yaşlara kadar tanı almamış KF hastaları bile mevcuttur (22).

KF hastalığında kesin tanının objektif olarak konulabilmesi için hazırlanmış ve üzerinde anlaşmaya varılmış farklı kriterleri içeren iki madde mevcuttur :

1. Bir veya daha fazla karakteristik fenotipik özellik veya KF'li kardeş öyküsü veya yenidoğan pozitif tarama testi sonucu.

2. İki veya daha fazla kez terde yüksek klor konsantrasyonu veya iki mutasyonun gösterilmesi veya anormal nazal potansiyel farkı.

Birinci maddedeki kriterlerden en az bir tanesi ile ikinci maddedeki kriterlerden en az bir tanesinin birlikte bulunması tanı için gerekli ve yeterlidir.

Tanı sürecini kolaylaştırmak için hazırlanmış algoritmalar mevcuttur (Şekil 8).

2.5.2. Ter Testi

Ter testi günümüzde hem tanı, hem de tarama amacıyla kullanılan, uygun ekipman ve eğitimli personel bulunması durumunda da kolayca uygulanabilen bir testtir. Terde klor testi KF tanısı için altın standart testtir. Ayrıca ter iletkenliğindeki (kondüktivite) artış halen KF için bir tarama testi olarak kullanılmaktadır (47).

Her ne kadar KF tanısında terdeki klor miktarının 40 mmol/L'nin altında olması negatif, 40-60 mmol/L arasında olması şüpheli pozitif ve 60 mmol/L'nin üzerinde pozitif (KF hastası) olarak kabul ediliyorsa da 60 mmol/L'nin altını negatif üstünü ise pozitif olarak kabul eden araştırmalar da mevcuttur (47).

Ter testi ilk kez 1959'da tanımlanmıştır ve bugün de tanıda altın standart olarak kabul edilmektedir. Standart ter testi (Gibson ve Cooke tekniği) dikkat ve yetenek gerektiren bir test olduğu için uygun merkezlerde ve ehil kimselerce uygulanmalıdır. Günümüzün yeni teknolojileri sayesinde ter testi, uygulanması kolay, ağrısız ve acısız bir test haline gelmiştir. Ter testi 2 haftadan büyük ve vücut ağırlığı 3 kg üstünde olan, dehidratasyon bulgusu

olmayan bebeklere uygulanabilir. Yaşamın ilk 24 saatinde ter elektrolit düzeyleri geçici olarak yüksek olup ilk haftadan sonra normale dönmektedir. Sistemik hastalığı olan, ödemli olan ve kortikosteroid alan hastalarda testin yapılması ertelenmelidir.

Altı aydan küçük çocuklarda ≤29 mmol/L ter klor değerleri normal olarak kabul edilir. Altı aydan büyük çocuklarda, en az iki ölçümde terdeki klor miktarının 60 mmol/L ve üzerinde olması KF için tanı koydurucudur. 40 mmol/L'nin altındaki değerlerin ölçülmesi KF olasılığının düşük olduğunu gösterir. 40-60 mmol/L arasındaki değerler ise atipik KF hastalığını düşündürebildiği gibi, şüpheli pozitif veya şüpheli negatif sonuç olarak da değerlendirilebilir ve tekrarlanması gereklidir (48;49).

2.5.3. Mutasyon Analizi

KFTR geninde 1600'ün üzerinde farklı mutasyon bildirilmiştir. KFTR genetik analiz panelinin mutasyon belirleme oranı %95'in üzerinde olmalıdır; ancak beyaz ırkta, özellikle de toplumumuzda, mutasyonların düşük sıklıkta olduğu düşünülürse bu orana ulaşmak oldukça zordur. Birçok farklı teknik birlikte kullanılsa bile hastaların yaklaşık %5'inde iki adet mutasyona uğramış gen gösterilemez. Bu nedenle, mutasyon saptanamaması hastanın KF olmadığını göstermez, özellikle ülkemizde genetik analizin faydasının sınırlı olduğu bilinmelidir.

Kısaca moleküler genetik analiz yöntemleri:

1989'da KFTR geninin keşfinden beri moleküler genetik laboratuvarlarında, kistik fibrozisli kromozomların popülasyonlarındaki mevcut mutasyonları tanımlamak için hibridizasyon deneyleri ya da restriksiyon enzim analizi gibi moleküler tanı yöntemleri kullanılmaktadır [7,27]

Kistik fibroziste etkilenmiş dokulardan cDNA araştırması ve çapraz hibridizasyon yöntemi ile kistik fibrozis geni izole edilmiştir.9,28

Kistik fibroziste genetik analizler PCR'yi temel alarak yapıldığı için, olguların büyük bir çoğunluğunda DNA'nın küçük bir miktarı yeterli olmaktadır. Geniş analizler planlanmadıkça, ağız yıkama suyu örneği (veya –bebeklerde– yanak mukoza örneği) yeterli olmaktadır. Ağız yıkama suyu örneği, araştırılacak kişinin kendisi tarafından alınabilir (10 ml %4 sukroz solüsyonu kullanılarak) ve posta ile gönderilebilir[4,5].

Multiplex DNA ampilifikasyonu PCR ile eşzamanlı olarak farklı DNA sekansını amplifiye eder. Her bir PCR farklı büyüklükte bir fragment üretir ve multiplex amplifikasyon refrakter mutasyon sistemi (ARMS) tekniği ile birlikte kullanıldığında, küçük delesyonların ya da nokta mutasyonların tanımlanmasına olanak verir. Mutasyonların doğrudan saptanması için diğer teknik ise, restriksiyon enzim kesimidir.Bir nokta mutasyonu, önceden var olmayan bir restriksiyon enzim yeri oluşturabilir. 28,29

Kistik fibrozisin prenatal tanısı genellikle, gebeliğin ilk trimesterinde koriyonik villuslardan alınan örneklerle konulur. Moleküler analizler için, amniyosentez örnekleri veya bunların 10-14 günlük kültürlerinden sağlanan amniyositler de kullanılabilir. Bir mutasyonun araştırılmasında PCR veya ARMS multiplex testi kullanılabilir. Fakat maliyet ve etkinlik açısından en uygun şekil PCR ve bunu takiben poliakrilamid jel elektroforezinin (PAGE) birlikte kullanılmasıdır.4,30

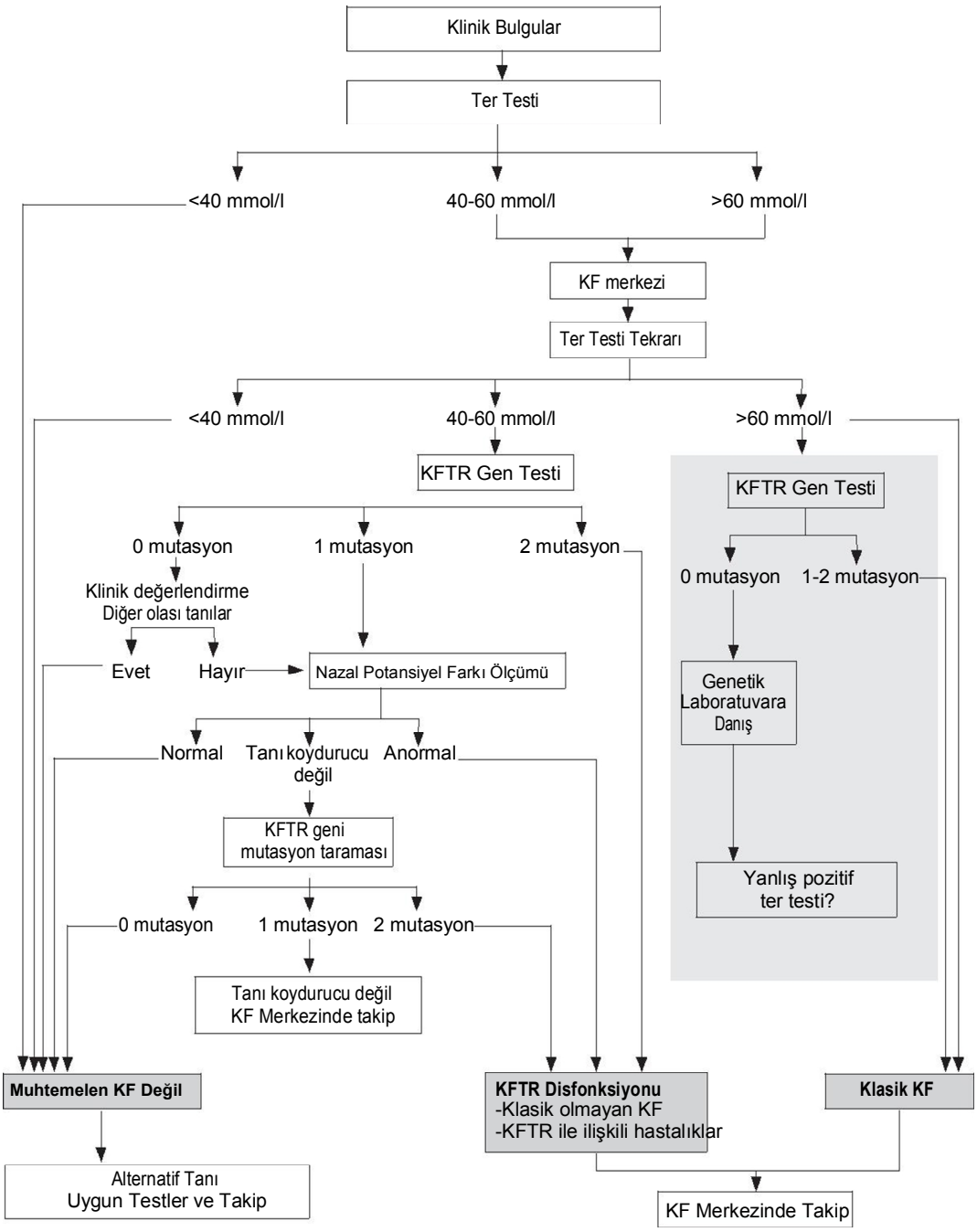
2.6. Tedavi

KF'da tedavi, altta yatan temel bozukluğun düzeltilmesi (gen tedavisi), KFTR protein fonksiyonunun düzeltilmesi ve bulgulara yönelik tedavi şeklinde özetlenebilir.

Solunum fonksiyonları ileri derecede bozuk olan hastalarda (FEV1<30), akciğer nakli yapılması şarttır. KF'da kür sağlayacak tedaviyi bulmak için çok kapsamlı çalışmalar yapılmaktadır. Bu sağlanıncaya dek yapılması gerekenler ise, KF tanısını en erken sürede koymak, uygun beslenme koşullarını sağlamak, antibiyotik tedavisi ve fizyoterapiyi aksatmadan devam ettirmek olmalıdır.

Tablo 3. Kistik Fibroziste Uygulanacak Beslenme Stratejileri

Kategori	**Hedef grup**	**Amaçlar**
Rutin Uygulama	Bütün KF hastaları	Beslenme eğitimi, pankreatik enzim uygulaması ve vitamin desteği (pankreas yetersizliği olan hastalarda)
İlkeler Destek Müdahale	Ağırlık-boy indeksine göre ideal ağırlığın ≥%90 sahip olan ve enerji dengesizliği (solunum yetersizliği) gelişmiş bireyler	*Artan enerji gereksinimini karşılamak ve diyetin enerji yoğunluğunu artırmaya yönelik besin seçimi *Davranış değişikliği
İyileştirici Tedavi	Vücut ağırlık kaybı olan ve/veya ideal ağırlığın %85-90'ına sahip olan bireyler	Yukarıdakilere ek olarak, oral supleman desteği Yukarıdakilere ek olarak, enteral destek (Nazogastrik tüp veya enterostomi)
İleri düzeyde tedavi	İdeal ağırlığın %75'ine sahip olan veya ileri düzeyde beslenme yetersizliği bulunan bireyler	Yukarıdakilere ek olarak, sürekli enteral uygulama veya total parenteral destek



Şekil 4. KF hastalığı tanısı için izlenecek yolu gösteren algoritma

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmaya Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi araştırma etik kurulundan onay alınarak başlanmıştır (MAR-Y4-2013-0214). Proje Marmara Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında TÜBİTAK 1507 Ar-Ge destek 7121045 nolu proje desteği ile gerçekleştirilmiştir. Araştırmamızdaki hasta ve kontrol grupları Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Göğüs Hastalıkları Bilim Dalı Polikliniği'nde 02.12.2005-31.12.2013 tarihleri arasında takip edilen bireylerden 16.09.2013-01.10.2013 tarihleri arasında toplanmıştır.

T.C. Sağlık Bakanlığı Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Göğüs Hastalıkları Polikliniği tarafından takip edilen hastalar ve birinci derece yakınlarından (anne, baba, kardeşler) oluşan 198 kişi ter testi yapılmak üzere hastaneye çağrıldı. Gruplara dahil edilecek kişilerin öyküsü, özgeçmişi, soy geçmişi, yaş, cinsiyet, boy, ağırlık gibi verileri, hastalık süresi, ek hastalığı olup olmadığı, genetik analiz yapıldıysa sonucu, aile öyküsü, klinik evre, organ tutulumu ve varsa kullandığı ilaçlar gibi bilgiler demografik veriler adı altında toplandı. Yeterli miktarda ter toplanamayan 36 kişi çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmaya dahil edilen ve aydınlatılmış onamı alınan kişilerden aynı gün toplanan ter numunesinde üç farklı metotla terde klor miktarı ölçüldü ve her üç metodun sonuçları karşılaştırıldı.

3.1. Hasta ve kontrol gruplarının oluşturulması

3.1.1. Çalışmaya alınan hasta grubunun özellikleri

Ter testi ve/veya genetik yöntemle KF tanısı almış ve istenilen kriterlere uygun (çalışmaya alınmama kriterleri aşağıda belirtilmiştir) olgular hasta grubu olarak çalışmaya alınmıştır (n=74).

3.1.2. Çalışmaya alınan kontrol grubunun özellikleri

Çalışmamızın kontrol grubu, KF tanısı almamış ve çalışmadan çıkarılma kriterlerinden herhangi birisini taşımayan hasta yakınlarından oluşturulmuştur (n=114).

3.1.3. Çalışmaya alınmama kriterleri

Hasta grubu için:

- İki haftadan küçük olmak
- Vücut ağırlığı 3 kg.dan az olmak
- Dehidratasyon bulgusu bulunmak
- Ödemli olmak

Kontrol grubu için :

- Dehidratasyon bulgusu bulunmak
- Ödemli olmak
- Kortikosteroid almak
- Hipotermi

3.2. Kullanılan yöntemler

1. UCF2010 Iyontoforez sistem ile uyarma, microbore tubing ile Gibsson Cooke yöntemine uygun terin toplanması ve sonrasında Schales and Schales yöntemiyle manuel titrasyon

2. UCF2010 Iyontoforez sistem ile uyarma, microbore tubing ile terin toplanması ve sonrasında titrimetrik klor ölçümü (Sherwood 926S kloridometre/İngiltere)

3. UCF2010 Iyontoforez sistem ile uyarma, microbore tubing ile terin toplanması ve sonrasında UCF2010 Ter Analiz sistemi ile kulometrik end point yöntemi kullanarak terde klor ölçümü (CF **Δ** Collection System, UTSAT, Türkiye)

Klor ölçümünde kullandığımız yöntemlerin ayrıntılarına geçmeden önce her üç ölçüm yöntemi için uygulanan iyontoforez işlemleri aşağıdaki gibidir.

İyontoforez ve ter toplama aşaması için:

- 1,5 mA akım üretebilir iyontoforez cihazı
- Pilokarpin nitratlı agar jel diskler
- Elektrotları kola bağlamak için kullanılacak bantlar
- Streç film
- Kağıt havlu veya gazlı bez
- Deiyonize su
- Microbore tüp içeren kollektör aparatı kullanıldı.

Test yapılacak ön kol iç yüzü, herhangi bir maddenin test sonucunu etkilemesini önlemek için, önce alkol sonra deiyonize su ile silindi. Derinin jel disk uygulanacak bölgesi, iletkenliği artırmak amacıyla ıslak bırakıldı. Terlemeyi aktive eden tek kullanımlık jel yapısındaki disk, %96 su içeren agar içerisindeki %0,5'lik pilokarpin nitrattan ibaret olup bu bileşime ayrıca antifungal ve antibakteriyel koruyucular ilave edilmiştir. Pilokarpinli jeller pozitif ve negatif elektrotların içine yerleştirildi, kol bantları ile iyice bağlandı, terleme işlemini daha etkin kılmak için elektrot ve bantların üstü 15 cm genişliğindeki, biyolojik uygunluğu olan özel bir streç film ile sarılarak kaplandı ve iyontoforez işlemi başlatıldı. cilt tipine göre 5 dakika süreyle 1,5 mA'lik /7.5 dakika süreyle 1.0 mA'lik elektrik akımı elektrotlar aracılığıyla ön kola uygulandı. İşlemin sona erdiğini gösteren ses duyulduğunda cihaz kapatıldı, kol bantları açılıp elektrotlar çıkarıldı ve kol deiyonize su ile silindikten sonra kurutuldu. Daha sonra, önceden pozitif elektrodun yerleştirilmiş olduğu alana toplayıcı takılarak ter toplama işlemi başlatılır. Toplayıcının içindeki mikrobore (çok küçük çaplı) tüpte açık mavi bir rengin oluşması, terlemenin gerçekleştiğini gösterir. 20-30 dakika beklenip, 4-5 sarmalı dolduracak kadar ter toplandığında kolektör çıkarıldı ve ter numunesi ölçüm için hazır hale getirilmiş oldu. (Şekil 5, 6, 7). Terleme süresi hastaya göre değişkenlik gösterir ancak bu sürenin 20 dakikadan az, 30 dakikadan fazla olmaması gerektiğinden bu konuda da azami dikkat ve özen gösterildi.



Şekil 5. İyontoforez cihazı



Şekil 6. Terin kollektörlerle toplanması



Şekil 7. Toplama işlemi tamamlanmış kollektör

1-Manuel titrasyon (volumetrik titrasyon) **uygulanarak klor tayini:**

Sırasıyla; ter bezleri uyarıldı, ter, "micro-bore" tüpte toplandı ve titrasyon işlemine geçildi;

<u>Klor tayini için :</u>

- 0,005 N Cıva nitrat çözeltisi
- 0,005 N Sodyum Klorür çözeltisi
- %1 (g/v) S-Difenilkarbazon çözeltisi
- 2 N HNO^3 çözeltisi
- Yaklaşık 10 mL'lik cam tüp
- Yaklaşık 5 mL'lik büret
- Hassas terazi kullanılmıştır.

İçinde ter toplanmış olan kolektörün şeffaf kapağı çıkartılıp tartıldı ve tartım sonucu kaydedildi. Toplanan ter, bir enjektör yardımıyla kolektör kapağının içine konuldu ve kapak bu kez dolu olarak tartıldı, bu tartım sonucu da kaydedildi. İki tartım sonucu arasındaki fark,

toplanan ter miktarıdır ve bu miktar 100 mg'dan az ise manuel yöntemle ölçüm yapılmamalıdır.

Ter miktarı 150 mg'dan az ise 3 mL, 150 mg'dan fazla ise 5 mL deiyonize su ile karıştırılarak sulandırıldı.

Bu çözeltinin 1 mL'si deney tüpüne konuldu, 1 damla 2N HNO^3 (Nitrik asid) ve 3 damla renklendirici (*diphenylcarbazone* çözeltisi) damlatılarak iyice karıştırıldı, sonra cıva nitrat ($HgNO^3$)'lı çözelti ile titrasyon işlemi yapıldı ve kullanılan çözelti miktarı (mL olarak) kaydedildi.

Son olarak, tüketilen cıva nitrat'lı çözeltinin hacmi ve toplanan ter miktarı (gram olarak)'nın kullanıldığı bir formül (aşağıda gösterilmiştir) ile terdeki klor miktarı mmol/L olarak ölçüldü;

$$\text{Terdeki klor miktarı} = \frac{[\text{Eklenen su (mL)} + \text{Ter ağırlığı(g)}] \times 5 \times \text{Titrasyon hacmi}}{\text{Ter miktarı}}$$

2-Kloridometre* kullanılarak klor tayini *(Analog Argentimetri, klasik titrasyon

uygulanarak iletkenlik ölçümü ile klor tayini):

Klasik titrasyon yöntemiyle otomatik olarak klor ölçümü yapabilen Sherwood Model 926S (Sherwood Scientifc Ltd. İngiltere), bizim de çalışmamızda kullanılmış olup çalışma prensibi kısaca şöyledir: 20 µL ile 100 µL arasındaki bir miktar ter örneği asit bir tampon içine konulur. Reaktif olarak gümüş nitrat solüsyonu ilave edilir. Cihazda bulunan iki adet gümüş elektrot ve bu elektrotlar arasındaki elektriksel yük farkı sayesinde (kulometrik metot) çözeltideki gümüş iyonları serbestleşir. Serbestleşen gümüş iyonları terdeki klorla birleşir; bütün klor iyonları 'gümüş klorür' olarak çökeldikten sonra, geriye kalan gümüş iyonları solüsyonun iletkenliğini (kondüktivite) değiştirir ve bu değişiklik elektrotlarca algılandıktan sonra okuma tamamlanır. Sonuç olarak terdeki klor miktarı mmol/L cinsinden cihazın ekranında görünür.

***3-Kulometrik 'end point' yöntem* ile iletkenlik ölçümü yapılarak klor tayini:**

Bu cihazla (UCF 2011 Ter Analiz Ünitesi) da iletkenlik ölçülmekte ve otomatik analiz yapılmaktadır. Ancak ikinci yöntemde anlatılandan farklı olarak bu yöntemde gümüş nitrat veya buna benzer herhangi bir kimyasal kullanılmamaktadır ve ter numunesi hava ile temas etmediğinden evaporasyon riski bulunmamaktadır. İki elektrot arasında hareket eden NaCI elektronlarının sayısı cihaz tarafından ölçülüp sonuç direkt mmol/L cinsinden klor miktarı olarak cihazın ekranına yansıtılmaktadır. Aynı zamanda eşdeğer NaCl değeri mmol/L olarak ölçülür.

3.3. İstatistiksel değerlendirme

İstatistiksel analizler SPSS 15.0 ve Medcalc 13.0 programları kullanılarak yapıldı. Dağılın normalliği görsel (histogram vb.) ve uygun testler (Kolmogorov Smirnov/Shapiro Wilkis) aracılığıyla belirlendi, varyansların homojenliği ise Levene testi ile analiz edildi, Bağımsız 3 grupta sürekli değişkenlerin karşılaştırılmalarında normallik şartların ve varyansların homojenliğinin sağlandığı hallerde ANOVA, dağılımlar normal, varyanslar homojen değilse Welch ANOVA, dağılımlar normal değil ise Kruskal Wallis testi kullanıldı. Analizlerde ANOVA kullanıldığı hallerde posthoc karşılaştırmalarda Tukey testi, Welch ANOVA kullanıldığı hallerde Tamhanne testi uygulanırken, Kruskal Wallis testinin kullanıldığı durumlarda posthoc karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı. Mann-Whitney U testinin posthoc karşılaştırmalarda kullanıldığı durumlarda Bonferroni düzeltmesi yapıldı. Bağımlı örneklerde 3 grup karşılaştırılmasıda Friedman testi kullanıldı. Grupların 2 li karşılaştırılmasında Wilcoxon signed test kullanıldı. 2'li karşılaştırmalarda Bonforreni düzeltmesi yapılmış olup istatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p<0.017$ kabul edilmiştir. Sürekli değişkenler arasındaki ilişkinin belirlenmesinde korelasyon analizleri yapıldı ve normal dağılan verilerde Pearson, normal dağılmayanlarda ise Spearman korelasyon analizi uygulandı. Her 2 yöntemin performanslarının karşılaştırılmasında Passing-Bablok regresyon analizi yöntemi kullanıldı. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında çapraz tablolar oluşturularak ki-kare testi yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak $p<0.05$ kabul edildi.

.

4. BULGULAR:

Toplam olarak 162 olgu (62 KF ve 100 kontrol) kaydedildi. Gruplar arasında cinsiyet bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (KF grubunda %50.7 erkek cinsiyet ve kontrol grubunda %43 erkek cinsiyet, P=0.303). Medyan yaş (%25-75 persentil), KF grubu için 8(3.25-14) ve kontrol grubu için 25(4-34.25) (P<0.001) idi. Hastalara ait diğer demografik veriler Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Çalışmaya dahil edilen olguların demografik verileri

Demografik veriler	**Hasta**	**Kontrol**
Ağırlık ortalaması (kg)	28	51
Boy ortalaması (cm)	123,7	139,2
Doğumsal hastalık görülme oranı (%)	77	0
Ek hastalık görülme oranı (%)	19.4	32.0
İlaç kullananların oranı (%)	100	28
Aile öyküsü pozitif olanların oranı (%)	47	20
Organ tutulumu pozitif olanların oranı (%)	97	80
Genetik test yaptıranların oranı (%)	42.0	10.8
Genetik testi yaptıranlar içinde sonucu pozitif olanların oranı (%)	68,7	20

40, 70 ve 130 mmol/L konsantrasyonlarında klor içeren hazır ticari kontrol örnekleri kullanılarak çalışma içi ve çalışmalar arası kesinlikler belirlendi (Tablo 5).

Tablo 5. Çalışma-içi ve çalışmalararası değişimler

KESİNLİK	**Manuel titrasyon**			**Sherwood Kloridometre**			**CF Δ Sistem**		
	40 mmol/L	70 mmol/L	130 mmol/L	40 mmol/L	70 mmol/L	130 mmol/L	40 mmol/L	70 mmol/L	130 mmol/L
Çalışma-içi (%)	10.3	8.9	10.8	7.57	6.77	6.41	0.54	0.21	0.47
Çalışmalar arası (%)	4.19	6.01	5.50	6.16	6.78	7.06	2.72	2.13	1.08

Yine 40, 70 ve 130 mmol/L konsantrasyonlarında klor içeren hazır ticari kontrol örnekleri kullanılarak doğruluk çalışması yapıldı (Tablo 6).

Tablo 6. Her üç yöntemin bias (=hata) açısından karşılaştırılması kullanılarak doğruluk çalışması gerçekleştirildi.

	40 mmol/L		70 mmol/L		130 mmol/L	
	Ortalama (mmol/L)	Hata (%)	Ortalama (mmol/L)	Hata (%)	Ortalama (mmol/L)	Hata (%)
Manuel titrasyon	35.78	10.6	85.42	22	144.2	10.9
Sherwood Kloridometre	28.84	44	68.60	2	138.9	6.8
CF Δ Sistem	38.92	2.7	67.14	4	130.1	0.08

Hata değerleri açısından incelendiğinde CF Δ Sistem ölçümünün en düşük değerlere sahip olduğu görüldü.

Tüm olguların her üç yöntemle ölçülen ter klor konsantrasyonları Tablo 7'de verilmiştir. Üç yöntem arasında farka bakıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark saptandı (P<0.001). İkili karşılaştırmalarda CF Δ Sistem-Sherwood kloridometre arasında fark olmadığı (P=0.033) gözlendi. Ancak, manuel yöntem-CF Δ Sistem ve manuel yöntem-Sherwood kloridometre arasında ileri derecede anlamlı farklar mevcuttu (P<0.001) (ikili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesi yapılmış olup istatistiksel anlamlılık sınırı olarak p<0.017 kabul edildi).

Tablo 7. Tüm olguların her üç yöntemle ölçülen ter klor konsantrasyonları (Tüm sonuçlar mmol/L olarak ifade edildi)

	Medyan	**Minimum**	**Maximum**	**25 - 75 persentil**
Manuel yöntem	27.5	2.5	151	18.2 – 112.5
Sherwood kloridometre	19.5	3	125	11.0 – 96.0
CF Δ Sistem	24.7	1.9	116	12.8 – 90.4

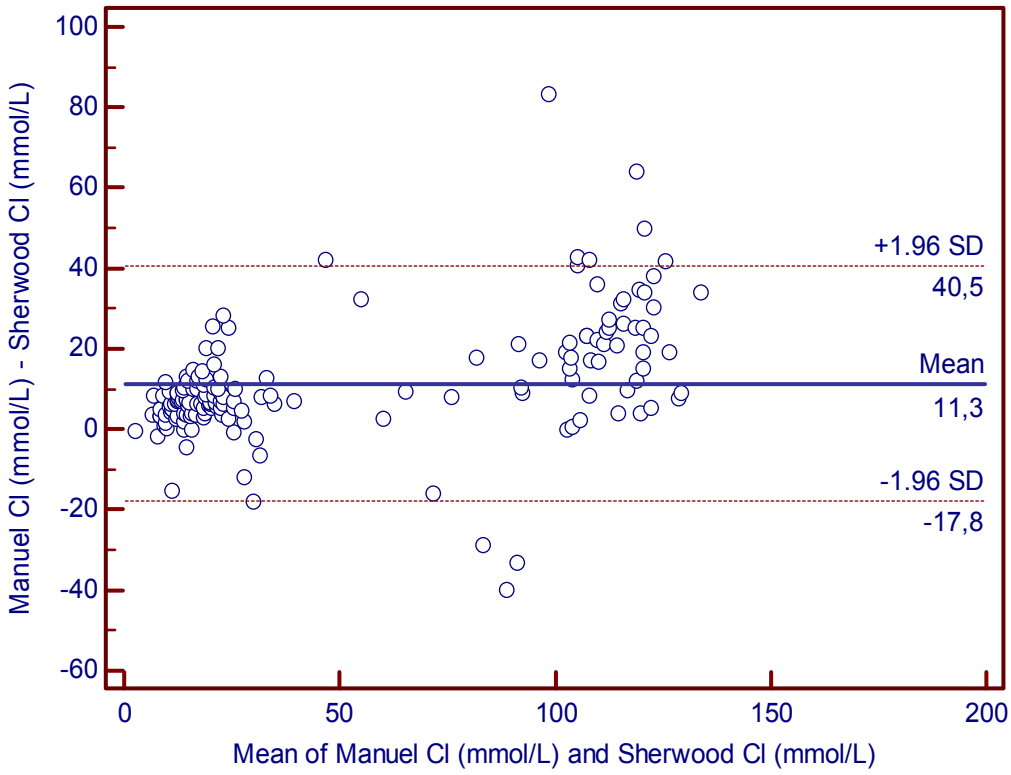
Klinik verilere göre ayrılan kontrol ve hasta grubunda 3 farklı yöntem ile ölçülen ter klor konsantrasyonlarinda gruplar arasında anlamlı farklar mevcuttu (Tablo 8).

Tablo 8. Kontrol ve hasta gruplarında üç farklı yöntemle ölçülen ter klor konsantrasyonlarının karşılaştırılması (Tüm sonuçlar mmol/L olarak ifade edildi)

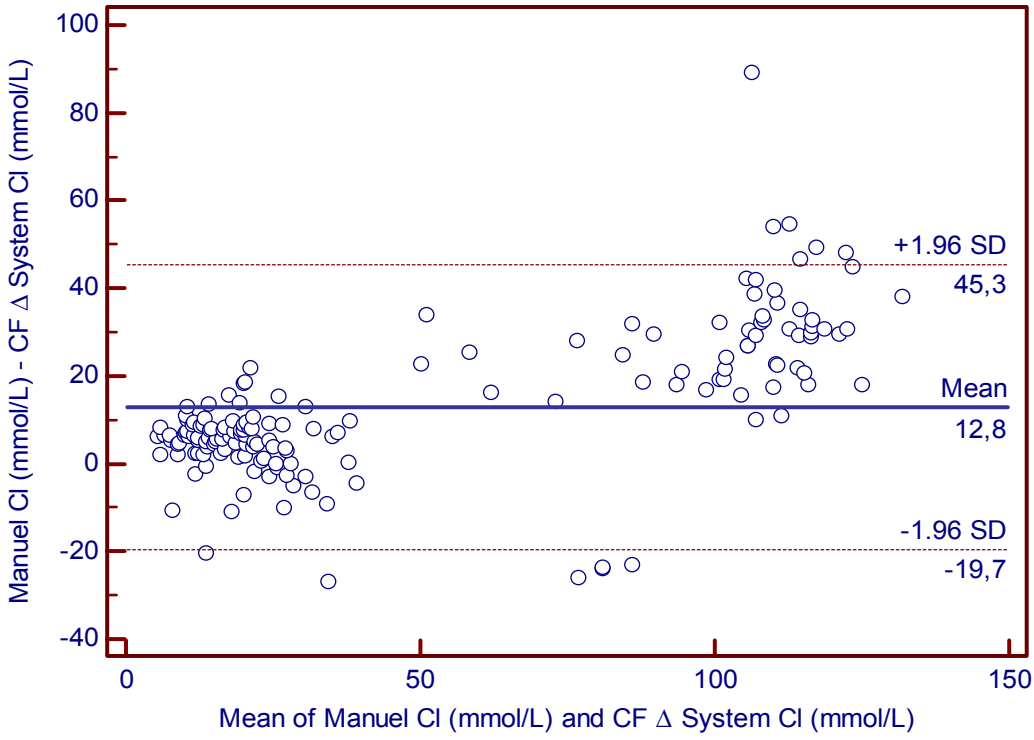
	Kontrol		**Hasta**	
	Medyan	**%25-75 persentil**	**Medyan**	**%25-75 persentil**
Manuel yöntem	21	15,5 - 26,1	123	108,7 - 131,6*
Sherwood kloridometre	13	9,0 - 18,0	100	92,5 - 108,0*
CF Δ Sistem	14.9	9,8 - 23,4	92.3	85,8 - 100,6*

* P<0.001, kontrol grubu ile hasta grubu karşılaştırıldığında

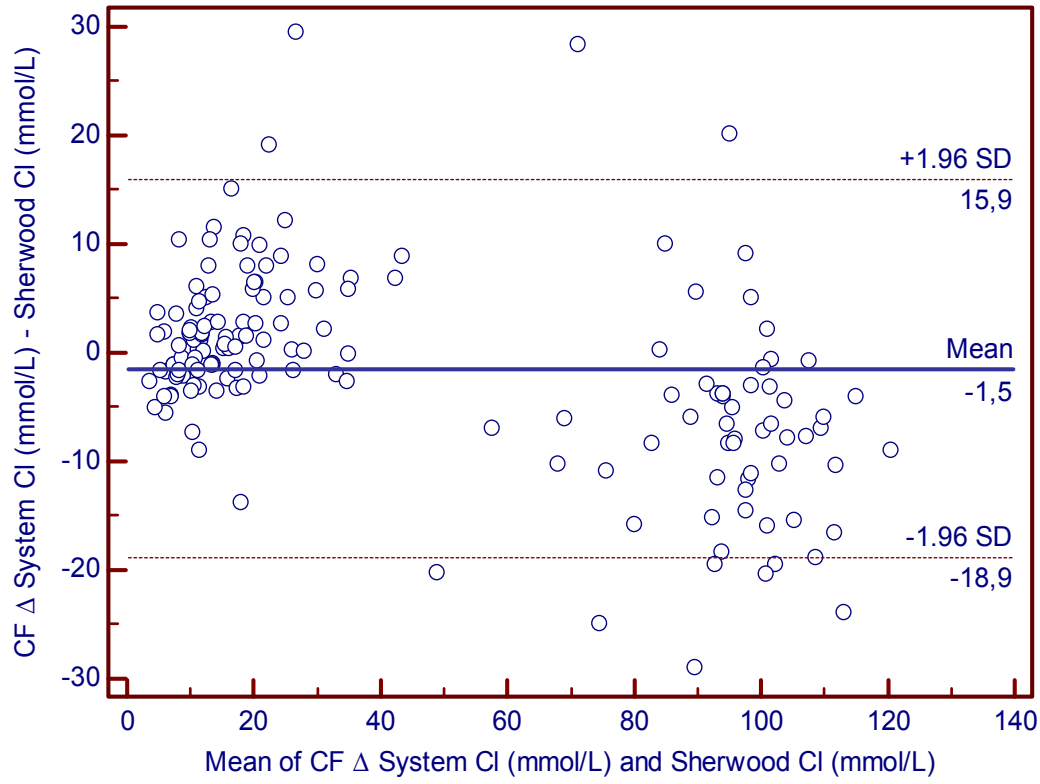
Farklı ölçüm tekniklerinin analizine ortalamalara karşı farkların saçılım grafiklerini (Bland-Altman) çizerek başladık. Manuel yöntem ile kloridimetrenin tüm gruplar için çizdirilen Bland-Altman grafiğine sağlıklı grup ile hasta grubu arasında görsel olarak bir fark izlendi. Ter klor ölçümünün 60 mmol/L'nin altında olduğu grupta manuel yöntemin daha yüksek okuduğu görüldü (Şekil 8). Manuel yöntem ile kulometrik 'end point' yöntemin karşılaştırılmasında da tüm gruplar incelendiğinde sağlıklı ve hasta grupları arasında fark olduğu, ancak sağlıklı grupta manuel yönteme göre kulometrik 'end point' yöntemin kloridometreye göre daha az farklı olduğu görüldü (Şekil 9). Kloridometre ve kulometrik 'end point' yöntemlerinin karşılaştırmasının ise her iki grupta da daha uyumlu olduğu görüldü (Şekil 10).



Şekil 8. Manuel yöntem ile kloridimetrenin tüm gruplar için çizdirilen Bland-Altman grafiği



Şekil 9. Manuel yöntem ile kulometrik 'end point' yöntemin tüm gruplar için çizdirilen Bland-Altman grafiği



Şekil 10. Kloridimetre ile kulometrik 'end point' yöntemin tüm gruplar için çizdirilen Bland-Altman grafiği

Nonparametrik bir lineer regresyon yöntemi olan Passing-Bablok ile yöntemlerin uyumu incelendi. Kistik fibrozis grubu verisi incelendiğinde yöntemlerin uyumlu olduğu, ancak manuel yönteme kıyasla kloridimetre ve kulometrik 'end point' yöntemin sabit olarak daha düşük okuduğu görüldü. Regresyonun doğrusallığı incelendiğinde en yüksek uyumun kloridimetrik ve kulometrik yöntemler arasında olduğu tespit edildi (Tablo 9). Manuel yöntemle ter klor ölçümünün 60 mmol/L'den düşük olduğu grup için yöntemlerin karşılaştırılmasında lineeriteden anlamlı bir sapma olmadığı görüldü (Tablo 1). Manuel yönteme göre kloridimetrik ve kulometrik yöntemlerin sabit olarak düşük okuduğu, kloridimetrik ve kulometrik yöntemlerin kendi aralarında ise kloridimetrik yöntem lehine pozitif biasa sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 9. Ter klor ölçümünün ≥60 mmol/L olduğu grup için her üç yöntemin karşılaştırıldığı Passing-Bablok regresyon analizi (n=62)

Yöntem	Kesişim	%95 GA	Eğim	%95 GA	Lineeriteden sapma
Manuel-Sherwood	17.26	-7.9 ile 37.7	0.68	0.51 ile 0.89	P=0.59
Manuel-CF Δ Sistem	8.6	-12.8 ile 29.5	0.7	0.53 ile 0.87	P=0.24
CF Δ Sistem-Sherwood	-3.56	-21.7 ile 13.9	1.1	0.93 ile 1.32	P=0.78

Lineeriteden sapma hiçbirinde anlamlı değildir.

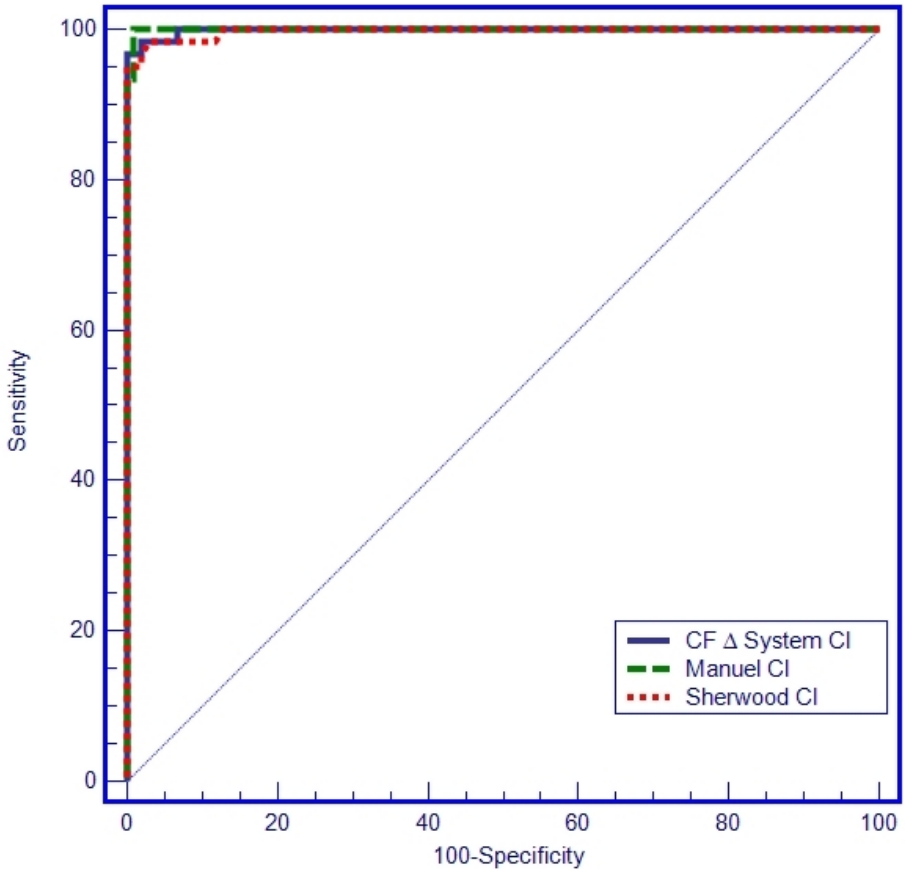
Tablo 10. Ter klor ölçümünün <60 mmol/L'den olduğu grup için her üç yöntemin karşılaştırıldığı Passing-Bablok regresyon analizi (n=100)

Yöntem	Kesişim	%95 GA	Eğim	%95 GA	Lineeriteden sapma
Manuel-Sherwood	-3.19	-6.24 ile -1.08	0.86	0.74 ile 1.0	P=0.17
Manuel-CF Δ Sistem	-8.29	-12.14 ile -5.47	1.16	0.99 ile 1.36	P=0.17
CF Δ Sistem-Sherwood	2.69	1.06 ile 3.88	0.77	0.68 ile 0.87	P=0.68

Lineeriteden sapma hiçbirinde anlamlı değildi.

Klinik olarak kistik fibrozis tanısı almış hastalar ve kontrol olgularında tanı için gereken klor eşik değerinin belirlenmesi için çizilen ROC eğrisinde Sherwood kloridometre ölçümleri, 61 mmol/L'lik bir cut-off değeri için %95 sensitivite ve %100 spesifite ile sonuçlandı (AUC: 0.997; %95 Cl: 0.972-1.000; P<0.001). Aynı şekilde, konduktivite ölçümleri, 54.1 mmol/L'lik bir cut-off değeri için %96.67 sensitivite ve %100 spesifite ile sonuçlandı (AUC: 0.999; %95 Cl: 0.975-1.00, P<0.001). Manuel yöntemle yapılan

ölçümlerde ise, 61.5 mmol/L'lik bir cut-off değeri için %100 sensitivite ve %99.02 spesifite olarak belirlendi (AUC: 0.999; %95 Cl: 0.976-1.000, P<0.001) (Şekil 11).



Şekil 11. Kistik fibrozis hastaları ile kontrol olgularında tanı için gerekli klor eşik değerinin belirlenmesi amacıyla çizilen ROC eğrisi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kistik fibrozis, erkek ve kadınlarda eşit oranda görülen ve görülme sıklığı toplumlar arasında farklılık gösteren, sistemik ve genetik geçişli bir hastalıktır. Hastalık tüm sistemlerdeki ekzokrin bezleri etkiler. Temel bozukluk, ter ve tükürük bezlerinde, trakeobronşiyal ağaç, kalın barsak ve pankreasa ait ekzokrin bezlerde anormal yapıda salgıların oluşmasıdır. Sık görülmesi, ölüme yol açması, aile ile topluma getirdiği finansal yük gibi sebeplerden dolayı kistik fibrozis önemli bir hastalık ve toplum sağlığı sorunudur. Hastalık ilerledikten ve birden çok organı tuttuktan sonra tedavinin maliyeti artmakta, faydası ise sınırlı olmaktadır. Bu nedenle, tüm hastalıklarda olduğu gibi kistik fibrozis'te de erken tanı çok büyük önem kazanmaktadır. Kistik fibrozis tanısı, klinik bulgular, laboratuvar testleri ve genetik testler ile konulmaktadır. 1970'li yıllara kadar KF tanısının akciğerin yapısal bozukluklarının radyolojik olarak görüntülenmesi ve pankreas fonksiyon bozukluğunun laboratuvar sonuçları ile gösterilmesi gibi klinik kanıtlarla konulabileceğine inanılıyordu. Günümüzde hem tanı, hem de tarama amacıyla kullanılan ter testinin ise, sadece doğrulama amaçlı olarak kullanılabileceği görüşü, o yıllarda yaygın kabul görmekteydi. Ter testi, uygun ekipman ve eğitimli personel bulunması durumunda kolayca uygulanabilen bir testtir. Terde kantitatif klor ölçümü, kistik fibrozis tanısı için altın standart testtir. Bu test ilk kez 1959'da tanımlanmıştır (47). Terde iletkenlik ölçümü ve sonuçların terde kantitatif klor sonuçlarına uyarlanması fikri ise ilk olarak 1957 yılında Licht ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Kolay uygulanabilirliği ve görece ucuz maliyeti nedeniyle bu konu ilerleyen yıllarda ilgi görmeye devam etmiş ve bir çok çalışmada yer almıştır. Bizim çalışmamızda da, kantitatif sodyum ve klor ölçümlerinin yanısıra kondüktivite de ölçülmüş, ve hem kondüktivite-kantitatif elektrolit sonuçları, hem analitik yöntemler ile kullanılan cihazlar birbirleriyle karşılaştırılmıştır. 40, 70 ve 130 mmol/L konsantrasyonlarında klor içeren hazır ticari kontrol örnekleri kullanılarak elde edilen sonuçlarla her üç yöntem için 'çalışma içi' ve 'çalışmalararası' kesinlik değişimleri belirlenmiş ve bu değişimler tablo halinde sunulmuştur. Yine 40, 70 ve 130 mmol/L konsantrasyonlarında klor içeren hazır ticari kontrol örnekleri kullanılarak her üç yöntem bias (=hata) açısından karşılaştırılıp doğrululuk çalışması gerçekleştirilmiştir.

1951 yılında fizyolog Bazett ve arkadaşları (55), 1956'da ise Schwartz ve arkadaşlarının (56) yaptığı araştırmalar da içinde olmak üzere ısıyla uyarılmış ter bezlerinin salgısındaki elektrolit içeriği bir çok çalışmada araştırılmıştır (57). Normal terin

kompozisyonu ise 1954 yılında fizyolog Robinson S. ve arkadaşları ile yine aynı yılda Rothman ve arkadaşları tarafından araştırılıp ortaya konmuştur. Bu araştırmada sağlıklı gönüllüler kullanılmış ve terin kompozisyonunda değişikliğe yol açabilecek faktörler de göz önünde bulundurulmuştur. Bu faktörler, terleme periyodunun süresi, terleme hızı, nem, vücut sıcaklığı, hidrasyon durumu, iklim uyumu, tuz alımı, ısı uyaranının tipi, ter toplama yöntemi ve analitik prosedürün güvenilirliği olarak sıralanmaktadır (57). 1953 ile 1955 yılları arasında Sant'Agnese ve arkadaşları, kistik fibrozis hastalığında terde sodyum, klor ve potasyumun yüksekliğini gösteren bir dizi çalışma yapmışlardır. 1939 yılında Mac Innes ve arkadaşlarıyla başlayan 1949, 1951, 1952 ve 1954 yıllarında da sırasıyla Shedlovsky, Wilard, Mac Dougall ve Ewing ile devam eden bir dizi araştırmanın konusu ise terde kondüktivite (=iletkenlik) ölçümünün kantitatif elektrolit ölçümünün yerini tutup tutmayacağı idi. Çünkü o dönemin modern elektrolit kondüktivite köprüleri daha düşük maliyetle, basit ve hızlı bir şekilde ve %99 doğrulukla terin iletkenliğini ölçmekteydi; ayrıca ölçüm için kullanılan solüsyon tükenmemekte ve ölçümlerden etkilenmeyerek, sonraki ölçümlerde de kullanılabilmekteydi. Bu konuyla ilgili mükemmel derlemeler ve ortaya çıkabilecek analitik sorunların çözümleri ile ilgili yayınlar mevcuttur (57). Ancak, iletkenlik sonuçlarınının kantitatif analiz sonuçlarına uyarlanması sınırlı oranda mümkün olabilmektedir. Bunu sebebi ise terde birden fazla elektrolitin bulunması ve bunun yol açtığı yorumlama zorluğudur. Tüm bu zorluklara rağmen bu konu ilgi çekmeye devam etmiş ve 1955 yılında Lundgren ve arkadaşları sağlıklı erkek yetişkinlerle yaptıkları bir çalışmada terin sodyum ve klor değerleri ile iletkenliği arasında güçlü bir korelasyon saptamışlardır. La Veen ise yine aynı yıl, kimyasal uyarıyla elde edilmiş terde iletkenlik ölçümü yapan bir mikro metod rapor etmiştir (57).

Terin elektriksel kondüktivitesinin ölçümünden yola çıkılarak kistik fibrozis hastası olanlarla olmayanları ayırabilmek amacıyla yapılan ilk çalışma, Licht ve arkadaşlarının 1957 yılında yaptıkları çalışmadır. Bu çalışmada saptanan iletkenlik, bir çok değişkene bağlı olarak ortaya çıkmıştır. Bu değişkenler, solüsyonda mevcut olan iyonların türleri, iyon konsantrasyonu, sıcaklık ve kondüktivite hücresinin geometrik şeklidir. Eğer sabit bir sıcaklık ve uygun düzenek hazırlanırsa, kondüktans ölçümü terde bulunan iyonların konsantrasyonu hakkında bilgi verebilir. Bu çalışmanın ter toplama prosedürü Schwahman tarafından ortaya konmuş olup ana hatlarıyla şu şekildedir: Önce terin toplanacağı alan distile su ile yıkanır, kuru ağırlığı bilinen bir ped bantlarla omuz arka bölgesine bağlanır ve üzeri plastik bir streçle kaplanır. Daha sonra hasta plastik bir ter

poşetinin içine konulur ve poşet boyun bölgesinden kapatıldıktan sonra hasta battaniyelerle örtülür. Yeterli miktarda (yaklaşık 1 gr) ter toplanana kadar beklenir. Bu bekleme süresi hastadan hastaya farklılık gösterir. Ortalama 45 dakika olmasına rağmen 20 dakikada bittiği veya 2 saate kadar uzadığı da görülmüştür. Ter toplama işlemi bittikten sonra hasta içinde bulunduğu durumdan çıkartılır, ped yerinden alınıp bir kaba sıkılır ve kabın önceki ağırlığı ile sonraki ağırlığı arasındaki fark, toplanan ter miktarı olarak kaydedilir. Kaptaki terin üzerine 20 ml distile su eklenir ve oluşan solüsyon ölçülmeye hazır hale getirilmiş olur. Bu solüsyonun içindeki elektrolit miktarı kondüktivite hücresi denilen özel düzenek ve potasyum klorür, sodyum klorür standartları ile mix standartlar kullanılarak ölçülür. Bu çalışmanın sonunda sıcaklık ile uyarılmış terin elektriksel kondüktivitesinin ölçümünde yeni bir metod tanımlanmıştır. Ancak sonuçlar kantitatif klor ve/veya sodyum ölçümünün kistik fibrozis tanısında daha güvenilir olduğunu da ortaya koymuştur (57).

Hulstein JJ ve arkadaşları (58), geleneksel ter ölçüm yöntemlerinin yanında iki farklı klinik kimya platformunda-Dimension Vista (Siemens, Almanya) ve Aeroset (Abbott Laboratuvarları, ABD)-indirekt iyon selektif elektrot yöntemi ile de terde sodyum ve klor ölçmüşler ve bu verileri kistik fibrozis tanı protokolüne eklemişlerdir. Araştırmacılar bu yöntemin klasik ter analiz yöntemleriyle uyumlu sonuçlar verdiğini ve buna ek olarak, klasik yöntemlerden daha basit ve kolay uygulanabilir bir yöntem olduğunu ileri sürmektedirler.

Nguyen-Khoa T. ve arkadaşları (59) çalışmalarında terde ölçülen klor konsantrasyonunun kistik fibrozis tanısında anahtar bir basamak olduğunu ve kulometrik yöntemin hem uluslararası kabul görmüş, hem de kılavuzlara girmiş bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Araştırıcılar aynı çalışmalarında kulometrik yöntem (Chloride Analyser Sherwood 926S, Birleşik Krallık) ile tek kullanımlık kasetleri kullanarak terdeki klor miktarını ölçen direkt potansiyometre yöntemini (Spotchem SE EL-1520, Elitech-Arkray, ABD) karşılaştırmışlardır. Ayrıca terin iletkenliğini bir başka cihazla (Sweat-Check 3100, Wescor, ABD) ölçerek klor iyonlarının miktarı ile terin iletkenliği arasındaki ilişkiyi doğrulamaya çalışmışlardır. Toplanan 139 ter örneğinin 99'unda üç yöntemle iletkenlik ve klor iyon miktarı ölçülmüş, elde edilen sonuçlar iletkenlik ile klor miktarı arasında güçlü bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar ayrıca direkt potansiyometre yönteminin hızlılığı ve kolay uygulanabilirliği yanında tekniğin uygulayıcıdan bağımsız ve point-of care kullanıma imkan tanıyan bir yöntem olduğunu da ortaya koymuşlardır.

ME ve arkadaşları, 57'si kistik fibrozis hastası olan 211 adet bebek ve çocuktan, sodyum, klor, osmolalite ve kondüktivite ölçümü yapmak amacıyla ter toplamışlardır. Çalışmalarının amacı terdeki iyonlarla katı maddelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin, kistik fibrozis tanısında spesifik elektrolit ölçümlerine göre daha az etkin olduğunu göstermektir. Her hastadan bir kez olmak üzere macroduct yöntemiyle ter toplamışlardır. Çalışmalarının sonucunda sodyum ve osmolalite ölçümünün klor ve kondüktivite ölçümüne göre kistik fibrozis tanısında daha az yardımcı olduğunu ortaya koymuşlar, ayrıca ter kondüktivitesinin kistik fibrozisin laboratuar tanısında klor ölçümü kadar değerli olduğunu ileri sürmüşlerdir. Nguyen-Khoa T. ve arkadaşları 2012 yılında ulusal bir kalite kontrol programının kullanıldığı 5 hastaneyi içine alan ve farklı analitik yöntemlerin birbirleriyle karşılaştırıldığı bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada araştırıcılar, ter toplarken pilokarpin iyontoforezi yoluyla ter bezlerini uyarmışlar, bu yolla topladıkları terde kolorimetrik veya kulometrik end-point titrasyon yöntemi ve klor selektif bir elektrotun kullanıldığı in situ direkt potansiyometri yöntemiyle mmol/L cinsinden klor ölçümü yapmışlardır. Çalışmalarının sonucunda, ter testinin kullanıcı hatalarına açık ve otomatize edilmesi zor bir test olduğunu öne sürmüşlerdir. Ayrıca bu çalışmanın sonuçları 60 mmol/L'nin üzerindeki sodyum klorür ekivalanı değerine sahip kişilerin, klinik belirtileri olmasa bile, kistik fibrozis tanısı almaları gerektiğini yönünde olmuştur. Lezana ve arkadaşları bu konuyla ilgili en geniş kapsamlı araştırmayı gerçekleştirmişler ve yaşları 1 ay ile 54 yıl arasında değişen 3834 hastada ter analizi yapmışlardır. Araştırmalarının sonucunda kistik fibrozis tanısı koyulabilecek en iyi iletkenlik cut-off değerinin 90 mmol/L ve üstü, tanıyı dışlayacak en iyi cut-off değerinin ise 75 mmol/L ve altı olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca iletkenlik değerleri ile klor konsantrasyonları arasında ilişki olduğunu da belirlemişlerdir. Cinel G. ve arkadaşları (60), terin iletkenliği ile terdeki klor konsantrasyonunun birbiriyle ilişkili olduğunu ve bu eşleşmenin kistik fibrozis tanısında değerli bir veri olduğunu, ancak iletkenlik ölçümünün tanı değil, sadece tarama amaçlı olarak kullanılabileceğini kabul eden görüşü baz alarak bu konuyla ilişkili bir araştırma yapmışlardır. 2012 yılında yaptıkları bu çalışma ile hem hastaların ter klor ölçümleri ve ter iletkenlik değerlerini karşılaştırmayı, hem de kistik fibrozis tanısı koyduracak ya da bu tanıyı dışlayacak bir iletkenlik eşik değeri belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışmaya 59 kistik fibrozis hastası (1.grup), yüksek ter testi sonucu olan ancak henüz tanı konulmamış 10 olgu (2.grup) ile kistik fibrozis hastalığı bulunmayan, 69 adet sağlıklı gönüllü (3.grup) dahil edilmiştir. Terde klor ölçümü Kantitatif Pilokarpin Iontoforezi (Gibson-Cooke yöntemi) ile sonrasında Schales and Schales yöntemiyle

manuel titrasyon ve Macroduct coil sistem ile sonrasında titrimetrik klor ölçümü (Sherwood klordimetre) yöntemleriyle yapılmıştır. İletkenlik sonuçlarının duyarlılık ve özgüllüğü ROC eğrisi çizilerek, iletkenlik ile ter klor değerleri arasındaki ilişki ise Spearman korelasyon analizi yapılarak değerlendirilmıştır. Ortalama iletkenlik değerleri, kistik fibrozis hasta grubu için 123 (64-157) mmol/L, şüpheli veya ara form olarak değerlendirilebilecek 10 hastadan oluşan grup için 75.1 (60-93) mmol/L ve kontrol grubu için 39 (18-83) mmol/L olarak ölçülmüştür. Ortalama klor değerleri ise yine aynı sırayla (1.grup, 2.grup ve 3.grup) 107.5 (35-166) mEq/L, 48 (42-76) mEq/L ve 25 (11-39) mEq/L olarak gerçekleşmiştir. Spearman korelasyon testine göre, tüm olgularda kondüktivite ile ter klor konsantrasyonları arasında güçlü bir korelasyon saptanmıştır. Çizdirilen ROC eğrisine göre kistik fibrozis tanısı koymak için en iyi 'kondüktivite cut-off değeri' 90 mmol/L, tanıyı dışlamak için kullanılabilecek en iyi kondüktivite cut-off değeri ise 70 mmol/L olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar, bu çalışmanın sonucunda kistik fibrozis tanısı koymak veya dışlamak amacıyla kondüktivite ölçmenin kantitatif klor ölçümü kadar güvenilir olduğunu ve sadece tarama için değil, aynı zamanda tanı amacıyla da kullanılanabileceğini öne sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda ise, birisi kantitatif klor ölçümü yapan yöntem, bir tanesi iletkenlik ölçmek suretiyle klor değeri belirleyen yöntem ve bir diğeri de NaCl elektronlarının sayısını ölçmek suretiyle klor değeri belirleyen yöntem olmak üzere 3 farklı yöntem kullanıldı. 40, 70 ve 130 mmol/L konsantrasyonlarında klor içeren hazır ticari kontrol örnekleri kullanılarak her üç yöntem için çalışma içi ve çalışmalararası kesinlikler belirlendi. Yine 40, 70 ve 130 mmol/L konsantrasyonlarında klor içeren hazır ticari kontrol örnekleri kullanılarak her üç yöntemin bias (=hata) açısından karşılaştırılması yapıldı ve bu suretle doğruluk çalışması gerçekleştirildi. Yapılan doğruluk ve kesinlik çalışmaları ile manuel yöntemin kullanıcı hatasına, diğer yöntemlere göre, daha açık olduğu gözlendi. İlk kez bu çalışmada yapılan bu analizler ve edilen sonuçlar paralelinde manuel yöntemin hataya daha açık olduğu gösterilmiş ve manuel yöntem kullanılarak yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıklar buna bağlanmıştır. Yine çalışmamızda 3 farklı yöntem ile klor ölçümleri gerçekleştirilmiş ve ilk kez farklar grafiği kullanılarak veriler görsel olarak karşılaştırıldı. Hasta ve kontrol gruplarında her üç yöntem ile elde edilen klor değerleri diğer çalışmalar ile benzerlik görüldü. Nonparametrik bir lineer regresyon yöntemi olan Passing-Bablok ile kistik fibrozis grubu verisi incelendiğinde yöntemlerin uyumlu olduğu, ancak manuel yönteme kıyasla kloridimetre ve kulometrik 'end point' yöntemin sabit

olarak daha düşük okuduğu da gösterildi. Regresyonun doğrusallığı incelendiğinde ise en yüksek uyumun kloridimetrik ve kulometrik yöntemler arasında olduğu tespit edildi.

Amerikan Kistik Fibrozis Derneği'nin iletkenlik yöntemi ile terde klor ölçümünün sadece tarama amaçlı olarak kullanabileceğini belirtmesine rağmen Cinel ve arkadaşlarının çalışmasına benzer şekilde biz de çalışmamızda iletkenlik yöntemi ile klor ölçumünün tanısal değerliliğini gösterdik. Klinik olarak kistik fibrozis tanısı almış hastalar ve kontrol olgularında tanı için gereken klor eşik değerinin belirlenmesi için çizilen ROC eğrisinde Sherwood Kloridometre ölçümleri, 61 mmol/L'lik bir cut-off değeri için %95 sensitivite ve %100 spesifite ile sonuçlandı (AUC: 0.997; %95 Cl: 0.972-1.000; P<0.001). Aynı şekilde, konduktivite ölçümleri, 54.1 mmol/L'lik bir cut-off değeri için %96.67 sensitivite ve %100 spesifite ile sonuçlandı (AUC: 0.999; %95 Cl: 0.975-1.00, P<0.001). Manuel yöntemle yapılan ölçümlerde ise, 61.5 mmol/L'lik bir cut-off değeri için %100 sensitivite ve %99.02 spesifite olarak belirlendi (AUC: 0.999; %95 Cl: 0.976-1.000, P<0.001). Bu veriler her üç yönteminde tanısal değerlilik açısından tatminkar olduğunu ve iletkenlik testinin klor konsantrasyonu ölçümleri gibi tani amaçlı olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, kistik fibrozisli ve sağlıklı Türk çocuklarında hem her üç yöntemin kullanılarak tanısal değerliliklerinin karşılaştırıldığı, hem de doğruluk ve kesinlik çalışmalarının yapıldığı ilk çalışma olan çalışmamız sonucunda manuel yöntemin kullanıcı hatasına, diğer yöntemlere göre, daha açık olduğu gözlenmiş ve kullanıcıların bu konuda dikkatli olması gerektiği vurgulanmıştır. Ayrıca, iletkenlik ölçümünün klor ölçümüne dayanan diğer yöntemler ile uyumlu olduğu gösterilmiş ve tanısal değerliliği ortaya konarak sadece tarama değil, tanı aracı olarak da kullanılabileceği vurgulanmıştır.

6. KAYNAKLAR

(1) Busch R. Historical aspects of cystic fibrosis. Wiss. Z. Univ Rostok Report. 1986.

(2) Busch R. Cystic fibrosis in the XIX century. Arch Hist Filoz Med 1987;50(3):427-34.

(3) Busch R. On the history of cystic fibrosis. Acta Univ Carol Med (Praha) 1990;36(1-4):13-5.

(4) Paul M.Quinton. Physiological Basis of Cystic Fibrosis: A Historical Perspective . Physıologıcal Revıews 1999;79.1: 3-22. 2014.

(5) Welsh MJ, Smith AE. Cystic fibrosis. Sci Am 1995 Dec;273(6):52-9.

(6) Andersen D.H. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease. Am.J.Dis.Child. 1938;56: 344-99.

(7) Farber S. Pancreatic insufficiency and the celiac syndrome. N Engl J Med 1943;229: 653-682.

(8) Andersen DH, Hodges RG. Celiac syndrome; genetics of cystic fibrosis of the pancreas, with a consideration of etiology. Am J Dis Child 1946 Jul;72:62-80.

(9) Di Sant' Agnese PA. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas: clinical implications and relationship to the disease. Pediatrics 1953;12: 549-63.

(10) Kuo PT, Huang NN. The effect of medium chain triglyceride upon fat absorption and plasma lipid and depot fat of children with cystic fibrosis of the pancreas. J Clin Invest 1965 Nov;44(11):1924-33.

(11) Strandvik B, Gronowitz E, Enlund F, Martinsson T, Wahlstrom J. Essential fatty acid deficiency in relation to genotype in patients with cystic fibrosis. J Pediatr 2001 Nov;139(5):650-5.

(12) Chase HP, Dupont J. Abnormal levels of prostaglandins and fatty acids in blood of children with cystic fibrosis. Lancet 1978 Jul 29;2(8083):236-8.

(13) Quinton PM. Chloride impermeability in cystic fibrosis. Nature 1983 Feb 3;301(5899):421-2.

(14) Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. Science 1989 Sep 8;245(4922):1073-80.

(15) Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. Science 1989 Sep 8;245(4922):1059-65.

(16) Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. Science 1989 Sep 8;245(4922):1066-73.

(17) Fitz Simmons SC. The changing epidemiology of cystic fibrosis. J Pediatr 1993;122 : 1-9.

(18) Moss RB. Cystic fibrosis: pathogenesis, pulmonary infection, and treatment. Clin Infect Dis 1995 Oct;21(4):839-49.

(19) Türk Toraks Dergisi. 12[2], 01-03. 2011.

(20) Bradbury NA, Jilling T, Berta G, Sorscher EJ, Bridges RJ, Kirk KL. Regulation of plasma membrane recycling by CFTR. Science 1992 Apr 24;256(5056):530-2.

(21) Castellani C, Cuppens H, Macek M, Jr., Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. J Cyst Fibros 2008 May;7(3):179-96.

(22) Dodge JA. Why screen for cystic fibrosis? A clinician's view. Acta Paediatr Suppl 1999;88(432):28-32.

(23) Gadsby DC, Vergani P, Csanady L. The ABC protein turned chloride channel whose failure causes cystic fibrosis. Nature 2006;440(7083):477-83.

(24) Le Drevo MA, Benz N, Kerbiriou M, Giroux-Metges MA, Pennec JP, Trouve P, et al. Annexin A5 increases the cell surface expression and the chloride channel function of the DeltaF508-cystic fibrosis transmembrane regulator. Biochim Biophys Acta 2008;1782(10):605-14.

(25) Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. Science 1989;245(4922):1059-65.

(26) Dong Q, Randak CO, Welsh MJ. A mutation in CFTR modifies the effects of the adenylate kinase inhibitor Ap5A on channel gating. Biophys J 2008 Dec;95(11):5178-85.

(27) Leal T, Fajac I, Wallace HL, Lebecque P, Lebacq J, Hubert D, et al. Airway ion transport impacts on disease presentation and severity in cystic fibrosis. Clin Biochem 2008 Jul;41(10-11):764-72.

(28) Riordan JR. CFTR function and prospects for therapy. Annu Rev Biochem 2008;77:701-26.

(29) Michoud MC, Robert R, Hassan M, Moynihan B, Haston C, Govindaraju V, et al. Role of the cystic fibrosis transmembrane conductance channel in human airway smooth muscle. Am J Respir Cell Mol Biol 2009 Feb;40(2):217-22.

(30) Groscurth P. Anatomy of sweat glands. Curr Probl Dermatol 2002;30:1-9.

(31) Holzle E. Pathophysiology of sweating. Curr Probl Dermatol 2002;30:10-22.

(32) Türk Toraks Derneği Kistik Fibrozis Tanı ve Tedavi Rehberi. 2011.

(33) Merck Manual 13. edition. 594-597.

(34) Khan TZ, Wagener JS, Bost T, Martinez J, Accurso FJ, Riches DW. Early pulmonary inflammation in infants with cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 1995;151(4):1075-82.

(35) Weber AJ, Soong G, Bryan R, Saba S, Prince A. Activation of NF-kappaB in airway epithelial cells is dependent on CFTR trafficking and Cl- channel function. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2001;281(1):L71-L78.

(36) Griese M, Kappler M, Gaggar A, Hartl D. Inhibition of airway proteases in cystic fibrosis lung disease. Eur Respir J 2008;32(3):783-95.

(37) Jacquot J, Tabary O, Clement A. Hyperinflammation in airways of cystic fibrosis patients: what's new? Expert Rev Mol Diagn 2008;8(4):359-63.

(38) Krysa J, Steger A. Pancreas and cystic fibrosis: the implications of increased survival in cystic fibrosis. Pancreatology 2007;7(5-6):447-50.

(39) Dodge JA, Turck D. Cystic fibrosis: nutritional consequences and management. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2006;20(3):531-46.

(40) Richard S.Fraser MD., Nestor L.Muller MD PhD, Neil C.Colman M., P.D.Pare MD. Fraser and Pare's Diagnosis of Diseases of the Chest . 1208-1219. 1990.

(41) De BK, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J, et al. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. Thorax 2006;61(7):627-35.

(42) Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, et al. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. J Pediatr 2008;153(2):S4-S14.

(43) Robert F.Mueller, Ian D.Young Alan E.H.Emery. Emery's Elements of Medical Genetics. 233-243. 1997.

(44) Özçelik U., Kiper N., Göçmen A. Solunum Sistemi Hastalıklarında Prenatal Tanı. In: Beksac MS, ed: Fetal Tıp; Prenatal Tanı. Ankara: Medical Network. 1995; 182-183.

(45) Brock DJ, Bedgood D, Barron L, Hayward C. Prospective prenatal diagnosis of cystic fibrosis. Lancet 1985;1(8439):1175-8.

(46) Monaghan KG, Feldman GL. The risk of cystic fibrosis with prenatally detected echogenic bowel in an ethnically and racially diverse North American population. Prenat Diagn 1999;19(7):604-9.

(47) Mattar AC, Leone C, Rodrigues JC, Adde FV. Sweat conductivity: An accurate diagnostic test for cystic fibrosis? J Cyst Fibros 2014.

(48) De BK, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J, et al. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. Thorax 2006;61(7):627-35.

(49) Lezana JL, Vargas MH, Karam-Bechara J, Aldana RS, Furuya ME. Sweat conductivity and chloride titration for cystic fibrosis diagnosis in 3834 subjects. J Cyst Fibros 2003;2(1):1-7.

(50) Alves CA, et al. Diabetes mellitus in patients with cystic fibrosis. J Bras Pneumol 2007;33.2:213-21.

(51) Akata D, Akhan O. Liver manifestations of cystic fibrosis. European Journal of Radiology 2007;61:11-17.

(52) Dodge JA. Cystic fibrosis: Nutritional consequences and management. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 2006;20.3:531-46.

(53) Pencharz P.B., Durıe P.R. Pathogenesis of malnutrition in cystic fibrosis, and its treatment . Clinical Nutrition 2000;19.6:387-94.

(54) Patel L., Dixon M. Growth and growth charts in cystic fibrosis Journal of the Royal Society of Medicine 2003; 96.43:35–41.

(55) Bazett, H. C., J. Applied Physiology 4, 245(1951).

(56) Schwartz, I.L., and Thayson, J. H., J. Clin. Invest. 35, 114 (1956).

(57) Licht and Schwahman, Measurment of the Electrical Conductivity of Sweat, Clin. Chem. 1957 Feb; 3(1): 37-48

(58) Sweat analysis using indirect ion-selective electrode on the routine chemistry analyser meets UK guidelines Hulstein JJ. Ann Clin Biochem 2011 Jul; 48:374-6

(59) Sweat chloride measurement using direct potentiometry, Nguyen-Khoa T, Borgard JP, Milled R, Rota M. Ann Biol. Clin (Paris). 2013 Jul-Aug; 71(4): 443-8

(60) Sweat conductivity test: can it replace chloride titration for cystic fibrosis diagnosis? The Turkish Journal of Pediatrics 2012; 54: 576-582