

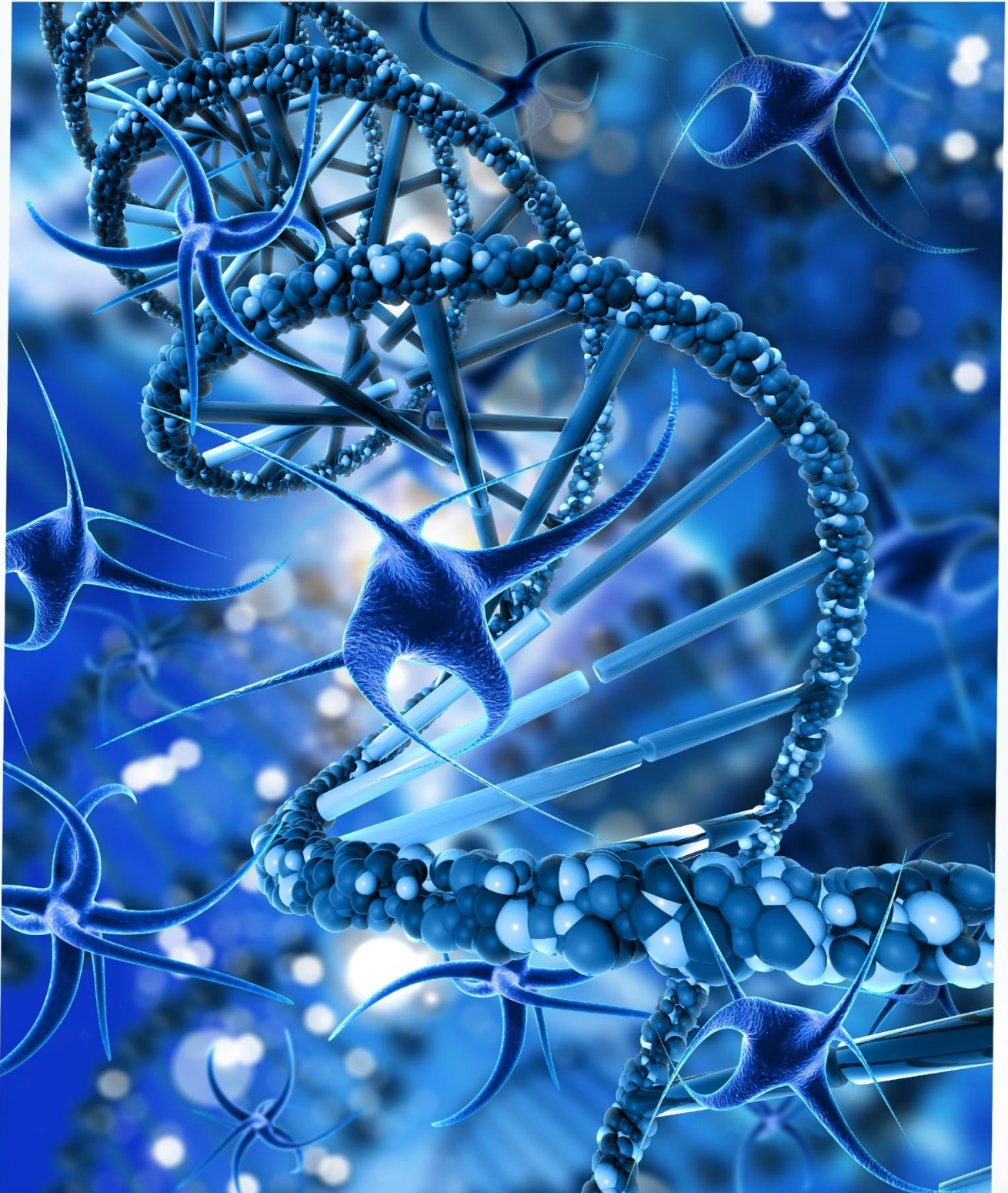


FARABI TIP DERGİSİ

FARABI MEDICAL JOURNAL

VOLUME 4 · ISSUE 2 · June 2025

CİLT 4 · SAYI 2 · Haziran 2025



e-ISSN:2979-9821

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/farabimedj>

FARABİ MEDICAL JOURNAL

FARABİ TIP DERGİSİ

OFFICIAL JOURNAL OF FACULTY OF MEDICINE OF KARADENİZ TECHNICAL UNIVERSITY
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ RESMİ DERGİSİ

Journal Owner / İmtiyaz Sahibi

Sevdegül AYDIN MUNGAN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Editor / Editör

Ahmet MENTEŞE, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Associated Editor / Editör Yardımcısı

Selim DEMİR, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Section Editors / Alan Editörleri

Ahmet EROĞLU, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Arzu ERDEN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Esin YULUĞ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Gülin RENDA, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Gürdal YILMAZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Murat LİVAOĞLU, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Mustafa KANDAZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Özlem KANBER UZUN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Songül AKTAŞ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Tamer TÜZÜNER, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Statistics Editor / İstatistik Editörü

Zeliha AYDIN KASAP, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Language Editors / Dil Editörleri

İsmail ABİDİN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Fulya BALABAN YÜCESAN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Advisory Board / Danışma Kurulu

Abdülbaki AGBAS, Kansas City University, Kansas, USA

Ali AYGÜN, Ordu University, Ordu, TR

Başak ARU, Yeditepe University, İstanbul, TR

Başak TOĞAR, Bayburt University, Bayburt, TR

Burhan Hakan KANAT, Malatya Turgut Özal University, Malatya, TR

Cihan Süleyman ERDOĞAN, Yeditepe University, İstanbul, TR

Didem SEVEN, Yeditepe University, İstanbul, TR

Diler US ALTAY, Ordu University, Ordu, TR

Giuseppe BIAGINI, University of Modena and Reggio Emilia, Modena, IT

Gül BÜLBÜL MARAŞ, İzmir Demokrasi University, İzmir, TR

İbrahim TURAN, University of Health Science, Ankara, TR

Karolin YANAR, İstanbul University-Cerrahpasa, İstanbul, TR

Müge KOPUZ ALVAREZ NOVAL, Yeditepe University, İstanbul, TR

Nurcan KIRICI BERBER, Malatya Turgut Özal University, Malatya, TR

Savaş YAYLI, Koç University, İstanbul, TR

Seda GÜLEÇ YILMAZ, Yeditepe University, İstanbul, TR

Sevim GÖNEN, Gazi University, Ankara, TR

Süha TÜRKMEN, Qatar University, Doha, QA

Süleyman TÜREDİ, University of Health Science, Trabzon, TR

Şükrü KELEŞ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Volkan ERGİN, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

Zehra BATU, İzmir Demokrasi University, İzmir, TR

Bibliographical Advising / Bibliyografik Danışman

Beyhan KARPUZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Design / Tasarım

Gonca ARSLAN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Journal Communication / Dergi İletişim

Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Farabi Street, 61080, Trabzon, Türkiye.

e-mail: farabimedj@ktu.edu.tr

e-ISSN: 2979-9821

This journal is peer-reviewed and published 4 issues per year.

There is no charge for submitting and publishing articles to our journal.

Hakemli bir dergi olup yılda 4 sayı olarak yayımlanmaktadır.

Dergimize makale göndermek ve yayımlamak için herhangi bir ücret talep edilmemektedir.

Issue Content / Sayı İÇeriği

Research Articles / Araştırma Makaleleri

Sevim Sahin, Nihal Yıldız, Gulnur Esenulku, Pinar Ozkan-Kart, Tulay Kamasak, Ahmet Kagan Ozkaya, Suleyman Caner Karahan, Ali Cansu
Serum Calcium Levels, Erythrocyte Indices, and Associated Factors in Children with Febrile Seizures
(*Febril Konvülsiyonlu Çocuklarda Serum Kalsiyum Düzeyleri, Eritrosit İndeksleri ve İlişkili Faktörler*)__17-26

Humeyra Hancer Tok, Lutfiye Nur Uzun, Makbule Tokur Kesgin
A Study on Nursing Students' Health Perception, E-Health Literacy and Cyberchondria in The Digital Age
(*Dijital Çağda Hemşirelik Öğrencilerinin Sağlık Algısı, E-Sağlık Okuryazarlığı ve Siberkondri Durumlarının İncelenmesi*)__27-33

Case Reports / Olgu Sunumları

Sami Acar, Cagil Karaevli
Premalignant Villous Adenoma Accompanying Irreducible External Rectal Prolapse
(*İrredüktable Eksternal Rektal Prolapsusa Eşlik Eden Premalign Villöz Adenom*)__34-39

Review / Derleme

Sinan Tetikoğlu, Funda Bilgili Tetikoğlu, Selcen Çelik Uzuner
Moleküler Biyoloji Yöntemlerinin Tıbbi Laboratuvarda Güncel Kullanımı
(*Current Use of Molecular Biology Methods in Medical Laboratory*)__40-53

Issue Reviewers / Sayı Hakemleri

Akile ZENGİN, Eskişehir Osmangazi University, Eskişehir, TR

Betül Diler DURGUT, Giresun University, Giresun, TR

Büşra ALTINEL, Selçuk University, Konya, TR

Eda KILINÇ İŞLEYEN, Uşak University, Uşak, TR

Gülten GÜLEŞEN, University of Health Sciences, İstanbul, TR

Hatice Sevim NALKIRAN, Recep Tayyip Erdoğan University, Rize, TR

Mehmet GÜMER, Harran University, Şanlıurfa, TR

Mehmet ULUŞAHİN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Serap ÖZER YAMAN, University of Health Sciences, Trabzon, TR

Sinan ELİAÇIK, Hitit University, Çorum, TR

Serum Calcium Levels, Erythrocyte Indices, and Associated Factors in Children with Febrile Seizures

Febril Konvülsiyonlu Çocuklarda Serum Kalsiyum Düzeyleri, Eritrosit İndeksleri ve İlişkili Faktörler

Sevim Sahin^{1,a,*}, Nihal Yildiz^{2,b}, Gulnur Esenulku^{3,c}, Pinar Ozkan-Kart^{4,d}, Tulay Kamasak^{1,e}, Ahmet Kagan Ozkaya^{5,f}, Suleyman Caner Karahan^{6,g}, Ali Cansu^{1,h}

¹Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Division of Pediatric Neurology, Trabzon, Türkiye.

²Bülent Ecevit University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Division of Pediatric Neurology, Zonguldak, Türkiye.

³Imperial Hospital, Division of Pediatric Neurology, Trabzon, Türkiye.

⁴Trabzon Kanuni Training and Research Hospital, Department of Pediatrics, Division of Pediatric Neurology, Trabzon, Türkiye.

⁵Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Division of Pediatric Emergency, Trabzon, Türkiye.

⁶Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Trabzon, Türkiye.

*Corresponding author e-mail: sevimsahin1@yahoo.com

^a<https://orcid.org/0000-0001-5415-5874>

^b<https://orcid.org/0000-0003-0989-842X>

^c<https://orcid.org/0000-0002-9423-6078>

^d<https://orcid.org/0000-0001-5726-737X>

^e<https://orcid.org/0000-0002-5212-0149>

^f<https://orcid.org/0000-0003-3562-6495>

^g<https://orcid.org/0000-0001-5091-081X>

^h<https://orcid.org/0000-0002-1930-6312>

ABSTRACT

Febrile seizures (FS) are the most common seizures in childhood. In most studies, iron deficiency was associated with FS, whereas serum calcium (Ca) levels were contradictory. This study evaluated the relationships of erythrocyte indices, serum Ca levels, and related factors among children with FS. Prospectively, patients aged six months to five years were included in the complex FS (n=23), simple FS (n=22) and febrile without seizure groups (n=25). Patients with central nervous system infection, previous afebrile seizures, or chronic drug use were excluded. Total and ionized Ca, inorganic phosphate, vitamin D levels, erythrocyte count and indices, hemoglobin, hematocrit, pH, bicarbonate and lactate levels in blood were examined. The cutoff values of variables discriminating between the FS and control groups were established through receiver operating characteristic analysis. In the complex FS group, Ca and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) levels were lower than those in the control group (p=0.004 for both) and albumin levels were lower than those in the simple FS group (p=0.02). Ca levels were positively correlated with MCHC (r=0.252, p=0.039). In the FS group, the proportions of MCHC<34.1 g/dL, Ca<9.9 mg/dL, ionized Ca<1.27 mmol/L and pH<7.38 were more frequent (p=0.003, p=0.005, p=0.044 and p=0.035 respectively). Lower Ca and MCHC levels were associated with FS. The positive correlation between Ca and MCHC levels indicates a common pathogenetic mechanism. To our knowledge, the increased proportion of patients with low blood pH level in FS is a novel finding.

Keywords: Blood pH, Calcium, Febrile seizure, MCHC, Vitamin D

ÖZET

Febril konvülsiyonlar (FK), çocukluk çağının en sık nöbetleridir. Çoğu çalışmada, FK ile demir eksikliği arasında ilişki bulunurken serum kalsiyum (Ca) düzeylerine ilişkin sonuçlar çelişkilidir. Bu çalışmada, eritrosit indeksleri, serum Ca düzeyleri ve bunu etkileyebilecek faktörlerin FK'daki tutulumu incelenmiştir. Prospektif olarak, altı ay-beş yaş arası hastalar komplike FK (n=23), basit FK (n=22) ve nöbet olmaksızın ateşli kontrol grubuna (n=25) alındı. Merkezi sinir sistemi enfeksiyonu, afebril nöbet öyküsü ve kronik ilaç kullanımı olanlar dışlandı. Serumda total ve iyonize Ca, inorganik fosfat, D vitamini düzeyleri, kanda eritrosit sayısı ve indeksleri, hemoglobin, hematokrit, pH, bikarbonat ve laktat düzeyleri incelendi. FK ve kontrol grubu ayrımında verilerin optimal kesme değerlerinin belirlenmesinde 'alıcı çalışma karakteristiği' analizi kullanıldı. Komplike FK grubunda Ca ve ortalama korpusküler hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) düzeyi kontrol grubuna göre düşük (her ikisi için p=0.004), albümin düzeyi basit FK grubuna göre düşüktü (p=0.02). Ca ve MCHC düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı (r=0.252, p=0.039). FK grubunda, MCHC<34.1 g/dL, Ca<9.9 mg/dL, iyonize Ca<1.27 mmol/L ve pH<7.38 olanların oranı daha sıktı (sırasıyla p=0.003, p=0.005, p=0.044 ve p=0.035). Kalsiyum ve MCHC düzeylerinin düşüklüğü ile FK arasında anlamlı ilişki saptandı. Kalsiyum ve MCHC düzeyleri arasındaki anlamlı pozitif korelasyon, bu bulguların ortak patogenetik mekanizması olabileceğini düşündürmektedir. Kan pH seviyesi düşük olanların oranındaki anlamlı artış, bildiğimiz kadarıyla FK ile ilişkili yeni bir bulgudur.

Anahtar Kelimeler: D vitamini, Febril konvülsiyon, Kalsiyum, Kan pH, MCHC

INTRODUCTION

Febrile seizures (FS) are the most common seizures in childhood, observed in 2-5% of children between 6 months and 5 years of age.¹ FSs are usually associated with viral infections. This definition excludes febrile seizures in patients who have previously experienced afebrile seizures, seizures linked to metabolic disorders, and central nervous system (CNS) infections.² FS is classified into two groups according to clinical features: simple and complex. Simple FS includes generalized, single seizures lasting less than 15 minutes. Febrile seizures lasting >15 minutes, with focal features, or recurrence within 24 hours are referred to as complex FS. Although most FSs end spontaneously with no long-term consequences, complex FS or those with a family history of epilepsy are at risk of developing epilepsy or afebrile seizures in the future. The complete pathophysiology of FS is unclear. However, genetic predisposition and environmental factors, such as viral infections, can trigger FSs.² The genetic background of FS is associated with the regulation of various processes. These include individual and familial susceptibility, immune response modulation, neuronal excitability, and interactions with exogenous agents, such as viruses.³

Calcium (Ca) plays a role in many physiological processes, including nerve impulse transmission.⁴ There is a negative relationship between extracellular Ca and neuronal excitability.⁵ More than 99% of the Ca in the body is stored in bone. Complex interactions with different actors finely regulate non-osseous Ca. Forty percent of Ca in the blood is free or ionized, fifty percent is bound to proteins, and 10 percent is ionic-bound (complexes of calcium oxalate, carbonate, and phosphate).⁴ Ionized Ca is the most important element in nerve impulses and transmission.⁶ Calcium is mainly bound to albumin, and albumin levels can influence ionized Ca levels. Blood pH can affect Ca-albumin complexes. Changes in serum lactate levels can also affect ionized Ca levels because they can alter pH and bicarbonate (HCO_3^-) levels.⁴ Vitamin D is an important factor affecting Ca metabolism. Vitamin D deficiency decreases serum Ca levels because of decreased Ca absorption from the intestinal lumen.⁷ However, studies assessing Ca levels in patients with FS have reported conflicting results. In addition to studies showing lower calcium levels than in the control group, some reported no difference in calcium levels.^{6,8-11}

Serum iron and ferritin levels were also reported to be lower, and iron deficiency anemia (IDA) was more common in patients with FS.^{6,12} Iron deficiency (ID) is associated with FS but not with other seizures. The mechanism underlying this association is unknown, but it may be likely due to iron's impact on immune response capacity through immune cell differentiation and growth, thus affecting cytokine activity and cell-mediated pathways.¹³ IDA is a hypochromic, microcytic anemia. The evaluation of the complete blood count is one of the most important diagnostic steps, demonstrating low values of hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct), erythrocyte count, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), and a high value of red cell distribution width (RDW).¹⁴

Although some studies have evaluated the relationship of FS with iron and Ca metabolism, it is unknown whether there is a relationship between Ca metabolism and iron deficiency in FS patients. This case-control study was performed to determine the association between serum Ca levels, erythrocyte indices, and related factors and whether there is any relationship between Ca levels and erythrocyte indices in patients with FS.

METHODS

Ethical approval and study population

The prospective study was initiated after receiving approval from the local ethics committee. The study protocol was approved by the Local Ethics Committee of Karadeniz Technical University (Protocol Number: 2019/57). Written consent from each participant's parents was obtained. The study cohort included 21 patients in the simple FS (SFS) and 22 patients in the complex FS (CFS) groups. The control group comprised 25 patients with fever without seizures. FS patients aged six months to five years who presented to the emergency room were selected randomly for one year, considering seasonal distribution. Given that complex FS is less prevalent (20–35% of all FS)¹⁵, the age and gender of the SFS group were matched to those of the CFS group. The febrile control group comprised patients who presented to the emergency room during the same period as the FS group, considering age and gender distribution in the FS groups. Those with CNS infection or a previous afebrile seizure or conditions such as electrolyte disturbances, hypoglycemia, head trauma that could lead to seizures, other systemic diseases,

serious infections such as bronchopneumonia and sepsis, and chronic drug usage were excluded from the study.

Data acquisition

Age, gender, seizure duration in FS groups, whether seizure continued or not on admission to the emergency department, seizure characteristics, recurrence within 24 hours, previous FS number, family history of FS, and epilepsy were questioned and collected using standard case report forms.

All blood samples were collected immediately after presentation to the emergency department. Erythrocyte count, Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC, and RDW levels were studied in whole blood taken in ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) tubes within the first 20 minutes by cell counter; ionized Ca, pH, HCO_3^- , and lactate levels in heparinized whole blood were studied within the first 30 minutes by potentiometric-photometric method; total Ca, inorganic phosphate (Pi), and aspartate transaminase (AST) levels were studied in serum within the first 1 hour by spectrophotometric method; and vitamin D (25-OH vitamin D3) levels in EDTA plasma kept at -20°C for one week were studied by high-performance liquid chromatography. Based on laboratory reference values, the lower limits were determined as 8.8 mg/dL for total Ca, 1.15 mmol/L for ionized Ca, 35 g/L for albumin, 7.35 for pH, and 20 $\mu\text{g/L}$ for vitamin D. The upper limit levels were 4.5 mg/dL for Pi and 17 mg/dL for lactate. $\text{Hb} < 11 \text{ g/dL}$ was considered low, given the typical range for this age group.

Statistical analysis

Continuous data were expressed as mean \pm standard deviation (SD), and categorical data were expressed as numbers (n) and percentages. The Kolmogorov-Smirnov test was used to assess the normality of the distribution. The normally distributed data were compared using ANOVA and post-hoc Tukey or Tamhane tests, with consideration of homogeneity. The Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U tests were used as nonparametric tests. In the Kruskal-Wallis test, p values were adjusted using the Bonferroni method for multiple-test correction. Categorical variables were evaluated using Pearson's chi-square test or Fisher's exact test, as appropriate. Depending on whether the distribution was normal, Pearson's or Spearman's correlation analysis was used to assess the relationships between continuous variables. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was used to

determine the cutoff values of continuous variables that discriminated between the control and FS groups, as well as the levels of sensitivity and specificity. The Youden index was used to determine the optimal cutoff value. Logistic regression analysis was performed to identify risk factors for FS. In multivariable analysis, the backward stepwise method was used to examine variables that demonstrated statistical significance in univariable analysis. The level of statistical significance was accepted as $p < 0.05$.

RESULTS

General findings and characteristics of seizures

In the SFS group, 21 patients (14 males, 7 females) had a mean age of 26.2 ± 14.3 months; in the CFS group, 22 patients (14 males, 8 females) had a mean age of 24.4 ± 14 months; and in the febrile control group, 25 patients (13 males, 12 females) had a mean age of 26.7 ± 16.6 months. The age and sex distributions of the patients did not show any statistically significant difference ($p = 0.746$, $p = 0.555$, respectively) (Table 1). The seasonal distribution was grouped into two periods, winter-spring and summer-autumn, considering that serum vitamin D levels may vary. No significant difference between the groups was observed in the seasonal distribution ($p = 0.314$). Upper respiratory tract infections (URTIs), including tonsillitis, were the most common infections, accounting for 82.3% of cases. Other infections included acute gastroenteritis ($n = 6$), acute otitis media ($n = 2$), urinary tract infection ($n = 2$), and bronchiolitis ($n = 1$). The distribution of URTIs and other infections was similar between the FS and control groups ($p = 0.127$, Fisher exact test).

Focal seizures were observed in two patients in the CFS group. The total number of seizures, proportions of patients with first FS, ongoing seizures at admission, and family history of FS and epilepsy were not different between the SFS and CFS groups (Table 1). In the CFS group, seizures lasting ≥ 5 min were more frequent ($p = 0.012$), and the proportion of those who had seizures recurred within 24 h was 68.2% (Table 1).

Calcium levels in six patients (9%), ionized Ca levels in three (6.5%), vitamin D levels in 17 (32.7%), albumin levels in three (7.3%), pH levels in 14 patients (28.6%), and Hb levels in 21 patients (31.3%) were below normal levels, and lactate levels in 15 patients (42.9%) were higher than normal levels.

Comparison of groups

Calcium, MCHC, and albumin levels differed between the groups (Table 1). In post-hoc analyses, Ca and

MCHC values were lower in the CFS group than in the control group (p=0.004 for both, post-hoc Tukey and Mann-Whitney U test, respectively); there was no difference with the SFS group (p=0.203, p=0.398, respectively). Albumin levels were lower in the CFS

group than in the SFS group (p=0.02, post-hoc Tamhane's test) (Table 1).

The distribution of patients with abnormal laboratory values did not show a significant difference between the groups (p>0.05 for all).

Table 1. Comparison of data between the simple and complex FS and control groups

Variables (mean ± SD)	Control (n = 25)	SFS Group (n = 21)	CFS Group (n = 22)	p-value
Comparison of continuous variables				
Age (months)	26.7±16.6	26.2±14.3	24.4±14	0.746 ^a
Sex (M/F)	13/12	14/7	14/8	0.555 ^b
Admission in winter-spring	10/25 (60)	8/21 (38.1)	10/22 (45.5)	0.314 ^b
Ca (mg/dL)	9.8±0.6	9.6±0.4	9.3±0.5	0.005
Pi (mg/dL)	4.6±1	4.7±0.8	4.6 ±1.1	0.905
Vitamin D (µg/L)	26±9.5	23.1±13.7	24.5±10.3	0.610 ^a
AST (U/L)	44.1±13.4	42.4±11.5	42.1±13.6	0.890
Albumin (g/L)	41.1±2.3	42.3±2.2	39.4±4	0.011
Erythrocyte count (× 10 ⁶ /µL)	4.27±0.37	4.45±0.34	4.36±0.36	0.267
Hb (g/dL)	11.6±1.1	11.6±0.9	11.3±0.6	0.355
Hct (%)	33.8±2.5	34.7±2.4	33.9±1.7	0.520 ^a
MCV (fL)	78.9±4.9	78±3.6	78.1±5.4	0.943 ^a
MCH (pg)	27±2.2	26.2±1.7	25.9±2.2	0.273 ^a
MCHC (g/dL)	34.1±1.1	33.5±1.2	33.2±1.1	0.045^a
RDW (%)	13.4±1	13.5±1.5	13.5±1.4	0.999 ^a
pH	7.4±0.04	7.35±0.08	7.36±0.08	0.157
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	22±1.7	20.5±2.5	21.4±1.7	0.120
Ionized Ca (mmol/L)	1.34±0.19	1.27±0.07	1.24±0.08	0.133 ^a
Lactate (mg/dL)	15.6	21.9±10.8	18.6±9.9	0.251
Seizure-related findings (n/total, %)				
Total FS number		2.4±1.4	1.7±1	0.063 ^c
Focal seizures (n/total)		0/21 (0)	2/22 (9.1)	0.256 ^d
First FS (n/total)		8/21 (38.1)	13/22 (59.1)	0.169 ^b
Seizure duration ≥ 5 min		3/21 (14.3)	11/22 (50)	0.012^b
FS recurrence within 24 h		0/21 (0)	15/22 (68.2)	<0.001^b
Ongoing seizure on admission		1/21 (4.8)	5/22 (22.7)	0.103 ^d
Family history of FS		11/21 (52.4)	12/22 (54.5)	0.887 ^b
Family history of epilepsy		5/21 (23.8)	5/22 (22.7)	0.608 ^d
Findings associated with cutoff points (n/total, %)		FS Group		
MCHC <34.1 g/dL	8/25 (32)		29/42 (69)	0.003^b
Ca <9.9 mg/dL	12/25 (48)		34/42 (81)	0.005^b
Ionized Ca <1.27 mmol/L	3/12 (25)		20/34 (58.8)	0.044^b
pH <7.38	2/12 (16.7)		19/37 (51.4)	0.035^b
Lactate ≥20 mg/dL	1/10 (10)		10/25 (40)	0.089 ^d
HCO ₃ ⁻ ≤22.6 mmol/L	4/12 (33.3)		22/37 (59.5)	0.115 ^b

AST: aspartate transferase, Ca: calcium, CFS: complex febrile seizure, FS: febrile seizure, Hb: hemoglobin, HCO₃⁻: bicarbonate, Hct: hematocrit, MCH: mean corpuscular hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, MCV: mean corpuscular volume, Pi: inorganic phosphate, RDW: red blood cell distribution width, SD: standard deviation, SFS: simple febrile seizure. Statistical tests: ^a Kruskal-Wallis, ^b Pearson's chi-square test, ^c Mann-Whitney U test, ^d Fisher's exact test, and one-way ANOVA for other tests.

ROC and logistic regression analysis results

In the ROC analysis, area under the ROC curve (AUC) values were statistically significant for MCHC and Ca levels, and cut-off values were calculated as

MCHC<34.1 g/dL and Ca<9.9 mg/dL. AUCs were ≥0.634 in the larger values for lactate levels and the smaller values for serum pH, ionized Ca, and HCO₃⁻, but they were not statistically significant (Table 2, Figure

1). The proportions of patients with MCHC<34.1 g/dL, Ca<9.9 mg/dL, ionized Ca<1.27 mmol/L and pH<7.38

were significantly more frequent in the FS group than in the control group (Table 1).

Table 2. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis results of laboratory data with the highest area under the curve (AUC) values for the distinction between the FS and control groups

Variables	ROC curve analysis			Statistical diagnostic measures			
	AUC (95% CI)	p-value	Optimum cut-off	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
MCHC (g/dL)	0.701 (0.569-0.833)	0.005	<34.1	69 (54.2-81.6)	68 (48.6-83.9)	78.4 (63.5-89.5)	56.7 (38.9-73.3)
Ca (mg/dL)	0.690 (0.554-0.826)	0.01	<9.9	83.3 (70.3-92.5)	52 (32.9-70.7)	74.5 (60.9-85.4)	65 (43.2-83.2)
pH	0.668 (0.504-0.831)	0.083	<7.38	51.4 (35.6-67)	83.3 (56.9-97)	90.5 (73.4-98.4)	35.7 (19.8-54.1)
Ionized Ca (mmol/L)	0.656 (0.447-0.864)	0.112	<1.27	58.8 (42.1-74.3)	75 (47.2-93.1)	87 (69.6-96.6)	39.1 (21.1-59.4)
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	0.666 (0.481-0.850)	0.087	≤22.6	59.5 (43.4-74.2)	66.7 (38.7-88.2)	84.6 (67.8-94.9)	34.8 (17.7-55.1)
Lactate (mg/dL)	0.634 (0.441-0.827)	0.221	≥20	40 (22.5-59.5)	90 (62.8-99.4)	90.9 (65.7-99.5)	37.5 (20.1-57.4)

AUC: area under the ROC curve, Ca: calcium, CI: confidence interval, HCO₃⁻: bicarbonate, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, NPV: negative predictive value, PPV: positive predictive value, ROC: receiver operating characteristic.

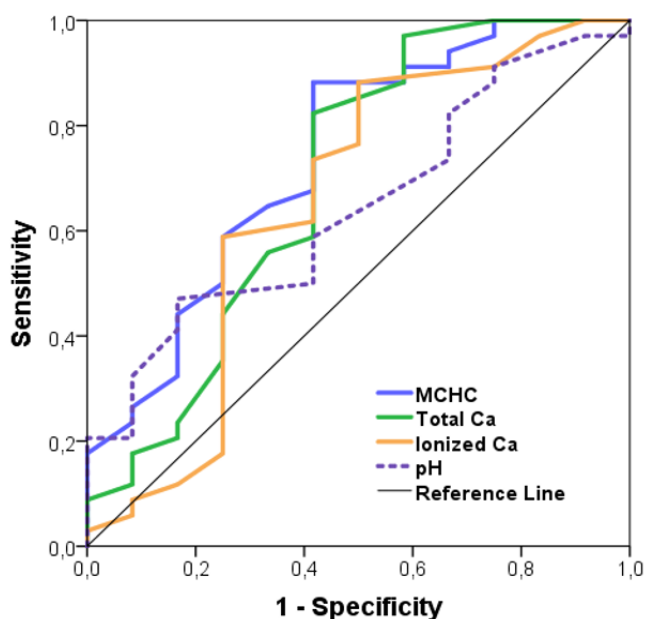


Figure 1. ROC curves of the variables with the highest AUC values among the studied parameters for distinguishing between the FS and control groups.

The ROC curves were generated by indicating that smaller values represent more positive results. AUC: area under the ROC curve, Ca: calcium, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, ROC: receiver operating characteristic.

In the logistic regression analysis summarized in Table 3, MCHC and Ca levels, MCHC<34.1 g/dL, Ca<9.9 mg/dL, and pH<7.38 showed statistical significance for FS risk in the univariable analysis. The multivariable

analysis adjusted for age revealed that Ca and MCHC levels, as well as the smallness of these values, were statistically significant (Table 3).

Table 3. Logistic regression analysis of the risk factors of FS

Variables	Univariable analysis			Multivariable analysis			
	OR (95% CI)	R ² (%)	p-value	Model 1 OR (95% CI)	p-value	Model 2 OR (95% CI)	p-value
Age (months)	0.993 (0.96-1.03)	0.3	0.695	0.99 (0.95-1.03)	0.523	0.99 (0.95-1.03)	0.518
MCHC (g/dL)	0.49 (0.28-0.83)	16.1	0.009	0.544 (0.31-0.85)	0.032		
MCHC <34.1 g/dL	4.74 (1.63-13.75)	16.8	0.004			3.31 (1.06-10.3)	0.039
Ca level (mg/dL)	0.24 (0.08-0.715)	15.3	0.011	0.262 (0.08-0.85)	0.026		
Ca <9.9 mg/dL	4.6 (1.53-13.82)	15	0.006			3.48 (1.03-11.8)	0.045
Ionized Ca <1.27 mg/dL	4.29 (0.98-18.7)	12.8	0.053				
Vitamin D <20 µg/L	1.73 (0.52-5.72)	2	0.368				
Albumin (g/L)	0.97 (0.8-1.17)	0.3	0.741				
pH <7.38	5.28 (1.014-27.46)	14	0.048				
HCO ₃ ⁻ ≤22.6 mmol/L	2.93 (0.75-11.5)	7.4	0.123				

Ca: calcium, CI: confidence interval, FS: febrile seizure, HCO₃⁻: bicarbonate, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, OR: odds ratio.

Correlation analysis results

There was a positive correlation between MCHC and Ca levels ($r=0.252$, $p=0.039$). MCHC levels were positively correlated with Hb levels ($r=0.524$, $p<0.001$) and negatively correlated with RDW levels ($r=-0.427$, $p<0.001$) (Figure 2).

Ca levels, in addition to MCHC, showed significant positive correlations with ionized Ca ($r=0.652$,

$p<0.001$), Hb ($r=0.338$, $p=0.005$), and albumin levels ($r=0.272$, $p=0.041$) (Figure 2).

Serum HCO₃⁻ levels were positively correlated with both MCHC ($r=0.322$, $p=0.024$) and Ca levels ($r=0.285$, $p=0.047$). There was a negative correlation between HCO₃⁻ and lactate levels ($r=-0.485$, $p=0.003$) (Figure 3).

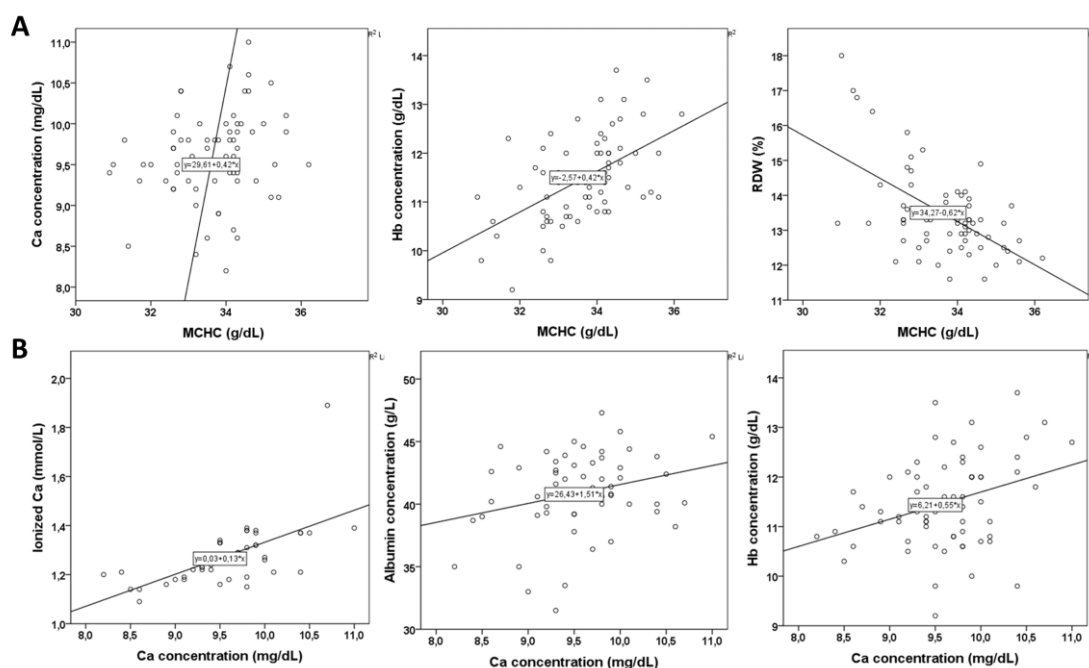


Figure 2. Correlation curves of variables significantly correlated with Ca and MCHC levels. (A) MCHC levels were positively correlated with Ca levels ($r=0.252$, $p=0.039$). MCHC levels were also positively correlated with Hb levels ($r=0.524$, $p<0.001$) and inversely correlated with RDW levels ($r=-0.427$, $p<0.001$). (B) Ca levels showed a positive correlation with ionized Ca ($r=0.652$, $p<0.001$), albumin ($r=0.272$, $p=0.041$), and Hb levels ($r=0.338$, $p=0.005$), as well as MCHC.

Ca: calcium, Hb: hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, RDW: red blood cell distribution width.

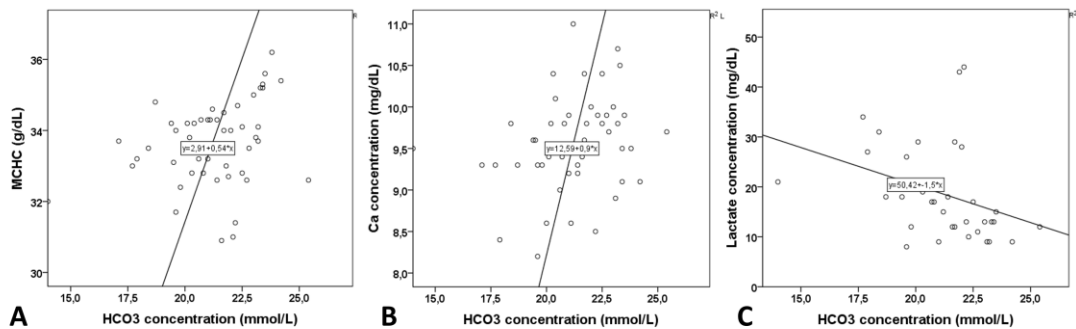


Figure 3. Serum HCO_3^- levels showed a positive correlation with both MCHC ($r=0.322$, $p=0.024$) and Ca levels ($r=0.285$, $p=0.047$), and had a negative correlation with lactate levels ($r=-0.485$, $p=0.003$).

Ca: calcium, HCO_3^- : bicarbonate, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration.

DISCUSSION

In this study, the MCHC and Ca levels in the CFS group were significantly lower. Additionally, compared with the control group, a higher percentage of patients in the FS group, including all FS patients, had lower Ca and MCHC values. Calcium and MCHC below the cutoff values were independent factors associated with an increased risk of FS. The significant correlation between MCHC and Ca levels was remarkable. Although blood pH levels did not significantly differ between the groups, lower blood pH values were significantly more frequent in the FS group. In the univariable analysis, a blood pH below 7.38 increased the risk of FS by a statistically significant 5-fold.

This study's findings showed that the only CFS group had lower Ca levels than the control group, which may be why some previous studies did not find a difference in Ca levels in FS patients.^{10,11} However, in most studies, Ca levels were generally reported to be lower in FS patients, even if they were within the normal range.^{6,8,9,16} In our study, vitamin D levels did not show a significant difference, similar to several previous studies¹⁷⁻¹⁹, suggesting that vitamin D does not play a role in the decrease in Ca levels in FS. In this study, albumin levels were significantly lower in the CFS group than in the SFS group, which may have contributed to the decrease in Ca levels. The significant positive correlation between Ca and albumin levels also supports this hypothesis. On the other hand, in another study, albumin levels were higher in the patients with their first FS episode than in the control group.²⁰ Although we could not find another study evaluating albumin levels, it has been frequently reported that various trace elements bound to albumin are lower in the FS group.^{9,21} It is possible that these findings are related to the decrease in albumin levels. The lack of difference in AST levels excludes the association between low

albumin levels and liver dysfunction. The decrease in albumin levels in this study may be related to the fact that albumin is a negative acute-phase reactant.²² Because there is strong evidence of an association between FS and inflammation. Increased levels of proinflammatory cytokines IL-1 β and IL-6^{6,21} and decreased levels of anti-inflammatory IL-10 in serum and cerebrospinal fluid^{6,23} were detected in patients with FS. In addition, patients with CFS had significantly higher inflammatory indices, including neutrophil-to-lymphocyte ratio, than those with SFS.²⁴

Infection-related decreases in Ca levels have been observed, especially in patients with COVID-19. Mild/moderate patients showed a significant decrease in Ca levels during the early phase of COVID-19 compared with 1 month later, whereas severe patients showed low levels during both periods. Low Ca levels were found to be associated with disease severity.²⁵ The FS and control groups in our study had similar infection distributions, which ruled out infection-induced changes in Ca levels. Furthermore, in another study, children with URTI had similar Ca levels as healthy controls.²⁶ However, there is evidence that inflammation-related proinflammatory cytokines may lower Ca levels. Experimental studies have shown that proinflammatory cytokines such as IL-1 β and IL-6, upregulate calcium-sensing receptor gene (CASR) expression, causing a significant decrease in parathyroid hormone (PTH) and vitamin D levels and subsequently in Ca levels. In critically ill patients with sepsis or burn injury, hypocalcemia is associated with proinflammatory cytokine-induced upregulation of the CASR gene.²⁷ Although changes in CASR gene expression may also affect vitamin D levels, we found no relationship between vitamin D levels and FS. However, a population study in adults revealed a negative correlation between vitamin D levels and

recent URTI, indicating that vitamin D contributes to innate immunity.²⁸

The low MCHC levels in the CFS group and the significant negative correlation between MCHC and RDW levels in this study may support the relationship between FS and IDA in previous studies. Low MCHC levels as a finding of IDA was observed in patients with FS.²⁹ Although different studies have reported inconsistent results on the relationship between IDA and FS, several meta-analyses and prospective studies support this relationship.^{13,30,31} Iron deficiency may be a risk factor for FS even if it does not cause anemia.³² Although some previous studies reported lower MCHC values in patients with FS³³, there were also studies in which no difference was shown or even higher MCHC was detected in patients with FS.^{12,34} Hb levels may remain normal for a while in ID because there is only a decrease in iron stores in the early stages. During this period, only low ferritin and plasma transferrin saturation levels were observed.¹⁴ This may explain why other erythrocyte indices in our study remained unchanged even though the CFS group had lower MCHC levels.

This study found a significant positive correlation between Ca and MCHC levels. Similar to MCHC, Ca levels were positively correlated with Hb levels. Another variable showing positive correlations with both Ca and MCHC levels was HCO_3^- levels, suggesting that it could explain the Ca and MCHC relationship. In support of this finding, although blood pH levels did not show a significant difference between the FS and control groups, the proportion of those with $\text{pH} < 7.38$ was significantly higher. We may characterize this as a tendency toward metabolic acidosis in conjunction with the tendency for elevated lactate levels and decreased HCO_3^- levels observed in patients with FS in this study. Seizures can cause type-A lactic acidosis, which is caused by hypoperfusion and hypoxia.³⁵ Lactate elevation predicts recurrence within 24 hours in patients with simple FS.³⁶ However, the tendency toward acidosis associated with FS is not known. On the contrary, one study focused on the relationship between FS and respiratory alkalosis, but a statistically significant, progressive decrease in the initial alkaline pH was observed within two hours.³⁷ Although the precise cause of the correlation between ID and lactic acidosis is unknown, it might be important for FS. It has This suggests that Ca metabolism may contribute to the pathogenesis of FS. Studies evaluating ionized Ca levels

been reported that ID may increase lactate levels by impairing glycolysis by decreasing the levels of the iron-containing mitochondrial enzyme α -glycerophosphate oxidase.³⁸ Conversely, elevated lactate levels may lead to hepatic hepcidin upregulation, which could lead to iron restriction.³⁹ A tendency toward metabolic acidosis can also lead to hypercalciuria by decreasing calcium reabsorption in renal tubules.⁴⁰ In another study, although serum total Ca levels did not differ between the FS and control groups, a significant increase in urinary Ca excretion was detected, and hypercalciuria was observed in 23.7% of the FS patients. The lack of difference in serum Ca levels was attributed to significantly elevated PTH levels.⁴¹

The significant correlation between Ca and MCHC levels in this study could also be attributable to inflammation. Inflammation can lead to anemia of inflammation (AI), which was previously thought to occur only in chronic diseases. However, Hb levels can also decrease during acute infections.⁴² We could not find any study evaluating AI in FS. Similar to IDA, AI also exhibits decreased reticulocyte counts, serum iron, and transferrin saturation.⁴³ Although erythrocyte staining indices are useful for differentiating between AI and IDA, they are insufficient. In addition to normocytic normochromic traits, AI may display microcytic hypochromic traits, such as IDA.⁴⁴ Inflammation can also lead to elevated RDW values, as increased disease activity in inflammatory diseases significantly increases RDW values.⁴⁵ Therefore, it is impossible to determine from this study whether the low MCHC values in the CFS group are caused by AI or IDA. AI patients often have normal or elevated serum ferritin levels, but distinguishing AI from IDA may be challenging because ferritin is also an acute phase reactant, and IDA is prevalent in 20-85% of AI patients.⁴³ Therefore, soluble transferrin receptor (sTfR) and ferritin index (sTfR/log ferritin) have been proposed as crucial markers for differentiating IDA from AI.^{42,43} In this study, ionized Ca levels were lower in both the SFS and CFS groups, but the differences from the controls were not statistically significant. However, despite the tendency toward low blood pH in patients with FS, the proportion of patients with ionized $\text{Ca} < 1.27$ mmol/L was significantly higher. However, acidemia increases ionized Ca levels by reducing calcium binding to albumin.⁴⁰

in FS are limited. In one study, ionized Ca levels were significantly lower in the FS group⁴⁶, but there were no

differences in another study.⁴⁷ A limitation of this study is the small number of patients in the groups because it was planned as a pilot study within the funding limits. The second limitation is the inability to fully match the genders of the control and study groups because the control group was selected from a smaller number of patients who came in concurrently with the FS group. However, there was no statistically significant difference in gender distribution among the groups. Third, IDA-related parameters, such as iron and ferritin, were not evaluated. The study's strengths include its prospective design, performing all blood tests immediately after emergency admission, and considering seasonal distribution in patient selection to prevent bias about serum vitamin D levels, possibly nutritional conditions, and insensible fluid losses.

CONCLUSION

This study demonstrated that both Ca and MCHC were associated with FS. The significant positive correlation between serum Ca and MCHC levels may indicate a common pathogenetic mechanism, such as inflammation. The significant correlations between HCO₃⁻ levels and these parameters and the tendency for lower blood pH in patients with FS imply that these results may also be related to the propensity of patients with FS for metabolic acidosis. Nevertheless, additional studies involving a larger patient population are needed to confirm these results and to clarify the pathogenetic mechanisms. Since FS regresses at approximately 5 years of age and the frequency of abnormal levels in the parameters was the same for both FS and febrile control in this study, these findings may not have an impact on prognosis. However, we hope that the findings of this study will contribute to a better understanding of the pathogenesis of FS.

Authorship contribution statement

Concept and design: SS, AC, SCK.

Acquisition of data: NY, GE, POK.

Analysis and interpretation of data: SS, TK, AKO.

Drafting of the manuscript: SS, AC.

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: SS, AC.

Statistical analysis: SS.

Declaration of competing interest

None of the authors have potential conflicts of interest to be disclosed.

Ethical approval

This study was approved by the Local Research Ethics Committee of Karadeniz Technical University (Protocol no: 2019/57) and performed in accordance with the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration

of Helsinki and its later amendments or comparable ethical standards.

Availability of data and materials

All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

Funding

No financial support was received for this research.

REFERENCES

1. Steering Committee on Quality Improvement and Management, Subcommittee on Febrile Seizures American Academy of Pediatrics. Febrile seizures: clinical practice guideline for the long-term management of the child with simple febrile seizures. *Pediatrics*. 2008;121(6):1281-1286.
2. Sawires R, Buttery J, Fahey M. A review of febrile seizures: Recent advances in understanding of febrile seizure pathophysiology and commonly implicated viral triggers. *Front Pediatr*. 2022;9:801321.
3. Saghazadeh A, Mastrangelo M, Rezaei N. Genetic background of febrile seizures. *Rev Neurosci*. 2014;25(1):129-161.
4. Hamroun A, Pekar JD, Lionet A, et al. Ionized calcium: analytical challenges and clinical relevance. *J Lab Precis Med*. 2020;5:1-16.
5. Han P, Trinidad BJ, Shi J. Hypocalcemia-induced seizure: demystifying the calcium paradox. *ASN Neuro*. 2015;7(2):1759091415578050.
6. Chen R, Li S, Wang X, Zhou J, Lu Y, Kang A. Analysis of cytokines and trace elements in children with febrile seizures. *Transl Pediatr*. 2020;9(6):809-817.
7. Fleet JC. Vitamin D-mediated regulation of intestinal calcium absorption. *Nutrients*. 2022;14(16):3351.
8. Ushakiran CB, Suresh R. Reduced serum calcium is a risk factor for febrile seizures. *Int J Contemp Pediatr*. 2017;4(4):1506-1508.
9. Akbayram S, Cemek M, Büyükben A, et al. Major and minor bio-element status in children with febrile seizure. *Bratisl Lek Listy*. 2012;113(7):421-423.
10. Shajari H, Shajari A, Azizkhan H, Barzegari R. Correlation of serum ferritin and calcium level with febrile seizures: A hospital-based prospective case-control study. *Maedica (Bucur)*. 2021;16(3):420-425.
11. Naseer MR, Patra KC. Correlation of serum iron and serum calcium levels in children with febrile seizures. *Int J Contemp Pediatr*. 2015;2(4):406-410.
12. Papageorgiou V, Vargiami E, Kontopoulos E, et al. Association between iron deficiency and febrile seizures. *Eur J Paediatr Neurol*. 2015;19(5):591-596.
13. Kwak BO, Kim K, Kim SN, Lee R. Relationship between iron deficiency anemia and febrile seizures in children: A systematic review and meta-analysis. *Seizure*. 2017;52:27-34.
14. Özdemir N. Iron deficiency anemia from diagnosis to treatment in children. *Turk Pediatri Ars*. 2015;50(1):11-19.
15. Francis JR, Richmond P, Robins C, et al. An observational study of febrile seizures: the importance of viral infection and immunization. *BMC Pediatr*. 2016;16(1):202.

16. Chiarelli F, De Palma C, Verrotti A, Lombardi G, Domizio S. Electrolytic changes in febrile convulsions. *Pediatr Med Chir.* 1985;7(2):249-252.
 17. Mohammadi M, Baleghi Y, Salehiomran M, et al. Evaluation of vitamin D level in children with febrile seizure referred to amirkola children's hospital, babol. *Glob Pediatr Health.* 2023;10:2333794X231198390.
 18. Heydarian F, Bakhtiari E, Golmakani H, Fakhr Ghasemi N, Heidarian M. Serum level of vitamin D and febrile seizure? A clinical study. *Iran J Child Neurol.* 2020;14(3):77-82.
 19. Bağcı Z. Comparison of serum vitamin D levels in febrile children with and without seizure. *Bozok Med J.* 2021;11(3):1-6.
 20. Güneş A, Fidan S, Dulkadir R, Ünlü E. Evaluation of risk factors associated with first episode febrile seizure. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2021;25(22):7089-7092.
 21. Tütüncüoğlu S, Küttükçüler N, Kepe L, Coker C, Berdeli A, Tekgül H. Proinflammatory cytokines, prostaglandins and zinc in febrile convulsions. *Pediatr Int.* 2001;43(3):235-239.
 22. Mirsaedi M, Omar HR, Sweiss N. Hypoalbuminemia is related to inflammation rather than malnutrition in sarcoidosis. *Eur J Intern Med.* 2018;53:e14-e16.
 23. Şahin S, Uysal S, Yentür SP, Kaçar A. Reduced cerebrospinal fluid levels of interleukin-10 in children with febrile seizures. *Seizure.* 2019;65:94-97.
 24. Polat I, Karaoglu P, Ayanoglu M, et al. Inflammation and anemia in simple febrile seizures and complex febrile seizures. *Ann Med Res.* 2021;28:1835-1839.
 25. Zhou X, Chen D, Wang L, et al. Low serum calcium: A new, important indicator of COVID-19 patients from mild/moderate to severe/critical. *Biosci Rep.* 2020;40:1-8.
 26. Mao S, Wu L, Shi W. Calcium, phosphorus, magnesium levels in frequent respiratory tract infections. *Ann Med.* 2023;55(2):2304661.
 27. Hendy GN, Canaff L. Calcium-Sensing Receptor Gene: Regulation of Expression. *Front Physiol.* 2016;7:394.
 28. Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA Jr. Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med.* 2009;169(4):384-390.
 29. Mandal SK, De S, Das R, Awati NJ, Dey N, Biswas A. Evaluating the association between iron deficiency anemia and febrile convulsion among children aged 6–60 months admitted to a tertiary care hospital in eastern India: a case-control study. *Cureus.* 2024;16(4):e58761.
 30. Sulviani R, Kamarullah W, Dermawan S, Susanto H. Anemia and poor iron indices are associated with susceptibility to febrile seizures in children: A systematic review and meta-analysis. *J Child Neurol.* 2023;38(3-4):186-197.
 31. Papež J, Labounek R, Jabandžiev P, et al. Multivariate linear mixture models for the prediction of febrile seizure risk and recurrence: a prospective case-control study. *Sci Rep.* 2023;13(1):17372.
 32. Jang HN, Yoon HS, Lee EH. Prospective case control study of iron deficiency and the risk of febrile seizures in children in South Korea. *BMC Pediatr.* 2019;19(1):309.
 33. Bakkannavar S, Faheem Y, Jaiswal A, et al. Associative patterns between iron deficiency anemia and febrile seizures in the five to 60 months age group: A comprehensive systematic review. *Cureus.* 2024;16(3):e56470.
 34. Kamalammal R, Balaji MD. Association between iron deficiency anemia and various red cell parameters with febrile convulsions in children of age group 3 to 60 months. *Int J Contemp Pediatr.* 2016;3(2):559-562.
 35. Foucher CD, Tubben RE. Lactic Acidosis. In: *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
 36. Lee D, Moon HJ, Lee HJ, Jeong D, Kim HJ, Noh H, et al. Role of lactate measurement in predicting recurrence of seizure within 24 hours in simple febrile seizure patients. *Signa Vitae.* 2023;19(3):188-194.
 37. Schuchmann S, Hauack S, Henning S, et al. Respiratory alkalosis in children with febrile seizures. *Epilepsia.* 2011;52(11):1949-1955.
 38. Finch CA, Gollnick PD, Hlastala MP, Miller LR, Dillmann E, Mackler B. Lactic acidosis as a result of iron deficiency. *J Clin Invest.* 1979;64(1):129-137.
 39. Zhang S, Liu W, Ganz T, Liu S. Exploring the relationship between hyperlactatemia and anemia. *Trends Endocrinol Metab.* 2024;35(4):300-307.
 40. Alexander RT, Cordat E, Chambrey R, Dimke H, Eladari D. Acidosis and urinary calcium excretion: insights from genetic disorders. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(12):3511-3520.
 41. Papadimitriou A, Nicolaidou P, Garoufi A, Georgouli H, Karpathios T. Hypercalciuria in children with febrile convulsions. *Pediatr Int.* 2001;43(3):231-234.
 42. Sipahi T, Köksal T, Tavil B, Akar N. The effects of acute infection on hematological parameters. *Pediatr Hematol Oncol.* 2004;21(6):513-520.
 43. Weiss G, Ganz T, Goodnough LT. Anemia of inflammation. *Blood.* 2019;133(1):40-50.
 44. Nairz M, Theurl I, Wolf D, Weiss G. Iron deficiency or anemia of inflammation? Differential diagnosis and mechanisms of anemia of inflammation. *Wien Med Wochenschr.* 2016;166(13-14):411-423.
 45. Liu Q, Dang AM, Chen BW, Lv NQ, Wang X, Zheng DY. The association of red blood cell distribution width with anemia and inflammation in patients with Takayasu arteritis. *Clin Chim Acta.* 2015;438:205-209.
 46. Sharma S, Singh N, Thimmaraju KV, Tilak M. Assessment of ionized calcium status in febrile seizures. *Int J Clin Biomed Res.* 2018;4(1):35-37.
 47. Sakha K, Barzegar M. Evaluation of serum sodium and ionized calcium levels in febrile convulsions. *Med J Tabriz Univ Med Sci.* 2005;27(1):33-36.
- To Cite:** Sahin S, Yildiz N, Esenulku G, et al. Serum calcium levels, erythrocyte indices, and associated factors in children with febrile seizures. *Farabi Med J.* 2025;4(2):17-26.

A Study on Nursing Students' Health Perception, E-Health Literacy and Cyberchondria in The Digital Age

Dijital Çağda Hemşirelik Öğrencilerinin Sağlık Algısı, E-Sağlık Okuryazarlığı ve Siberkondri Durumlarının İncelenmesi

Humeyra Hancer-Tok^{1,a,*}, Lutfiye Nur Uzun^{1,b}, Makbule Tokur-Kesgin^{2,c}

¹Sivas Cumhuriyet University, Suşehri School of Health, Sivas, Türkiye.

²Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Health Sciences, Bolu, Türkiye.

*Corresponding author e-mail: hancertok@gmail.com

^a<https://orcid.org/0000-0003-3283-4192>

^b<https://orcid.org/0000-0002-8724-3843>

^c<https://orcid.org/0000-0003-2729-8612>

ABSTRACT

This study aimed to examine the relationships among e-health literacy, health perception, and cyberchondria in nursing students. A descriptive and correlational research design was adopted. The sample of the study was determined using a known population sampling method. According to this method, the sample size to be included in the study was calculated as 259 nursing students. Data were collected using a personal information form, the E-Health Literacy Scale (E-HLS), the Short Form of the Cyberchondria Severity Scale (CSS-12), and the Health Perception Scale (HPS). Descriptive statistics, independent sample t-tests, and One-way ANOVA were used for data analysis. A 95% confidence interval and a significance level of $p<0.05$ were considered. The mean age of the participants was 20.61 ± 1.7 years, and 79.9% of them were female. The mean scores of the students were found to be 28.46 ± 5.4 for the E-HLS, 39.37 ± 6.9 for the HPS, and 29.77 ± 6.9 for the CSS-12. A statistically significant but weak positive correlation was found between students' age and their e-health literacy scores ($p<0.001$, $r=0.217$). Additionally, the e-health literacy and health perception scores of first-year students were found to be significantly lower than those of upper-year students ($p=0.0001$, $p=0.047$). The research findings indicate that the levels of e-health literacy, cyberchondria, and health perception among nursing students are at a moderate level. A statistically significant but weak positive correlation was found between students' age and their e-health literacy scores. However, no statistically significant relationship was found among the variables of e-health literacy, cyberchondria, and health perception. In order to develop these skills, it is recommended that content aimed at increasing e-health literacy and strengthening cyberchondria awareness be integrated into the nursing curriculum.

Keywords: Cyberchondria, E-health literacy, Health perception, Nursing students

ÖZET

Bu çalışma, hemşirelik öğrencilerinde e-sağlık okuryazarlığı, sağlık algısı ve siberkondri arasındaki ilişkileri incelemeyi amaçlamıştır. Araştırma, tanımlayıcı ve ilişki arayıcı desenle yürütülmüştür. Araştırmanın örneklemini, evreni bilinen örneklem yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntemle göre, çalışmaya dahil edilecek örneklem sayısı 259 hemşirelik öğrencisi olarak hesaplanmıştır. Veriler; kişisel bilgi formu, E-Sağlık Okuryazarlığı Ölçeği (E-HLS), Siberkondri Şiddeti Ölçeği Kısa Formu (CSS-12) ve Sağlık Algısı Ölçeği (HPS) kullanılarak toplanmıştır. Verilerin analizinde tanımlayıcı istatistikler, bağımsız örneklem t-testi ve Tek Yönlü ANOVA analizleri kullanılmıştır. Bulgular %95 güven aralığında ve $p<0.05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir. Katılımcıların yaş ortalaması 20.61 ± 1.7 yıl olup, %79.9'u kadındır. Öğrencilerin aldıkları ortalama puanlar; E-HLS için 28.46 ± 5.4 , HPS için 39.37 ± 6.9 ve CSS-12 için 29.77 ± 6.9 olarak bulunmuştur. Öğrencilerin yaşı ile e-sağlık okuryazarlığı puanları arasında anlamlı ancak zayıf düzeyde pozitif bir korelasyon saptanmıştır ($p<0.001$, $r=0.217$). Ayrıca, birinci sınıf öğrencilerinin e-sağlık okuryazarlığı ve sağlık algısı puanları, üst sınıflara göre anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur ($p=0.0001$, $p=0.047$). Araştırma bulguları, hemşirelik öğrencilerinin e-sağlık okuryazarlığı, siberkondri ve sağlık algısı düzeylerinin orta seviyede olduğunu göstermektedir. Öğrencilerin yaşı ile e-sağlık okuryazarlığı puanları arasında istatistiksel olarak anlamlı fakat zayıf pozitif bir ilişki olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, e-sağlık okuryazarlığı, siberkondri ve sağlık algısı değişkenleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu becerilerin geliştirilmesi amacıyla hemşirelik müfredatına e-sağlık okuryazarlığını artırmaya ve siberkondri farkındalığını güçlendirmeye yönelik içeriklerin entegre edilmesi önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: E-sağlık okuryazarlığı, Hemşirelik öğrencisi, Sağlık algısı, Siberkondri

INTRODUCTION

In today's digital era, the rapid and convenient access to information via the internet has made online searches on health and illness increasingly appealing. This has highlighted the importance of e-health literacy, which refers to the ability to access reliable and meaningful health-related information through electronic means.^{1,2} E-health literacy encompasses the skills necessary to seek, understand, and critically evaluate digital health information.^{1,2} The internet now serves as a vast and significant platform for accessing medical content.³ However, the ease with which health-related information can be accessed also presents certain risks, including exposure to inaccurate, misleading, or incomplete content from unverified sources, which in turn may lead to harmful health behaviors.⁴

The widespread use of the internet and the ease of access to health information have contributed to the emergence of cyberchondria, a recently recognized internet-related condition characterized by the compulsive searching of medical information.^{4,5} Cyberchondria involves individuals seeking out information about real or potential health conditions in digital environments, often placing undue trust in the information found, attempting to self-diagnose, or searching for treatment options independently.^{4,5} While accessing health-related information through online platforms can be beneficial, it simultaneously increases the likelihood of encountering incorrect or misleading content.⁶ Furthermore, research has shown that extended engagement with online medical content can lead individuals to overanalyze their symptoms and potential diagnoses, contributing to heightened levels of health-related anxiety and cyberchondria.⁴

In this context, the concept of health perception—the way individuals evaluate their own health status—gains importance. Health perception reflects a complex assessment shaped by personal feelings, beliefs, biases, concerns, and expectations. It involves a subjective appraisal of one's current health and aims to foster healthy lifestyle behaviors.^{1,7,8} Although health professionals have traditionally been the primary source of health information, ongoing technological advancements have led the general public to increasingly rely on the internet as a source of health-related knowledge. As a result, the ability to comprehend and apply such information now plays a crucial role in shaping individual health behaviors.¹

Enhancing the levels of e-health literacy, cyberchondria awareness, and accurate health perception is essential not only for the general public but especially for healthcare professionals and those in training. Nursing students, as future members of the healthcare workforce, are expected to cultivate personal awareness in these domains. Given that today's nursing students largely represent Generation Z—who have grown up immersed in digital technology—it is anticipated that their e-health literacy, experiences with cyberchondria, and their perceptions of health will influence the quality of care they will eventually provide.

Although various studies have investigated e-health literacy, cyberchondria, or health perception independently in nursing students, there is a lack of research examining these three constructs collectively.^{1,2,4,7,9} In recent years, studies have presented important findings examining the effects of the concepts of e-health literacy, cyberchondria, and health perception on nursing students. Kıbrıs and Kızılkaya have indicated that the level of e-health literacy has a significant effect on health perception and that this can enhance individuals' ability to evaluate health information and shape health behaviors.¹ Similarly, Mansur and Çiğerci, as well as Gürkan et al., have shown that the levels of e-health literacy among nursing students are associated with cyberchondria and can influence their behavior in searching for health information on the internet.^{2,4} Additionally, Çaka et al. and Kuloğlu and Kamil have emphasized the interaction among these concepts, noting that health perception is closely related to the self-confidence and health literacy levels of healthcare workers.^{7,9} Therefore, this study aimed to explore the relationships among e-health literacy, cyberchondria, and health perception in a sample of nursing students.

METHODS

Type of Research

This study is descriptive and correlational.

Population and Sample of the Study

The sample of the study was determined using the known population sampling method from nursing department students. Based on the total population of 795 students in the department, the sample size was calculated as 259 students, considering a 95% confidence level and a 5% margin of error. This sample size was then selected using the stratified sampling method, taking into account the distribution of students across the four academic years (first, second, third, and

fourth years). Stratified sampling ensured that participants from each year were proportionally represented. Accordingly, the final sample included 63 first-year, 60 second-year, 64 third-year, and 72 fourth-year students, totaling 259 participants. Individuals were selected using a simple random number table. Only students who voluntarily agreed to participate were included in the study; those who declined participation were excluded.

Data Collection Tools

Personal information form, E-Health Literacy Scale, Cyberchondria Severity Scale Short Form, Health Perception Scale were used as data collection tools.^{1,2,4,7,9}

Personal information form

The personal information form was prepared by the researchers and inquired about the participants' age, gender, and class of study.

E-Health Literacy Scale (E-HLS)

The Turkish validity and reliability of the scale developed by Norman and Skinner (2006) was conducted by Coşkun and Bebiş (2015). The scale is a five-point Likert scale consisting of 10 items related to internet use (2 items) and 10 items measuring attitudes towards internet use (8 items). The first two items in the scale are not included in the scoring and the score to be obtained varies between 8-40. A high score on the scale indicates a high level of e-health literacy and a low score indicates a low level of e-health literacy. While the Cronbach's Alpha coefficient of the Turkish scale was reported as 0.78 was calculated as 0.86 in this study.¹⁰

Cyberchondria Severity Scale Short Form (CSS-12)

The scale was developed by McElroy and colleagues (2019). The Turkish validity and reliability study of the scale was conducted by Söyler et al. The Turkish validity and reliability study was conducted by Söyler et al. The scale is a five-point Likert-style instrument consisting of 12 items. The score to be obtained from the scale varies between 12-60. The scale is evaluated on a total score. Cronbach's alpha value of the Turkish scale is 0.862 was found to be 0.80 in this study.¹¹

Health Perception Scale (HPS)

It was developed by Diamond, Becker, Arenson, Chambers, and Rosenthal (2007). The Turkish validity and reliability study of the scale was conducted by Kadioğlu and Yıldız (2012). The scale consists of 15 items and is prepared in a five-point Likert scale. The

score that can be obtained from the scale varies between 15-75. A high score indicates a high perception of health. The Cronbach Alpha coefficient of the original scale was 0.70.¹² In this study, it was found to be 0.67.

Data Collection

Data collection was conducted during class hours at a date and time convenient for nursing students. Prior to administering the instruments, the purpose of the study and the expectations from participants were clearly explained. The measurement tools were then distributed, and participants were given adequate time to complete them. Upon completion, the forms were collected. The data were gathered over a two-month period, between November 15, 2023, and January 15, 2024.

Data Analysis

The data collected through the measurement tools in this study were analyzed using the IBM SPSS statistical software. Descriptive analyses included the calculation of frequency and percentage values. For continuous variables such as age, and the scores from the E-HLS, CSS-12, and HPS scales, means and standard deviations were reported. To assess the distribution of the data, normality tests including skewness, kurtosis, the Kolmogorov-Smirnov test, and visual histogram inspection were performed. Based on the normality results, parametric tests such as the independent samples t-test and One-way ANOVA were employed for group comparisons. Statistical significance was considered at the $p < 0.05$ level within a 95% confidence interval.

Ethical Aspects of the Research

In order to conduct this study, official written permission was obtained from the university where the research was conducted, ethical approval numbered 2023/374 (07.08.2023) was obtained from the Bolu Abant İzzet Baysal University Human Research Ethics Committee in Social Sciences, informed consent was obtained from the participants, and permission for the measurement tools used in the research was obtained from the author via e-mail.

RESULTS

Table 1 shows the mean scores of the nursing students from the scales. The mean score of the nursing students from the E-HLS scale was 28.46 ± 5.4 , the mean score from the CSS-12 scale and the mean score from the HPS scale were 29.77 ± 6.9 and 39.37 ± 6.9 .

Table 1. Data on health literacy, cyberchondria and health perception scales of nursing students

	Minimum	Maximum	Mean±SD	Skewness	Kurtosis
E-HLS	11.00	40.00	28.46±5.4	-0.175	0.552
CSS-12	14.00	52.00	29.77±6.9	0.129	-0.262
HPS	19.00	64.00	39.37±6.9	0.039	0.860
Age	18.00	27.00	20.61±1.7		

E-HLS; E-Health Literacy Scale, CSS-12; Cyberchondria Severity Scale Short Form, HPS; Health Perception Scale.

Table 2. The relationship between some demographic variables of nursing students and e-health literacy, cyberchondria and health perception scales

Demographic	n (%)	E-HLS	CSS-12	HPS
Gender				
Woman	207 (79.9)	28.54±4.9	29.42±7.0	39.39±7.1
Male	52 (20.1)	28.17±6.9	31.21±6.3	39.30±6.1
Statistics *		t=0.441, df=257, p=0.659	t=1.666, df=257, p=0.097	t=0.077, df=257, p=0.939
Class of study				
1 class	63 (24.3)	25.77±4.8	29.36±5.7	37.69±7.6
2 classes	60 (23.2)	28.40±5.4	29.71±6.1	38.66±7.2
3 class	64 (24.7)	29.51±4.6	29.12±7.4	40.85±5.9
4 class	72 (27.8)	29.94±5.3	30.77±8.1	40.11±6.8
Statistics**		F=8.618, df=3	F=0.757, df=3	F=2.694, df=3
Post-hoc		p=0.0001⁺ 1<2,3,4	p=0.519	p=0.047 1<3,4

*E-HLS; E-Health Literacy Scale, CSS-12; Cyberchondria Severity Scale Short Form, HPS; Health Perception Scale, *independent sample t-test, **One-way ANOVA, +p<0.05.*

The average age of the nursing students who took part in the study was 20.6±1.7 years. The majority of participants were female, accounting for 79.9% (n=207) of the sample (Table 2). Table 2 also presents the findings regarding the association between certain demographic variables and the scores obtained from the measurement instruments. Statistical analysis showed no significant relationship between gender and the scores on the E-Health Literacy Scale (E-HLS), Cyberchondria Severity Scale-12 (CSS-12), or Health Perception Scale (HPS). However, it was found that first-year students had significantly lower scores in both health literacy and health perception when compared to students in higher academic years (Table 2).

Table 3 displays the correlation results between the age of nursing students and their scores on the measurement scales. A statistically significant but weak positive correlation was observed between students' age and their e-health literacy scores (r=0.217). However, no statistically significant associations were identified among the variables of e-health literacy, cyberchondria, and health perception (Table 3).

Table 3. Collinearity analysis data between age and scales of nursing students

	Age	E-HLS	HPS
E-HLS	0.217*	1	
HPS	0.116	-0.050	1
CSS-12	0.089	0.105	0.105

**p<0.001, E-HLS; E-Health Literacy Scale, CSS-12; Cyberchondria Severity Scale Short Form, HPS; Health Perception Scale.*

DISCUSSION

The current study identified that the nursing students' level of e-health literacy was moderate (Table 1). This finding aligns with previous national and international research, which also reports moderate levels of e-health literacy among nursing students.¹⁻³ This suggests that students are reasonably well-adapted to the digital age and possess the skills to effectively utilize health-related information. It is believed that factors such as exposure to technology-integrated environments, frequent internet use, and access to health-related content during undergraduate education may contribute to their awareness and knowledge in this area.

No significant association was found between gender and e-health literacy (Table 2). While some studies support this finding,^{4,6} others have indicated that gender may play a role in influencing e-health literacy levels.⁷⁻

⁸ Thus, the literature remains inconclusive on the relationship between gender and e-health literacy. Moreover, this study revealed that as students' academic level and age increased, so did their e-health literacy. This is consistent with existing studies reporting a positive relationship between grade level, age, and health literacy scores.^{9,10} Given that students accumulate more knowledge through their training in a health-related field, an increase in literacy levels with academic progression is both expected and desirable.

The study also showed that the cyberchondria levels of nursing students were moderate (Table 1). This may suggest that students approach online health information with caution and awareness. These findings are consistent with prior studies,^{4,11} although one study noted that over half (57.6%) of students exhibited cyberchondriac tendencies.¹² The fact that these students experienced online education during the COVID-19 pandemic may have influenced their behavior, as increased reliance on digital platforms during that period may have affected their information-seeking patterns. Cyberchondria is characterized by excessive or compulsive searching for health-related information online to self-diagnose or understand potential illnesses.⁴ It is often viewed as a problematic behavior in contemporary society and is influenced by various factors, including personal health history, technological engagement, and internet dependency.¹³⁻
¹⁶ Given these influences, divergent findings in the literature are not surprising. In this study, no significant association was found between cyberchondria levels and demographic variables such as gender, age, and academic year.

With regard to health perception, nursing students were found to have a moderate level of perceived health (Table 1). This implies a basic ability to assess their own health, although further awareness and knowledge may be needed. Similar findings were reported by Çilingir and Aydın,¹⁷ while other studies have shown either higher^{18,19} or lower levels.²⁰ Health perception, being a subjective evaluation of one's health, may be shaped by factors such as health education and the capacity to use digital or printed resources.^{7,8,20} In the present study, no significant relationship was identified between demographic variables (gender, age, academic year) and

students' health perception scores (Table 2). Çilingir and Aydın¹⁷ suggested that the inability to assess their health effectively might explain such nonsignificant associations. Conversely, some studies indicate that these variables do impact health perception.^{8,17} It is therefore recommended that health education efforts be expanded to improve students' understanding of health-related behaviors. Interestingly, the study found no significant associations between e-health literacy, cyberchondria, and health perception. This aligns partially with the findings of Gürkan et al., who also reported no link between e-health literacy and cyberchondria.⁴ One possible explanation is that students' skills in critically evaluating the credibility of digital health information may not be developed enough to influence their cyberchondria tendencies.

In contrast, other studies have reported a significant positive correlation between e-health literacy and health perception.^{4,21} These findings suggest that the ability to obtain and interpret health information can contribute to a more positive health perception. However, the absence of such a relationship in this study may indicate that students have not yet integrated health information into their personal perception of health or that other educational or environmental variables may be at play. Additionally, contrary to some findings in the literature, no significant relationship was found between cyberchondria and health perception in this study. Starcevic and Berle²² proposed that an individual's perception of their health influences their tendency toward cyberchondria. Likewise, Baumgartner and Hartmann²³ and Muse et al.²⁴ suggested that lower health perception may be associated with higher cyberchondria due to increased reliance on internet resources for health concerns. The discrepancy observed in the current study may be attributed to the fact that nursing students, as future healthcare providers, tend to critically evaluate health information, reducing the direct impact of their health perception on their cyberchondria tendencies. In summary, no significant interrelationships were found between e-health literacy, cyberchondria, and health perception in this sample of nursing students. As digital natives, these students may not perceive online health information seeking as problematic and may be influenced by their training to assess such information critically. This finding indicates a degree of adaptation to the digital health environment and a developing competence in navigating digital health resources.¹

Limitations of the Study

While this study provides valuable insights into the levels of e-health literacy, cyberchondria, and health perception among nursing students, it is not without limitations. First, the research was conducted with students enrolled in the nursing department of a single university, which may restrict the generalizability of the findings to students from other health-related disciplines or different geographical areas. Second, the cross-sectional design limits the ability to infer causal relationships among the variables studied. Future studies employing longitudinal designs could provide a deeper understanding of how these variables interact and evolve over time. Third, the data collection relied on self-reported questionnaires, which may introduce biases such as recall inaccuracies or social desirability bias. Moreover, although demographic variables like age and gender were examined, other potentially influential factors—such as socioeconomic status, digital access, or family health background—were not included in the analysis. In light of these limitations, it is recommended that future research involve larger and more heterogeneous samples, include a broader range of demographic variables, and adopt longitudinal methodologies. Such efforts would contribute to a more comprehensive understanding of how e-health literacy, cyberchondria, and health perception are interconnected among nursing students.

CONCLUSION

The findings of this study revealed that nursing students demonstrated moderate levels of e-health literacy, cyberchondria, and health perception. It was observed that as the students progressed in their academic years, their e-health literacy and health perception scores improved. However, no significant association was identified between students' e-health literacy, cyberchondria, and health perception levels. Additionally, gender and academic year were not found to significantly influence students' cyberchondria or health perception levels.

Given these findings, integrating curriculum components aimed at enhancing e-health literacy and raising awareness about cyberchondria may contribute positively to nursing education. Educational interventions should focus on equipping students with the ability to critically assess digital health information and utilize online health resources responsibly. Enhancing skills related to verifying the credibility of online health content is also essential.

To address cyberchondria and improve health perception, access to psychosocial support services should be strengthened. Such measures may aid students in managing health-related anxiety more effectively. Furthermore, nursing students should receive guidance on the informed and appropriate use of digital health applications, including their potential benefits and limitations. In this study, no statistically significant relationship was found among cyberchondria, health perception, and health literacy. However, it is recommended that future studies examine these relationships more comprehensively to better understand the interaction among these variables and to develop effective educational interventions.

Future studies involving diverse student populations and disciplines within health sciences are recommended to enhance the applicability and generalizability of these findings. Overall, these strategies could foster a more informed and competent generation of healthcare professionals in the evolving digital health landscape.

Authorship contribution statement

Concept and design: HHT, LNU.

Acquisition of data: HHT, LNU.

Analysis and interpretation of data: HHT.

Drafting of the manuscript: HHT, MTK.

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: HHT, MTK.

Declaration of competing interest

None of the authors have potential conflicts of interest to be disclosed.

Ethical approval

In order to conduct this study, official written permission was obtained from the university where the research was conducted, ethical approval numbered 2023/374 (07.08.2023) was obtained from the Bolu Abant İzzet Baysal University Human Research Ethics Committee in Social Sciences, informed consent was obtained from the participants, and permission for the measurement tools used in the research was obtained from the author via e-mail. This study has been prepared in accordance with the Declaration of Helsinki.

Availability of data and materials

All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

Funding

The researcher(s) received no financial support for the research, authorship and/or publication of this article.

REFERENCES

1. Kıbrıs Ş, Kızılkaya S. E-sağlık okuryazarlık düzeyinin sağlık algısı üzerine etkisinin incelenmesi. *Sağlık ve Sosyal Refah Araştırmaları Dergisi*. 2023;5(2):241-250.
2. Mansur F, Cigerci K. Siberkondri ve e-sağlık okuryazarlığı arasındaki ilişki. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2022;11(1):11-21.
3. Deniz S. Bireylerin e-sağlık okuryazarlığı ve siberkondri düzeylerinin incelenmesi. *İnsan ve İnsan*. 2020;7(24):84-96.
4. Gürkan AT, Özdelikara A, İnanlı TK. Hemşirelik öğrencilerinde e-sağlık okuryazarlığı ve siberkondri ilişkisi. *Üniversite Araştırmaları Dergisi*. 2023;6(4):474-480.
5. Tarhan N, Tutgun-Ünal A, Ekinci Y. Yeni kuşak hastalığı siberkondri: Yeni medya çağında kuşakların siberkondri düzeyleri ile sağlık okuryazarlığı ilişkisi. *OPUS Int J Soc Res*. 2021;17(37):4253-4297.
6. Barış K, Top FÜ. Hemşirelik öğrencilerinin dijital okuryazarlık, siberkondria düzeyleri ve ilişkili faktörlerin değerlendirilmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2024;13(1):243-252.
7. Çaka SY, Topal S, Suzan ÖK, Çınar N, Altınkaynak S. Hemşirelik öğrencilerin sağlık algısı ile özgüvenleri arasındaki ilişki. *J Human Rhythm*. 2017;3(4):198-203.
8. Özdemir SÇ, Sağlam HY, Yiğit D, Arık RS. Hemşirelik öğrencilerinin meslek seçimi ile sağlık algısı arasındaki ilişki. *Sağlık ve Toplum*. 2021;31(3):128-136.
9. Kuloğlu Y, Kamil U. Geleceğin sağlık çalışanlarında sağlık okuryazarlık düzeyinin sağlık algısı üzerindeki etkisi. *Doğuş Üniversitesi Dergisi*. 2022;23(1):255-277.
10. Coşkun S, Bebiş H. Adölesanlarda e-sağlık okuryazarlığı ölçeği: Türkçe geçerlik ve güvenilirlik çalışması. *Gülhane Tıp Dergisi*. 2015;57(4):378-384.
11. Söyler, Biçer İ, Çavmak D. Siberkondri ciddiyeti ölçeği kısa formu (CSS-12) Türkçe geçerlik ve güvenilirlik çalışması. In: Uyar S, Kırac R, eds. *Davranışsal Boyutları ile Sağlık*. 1st ed. Ankara: Nobel Yayın Evi; 2021:291-299.
12. Kadioğlu H, Yıldız A. Sağlık Algısı Ölçeği'nin Türkçe çevriminin geçerlilik ve güvenilirliği. *Türk Klin Tip Bilim Derg*. 2012;32(1):47.
13. Kato H, Shimizu H, Shibue Y, et al. Clinical course of 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) in individuals present during the outbreak on the Diamond Princess cruise ship. *J Infect Chemother*. 2020;26(8):865-869.
14. Kaynak S, Arat N, Yardımcı F, Şenol S, Yılmaz HB. Hemşirelik öğrencilerinin e-sağlık okuryazarlık düzeyi ile klinik karar verme becerileri arasındaki ilişki. *Ege Univ Hemşirelik Fak Derg*. 2022;38(3):229-237.
15. Şengül H, Çınar F, Çapar H, Bulut A, Çakmak C. Sağlık bilimleri fakültesi öğrencilerin e-sağlık okuryazarlığı düzeyleri ve internet kullanımına yönelik tutumları: Bir vakıf üniversitesi örneği. *J Soc Humanit Sci Res*. 2017.
16. Tubaişat A, Habiballah L. eHealth literacy among undergraduate nursing students. *Nurse Educ Today*. 2016;42:47-52.
17. Çilingir D, Aydın A. Hemşirelik bölümünde öğrenim gören öğrencilerin sağlık algısı. *Flor Nightingale Hemşirelik Derg*. 2017;25(3):167-176.
18. Evans AY, Anthony E, Gabriel G. Comprehensive health literacy among undergraduates: A Ghanaian university-based cross-sectional study. *HLRP Health Lit Res Pract*. 2019;3(4):e227-e237.
19. Tuğut N, Yılmaz A, Çelik BY. Hemşirelik öğrencilerinin sağlık okuryazarlığı düzeyleri ile sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının belirlenmesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2021;6(2):120-128.
20. Molu B, Ozpulat F, Bas MT. Investigation of nursing students' cyberchondria perceptions and health anxiety. *Int J Caring Sci*. 2023;16(1):72-79.
21. Zhu X, Zheng T, Ding L, Zhang X. Exploring associations between eHealth literacy, cyberchondria, online health information seeking and sleep quality among university students: a cross-section study. *Heliyon*. 2023;9(6):e14059.
22. Starcevic V, Berle D. Cyberchondria: Towards a better understanding of excessive health-related Internet use. *Expert Rev Neurother*. 2013;13(2):205-213.
23. Baumgartner SE, Hartmann T. The role of health anxiety in online health information search. *Cyberpsychol Behav Soc Netw*. 2011;14(10):613-618.
24. Muse K, McManus F, Leung C, Meghreblian B, Williams JMG. Cyberchondriasis: fact or fiction? A preliminary examination of the relationship between health anxiety and searching for health information on the Internet. *J Anxiety Disord*. 2012;26(1):189-195.

To Cite: Hancer-Tok H, Uzun LN, Togur-Keskin M. A study on nursing students' health perception, e-health literacy and cyberchondria in the digital age. *Farabi Med J*. 2025;4(2):27-33.

Premalignant Villous Adenoma Accompanying Irreducible External Rectal Prolapse

İrredüktable Eksternal Rektal Prolapsusa Eşlik Eden Premalign Villöz Adenom

Sami Acar^{1,a}, Çağıl Karaevli^{1,b,*}

¹Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Tekirdağ, Türkiye.

*Corresponding author e-mail: karaevlicagil@yahoo.com

^a<https://orcid.org/0000-0003-4096-3963>

^b<https://orcid.org/0000-0002-4280-7430>

ABSTRACT

Rectal prolapse (or prosidensia) is a condition in which the rectal wall partially or completely protrudes from the anus all around, in full thickness. Although its etiology is not clear, it is now considered a pelvic floor disease. Although the ideal treatment method has not yet been determined, surgical intervention is the only definitive solution. Various surgical treatment methods have been defined, and the method to be chosen is determined according to the patient's general condition, symptoms, bowel habits, anatomy, and preoperative expectations. Rarely, rectal prolapse in the presence of a redundant colon may be accompanied by a mass lesion located in the ampulla recti. Our case with full-thickness rectal prolapse, for which oncological principles should be observed in the treatment, is presented as an example of this situation.

Keywords: Adenoma, Colonic polyps, Intussusception, Perineal procedure, Rectal prolapse

ÖZET

Rektal prolapsus (veya prosidensia), rektum duvarının tam katmanlı olarak, çevresel şekilde anüsten kısmen ya da tamamen dışarıya protrüze olduğu bir durumdur. Etiyolojisi tam olarak açıklığa kavuşmamış olmakla birlikte, günümüzde pelvik taban hastalığı olarak kabul edilmektedir. Henüz ideal tedavi yöntemi netleşmemiş olsa da, cerrahi müdahale tek kesin çözüm olarak kabul edilmektedir. Farklı cerrahi tedavi yöntemleri tanımlanmış olup, hangi yöntemin tercih edileceği hastanın genel durumu, semptomları, barsak alışkanlıkları, anatomik yapısı ve preoperatif beklentilerine göre belirlenmektedir. Nadir durumlarda, redundant kolon varlığında gelişen rektal prolapsus, ampulla recti'de yerleşmiş kitle lezyonu ile birlikte görülebilir. Tam katmanlı rektal prolapsus ile başvuran ve tedavisinde onkolojik prensiplere uyulması gereken olgumuz, bu duruma bir örnek olarak sunulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Adenom, İntussusepsiyon, Kolon polipleri, Perineal prosedür, Rektal prolapsus

INTRODUCTION

Rectal prolapse and intussusception are disorders where anatomical abnormalities linked to pelvic floor dysfunction cause the rectum to partially or fully prolapse from the anal canal. It can be internal or external. The term "internal rectal prolapse" or "intussusception" refers to partial or partial protrusion of the rectum via the anal canal, as opposed to full-thickness protrusion. In rectal prolapse, the pathophysiology of which is not clear, the circumferential folds prolapse concentrically. The primary complaint is a mass that protrudes from the anal canal during challenging defecation. About 25% of the cases with this symptom also have discomfort and pain 28–88% include fecal incontinence, and 15–65% include constipation.¹ The prevalence of external rectal prolapse is less than 0.5%. More than 90% of occurrences occur in women over the age of fifty who have had a vaginal birth.² Tissue strangling and ulceration should be closely monitored during rectal prolapse.³ It is treated with two separate surgical approaches, including abdominal and perineal approaches. There is no agreement or standardization to decide the best approach to take. The perineal technique is preferred for elderly individuals who are at risk, particularly those who have comorbidities that require abdominal surgery. The typical recurrence rate is 11% in perineal methods and 7% in abdominal approaches.^{4,5} Rarely can a large lesion in the rectal region be associated with rectal prolapse. Reduction may not always be possible, depending on the size of the lesion. Furthermore, the tumor could dissolve and spread during this time, deviating from the rules of oncological treatment. Simultaneous perineal and abdominal surgery is the right course of action in these situations to get good outcomes.

This article describes the diagnosis and course of therapy for a case in which the development of rectal prolapse was followed by the observation of a sizable rectal mass lesion near the anal opening.

CASE REPORT

The patient provided informed consent for this case report. A 73-year-old male patient presented to the emergency clinic complaining of a mass bulging from the anal region. The patient had no such complaints before. He mentioned that he had been bleeding from the anal area around once a month for nearly a year and had been having trouble defecating for quite some time. He had essential hypertension and had previously undergone bilateral inguinal hernia surgery. During the physical examination performed at the emergency clinic, it was discovered that the external rectal prolapse was caused by the mass placed in the prolapsed segment (Figure 1), and the mass could not be reduced. The patient had thoracoabdominal computed tomography (CT) and pelvic magnetic resonance imaging (MRI). On CT, there was no evidence of a metastatic focus in the thorax or abdomen. Contrast-enhanced sagittal plan MRI sequences showed a soft tissue lesion measuring 90 x 25 mm in size containing vascular structures, skin thickening, and an edematous appearance, which was only observed on contrast-enhanced images. Additionally, the prolapse of the rectum and mesorectal fatty planes approximately 105 mm distal from the pelvic floor level was noted (Figure 2). The colonoscopic examination revealed no concurrent intra-colonic mass lesions. Based on the available data, a diverting loop ileostomy and coloanal anastomosis were carried out along with intersphincteric ultra-low anterior rectal resection, which addresses the curative surgical treatment of the rectal tumoral mass using oncological principles and concurrently corrects the rectal prolapse (Figure 3b and 3c). The presence of a redundant colon was notable during laparotomy exploration (Figure 3a). After resection macroscopically, the mass lesion was found at the entrance of the anal canal. (Figure 4). Negative surgical margins were obtained in the frozen examination. The coloanal anastomosis was performed with a 3/0 polyglactin suture using a Lonestar anal retractor. Pathological examination revealed a tubulovillous adenoma adjacent to the anal entrance, 9.5 x 8 x 3 cm in diameter, containing high-grade dysplasia. The ileostomy was closed in the fourth week after surgery.

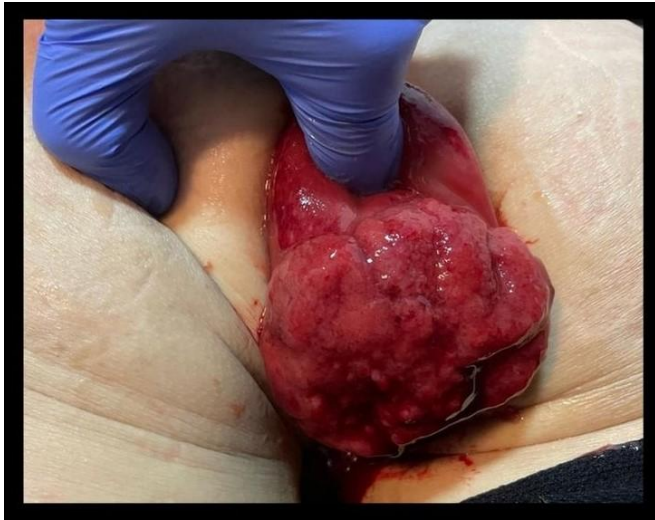


Figure 1. Appearance of a rectal tumoral mass and simultaneous external rectal prolapse in the anal region examination performed at the emergency department.

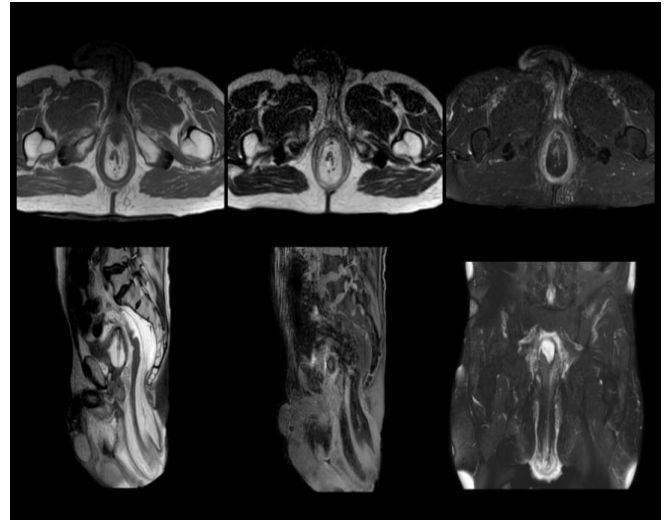


Figure 2. MRI demonstrates a soft tissue lesion containing vascular structures, skin thickening and an edematous appearance.

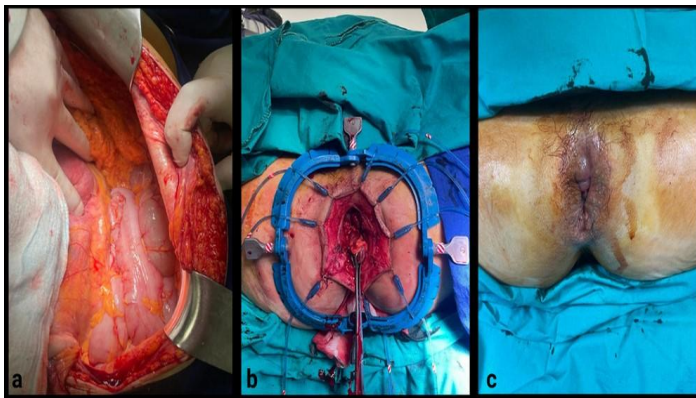


Figure 3. a) Redundant colon observed during laparotomy exploration b) View of the anal region in lithotomy position at the end of the surgery c) Coloanal intersphincteric anastomosis.

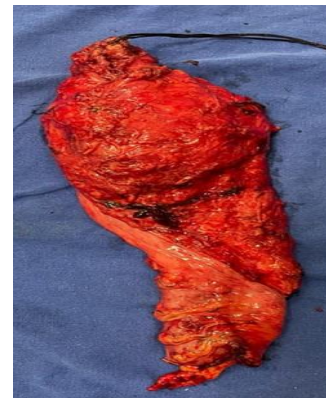


Figure 4. Macroscopic view of the sample. The mass lesion was located at the anal entrance. The area marked with a string is the internal anal sphincter.

DISCUSSION

The assessment of constipation and fecal incontinence is critical in rectal prolapse evaluation. Constipation develops as a result of lumen narrowing brought on by rectal invasion. Prolapse may arise as a result of subsequent total obstruction, severe straining, and colonic motility. As in our case, an obstructive mass lesion may be the cause of constipation, and if there was the simultaneous presence of a redundant colon, prolapse could easily develop. In such cases where rectal prolapse is associated with a mass, surgical intervention should be guided by oncologic principles and ensure treatment of the prolapsed segment. As in our case, rapid decisions should not be made in the treatment management of patients presenting to the emergency outpatient clinic for the first time with such a condition, and the most appropriate procedure should

be preferred according to the findings. As a matter of fact, four days elapsed between the presentation of our patient and the day of surgery for examinations and preparation.

Fecal incontinence commonly develops in the final stages of the procedure. A multitude of elements contribute to its growth. These include the existence of external prolapse, pudendal neuropathy, anus dysfunction, and impaired excitatory rectoanal excitatory reflex. Clinical findings deteriorate due to stretch-related injuries to the sphincter caused by recurrent prolapse events. As a result, early intervention is critical. Fluoroscopic defecography (FD), dynamic magnetic resonance defecography (DMRD), anal manometry, endoanal ultrasonography, and colonoscopy are used to distinguish between rectocele, enterocele, cystocele, rectoanal intussusception, and

perineal descents. DMRD offers comprehensive details regarding the anatomy, soft tissue, and intrapelvic organ relationships of the pelvis. It is capable of distinguishing between rectorectal and rectoanal intussusception, which is mucosal and full thickness. It can have a 28–41% impact on clinical decision-making and surgical planning.⁶ Prognostic information can be inferred from endoanal ultrasonography for anatomy and anal manometers for anal sphincter function. Colonoscopies are typically performed prior to surgical intervention in order to rule out the presence of neoplasia and inflammatory bowel disease, which can occur concurrently with rectal prolapse. The diagnosis and treatment of the current case were based on oncological concepts. After a colonoscopy and the planning of a surgical operation, the possibility of a synchronous colon tumor and inflammatory bowel disease was ruled out using pelvic MRI.

The "Oxford radiological rectal prolapse staging system" is utilized radiologically before rectal prolapse treatment.⁷ As a result, there are five stages (Table 1), and grade 3–4 internal and external rectal prolapse is indicated for surgical intervention. Treatment can be planned to use an abdominal or perineal approach, depending on the surgeon's skill, the patient's age, any morbidities, and the patient's bowel habits.⁸ The functional outcomes of perineal methods (Table 2) have been highlighted as being worse and having greater recurrence rates; however, a recently published Cochrane analysis has demonstrated that the abdominal approach yields equivalent results.⁹ Open, laparoscopic, and robotic abdominal treatments can be used to achieve high functional outcomes and low recurrence rates in patients without severe peritonitis, deep infiltrative endometriosis, or the danger of general anesthesia. Various methods are classified based on the fixation method and the dissection plane (Table 2). Their shared objective is to improve functional outcomes and treat prolapse by fixing the rectum.⁸ Based on the Oxford rectal prolapse stage, the current case (Grade 5) exhibits a mass lesion in the superfluous colon and the ampulla recti at the same time. It is impossible to diminish the mass's distal boundary since it is in contact with the anal canal's inner mouth. Because of clinical circumstances, a surgical treatment plan could not be developed through a biopsy. There would be no reason to postpone the surgical treatment process because the biopsy result might not accurately reflect the full mass. For these

reasons, a combination of perineal and abdominal interventions was carried out based on oncological principles to cure the prolapse, tumoral mass, and constipation issues brought on by the long-term superfluous colon. It was preferred to do colonial anastomosis following intersphincteric ultra-low anterior resection. Before surgery, the patient was informed of the lack of any potential cancer, and the intervention was carried out with consideration for the morbidity load.

Patients are instructed not to take laxatives, lift large objects, or have intercourse for six weeks following surgery. It should be understood that recovery might not happen right away and that functional issues might not be fully fixed. The patient (gender, BMI, history of prior prolapses repair surgery, etc.) and surgical factors (inadequate anterior rectal dissection, insufficient mesh fixation to the anterior rectal wall or sacral promontorium, type of mesh) influence the recurrence rate.¹⁰ The patient did not need oncological treatment based on the pathological results. In the fourth postoperative week, her ileostomy was closed, and there were no surgical problems.

Treatment for rectal prolapse is a difficult procedure. Differential diagnoses must be carefully explored in multidisciplinary research to determine the best treatment. It should be kept in mind that rectal prolapse may be accompanied with malignant masses. In case of suspicion, surgery should be performed in accordance with oncologic principles by preserving surgical margins during the case. The qualities of the patient, the experience of the surgeon, and the technological equipment of the hospital play a crucial role in the decision-making process. Success rates will rise with the careful use of imaging modalities and grading methods that have been proven to work.

Table 1. The Oxford radiological rectal prolapse grading system.

High rectal	Grade I – Level above the rectocele
Low rectal	Grade II – Level of the rectocele but above the anal canal
High anal	Grade III – Descending to the top of the anal canal
Low anal	Grade IV – Descending into the anal canal
External	Grade V – Protrusion from the anal canal

Table 2. Abdominal and perineal procedures frequently performed in rectal prolapse surgery

Perineal Approach	
Delorme	Short segment prolapse (<5cm long)
Altemeier (Perineal proctosigmoidectomy)	Long-segment prolapse
Stapled transanal rectal resection (STARR)	For patients with obesity who experience obstructive defecation, associated rectocele, rectal intussusception, and satisfactory sphincter performance
Natural orifice transanal endoscopic rectopexy	The colon is fixed to the abdomen and promontory using custom endoscopic devices without mesh
Abdominal approach	
Wells procedure (Posterior mesh rectopexy)	Anterior dissection is avoided, and the dissection is performed through the lateral and posterior aspects. After attaching either a polyester or polypropylene mesh to the presacral fascia, it is loosely wrapped around the rectum (270°)
Orr–Loygue procedure (Lateral mesh rectopexy)	The rectum is mobilized circumferentially, and the mesh is fixed to the anterolateral rectal wall and sacral promontory
Frykman–Goldberg procedure (Resection rectopexy)	After complete rectal mobilization and sigmoid resection, the distal rectum is fixed to the presacral fascia using sutures. This procedure is preferred in cases of proven slow-transit constipation, redundant sigmoid colon, and preexisting diverticular disease
Suture rectopexy	The rectum is circumferentially mobilized, two or three sutures are placed on either side, and the lateral ligaments are fixed to the presacral fascia using non-absorbable sutures.
Ventral mesh rectopexy	No rectal mobilization or lateral dissection is performed in the original technique, and the lateral ligaments are preserved. The mesh is placed on the anterior rectal wall, and fixation to the sacral promontory is performed using sutures, staplers, or even surgical glue. Reinforcement of the rectovaginal septum, correction of the enterocele, correction of genital prolapses by adding sacrocolpopexy, and preservation of the hypogastric and parasympathetic nerves are possible by this technique

Acknowledgement

Thanks to Nurten Türkel Küçükmetin for his support in the treatment process of the patient.

Authorship contribution statement

Concept and desing: SA.

Acquisition of data: SA and CK.

Analysis and interpretation of data: SA.

Drafting of the manuscript: SA.

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: SA and CK.

Statistical analysis: SA.

Declaration of competing interest

None of the authors have potential conflicts of interest to be disclosed.

Ethical approval/Informed Consent

Written informed consent was obtained from the patient who participated in this case.

Availability of data and materials

All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

Funding

No financial support was received for this research.

REFERENCES

1. Rakinic J. Rectal prolapse. Medscape. 2022. <https://emedicine.medscape.com/article/2026460-overview>.
2. Hori T, Yasukawa D, Machimoto T, et al. Surgical options for full-thickness rectal prolapse: current status

- and institutional choice. *Ann Gastroenterol.* 2018;31(2):188-197.
3. Drezdron MK, Peterson CY. Anorectal Emergencies. *Surg Clin North Am.* 2023;103(6):1153-1170.
4. Emile SH, Elfeki H, Shalaby M, Sakr A, Sileri P, Wexner SD. Perineal resectional procedures for the treatment of complete rectal prolapse: A systematic review of the literature. *Int J Surg.* 2017;46:146-154.
5. Emile SH, Elfeki HA, Youssef M, Farid M, Wexner SD. Abdominal rectopexy for the treatment of internal rectal prolapse: a systematic review and meta-analysis. *Colorectal Dis.* 2017;19(1):O13-O24.
6. Kaufman HS, Buller JL, Thompson JR, et al. Dynamic pelvic magnetic resonance imaging and cystocolpoproctography alter surgical management of pelvic floor disorders. *Dis Colon Rectum.* 2001;44(11):1575-1584.
7. Lindsey I. Internal rectal prolapse. In: Lindsey I, Nugent K, Dixon T, editors. *Pelvic Floor Disorders for the Colorectal Surgeon* (Oxford, 2010; online edn, Oxford Academic, 1 May 2013). Oxford: Oxford University Press, 2010:93-102.
8. Oruc M, Erol T. Current diagnostic tools and treatment modalities for rectal prolapse. *World J Clin Cases.* 2023;11(16):3680-3693.
9. Tou S, Brown SR, Nelson RL. Surgery for complete (full-thickness) rectal prolapse in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;2015(11):CD001758.
10. Tsunoda A, Takahashi T, Matsuda S, Oka N, Kusanagi H. Midterm functional outcome after laparoscopic ventral rectopexy for external rectal prolapse. *Asian J Endosc Surg.* 2020;13(1):25-32.

To Cite: Acar S, Karaevli C. Premalignant villous adenoma accompanying irreducible external rectal prolapse. *Farabi Med J.* 2025;4(2):34-39.

Moleküler Biyoloji Yöntemlerinin Tıbbi Laboratuvarlarda Güncel Kullanımı

Current Use of Molecular Biology Methods in Medical Laboratory

Sinan Tetikoğlu^{1,2,a}, Funda Bilgili-Tetikoğlu^{1,2,b}, Selcen Çelik-Uzuner^{1,c,*}

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Trabzon, 61080, Türkiye.

²Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 61080, Türkiye.

*Sorumlu yazar e-posta: selcen.celik@ktu.edu.tr

^a<https://orcid.org/0000-0002-7725-6034>

^b<https://orcid.org/0000-0003-3734-4803>

^c<https://orcid.org/0000-0002-9558-7048>

ÖZET

Moleküler biyoloji, temelde DNA, RNA ve proteinlerin hücre içi sentezi, işlenmesi ve yıkımına ilişkin hücresel yollar ile bu süreçleri düzenleyen mekanizmaların bütününi inceleyen bir bilim dalıdır. Organizmanın en küçük birimi olan hücrelerde bulunan bu moleküllerin tespitine yönelik yöntemlerin klinik uygulamalara aktarılmasıyla, hastalıkların tanı, tedavi ve seyri daha hızlı ve duyarlı yöntemlerle belirlenebilir hale gelmiştir. Günümüzde hemen her hastalığın hücresel bir sebebi ve sonucu olduğu bilinmektedir. Moleküler biyoloji teknikleri, hastalıkların moleküler düzeydeki nedenlerinin aydınlatılması, hastalığa özgü biyobelirteçlerin keşfi ve kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi açısından vazgeçilmez araçlardır. Moleküler tekniklerin gelişen teknolojiyle entegrasyonu, bu yöntemleri tanı ve tedavide önemli bir basamak haline getirmiştir. Bu derleme çalışmasının amacı, tıbbi laboratuvarlarda kullanıma uygun moleküler biyoloji yöntemlerine güncel bakış açısı sunmak, son yıllarda yapılan çalışmalardan örnekler vererek bu alandaki ilerlemeleri vurgulamak ve mevcut moleküler biyoloji yöntemlerini tıbbi laboratuvarlarda kullanıma entegre etmenin önemine dikkat çekmektir. Ayrıca bu derleme; PCR, NGS, FISH, CRISPR, moleküler blotlama, ELISA ve immünboyama gibi moleküler teknolojilerin tıbbi kullanımlarına, hassasiyetlerine ve klinik uygulamalar üzerindeki katkılarına vurgu yapma yönüyle literatüre katkı sağlayarak, tıbbi laboratuvarlar ve moleküler biyoloji alanlarının ortak paydaşlarına değinmiş olacaktır. Ayrıca moleküler biyoloji tekniklerinin tıbbi laboratuvarlarda kullanılması üzerindeki sınırlılıkları ve gelecek beklentileri de tartışılacaktır.

Anahtar Kelimeler: CRISPR, FISH, Moleküler teknikler, NGS, PCR, Tıbbi laboratuvar

ABSTRACT

Molecular biology is a scientific discipline that primarily investigates the cellular pathways and regulatory mechanisms involved in the synthesis, processing, and degradation of DNA, RNA, and proteins within the cell. The translation of methods used to detect these molecules in cells—the smallest functional units of the organism—into clinical applications has enabled the diagnosis, treatment, and monitoring of diseases through more rapid and sensitive techniques. Today, it is well established that nearly every disease has a cellular cause and consequence. Molecular biology techniques are indispensable tools for elucidating the molecular basis of diseases, discovering disease-specific biomarkers, and developing personalized therapeutic strategies. The integration of molecular techniques with advancing technology has made these methods a critical step in diagnosis and therapy. This review aims to provide an up-to-date perspective on molecular biology techniques suitable for use in medical laboratories, highlight recent advances in the field by presenting examples from recent studies, and emphasize the importance of integrating current molecular biology methods into medical laboratory practice. Additionally, this review seeks to contribute to the literature by discussing the medical applications, sensitivities, and clinical impacts of key molecular technologies such as PCR, NGS, FISH, CRISPR, molecular blotting, ELISA, and immunostaining. Furthermore, the limitations of employing molecular biology techniques in medical laboratories and future expectations for the field will also be addressed, offering a comprehensive evaluation for stakeholders across both molecular biology and medical laboratory sciences.

Keywords: CRISPR, FISH, Medical laboratory, Molecular techniques, NGS, PCR

Geliş Tarihi/Received Date: 19.03.2025

Kabul Tarihi/Accepted Date: 14.05.2025

GİRİŞ

Moleküler biyoloji tekniklerindeki ilerlemeler sayesinde, salgın hastalıklar, genetik hastalıklar, kanser tedavileri ve aşılama gibi alanlarda tıbbi laboratuvarların tanı ve tedaviye yaklaşması önemli yol kat etmiştir.¹ Hücrelerin yapı taşlarını oluşturan moleküllerin (DNA, RNA ve protein) kullanılmasıyla gerçekleştirilen bu teknikler; hastalıklara daha öznel yaklaşılması, tedaviye yeni bakış açılarının geliştirilmesi ve tanı süresinin kısaltılması gibi yönlerden giderek daha da önem kazanmaktadır. Bu tekniklerin ortaya çıkışı, klasik tıbbi tanı yöntemlerinin duyarlılığını, verimliliğini ve özgünlüğünü artırmıştır. Moleküler teknolojilerdeki süregelen ilerlemeler, tıbbi laboratuvarları artık kişiselleştirilmiş tıbbı doğru evirmektedir.²

Tıbbi Laboratuvarlarda Kullanılan Temel Moleküler Biyoloji Teknikleri

1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), tanı ve teşhisi kapsayan geniş kullanım alanlarıyla tıbbi laboratuvarlarda sık kullanılan moleküler biyoloji tekniklerinden biridir. Kary Mullis tarafından 1983'te geliştirilen ve 1993'te Nobel Kimya Ödülü'nü alan PCR çok az miktardaki DNA'yı enzimatik olarak milyarlarca kopya haline getiren bir tekniktir.³ PCR işlemi, bir termal ısıtıcı blokta, hedef bir DNA dizisinin primerler yardımıyla sınırlandırılarak, milyarlarca kopyasının saatler içinde üretilmesine imkan tanır.^{2,4} PCR; DNA'nın ısı döngüleri sayesinde üç ana aşamada çoğaltılmasına dayanır: Denatürasyonda (94-98°C); çift sarmal DNA yüksek sıcaklıkta ısıtılarak iki tek zincire ayrılır. Annealing'de (50-65°C); özel olarak tasarlanmış kısa DNA dizileri olan primerler, hedef DNA bölgesine bağlanır. Uzama'da (72°C) ise, Taq polimeraz enzimi, primerlerden itibaren yeni DNA zinciri sentezler. Bu döngü yaklaşık 30-40 kez tekrarlanır ve hedef DNA milyarlarca kopyaya ulaşır.⁵ Amplifiye edilen DNA dizi havuzu sonraki çalışmalarda daha ayrıntılı çalışmalarda kullanılabilir. Böylece, miktarı az dahi olsa istenilen patojen veya mutasyon tespit edilebilir. PCR rutin uygulamalarda, COVID-19, Tüberküloz, HIV ve hepatit gibi mikrobiyal enfeksiyonların taranmasında hızlı ve kapsamlı bir tarama sağlar.⁶ PCR, tıbbi laboratuvarlarda özellikle mikroorganizma tespiti, genetik hastalıkların tanısı, kanser araştırmaları ve bireysel genetik analizlerde yaygın olarak kullanılır. Tıbbi

laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan PCR türleri şunlardır:

1.1. Konvansiyonel PCR (Standart PCR)

Konvansiyonel PCR, belirli bir DNA bölgesinin amplifikasyonu için kullanılan en temel PCR türüdür. Bu türde, genetik materyal çoğaltılır ve PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi ile görüntülenir. Mikroorganizma tespiti, mutasyon analizi ve genetik hastalıkların teşhisinde kullanılabilir. Uygulaması basittir ve düşük maliyetlidir. Fakat ürünlerin görüntülenmesi gereklidir, miktar tayini yapamaz.⁵

1.2. QPCR (Quantitative PCR)

QPCR, amplifikasyon ürünlerinin sayısını gerçek zamanlı olarak izleyerek DNA/RNA'nın miktarını belirlemeye olanak tanır. QPCR genellikle gen ekspresyonu analizi ve viral yük tespiti için kullanılır. Virüs yükü belirleme (örneğin HIV, COVID-19), gen ekspresyonu analizi ve kanser araştırmalarında kullanılabilir.⁷ Yüksek hassasiyet ve doğruluk sağlar, sonuçlar hızla elde edilir. Fakat, teknik olarak karmaşık olabilir, uzmanlık gerektirir ve standart PCR'a göre pahalıdır. Gerçek zamanlı PCR da denilen kantitatif PCR (Q-PCR), istenilen gen veya patojenin varlığını sayısal kat oranında hesaplayarak PCR'ın kalite ve yeterliliğini, tedaviye cevabı daha da artırmaktadır.⁶

1.3. RT-PCR (Reverse Transcription PCR)

RT-PCR, RNA'nın DNA'ya dönüştürülmesini (ters transkripsiyon) takiben, bu DNA'nın çoğaltılmasını sağlar. Bu yöntem özellikle RNA virüslerinin tespiti için kullanılır. RNA virüslerinin (örneğin grip, HIV, COVID-19) tespiti ve gen ekspresyonu çalışmalarında kullanılır.⁸

1.4. Multiplex PCR

Multiplex PCR, birden fazla hedef DNA bölgesinin aynı anda çoğaltılmasını sağlayan bir tekniktir. Bu, aynı örnek üzerinde birden fazla genetik hedefi hızlı bir şekilde analiz etmek için kullanılır. Çoklu patojenlerin tespiti ve genetik hastalıkların taramasında kullanılır. Birden fazla hedefin aynı anda tespit edilmesi sağladığı için zaman ve maliyet tasarrufu sağlar. Primer tasarımında zorluklar yaşanabilir.⁹

1.5. Nested PCR

Nested PCR, ilk PCR amplifikasyonunun ürününü bir kez daha amplifiye eden ikinci bir PCR reaksiyonu içerir. Bu, daha düşük DNA miktarları ile çalışmayı ve daha yüksek doğruluk sağlamayı mümkün kılar. Düşük DNA konsantrasyonu durumunda tercih edilebilir. Yüksek duyarlılık ve doğruluk sağlar. İki aşamalı işlem gerektirdiği için zaman alıcı olabilir.⁹

1.6. Digital PCR (dPCR)

Digital PCR, numunenin her bir molekülünün ayrı ayrı analiz edilmesini sağlar. Bu, çok hassas ve kesin sonuçlar elde edilmesini sağlar, özellikle düşük miktarda hedef DNA/RNA ile çalışırken etkilidir. Genetik mutasyonların tespitinde, nadir mutasyonların belirlenmesinde ve mikrobiyom analizinde kullanılır. Pahalı ekipman gerektirir ve teknik bilgi gerektirir.¹⁰

1.7. LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification)

LAMP, sıcaklık kontrollü bir ortamda DNA çoğaltma işlemi yapar ve genellikle PCR'a alternatif olarak kullanılır. Bu, PCR'ın laboratuvar koşullarında gerektirdiği sıcaklık döngülerini ortadan kaldırır. Sahada yapılan testlerde ve hızlı mikroorganizma tespitinde kullanılır. Daha hızlı ve daha az ekipman gerektirir. Fakat yalnızca belirli uygulamalar için uygundur.¹¹

Tanı ve Tedavide PCR Uygulamaları

PCR tekniği, yaygın salgın hastalıklarının tanımlanması ve tespit edilmesinde moleküler biyoloji, mikrobiyoloji ve biyokimya alanlarında hala altın standarttır. Örneğin 2019 yılından itibaren tüm dünyayı sarsan COVID-19 salgınından sorumlu olan SARS-CoV-2 virüsünün tespitinin dakikalar içinde hızlıca ve en doğru şekilde yapılmasının arkasında şüphesiz PCR testleri ve analizleri vardır. Bu PCR temelli analizler hastalıkların erken tanınmasına aracılık ederek tedavi sürecinin hızlanması ve bulaşıcı hastalıklarda bulaşıcılığın azalması gibi süreçlere katkı sunar. PCR testleri, genetik analizlerde de son derece elzemdir. Özellikle aile öyküsünde kistik fibrozis, orak hücre anemisi ve kanser olan insanlarda mutasyon taramalarıyla hastalıklardan korunma ve erken teşhis sağlanabilmektedir.^{12,13} Hedefli PCR testleri, prenatal tanı ve preimplantasyon genetik tarama gibi uygulamalar için histoloji ve embriyoloji alanında kullanılmaktadır.¹⁴ Tablo 1'de yöntemler ve kullanım amaçları özetlenmektedir. Klasik PCR yöntemine kıyasla geliştirilen yeni PCR tabanlı teknikler, özgüllük, hassasiyet ve çoklu hedef analizi açısından önemli avantajlar sunmaktadır. Örneğin nested PCR, iki ardışık amplifikasyon adımı ile çalışarak spesifikliği artırır ve yanlış amplifikasyon riskini azaltır. Dijital PCR (dPCR) ise DNA örneğini binlerce küçük reaksiyon bölmesine ayırarak mutlak DNA miktarını son derece hassas bir şekilde ölçmeyi mümkün kılar; özellikle düşük frekanstaki mutasyonların tespitinde büyük üstünlük sağlar. Multiplex PCR yöntemi ise birden fazla hedefin aynı anda çoğaltılmasına izin vererek, zamandan, numuneden ve reaktiften tasarruf sağlar ve kompleks analizlerin etkin bir şekilde

gerçekleştirilmesine olanak tanır. Bu gelişmiş yöntemler, moleküler tanı ve araştırmalarda PCR teknolojisinin uygulama alanlarını önemli ölçüde genişletmiştir.

2. Yeni nesil dizileme (NGS)

Yeni nesil dizileme (NGS), milyonlarca DNA parçasının aynı anda hızlı bir şekilde sıralanmasına olanak sağlayarak, genomun tüm dizisi hakkında bilgi vermektedir. NGS, özellikle 2003 yılında tamamlanan İnsan Genom Projesi'nden sonra genom çalışmalarında devrim yaratacak nitelikte bilgi ortaya çıkaran bir dizileme tekniğidir. Elde edilen genomik veriler genomun yapısı, işleyişi ve bileşenleri hakkında daha kapsamlı bilgilere sahip olmayı sağlamaktadır.¹⁵ Genomun tamamının dizilenmesinin yanında, belirli bir bölgenin dizilenmesine de olanak sağlayan NGS; genetik varyasyonlar, gen ekspresyon profilleri ve epigenetik değişiklikler ile ilgili de ayrıntılı veri sunmaktadır.¹⁶ NGS'nin temel aşamaları; DNA ya da RNA örneğinin (kan, doku, tükürük, idrar, biyopsi) ekstrakte edilmesi, DNA'ların küçük parçalara (fragmentlere) ayrılması ve bu parçalara özel adaptör dizileri eklenmesiyle kütüphane hazırlanması, kütüphanenin dizileme cihazına yüklenmeye hazır hale getirilmesi, opsiyonel olarak amplifikasyon ve son olarak sekanslamadır. Cihaza bağlı olarak farklı teknolojiler kullanılır: Illumina, floresan nükleotidlerle sentez sırasında okuma sağlarken; Ion torrent, pH değişikliğiyle okuma sağlar. Oxford Nanopore ise DNA'nın nano boyutta bir pordan geçişiyle baz tanıma sağlar. Okumalar sonucunda DNA zinciri baz baz okunur, sinyaller dijital verilere dönüştürülür, ardından biyoformatik analiz yapılır.¹⁷

NGS; temel araştırmalardan, klinik uygulamalara kadar her alanda kullanılabilen ve kolaylık sağlamaktadır. Klinik çalışmalarda özellikle hastalıkların erken teşhisinde, mutasyon taramalarında, onkolojide, adli tıpta ve nadir hastalıkların tanımlanmasında kullanılmaktadır.¹⁸

Tanı ve Tedavide NGS Uygulamaları

NGS, onkolojide kanser dokularının ayrıntılı genom profillerinin çıkarılmasında, kopya sayısı varyasyonlarının ve mutasyonların belirlenmesinde önemli bilgiler sağlar.¹⁷ Özellikle kanser biyobelirteçleri olarak da adlandırılan kanser spesifik genlerin (EGFR, BRCA1/2 ve KRAS gibi) ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi, kişiye özel hedefli kanser tedavisinin sağlanmasında önemli rol oynamaktadır. Ayrıca, kanser tedavi süreçlerinde test edilen genomik direnç ve instabilitenin belirlenmesini kolaylaştırır.¹⁸ NGS, genetik tanı metotlarıyla belirlenmesi zor olan, hastalıklara ait

bilinmeyen mutasyonların tespit edilmesini sağlar. Çoklu kalıtım modeline sahip nörolojik sendromları, metabolik hastalıkların ve gelişim geriliklerinin genetik mutasyonlarını belirlemede tüm ekzom dizilemesi (WES) ve tüm genom dizilemesi (WGS) kullanılabilir.¹⁸ Son on beş yıl içinde üçüncü nesil dizileme olarak adlandırılan Nanopore dizileme yöntemi keşfedilmiştir.¹⁹ Nanopore sekanslama, tek DNA / RNA moleküllerinden gerçek zamanlı okuma sağlayarak birçok biyomedikal çalışmayı mümkün kılmıştır.^{20,21} İkinci nesil dizileme yöntemlerinden olan NGS'ye göre avantajları bulunmakla birlikte kullanımının daha az yaygın olmasından kaynaklı maliyeti daha yüksek bir tekniktir.

3. Floresan *in situ* hibridizasyon

Floresan *in situ* hibridizasyon (kısaca FISH), bir kromozom üzerindeki belirli bir DNA dizisini tespit etmek ve yerini belirlemek için kullanılan bir moleküler laboratuvar tekniğidir. Bu teknikte, bir bireyin kromozomlarının tam seti bir lama yayılır ve daha sonra hedef bölgeye spesifik olan bir "prob" ile muamele edilir. Prob, floresan boya ile etiketlenmiş küçük bir DNA dizisidir. Floresan boya ile etiketlenen prob, kromozom setinde eşleşen diziyi bulur ve ardından o bölgeye bağlanır. Özel bir floresan mikroskop kullanılarak, floresan probun bağlandığı kromozom ve alt kromozomal konum belirlenebilir.^{22,23} FISH yönteminin basamakları: İncelenecek örnek (metafaz kromozomlar, hücre süspansiyonu ya da doku kesiti) cam lam üzerine sabitlenir. DNA çift sarmalı ısı ile denatüre edilir. Floresan işaretli özel DNA problemleri örneğe uygulanır ve hedef dizilerle eşleşir. Bağlanmayan problemler yıkama ile uzaklaştırılır. Floresan mikroskobu ile problemlerin bağlandığı bölgeler renkli sinyaller olarak görüntülenir.²⁴ FISH tekniğinin tipleri şunlardır: Interfaz FISH, interfaz evresindeki hücrelerde uygulanır. Metafaz FISH, hücre bölünmesi sırasında (metafaz kromozomlar üzerinde) uygulanır. Fiber FISH, DNA'nın lineer hale getirilip uzun dizilerin görüntülenmesidir. Q-FISH, telomer uzunluğunun ölçülmesinde kullanılır. Multicolor FISH (M-FISH), Tüm kromozomlara farklı renkler atanarak kompleks anomalilerin incelenmesinde kullanılır. Hedef gen bölgelerine göre farklı FISH problemleri kullanılabilir. Belirli bir gen ya da kromozom bölgesi için lokus spesifik problemler kullanılır ve tıbbi laboratuvarlarda hastalık geni amplifikasyonu/delesyonu belirlebilir. Kromozom sentromer bölgesi için sentromerik problemler kullanılır, anöploid taramalarında (örneğin 13,18,21) tercih edilir. Kromozom uçları için kullanılan telomerik

problemler özellikle denge bozuklukları hastalıklarının teşhisinde kullanılır. Gen füzyonlarını belirlemek için ise füzyon problemler kullanılır, özellikle kanserde füzyon genlerini belirlemede tercih edilir.²⁵

Tanı ve Tedavide FISH Uygulamaları

FISH, özellikle moleküler genetik laboratuvarlarında kromozomal anomalilerin (anöploidiler, translokasyonlar ve delesyonlar) belirlenmesinde, kromozomal hastalıkların teşhisinde ve erken tanıda yaygın olarak kullanılır. FISH'in bir diğer kullanım alanı onkolojide, kanserli dokulardaki kromozomal anomalilikleri tespit etmektir.^{26,27} Örneğin, kronik miyeloid lösemili (KML) hastaların %90'ından fazlasında görülen, 9 ve 22. kromozomlar arası translokasyondan [t(9; 22) (q34; q11)] kaynaklı oluşan Philadelphia kromozomunun yapısında bulunan BCR-ABL füzyon geninin varlığının belirlenmesinde FISH tekniği yaygın olarak kullanılır. Sonucun pozitif olması durumunda bu füzyon geninin ürünü olan mutant proteinin aktivitesi spesifik tirozin kinaz inhibitörleri ile hastalar reçete edilir.²⁷ Böylece hastalıklar için hedefli tedavilerin seçilmesini sağlar. Benzer şekilde meme kanserlerinde *HER2* geninin amplifikasyonunu değerlendirmek için FISH tekniği kullanılır.^{28,29} *HER2* pozitif meme kanserlerinde, bu sonuç hedefe yönelik tedavi seçeneklerinin, özellikle trastuzumab gibi *HER2* inhibitörlerinin kullanımını mümkün kılmaktadır. Ayrıca, hormon reseptör pozitifliği saptanan hastalarda hormon tedavisi de uygulanabilmektedir.³⁰ Tablo 1'de yöntemler ve kullanım amaçları özetlenmektedir.

FISH ayrıca prenatal tanı alanında, hızlı ve güvenilir sonuçlar sağlaması nedeniyle büyük öneme sahiptir. Özellikle trizomi 21,13 ve 18 gibi kromozom sayısal bozukluklarının hızlı taramasında kullanılır. Ayrıca X ve Y kromozomlarını da analiz ederek Turner sendromu, Klinefelter sendromu gibi cinsiyet kromozomu anomalilerinin erken tanısına olanak sağlar. Geleneksel kromozom analizleri (karyotipleme) 10-14 gün sürebilirken, FISH ile 24-48 saat içinde ön tanı sağlanabilir. Bu, özellikle gebeliğin erken dönemlerinde aileye hızlı bilgi sunmak açısından kritiktir. Konvansiyonel karyotipleme ile saptanamayan DiGeorge sendromu (22q11 delesyonu) gibi mikrodelsyon sendromlarının tanısında FISH, yüksek hassasiyet sunar. FISH ayrıca prenatal tanı amacıyla elde edilen amniyotik sıvı, koryon villus veya fetal kan örneklerinde doğrudan hücre kültürüne ihtiyaç duymadan uygulanabilir.³¹

FISH'in avantajları; hedefe özgü, yüksek özgüllük ve duyarlılıkta olması, hem metafaz hem interfaz hücrelerde uygulanabilir olması, kısa sürede sonuç alınabilir (örneğin 24 saat) olması, hücre kültürü gerektirmemesi ve kromozomal yapıların doğrudan görüntülenmesidir. Dezavantajları ise; yalnızca hedeflenen bölgeyi analiz etmesi (genom taraması yapmaz), proba özel test yapılabilmesi (ön hazırlık gerektirir), yüksek maliyetli olabilir, veri miktarı sınırlıdır (NGS ile kıyaslandığında).

4. CRISPR Tabanlı Teknolojiler

CRISPR-Cas, çoğu bakteri ve arkealarda bulunan, onları diğer virüs ve yabancı genetik materyallerden koruyan bağışıklık savunma mekanizmasıdır.^{32,33} Bakterilerin CRISPR dizisinden ürettiği RNA segmentleri gibi, *in vitro* olarak bir hücrenin DNA'sındaki belirli hedef sekansa bağlanan kısa bir "rehber" RNA parçası oluşturulur. Cas9 nükleaz enzimi tarafından tanınan rehber RNA hücrelere aktarıldığında, kılavuz RNA amaçlanan DNA sekansını tanır ve Cas9 enzimi DNA'yı hedeflenen yerde keserek bakterideki süreci yansıtır.^{34,35} CRISPR-Cas9 gen düzenleme teknolojisi, mutasyonları düzelterek veya hastalığa neden olan genleri büyük bir hassasiyet ve verimlilikle bozarak hastalıkların tedavisi için geleceğin umut vaat eden araçlarından biridir.³⁶ Cas9, hastalıklar sırasında meydana gelen genomik değişiklikleri düzenlemede, hastalıkların moleküler teşhisi ve tedavisinde eşsiz gen düzenleme aracıdır.³⁷ Tıbbi laboratuvarlarda CRISPR; gen terapisi, tanı testleri ve yeni moleküler belirteçlerin geliştirilmesi için iyi bir adaydır.³⁴

Tanı ve Tedavide CRISPR Uygulamaları

CRISPR/Cas9, hemolitik hastalıklar, immün yetmezlik bozuklukları, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar, X'e bağlı kromozomal bozukluklar ve kanserler de dahil olmak üzere çok sayıda hastalığı diğer gen düzenleme yaklaşımlarına kıyasla daha yüksek özgüllük ve verimlilikle tedavi etmek için kullanılmıştır. Yüksek hassasiyeti ve verimliliği nedeniyle, CRISPR/Cas9 stratejileri gen spesifik hastalıklarda, delesyon, insersiyon gibi mutasyonlar oluşturarak hastalıkları tedavi edebilir.^{32,38}

SHERLOCK ve DETECTR gibi CRISPR tabanlı teşhis platformları, belirli nükleik asit dizilerini tespit etmek için CRISPR'in hassasiyetinden yararlanır. Bu teknolojiler yüksek hassasiyet sunar ve küçük belirteçlerle dahi nokta atışı teşhis yapabilir. Örneğin, Zika virüsü, HIV ve COVID-19 gibi bulaşıcı mikroorganizmaların hızlı tespiti için CRISPR tabanlı analizler geliştirilmiştir. Bu yöntemler, kaynak sınırlı

ortamlar için bile oldukça hassas araçlar sunarak moleküler teşhisi daha da kolaylaştırmaktadır.³⁹

Virüs enfeksiyonları teşhis etmek için rutin olarak kullanılan RT-qPCR, sekanslama tabanlı yöntemler ve immünolojik yöntemlerin yüksek maliyetini düşürmek, doğru ve hızlı tanılamayı artırmak için CRISPR-Cas teknolojilerinin kullanıldığı tanı testleri kullanılabilir, bu sayede hastalıkların erken tanı ve tedavisi kolaylaşabilir.⁴⁰

CRISPR-Cas9 tekniği, hücreler (*in vitro*) ve hayvanlarda (*in vivo*) çalışmak üzere kalıtsal hastalıklarla ilişkili herhangi bir DNA mutasyonunu düzenlemek için kullanılmaktadır.^{41,42} Ayrıca CRISPR-Cas9; hemofili, β -talasemi, kistik fibroz, Alzheimer, Huntington, Parkinson, Duchenne kas distrofisi, Tay-Sachs ve kırılğan X sendromu gibi çeşitli kalıtsal hastalıklarının tedavilerinin araştırılmasında kullanılabilir.⁴³⁻⁴⁷

Klinik çalışmalara bakıldığında CRISPR teknolojileri genetik olarak tanımlanmış hastalığı olan hastalara yöneliktir (Tablo 1). Bu nedenle, CRISPR Faz çalışmaları sağlıklı gönüllülerden ziyade hedef mutasyonu olan hastalara odaklanacaktır. Faz I klinik denemeleri gerçekleştirilen HG202 ilacı, yaşa bağlı maküler dejenerasyon (AMD) tedavisinde kullanılan ilk CRISPR/Cas13 RNA düzenleme tedavisidir. FDA tarafından onaylanan bu tedavi, VEGF-A mRNA'sını hedef alarak AMD tedavisinde umut verici sonuçlar sunmaktadır.⁴⁸ Faz II klinik denemelerindeki WU-CART-007; Relaps veya tedaviye dirençli T hücreli akut lenfoblastik lösemi (T-ALL) ve lenfoblastik lenfoma (LBL) tedavisinde kullanılan anti-CD7 CAR-T tedavisidir.⁴⁹ Casgevy, sickle cell hastalığı (SCD) ve transfüzyon bağımlı beta talasemi (TDT) tedavisinde kullanılan, CRISPR/Cas9 teknolojisiyle geliştirilen ilk gen düzenleme tedavisidir. 2023 yılı sonunda ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından onaylanmıştır.⁵⁰ Tedavi, hastaların kendi kök hücreleri üzerinde yapılan gen düzenlemeleriyle sağlıklı hemoglobin üretimini teşvik eder. Klinik denemelerde, SCD hastalarının %93.5'inde bir yıl boyunca ağrı krizlerinin yaşanmadığı ve TDT hastalarında kan transfüzyonlarına olan ihtiyacın ortadan kalktığı gözlemlenmiştir.⁵¹

5. Moleküler Blotlama yöntemleri

Blotlama, proteinler veya nükleik asitler gibi makromoleküllerin türevlendirilmiş ince bir kağıt tabakasına veya adsorptif membran matrisine aktarılmasını ifade eder ve bu sayede molekül çok daha kolay ve hızlı şekilde tespit edilebilir. Nitroselüloz,

poliviniliden florür veya naylon gibi membranlara aktarılan molekül sonrasında gümüş boyama gibi uygun renklendiriciyle görüntülenebilir, radyoaktif olarak işaretlenebilir veya antikor muameleleriyle işaretlenebilir.⁵² Moleküler blotlama tekniklerinin başlıca türleri şunlardır:

5.1. Southern Blot (DNA Blotlama)

Southern Blotlama DNA örneklerinin içinde spesifik bir DNA dizisini belirlemek için kullanılan bir moleküler biyoloji yöntemidir. Tıbbi laboratuvarlarda hastalardan alınan kan, tükürük veya doku örneklerinin DNA sı izole edilip, agaroz jeli üzerinde elektroforezle ayrılıp, nitroselüloz veya naylon membrana DNA'nın transferi sonrası, aranan gen veya diziye özgü proba hibridizasyon yöntemiyle hedef dizisinin tespitini içermektedir. DNA'daki belirli genetik mutasyonların, delesyon ve amplifikasyonların tespiti Southern blotlama yöntemi ile belirlenebilir, bu haliyle genetik hastalıkların tanısı ve izlenmesi için kullanılabilir. Kanseri, kalıtsal hastalıklar ve enfeksiyon hastalıklarının genetik temelleri Southern blot ile araştırılabilir.⁵³ Örneğin Duchenne Musküler Distrofisi (DMD) gibi genetik hastalıkların teşhisinde sorunlu olduğu düşünülen (DMD geni mutasyon tespiti hastalık tanısında kullanılır.) genin yokluğu southern blotlama ile belirlenebilir.⁵⁴ Kanseri araştırmalarında ise, kanser spesifik onkogenlerin amplifikasyonu, tumor baskılayıcı genlerin delesyonu yine Southern blot ile tespit edilebilir.⁵⁵

5.2. Northern Blot (RNA Blotlama)

Northern Blotlama RNA örneklerinin içinde spesifik bir RNA dizisini belirlemek için kullanılan bir moleküler biyoloji yöntemidir. Özellikle gen ekspresyonunun incelenmesi çalışmalarında ve RNA virüslerinin tespitinde oldukça başarılı bir yöntemdir. Tıbbi laboratuvarlarda kanser gibi hastalıkların erken tanısında ve tedavi sürecinde belli genlerin transkripsiyon seviyelerine bakılması veya HIV gibi virüslerin RNA'sının tespiti önemli bir parametredir. Bu amaçla hastanın RNA sı izole edilir, southern blotlamaya benzer şekilde agaroz jel elektroforeziyle boyutlarına göre ayrılır. Ayrılan RNA membrana transfer edildikten sonra spesifik bir prob ile hibridize edilerek gen ekspresyonu veya virüs RNA'sı gibi hedef moleküller tespit edilir.⁵⁶

5.3. Western Blot (Protein Blotlama)

Kompleks protein karışımındaki belirlenen proteinin varlığını ve miktarını belirlemek için kullanılan moleküler biyoloji yöntemidir. Western blot, proteomik analizlerde proteinlerin varlığını, miktarını ve boyutlarını belirlemek için kullanılır. Tıbbi

laboratuvarlarda kanserin biyomarkerlerinin tespiti, enfeksiyonların tanısı ve hastalık süreçlerinin izlenmesi için oldukça faydalıdır. Western blot, özellikle otoimmün hastalıkların tanısında, örneğin lupus gibi hastalıklarda vücutta hedef proteinlere karşı oluşan antikorlar tespit edilir. HIV'e karşı gelişen spesifik antikorlarla, HIV varlığı ve hastalık tanısı western blot ile tespit edilebilir. İlk olarak, bir hastadan alınan örnekteki proteinler izole edilir. Proteomlar, SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi) yöntemiyle ayrılır. Bu işlemde, proteinler ağırlıklarına göre ayrılır. Ayrılan proteinler bir membrana transfer edilir. Proteine özgü bir primer antikor ile hibritizasyon yapılır. Antikor-protein kompleksi, enzimatik bir reaksiyon ile görsel olarak tespit edilir.⁵⁷


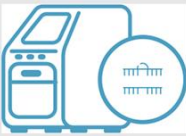

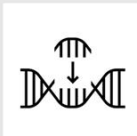
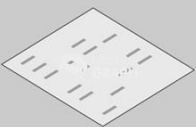
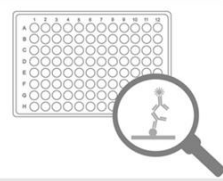


Tanı ve Tedavide Moleküler Blotlama Uygulamaları

DNA, RNA ve protein blotlama teknikleri temelde bir karışım molekül içerisinde aranan belirteç molekülün tespiti edilmesi esasına dayanır. Moleküler blotlama yöntemleri, tıbbi laboratuvarlarda genetik, biyokimyasal ve moleküler analizler için sıklıkla kullanılan tekniklerdir. Bu yöntemler, genellikle DNA, RNA veya proteinleri tespit etmek ve analiz etmek amacıyla kullanılır. Tıbbi laboratuvarlarda hastalıkların tanı ve izlenmesinde, genetik bozuklukların belirlenmesinde, enfeksiyonların tespiti edilmesinde ve tedavi süreçlerinin takibinde önemli rol oynar. Southern blotlama DMD gibi gen spesifik hastalıklardaki mutasyon veya delesyonları ve kanser spesifik genleri belirlemek için kullanılırken, northern blotlama gen ifadesi değişikliklerini ve RNA virüslerini tespit etmek için kullanılır. Western blotlama ise otoimmün hastalıkların teşhisinde, protein depo hastalıklarının tanı ve ilerlemesini belirlemede kullanılabilir.⁵⁸ Moleküler blotlama yöntemleri (Southern, Northern ve Western blot gibi) hedef DNA, RNA veya proteinlerin tespitinde yüksek özgüllük sunarak özellikle doğrulama amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Bu teknikler, hedef molekülün varlığının yanı sıra büyüklüğü hakkında da bilgi sağlayarak, kalitatif ve yarı-kantitatif analiz imkanı sunar. Ayrıca, DNA üzerindeki yapısal değişikliklerin veya proteinlerdeki modifikasyonların belirlenmesinde önemli bir araçtır. Ancak, blotlama tekniklerinin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. İşlem basamaklarının çok olması nedeniyle deneyler zaman alıcıdır ve manuel işlem hatası riski artar. Ayrıca, düşük hassasiyet nedeniyle çok düşük miktardaki hedef moleküllerin tespitinde yetersiz kalabilir ve özel problemler veya antikorların kullanımı maliyeti artırabilir. Bazı

uygulamalarda ise yüksek miktarda numune gereksinimi söz konusu olabilir. Bu nedenlerle, blotlama yöntemleri hassasiyet, hız ve pratiklik gerektiren modern moleküler

tekniklere kıyasla bazı sınırlamalara sahiptir. Tablo 1’de yöntemler ve kullanım amaçları özetlenmektedir.

Tablo 1. Tıbbi Laboratuvarlarda kullanılan yöntemler

YÖNTEM	UYGULANDIĞI/ UYGULANABİLECEĞİ LABORATUVAR	KULLANIM AMACI
PCR-TABANLI YÖNTEMLER 	<ul style="list-style-type: none"> Mikrobiyoloji Laboratuvarı Moleküler/Tıbbi Genetik Laboratuvarı 	<ul style="list-style-type: none"> Mikroorganizma tespiti, Gen ifadesi değişikliklerinin belirlenmesi Genetik hastalıkların tanısı, Kanser araştırmaları ve bireysel genetik
NGS 	<ul style="list-style-type: none"> Moleküler/Tıbbi Genetik Laboratuvarı Genetik Araştırma Laboratuvarları 	<ul style="list-style-type: none"> Hastalıkların erken teşhisi, Mutasyon taramaları, Adli tıp, Nadir hastalıkların tanımlanması
FISH 	<ul style="list-style-type: none"> Moleküler/Tıbbi Genetik Laboratuvarı Patoloji Laboratuvarı Genetik Araştırma Laboratuvarları 	<ul style="list-style-type: none"> Kanser hücrelerinde spesifik amplifikasyon ve translokasyon taraması
CRISPR-TABANLI YÖNTEMLER 	<ul style="list-style-type: none"> Moleküler/Tıbbi Genetik Laboratuvarı Genetik Araştırma Laboratuvarları 	<ul style="list-style-type: none"> Tek gen hastalıklarının tedavisi
MOLEKÜLER BLOTLAMA-TABANLI YÖNTEMLER 	<ul style="list-style-type: none"> Mikrobiyoloji Laboratuvarı Moleküler/Tıbbi Genetik Laboratuvarı Patoloji Laboratuvarı Genetik Araştırma Laboratuvarları 	<ul style="list-style-type: none"> Genetik bozuklukların belirlenmesi, Enfeksiyonların tespit edilmesi ve tedavi süreçlerinin takibi, Gen spesifik hastalıklardaki mutasyonun belirlenmesi, Kanserlerde spesifik genlerin belirlenmesi, Gen ifadesi değişikliklerinin belirlenmesi RNA virüslerinin tespiti
ELISA 	<ul style="list-style-type: none"> Mikrobiyoloji Laboratuvarı Biyokimya Laboratuvarı 	<ul style="list-style-type: none"> HIV, Hepatit B ve C, COVID-19, Rubella, Sifiliz, Lyme hastalığı gibi enfeksiyon hastalıklarının teşhisi Romatoid artrit, lupus gibi otoimmün hastalıkların tanı ve tedavisi, TSH, LH, FSH, hCG gibi hormon düzey ölçümleri ile Fertilité testleri, PSA (prostat kanseri), CEA (kolon kanseri), CA 125, CA 19-9 (yumurtalık ve pankreas kanseri) gibi tümör biyobelirteçlerinin tespiti, IgE antikorlarının ölçümüyle alerjenlerin belirlenmesi
İMMÜNBOYAMA 	<ul style="list-style-type: none"> Moleküler/Tıbbi Genetik Laboratuvarı Patoloji Laboratuvarı 	<ul style="list-style-type: none"> Kanser tanısı ve sınıflandırılması, Prognostik belirteçlerin belirlenmesi, Hedefe yönelik tedavi kararlarının alınması (örn. HER2 pozitifliğinde trastuzumab kullanımı), İnflamatuvar ve otoimmün hastalıkların tanısı Enfeksiyon etkenlerinin lokalizasyonunun (örn. HPV, CMV) belirlenmesi
OMİK TEKNOLOJİLERİ 	<ul style="list-style-type: none"> Moleküler/Tıbbi Genetik Laboratuvarı Biyokimya Laboratuvarı Patoloji Laboratuvarı 	<ul style="list-style-type: none"> Kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımları ile kişiye/hastalığa özgü belirteçlerin tespiti

6. ELISA

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analiz), özellikle tıbbi laboratuvarlarda çok yaygın kullanılan, duyarlı ve özgül bir immünolojik test yöntemidir. Proteinler, antijenler, antikorlar, hormonlar gibi biyomoleküllerin kanda, serumda ya da diğer biyolojik örneklerde varlığını ve miktarını saptamak için kullanılır. ELISA, bir enzimle işaretlenmiş antikorun veya antijenin, hedef molekülle (örneğin bir patojen antijeni ya da vücudun ona karşı ürettiği antikor) spesifik olarak bağlanması esasına dayanır. Bu bağlanma sonrası enzim substratıyla reaksiyona girerek renkli bir ürün oluşur. Oluşan rengin şiddeti, spektrofotometre ile ölçülerek hedef molekülün varlığı ve miktarı belirlenir. Doğrudan (direct), dolaylı (indirect), sandviç ve kompetitif olmak üzere 4 tipi vardır. Doğrudan ELISA da antijen doğrudan yüzeye bağlanır, üzerine enzimle işaretli özgül antikor eklenir, hızlıdır ama özgüllük sınırlı olabilir. Dolaylı ELISA’da antijen sabitlenir, ardından örnekteki birincil antikor bağlanır. Bu antikora karşı ikincil, enzim bağlı bir antikor eklenir. Daha duyarlıdır, sinyali artırır. Sandviç ELISA’da plakaya önce "yakalama" antikoru bağlanır, üzerine örnek (antijen içeren) eklenir. Sonra “algılama” antikoru ve enzimle işaretli ikincil antikor uygulanır. Yüksek özgüllük ve hassasiyet sağlar. Kompetitif ELISA’da örnek ve enzimle işaretli antijen, aynı bağlanma bölgesi için yarışır, antijen seviyesi arttıkça renk şiddeti azalır, özellikle küçük moleküller için kullanılır.⁵⁹

Tanı ve Tedavide ELISA Uygulamaları

ELISA, tıbbi laboratuvarlarda pek çok hastalığın tanısında ve izlenmesinde sık kullanılan bir methodur. HIV (Anti-HIV antikorları), Hepatit B ve C (HBsAg, Anti-HCV), COVID-19 (SARS-CoV-2 antijenleri veya antikorları), Rubella, Sifiliz, Lyme hastalığı gibi enfeksiyon hastalıklarının ve Romatoid artrit, lupus gibi otoimmün hastalıkların tanı ve tedavisinde; TSH, LH, FSH, hCG gibi hormon düzey ölçümleri ile Fertilite testlerinde; PSA (prostat kanseri), CEA (kolon kanseri), CA 125, CA 19-9 (yumurtalık ve pankreas kanseri) gibi tümör biyobelirteçlerinin tespitinde, IgE antikorlarının ölçümüyle alerjenlerin belirlenmesinde kullanılır.^{60,61} ELISA’nın kullanım avantajları; yüksek duyarlılık ve özgüllükte olması, otomatize edilebilir olması ve çok sayıda örnek aynı anda işlenebilir olmasıdır. Dezavantajları ise, uygulama sırasında hata riskinin yüksek olması, bazı çapraz reaksiyonların yanlış pozitif sonuç verebilmesi ve zaman alıcı olabilmesidir.

7. İmmün Boyama

İmmün boyama (immunostaining), hücreler veya dokular içindeki hedef antijen moleküllerinin lokalizasyonunu ve seviyesini antikorlar kullanılarak belirleyen temel bir biyolojik tekniktir. Antikorlar genellikle floresan boya, enzim (örn. peroksidaz), metal tanecik veya başka bir işaretleyici ile bağlanır. Bu sayede boyanan bölgeler mikroskopla görünür hale gelir. İmmün boyama tekniklerinden immünohistokimya (İHC); doku kesitlerinde spesifik proteinlerin lokalizasyonunu saptamak için kullanılır. Antijen–antikor reaksiyonu sonucunda genellikle enzimatik reaksiyon (DAB ile kahverengi boyama) veya floresan işaretleme ile görünür hale gelir.⁶² Klinik patolojide kanserlerin alt tiplerinin belirlenmesi, metastaz kaynağının saptanması ve prognostik belirteçlerin tayininde sık kullanılır. Meme kanserinde ER, PR, HER2 biyobelirteçlerinin ve lenfomalarda CD antijenlerinin (CD20, CD3, vb.) tespitinde kullanılır. İmmünohistokimya (ICC) tekniği ise, hücre düzeyinde yapılan immün boyamadır. Doku yerine hücre süspansiyonu ya da sitolojik örnekler kullanılır (örneğin PAP smear ya da vücut sıvıları). Genellikle *in vitro* hücre kültürü çalışmalarında da kullanılır. İmmünofloresan Boyamada (IF) ise antikorlar, floresan boya (örneğin FITC, Alexa Fluor) ile işaretlenmiştir. Reaksiyon sonrası boyanan hücreler, floresan mikroskobu ile görüntülenir. ANA, anti-dsDNA, ANCA gibi otoantikorların tayininde, Pemfigus, lupus gibi bağ dokusu hastalıklarının tanısında, böbrek biyopsilerinde immün kompleks birikiminin gösterilmesinde kullanılır.⁶³

Tanı ve Tedavide İmmünboyama Uygulamaları

Tıbbi laboratuvarlarda immün boyama (immunostaining), hücrelerde veya doku kesitlerinde belirli proteinlerin (antijenlerin) varlığını ve dağılımını göstermek için kullanılan güçlü bir tekniktir. Genellikle mikroskop altında gözlemlenebilir hale getirmek için antijen-antikor etkileşimi esas alınır. Bu yöntem, tanısal patoloji, araştırma ve hastalıkların moleküler düzeyde anlaşılması açısından oldukça değerlidir. Tıbbi laboratuvarlarda kanser tanısı ve sınıflandırılmasında, prognostik belirteçlerin belirlenmesinde, hedefe yönelik tedavi kararlarında (örn. HER2 pozitifliğinde trastuzumab kullanımı), inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların tanısında ve enfeksiyon etkenlerinin lokalizasyonunun (örn. HPV, CMV) belirlenmesinde kullanılır (Tablo 1).^{64,65} İmmünboyamanın avantajları; Protein ekspresyonunun hücre ya da doku düzeyinde lokalizasyonunu vermesi, histopatolojik

değerlendirmeye birlikte yorumlanabilir olması, hem tanısal hem prognostik bilgi sağlamasıdır. Dezavantajları ise, antikor seçimi çok kritiktir, spesifik olmayan boyanma yanlış pozitifliğe neden olabilir, teknik beceri ve tecrübe gerektirir.

8. Omik Teknolojiler

Omik teknolojileri, biyolojik sistemleri yüksek çözünürlüklü ve kapsamlı bir şekilde incelemek için geliştirilmiş bir dizi modern biyoteknolojik yöntemdir. Genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik gibi omik dalları, tıbbi laboratuvarlarda hastalıkların tanı, prognoz ve tedavi süreçlerine yönelik önemli veriler sağlar. Omik teknolojileri, genetik, moleküler biyoloji ve biyoinformatik gibi disiplinlerin birleşimini içerir. Omik alanları, çeşitli biyolojik moleküllerin etkileşimlerini ve işlevlerini anlamaya yönelik farklı seviyelerde veri toplar.⁶⁶

8.1. Genomik (Genom Bilimi)

Genomik, bir organizmanın tüm genetik materyalini (DNA) inceler. İnsan genomu, tüm genetik bilginin bulunduğu bir dizilimi içerir ve bu bilgi, hastalıkların genetik temellerini anlamada temel bir kaynaktır. Genomik analiz, genetik mutasyonlar, varyasyonlar ve bireyler arası genetik farklılıkları ortaya koyar.⁶⁷

8.2. Transkriptomik (Gen Ekspresyonu)

Transkriptomik, hücrelerde hangi genlerin aktif olduğunu ve ne kadar ekspresyon gösterdiğini inceleyen bir alandır. Genetik materyalin RNA'ya dönüştürülmesi ve ardından proteinlere çevrilmesi süreci, transkriptomik analizlerle belirlenebilir. Bu, gen ekspresyonunun hastalıkların erken tespiti ve tedaviye yönelik potansiyel biomarkerlerin keşfi açısından kritik öneme sahiptir.⁶⁷

8.3. Proteomik (Protein Bilimi)

Proteomik, bir hücredeki tüm proteinlerin yapısını, fonksiyonlarını ve etkileşimlerini analiz eder. Proteomik, organizmalardaki proteinleri ve proteinlerin nasıl çalıştığını inceleyen bir alandır. Proteinler, hücresel işlevlerin çoğunu yerine getirir ve dolayısıyla hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynar.

- **Proteom Profilleme:** Hücrelerdeki proteinlerin miktarı, yapısı ve fonksiyonu hakkında bilgi sağlayarak, hastalıkları ve biyolojik süreçleri takip etmeyi sağlar. Yüksek verimli teknolojilerle, binlerce proteinin aynı anda analizi yapılabilir.
- **Protein-Protein Etkileşimleri (PPI):** Bu etkileşimlerin incelenmesi, biyolojik süreçlerin ve hastalıkların mekanizmalarını anlamayı sağlar.
- **Hedeflenmiş Protein Analizi:** Özellikle kanser gibi hastalıkların tedavisinde, tedaviye dirençli

proteinlerin hedef alınması önemlidir. Bu nedenle kişiye özel yeni ilaç geliştirme süreçlerinde proteomik çalışmalara başvurulur.⁶⁸

8.4. Metabolomik (Metabolizma Analizi)

Metabolomik, hücre içindeki metabolitleri, yani hücrelerin enerji sağlamak ve biyolojik işlevlerini yerine getirmek için kullandığı küçük molekülleri inceler. Metabolomik analizler, hücre içindeki kimyasal değişimleri ve hastalıkların metabolik profilini izlemek için kullanılır. Kanser, diyabet, kalp hastalıkları gibi birçok hastalığın metabolik işaretçileri, metabolomik teknolojilerle analiz edilebilir. Metabolomik analiz, hastalıkların erken tanısı ve tedaviye yanıt tespitinde kullanılabilir. Ayrıca metabolik yolların incelenmesi, hücresel enerji üretimi, hücre bölünmesi ve hastalıklarla ilgili mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını sağlar.^{69,70}

Tanı ve Tedavide Omik Teknolojiler

Omik teknolojileri, kişiselleştirilmiş tıbbın temellerini oluşturmaktadır. Hastaların genetik, protein, metabolik ve mikrobiom profilleri, hastaların tedaviye nasıl yanıt verecekleri ve hangi tedavilerin en etkili olacağı konusunda rehberlik edebilmektedir. Son yıllarda tıbbi uygulamalarda farmakogenomik ve biyomarker geliştirme dikkat çekmektedir. Farmakogenomik, ilaçların genetik yapı ile etkileşimini inceleyerek, hastaların hangi ilaçları daha iyi tolere edeceği ve hangi ilaçların onlara zarar verebileceğini inceleyen alandır. Biyomarker geliştirme ise, hastalıkların erken teşhisi için yeni ve spesifik biyomarkerlerin keşfini takiben, hastalıkların seyrini daha iyi izleme ve hedefe yönelik tedavi seçenekleri sunan bir alandır.⁷¹

Omik teknolojilerinin tıbbi laboratuvarlarda, kanserin erken tanısı ve tedavisinde kullanılabilir. Kanser hücrelerinin genomik ve proteomik özellikleri analiz edilerek, kanserin moleküler temelleri daha iyi anlaşılabilir. Genetik mutasyonlar ve proteomik analizlerle belirlenen biyomarkerler, kanserin spesifik türlerinin tanınmasını sağlayabilir, hedefe yönelik tedavi yöntemleri geliştirilebilir. Örneğin, kanser tedavisinde kullanılan hedefe yönelik ilaçlar, kanser hücrelerinin genetik profillerine göre şekillendirilmektedir (Tablo 1). Omik teknolojileri ayrıca genetik hastalıkların erken tanısında kullanılabilir. Örneğin, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve Alzheimer gibi hastalıklar, genetik ve metabolomik profille erken evrelerinde teşhis edilebilir. Genomik analizler, bireylerin genetik yatkınlıklarını belirleyerek, hastalıkların önceden tahmin edilmesini mümkün kılmaktadır. Mikrobiyomun genomik ve metabolomik analizi, enfeksiyon

hastalıklarının daha hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanmasına olanak tanır. Mikrobiyom analizleri, bireylerin vücutlarında bulunan bakteri, virüs ve diğer mikroorganizmaların çeşitliliğini ve bunların sağlık üzerindeki etkilerini anlamaya yönelik önemli veriler sunar. Bu sayede, antibiyotik direnci gibi önemli sorunlar üzerine çalışmalar yapılabilir. Omik teknolojileri, bağışıklık sisteminin işleyişini ve otoimmün hastalıkların mekanizmalarını incelemede de büyük rol oynamaktadır. Bağışıklık hücrelerinin genetik ve proteomik analizleri, hastalıkların erken teşhisini ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesini sağlar.^{72,73}

Omik teknolojiler (genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik gibi), büyük veri analitiği, biyoinformatik ve yüksek çözünürlüklü analiz cihazları gibi güçlü altyapılar gerektirir. Bununla birlikte, bu teknolojilerin yaygınlaşmasıyla birlikte, veri yönetimi, analiz yöntemleri ve klinik entegrasyon gibi zorluklar ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, omik verilerin doğruluğu ve güvenilirliği, klinik ortamda kullanılabilirliğini etkileyen önemli faktörlerden biridir.⁶⁷ Omik teknolojiler biyolojik sistemlerin bütüncül ve yüksek verili analizini sağlayarak hastalık mekanizmalarının kapsamlı bir şekilde anlaşılmasına olanak tanır. Bu yöntemler, biyobelirteç keşfi, kişiselleştirilmiş tıp ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gibi alanlarda büyük avantajlar sunar. Ancak, omik teknolojiler yüksek maliyet, büyük veri analizi zorlukları ve biyolojik verilerin yorumlanmasındaki karmaşıklık gibi önemli dezavantajlar da taşır. Ayrıca, elde edilen verilerin klinik uygulamalara entegrasyonu için ileri düzey analiz ve doğrulama süreçleri gerekmektedir.

Gelecekte, omik teknolojilerinin daha taşınabilir ve erişilebilir hale gelmesi beklenmektedir. Kişiselleştirilmiş tıp ve tedavi planlaması, genetik testler ve biyomarkerler sayesinde daha hassas ve etkin bir şekilde yapılabilir. Ayrıca, yapay zeka ve makine öğrenimi gibi teknolojilerin omik verilerle entegrasyonu, hastalıkların daha hızlı ve doğru bir şekilde teşhis edilmesine olanak tanıyacaktır.

Moleküler Biyoloji Yöntemlerinin Tıbbi Laboratuvar Uygulamalarındaki Zorlukları

Geleceğe dair umut vaat eden bir alan olmasına rağmen, klinik laboratuvarlarda moleküler biyoloji yöntemlerinin uygulanmasında bazı zorluklar bulunmaktadır. Bunlar kısaca şu şekilde özetlenebilir:

1. Maliyet ve Erişilebilirlik: Başta yeni nesil dizileme (NGS) olmak üzere çoğu moleküler biyoloji yöntemi ve ekipmanı günümüzde hala yüksek maliyetli ve özel

eğitilmiş personel gerektirmektedir. Bu sebeple ortalama gelir düzeyine sahip ülkelerde bile bu yöntemlere ulaşım hala sınırlıdır. Üstelik cihazların düzenli bakımı ve kalibrasyonu yapılacak testlerin güvenilirliği için oldukça önem taşımaktadır. Bu da cihazın dışında rutin olarak ekstra maliyet gerektirmektedir.

2. Verilerin Yorumlanması ve Standardizasyon: Moleküler yöntemler sonucunda büyük bir bilgi havuzu elde edilirken, bu verilerin yorumlanması ve analizi karmaşık olabilmektedir. Daha önce belirlenmemiş bir mutasyon tespit edildiğinde klinikte ne denli önemli olabileceği ancak uzman görüşüyle anlaşılabilir. PCR cihazlarının verdiği test sonuçlarının analiz edilmesi, sonuçlandırılması ve raporlanması sonucunda klinikte tanı ve tedaviye uygulanması için standart bir protokol yoktur ve en az birkaç uzmanın bilgi deneyim ve iş yükünü gerektirmektedir. Moleküler tekniklerin klinikte yaygın olarak benimsenememesinin önündeki engellerden biri de budur.

3. Yasalar ve Etik Sınırlılıklar: Moleküler tanı ve tedavilerdeki gelişim hızı yasal düzenlemelerden çok daha hızlı olduğu için, özellikle gen manipülasyonu ve kişiye özel tıp teknolojilerinin uygulanabilirliği ile ilgili kapsamlı, kuşatıcı ve etik yönergelere ihtiyaç vardır. Tıbbi laboratuvarlarda yaygın kullanılan moleküler tekniklerin tek başına tanı ve tedavide kullanımları her zaman mümkün olmayabilir. Bu tekniklerin de bazı kullanım sınırlılıkları mevcuttur (Şekil 1). Örneğin; PCR tekniği NGS'ye göre sınırlı sayıda bölge analiz ederken, maliyet olarak oldukça ucuzdur. NGS'nin uygulaması oldukça zahmetli ve pahalıyken, FISH yoğun emek gerektirir ve uniparental dizomiye tespit edemez. Uniparental dizomi durumunda, kromozom sayısında bir anormallik bulunmaz; birey, belirli bir kromozom çiftinin her iki kopyasını da aynı ebeveyninden almıştır. FISH, kromozomların kaynağını (maternal ya da paternal) ayırt edemediği için, kromozom sayısında normal bir görünüm sunduğu sürece uniparental dizomiye tespit edemez. Bu tür genetik değişikliklerin saptanması için daha ileri düzey moleküler teknikler, örneğin mikrosatellit analizi veya SNP array gibi yöntemler gereklidir. CRISPR ise maliyet olarak ucuz ve çalışılması kolay bir teknik olsa da, yeterli klinik çalışma bulunmamasından dolayı yoğun klinik tartışmalar altındadır. Ayrıca, CRISPR-Cas9 bazen hedeflenen DNA dizisi dışında benzer dizileri de kesebilir. Bu durum, genetik düzeyde istenmeyen mutasyonlara neden olabilir. Özellikle insan hücrelerinde bu tür etkiler potansiyel olarak tumor oluşumuna sebep olabilir.

CRISPR sisteminin hücreye güvenli ve etkili bir şekilde taşınması hala büyük bir teknik zorluktur. Vektör olarak

kullanılan virüsler, bağışıklık yanıtlarını tetikleyebilir veya sınırlı sayıda hücreye ulaşabilir.⁷⁴

Moleküler Teknikler	Kullanımları	Avantajları	Dezavantajları	
	PCR	<ul style="list-style-type: none"> Genetik hastalıkların tanısı Enfeksiyonlarda patojenin belirlenmesi Kanserde biyobelirteç tespiti Kanser yatkınlık testi Prenatal tanı ve pre-implantasyon genetik testler 	<ul style="list-style-type: none"> Ekonomik ve protokolü oldukça kolaydır. 	<ul style="list-style-type: none"> NGS'ye göre sınırlı sayıda bölge analiz edilebilir. PCR tekniği, diğer DNA veya RNA kaynaklarından veya çevreden kaynaklanan kontaminasyona karşı oldukça hassastır.
	NGS	<ul style="list-style-type: none"> Kanserde kişiye özgü biyobelirteçlerin tespiti Kanser tedavilerine direnç sebebinin tespit edilmesi Nörolojik ve zihinsel hastalıkların ayrıntılı tespiti 	<ul style="list-style-type: none"> NGS'ye göre sınırlı sayıda bölge analiz edilebilir. PCR tekniği, diğer DNA veya RNA kaynaklarından veya çevreden kaynaklanan kontaminasyona karşı oldukça hassastır. 	<ul style="list-style-type: none"> PCR ve FISH'den daha pahalı ve uygulanması daha zahmetlidir. Okuma uzunluğu yetersiz kalabilir. Bu okuma uzunluğu sınırlaması, karmaşık tekrarlayan bölgelere sahip genomları dizilerken veya büyük yapısal varyasyonları çözmeye çalışırken zorluklara yol açabilir. Dizileme başarısı, dizilenecek örneklerin kalitesine oldukça hassastır.
	FISH	<ul style="list-style-type: none"> Kromozomal hastalıkların tespiti (delesyonlar, anöplodiler, amplifikasyonlar) Kansere özgü biyobelirteçlerin aranması 	<ul style="list-style-type: none"> NGS'den ekonomik ve kolay, ancak PCR'dan daha pahalıdır. 	<ul style="list-style-type: none"> Yoğun emek gerektirir. FISH görüntülerini yorumlamak için deneyimli analistlere ihtiyaç vardır. Mikroduplikasyonlar mikrodelenasyonlardan daha az hassasiyetle tespit edilebilir. Uniparental dizimiyi tespit edemez
	CRISPR	<ul style="list-style-type: none"> Tek gen hastalıkları için gen tedavisinin tasarlanması Kanserden nörolojik hastalıklara kadar gen mutasyonlarının düzeltilmesi 	<ul style="list-style-type: none"> Genetik hastalıkların kesin tedavisi için teorikte en etkin yöntemdir. 	<ul style="list-style-type: none"> Kullanım şekli ve içeriği açısından yoğun etik tartışmaları mevcuttur. Yeterli klinik çalışma olmadığından etkileri bilinmemektedir. Uzun dönemde oluşacak sonuçlar bilinmemektedir.
	BLOTLAMA	<ul style="list-style-type: none"> DNA, RNA veya proteinlerin tespit edilmesi Hastalıkların tanı ve izlenmesi, genetik bozuklukların belirlenmesi, Enfeksiyonların tespit edilmesi ve tedavi süreçlerinin takibi 	<ul style="list-style-type: none"> PCR veya ELISA gibi yöntemlerle elde edilen sonuçların doğrulanmasında kullanılabilir. Moleküllerin büyüklüğünü (moleküler ağırlığını) belirleme imkanı verir. Hedef molekülün varlığı ve miktarı hakkında bilgi sağlar. 	<ul style="list-style-type: none"> Hazırlık, transfer ve tespit aşamaları uzun sürer. Çok düşük miktardaki hedef moleküllerin tespitinde yeterli hassasiyet gösteremeyebilir. Çok adımlı protokol nedeniyle deneysel hata olasılığı artar. Bazı özel problemler veya antikorlar kullanıldığında maliyetli olabilir. Western blot gibi protein blotlamada yüksek miktarda numune gerekebilir.
	ELISA	<ul style="list-style-type: none"> Enfeksiyon hastalıklarının ve otoimmün hastalıkların teşhisi, Tümör biyobelirteçlerinin tespiti 	<ul style="list-style-type: none"> Yüksek duyarlılık ve özgüllüktedir Otomatize edilebilir Çok sayıda örnek aynı anda işlenebilir 	<ul style="list-style-type: none"> Uygulama sırasında hata riski yüksektir. Bazı çapraz reaksiyonların yanlış pozitif sonuç verebilir. Zaman alıcıdır.
	IMMUN BOYAMA	<ul style="list-style-type: none"> Hücrelerde veya doku kesitlerinde belirli proteinlerin (antijenlerin) varlığının ve dağılımının gösterilmesi 	<ul style="list-style-type: none"> Protein ekspresyonunun hücre ya da doku düzeyinde lokalizasyonunu verebilir. Histopatolojik değerlendirmeyle birlikte yorumlanabilir olmasından dolayı hem tanısal hem prognostik bilgi sağlar. 	<ul style="list-style-type: none"> Antikor seçimi çok kritiktir ve spesifik olmayan boyanma yanlış pozitifliğe neden olabilir. Yorumlanması için teknik beceri ve tecrübe gerektirir.
OMİK	<ul style="list-style-type: none"> Kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımları ile kişiye/hastalığa özgü belirteçlerin tespiti 	<ul style="list-style-type: none"> Biyobelirteç keşfi, kişiselleştirilmiş tıp ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gibi alanlarda büyük avantajlar sunar. 	<ul style="list-style-type: none"> Yüksek maliyet gerektirir. Büyük veri analizi zorlukları ve biyolojik verilerin yorumlanmasındaki karmaşıklık gibi önemli dezavantajlar taşır. Elde edilen verilerin klinik uygulamalara entegrasyonu için ileri düzey analiz ve doğrulama süreçleri gerekmektedir. 	

Şekil 1. Tıbbi laboratuvarlarda kullanılan/kullanılma potansiyeli olan moleküler tekniklerin avantaj ve dezavantajları

SONUÇ VE GELECEK BEKLENTİLERİ

Teknolojinin hızla gelişmesiyle birlikte yeni moleküler biyoloji teknikleri keşfedilmekte, bu tekniklerin tıbbi laboratuvarlarda kullanılabilirliği ve uygulanabilirliği artarak devam etmektedir. İnsan iş gücünü en aza indirecek hızlı ve hassas moleküler tanı testlerinin artırılması ile klinikte hastalıkların teşhisi hızlanabilir. Moleküler analiz ve veri standardizasyon işlemlerinin uygun yazılım programlarıyla bilgisayarlara devredilmesi sonucunda; yapay zeka ve makine öğrenimi ile verilerin daha kısa sürede ve doğru yorumlanması sağlanabilir. Aynı zamanda DNA dizileme teknolojilerindeki iyileştirmelerle dizileme maliyeti daha da düşürülebilir, bu sayede moleküler tanıya erişim artırılabilir.

CRISPR'ın güvenliği ve idaresi ile ilgili endişeler devam etmektedir. Kişiselleştirilmiş tıp uygulamaları heyecan verici ve geniş kapsamlı olduğundan araştırmacılar hala vücudun hasarlı DNA'yı tanıma ve onarma yeteneği üzerindeki etkisini daha iyi anlamaya çalışmaktadır. CRISPR/Cas9 ile kanser hücrelerinde tümörle ilişkili olan genlerinin/mutasyonların doğrudan hedeflenmesi sağlanabilir, bu da tümör büyümesine ve metastatik kapasiteye yol açan genetik değişikliklerin ortadan kaldırılmasına izin verir. Hastaların NGS ile kanser genomik profillerinin elde edilmesi sonrası, kişiye özgü mutasyonların tanımlanması ile kişiye özel CRISPR/Cas9 aracılı ilaçlar tasarlanabilir.⁷⁵

Mikro ölçekli çalışmalarda yeni moleküler biyoloji cihazlarının keşfedilmesi, az ve/veya yetersiz genetik materyalle bile çalışmaların yürütülebilmesine,

hastalıkların teşhisi ve yönetiminin iyileştirilmesine olanak sağlayabilir. Dahası, CRISPR-Cas9 genom düzenleme aracının rutin klinik tanılamaya dahil edilmesi tedavide devrim yaratma potansiyeline sahiptir. Bu teknoloji daha hedefli ve kişiye özel tedavi stratejilerinin de kapılarını aralamaktadır.

Sonuç olarak, moleküler biyoloji yöntemleri tıbbi laboratuvarlarda vazgeçilmez araçlar haline gelerek tanı, genetik test ve hastalık izlemede devrim yarattı. PCR, NGS, FISH ve CRISPR tabanlı teknolojilerin klinik iş akışlarına entegrasyonu tıbbi tanılarının kesinliğini ve doğruluğunu artırarak hastalara kişiselleştirilmiş sağlık imkanı sunmaktadır. Moleküler tekniklerin uygulanmasında maliyetin yüksekliği, erişim zorluğu ve veri analizinin yetersizliği gibi sınırlılıklar devam etse de moleküler teknolojilerdeki devasa ilerlemeler tıbbi laboratuvarlardaki tanı ve tedavi alanına büyük ivmeler kazandırmayı vaat etmektedir. Sağlık teknolojilerinin devam eden evrimi moleküler tıbbin ilerlemesine ve hasta tedavi süreçlerinin iyileştirilmesine katkılar sağlayacaktır.

Yazarlık katkı beyanı

Konsept ve dizayn: ST, FBT, SCU.

Verilerin elde edilmesinde: ST and FBT.

Verilerin analizi ve yorumlanmasında: ST, FBT, SCU.

Makale yazımında: SCU.

Makale revizyonu ve entelektüel katkı: SCU.

Etik Beyan

Mevcut yazı bir derleme makalesi olduğu için etik kurul onayı gerektirmemektedir.

Yazar çıkar çatışması

Yazar potansiyel çıkar çatışması yoktur.

Fon

Bu derleme için maddi destek alınmamıştır.

REFERENCES

1. Speers DJ. Clinical applications of molecular biology for infectious diseases. *Clin Biochem Rev.* 2006;27(1):39-51.
2. Arikat S, Saboor M. Evolving role of clinical laboratories in precision medicine: a narrative review. *J Lab Precis Med* 2024;9:17.
3. Delidow BC, Lynch JP, Peluso JJ, White BA. Polymerase chain reaction : basic protocols. *Methods Mol Biol.* 1993;15:1-29.
4. Khehra N, Padda IS, Swift CJ. Polymerase Chain Reaction (PCR). Updated March 6, 2023. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; January 2025-. Accessed March 6, 2025. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK589663>
5. Zhu H, Zhang H, Xu Y, Laššáková S, Korabečná M, Neužil P. PCR past, present and future. *Biotechniques.* 2020;69(4):317-325.
6. Artika IM, Dewi YP, Nainggolan IM, Siregar JE, Antonjaya U. Real-Time Polymerase Chain Reaction:

- Current techniques, applications, and role in COVID-19 Diagnosis. *Genes (Basel).* 2022;13(12):2387.
7. Navarro E, Serrano-Heras G, Castaño MJ, Solera J. Real-time PCR detection chemistry. *Clin Chim Acta.* 2015;439:231-250.
8. Dutta D, Naiyer S, Mansuri S, et al. COVID-19 diagnosis: A comprehensive review of the RT-qPCR Method for Detection of SARS-CoV-2. *Diagnostics (Basel).* 2022;12(6):1503.
9. Sugita S, Takase H, Nakano S. Practical use of multiplex and broad-range PCR in ophthalmology. *Jpn J Ophthalmol.* 2021;65(2):155-168.
10. Nyaruaba R, Mwaliko C, Dobnik D, et al. Digital PCR applications in the SARS-CoV-2/COVID-19 Era: a roadmap for future outbreaks. *Clin Microbiol Rev.* 2022;35(3):e00168-21.
11. Yugovich O, Bunce M, Harbison SA. Point-of-need species identification using non-PCR DNA-based approaches to combat wildlife crime. *Forensic Sci Int Genet.* 2025;78:103278.
12. Lee CL, Chuang CK, Chiu HC, et al. Understanding Genetic Screening: Harnessing Health Information to Prevent Disease Risks. *Int J Med Sci.* 2025;22(4):903-919.
13. Grody WW, Dunkel-Schetter C, Tatsugawa ZH, et al. PCR-based screening for cystic fibrosis carrier mutations in an ethnically diverse pregnant population. *Am J Hum Genet.* 1997;60(4):935-947.
14. Stern HJ. Preimplantation Genetic Diagnosis: Prenatal Testing for Embryos Finally Achieving Its Potential. *J Clin Med.* 2014;3(1):280.
15. Satam H, Joshi K, Mangrolia U, et al. Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements. *Biology (Basel).* 2023;12(7):997.
16. Katara A, Chand S, Chaudhary H, Chaudhry V, Chandra H, Dubey RC. Evolution and applications of next generation sequencing and its intricate relations with chromatographic and spectrometric techniques in modern day sciences. *Journal of Chromatography Open.* 2024;5:100121.
17. Ghoreyshi N, Heidari R, Farhadi A, et al. Next-generation sequencing in cancer diagnosis and treatment: clinical applications and future directions. *Discov Oncol.* 2025;16(1):578.
18. Salk JJ, Schmitt MW, Loeb LA. Enhancing the accuracy of next-generation sequencing for detecting rare and subclonal mutations. *Nat Rev Genet.* 2018;19(5):269.
19. Kamps R, Brandão RD, van den Bosch BJ, et al. Next-Generation Sequencing in Oncology: Genetic Diagnosis, Risk Prediction and Cancer Classification. *Int J Mol Sci.* 2017;18(2):308.
20. Wang Y, Yang Q, Wang Z. The evolution of nanopore sequencing. *Front Genet.* 2015;5:449.
21. Wang Y, Zhao Y, Bollas A, Wang Y, Au KF. Nanopore sequencing technology, bioinformatics and applications. *Nat Biotechnol.* 2021;39(11):1348-1365.
22. Shakoori AR. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) and Its Applications. *Chromosome Structure and Aberrations.* 2017;343-367.
23. Jensen E. Technical review: In situ hybridization. *Anat Rec (Hoboken).* 2014;297(8):1349-1353.

24. Harun A, Liu H, Song S, et al. Oligonucleotide Fluorescence In Situ Hybridization: An Efficient Chromosome Painting Method in Plants. *Plants (Basel)*. 2023;12(15):2816.
25. Kudman S, Semaan A, Assaad MA, et al. Optimization of Fluorescence In Situ Hybridization Protocols in the Era of Precision Medicine. *Curr Protoc*. 2024;4(6):e1093.
26. Cui C, Shu W, Li P. Fluorescence In situ Hybridization: Cell-Based Genetic Diagnostic and Research Applications. *Front Cell Dev Biol*. 2016;4:89.
27. Mohamed AM, Eid M, Eid O, et al. Generation of Dual-Color FISH probes targeting 9p21, Xp21, and 17p13.1 loci as diagnostic markers for some genetic disorders and cancer in Egypt. *J Genet Eng Biotechnol*. 2025;23(1):100449.
28. Yang T, Kang L, Li D, Song Y. Immunotherapy for HER-2 positive breast cancer. *Front Oncol*. 2023;13:1097983.
29. Tommasi C, Airò G, Praticò F, et al. Hormone Receptor-Positive/HER2-Positive Breast Cancer: Hormone Therapy and Anti-HER2 Treatment: An Update on Treatment Strategies. *J Clin Med*. 2024;13(7):1873.
30. Baez-Navarro X, Groenendijk FH, Oudijk L, et al. HER2-low across solid tumours: different incidences and definitions. *Pathology*. 2025;57(4):403-414.
31. Rose NC, Barrie ES, Malinowski J, et al. Systematic evidence-based review: The application of noninvasive prenatal screening using cell-free DNA in general-risk pregnancies [published correction appears in *Genet Med*. 2022 Sep;24(9):1992].
32. Xu Y, Li Z. CRISPR-Cas systems: Overview, innovations and applications in human disease research and gene therapy. *Comput Struct Biotechnol J*. 2020;18:2401-2415.
33. Lone BA, Karna SKL, Ahmad F, Shahi N, Pokharel YR. CRISPR/Cas9 System: A bacterial tailor for genomic engineering. *Genet Res Int*. 2018;2018:3797214.
34. Redman M, King A, Watson C, King D. What is CRISPR/Cas9? *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2016;101(4):213.
35. Jiang Y, Qian F, Yang J, et al. CRISPR-Cpf1 assisted genome editing of *Corynebacterium glutamicum*. *Nature Communications* 2017 8:1. 2017;8(1):1-11.
36. Li T, Yang Y, Qi H, et al. CRISPR/Cas9 therapeutics: progress and prospects. *Signal Transduct Target Ther*. 2023;8(1):36.
37. Allemailem KS, Almatroodi SA, Almatroudi A, et al. Recent advances in genome-editing technology with CRISPR/Cas9 variants and stimuli-responsive targeting approaches within tumor cells: A future perspective of cancer management. *Int J Mol Sci*. 2023;24(8):7052.
38. Khoshandam M, Soltaninejad H, Mousazadeh M, Hamidieh AA, Hosseinkhani S. Clinical applications of the CRISPR/Cas9 genome-editing system: Delivery options and challenges in precision medicine. *Genes Dis*. 2024;11(1):268-282.
39. Mustafa MI, Makhawi AM. SHERLOCK and DETECTR: CRISPR-Cas systems as potential rapid diagnostic tools for emerging infectious diseases. *J Clin Microbiol*. 2021;59(3):e00745-20.
40. Ebrahimi S, Khanbabaie H, Abbasi S, et al. CRISPR-Cas System: A Promising Diagnostic Tool for Covid-19. *Avicenna J Med Biotechnol*. 2022;14(1):3.
41. Tanaka PP, Monteiro CJ, Duarte MJ, et al. The CRISPR-Cas9 system is used to edit the autoimmune regulator gene in vitro and in vivo. *Adv Exp Med Biol*. 2025;1471:269-283.
42. Li X, Wang Z, Man X, Dai X, Zhou Q, Zhang S. Research advances CRISPR gene editing technology generated models in the study of epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2025;195:34-44.
43. Fang S, Wang G, Yang LH. [Advances in AAV-CRISPR/Cas9-Mediated Hemophilia A Gene Therapy -- Review]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2023;31(6):1890-1893.
44. Lin YT, Seo J, Gao F, et al. APOE4 causes widespread molecular and cellular alterations associated with alzheimer's disease phenotypes in human iPSC-derived brain cell types. *Neuron*. 2018;98(6):1141-1154.e7.
45. Thapar N, Eid MAF, Raj N, Kantas T, Billing HS, Sadhu D. Application of CRISPR/Cas9 in the management of Alzheimer's disease and Parkinson's disease: a review. *Ann Med Surg (Lond)*. 2023;86(1):329-335.
46. Ciafaloni E, Kumar A, Liu K, et al. Age at onset of first signs or symptoms predicts age at loss of ambulation in Duchenne and Becker Muscular Dystrophy: Data from the MD STARnet. *J Pediatr Rehabil Med*. 2016;9(1):5-11.
47. Ou L, Przybilla MJ, Tăbăran AF, et al. A novel gene editing system to treat both Tay-Sachs and Sandhoff diseases. *Gene Ther*. 2020;27(5):226-236.
48. Kang Y, Li H, Liu Y, Li Z. Regulation of VEGF-A expression and VEGF-A-targeted therapy in malignant tumors. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2024;150(5):221.
49. Dourthe ME, Baruchel A. CAR T-cells for acute leukemias in children: current status, challenges, and future directions. *Cancer Metastasis Rev*. 2025;44(2):47.
50. Tariq H, Khurshid F, Khan MH, et al. CRISPR/Cas9 in the treatment of sickle cell disease (SCD) and its comparison with traditional treatment approaches: a review. *Ann Med Surg (Lond)*. 2024;86(10):5938-5946.
51. Weaver SB, Singh D, Wilson KM. Gene Therapies for Sickle Cell Disease. *J Pharm Technol*. 2024;40(5):236-247.
52. Hnasko TS, Hnasko RM. The Western Blot. *Methods Mol Biol*. 2015;1318:87-96.
53. Yu M, Dandri M, Cheng G, Delaney WE 4th, Fletcher SP, Allweiss L. Rapid and Reliable Protein-Free HBV DNA Extraction and Sensitive Branched DNA Southern Blot Assay. *Methods Mol Biol*. 2024;2837:113-124.
54. Liang H, Shao Z, Shi Y, Wang X. Comparison of surgical and non-surgical treatment for scoliosis in Duchenne muscular dystrophy: a systematic review and meta-analysis. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2025;145(1):219.
55. Bao JH, Lu WC, Duan H, et al. Identification of a novel cuproptosis-related gene signature and integrative analyses in patients with lower-grade gliomas. *Front Immunol*. 2022;13:933973.
56. Vo K, Shila S, Sharma Y, et al. Detection of mRNA Transcript Variants. *Genes (Basel)*. 2025;16(3):343.
57. Owen C, Fader KA, Hassanein M. Western blotting: evolution of an old analytical method to a new quantitative tool for biomarker measurements. *Bioanalysis*. 2024;16(5):319-328.

58. He L, Lv Q, Luo J, et al. Heparanase inhibition mitigates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice by reducing M2 macrophage polarization. *Immunol Lett.* 2025;274:107006.
59. Matson RS. ELISA-Based Biosensors. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:225-238.
60. Kilimci U, Öndeş B, Sunna Ç, Uygun M, Aktaş Uygun D. Development of label-free immunosensors based on AuNPs-fullerene nanocomposites for the determination of cancer antigen 125. *Bioelectrochemistry.* 2025;163:108863.
61. Deshpande N, Suryawanshi PV, Tripathy S. Unveiling the Quest: Crafting an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Technique to Uncover COVID-19 Antibodies. *Cureus.* 2024;16(8):e66659.
62. Park G, Kim SS, Shim J, Lee SV. Brief guide to immunostaining. *Mol Cells.* 2025;48(1):100157.
63. Han Y, Liu Z, Song C. Fenugreek seed extract combined with acellular nerve allografts promotes peripheral nerve regeneration and neovascularization in sciatic nerve defects. *Regen Ther.* 2025;28:383-393.
64. Gao Y, Bai L, Zhou W, et al. PARP-1-regulated TNF- α expression in the dorsal root ganglia and spinal dorsal horn contributes to the pathogenesis of neuropathic pain in rats. *Brain Behav Immun.* 2020;88:482-496.
65. Burke C, Glynn T, Jahangir C, et al. Exploring the prognostic and predictive potential of bacterial biomarkers in non-gastrointestinal solid tumors. *Expert Rev Mol Diagn.* 2025;25(4):117-128.
66. Youhanna S, Kemas AM, Wright SC, et al. Chemogenomic Screening in a Patient-Derived 3D Fatty Liver Disease Model Reveals the CHRM1-TRPM8 Axis as a Novel Module for Targeted Intervention. *Adv Sci (Weinh).* 2025;12(3):e2407572.
67. Kumar A, Im K, Banjevic M, et al. Whole-genome risk prediction of common diseases in human preimplantation embryos. *Nat Med.* 2022;28(3):513-516.
68. Dakal TC, Dhakar R, Beura A, et al. Emerging methods and techniques for cancer biomarker discovery. *Pathol Res Pract.* 2024;262:155567.
69. Rajesh S, Cox MJ, Runau F. Molecular advances in pancreatic cancer: A genomic, proteomic and metabolomic approach. *World J Gastroenterol.* 2021;27(31):5171-5180.
70. Peter RM, Su X, Kong AN. Application of metabolomics in carcinogenesis and cancer prevention by dietary phytochemicals. *Curr Pharmacol Rep.* 2025;11(1):12.
71. Wang HYC, Donovan EM, Nisbet A, et al. The stability of imaging biomarkers in radiomics: a framework for evaluation. *Phys Med Biol.* 2019;64(16):165012.
72. Abushamma S, Yadete T, Nero N, et al. Definitions, diagnosis, and management of postoperative recurrence in Crohn's disease patients with permanent ileostomy-a systematic review and meta-analysis. *J Crohns Colitis.* 2025;19(4):jjaf041.
73. Xue M, Ke Y, Ren X, et al. Proteomic analysis of aqueous humor in patients with pathologic myopia. *J Proteomics.* 2021;234:104088.
74. Yang Y, Xu J, Ge S, Lai L. CRISPR/Cas: Advances, limitations, and applications for precision cancer research. *Front Med (Lausanne).* 2021;8:649896.
75. Selvakumar SC, Preethi KA, Ross K, et al. CRISPR/Cas9 and next generation sequencing in the personalized treatment of Cancer. *Mol Cancer.* 2022;21(1):83.

To Cite: Tetikoglu S, Bilgili-Tetikoglu F, Celik-Uzuner S. Current use of molecular biology methods in medical laboratory. *Farabi Med J.* 2025;4(2):40-53.