

EGE TIP DERGİSİ

Ege Journal of Medicine

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Resmi Yayın Organıdır.
The Official Publication of Ege University Faculty of Medicine

Cilt / Volume: 57

Sayı / Issue: 1

Mart / March 2018

Sayfa / Pages: 1-63

Ege Tıp Dergisi / Ege Journal of Medicine

Editör / Editor

Ufuk ÇAĞIRICI

Yayın Kurulu / Publication Committee

Ayşegül AKGÜN
Gül AKTAN
Okan BİLGE
Raika DURUSOY
Oğuz GÖZEN
Semra KARAMAN
Gülgün KAVUKÇU
Altuğ YAVAŞOĞLU

Biyoistatistik Uzmanları / Biostatisticians

Timur KÖSE
Mehmet N. ORMAN

Uluslararası Editör ve Danışma Kurulu / International Editors and Advisory Board

Ayşe Nur OKTAY ALFATLI, <i>Radiodiagnosics, TR</i>	Jose Antonio KARAM, <i>Urology, US</i>
Juzar ALI, <i>Pulmonary Medicine, US</i>	Metin ÖZDEMİRLİ, <i>Pathology, US</i>
J Patrick BARBET, <i>Anatomy, Histology and Embryology, FR</i>	Eduardo Weruaga PRIETO, <i>Neuroscience, ES</i>
Ali BAŞÇI, <i>Internal Medicine, TR</i>	Ömer ŞENBAKLAVACI, <i>Thoracic Surgery, TR</i>
Mustafa ÇIKIRIKÇIOĞLU, <i>Cardiovascular Surgery, CH</i>	Hasan TEKGÜL, <i>Pediatrics, TR</i>
Pınar COŞKUN, <i>Neuroscience, US</i>	Tarık TIHAN, <i>Pathology, US</i>
Volkan COŞKUN, <i>Neuroscience, US</i>	Radu Ioan TUTUIAN, <i>Internal Medicine, CH</i>
Stephen KANTROW, <i>Pulmonary Medicine, US</i>	Utku YAVUZ, <i>Biophysics, DE</i>

Yazışma Adresi / Address for Correspondence

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Yayın Bürosu
Bornova 35100, İzmir, Türkiye

Telefon / Phone : +90 232 390 31 03

Faks / Fax : +90 232 342 21 42

E-posta / E-mail : editor@egetipdergisi.com.tr

Web adresi / URL : www.egetipdergisi.com.tr

Ege Tıp Dergisi, yılda 4 sayı (Mart, Haziran, Eylül, Aralık) yayımlanır.
Ege Journal of Medicine is published quarterly (March, June, September, December).

TÜBİTAK-ULAKBİM Türk Tıp Dizini, DergiPark, Index Copernicus ve Türkiye Atıf Dizini tarafından taranmaktadır.
Indexed in TÜBİTAK-ULAKBİM Turkish Medical Sciences Index, DergiPark, Index Copernicus and Türkiye Citation Index.


T.C. Kültür ve Turizm Bakanlığı / *Republic of Turkey Ministry of Culture and Tourism*
Sertifika / *Certificate* No. 18679


Basım / Press
Ege Üniversitesi Basımevi
Bornova - İZMİR

Basım Tarihi / Date of Press
29.03.2018

Yıllık abone creti 32 TL, tek sayı bedeli 8 TL'dir.
The annual subscription fee is 32 TL, the single issue fee is 8 TL.

Abone ve tek sayı istekleri için editor@egetipdergisi.com.tr adresine mesaj gnderebilir ya da
232.3903103 / 232.3903186 numaralı telefonu arayabilirsiniz.
*For annual subscription or single issue requests, you may mail to editor@egetipdergisi.com.tr or you
may call +902323903103 / +902323903186*

Bu sayıda yer alan tm yazarların ORCID (Open Researcher and Contributor ID) bilgisine web
adresinde makalenin elektronik kopyasında yazar adı üzerindeki  simgesine tıklanarak erişilebilir.

*ORCID (Open Researcher and Contributor ID) information of each author in this issue can be
obtained by clicking the  icon above the author name through the electronic copy of the manuscript
on the web site.*

İÇİNDEKİLER
CONTENTS**ARAŞTIRMA MAKALELERİ**
RESEARCH PAPERS**Investigation of the factors influencing primary hypertension in childhood**

Çocukluk çağı primer hipertansiyonuna etki eden faktörlerin araştırılması

İlknur Girişgen Ferah Sönmez

1

A novel predictor in acute kidney injury: Neutrophil to lymphocyte count

Akut böbrek hasarlanmasında yeni bir gösterge: Nötrofil-lenfosit oranı

Devrim Bozkurt Aslı Kılavuz Mehmet Berktaş Fehmi Akçiçek

8

Hemofagositik lenfohistiyositoz hastalarında kraniyal MRG bulguları

Cranial MRI findings in hemophagocytic lymphohistiocytosis

Cenk Eraslan Elçin Aydın Eltan Maharramova Akkız Şahin

Hamiyet Hekimci Özdemir Deniz Yılmaz Karapınar Cem Çallı Ömer Kitiş

14

Comparison of anterior segment parameters between pediatric and adult keratoconus groups

Pediatrik ve erişkin keratokonus gruplarında ön segment parametrelerinin karşılaştırılması

İbrahim Toprak Cem Yıldırım Volkan Yaylalı

19

Anterior cruciate ligament injuries at the office workers who have irregular sport activity on the artificial surfaced playing areas

Düzensiz spor aktivitesi olan ofis çalışanlarında sentetik zeminli yüzeylerde ortaya çıkan ön çapraz bağ yaralanmaları

Özgür Korkmaz Melih Malkoç Serkan Gürçan

26

Geriatric poliklinik olgularında geriatric sendromlar: 1048 olgunun analizi

Geriatric syndromes in the geriatric outpatient clinic subjects: Analysis of 1048 cases

Derya Kaya Süleyman Emre Koçyiğit Özge Dokuzlar Pınar Soysal Ahmet Turan Işık

31

Influence of PD-0332991 treatment on cell cycle regulatory genes in breast cancer stem cells

Meme kanseri kanser kök hücrelerinde PD-0332991 uygulanmasının hücre döngüsü düzenleyici genler üzerine etkisi

Hasan Onur Çağlar Sunde Yılmaz Süslüer Cumhuriyet Gündüz Ayfer Haydaroğlu

36

Bir mevsimsel influenza epidemisi deneyimi

Experience of a seasonal influenza epidemic

Bedia Mutay Suntur Hava Kaya Ferit Kuşcu

46

OLGU SUNUMLARI*CASE REPORTS*

Servikal ektopik timus: Yenidoğanda nadir bir boyun kitlesi

Cervical ectopic thymus: A rare cervical mass in a newborn

Ülgen Çeltik Emre Divarçı Zafer Dökümcü Sevinç Kalın Ahmet Çelik 51

Deforme biliyer metal stente bağlı gelişen gastrointestinal sistem kanaması

Gastrointestinal bleeding due to deformed biliary stent

Muhammet Yener Akpınar Fatih Saygılı Erkin Öztaş Orhan Coşkun Bülent Ödemiş 54

Hereditier multiple ekzostoz

Hereditary multiple exostoses

İlknur Aykurt Karlıbel Asiye Mukaddes Erol Lale Altan İnceoğlu Mustafa Özer 57

Delirium and tremor associated with ertapenem treatment

Ertapenem tedavisine bağlı gelişen deliryum ve tremor

Hatice Köse Fatih Temoçin 60

Investigation of the factors influencing primary hypertension in childhood

Çocukluk çağı primer hipertansiyonuna etki eden faktörlerin araştırılması

İlknur Girişgen

Ferah Sönmez

Adnan Menderes University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Nephrology, Aydın, Turkey

Abstract

Aim: Primary hypertension is the most important risk factor for chronic kidney disease in adulthood. The genesis of essential hypertension is likely to be multifactorial. The aim of this study is to investigate the causing factors of primary hypertension detected by ambulatory blood pressure monitoring in children.

Materials and Methods: Fifty-six patients who had blood pressure higher than 90 percentile during the healthy children follow-up and 27 healthy children with the normal blood pressure were included in the study. Twenty-four hour blood pressure measurements with the blood pressure monitor were recorded as the day-night mean blood pressure, the blood pressure loads and the dipper-non-dipper characteristics. Plasma renin levels, serum aldosterone, nitric oxide and endothelin levels and amounts of sodium and potassium excretion in the 24 hour urine and were investigated in all patients and the control group.

Results: Laboratory evaluations of the patients showed that the patient group has higher mean levels of plasma renin, lower mean levels of blood endothelin and mean levels of urinary sodium excretion than the control group.

Conclusion: In the pathogenesis of childhood primary hypertension and white coat hypertension, which were seen in the half of the children diagnosed as primary hypertension, plasma renin and urinary sodium excretion had important roles.

Keywords: Primary hypertension, endothelin, renin.

Öz

Amaç: Primer hipertansiyon erişkin çağındaki kronik böbrek yetmezliği için başlıca risk faktörlerinden biridir. Esansiyel hipertansiyon sebepleri multifaktoriyeldir. Amacımız ambulatuar kan basıncı monitorizasyonu yapılmış primer hipertansiyon saptanan çocuklarda etyolojik faktörleri araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya rutin sağlıklı çocuk kontrollerinde kan basınçları 90 persentilin üzerinde saptanan 56 çocuk ve kan basıncı 90 persentilin altında olan 27 sağlıklı çocuk alındı. Yirmi dört saatlik yaşam içi kan basıncı monitorizasyonu yapılarak gece gündüz kan basıncı ortalamaları, kan basıncı yükleri, dipper-non dipper özellikleri kaydedildi. Plazma renin aktivitesi, serum aldosteron, nitrik oksit, endotelin seviyeleri 24 saatlik idrarda sodyum ve potasyum atılımları karşılaştırıldı.

Bulgular: Laboratuvar değerlendirmelerinde hasta grupta kontrol gruba göre plazma renin aktivitesi yüksek, endotelin seviyesi düşük ve idrar sodyum atılımı yüksek saptandı.

Sonuç: Çocukluk çağı primer hipertansiyonu ve beyaz önlük hipertansiyonunda plazma renin düzeyinin ve idrar sodyum atılımının önemli rol oynadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Primer hipertansiyon, endotelin, renin.

Introduction

In recent years, the prevalence of primary hypertension in children has increased (1,2). It is thought that many different combinations of factors play role in the etiology and pathophysiology of primary hypertension. Obesity, insulin resistance, activation of sympathetic nervous system, sodium homeostasis, renin-angiotensin system, vascular smooth muscle structure and reactivity, serum uric acid levels, genetic factors and fetal programming have been implicated in primary hypertension (1-4).

Hypertension is fundamentally a hemodynamic disorder indicating a disturbance in cardiac output and/or systemic vascular resistance (1). Salt retention is a major contributor to increased intravascular fluid and may result from either excessive intake, or increased renal tubular resorption of sodium, as is seen with activation of the renin-angiotensin-aldosterone system and hyperinsulinemia (3). The renin-angiotensin system (RAS) is the major hormonal system affecting blood pressure (BP). Angiotensin II (ANG II) is a potent vasoconstrictor and thus increases blood pressure. It also stimulates the release of aldosterone from the zona glomerulosa of the adrenal gland, which results in a further rise in blood pressure from aldosterone-mediated sodium and water retention (1). Dietary sodium intake early in life may affect BP in later life. Potassium supplementation is associated with a decrease in BP in adults (1). In children the relationship between blood pressure and urinary excretion of electrolytes has been rarely studied.

Changes in peripheral vascular resistance result from either functional or structural abnormalities. Increased angiotensin II, elevated sympathetic activity, increased endothelins decreased endothelial relaxation factors as nitric oxide, and genetic abnormalities in vascular cell receptors are all associated with increased vascular smooth muscle contractility, and thus raise peripheral vascular resistance. Endothelin-1 (ET-1) is an endothelial-derived, potent vasoconstrictive peptide containing 21 amino acids (5,6). In addition to its potent renal vasoconstriction action, ET-1 has a direct stimulating effect on sodium reabsorption in renal proximal convoluted tubules, resulting in an increased blood volume (6). Genetic variation in ET-1 expression may be involved in the pathogenesis of essential hypertension. Endothelial ET-1 synthesis is inhibited by nitric oxide. Nitric oxide (NO) is an endothelium-derived gas, synthesized from the amino acid L-arginine by the endothelial isoform of nitric oxide synthase (NOS). Nitric oxide is a vasodilator, and the balance between nitric oxide and various endothelium-derived vasoconstrictors and the sympathetic nervous system maintains physiologic blood vessel tone (1). Inhibition NO

synthesis increases renal vascular tone, reducing glomerular filtration rate. Similar effects reproduced in other vascular beds result in systemic hypertension (1,3,7).

The aim of this study was to investigate the role of plasma renin, serum aldosterone, nitric oxide, endothelin levels and urine sodium (Na) and potassium (K) excretion on childhood primary hypertension detected also by ambulatory blood pressure monitoring.

Materials and Methods

Subjects

Patients who had blood pressure higher than 90 percentile during the healthy children follow up and healthy with the normal blood pressure (without diabetes mellitus, vasculitis, congenital heart disease, non-metabolic disorders such as hypercholesterolemia) were included to the study. All patients underwent the same workup for secondary causes of hypertension, which included determination of body mass index (BMI), serum thyroid hormone, glucose, cholesterol, urea and creatinine levels, heart echocardiography, renal ultrasound with Doppler, and urinalysis. Patients with secondary forms of hypertension were subsequently excluded from the analysis. Patients with no identifiable causes of hypertension were labelled as essential hypertension. None of the patients included in this study was using antihypertensive drugs as angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors. A total of 56 children (29 boys, 27 girls) with hypertension based on repeated office blood pressure measurements and 27 normotensive controls (15 boys, 12 girls) were included to the study. The mean age of the patients was 10.4 ± 3.8 (5-17) years and the control group was 10.9 ± 2.6 (7-16) years. According to BMI, 32% of the children were obese in study group.

In all hypertensive children and controls three measurements of blood pressures were performed using a cuff appropriate to the size of the upper arm. Fourth Report on the Diagnosis, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents was used as the reference values for the casual clinic blood pressure (8). On the basis of these measurements the group with stage 1 and 2 hypertension and the group with prehypertension were selected.

Ambulatory blood pressure monitoring

Ambulatory blood pressure monitoring was performed using the oscillometric Welch Allyn-24 hour ABP Monitor, ver. 12. The monitors were programmed to measure the blood pressure every 20 minute during day time and every 30 minute during night-time. Standard deviation scores according to gender and height were calculated as systolic and diastolic arterial blood

pressure during the daytime and night-time and as 24-h mean blood pressure values using the method of Soergel et al. (9), and the results were evaluated according to the reference values reported by Wühl et al. (10). The nocturnal blood pressure decrease (dipping) was calculated as the day-night BP difference expressed as a percentage of the daytime BP mean. The nondipping phenomenon was diagnosed as dipping of the systolic or diastolic BP of <10%. Blood pressure systolic and diastolic loads during the daytime and at night-time were derived for each child from 24-h recording. These were calculated as the percentage of readings exceeding the child's 90th percentile by sex, age and height.

Normal blood pressure was defined as <95 percentile by casual blood pressure, <95 percentile by ABPM and <25 systolic blood pressure load. White coat hypertension was as casual BP > 95th percentile in medical pressure setting, ABPM <95th percentile and <25% systolic blood pressure load. Masked hypertension was as casual BP <95th percentile in medical pressure setting, ABPM > 95th percentile and >25% systolic blood pressure load. Prehypertension was defined as casual BP >95th percentile in medical pressure setting, ABPM < 95th percentile and 25-50% systolic blood pressure load. Ambulatory hypertension was casual BP >95th percentile in medical pressure setting, ABPM > 95th percentile and 25-50% systolic blood pressure load. Severe ambulatory hypertension was defined as casual BP >95th percentile in medical pressure setting, ABPM >95th percentile, and >50% systolic blood pressure load (11).

Biochemical analysis

Blood samples for renin was taken in the supine position in the morning and the blood samples for renin, aldosterone, nitric oxide and endothelin were frozen at -20°C until analysis.

Plasma renin levels were determined by using commercial DRG human ELISA kit (EIA-5125) (DRG International, Inc., USA). The test results were calculated by bioelisa reader Elx800 using standard curve at 450 nm. Results were given as pg/mL. Serum aldosterone levels were determined by using commercial DRG human ELISA kit (EIA-4410) (DRG International, Inc., USA). The test results were calculated by bioelisa reader Elx800 by using standard curve at 450 nm. Results were given as pg/mL. Serum ET-1 levels were determined by using commercial Biomedica human ELISA kit (BI-20052) (Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, A-1210 Wien, Divischgasse 4, GERMANY). The test results were calculated by bioelisa reader Elx800 using standard curve at 450 nm. Results were given as fmol/mL. NO (nitrite + nitrate) was assayed by a modification of cadmium-reduction method as mentioned

by Navarro-Gonzalves. The samples were analysed spectrophotometrically using a microplate reader and quantified automatically against NaNO₂ standard curve and the results were expressed as µM/L.

After 24 h urine collection, a specimen of about 15 mL was frozen at -20°C until analysis. Before the analysis the specimen was thawed at room temperature. The urinary Na and K levels were measured by a method with ion selective electrode.

Ethics

Informed consent was obtained for each child from both parents, and the study protocol conformed to the ethical guidelines. The study was approved by the ethics committee in our institution.

Statistical analysis

The data were analysed using the SPSS ver. 19 software package. The Kolmogorov-Smirnov test was used to assess the normality of numeric variables. Data were expressed as the mean (SD) or median (range). Differences between the two groups were determined by the Student's t test or Mann-Whitney U test. The proportions between certain subgroups were compared using the chi-square test. Correlation between blood pressure SDS values and plasma renin levels, serum aldosterone, ET-1, NO levels, urine Na and K values were tested by the Spearman correlation coefficient. Values with p<0,05 were considered to be statistically significant.

Results

Clinical characteristics of the patient and control group were shown in Table-1.

Table-1. Clinical Characteristics of the Patients and Control Group.

	Study N=56	Control N=27	p
Gender (Girl / Boy)	27 / 29	12 / 15	0.930
Age (years)	10.5±3.9	10.9±2.7	0.535
Weight (kg)	46.1±19.5	39.8±12.9	0.085
Height (cm)	142.8±21.6	149.1±15.8	0.139
BMI (kg/m²)	20.8±4.7	17.5±2.7	<0.001
The presence of hypertension in the family	46	11	0.104

By casual blood pressure measurement, 9% of children were diagnosed to have prehypertension, 19% of children stage 1 hypertension, 72% of children stage 2 hypertension. All children in the control group had normal blood pressure values. After performing the ambulatory blood pressure monitoring, white coat hypertension was found as 52%, prehypertension was found as 25%, ambulatory hypertension was found as 23%. No masked hypertension was found in the control

group. 40% of the children with normal mean blood pressure levels had elevated blood pressure loads.

The results of the plasma renin, serum aldosterone, nitric oxide, endothelin levels and urinary Na and K excretions were given in the Table-2. The mean plasma renin levels were found to be significantly higher in children with primary hypertension than the control group (Table-2, Figure-1). No significant correlation was found between plasma renin levels and systolic-diastolic blood pressure, blood pressure load and dipping. No significant correlation was found between plasma renin levels and serum aldosterone, NO levels, ET-1 levels, urinary Na and K excretions.

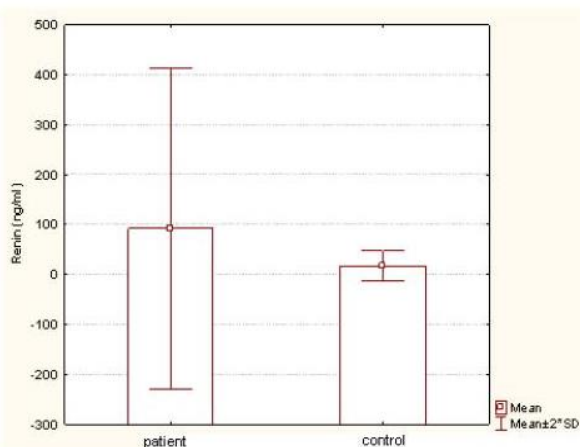


Figure-1. Plasma renin levels in patients with primary hypertension and control groups.

Insignificant positive correlation was found between serum aldosterone and ET-1 levels.

The mean serum ET-1 levels were found to be significantly decreased in children with primary hypertension compared to the control group ($p=0.03$) (Table-2, Figure-2). Insignificant positive correlation was found between serum ET-1 and aldosterone levels ($r=0.28$ $p=0.011$). No significant correlation was found between serum ET-1 levels and systolic-diastolic blood pressure, blood pressure load and dipping. No significant correlation was found between serum ET-1 levels and plasma renin levels, NO levels, urinary Na and K excretion.

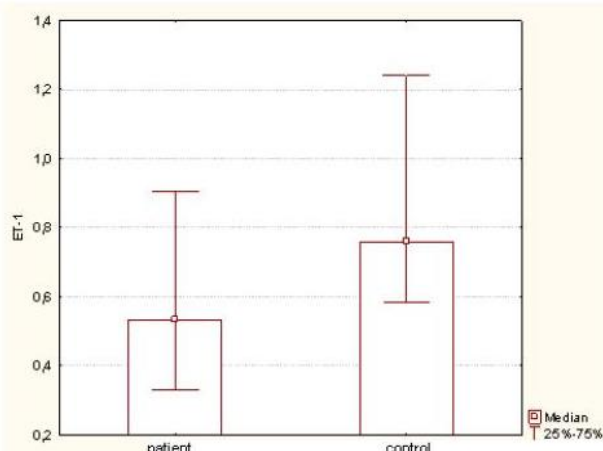


Figure-2. Serum ET-1 levels in patients with hypertension and control groups.

Table-2. Serum Renin, Aldosterone, NO, ET-1, Urinary Na and K Results in Patients with Primary Hypertension and Control Groups.

	Patient	Control	P
Renin (ng/mL)	92.50±160.80	17.80±14.50	0.002*
Aldosterone (pg/mL)	349.30±297.50	506.70±628.10	0.82
NO (µmol/L)	27.60±1.50	23.60±1.02	0.18
ET-1 (fmol/mL)	0.76±0.91	0.88±0.44	0.030*
Urinary Na (mEq/L)	106.00±16.80	138.00±13.20	0.006*
Urinary K (mEq/L)	37.00±2.30	41.40±3.60	0.500

* Statistically significant.

The mean serum aldosterone levels in children with primary hypertension were not significantly different than the control group (Table-2). No significant correlation was found between serum aldosterone levels and systolic-diastolic blood pressure, blood pressure load and dipping. No significant correlation was found between serum aldosterone levels and plasma renin levels, NO levels, urinary Na and K excretions.

The mean serum NO levels in children with hypertension were not significantly different than the control group. No significant correlation was found between serum NO levels and ET-1 levels, plasma renin levels, serum aldosterone levels, urinary Na and K excretion.

Urinary Na excretion was found to be significantly decreased in children with primary hypertension compared to the control group ($p=0.006$) (Table-2, Figure-3). No significant correlation was found between urinary Na excretion and plasma renin levels, serum aldosterone, ET-1, NO levels. Urinary K excretion in children with hypertension was not significantly different than the control group. Insignificant positive correlation was found between urine Na and K excretion.

The mean plasma renin levels were found to be significantly higher in children with white coat hypertension ($43.70±6.00$ ng/mL) than the control group ($17.80±14.50$ ng/mL) (Table-3). However, serum aldosterone, NO and ET-1 levels were similar in two groups. Urinary Na excretion was found to be significantly decreased in children with white coat hypertension ($109.60±157.50$ mEq/L) compared to the

control group (138.30 ± 66.30 mEq/L) (Table-3). However, there was no significant difference in urinary K between two groups.

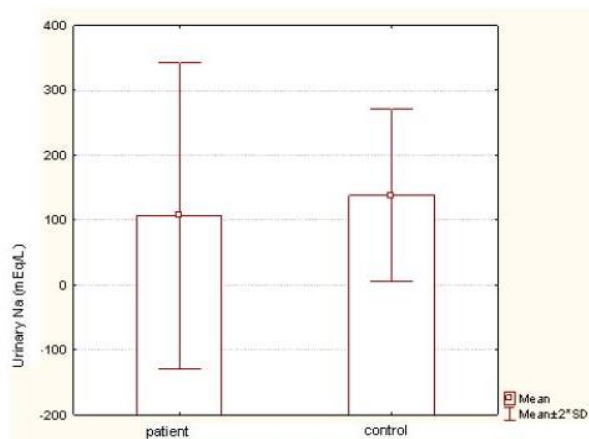


Figure-3. Urinary Na excretion in patients with hypertension and control groups.

Table-3. Serum Renin Levels and Urinary Na Excretion in Patients With White Coat Hypertension (WCH) and the Control Group.

	WCH (29)	Control (27)	p
Renin (ng/mL)	43.70±6.00	17.80±14.50	0.036*
Urinary Na (mEq/L)	109.60±157.50	138.30±66.30	0.007*

* Statistically significant.

Discussion

Although it was known that renin and aldosterone played role in the pathogenesis of primary hypertension, many conflicting results were reported. In a study comparing the patients with family history of hypertension, no major difference in RAS activity was shown, although they had differences in blood pressure levels (12). A recent cross-sectional study performed in healthy normotensive children with hypertensive and normotensive parents replicated similar findings. Although the two groups of children were normotensive, the group of children with hypertensive parents had a higher systolic blood pressure (SBP) index than those with normotensive parents. In spite of this difference, there were no significant differences in serum aldosterone, plasma renin activity or aldosterone/renin ratio (13). Silva et al. (14) suggested PRA, angiotensin I, angiotensin II, angiotensin 1-7 levels were significantly higher in renovascular hypertensive patients than in normotensive children. In contrast with renovascular disease, only angiotensin 1-7 levels were significantly increased in essential hypertensive patients compared with

normotensive. These results showed different RAS profiles in childhood hypertension and suggest a blood pressure-independent change of angiotensin 1-7 in essential hypertension. Baracco et al. (15) compared the proportions of abnormal laboratory and imaging tests between primary and secondary hypertension groups. There was no significant difference in PRA between primary and secondary HTN groups. In our study levels of blood renin was found to be significantly higher in children with primary hypertension than the control group. However, serum aldosterone levels in children with hypertension were not significantly different than the control group. It is thought that renin might have a role in the pathogenesis of primary hypertension in children.

Endothelin-1 inhibits release of renin from isolated rat glomeruli but stimulates release of aldosterone from isolated cortical zona glomerulosa cells. Akter et al. (16) suggest that the ET-1 levels were significantly higher in the hypertensive than in the non-hypertensive subjects. Gu X et al. (17) found plasma ET-1 levels were higher in hypertensives than controls. Schneider et al. (18) showed that increased circulating immunoreactive ET might have a role in the development of high blood pressure. Schiffrin's (19) data supported the hypothesis of a role of endothelin-1 in blood pressure elevation in this hypertensive model with malignant hypertension. Another study of Schiffrin (20) supported endothelin-1 gene expression is normal or reduced in spontaneously hypertensive rats (SHR). Severe vascular hypertrophy is present in DOCA-salt hypertensive rats but not in SHR. Nar et al. (21) study reported that ET-1 levels were similar between hypertensive and normotensive individuals. In our study serum ET-1 levels was found to be significantly decreased in children with primary hypertension compared to the control group. Insignificant positive correlation was found between serum ET-1 and aldosterone levels. No significant correlation was found between serum ET-1 levels and systolic-diastolic blood pressure, blood pressure load and dipping. No significant correlation was found serum ET-1 levels and plasma renin levels, NO levels, urinary Na and K excretion. It is thought that ET-1 levels might be high in salt sensitive hypertension and extreme hypertension also the results could be variable in essential hypertension. No significant increase in serum endothelin levels were thought to be due to the degree of hypertension of our patients. It also thought ET-1 levels in circulation could not reflect ET-1 levels in local vascular structures.

Nitric oxide is a vasodilator, and the balance between nitric oxide and various endothelium-derived vasoconstrictors and the sympathetic nervous system maintains physiologic blood vessel tone. It has been reported that NO production was reduced in patients

with essential hypertension compared with normotensive (22,23). In our study serum NO levels in children with hypertension was not significantly different than the control group. No significant correlation was found serum NO levels and ET-1 levels, plasma renin levels, serum aldosterone levels, urinary Na and K excretion. It made us think that these results may be related to the patient group consist of mostly white coats and prehypertensive groups also not to begin the changes endothelin levels in early stages. We thought that NO was not affected in the early stage of primary hypertension.

Dietary sodium intake early in life may affect BP in later life (1). Hofman et al. (24) compared infants receiving a low or normal sodium-containing infant formula for the first 6 months of life. At 25 weeks, systolic pressure was 2.1 mm Hg lower in the low-sodium group than in the normal-sodium group. Normally, sodium excretion was found to increase when there is an acute increase in blood pressure. Genetic alterations in the expression or regulation of vasoactive mediators or transport molecules involved in sodium excretion may also contribute to the development of hypertension (25). Soltysiak et al. (26) suggested that in children with type 1 diabetes mellitus (DM1), increased levels of urinary angiotensinogen excretion might reflect early renal involvement, before the onset of microalbuminuria. Decreased sodium excretion seems to be involved in the development of HTN and early renal injury. In our study urinary Na excretion was found to be significantly decreased in children with hypertension compared to the control group. No significant correlation was found between urinary Na excretion and plasma renin levels, serum aldosterone levels. It was also thought that urinary sodium excretion had an important role in the pathogenesis of childhood primary hypertension.

Potassium supplementation is associated with a decrease in BP in adults¹. Longer-term supplementation trials with potassium in hypertensive children induced lower age-related BP increases in SBP and DBP, compared with nonsupplemented children (27). However, Berry et al. (28) showed no evidence of benefit of dietary advice to increase K intake above usual intakes in the subjects with early stages of hypertension. According to our study, Urinary K excretion in children with hypertension was not significantly different than the control group. Insignificant positive correlation was found between urine Na and K excretion.

In our study, the ratio of white coat hypertension was found as 52%. The respectable high ratio of white coat hypertension denoted the importance of ABPM. Plasma renin levels was found to be significantly increased and urinary Na excretion was found to be significantly in children with white coat hypertension than the control group.

Conclusion

Blood renin and urinary sodium excretion had important roles in the pathogenesis of childhood moderate primary hypertension and white coat hypertension.

Acknowledgements

The project described was supported by Adnan Menderes University Research Project Coordination Unit (TPF 10015). The authors gratefully acknowledge the support by the researchers from the department of Biochemical and Biostatistical Department of Adnan Menderes University.

Conflict of interest

The authors declare that no conflict of interest between them.

References

1. Awazu M. Hypertension. Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, Yoshikawa N. In *Pediatric Nephrology*, 6th ed. Berlin Heidelberg: Springer Springer Verlag, 2009:1457-541.
2. Lurbe E, Alcon J, Redon J Hypertension. Geary DF, Schaefer F. [edited by]. In *Comprehensive pediatric nephrology* 1st edition Philadelphia, 2008;637-93.
3. McNiece KL, Portman R. Hypertension In: Kher KK, Schnaper W, Makker SP (eds). *Clinical Pediatric Nephrology*, 2nd ed. Informa UK, 2007;459-90.
4. Raj M. Essential hypertension in adolescents and children: Recent advances in causative mechanisms. *Indian J Endocrinol Metab* 2011;15 (4):367-73.
5. Schiffrin EL. Endothelin: Potential role in hypertension and vascular hypertrophy. *Hypertension* 1995;25(6):1135-43.
6. Nicolaidou P, Georgouli H, Matsinos Y, et al. Endothelin-1 in children with acute poststreptococcal glomerulonephritis and hypertension. *Pediatr Int* 2003;45(1):35-8.
7. MacAllister R, Vallance P. Nitric oxide in essential and renal hypertension. *J Am Soc Nephrol* 1994;5(4):1057-65.
8. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* 2004;114(2):555-76.

9. Soergel M, Kirschstein M, Busch C, et al. Oscillometric twenty-four-hour ambulatory blood pressure values in healthy children and adolescents: A multicenter trial including 1141 subjects. *J Pediatr* 1997;130(2):178-84.
10. Wühl E, Witte K, Soergel M, Mehls O, Schaefer F. German Working Group on Pediatric Hypertension. Distribution of 24-h ambulatory blood pressure in children: Normalized reference values and role of body dimensions. *J Hypertens* 2002;20(10):1995-2007.
11. Lurbe E, Sorof JM, Daniels S. Clinical and research aspects of ambulatory blood pressure monitoring in children. *J Pediatr* 2004;144(1):7-16.
12. Studer A, Lüscher T, Greminger P, et al. Blood pressure, renin angiotensin aldosterone system and other cardiovascular risk factors in children of essential hypertensives. *Klin Wochenschr* 1982;60(6):275-84.
13. Martinez-Aguayo A, Aglony M, Campino C, et al. Aldosterone, plasma renin activity, and aldosterone/renin ratio in a normotensive healthy pediatric population. *Hypertension* 2010;56(3):391-6.
14. Simões E Silva AC, Diniz JS, Regueira Filho A, Santos RA. Renin angiotensin system in childhood hypertension: Selective increase of angiotensin-(1-7) in essential hypertension. *J Pediatr* 2006;145(1):93-8.
15. Baracco R, Kapur G, Mattoo T, et al. Prediction of primary vs secondary hypertension in children. *J Clin Hypertens* 2012;14(5):316-32.
16. Akter S, Jesmin S, Iwashima Y, et al. Higher circulatory level of endothelin-1 in hypertensive subjects screened through a cross-sectional study of rural Bangladeshi women. *Hypertens Res* 2014;38(3):208-12.
17. Gu X, Li H, Zhu X, et al. Inverse correlation between plasma adropin and ET-1 levels in essential hypertension: A cross-sectional study. *Medicine* 2015;94(40):1712.
18. Schneider MP, Hilgers KF, Klingbeil AU, John S, Veelken R, Schmieder RE. Plasma endothelin is increased in early essential hypertension. *Am J Hypertens* 2000;13(6):579-85.
19. Schiffrin EL, Deng LY, Sventek P, Day R. Enhanced expression of endothelin-1 gene in resistance arteries in severe human essential hypertension. *J Hypertens* 1997;15(1):57-63.
20. Schiffrin EL, Larivière R, Li JS, Sventek P, Touyz RM. Deoxycorticosterone acetate plus salt induces overexpression of vascular endothelin-1 and severe vascular hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1995;25(4):769-73.
21. Nar G, Soyulu K, Akcay M, et al. Evaluation of the relationship between arterial blood pressure, aortic stiffness and serum endothelin-1 levels in patients with essential hypertension. *Clin Exp Hypertens* 2013;35(8):589-94.
22. Klahr S. The role of nitric oxide in hypertension and renal disease progression. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(1):60-2.
23. Goonasekera CD, Dillon MJ. Vascular endothelium and nitric oxide in childhood hypertension. *Pediatr Nephrol* 1998;12(8):676-89.
24. Hofman A, Hazebroek A, Valkenburg HA. A randomized trial of sodium intake and blood pressure in newborn infants. *JAMA* 1983;250(3):370-3.
25. Lifton RP. Molecular genetics of human blood pressure variation. *Science* 1996;272(5262):676-80.
26. Soltysiak J, Skowronska B, Fichna P, et al. Urinary angiotensinogen and urinary sodium are associated with blood pressure in normoalbuminuric children with diabetes. *Pediatr Nephrol* 2014;29(12): 2373-8.
27. Geleijnse JM, Grobbee DE, Hofman A. Sodium and potassium intake and blood pressure change in childhood. *BMJ* 1990;300(6729):899-902.
28. Berry SE, Mulla UZ, Chowienczyk PJ, Sanders TA. Increased potassium intake from fruit and vegetables or supplements does not lower blood pressure or improve vascular function in UK men and women with early hypertension: A randomised controlled trial. *Br J Nutr* 2010;104(12):1839-47.

A novel predictor in acute kidney injury: Neutrophil to lymphocyte count**Akut böbrek hasarlanmasında yeni bir gösterge: Nötrofil-lenfosit oranı**Devrim Bozkurt¹ Aslı Kılavuz¹ Mehmet Berktas² Fehmi Akçiçek¹¹Ege University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Intensive Care Unit, İzmir, Turkey²Yeditepe University Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, İstanbul, Turkey**Abstract****Aim:** Acute Kidney injury (AKI) represents a clinical condition reflecting systemic inflammation. Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) is novel prognostic marker in various inflammatory conditions. In this retrospective cohort we evaluated two hundred and thirteen AKI patients.**Materials and Methods:** The patients' baseline values on admission, final values at discharge and after discharging during follow-up period in outpatient clinic until six months to one year were recorded. NLR change during follow-up period after hospitalization was also examined.**Results:** It has been shown that, final NLR and timely changed NLR during hospital course are significant mortality predictors in AKI patients both in univariate and mutually adjusted multivariate logistic regression analysis. To predict mortality, we showed that, level of 9.90 point for final NLR has 73% sensitivity and 87% specificity as compared to value below in ROC analysis (HR: 7.31, CI 3.36-15.91; p<0.001).**Conclusion:** NLR may be a novel screening tool on patients' mortality for AKI patients during their hospital course.**Keywords:** Acute renal failure, mortality.**Öz****Amaç:** Akut böbrek hasarlanması (ABH), sistemik inflamasyonu yansıtan bir klinik durumdur. Nötrofil-lenfosit oranı (NLO), değişik inflamatuvar durumlarda bilinen yeni prognostik göstergedir. Bu retrospektif kohort çalışmasında iki yüz on üç akut böbrek hasarlanmalı hasta incelendi.**Gereç ve Yöntem:** Hastaların başvuru anı, çıkış anı ve taburculuk sonrası poliklinik takiplerinde var olan altı ay bir yıllık değerleri kaydedildi. Bu takip periyodunda hastaların NLO değişimleri incelendi.**Bulgular:** Tek değişkenli ve çoklu değişkenli regresyon analizlerinde, hem taburculuk anı NLO değeri hem de zamansal NLO değişimi, akut böbrek hasarlanmalı hastalarda bağımsız mortalite öngörücüsü olarak saptandı. Yapılan ROC analizinde, mortalite ön görücülüğünde, NLO üst sınır için 9.90 değeri, %87 özgüllük ve %73 duyarlılıkta saptandı (HR: 7.31, CI 3.36-15.91; p<0.001).**Sonuç:** Akut böbrek hasarlanmalı hastalarda, NLO, hastane yatış sürecinde mortalite için yeni bir takip parametresi olabilir.**Anahtar Sözcükler:** Akut böbrek yetmezliği, mortalite.**Introduction**

Acute kidney injury (AKI) is one of the most leading cause of, cardiovascular failure, infections, increased morbidity and mortality, in hospitalized patients. AKI represents a systemic inflammatory condition and shows a direct "cause and effect" relationship, with inflammation (1-3).

A simple and "easy to measure" parameter, ratio of neutrophil and lymphocyte counts (NLR) is a novel inflammatory marker in various clinical conditions which can be used as an indicator of systemic inflammation (4). In fact, NLR has been shown to predict outcomes in various clinical conditions including, "peripheral vascular disease", "end stage renal disease" and in "critically ill patients" (5-7). Therefore, usage of NLR to predict the mortality and morbidity in AKI, makes sense.

As suggested above AKI is an inflammatory disorder and NLR is a marker of inflammation which may have

Corresponding Author: Devrim Bozkurt

Ege University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Intensive Care Unit, İzmir, Turkey

Received: 21.08.2016

Accepted: 16.12.2016

prognostic significance in AKI. Thus this is a case-control study, performed to investigate, whether NLR has a prognostic significance in hospitalised patients who developed AKI.

Materials and Methods

Study population

For this retrospective report, from January 2010 to March 2013, N₁₇ ICD coded patients (considered as acute renal failure, n=313) were recruited. After excluding the patients, as seen in figure 1.213 AKI patient were included.

AKI was staged and defined with the guidance of KDIGO-CPGAKI Criteria (8). Definition was set under the 20 scope of any of the following:

- Increase in serum creatinine by ≥ 0.3 mg/dL within 48 hours or
- Increase in serum creatinine to ≥ 1.5 times baseline, which is known or presumed to have occurred within the prior 7 days or
- Urine volume < 0.5 mL/kg/h for 6 hours.

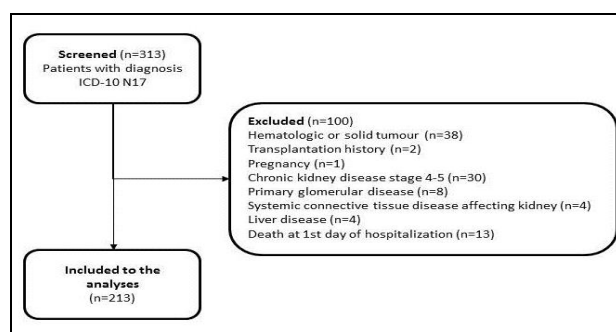


Figure-1. Study population flow chart.

Reasons for entering dialysis on admission and during the hospital course were recorded. All patients requiring 26 dialysis were evaluated and managed by the same team of nephrologists and ICU practitioner. Prescribed dialysis modes were daily conventional dialysis with or without ultrafiltration. Data was including demographical properties such as age, sex, reason for admission and comorbid clinical illnesses with previous medical history. Nontraditional inflammation marker, NLR, routine serum biochemical analysis and complete blood count were recorded. For the statistical analysis, data were consisted of the records taken at baseline, at discharge and at the latest follow up taken, during 6 to 12 months period from discharge. Timely NLR change between admission and final, calculated as follows: [(Final NLR-Baseline NLR)/days of hospital course]. To estimate kidney function, the most recently advocated formula of Modification of Diet in Renal Disease Study Group (MDRD-eGFR) was used (9). The predictors of all cause of mortality were examined.

Statistical Analysis

Categorical variables are summarized count, percentage whereas continuous ones are summarized mean, standard deviation, median, interquartile range, minimum and maximum as appropriate. “Cox proportional-hazards regression model” and “mutually adjusted multivariate regression analysis” were used to determine the effects of independent parameters on mortality. ROC analysis was performed to determine cut-off values for final NLR level and timely changed NLR ratios during hospital course. Overall significance level is % 5. IBM SPSS ver. 21.0 is used for analyses.

Results

Of 313 eligible acute renal failures, N₁₇ ICD coded patients admitted to internal medicine intensive care unit, 213 patients were recruited into retrospective cohort study. Eighty one patients had diabetes mellitus and 33 of them required insulin. Baseline characteristics of study population were summarized in Table-1.

Table-1. Study Cohort Baseline Characteristics. Continuous Variables are Summarized Mean±Standard Deviation.

Patients (Alive/Deceased)	213 (157/56)
Age	72.48±14.7
Gender(M/F)	112/101
AKI	
Stage1	55
Stage 2	48
Stage 3	110
Infection related AKI	118 (55%)
Hemodialysis	77 (36%)
Inotrope usage	55 (26%)
Previous CKD	48 (22%)
Previous CVD	60 (28%)
Hospital duration (in days)	12.1±9.2
BP	115.8±32.1/66.2±17.3
BUN	85.5±40.2
Creatinine	4.2±2.7
eGFR MDRD	19.5±15.8
CRP	13.4±12.3
Albumin	3.4±0.7
NLR	14.4±13.2
MPV	11.7±1.3
Uric Acid	9.9±2.9

AKI: acute kidney injury; BP: blood pressure presented as systolic blood pressure/diastolic blood pressure; BUN: blood urea nitrogen; CKD: chronic kidney disease stage 1-3; CRP: C reactive protein; CVD: cardiovascular disease; MDRD eGFR: Modification of Diet in Renal Disease Study Group estimated glomerular filtration rate formula; MPV: mean platelet volume; NLR: neutrophil-to-lymphocyte ratio.

According to univariate analysis, being older than 65 years old, having CVD history and infection related AKI, decreased level of serum albumin on admission and inotrope usage were “independent mortality predictors”. At discharge, increased level of WBC, uric acid level, NLR, MPV, lymphocyte count, CRP and serum creatinine levels as compared to baseline were independent mortality predictors (Figure-2).

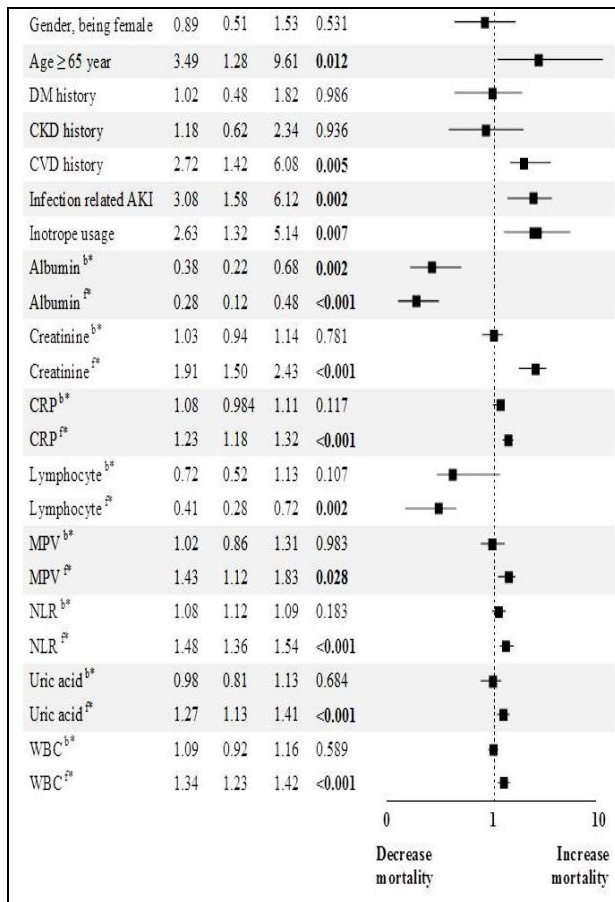


Figure-2. Univariate analysis of mortality predictors.

AKI: acute kidney injury, CI= lower and upper boundaries of 95% confidence interval, CKD: chronic kidney disease; CRP: C- reactive protein, mg/dL; CVD: cardiovascular disease; DM: diabetes mellitus; MPV: mean platelet volume, fL; NLR: neutrophil lymphocyte ratio, OR= odds ratio, WBC: white blood cell, 103/ μ L; Albumin, g/dL; creatinine, mg/dL; Lymphocyte, 103/ μ L; Uric acid, mg/dL; *b: measurement on hospital admission, f: last measurement before death or hospital discharge.

“Mutually adjusted multiple logistic regression analysis” was also performed with “significant mortality predictors of univariate analysis” as shown in figure 3. Increment in timely changed NLR and serum creatinine levels were independent mortality predictors in our AKI cohort (Figure-3).

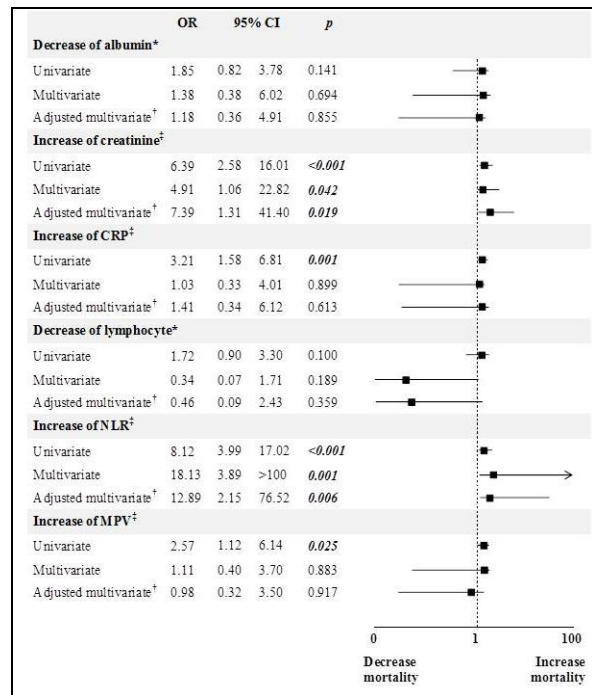


Figure-3. Mutually adjusted multiple logistic regression analysis of mortality predictors.

CI= lower and upper boundaries of 95% confidence interval, CKD: chronic kidney disease, CRP: C- reactive protein, MPV: mean platelet volume, NLR: neutrophil lymphocyte ratio, OR= odds ratio, Albumin, g/dL; Creatinine, mg/dL; CRP, mg/d L; Lymphocyte, .103/ mm^3 , MPV, fL. * reference to no change or increased †model was adjusted for age (< 65 years vs. \geq 65 years), having cardiovascular disease and having infection related acute kidney injury; these variable were found to be significant estimator of mortality in univariate logistic regression models (see figure 2) ‡reference to no change or decreased.

Nontraditional predictor of systemic inflammation, NLR, at the end of ICU course was independent predictor of mortality (HR: 1.48, CI 1.36-1.54; $p < 0.001$). To determine cut-off value for final NLR, ROC analysis was performed. Level of 9.90 point for final NLR has 73% sensitivity and 87% specificity. The value for final NLR level above the median (=10) was a significant mortality predictor as compared to value below (HR: 7.31, CI 3.36-15.91; $p < 0.001$). Timely changed NLR (Δ NLR) was significant (HR: 7.39, CI 3.58-12.88; $p < 0.001$) mortality predictor. Timely change in absolute NLR, even considered last to follow-up values were significantly associated with mortality. In infection related AKI group (n=118), timely changed NLR was also a significant mortality predictor (HR: 30.99, CI 1.13-4.16; $p = 0.019$) (Figure-4).

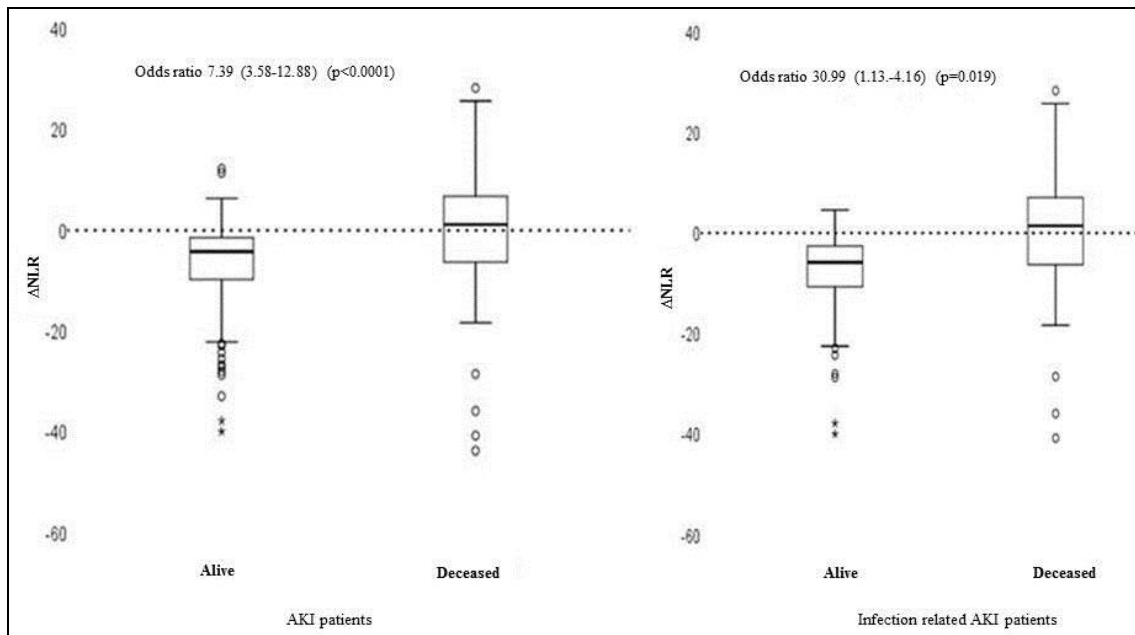


Figure-4. Timely changed NLR (Δ NLR) in study population.

Discussion

We conducted a retrospective analysis included 213 ICU admission due to acute kidney injury. This is the first study in literature evaluating the effects of NLR “predicting the outcome”, mainly evaluating mortality, in AKI population. As a result we have demonstrated that insulin required diabetes mellitus (2.18, 1.08-4.4; $p=0.030$, data not shown), infection related AKI, decreased albumin levels, CVD history inotrope usage and aging were mortality predictors. We also showed that, increment in serum creatinine level and timely changed NLR were also independent mortality predictors in “mutually adjusted multivariate logistic regression analysis”.

Incidence of AKI in worldwide is steadily increasing. AKI associates directly with longevity of hospital duration, patients’ increased rate of mortality and development or progression of preexistent kidney disease (9). Therefore, AKI has great socioeconomic and public health burden. Ischemia-reperfusion injury, sepsis and nephrotoxicity are the leading cause of this entity. Especially in elderly population, as in our cohort population, sepsis is the leading cause of all AKI cases (10-16).

After polytrauma, major surgical procedures or sepsis, marked neutrophilia and a lymphocytopenia are well known laboratory abnormalities. Correlation between the severity of clinical course and the grade of neutrophilia and lymphocytopenia is well established in clinical settings (17). Sepsis is the leading cause of AKI and carries high mortality rates. Increased generalized inflammation and inflammation in kidney during sepsis are not surprising. From that point of view it has been reported that the kidney endothelial cells and tubular cells play an active role in inflammatory process (18). Recent studies have

demonstrated that inflammation-based prognostic scores are useful in predicting cardiovascular risk. An easy measurable laboratory test, NLR, was also reported in various cardiovascular diseases. The association between NLR and mortality has been showed previously in coronary artery diseases, coronary calcification scores, arterial stiffness, myocardial infarction, cerebrovascular accidents and cardiac syndrome X (19-26). NLR was also examined in patients with renal failure. More recently increased NLR, above the median value, has been shown as a cardiovascular and overall mortality predictor in maintenance peritoneal dialysis patients (27). In hemodialysis patients NLR was also correlated patients’ mortality. Median value $>5/1$ was associated mortality significantly as compared to value $<5/1$ (28).

Final NLR and increment in timely changed NLR during hospital stay were significantly correlated with mortality. There was a steadily increment in NLR values compared to the ones pointed at baseline, final and last follow-up particularly in mortal patients. Indeed we observed that, there were lowest NLR value recordings in alive patients, as compared to value of deceased patients on admission. This seems to be important, NLR change during hospital course may be a screening tool for patients’ outcome. Above the median value, 10/1, as compared to value $<10/1$ was significantly better mortality predictor. ROC analysis revealed cut-off value for final NLR is 9.90 which had 73% sensitivity and 87% specificity. Change in NLR timely and change in percentage NLR as compared to baseline were also significant predictors of mortality. These were the first detected NLR values predicting mortality in AKI.

MPV and Lymphocyte count change during ICU course are the novel tools for predicting mortality (29,30). Our

study has also showed that final MPV and Lymphocyte counts were mortality predictors. Although this relationship has not reached a statistical significance in multivariate regression analysis, this might be clear in larger retrospective populations or prospective designs. Besides NLR, MPV and lymphocyte counts are also cheaper and easily measurable laboratory values which may reflect patients' outcome.

There are several limitations. This is the pilot study which is performed on retrospective cohort evaluating the impact of NLR on predicting the mortality rate in AKI. Single center experience which can result in selection bias is another point of view. Our institute has seven ICU affiliations such as Anesthesiology and Reanimation, Chest Disease, Cardiology, Cardiovascular Surgery, General Surgery and Emergency Department ICUs. Highly selected population, representing only internal medicine ICU admissions, were evaluated. Therefore, it is important to realize that our findings may not be applicable to all ICU patients suffering from AKI due to the other types of causes. We only considered the development of AKI on admission rather than the development of AKI later in the hospital course. Patients

were examined during ICU stay and until six months after hospital discharge. This scenario may represent the limited patients and time interval for analyzing outcome predictors of AKI. Under the scope of this point of view, we started the analysis of whole ICU population retrospectively and intend to prepare a prospective design in the future.

Conclusion

This is the first study evaluating NLR on patients' outcome in AKI population. Using NLR as a screening tool in AKI management may possess some advantages for clinicians. During the course of AKI, an alarming increase or lack of descent in NLR as compared to baseline, clinician should be focused on taking preventive modalities otherwise mortality is inevitable. NLR is the easily acceptable and cheap reliable marker for screening generalized systemic inflammation. Although it is necessary to evaluate NLR on more patients coming from other ICU departments in randomised controlled trials, we speculate that NLR can be a bedside alarm and a screening tool, for patients suffered from AKI.

References

1. Hoste EA, Clermont G, Kersten A. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: A cohort analysis. *Crit Care* 2006;10(3): R73.
2. Vallés PG, Lorenzo AG, Bocanegra V. Acute kidney injury: What part do toll-like receptors play? *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2014;19(7):241-5.
3. Powell TC, Powell SL, Allen BK. Association of inflammatory and endothelial cell activation biomarkers with acute kidney injury after sepsis. *Springerplus* 2014;28(3):207.
4. Wang X, Zhang G, Jiang X. Neutrophil to lymphocyte ratio in relation to risk of all-cause mortality and cardiovascular events among patients undergoing angiography or cardiac revascularization: A meta-analysis of observational studies. *Atherosclerosis* 2014;234(1):206-13.
5. Ouellet G, Malhotra R, Penne EL. Neutrophil-lymphocyte ratio as a novel predictor of survival in chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2016;85(4):191-8.
6. Bhat TM, Afari ME, Garcia LA. Neutrophil lymphocyte ratio in peripheral vascular disease: A review. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2016;14(7):871-5.
7. Dilektasli E, Inaba K, Haltmeier T. The prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio on mortality in critically ill trauma patients. *J Trauma Acute Care Surg* 2016;81(5):882-8.
8. KDIGO AKI Work Group: KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney Int* 2012;Suppl 2:1-138.
9. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: A new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Int Med* 1999;130(6):461-70.
10. Gammelager H, Christiansen CF, Johansen MB. Five-year risk of end stage renal disease among intensive care patients surviving dialysis- requiring acute kidney injury: A nationwide cohort study. *Crit Care* 2013;17(4):R145.
11. Levy MM, Fink MP, Marshall JC. 2001 CCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003;31(4):1250-6.
12. Lameire NH, Bagga A, Cruz D. Acute kidney injury: An increasing global concern. *Lancet* 2013;13(9887):170-9.
13. Cruz DN, Ronco C. Acute kidney injury in the intensive care unit: Current trends in incidence and outcome. *Crit Care* 2007;11(4):149.
14. Chronopoulos A, Rosner MH, Cruz DN. Acute kidney injury in elderly intensive care patients: A review. *Intensive Care Med* 2010;36(9):1454-64.
15. Bellomo R, Wan L, Langenberg C. Septic acute kidney injury: New concepts. *Nephron Exp Nephrol* 2008;109(4):e95-e100.
16. Bagshaw SM, Uchino S, Bellomo R. Septic acute kidney injury in critically ill patients: Clinical characteristics and outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007;2(3):431-9.
17. Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts--rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. *Bratisl Lek Listy* 2001;102(1):5-14.
18. Kinsey GR, Li L, Okusa MD. Inflammation in acute kidney injury. *Nephron Exp Nephrol* 2008;109(4):e102-7.

19. Celikbilek A, Ismailogullari S, Zararsiz G. Neutrophil to lymphocyte ratio predicts poor prognosis in ischemic cerebrovascular disease. *J Clin Lab Anal* 2014;28(1):27-31.
20. Sawant AC, Adhikari P, Narra SR. Neutrophil to lymphocyte ratio predicts short and long term mortality following revascularization therapy for ST elevation myocardial infarction. *Cardiol J* 2014;21(5):500-8.
21. Demirkol S, Balta S, Unlu M. Neutrophils/lymphocytes ratio in patients with cardiac syndrome X and its association with carotid intima-media thickness. *Clin Appl Thromb Hemost* 2014;20(3):250-5.
22. Park BJ, Shim JY, Lee HR. Relationship of neutrophil-lymphocyte ratio with arterial stiffness and coronary calcium score. *Clin Chim Acta* 2011;412(11-12):925-9.
23. Arbel Y, Finkelstein A, Halkin A. Neutrophil/lymphocyte ratio is related to the severity of coronary artery disease and clinical outcome in patient undergoing angiography. *Atherosclerosis* 2012;225(2):456-60.
24. Park JJ, Jang HJ, Oh IY. Prognostic value of neutrophil to lymphocyte ratio in patients presenting with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2013;111(5):636-42.
25. Papa A, Emdin M, Passino C. Predictive value of elevated neutrophil lymphocyte ratio on cardiac mortality in patients with stable coronary artery disease. *Clin Chim Acta* 2008;395(1-2):27-31.
26. Uthamalingam S, Patvardhan EA, Subramanian S. Utility of the neutrophil to lymphocyte ratio in predicting long-term outcomes in acute decompensated heart failure. *Am J Cardiol* 2011;107(3):433-8.
27. An X, Mao HP, Wei X. Elevated neutrophil to lymphocyte ratio predicts overall and cardiovascular mortality in maintenance peritoneal dialysis patients. *Int Urol Nephrol* 2012;44(5):1521-8.
28. Kato A, Tsuji T, Sakao Y. A Comparison of systemic inflammation-based prognostic scores in patients on regular hemodialysis. *Nephron Extra* 2013;3(1):91-100.
29. Hudzik B, Szkodziński J, Lekston A. Mean platelet volume-to-lymphocyte ratio: A novel marker of poor short- and long-term prognosis in patients with diabetes mellitus and acute myocardial infarction. *J Diabetes Complications* 2016;30(6):1097-102.
30. Liu X, Shen Y, Wang H. Prognostic significance of neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with sepsis: A prospective observational study. *Mediators Inflamm* 2016;24:8191254.

Hemofagositik lenfohistiyositoz hastalarında kraniyal MRG bulguları

Cranial MRI findings in hemophagocytic lymphohistiocytosis

Cenk Eraslan¹ Elçin Aydın² Eltan Maharramova¹ Akkız Şahin³ Hamiyet Hekimci Özdemir³
Deniz Yılmaz Karapınar³ Cem Çallı¹ Ömer Kitiş¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

Öz

Amaç: Hemofagositik lenfohistiyositoz (HLH) kontrolsüz immün yanıtı açan hiperinflamasyonla karakterize klinik bir sendromdur. Etiyolojiye bağlı primer ve sekonder olarak sınıflanmaktadır. Klinik bulguları arasında ateş, splenomegali, hepatit yer almaktadır. Tanı doku örneklenmesi ile konulur. Familial HLH'li hastaların santral sinir sistemi (SSS) tutulumu hastalığın prognozunu ve klinik gidişini olumsuz etkileyen bir faktördür. SSS tutulumunun bulguları; progresif ensefalopati, irritabilite, nöbet, kraniyal sinir paralizi, ataksi, nistagmus, yürüme ve görme bozukluğu, psikomotor gelişim geriliğidir. Bu çalışmada, SSS tutulumu olan 6 olgunun radyolojik görüntüleme bulgularını sunmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Bir-onbir yaş aralığında 6 hasta irritabilite, nöbet, ataksi, nistagmus, yürüme ve görme bozukluğu, psikomotor gelişim geriliği gibi nörolojik bulgularla hastanemize baş vurdu ve nörolojik muayene sonrasında kranyal manyetik rezonans görüntüleme (MRG) incelemesi gerçekleştirildi.

Bulgular: Hastalarımıza klinik ve laboratuvar değerlendirmeleri sonrasında yapılan kemik iliği biyopsisi ile HLH tanısı konuldu. Hastalarımızın tamamında SSS tutulumunu gösteren kraniyal MRG bulguları saptandı. MRG incelemesinde T2 ağırlıklı ve FLAIR sekanslarında serebral hemisferlerde hiperintens odaklar ve postkontrast serilerde patolojik kontrastlanma ortak bulgular olarak belirlendi.

Sonuç: HLH hastalığının santral sinir sistemi tutulumu yüksek mortalite ve morbidite ile seyretmektedir. Kraniyal MRG SSS tutulumunu göstermede önemli rol oynamaktadır.

Anahtar Sözcükler: Hemofagositik lenfohistiyositoz, manyetik rezonans görüntüleme, santral sinir sistemi, immün.

Abstract

Aim: Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) is a clinical syndrome characterized by hyperinflammation causing uncontrolled immune response. It is classified as primary and secondary according to etiology. Fever, splenomegaly, hepatitis are among the clinical findings. The diagnosis is made with tissue sampling. The central nervous system (CNS) involvement of familial HLH patients is a factor that affects the prognosis and course of the disease. The findings of CNS involvement include progressive encephalopathy, irritability, attack, cranial nerve paralysis, ataxy, nistagmus, walking and visual impairment, psychomotor development deficiency. In this study, we aimed at presenting the radiologic imaging findings of 6 cases with CNS involvement.

Materials and Methods: Six patients between the ages of 1-11 years applied to our hospital with neurological findings such as irritability, attack, cranial nerve paralysis, ataxy, nistagmus, walking and visual impairment, psychomotor development deficiency. Following the neurological examination, the cranial magnetic resonance imaging (MRI) examination was conducted.

Results: HLH diagnosis was made through bone marrow biopsy after clinical and laboratory evaluations. Cranial MRI findings indicating CNS involvement were observed in all of our patients. Hyperintense foci in cerebral hemispheres and pathological contrast enhancement in postcontrast series were defined in T2 and FLAIR sequences in MRI examination.

Yazışma Adresi: Cenk Eraslan

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 04.09.2016 Kabul Tarihi: 12.12.2016

Conclusion: *The central nervous system involvement of HLH disease is observed with high mortality and morbidity. Cranial MRI plays a significant role in revealing CNS involvement.*

Keywords: *Hemophagocytic lymphohistiocytosis, magnetic resonance imaging, central nervous system, immune.*

Giriş

Hemofagositik lenfohistiyositoz (HLH) sitotoksik T-lenfositler ve *natural killer* (NK) hücrelerin fonksiyonlarında bozulma, makrofaj ve T-lenfositlerin aktivasyonu, proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi ve hemofagositoz sonucu ateş, hepatosplenomegali ve sitopeni ile karakterize hematolojik bir hastalıktır. HLH genetik ve akkiz olmak üzere iki farklı gruba ayrılır. Primer (familiyal) hemofagositik lenfohistiyositoz, otozomal resesif olarak kalıtılmakta ve 50.000 canlı doğumda bir görülmektedir. Primer formu erken infantlarda görülmekte olup ölümcüldür. Sekonder formu ise enfeksiyona ya da maligniteye bağlı olarak ortaya çıkabilir. Enfeksiyona sekonder olan formunun tedavisinde kemoterapi ve/veya immünsüpresif ajanlar kullanılmaktadır (1,2).

HLH hastalarında santral sinir sistemi (SSS) etkilenmesi %10-73 oranında görülmektedir. Başlıca nörolojik semptomlar; huzursuzluk, kraniyal sinir etkilenmesi, bilinç değişiklikleri, konvülsiyon ve komadır. Histopatolojik olarak etkilenme leptomeningeal bölgeden başlar, perivasküler infiltrasyon, özellikle beyaz cevheri etkileyen astrositik proliferasyon ve sonrasında gelişen nekroz alanları ve fokal demyelinizasyon ile devam eder (1,3). Nörolojik bulguları olan HLH hastalarının radyolojik değerlendirmesi hastalığın tutulumunun saptanmasında önemli rol oynamaktadır.

Bu makalede Ege Üniversitesi Hastanesi pediatrik hematoloji kliniği tarafından izlenen, kemik iliği biyopsisi ile HLH tanısı almış hastalardan, SSS tutulumu radyolojik ve sitopatolojik olarak saptanmış olanlarının kraniyal manyetik rezonans görüntüleme (MRG) bulgularını retrospektif olarak tartışmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Ege Üniversitesi Hastanesi'nde kemik iliği biyopsisi ile HLH tanısı konmuş hastalardan nörolojik tutulum semptomları olan, radyolojik olarak SSS tutulumu düşünülen ve lomber ponksiyon ile SSS tutulumu teyit edilmiş 6 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların yaşı, cinsiyeti, tanı aldığı dönemdeki yaşı, multisistemik muayene ve nörolojik semptom/bulguları kaydedildi. Tüm hastaların 1.5 Tesla MRG cihazı (Magnetom Vision, Siemens, Erlangen, Germany) ile kafa sarmalı kullanılarak elde olunmuş kraniyal MRG tetkikleri incelendi. Hastaların aksiyel-sagittal planda alınmış T1 ağırlıklı (T1-A) prekontrast, aksiyel-sagittal-koronal

planda alınmış postkontrast T1 A, aksiyel T2 ağırlıklı (T2-A), koronal FLAIR sekansları ve difüzyon MRG tetkikleri retrospektif olarak nöroradyolog tarafından değerlendirildi. Tüm hastaların HLH SSS tutulumu şüphesiyle gerçekleştirilmiş ve tutulum ile uyumlu bulgular saptanmış kraniyal MRG sonrası 1-6. gün içerisindeki dönemde yapılan lomber ponksiyon işleminde elde olunan BOS (Beyin omurilik sıvısı) sitopatolojik incelemelerinde, mononükleer hücre ve protein artışı tespit edilmişti.

Tüm hastalar 18 yaşının altında olduğundan, hasta yakınları çalışma hakkında bilgilendirilerek ve imzalı onayları alındı.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 6 hastanın tümü kız olup yaşları 1 ile 11 yıl arasında değişmekteydi. Hastaların ortalama yaşı 4 idi. Hastaların tanı aldıkları dönemdeki yaşları ise 8 ay ile 10 yaş arasında değişmekteydi. Hastalarda en sık izlenen semptomların ateş yüksekliği ve bilinç değişiklikleri olduğu; nistagmus, ataksi ve papil ödemin de daha nadir olarak izlendiği saptandı. MRG bulguları arasında ise tüm hastalarda her iki serebral hemisfer derin beyaz cevherde T2A-FLAIR sekanslarda yaygın hiperintens alanlar izlenmiş olup bazı hastalarda benzer patolojik sinyal intensite değişikliklerinin bazal ganglionlar düzeyinde de izlendiği görüldü. Postkontrast serilerde hastaların 3'ünde patolojik kontrastlanmanın beyaz cevher lezyonlarına eşlik ettiği görüldü (Resim-1). Bir hastada akut iskemi bulgularının da diğer SSS tutulum bulgularına ek olarak geliştiği izlendi.

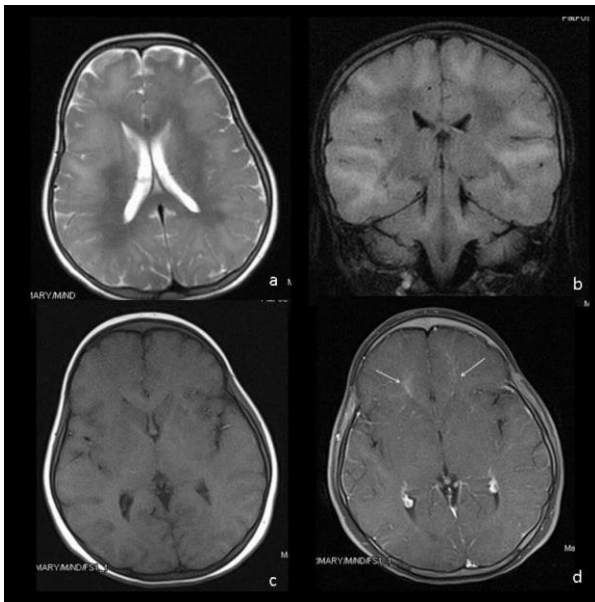
Hastaların tümünde takipte gelişen nörolojik bulgular ve tanımlanan SSS tutulumunu düşündürür bulgular saptanması sonrasında lomber ponksiyon uygulandı. BOS sitopatolojik ve biyokimyasal incelemelerinde tüm hastalarda mononükleer hücre artışı izlendi. 4 hastada BOS proteininde artış vardı. Bulgular patolojik inceleme sonucunda primer hastalık infiltrasyonu ile uyumlu bulundu.

Tedavide intratekal metotreksat ve bazı hastalarda etoposid uygulandı. Hastaların 5'ine kemik iliği transplantasyonu uygulanırken, 1 hasta remisyona girmedi ve kaybedildi.

Hastaların demografik ve klinik özellikleri ile kullanılan tedavi ve MRG bulguları Tablo-1'de gösterilmektedir.

Tablo-1. Kemik iliği Transplantasyonu (KI Transp).

Hasta No	Yaş / Cinsiyet	Tanı yaşı	Semptom	MRG Bulgusu	Tedavi	Klinik Seyri
1	1 yaş/K	8 ay	Nöromotor gelişim geriliği Bilinç bulanıklığı	Bilateral serebral hemisfer derin beyaz cevherde T2A-FLAIR sinyal intensite artımı Bilateral parietookspital bölgede patolojik kontrastlanma	Intratekal metotreksat Prednizolon KI transp.	İyi
2	2 yaş/K	1 yaş	Dirençli ateş Bilinç bulanıklığı Ataksi Nistagmus	Bilateral serebral hemisfer derin beyaz cevherde T2A-FLAIR sinyal intensite artımı Leptomeningeal yapılarda patolojik kontrastlanma Sağ serebral hemisfer frontal ve parietal lobda akut iskemi alanları	Etoposid KI transp.	İyi
3	2,5 yaş/K	2 yaş	Dirençli ateş Bilinç bulanıklığı	Bilateral serebral hemisfer subkortikal alanda T2A-FLAIR hiperintens patolojik kontrastlanma gösteren nodüler odaklar	Intratekal metotreksat KI transp.	İyi
4	7 yaş/K	5 yaş	Dirençli ateş Bilinç değişikliği	Bilateral serebral hemisfer subkortikal beyaz cevher ve bilateral bazal ganglionlar düzeyinde T2A-FLAIR sinyal intensite artımı	Intratekal metotreksat KI transp.	İyi
5	10 yaş/K	8 yaş	Bilinç bulanıklığı Nistagmus	Bilateral serebral hemisfer periventriküler beyaz cevherde nodüler T2A-FLAIR hiperintens odaklar	Etoposid KI transp.	İyi
6	11 yaş/K	10 yaş	Bilinç bulanıklığı Papil ödem	Her iki serebral hemisferde subkortikal beyaz cevherde T2A-FLAIR sinyal intensite artımı Bilateral globus palliduslarda T2A-FLAIR hiperintens odaklar	Etoposid IVIG	Ölüm



Resim-1. HLH tanılı 11 yaşında kız hasta. T2 aksiyel (a) ve FLAIR koronal (b) kesitlerde HLH santral sinir sistemi tutulumu ile uyumlu serebral parankimal sinyal intensite değişiklikleri izleniyor. Pre-kontrast (c) ve post-kontrast (d) aksiyel T1 kesitlerde bu alanlarda patolojik kontrastlanma artışları seçiliyor (ok).

Tartışma

Hemofagositik lenfositik (HLH) ateş, hepatosplenomegali ve sitopeni ile karakterize bir hastalık olması yanı sıra nörolojik tutulum da gösterebilmektedir. Nörolojik bulgular değişken olmakla birlikte sıklıkla görülebilenler; irritabilite, ense sertliği, konvülsiyon, kranial sinir paralizisi, ataksi, hemipleji ve bilinç kaybıdır (3,4). Henter ve ark. (3) yaptığı çalışmada HLH tanılı 23 hastanın postmortem nöropatolojik incelemesinde; makroskopik olarak sıklıkla beyinde normal ya da ödemle uyumlu görünüm izlenmiştir. Birkaç vakada ise dokuda yumuşama ve destruksiyon sahaları göze çarpmıştır. Mikroskopik olarak normalden ileri etkilenmeye dek değişken oranlarda tutulum saptanmıştır. Meninkslerin lenfosit, histiyosit/makrofajlarla infiltrasyonu, perivasküler alanda infiltrasyon, parankim infiltrasyonu ve multifokal nekroz alanları sırasıyla etkilenme derecesine göre olan bulgulardır. Hastaların nörolojik semptomları ise hipotonisite, şişkin fontanel, ense sertliği, konvülsiyon, psikomotor retardasyon ve bilinç kaybı şeklinde olabilir. Beyin omurilik sıvısının (BOS) analizi artmış protein içeriği ve mononükleer hücre varlığı ile faydalı olabilir (3). Hastalarımızda da en sık görülen bulgu ateş yüksekliği

ve bilinç bulanıklığı idi. Tümünün BOS analizlerinde mononükleer hücre artışı ve çoğunda protein artışı gözlemlendi.

HLH hastalarının nörolojik tutulumlarının belirlenmesinde MRG önemli bir role sahiptir. MRG ile yapılan çalışmalarda; gri ve beyaz maddedeki anormal sinyal, serebral hacim kaybına bağlı ventriküllerde genişleme ve ekstraaksiyel mesafede artış, hidrosefali, atrofi, dilate subdural alanlar, kalsifikasyon ve nekroz nörolojik tutulumda gözlenebilen bulgulardır (5-7). T2-A ve FLAIR sekanslarında yüksek sinyal özelliği gösteren alanlar lenfosit ve histiyosit infiltr ettiği beyin parankim alanları veya demyelinizasyon ile uyumlu bulunmuştur (5). Kontrastlı kesitlerde meninklerde izlenen kontrastlanma ise lenfosit ve histiyositlerin leptomeninkleri infiltrasyonu sonucu oluşmaktadır (5). HLH'ye bağlı SSS tutulumunun kontrolü geri dönüşümsüz olan nörolojik sekellerden korunmada en önemli faktördür (5,8). Özdemir ve arkadaşlarının sunduğu vakada MR spektroskopide tutulan beyaz cevherde laktat zirvesi izlenmiştir (9). Hastalarımızda MRG'de izlediğimiz ve hastalık tutulumu olarak değerlendirdiğimiz en sık bulgumuz T2-A ve FLAIR sekanslarında yüksek sinyal özelliği gösteren alanlardı. Bazı hastalarımızda postkontrast incelemede tutulum izlenen alanlarda kontrastlanma ve bazılarında ise leptomeningeal tutulumu gösteren kontrastlanma saptandı.

HLH hastalarında tedavisiz mortalite oldukça yüksek görülmektedir, bu hastalıkta erken tanı konulması, kemoterapi ve immünsüpresif tedavi verilmesi, hastalar remisyona girer girmez hematopoetik kök hücre nakli yapılması sağ kalımı arttırmaktadır. Tedavi olarak siklosporin-A yanısıra intratekal tedavide prednizolon ve metotreksat kullanımı yaygın olarak uygulanmaktadır. Sekiz haftalık başlangıç tedavisinin ardından Familial Hemofagositik Lenfositik histiyozis hastaları ya da sekonder HLH olup dirençli seyreden veya yeniden aktive olan hastalarda tedaviye devam edilmesi, uygun

donör bulunur bulunmaz hematopoetik kök hücre nakli yapılması önerilmektedir. Ailesel olmayan vakalarda ise iyileşme sağlanırsa, sekiz haftalık başlangıç tedavisi sonrasında tedavi kesilmeli ve hasta izlenmelidir. Sekonder HLH olgularında immün aktivasyona yol açan nedenin ortadan kaldırılması tedavi başarısını arttırmaktadır. Bugün için primer HLH'de kür sağlayan tedavi, kemoterapi ile hastada remisyona elde edildikten sonra allojenik hematopoetik kök hücre nakli yapılmasıdır (10-12). Hematopoetik kök hücre nakli yapıldığı sırada hastalık aktif ise sağ kalım daha düşüktür bu nedenle kemoterapötik tedavi ile hastalık kontrol altına alındıktan sonra hematopoetik kök hücre nakli yapılması önerilmektedir (10-12). Hastalık prognozu başlangıç yaşı ile ters orantılı olup, çok erken başlangıçlı vakalarda (<6 ay) mortalite daha yüksektir. SSS tutulumu da prognoz üzerine olumsuz etkisi olan faktörlerin başında gelmektedir (10,13). Hastalarımızın hepsine kemoterapötik ajanlarla tedavi uygulanmıştır. Bu tedavi ile remisyona giren 5 hastamızda ise kemik iliği transplantasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu hastaların izleminde de hastalığın remisyonda olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Hasta sayımızın az olması bunların başında yer almaktadır. Çalışmamızda elde ettiğimiz radyolojik bulgular literatürdeki verilerle örtüşmektedir.

Sonuç

HLH hastalarında santral sinir sistemi tutulumu nadir görülmekte ancak yüksek mortalite ve morbidite ile seyretmektedir. Çalışmamız sonuçlarına göre kranyal MRG bu hastaların tanısında önemli bir tanısal araç olup nörolojik semptomları olan hastaların kranyal MRG tetkikinde tanımlanan bazı bulgular hastalığın SSS tutulumunu göstermede oldukça başarılıdır. Bu konuda daha geniş serilerle yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynaklar

1. Ozgen B, Karli-Oguz K, Tavit B, Gurgey A. Diffusion-weighted cranial MR. Imaging findings in a patient with hemophagocytic syndrome AJNR 2006; 27(6):1312-14.
2. Henter JI, Elinder G, Ost A. Diagnostic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis: The FHL Study Group of the Histiocyte Society. Semin Oncol 1991;18(1):29-33.
3. Henter JI, Nennesmo I. Neuropathologic findings and neurologic symptoms in twenty-three children with hemophagocytic lymphohistiocytosis. J Pediatr 1997;130(3):358-65.
4. Balcı YI, Özgürler Akpınar F, Polat A, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis case with newly defined UNC13D (c.175G>C; p.Ala59Pro) mutation and a rare complication. Turk J Haematol 2015;32(4):355-8.
5. Yang S, Zhang L, Jia C, Ma H, Henter J-I, Shen K. Frequency and development of CNS involvement in Chinese children with hemophagocytic lymphohistiocytosis. Pediatr Blood Cancer 2010; 54(3):408-15.
6. Haddad E, Sulis ML, Jabado N. Frequency and severity of central nervous system lesions in hemophagocytic lymphohistiocytosis. Blood 1997;89(3):794-800.
7. Goo HW, Weon YC. A spectrum of neuroradiological findings in children with haemophagocytic lymphohistiocytosis. Pediatr Radiol 2007; 37(11):110-7.

8. Ouachée-Chardin M, Elie C, de Saint Basile G, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in hemophagocytic lymphohistiocytosis: A single center report of 48 patients. *Pediatrics* 2006;117(4):743-50.
9. Özdemir MA, Torun YA, Yıkılmaz A, Karakükcü M, Çoban D. Hemofagositik lenfohistiositozda kranial MR ve proton MR spektroskopisi bulguları. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2006;49(4): 307-11.
10. Beken B. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Hematoloji Ünitesinde izlenen familial hamofagositik lenfohistiositoz hastalarının değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi 2013.
11. Blanche S, Caniglia M, Girault D, et al. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis with chemotherapy and bone marrow transplantation: A single center study of 22 cases. *Blood* 1991;78(1):51-4.
12. Nespoli L, Locatelli F, Bonetti F, et al. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis treated with allogeneic bone marrow transplantation. *Bone marrow transplant* 1991;7(Suppl 3):139-42.
13. Aricò M, Janka G, Fischer A, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis. Report of 122 children from the International Registry. FHL Study Group of the Histiocyte Society. *Leukemia* 1996;10(2):197-201.

Comparison of anterior segment parameters between pediatric and adult keratoconus groups

Pediyatrik ve erişkin keratokonus gruplarında ön segment parametrelerinin karşılaştırılması

İbrahim Toprak¹

Cem Yıldırım²

Volkan Yaylalı²

¹Servegazi State Hospital, Clinic of Ophthalmology, Denizli, Turkey

²Pamukkale University Faculty of Medicine, Department of Ophthalmology, Denizli, Turkey

Abstract

Aim: To determine differences in anterior segment measurements between pediatric and adult keratoconus groups using Scheimpflug imaging system.

Materials and Methods: This retrospective study included 133 patients with keratoconus and 101 healthy controls. Subjects were grouped as pediatric and adult. Differences in anterior chamber depth (ACD), anterior chamber volume (ACV), anterior chamber angle (ACA), pachymetry, corneal volume (CV) and maximum keratometry (Kmax) were sought between the age-based subgroups.

Results: Right eyes of the 133 keratoconus patients (56 pediatrics and 77 adults) and 101 healthy controls (41 pediatrics and 60 adults) were reviewed. Pediatric subgroups had significantly higher ACD and ACV compared to those of the adult subgroups in both groups ($p<0.05$). On the other hand, pediatric and adult keratoconus patients had significantly higher ACD than in the age (subgroup) matched controls ($p<0.05$). In the pediatric keratoconus subgroup, eyes with stage 3 keratoconus had significantly deeper ACD than in the eyes with stage 2 keratoconus ($p<0.05$). However, in the adult group, only corneal parameters were significantly lower in eyes with stage 3 keratoconus compared to those of the eyes with stage 2 keratoconus ($p<0.05$).

Conclusion: Anterior chamber measurements appear to be altered by aging in both keratoconus and control groups, whereas eyes with keratoconus in all age subgroups appear to have a deeper AC than in the age-matched normals. Moreover, an increase in ACD in pediatric keratoconus might be indicative of progression. However, in the adult keratoconus, corneal parameters appear to decrease with keratoconus progression.

Keywords: Age, anterior segment, keratoconus, pediatrics, scheimpflug.

Öz

Amaç: Scheimpflug görüntüleme sistemi kullanarak, pediyatrik ve erişkin keratokonus grupları arasındaki ön segment ölçümlerindeki farklılıkları belirlemek.

Gereç ve Yöntem: Retrospektif özellikteki bu çalışmaya 133 keratokonuslu hasta ve 101 sağlıklı kontrol olgusu dâhil edildi. Olgular pediyatrik ve erişkin olmak üzere gruplandı. Ön kamara derinliği (ÖKD), ön kamara hacmi (ÖKH), ön kamara açısı (ÖKA), pakimetri, kornea hacmi (KH) ve maksimum keratometri (Kmaks) değerleri arasındaki farklılıklar bakımından yaş alt grupları karşılaştırıldı.

Bulgular: Yüz otuz üç keratokonuslu hastanın (56 pediyatrik ve 77 erişkin) ve 101 sağlıklı olgunun (41 pediyatrik ve 60 erişkin) sağ gözleri incelendi. Her iki grupta, pediyatrik olgular erişkin grup ile karşılaştırıldığında daha yüksek ÖKD ve ÖKV değerlerine sahipti ($p<0.05$). Diğer taraftan, keratokonuslu pediyatrik ve erişkin olguların yaş-eleştirmeli sağlıklı kontrol olgularına kıyasla daha yüksek ÖKD değerine sahip olduğu görüldü ($p<0.05$). Pediyatrik grupta, evre 3 keratokonuslu olgular evre 2 keratokonuslu olgulara göre daha yüksek ÖKD değerine sahipti ($p<0.05$). Erişkin grupta ise evre 3 keratokonuslu hastaların evre 2 keratokonuslu hastalara göre daha düşük korneal ölçüm değerlerine sahip olduğu saptandı ($p<0.05$).

Corresponding Author: İbrahim Toprak

Servegazi State Hospital, Clinic of Ophthalmology, Denizli, Turkey

Received: 30.08.2016

Accepted: 08.12.2016

Sonuç: Keratokonus ve kontrol gruplarında yaşla beraber ön kamara parametrelerinin değiştiği görülmektedir. Ancak, tüm yaş gruplarında keratokonuslu gözlerin yaş-eşleştirmeli sağlıklı kontrollere göre daha derin ön kamaraya sahip olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca, pediatrik keratokonus olgularında ÖKD değerindeki artma ilerleme açısından işaret edici olabilir. Diğer taraftan, erişkin keratokonus olgularında hastalık ilerlemesi ile sadece korneal parametre değerlerinin azaldığı görüşündeyiz.

Anahtar Sözcükler: Keratokonus, ön segment, pediatrik, scheimpflug, yaş.

Introduction

Keratoconus is a non-inflammatory progressive corneal disease characterized by apical protrusion and stromal thinning (1). Environmental and genetic factors play role in the pathogenesis and the disease begins at puberty (1). However, clinical manifestation of keratoconus takes time and diagnosis is generally established in early adulthood. Most of the early cases are detected during the preoperative examinations prior to the refractive surgery over 18 years of age. It is well known that pediatric keratoconus has tendency to progress rapidly and corneal transplantation is generally required in 20% of the patients (1-3). Fortunately, corneal collagen cross-linking (CXL) treatment provides promising visual and topographical improvement in patients with progressive keratoconus (2-5).

Visual deterioration in pediatric age group should be carefully evaluated and a comprehensive ophthalmological examination is needed. Keratoconus should be kept in mind as an important etiology in pediatric patients with myopia and astigmatism. In moderate to advanced keratoconus, typical clinical signs such as stromal thinning, *Fleischer's* ring, *Munson's* sign, *Rizzuti's* phenomenon and scissoring reflex on dilated retinoscopy help for the accurate diagnosis. However, in early keratoconus, new technology anterior segment imaging devices provide valuable anterior segment data for the diagnosis (6-8).

The *Scheimpflug* imaging system has ability of taking high quality slit images of the anterior segment structures from anterior surface of the cornea to the posterior of the lens using a 360° rotating camera. This technology provides quantitative data for anterior chamber and lens, corneal curvature, anterior and posterior elevation, corneal pachymetry and corneal volume (6-8).

In the current literature, there are studies comparing *Scheimpflug* parameters between eyes with keratoconus and healthy controls in adult population, whereas there is limited data regarding anterior segment features of eyes with keratoconus in pediatric age group (9,10). In the current study, we performed an age-based comparison (as *pediatrics* and *adults*) in terms of anterior segment measurements obtained from the *Scheimpflug* imaging system (anterior chamber parameters, corneal thicknesses, corneal volume and

maximum keratometry [Kmax]) between patients with keratoconus and healthy subjects.

Materials and Methods

This study followed the tenets of the *Declaration of Helsinki* and *Local Ethics Committee* approved the methodology. We retrospectively reviewed the records of 133 right eyes of 133 patients with a confirmed diagnosis of keratoconus (keratoconus group) and 101 right eyes of 101 healthy controls (control group) aged between 10-40 years. Both keratoconus and control groups were divided into two age subgroups as *pediatric* (age < 18 years) and *adult* (age ≥ 18 years). In the keratoconus group, age subgroups were matched with each other in terms of gender and keratoconus stage.

Inclusion criteria for the keratoconus group were biomicroscopic examination and corneal topography consistent with keratoconus according to the criteria of *Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus Study Group*, (11) inferior-superior (I-S) keratometric asymmetry >1.5, skewing of the steepest radial axes above and below the horizontal meridian, stromal thinning, *Fleischer's* ring, *Munson's* sign, *Rizzuti's* phenomenon and scissoring reflex on dilated retinoscopy.

The control group consisted of age- and gender-matched healthy subjects with normal ophthalmological examination and corneal topography (except regular astigmatism, if any).

Eyes with subclinical or form fruste keratoconus, history of prior corneal surgery, trauma or scarring were excluded from the study.

In the keratoconus group, disease severity was graded according to the *Amsler-Krumeich Classification System* (12) as follows;

Stage 1: Eccentric steepening; myopia, induced astigmatism, or both <5.00 D; mean central K < 48 D

Stage 2: Myopia, induced astigmatism, or both from 5.00 to 8.00 D; mean central K readings < 53.00 D; absence of scarring; corneal thickness >400 microns

Stage 3: Myopia, induced astigmatism, or both from 8.00 to 10.00 D; mean central K readings >53.00 D, absence of scarring; corneal thickness 300 – 400 microns

Stage 4: Refraction not measurable; mean central K readings >55.00 D; central corneal scarring, corneal thickness < 200 microns

All patients underwent detailed ophthalmological examinations included best corrected distance visual acuity (CDVA, including contact lens) measurement with Snellen charts, slit-lamp biomicroscopic examination, applanation tonometry, dilated fundus examination (with +90 D lens) and retinoscopy. Eyes with *stage 4* keratoconus were not included into the study to prevent potential effect of corneal scarring on the *Scheimpflug* measurements.

Scheimpflug imaging

A single experienced technician performed the anterior segment measurements using the *Oculus Pentacam* (Oculus Optikgerate GmbH, Wetzlar, Germany). Images were captured in automatic mode under scotopic conditions with undilated pupils. A single test with the highest quality score (over 95%) was used for the statistical analysis.

Anterior chamber depth (ACD, distance from the corneal endothelium to the anterior lens surface with undilated pupil along the optical axis), anterior chamber volume (ACV, calculated from the corneal endothelium to the anterior lens surface with undilated pupil in a 12 mm diameter around the corneal apex), anterior chamber angle (ACA), pupil-center pachymetry, apical pachymetry, thinnest pachymetry, corneal volume (CV) and Kmax were obtained for each eye.

The differences in *Scheimpflug* measurements between *pediatric* and *adult* subgroups were investigated within the keratoconus and control groups separately. *Pediatric vs. pediatric* and *adult vs. adult* comparisons were also performed regarding the *Scheimpflug* parameters between the keratoconus and control groups. Moreover, in each keratoconus subgroup (*pediatric and adult*), we sought for differences in the *Scheimpflug* measurements based on the *keratoconus stage*.

Statistical analysis

The sample size in this study was calculated using the PASS software version 11.0.1 (NSCC, LLC, Utah, USA). Statistical analysis was performed with the *Statistical Package for Social Sciences* software version 16.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Results were expressed as mean \pm standard deviation (SD). The differences in gender and keratoconus stage between the two age subgroups were analyzed using the *Chi Square* test. An *independent samples t test* was used to analyze the differences regarding quantitative variables (*Scheimpflug* system measurements) between the *pediatric* and *adult* subgroups in the keratoconus and control groups.

However, a *Mann-Whitney U test* (nonparametric) or an *independent samples t test* (parametric) was performed to compare two independent subgroups [*Pediatric vs. pediatric and adult vs. adult* comparisons (keratoconus vs. control groups), and comparisons between eyes with *stage 2 and 3* keratoconus] in terms of quantitative variables (*Scheimpflug* parameters).

Pearson correlation coefficients were used to analyze relations between *age* and *Scheimpflug* parameters. A *p* value less than 0.05 was considered statistically significant at 95 % confidence interval.

Results

This study involved 133 patients with confirmed keratoconus (keratoconus group, 56 *pediatrics* and 77 *adults*) and 101 age-and gender-matched healthy controls (control group, 41 *pediatrics* and 60 *adults*). Table-1 presents age, gender distribution and *Scheimpflug* measurements between the keratoconus and control groups. The keratoconus group consisted of only eyes with *stage 2* (n=61) and *stage 3* (n=72) keratoconus.

In the keratoconus group, age-based analysis showed that the *pediatric* subgroup had significantly higher ACD and ACV values when compared to those of the *adult* subgroup (Table-2, $p < 0.001$, $p = 0.011$, respectively). Similarly, in the control group, ACD and ACV values were significantly higher in the *pediatric* subgroup than in the *adults* (Table-2, $p = 0.002$, $p < 0.001$, respectively). Table-2 shows comparisons for the *Scheimpflug* parameters within the keratoconus and control groups based on the age subgroups.

Furthermore, *pediatric* patients with keratoconus had higher ACD than in the healthy *pediatrics* (3.60 ± 0.33 vs. 3.43 ± 0.36 mm, respectively, $p = 0.020$). Similarly, *adult* patients with keratoconus had higher ACD (3.39 ± 0.30 vs. 3.22 ± 0.28 mm, respectively, $p = 0.001$), and lower ACA (37.9 ± 6.2 vs. 40.1 ± 5.2 degrees, respectively, $p = 0.031$) values than in the healthy *adults*.

As expected, all keratoconus subgroups had significantly higher Kmax, and lower corneal pachymetry and corneal volume compared to those of the healthy age-based subgroups ($p < 0.001$).

In the keratoconus group, there were no statistically significant differences in terms of gender, keratoconus severity (based on the *Amsler-Krumeich Classification System*), corneal thicknesses, corneal volume and Kmax between the *pediatric* and *adult* subgroups ($p > 0.05$).

Table-1. Age, Gender Distribution and *Scheimpflug* Measurements Between The Keratoconus and Control Groups.

Variables	Keratoconus group (n= 133)	Control group (n= 101)	p
Age (years)	23.4±7.6	23.7±7.6	0.841 ^a
Gender (M/F)	72/61	53/48	0.895 ^b
ACV (mm ³)	218.3±36.6	213.3±39	0.649 ^a
ACD (mm)	3.4±0.33	3.3±0.34	< 0.001^a
ACA (degrees)	38.9±6.7	41.1±6.5	0.015^a
Pupil center pachymetry (microns)	480.6±43.2	566.3±29.3	< 0.001^a
Apical pachymetry (microns)	475.5±44.8	566.6±29.0	< 0.001^a
Thinnest pachymetry (microns)	465.7±45.2	563.2±29.1	< 0.001^a
CV (mm ³)	57.3±4.1	61.7±3.1	< 0.001^a
Kmax (D)	54.3±5.0	44.8±1.4	< 0.001^a

ACA: Anterior chamber angle; ACD: Anterior chamber depth; ACV: Anterior chamber volume; CV: Corneal volume; Kmax: Maximum keratometry
Values were presented as mean ± SD (standard deviation); p< 0.05, bold and italic values indicate statistical significance

^aIndependent samples t test

^bChi Square test

Table-2. Comparison of the *Scheimpflug* Measurements Based on Age Subgroups Within the Keratoconus and Control Groups.

Variables	Keratoconus group		p ^a	Control group		p ^a
	Pediatric subgroup (n=56)	Adult subgroup (n=77)		Pediatric subgroup (n=41)	Adult subgroup (n=60)	
ACV (mm ³)	227.7±37.6	211.9±34.3	0.011	232.9±40.9	204.5±33.4	<0.001
ACD (mm)	3.60±0.33	3.39±0.30	<0.001	3.43±0.36	3.22±0.29	0.002
ACA, degrees	40.3±7.2	37.9±6.2	0.052	42.5±7.8	40.1±5.2	0.095
Pupil center pachymetry (microns)	485.3±49.8	477.2±36.8	0.284	563.6±34.9	567.2±24.9	0.537
Apical pachymetry (microns)	479.5±50.7	472.6±40.1	0.383	564.1±34.5	568.3±24.7	0.502
Thinnest pachymetry (microns)	471.5±52.0	461.5±39.3	0.210	560.7±34.6	564.9±24.9	0.507
CV (mm ³)	58.1±4.7	56.8±3.4	0.098	61.8±3.3	61.6±2.9	0.854
Kmax (D)	54.4±5.3	54.2±4.6	0.892	44.7±1.3	44.8±1.4	0.707

ACA: Anterior chamber angle; ACD: Anterior chamber depth; ACV: Anterior chamber volume; CV: Corneal volume; Kmax: Maximum keratometry
Values were presented as mean ± SD (standard deviation); p< 0.05, bold and italic values indicate statistical significance

^aIndependent samples t test

The *Scheimpflug* measurements were also compared according to the *keratoconus stage* within the each age-based subgroup (*pediatric* and *adult*). In the *pediatric* subgroup, ACD was significantly higher in eyes with *stage 3* keratoconus (n=30) than in the eyes with *stage 2* keratoconus (n=26) (p=0.045). In the *adult* subgroup, AC parameters did not change between the eyes with *stage 2* (n=35) and *stage 3* (n=42) keratoconus, whereas eyes with *stage 3* keratoconus had lower corneal thicknesses (p<0.001) and CV (p=0.006) than in the eyes with *stage 2* keratoconus. Figure 1, Figure 2 and Figure 3 present the comparisons of the *Scheimpflug* AC parameters based on the keratoconus stage in each age subgroup.

In the keratoconus group, correlation analysis revealed a significant negative relation between age and AC parameters (ACD, p<0.001 r=-0.349; ACV, p=0.001 r=-0.295). In the control group, ACD and ACV were negatively correlated with age (p= 0.001, r=-0.317; p<0.001, r=-0.346, respectively). However, in both groups, age was not significantly correlated with corneal thicknesses, CV and Kmax (p>0.05).

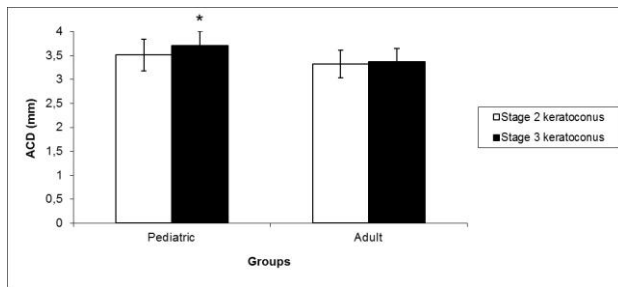


Figure-1. Comparison of anterior chamber depth (ACD) between eyes with *stage 2* and *stage 3* keratoconus in the *pediatric* and *adult* keratoconus subgroups (*statistically significant difference, $p < 0.05$).

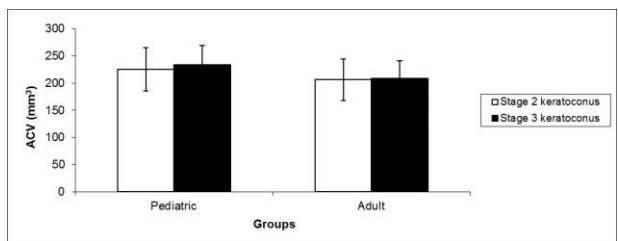


Figure-2. Comparison of anterior chamber volume (ACV) between eyes with *stage 2* and *stage 3* keratoconus in the *pediatric* and *adult* keratoconus subgroups ($p > 0.05$).

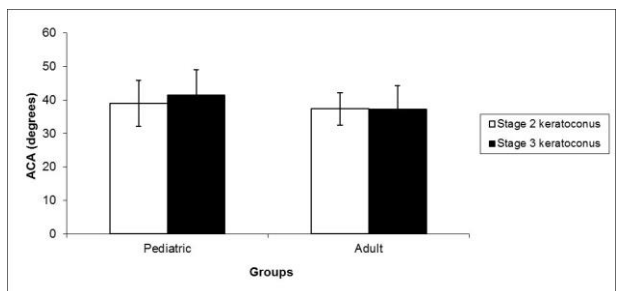


Figure-3. Comparison of anterior chamber angle (ACA) between eyes with *stage 2* and *stage 3* keratoconus in the *pediatric* and *adult* keratoconus subgroups ($p > 0.05$).

Discussion

Keratoconus is a bilateral and asymmetric corneal disease. Although underlying mechanisms begin at puberty, the disease generally manifests at early adulthood and typical findings make the diagnosis easy (1-3). However, a complete anterior segment imaging is crucial for establishing the diagnosis. A relatively new anterior segment imaging device, the *Scheimpflug* system, provides reliable and reproducible quantitative data for anterior segment structures (13-16).

In the current literature, several researchers evaluated anterior chamber parameters of eyes with keratoconus using the *Scheimpflug* system and it was suggested that keratoconic eyes had a higher ACD compared to that of the healthy eyes (17-19). A further analysis by Emre et

al. (9) showed statistically significant differences in ACA and CV measurements between the mild and severe keratoconus groups and ACV was higher in the severe keratoconus group than in the control group. In terms of corneal parameters, previous studies reported reduced corneal volume and corneal thickness in eyes with keratoconus compared to those of the healthy controls (17-19).

Although above-mentioned studies investigated differences in anterior chamber measurements, CV and pachymetry in adult keratoconus, current literature has limited data comparing anterior segment parameters between the *pediatric* and *adult* patients with keratoconus. In the present study, we sought for differences in ACD, ACV, ACA, corneal pachymetry, CV and Kmax obtained from the *Scheimpflug* imaging system between *pediatrics* and *adults* within/between the keratoconus and control groups. Statistical analysis revealed that, in both keratoconus and control groups, *pediatric* subjects (<18 years of age) had a deeper AC and larger ACV when compared to those of the *adults* (≥ 18 years of age). This result might be associated with the role of aging on AC shallowing as stated by previous studies (10,20).

It was suggested that age, gender, refractive error, body type and cataract formation are related with ACD measurement (10,20). A study by Edmonds et al. (10) showed that ACD was decreased by an average of 0.012 mm/year in a normal eye and by 0.014 mm in eyes with keratoconus. Similarly, in the current study, correlation analysis revealed a negative relation between age and AC measurements in the keratoconus and control groups. Moreover, the results of our study demonstrated a similar decrease in ACD and ACV values between the *pediatric* and *adult* groups in patients with keratoconus and healthy subjects. Hence, it can be suggested that shallowing of AC in the *pediatric* keratoconus subgroup over time was due to physiological process as in normal population. On the other hand, we did not have lens thickness measurements (which could be a valuable parameter) for all subjects so this parameter was not included into the statistical comparisons. This point can be considered as a limitation of the present study. Although both keratoconus patients and healthy subjects seem to show similar trend in AC measurements with aging, our study showed that *pediatrics* and *adults* with keratoconus had deeper AC than in the age-matched corresponding healthy subgroups.

In our study, corneal thicknesses, CV and Kmax showed no significant differences between the *pediatric* and *adult* keratoconus subgroups. In the current study, age subgroups were *matched* with each other in terms of gender and keratoconus severity. Therefore, we were able to perform a reliable analysis to evaluate the effect

of age on differences in anterior segment parameters between the keratoconus subgroups, whereas this condition might have led similar Kmax values between the subgroups.

In the current literature, there are few number of studies comparing *Scheimpflug* parameters between *pediatric* and *adult* patients with keratoconus, whereas Emre et al. (9) evaluated the *Scheimpflug* anterior segment parameters with a severity-based comparison in keratoconus patients, and their study group included patients with an age between 12 to 63 years. In our study, we performed a similar comparison in terms of *Scheimpflug* parameters between the eyes with *stage 2* and *stage 3* keratoconus in the *pediatric* and *adult* keratoconus subgroups separately (our study group consisted of only eyes with *stage 2* and *3* keratoconus). In the *pediatric* subgroup, ACD was significantly higher in eyes with more severe keratoconus, whereas there were no significant differences in AC parameters between the *stage 2* and *stage 3* keratoconus in the *adult* subgroup. When corneal parameters were evaluated, in the *pediatric* subgroup, there were no differences in terms of corneal thicknesses and volume between the *stage 2* and *stage 3* keratoconus, whereas in the *adult* subgroup, eyes with *stage 3* keratoconus had lower corneal thicknesses than in the eyes with *stage 2* keratoconus. Moreover, Kmax was significantly higher in *stage 3* keratoconus than in the *stage 2* keratoconus in all age subgroups as expected. In summary, in *pediatric* keratoconus, ACD seems to increase with disease severity, whereas in *adult* patients

with keratoconus, corneal parameters appear to worsen with progression. A similar report from Sahebjada et al. (19) demonstrated reduced corneal thicknesses (pupil center, apical and thinnest location) in the severe keratoconus group than in the mild keratoconus group.

Conclusion

In conclusion, shallowing in AC over time appears to affect both patients with keratoconus and normals; however, it can be suggested that patients with keratoconus in *all age subgroups* have deeper AC than in the healthy controls. Furthermore, an increase in ACD value might be indicative of progression in *pediatric* patients with keratoconus. Although corneal parameters seem not to differ between age-based keratoconus subgroups, in *adult* patients with keratoconus corneal thicknesses and volume can be monitored to detect disease progression. However, long-term prospective clinical trials are needed to demonstrate the changes in anterior segment measurements from a pediatric age to the adulthood.

Acknowledgments

No author has a financial or proprietary interest in any product, material, or method mentioned. No financial support was received for this study.

The abstract of this study was presented at the *XXXIII. Congress of the European Society of Cataract & Refractive Surgeons – ESCRS 2015 (5-9 September, Barcelona, Spain)* as poster.

References

1. Rabinowitz YS. Keratoconus. *Surv Ophthalmol* 1998;42(4):297-319.
2. Kankariya VP, Kymionis GD, Diakonis VF, et al. Management of pediatric keratoconus - evolving role of corneal collagen cross-linking: An update. *Indian J Ophthalmol* 2013;61(8):435-40.
3. Toprak I, Yaylali V, Yildirim C. Factors affecting outcomes of corneal collagen crosslinking treatment. *Eye* 2014;28(1):41-6.
4. Vinciguerra P, Albé E, Frueh BE, Trazza S, Epstein D. Two-year corneal cross-linking results in patients younger than 18 years with documented progressive keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2012;154(3):520-6.
5. Caporossi A, Mazzotta C, Baiocchi S, Caporossi T, Denaro R, Balestrazzi A. Riboflavin-UVA-induced corneal collagen cross-linking in pediatric patients. *Cornea* 2012;31(3):227-31.
6. Rabsilber TM, Khoramnia R, Auffarth GU. Anterior chamber measurements using Pentacam rotating Scheimpflug camera. *J Cataract Refract Surg* 2006;32(3):456-9.
7. Belin MW, Ambrósio R. Scheimpflug imaging for keratoconus and ectatic disease. *Indian J Ophthalmol* 2013;61(8):401-6.
8. Bühren J, Kook D, Yoon G, Kohnen T. Detection of subclinical keratoconus by using corneal anterior and posterior surface aberrations and thickness spatial profiles. *Invest. Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(7):3424-32.
9. Emre S, Doganay S, Yologlu S. Evaluation of anterior segment parameters in keratoconic eyes measured with the Pentacam system. *J Cataract Refract Surg* 2007;33(10):1708-12.
10. Edmonds CR, Wung SF, Pemberton B, Surrent S. Comparison of anterior chamber depth of normal and keratoconus eyes using Scheimpflug photography. *Eye Contact Lens* 2009;35(3):120-2.
11. Zadnik K, Barr JT, Gordon MO, Edrington TB. Biomicroscopic signs and disease severity in keratoconus. Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study Group. *Cornea* 1996;15(2):139-46.
12. Kamiya K, Ishii R, Shimizu K, Igarashi A. Evaluation of corneal elevation, pachymetry and keratometry in keratoconic eyes with respect to the stage of Amsler-Krumeich classification. *Br J Ophthalmol* 2014;98(4):459-63.
13. Buehl W, Stojanac D, Sacu S, Drexler W, Findl O. Comparison of three methods of measuring corneal thickness and anterior chamber depth. *Am J Ophthalmol* 2006;141(1):7-12.

14. Meinhardt B, Stachs O, Stave J, Beck R, Guthoff R. Evaluation of biometric methods for measuring the anterior chamber depth in the non-contact mode. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006;244(5):559-64.
15. Barkana Y, Gerber Y, Elbaz U, Schwartz S, Ken-Dror G, Avni I, et al. Central corneal thickness measurement with the Pentacam Scheimpflug system, optical low-coherence reflectometry pachymeter, and ultrasound pachymetry. *J Cataract Refract Surg* 2005;31(9):1729-35.
16. Lackner B, Schmidinger G, Skorpik C. Validity and repeatability of anterior chamber depth measurements with Pentacam and Orbscan. *Optom Vis Sci* 2005;82(9):858-61.
17. Kovacs I, Mihaltz K, Nemeth J, Nagy ZZ. Anterior chamber characteristics of keratoconus assessed by rotating Scheimpflug imaging. *J Cataract Refract Surg* 2010;36(7):1101-06.
18. Fontes BM, Ambrosio R Jr, Jardim D, Velarde GC, Nosé W. Corneal biomechanical metrics and anterior segment parameters in mild keratoconus. *Ophthalmology* 2010;117(4):673-9.
19. Sahebjada S, Xie J, Chan E, Snibson G, Daniel M, Baird PN. Assessment of anterior segment parameters of keratoconus eyes in an Australian population. *Optom Vis Sci* 2014;91(7):803-9.
20. Xu L, Cao WF, Wang YX, Chen CX, Jonas JB. Anterior chamber depth and chamber angle and their associations with ocular and general parameters: the Beijing Eye Study. *Am J Ophthalmol* 2008;145(5):929-36.

Anterior cruciate ligament injuries at the office workers who have irregular sport activity on the artificial surfaced playing areas

Düzensiz spor aktivitesi olan ofis çalışanlarında sentetik zeminli yüzeylerde ortaya çıkan ön çapraz bağ yaralanmaları

Özgür Korkmaz¹ Melih Malkoç¹ Serkan Gürçan²

¹İstanbul Medipol University Faculty of Medicine, Department of Orthopedics and Traumatology, İstanbul, Turkey

²Gelişim University Faculty of Medicine, Faculty of Health Sciences, İstanbul, Turkey

Abstract

Aim: The aim of this study is to evaluate the anterior cruciate ligament (ACL) tears in Turkish office workers on the artificial playing surfaces.

Materials and Methods: Eighty-seven patients who were operated for anterior cruciate ligament tear that had injuries on artificial surfaced playing areas (ASPAs) were evaluated retrospectively. Evaluations were undertaken using Lysholm and Tegner Activity Scale pre-operatively and in the last follow-up. Injury mechanisms, shoe types, frequency of sporting activity, time of warm-up exercises before sporting activity were assessed. Types of ASPA's, body mass index (BMI) and return to work period were also determined.

Results: Increase in Lysholm and Tegner activity scale between the preoperative and postoperative scores was found to be statistically significant ($p < 0.001$). ACL tear occurred with non-contact injury in 65 patients, 22 patients had ACL tear with direct contact trauma. Football activity on the ASPAs is social allocation rather than a sportive activity. The rate of wearing special designed shoes for ASPA in sporting activities was low. The mean frequency of sporting activity was 1.4 times/month and the mean warm-up exercise time was 6.42 minutes. Sixty-nine ASPAs were made with 3rd generation turf, 18 were 2nd generation turf. The mean BMI was 23.32 kg/m². The mean period for return to work was 17.41 weeks.

Conclusion: Irregular sportive activity with insufficient equipment on the ASPA causes serious ACL injuries that have to be managed by surgical procedures with loss of working time and economical casualties.

Keywords: Anterior cruciate ligament, artificial playing surface, office workers.

Öz

Amaç: Sentetik zeminli spor alanlarında ofis çalışanlarında ortaya çıkan ön çapraz bağ yaralanmalarını değerlendirmek.

Gereç ve Yöntem: Sentetik yüzeyli zeminlerde spor esnasında ön çapraz bağ yaralanması olan ve opere edilen 87 hasta retrospektif olarak değerlendirildi. Hastaların opere edilen dizleri ameliyat öncesi ve son kontrollerde Lysholm ve Tegner Aktivite Skalaları ile değerlendirildi. Yaralanma mekanizması, yaralanma esnasında kullanılan ayakkabı tipi, sportif aktivite sıklığı, sportif aktivite öncesi ısınma süresi, spor yapılan sahanın zemin tipi, vücut kitle endeksi ve işe dönüş süresi araştırıldı.

Bulgular: Ameliyat öncesi ve son kontrollerdeki Lysholm ve Tegner aktivite skalalarında istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi ($p < 0.001$). Altmış beş hastada temassız travmalar sonucunda, 22 hastada ise direkt temaslı travmalar sonucunda ön çapraz bağ yırtığı olduğu tespit edildi. Hastaların sentetik zeminli yüzeylerde yaptıkları sportif aktiviteleri sosyal aktivite olarak gördükleri tespit edildi. Sentetik zeminli yüzeyler için uygun ayakkabı kullanımını düşük oranda idi. Hastaların aylık ortalama sportif aktivite sayıları 1.4, ortalama ısınma süresi 6.42 dk olarak bulundu. Sentetik yüzeyli sahaların 69'u 3. jenerasyon, 18'inin ise 2. jenerasyon yüzeyler idi. Hastaların ortalama vücut kitle endeksi 23.32 kg/m² idi. Cerrahi girişim sonrası işe dönüş süresi 17.41 hafta olarak belirlendi.

Corresponding Author: Özgür Korkmaz

İstanbul Medipol University Faculty of Medicine, Department of Orthopedics and Traumatology, İstanbul, Turkey

Received: 29.12.2016

Accepted: 30.01.2017

Sonuç: Uygunsuz ekipman ve düzensiz spor aktivitesi olan kişilerin sentetik zeminli yüzeylerde yaptıkları sportif aktiviteler cerrahi tedavi gerektiren ön çapraz bağ yaralanmalarına neden olabilmektedir. Bunun sonucunda çalışma zamanında azalma ve ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Ön çapraz bağ, sentetik yüzeyli spor alanları, ofis çalışanları.

Introduction

Artificial Surfaced Playing Areas (ASPA), has emerged in the second half of the last century. Its popularity has grown all over the world with various technical changes (1). Larger audiences with higher capacity stadium and sports facilities has increased the need for ASPA. The other important factor is limited natural grass fields in growing cities and the request of urban population for large sporting areas without time and climate limitations. ASPAs has increased in sporting activities of children living in crowded cities (2).

ASPA's have social, economic and sporting benefits. But they have some controversial disadvantages, like; high injury rates, infections and carcinogenic effect that all are still a subject of discussion (3,6).

Conspicuously, anterior cruciate ligament (ACL) tears are the third most common type of knee injury and surgical reconstruction of the ACL is the second most common type of surgery (7). The individuals who underwent to surgical procedure are commonly in working-active decades of life.

Our hypothesis is ASPA's have an important role on ACL tears. The aim of this retrospective study is to evaluate the ASPA's and related ACL tears in patients who had irregular sports activities at irregular intervals in Turkish office workers.

Materials and Methods

Our study was done after the approval ethics committee of our university (10840098-604.01.01-E.27513). We evaluated retrospectively 532 knee injuries that occurred on ASPA's between April 2012 and January 2014 in our clinic. 112 patient had ACL tear. 87 patients who were operated for ACL tear that had injuries on ASPA's were included to the study. The average age of the patients was 34.02 (25-51) years. All the patients were male. All the patients were evaluated with knee radiographs at admission. No bony lesion secondary to trauma were identified. MRI was performed for the patients who had suspicion for ACL tear according to the findings of clinical examination. Arthroscopic ACL repair surgery was recommended to the patients who had ACL tear verified by MRI.

Operations were performed 3 weeks after the trauma. Evaluation of patients were performed with Lysholm and Tegner activity scale pre-operatively, at the 1th and 6th months postoperatively and in the last follow up. Level of activity was evaluated between 0-10 according to

Tegner activity scale. All of the patients were included for the same physical therapy and rehabilitation program at the postoperative period.

All operations were performed arthroscopically assisted with the use of Endobutton (Smith & Nephew, Memphis, Tennessee) and tibial fixation was achieved with bio screw and u-staple. The mean follow-up period was 8.3 (6-16) months.

Patients questioned about the injury mechanisms, shoe types, frequency of sporting activity, time of warm-up exercises before sporting activity, types of ASPA. Body mass index (BMI) of the patients were calculated, return to work period was determined.

Preoperative and postoperative values of Tegner and Lysholm scores were evaluated statistically with Wilcoxon test which is non-parametric version of paired-t test. 95% confidence interval and $p < 0.05$ were considered statistically significant. Analysis were performed with SPSS16.0 version.

Results

Thirty-eight patients were evaluated as medium, 49 patients were evaluated as poor according to Lysholm scores preoperatively. There were 10 patients in level 1, 40 patients in level 2, 20 patients in level 3, 8 patients in level 4 and 9 patients in level 5 according to Tegner Activity Scale preoperatively. Thirty-nine patients were considered as perfect, 36 were good and 12 were medium according to Lysholm scores in last follow-up. There were 10 patients in level 10, 29 in level 9, 24 in level 8, 12 in level 7, 9 in level 6 and 3 in level 5 according to Tegner activity scale in the last follow up (Tables 1-2). Increase between the preoperative and postoperative scores was determined to be statistically significant ($p < 0.001$).

Table-1. Preoperative Tegner Activity Scale.

Tegner activity scale	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5
Number of patients	10	40	20	8	9

Table-2. Postoperative Tegner Activity Scale.

Tegner activity scale	Level 5	Level 6	Level 7	Level 8	Level 9	Level 10
Number of patients	3	9	12	24	29	10

In 65 individuals ACL tear occurred with non-contact injury, while the remaining 22 of the patients had ACL tear with direct contact trauma.

It was questioned how the operated patients consider the activity they performed. Two different answering options were available: Whether they consider the activity as sportive activity or as social activity. Eighty of the participants stated that they considered this football activity on the ASPAs as a social allocation with colleagues rather than a sportive activity.

Only 7 patients were wearing special designed shoes for ASPA's sporting activities, others were standard shoes.

The mean frequency of sporting activity was 1.4 times/month (range 0-4 times) irregularly. The mean warm-up exercises for each activity was 6.42 minutes (range 0-15 minutes). While 69 ASPAs were made with 3th generation turf, 18 were 2nd generation turf where the ACL injury was took place.

The mean BMI was 23.32 kg/m² (range 19.1-29.4 kg/m²). The mean period for return to work was 17.41 weeks (range 12-24 weeks).

While 39 patients returned to football game on ASPA again after recovery period, 40 patients expressed that they had changed their sportive activity type and 8 patients gave up to their sportive activities.

Discussion

There is growing interest, at all levels of football, in new generation ASPA's that use synthetic infill materials. Therefore, for the first time a reference to the field surface was included in the Laws of the Game of football on 1 July 2004 with the phrase; Matches may be played on natural or artificial surfaces, according to the rules of the competition (8). Turkey Football Federation issued a circular in 2009 for the first time and has set the standards for the supervision and control of ASPAs (9).

First generation ASPAs were introduced to the professional sporting activity in 1960s (10). These fields are produced from stiff nylon fibers including no filling materials like sand or rubber (1). Risk of skin injuries were high on these surfaces (11). Second generation ASPA's improved in the 1970s that fibers were made from soft polyethylene with sand as a filling material (1). In 1990s third generation ASPA's were introduced that made of polyethylene monofilaments that textured and coated with rubber particles or sand as filling materials (1). In our study while 69 ASPA's were third generation turf, 18 were second generation. ACL injury can occur on both type of ASPA's. For this reason structure of the playing surface is not the most important factor on ACL tears in Turkish office workers population who have irregular sport activity.

Shoe and playing surface interaction contains many different factors. These are body weight, velocity,

acceleration, deceleration and surface type (12). The sole, cleat or stud material and number, size of cleats and their configuration in shoe are the important factors that affect the shoe and ground interaction (1). Generally the conventional soccer and football shoes have different cleat lengths and types of sole and the ASPA shoes have dense pattern of short elastomeric studs over the all surface of sole (1). New generation ASPA shoes modified to include midsole weight absorbing to distribute the force during ground contact. In our study, only 7 individuals were wearing the special designed shoes for football playing on ASPA's. The remaining were other types of shoes for designed other types of sporting activities, as walking, jogging, tennis playing or running. In our opinion, improper shoes on ASPAs may one of the most important factor predisposing for ACL tears that pointing to insufficient equipment.

The strength, balance and flexibility of the surrounding musculature of the knee are the important factors for preventing knee from injuries. Consequently, warm-up exercise before any type of sporting activity is an important procedure. The football is a contact sport and the rate of ACL injuries are relatively high whether ASPA or natural grass players. The warm-up exercises before playing was found effective at preventing common injuries as well as ACL injuries in football (13-15). Several studies reported that warm-up exercises showed 57-77% reduction in the knee injury incidence (16-17). According to the results of Mandelbaum et al. during the year of 2000 football season, there was an 88% decrease in anterior cruciate ligament injury. During the year of 2001 football season, there was a 74% reduction in anterior cruciate ligament tears with 20 minutes warm-up exercises performed before matches and training (18). Therefore the warm-up exercises must be the essential part of the football before playing in order to prevent injuries. In our study, sparing time for warm-up exercise before football in individuals who had ACL injury on ASPAs were mean 6.42 minutes with a range between 0-15 minutes.

Typically, ACL tears happen as a result of trauma. During sudden deceleration, turning and pivoting movement, ACL tears may occur. The most common mechanism of ACL injury is knee hyperextension with tibial varus and internal rotation. While both medial collateral ligament and medial meniscus tears can occur with severe valgus and external rotation force before the ACL tears, severe varus force can cause lateral collateral ligament tear and ACL tear and not withstanding, ACL tears with hyperextension and hyperflexion are rarely seen (19). In our study 65 individuals had ACL tear with non-contact injury, while the remaining 22 of the patients had ACL tear with a direct contact due to any type of trauma.

Sparing less time for warm-up exercise is producing seriously trauma like ACL and also the other injuries. The number of non-contact injured ACL individuals is significantly higher than contact injured ACL individuals in our series. It is clearly provides that most ACL tears occur with non-contact injuries in individuals who perform less, insufficient, ineffective knee and corresponding muscularity warm-up exercise on ASPAs while sporting.

Playing surface had a significant effect on injury rates with an incidence rate of 1.73 ACL injuries per 10,000 on ASPAs compared with a rate of 1.24 per 10,000 on natural grass and the rate of ACL injury on ASPA's is 1.39 times higher than the injury rate on natural grass surfaces (13). Significantly higher rates of all types of injury in football have been reported on ASPA's compared with natural grass (3-6). However, some reports documented that no difference in ACL injury rates on ASPA's and natural grass surfaces (20-21), while a different study found increased rates of noncontact ACL injuries on natural grass compared with ASPA's (22). Interestingly, most of the patients in our study are considering this activity as a social activity that having time with friends rather than a regular sport activity.

Among 4307 patients from Turkey population with mean age 47.1 ± 14.7 years (20-83) the average body mass index was determined as $28.3 \pm 5.2 \text{ kg/m}^2$ (23). According to Turkey nutrition and health study, 62.8% of the

population between the ages 19 to 30 the body mass index was below 25 kg/m^2 and 38.9% of the population between the ages 31 to 50 body mass index was $25-30 \text{ kg/m}^2$ and 38.9% of the population between the ages 31 to 50 body mass index was over 30 kg/m^2 (24). In our study, the mean BMI is 24.9 kg/m^2 (range $19.2-32.8 \text{ kg/m}^2$). The mean age of patients was 34.02 (21-51). The mean BMIs of patients in our study are almost at the normal levels of Turkish population.

Patients with ACL tear whose profession was sports return to sportive activity most commonly occurs at least 6 months postoperatively (25). The mean period for return to work was 17.41 weeks (range 12-24) according to our study. But patients were not professional athletes in our study.

Conclusion

ASPA's can be a reason for higher rate of injury. The reason for injuries on ASPA's are irregular sportive activity, poor equipment, and short warm-up exercise period before sports activities as a result of our study. Irregular sportive activity with insufficient equipment on the ASPA causes the serious ACL tears that have to managed by surgical procedures resulting with loose of working time due to indispensable hospitalisation and rehabilitation period and significant economic losses in our country.

References

1. Drakos MC, Taylor SA, Fabricant PD, Haleem AM. Synthetic playing surfaces and athlete health. *J Am Acad Orthop Surg* 2013;21(5):293-302.
2. Levy IM, Skovron ML, Agel J. Living with artificial grass: A knowledge update. Part 1: Basic science. *Am J Sports Med* 1990;18(4):406-12.
3. Gorse K, Mickey CA, Bierhals A. Conditioning injuries associated with artificial turf in two preseason football training programs. *J Athl Train* 1997;32(4):304-8.
4. Guskiewicz KM, Weaver NL, Padua DA, Garrett WE Jr. Epidemiology of concussion in collegiate and high school football players. *Am J Sports Med* 2000;28(5):643-50.
5. Hagel BE, Fick GH, Meeuwisse WH. Injury risk in men's Canada West University football. *Am J Epidemiol* 2003;157(9):825-33.
6. Ramirez M, Schaffer KB, Shen H, Kashani S, Kraus JF. Injuries to high school football athletes in California. *Am J Sports Med* 2006;34(7):1147-58.
7. Bradley J, Honkamp NJ, Jost P, West R, Norwig J, Kaplan LD. Incidence and variance of knee injuries in elite college football players. *Am J Orthop* 2008;37(6):310-4.
8. Fédération Internationale de Football Association. FIFA Laws of the Game; July 2004.
9. Turkish Football Federation, Halı Sahaların Denetimi ve Sınıflandırılması Hakkında Genelge, 1 Aralık 2009; www.tff.org
10. Fleming P. Artificial turf systems for sport surfaces: Current knowledge and research needs. *J Sports Engineering Tech* 2011;225(2):43-63.
11. Ekstrand J, Nigg BM. Surface-related injuries in soccer. *Sports Med* 1989;8(1): 56-62.
12. Cawley PW, Heidt RS Jr, Scranton PE Jr, Losse GM, Howard ME. Physiologic axial load, frictional resistance, and the football shoe-surface interface. *Foot Ankle Int* 2003;24(7):551-6.
13. Dragoo JL, Braun HJ, Durham JL, Chen MR, Harris AHS. Incidence and risk factors for injuries to the anterior cruciate ligament in National Collegiate Athletic Association Football data from the 2004-2005 through 2008-2009 National Collegiate Athletic Association Injury Surveillance System. *Am J Sports Med* 2012;40(5):990-5.
14. Daneshjoo A, Mokhtar A, Rahnama N, Yusof A. The effects of injury prevention warm-up programmes on knee strength in male soccer players. *Biol Sport* 2013;30(4):281-8.

15. Alentorn-Geli E, Myer GD, Silvers HJ, et al. Prevention of non-contact anterior cruciate ligament injuries in soccer players. Part 1: Mechanisms of injury and underlying risk factors. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2009;17(7):705-29.
16. Kiani A, Hellquist E, Ahlqvist K, Gedeberg R, Michaëlsson K, Byberg L. Prevention of soccer related knee injuries in teenaged girls. *Arch Intern Med* 2010;170(1):43-7.
17. Steffen K, Meeuwisse WH, Romiti M, et al. Evaluation of how different implementation strategies of an injury prevention programme (FIFA 11+) impact team adherence and injury risk in Canadian female youth football players: A cluster-randomised trial. *Br J Sports Med* 2013;47(8):480-8.
18. Mandelbaum BR, Silvers HJ, Watanabe DS, et al. Effectiveness of a neuromuscular and proprioceptive training program in preventing anterior cruciate ligament injuries in female athletes: 2-year follow-up. *Am J Sports Med* 2005;33(7):1003-10.
19. Marzo JM, Warren RF. Acute Anterior Cruciate and Medial Collateral Ligament injuries. In: Insall J, Windsor R (eds). *Surgery of The Knee*. 2nd ed, New York, Churchill Livingstone, 1993:403-24.
20. Bradley JP, Klimkiewicz JJ, Rytel MJ, Powell JW. Anterior cruciate ligament injuries in the National Football League: Epidemiology and current treatment trends among team physicians. *Arthroscopy* 2002;18(5):502-9.
21. Nicholas JA, Rosenthal PP, Gleim GW. A historical perspective of injuries in professional football: Twenty-six years of game-related events. *JAMA* 1988;260(7):939-44.
22. Scranton PE Jr, Whitesel JP, Powell JW, et al. A review of selected noncontact anterior cruciate ligament injuries in the National Football League. *Foot Ankle Int* 1997;18(12):772-6.
23. Gundogan K, Bayram F, Gedik V, et al. Metabolic syndrome prevalence according to ATP III and IDF criteria and related factors in Turkish adults. *Arch Med Sci* 2013;9(2):243-53.
24. Republic of Turkey. Ministry of Health, Health Statistics Yearbook 2011. Ministry of Health, Ankara, 2012:42
25. Erickson BJ, Harris JD, Fillingham YA, et al. Anterior cruciate ligament reconstruction practice patterns by NFL and NCAA football team physicians. *Arthroscopy* 2014;30(6):731-8.

Geriatri poliklinik olgularında geriatrik sendromlar: 1048 olgunun analizi

Geriatric syndromes in the geriatric outpatient clinic subjects: Analysis of 1048 cases

Derya Kaya Süleyman Emre Koçyiğit Özge Dokuzlar Pınar Soysal Ahmet Turan Işık
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Geriatri Bilim Dalı, Yaşlanan Beyin ve Demans Ünitesi, İzmir, Türkiye

Öz

Amaç: Bir Geriatri merkezinde düzenli takip edilen hastaların sosyodemografik değişkenlerini, klinik durumlarını ve geriatrik sendromları değerlendirmek.

Gereç ve Yöntem: Geriatri polikliniğimizde Ocak 2013 ve Aralık 2015 yılları arasında düzenli takip edilen 1048 olgunun tıbbi kayıtları geriye dönük gözden geçirildi. Olguların yaş, cinsiyet, eğitim yılı, nörokognitif durum, duyu durumu, günlük yaşam aktiviteleri, denge ve yürüme, nutrisyonel durumu da içeren Ayrıntılı Geriatrik Değerlendirme bilgileri, tanıları, kullanılan ilaç sayısı kaydedildi.

Bulgular: Olguların ortalama yaşı 77.4 ± 6.8 olup %37.2'si erkek ve %62.8'i kadındı. %54.2'si evli ve %78.8'i en az 5 yıllık eğitime sahipti. 1048 olgunun %78.8'i non-demans olgularıydı ve %15.2'sinde Alzheimer hastalığı vardı. Olgularda polifarmasi (%59.8), üriner inkontinans (%44.1), ağrı (%41.8) ve uyku bozuklukları (%40.8) gibi geriatrik sendromlar bulunmaktaydı.

Sonuç: Yaşlı olgularda geriatrik sendromların değerlendirilmesi, hasta çıktılarının daha iyi olmasına neden olup, hastaların yaşam kalitesinin yükseltilmesi ve kişileştirilmiş tedavilere yardımcı olması bakımından önemlidir.

Anahtar Sözcükler: Geriatrik sendrom, polifarmasi, üriner inkontinans, ağrı, uyku bozuklukları, düşme.

Abstract

Aim: To assess sociodemographic variables, clinical conditions and geriatric syndromes of patients who were followed up in a Geriatrics center.

Materials and Methods: The medical records of 1048 patients who were regularly followed up in our geriatric outpatient clinic, between January 2013 and December 2015 were retrospectively reviewed. Age, gender, education year, diagnosis, number of drug used and data of comprehensive geriatric assessment including neurocognitive status, mood, daily living activities, gait and balance, nutrition were recorded.

Results: The mean age of the cases was 77.4 ± 6.8 of whom 37.2% were male and 62.8% female. 54.2% of them were married and 78.8% had education for at least 5 year. It was shown that 63% of 1048 patients were nondementia cases and 15.2% had Alzheimer's disease. Geriatric syndromes such as polypharmacy (59.8%), urinary incontinence (44.1%), pain (41.8%), sleep disorders (40.8%) were found among the subjects.

Conclusion: Assessment of geriatric syndromes in the care of older patients are important to improve the quality of life significantly and help personalize management, leading to better patient outcomes.

Keywords: Geriatric syndrome, polypharmacy, urinary incontinence, pain, sleep disorders, falls.

Yazışma Adresi: Ahmet Turan Işık

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Geriatri Bilim Dalı,
Yaşlanan Beyin ve Demans Ünitesi, İzmir, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 28.12.2016 Kabul Tarihi: 14.02.2017

Giriş

Yaşlı bireyler tarih boyunca zaman zaman farklı bir yerde konumlandırılmaya çalışılmışlardır. *Hippocrates* ve *Cicero* yaşlanma ve sağlık üzerine yazılar kaleme almışlar, 1881'de *Charcot*'nun yaşlanma üzerine ilk tıbbi ders kitabı yayınlanmıştır (1). 'Geriatrı' kelimesi 1909'da *Ignatz Leo Nascher* tarafından kazandırılmıştır. *Nascher* 1909'da *New York Medical Journal*'da yayınlanan makalesinde, yaşlı anlamına gelen *geras* ve hekim anlamına gelen *iatrikos* kelimelerinin birleşimi olan Geriatrı teriminin dil bilgisine yeni bir kelime olarak önerir, yaşlılığın ve hastalıklarının tıpta ayrı bir yerinin olması gerektiğini bildirir (2). Daha sonra geriatrinin babası olarak anılacak olan *Nascher* 1914'te geriatrik tıbbın ilk Amerikan ders kitabını, *Geriatrics: The Diseases of Old Age and Their Treatment*, yayınlamıştır (3). Geriatrı, modern sağlık sistemi içinde özelleşmiş ayrı bir bilim dalı olarak ilk kez 1948'de Birleşik Krallık'ta kurulmuştur (4). Günümüzde yaşlı olguların sağlık sorunları, hastalıkları, sosyal ve fonksiyonel yaşamları, hayat kalitesi, sağlıklı yaş alma süreçleri, koruyucu hekimlik uygulamaları ile ilgilenen bir bilim dalıdır (5).

Dünyada olduğu gibi, ülkemizde de yaşlı nüfusun oranının giderek arttığı yadsınamaz bir gerçektir. Yaşlı bireylerin hastalık seyirleri ve prezantasyon bulguları erişkinlerden farklıdır, hastalıkların dağılımı, sıklığı, tedavi algoritmaları, koruyucu uygulamalar tahmin edildiğinden daha fazla özellik arz eder. Yaşlı bireylerin yaşadığı sosyal-hukuksal sorunlar azımsanmayacak ölçüdedir. Geriatrik olgular yaşlı olgunun tek bir hastalık başlığı altında tanımlanamayan multifaktöriyel kaynaklı birbirleriyle etkileşen bir dizi semptom şemsiyesi olarak ifade edilebilen "geriatrik sendrom" olarak adlandırılan özellikli durumlara sahip olabilirler (6). Yaşlı bireylerin sağlıklı yaş almaları ve bu sürecin idamesi, hastalıklarının tanınması, zamanında ve etkili müdahale edilmesi, sosyodemografik, klinik değişkenlerinin ve sahip oldukları geriatrik sendromların bilinmesi ile başlayan araştırmalarla etkinlik kazanmaktadır. Yaşlı olgularda geriatrik sendromların değerlendirilmesinin özellikle sıklığının belirlenmesinin geriatrik bir hastanın sahip olduğu multifaktöriyel bu sendromların farkındalığını artıracaklarını, hastaların yaşam kalitesinin yükseltilmesi ve kişileştirilmiş tedavilerde öncelikli hedeflerin belirlenmesi açısından önemli olabileceğini ve belki de daha önemlisi sendromların gelişimini azaltıcı/önleyici bir takım stratejilerin, sağlık politikalarının geliştirilmesine (polifarmasi ile mücadele, düşmelerin önlenmesi, vb.) yardımcı olabileceğini düşünmekteyiz. Bu nedenle, bu çalışmada Ocak 2013–Aralık 2015 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Geriatrı Bilim Dalına başvuran olguların tıbbi kayıtlarının geriye dönük incelenerek hastaların geriatrik sendrom özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmadaki veriler 1 Ocak 2013-31 Aralık 2015 tarihleri arasında başvuran bireylere ait birim dosyalarının geriye dönük olarak incelenmesinden elde edildi. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 17.0 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Olguların yaş, cinsiyet, eğitim yılı, nörokognitif durum, duyu durumu, günlük yaşam aktiviteleri, denge ve yürüme, nutrisyonel durumu da içeren Ayrıntılı Geriatrik Değerlendirme (AGD) bilgileri, tanıları, kullanılan ilaç sayısı kaydedildi. Elde edilen bulgular istatistiksel olarak frekans dağılımı yönünden irdelendi ve benzer çalışma sonuçlarıyla karşılaştırıldı.

Bulgular

Geriatrı Bilim Dalının 1 Ocak 2013-31 Aralık 2015 tarihleri arasında toplam 1947 olgunun poliklinik kaydı saptandı. Dosyada yetersiz veri, yer değişikliği, vefat, izlem yetersizliği gibi nedenlerle olgular dışlandıktan sonra tüm verileri eksiksiz girilmiş ve düzenli izlemde olan toplam 1203 olgu değerlendirmeye alındı. Olguların %12.9'u 55-65 yaş arasında idi, çalışmanı ana teması geriatrik sendromlar olması nedeniyle 155 olgu da çalışma dışında tutuldu. Bu nedenle toplam 1048 olgunun dosya kayıtları analiz edildi. Olguların %41'i (430 olgu) 65-75 yaş, %46.2'si (484 olgu) 75-85 yaş ve %12.8'i (134 olgu) 85 yaş üzerindeydi. Hastaların %37.2'si (390 olgu) erkek, %62.8'i (658 olgu) kadındı. Eğitim durumları bakımından, olguların %12'si okur-yazar değildi, %9.2'si okur-yazar, %36'sı ilköğretim mezunu, %9.4'ü ortaokul mezunu, %16.2'si lise mezunu, %17.1'i üniversite mezunu olarak belirlendi. Değerlendirmeye alınan bireylerin %1.1'i bekar, %54.2'si evli, %2.1'i eşinden boşanmış, %42.7'si duldu. Kadın olguların %35.7'si, erkek olguların ise %85.8'i evli olarak kaydedildi. "Unutuyorum" diyerek başvuran toplam 858 olgu (%81.9) olduğu belirlendi. "İdrar kaçırıyor musunuz?" sorusuna olguların %9.35'inin (98 olgu) evet şeklinde cevap verdiği saptandı. Ayrıntılı Geriatrik İnceleme'de, olguların mini-mental durum değerlendirmesi (MMSE) ortalama skoru 23.4±5.9, kognitif durum test (COST) ortalama skoru 22.0±6.3, Montreal Kognitif Değerlendirme Test (MoCA) skoru ortalaması 21.5±5.2 saptandı. Tanısal açıdan bakıldığında, olguların %63'ü (661 olgu) non-demans, %15.2'sinde (160 olgu) Alzheimer Hastalığı (AH), %6.5'u (69 olgu) mikst tip demans, %4.1'i (43 olgu) Lewy Cisimcikli Demans (LCD), %2.9'ü (30 olgu) vasküler demans, %1.8'sinde (18 olgu) frontotemporal demans (FTD), %0.3'ünde (3 olgu) progresif supranükleer palsi (PSP), %0.2'sinde (2 olgu) multisistem atrofi (MSA), %6'sında (62 olgu) hafif kognitif bozukluk (HKB) tanıları ile izlenmekteydi. Olguların sosyodemografik ve AGD verileri Tablo-1'de gösterilmiştir.

Olgular geriatrik sendromlar açısından gözden geçirildiğinde, en sık görülen durum polifarmasi (%59.8) olarak saptanırken, polifarmasi oranı AGD sonrası %43.2'ye geriledi. Olguların ilk başvurularındaki ve 6.ay sonraki kontroldeki (AGD sonrası) ilaç sayısı da Tablo-1'de yer almaktadır. Geriatrik sendromlardan üriner inkontinans (%44.1), ağrı (%41.8) ile diğer geriatrik sendromlar Tablo-2'de verilmiştir.

Tablo-1. Olguların Demografik ve Ayrıntılı Geriatrik Değerlendirme Parametre Özellikleri.

DEMOGRAFİK ÖZELLİKLER	
Yaş	77.4±6.8 (65-98)
Cinsiyet (K/E)	658/390
Eğitim (yıl)	7.0±4.6 (0-21)
VKİ	28.4±4.4
AYRINTILI GERIATRİK DEĞERLENDİRME	
MMSE	23.4±5.9 (0-30)
COST	22.0±6.3 (0-30)
MoCA	21.5±5.2 (0-30)
GDS	3.6±3.5 (0-15)
SÇT	3.6±1.5 (0-5)
TGYAT	86.9±19.3 (0-100)
EGYAT	10.4±5.4 (0-22)
POMA	22.6±6.2 (0-28)
MNA	10.9±2.6 (0-14)
Charlson KI	1±1 (0-5)
İlaç sayısı 1	5.6±3.3 (0-19)
İlaç sayısı 2	4.9±2.4 (0-13)

E: Erkek, K: Kadın, VKİ: Vücut Kitle İndeksi, Charlson KI: Charlson Komorbidite İndeksi, MNA: Mini Nutrisyonel Değerlendirme, POMA: Performansa Yönelik Mobilite Değerlendirmesi, EGYAT: Enstrümental Günlük Yaşam Aktiviteleri Testi, TGYAT: Temel Günlük Yaşam Aktiviteleri Testi, SÇT: Saat Çizme Testi, GDS: Geriatrik Depresyon Skalası, MoCA: Montreal Kognitif Değerlendirme, COST: Kognitif Durum Testi, MMSE: Minimal Durum Değerlendirmesi
*Değerler; Ortalama±SS (Aralık Değerler)'dir.

Tablo-2. Olgularda Görülen Geriatrik Sendromlar.

Sendrom	n (%)
Demans	357 (34)
Polifarmasi	596 (59.8)
Ortostatik hipotansiyon	275 (26.2)
Malnutrisyon	190 (18.1)
Bası yaraları	19 (1.8)
Üriner inkontinans	443 (44.1)
Düşme	346 (34.4)
Uyku Bozuklukları	401 (40.8)
Ağrı	412 (41.8)
Konstipasyon	291 (29.7)
Tremor	221 (21)
Depresyon	328 (32.6)

Tartışma

Retrospektif tanımlayıcı bu çalışmada hastalar geriatrik sendromlar açısından gözden geçirildiğinde, en sık görülen durum polifarmasi olarak saptandı. Polifarmasiyi takip eden geriatrik sendromlar üriner inkontinans, kronik ağrı ve uyku bozukluklarıydı. Değerlendirmeye aldığımız olguların %81.9'u unutkanlık yakınması ile başvururken olguların yalnızca %34'ünde demans belirtildi. Toplumda yaşayan 55 yaş ve üstü bireylerin dahil edildiği Eskişehir'de yürütülen toplum tabanlı bir çalışmada demans prevalansı tüm kohortun %8.4'ünde, 75 yaş ve üstü grubun %30.4'ünü oluşturmaktaydı (7). Çalışmamızda olguların ortalama yaşı 77 olmakla birlikte demans oranının yüksek bulunması kliniğimizin bir referans demans merkezi olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Olgularımızda en fazla saptanan demans tipi AH olmakla beraber AH'yi miks tip demanslar, LCD, vasküler demans ve FTD takip etmektedir. Florida Beyin Bankası'nda postmortem kesin tanısı konmuş 382 olgunun değerlendirildiği bir çalışmada demansların sıralaması ise %77'sinde AH, %26'sında LCD, %5'inde FTD olarak bildirilmiştir (8). Kliniğimizin nörodejeneratif demansların sıklık sıralaması literatür ile uyumlu görülmektedir.

Polifarmasi, hem diğer geriatrik sendromlara ve komorbid durumlara eşlik etmesi hem de bu durumların seyrini etkilemesi potansiyeli nedeniyle oldukça önemli bir geriatrik sendromdur. Yapılan çalışmalarda polifarmasinin ilaç-ilaç etkileşim riskini arttırdığı, hasta-ilaç uyumunu bozduğu, beslenme bozukluklarının sık görüldüğü, düşme risk artışı, üriner inkontinans sıklığı ve kognitif bozuklukla ilişkili olduğu gösterilmiştir (9,10). Sistematik bir derlemede polifarmasi oranı hospitalize edilmemiş evde yaşayan geriatrik olgularda %27-59, uzun dönemli bakım evlerinde %38-91 olarak raporlanmıştır (11). Bununla birlikte polifarmasinin yaşla birlikte artış gösterdiği artık genel kabul görmüş bir gerçektir (12-15). Çalışmamızda olguların ilk başvurularında polifarmasi oranı yaklaşık %59.8'di, AGD sonrası ilk vizitte bu oranın %43.2'ye gerilediği belirlenmiştir. Bu bulgu AGD'nin geriatrik olguların medikal değerlendirmeleri için ne kadar etkili bir araç olduğunu vurgulamaktadır. Polifarmasi sıklığının ve kullanılan ilaç sayısının ilk vizitte birlikte yapılan AGD sonrası azalması Sergi ve ark. ile Lampela ve ark. sonuçları ile uyumluluk göstermektedir (16,17).

Olgularımızda sık görülen diğer geriatrik semptom üriner inkontinanstı. Üriner inkontinans, bütün yaşlarda ve her iki cinsiyette de görülebilen, yaşla sıklığı artan, artmış düşme riski ile bağımsız olarak ilişkilendirilmiş ve maliyet yükü getiren bir geriatrik sendrom olması bakımından önemlidir. Ayrıca çalışmamızda "İdrar kaçırıyor musunuz?" sorusuna %9.3 oranında evet cevabı alınırken AGD sonrası üriner inkontinans sıklığı %44.1 olarak saptanmış olması oldukça dikkat çekicidir. Bu

nedenle geriatrik olguların değerlendirilmesinde inkontinans konusunda daha ayrıntılı sorgulanması önem arz etmektedir. Literatürde üriner inkontinans sıklığı 60 yaş üzeri erkeklerde %11-34, kadınlarda %13-50, bakım evinde yaşayanlarda %43-80 arasında bildirilmektedir (18).

Olgularımızın yaklaşık %40'ında olduğu belirlenen geriatrik sendromlar kronik ağrı ve uyku bozukluklarıydı. Osteoartrit, kemik ve eklem bozuklukları, kanser ve kronik hastalıklarla ilişkili-ağrı en sık etiyolojik nedenlerdir (19). Toplumda yaşayan yaşlı bireylerde %25-50 sıklıkta arasında ağrı sorunları olduğu bildirilmiştir (20). Bu durumun bakım evinde kalan yaşlıların %45-80'inde olduğu tahmin edilmektedir (21). Yaşlılarda ağrının tanınması ve tedavisi ayrı bir öneme sahiptir; yaşlılar ağrının yaşlanmanın doğal bir sonucu olduğunu düşünerek bunu dile getirmeyebilirler, oysa ağrı uyku bozuklukları başta olmak üzere, sosyal izolasyona, immobiliteye, depresyona neden olmaktadır (22).

Yaş ilerledikçe uyku profili de değişir ve uyku bozuklukları görülme sıklığı da artar. Çalışmamızda birincil ve ikincil uyku bozuklukları birlikte ele alındı. Yaşlı kimselerin yaklaşık yarısının uykuyu başlatma ya da sürdürme sorunu olduğu bildirilmiştir. Yaşla birlikte medikal hastalıkların sıklığında ve kullanılan ilaç sayısında artış, yaşla ilişkili sirkadien ritim değişiklikleri, çevresel ve yaşam tarzı değişiklikleri meydana gelmektedir (23). Çalışmamızda her 5 olgudan 2'si uyku bozukluğuna sahiptir ve bu durum komorbid durumlardan bağımsızdır. Bu bulgu geriatrik olguların değerlendirilmesinde mutlaka uyku bozukluklarının da ele alınmasının gerekliliğinin altını çizmektedir.

Kohortumuzda yaklaşık her üç geriatrik olgudan birinde gözlenen düşme diğer sık görülen bir geriatrik

sendromdu. Kendi evinde yaşayan 65 yaş üstü nüfusun yaklaşık 1/3'ünün her yıl düşme yaşadığı, bu olguların 1/4'ünde düşmenin tekrarladığı bildirilmiştir. Yaşlılarda düşmelerin yaralanma olmasa dahi uzun süre düştükleri pozisyonda kalmaya ikincil dehidratasyon, hipotermi, bası yaraları, pnömoni gelişebilmektedir. Bir düşme sonrası yaşlıların yaklaşık yarısı düşme korkusuna kapılmakta, ¼'ü günlük aktivitelerini kısıtlamaktadır (24). Geriatrik sendromlar içinde düşmenin ayrı bir öneme sahip olduğunu ve uygulanacak basit önlemler ya da verilecek eğitim programları (kamu spotları, ülke çapındaki kampanyalar, vb.) ile bu sıklığın azaltılabileceği kanısındayız. Çalışmamızda sıklık sırasına göre gözlenen diğer önemli geriatrik sendromlar; depresyon, konstipasyon, ortostatik hipotansiyon, malnutrisyon, tremor ve bası yaralarıydı. Geriatrik olgular bu açılarından yakınmalarını spontan dile getirmeseler bile her vizitte mutlaka sorgulanmalı, muayene edilmeli, ilgili ölçeklerle somutlaştırılıp gözden geçirilmelidir ve takip edilmelidirler.

Çalışmamızın güçlü tarafları ve bunun yanı sıra sınırlılıkları da bulunmaktadır. Ülkemizde şimdiye kadar AGD ile yapılmış bu kadar geniş olgu serisinin sunulduğu bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızın sınırlılıkları ise olguların tek merkez kaynaklı olması, toplum temelli olmayıp sadece üçüncü basamağa ulaşabilmiş olgular olması ve retrospektif doğasıdır.

Sonuç

Çalışmamız bir geriatri merkezinin izlediği olguların sosyodemografik, klinik, geriatrik sendrom özelliklerini yansıtmaması ve geriatrik olguların öncelikli ve özellikli durumlarının belirlenebilmesine imkan vermesi bakımından önemlidir. Ülkemizde yürütülen sağlık politikalarının düzenlenmesinde çalışmamızın sonuçlarının ışık tutacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Charcot JM. Clinical lecture on senile and chronic diseases. London, New Sydenham Society, 1881.
2. Nascher IL. Geriatrics. N Y Med J 1909;90:358-9.
3. Nascher IL. Geriatrics: The Diseases of Old Age and Their Treatment. Philadelphia, P. Blakiston's Son&Co; 1914.
4. Strasser DC. Geriatric rehabilitation: Perspectives from the United Kingdom. Arch Phys Med Rehabil 1992;73(6):582-6.
5. Evans JG. Geriatric medicine: A brief history. BMJ 1997;315(7115):1075-8.
6. Inouye SK, Studenski S, Tinetti ME, Kuchel GA. Geriatric syndromes: Clinical, research and policy implications of a core geriatric concept. J Am Geriatr Soc 2007;55(5):780-91.
7. Arslantas D, Oezbabalik D, Metintas S, et al. Prevalence of dementia and associated risk factors in Middle Anatolia, Turkey. J Clin Neurosci 2009;16(11):1455-9.
8. Barker WW, Luis CA, Kashuba A, et al. Relative frequencies of Alzheimer disease, Lewy body, vascular and frontotemporal dementia, and hippocampal sclerosis in the State of Florida Brain Bank. Alzheimer Dis Assoc Disord 2002;16(4):203-12.
9. Mallet L, Spinewine A, Huang A. The challenge of managing drug interactions in elderly people. Lancet 2007;370(9582):185-91.
10. Hajjar ER, Cafiero AC, Hanlon JT. Polypharmacy in elderly patients. Am J Geriatr Pharmacother 2007;5(4):345-51.
11. Elmstahl S, Linder H. Polypharmacy and inappropriate drug use among older people: A systematic review. Healthy Aging Clin Care Elder 2013;5(1):1-8.
12. Salazar JA, Poon I, Nair M. Clinical consequences of polypharmacy in the elderly: Expect the unexpected, think the unthinkable. Expert Opin Drug Saf 2007;6(6):695-704.
13. Jyrkka J, Enlund H, Lavikainen P, Sulkava R, Hartikainen S. Association of polypharmacy with nutritional status, functional ability and cognitive capacity over a three-year period in an elderly population. Pharmacoepidemiol Drug Saf 2010;20(5):514-22.

14. Fletcher PC, Berg K, Dalby DM, Hirdes JP. Risk factors for falling among community-based seniors. *J Patient Saf* 2009;5(2):61-6.
15. Nuotio M, Jylha M, Luukkaala T, Tammela T. Health problems associated with lower urinary tract symptoms in older women. *Scand J Prim Care* 2005;23(4):209-14.
16. Sergi G, De Rui M, Sarti S, Manzato E. Polypharmacy in the elderly: can comprehensive geriatric assessment reduce inappropriate medication use? *Drugs Aging* 2011;28(7):509-18.
17. Lampela P, Hartikainen S, Lavikainen P, Sulkava R, Huupponen R. Effects of medication assessment as part of a comprehensive geriatric assessment on drug use over a 1-year period: a population-based intervention study. *Drugs Aging* 2010;27(6):507-21.
18. Faltin DL. Epidemiology and definition of female urinary incontinence. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2009; 38(8 Suppl):146-52.
19. Olmez N. Osteoarthritis. In: Isik AT, Mas RM, Karan MA, Grossberg GT (eds). *New Horizons in the Geriatric Medicine. Volume 2*. Nova Science Pub Inc; 2013: 246-90.
20. Gloth FM III. Pain management in older adults: Prevention and treatment. *J Am Geriatr Soc* 2001;49(2):188-99.
21. Ferrell BA, Ferrell BR, Osterweil D. Pain in the nursing home. *J Am Geriatr Soc* 1990;38(4):409-14.
22. Tekin L, Ata E. Osteoartrit. In: Işık AT, Çelik T (eds). *Geriatrı Pratiğinde İlaç Tedavisi*. 1. Baskı. İzmir: O'Tıp Kitabevi; 2015: 335-51.
23. Roepke SK, Ancoli-Israel S. Sleep disorders in the elderly. *Indian J Med Res* 2010;131:302-10.
24. Studenki S, Swearingen JV. Falls. In: Fillit HM, Rockwood K, Young J (eds). *Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology*, 8th ed. Elsevier; 2017:864-72.

Influence of PD-0332991 treatment on cell cycle regulatory genes in breast cancer stem cells

Meme kanseri kanser kök hücrelerinde PD-0332991 uygulanmasının hücre döngüsü düzenleyici genler üzerine etkisi

Hasan Onur Çağlar¹ Sunde Yılmaz Süslüer² Cumhuriyet Gündüz² Ayfer Haydaroğlu³

¹Ege University Health Science Institute, Department of Stem Cell, İzmir, Turkey

²Ege University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, İzmir, Turkey

³Ege University Faculty of Medicine, Department of Radiation Oncology, İzmir, Turkey

Abstract

Aim: Palbociclib (PD-0332991) is an inhibitor for cyclin-dependent kinase 4/6 complex and exhibits more activity in luminal ER+ breast cancer. However, sensitivity of breast cancer stem cells (BCSCs) to PD-0332991 treatment and expression patterns of cell cycle regulatory genes after PD-0332991 treatment in BCSCs are still unclear. This study aims to determine response of BCSCs to PD-0332991 treatment.

Materials and Methods: An experimental in vitro study was designed on breast cancer cell lines. MCF-7 and BCSCs cell lines were used in this study. Water soluble tetrazolium salt-1 (WST-1) test was used for the cytotoxicity assay. Cell cycle distribution pattern and apoptosis were examined with flow cytometry according to IC50 values at 48th h. Real-Time PCR was used to detect expression profiles of CDKN1A, CHEK1, CDKN2A, CDC25A, and CCND1 genes.

Results: PD-0332991 decreased cell proliferation in both cell lines. G0/G1 arrest was detected for both cell lines. There was no apoptotic effect of PD-0332991 on MCF-7 cells and BCSCs. In MCF-7 cells, expression levels of CDKN1A, CDKN2A, and CCND1 genes were increased as 3.11, 3.21, and 1.05 folds, respectively. Expression levels of CHEK1 and CDC25A genes were decreased as 4.75 and 3.73 folds, respectively. In BCSCs, expression levels of CDKN1A, CHEK1, CDKN2A, and CCND1 were decreased as 1.15, 2.01, 1.32, and 1.68 folds, respectively. No expression of CDC25A gene was found in BCSCs group.

Conclusion: In this study, it was observed that PD-0332991 leads to different expression profiles for cell cycle regulatory genes between BCSCs and breast cancer cells.

Keywords: PD-0332991, breast neoplasms, neoplastic stem cells, G1 cell cycle arrest, cell cycle.

Öz

Amaç: Palbociclib (PD-0332991) siklin bağımlı kinaz 4/6 kompleksi için bir inhibitördür ve luminal ER+ meme kanserlerinde daha fazla aktivite sergilemektedir. Ancak, meme kanseri kök hücrelerinin (MKKH) PD-0332991 uygulamasına olan hassasiyeti ve hücre döngüsü düzenleyici genleri üzerine PD-0332991'in etkisi MKKH'leri için açıklığa kavuşmamıştır. Bu çalışma, MKKH'lerinin PD-0332991 uygulamasına olan yanıtın belirlenmesini amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntem: Meme kanseri hücre hatları üzerinde deneysel bir in vitro çalışma tasarlanmıştır. Bu çalışmada, MCF-7 ve MKKH hücre hatları kullanıldı. Suda çözünür tetrazolyum tuzu-1 (WST-1) testi sitotoksosite deneyi için kullanıldı. Hücre döngüsü dağılımı ve apoptosis, 48. saat IC50 değerlerine göre flow sitometri ile incelendi. CDKN1A, CHEK1, CDKN2A, CDC25A ve CCND1 genlerinin ifade profillerinin belirlenmesinde Real-Time PCR kullanıldı.

Corresponding Author: Hasan Onur Çağlar
Ege University Health Science Institute, Department of Stem
Cell, İzmir, Turkey

Received: 22.08.2016 Accepted: 28.02.2017

Bulgular: Her iki hücre hattında, PD-0332991 hücre proliferasyonunu azalttı. Her iki hücre hattı için G0/G1 tutuklanması belirlendi. PD-0332991'in apoptotik etkisi MCF-7 ve MKKH hücrelerinde bulunmadı. MCF-7 hücrelerinde, CDKN1A, CDKN2A ve CCND1 ifade düzeyleri sırasıyla 3,11; 3,21 ve 1,05 kat arttı. CHEK1 ve CDC25A ifade düzeyleri sırasıyla 4,75 ve 3,73 kat azaldı. MKKH'lerinde CDKN1A, CHEK1, CDKN2A ve CCND1 ifade düzeyleri sırasıyla 1,15; 2,01; 1,32 ve 1,68 kat azaldı. MKKH'lerinde, CDC25A geni ifadesi bulunmadı.

Sonuç: Bu çalışmada, MKKH ve meme kanseri hücreleri arasında PD-0332991'in hücre döngüsü düzenleyici genler için farklı ifade profillerine neden olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: PD-0332991, meme tümörleri, neoplastik kök hücreler, G1 hücre döngüsü bloğu, hücre döngüsü.

Introduction

Breast cancer is the most common cancer type among women and it is the second leading cause of the cancer-related death after respiratory system and lung cancers (1). Approximately, estimated 231,840 new cases of breast cancer are expected to be diagnosed in the USA according to a report by Siagel et al. (1). Novel effective drugs are a requirement to provide therapies due to high incidence and mortality rates of breast cancer. Cell cycle inhibitors have been evaluated for breast cancer treatment (2,3). Palbociclib (PD-0332991) is a cyclin dependent kinase-4/6 (CDK-4/6) inhibitor, leading to G1 arrest in cancer cells (4). This inhibitor binds specifically to CDK-4/6 complex involving G1/S transition in cell cycle (5-7). PD-0332991 blocks specifically cell cycle progression in G1 phase due to no activity on other kinases (2). Thus, the cancer cells are allowed to be arrested specifically in G1 phase.

Studies demonstrated that PD-0332991 is more effective for estrogen positive (ER+) breast cancer cells (4,8-11). Finn et al. showed that ER+ breast cancer cells as well as HER-2 positive cells are sensitive to PD-0332991 treatment (11). Sensitivity of breast cancer cells to PD-0332991 treatment is associated with expression patterns of cell cycle regulatory genes such as retinoblastoma (RB1), CDKN2A (p16), and cyclin D1 (11). However, expression patterns of genes that determine molecular subtypes of breast cancer are not implicated in sensitivity to PD-0332991 treatment. Paternot et al. (12) identified that PD-0332991 stabilizes CDK-4/6-cyclin D3 complex devoid of p21 and p27 proteins. Depending on withdrawal of PD-0332991, stabilized cyclin D3-CDK4/6 complex via PD-0332991 contributes to entry S phase in cell cycle (12). Thus, it has been suggested that genes which regulate G1/S checkpoint in cell cycle may also assess sensitivity of breast cancer cells to PD-0332991 treatment (11,12).

Cancer stem-like cells (CSCs) are distinct and highly tumorigenic cell population in tumor tissue (13). CSCs, as a unique population in tumor tissue, express stem cell markers and they also exhibit stem cell-like features such as self-renewing (13). It is known that

breast cancer stem-like cells (BCSCs) are one of the causes of resistance against radio- and chemotherapy, leading to treatment failure (13-15). Although BCSCs are found in all subtypes of breast cancer, basal-type breast cancer tumors have higher population of BCSCs than luminal type breast cancer tumors (16,17). Furthermore, the loss of p16 expression increases the percentage of BCSCs in estrogen negative breast cancer cell lines (18). Expression profiles of cell cycle regulatory genes in BCSCs may be a reason for differently observed sensitivity of PD-0332991 among breast cancer subtypes. A number of cell cycle related genes such as CCNA1, CCND1, CCND2, and CDKN2A exhibit an abnormal expression pattern in breast cancer stem cells when compared with its ordinary cancer cell line (19). Suppression of NANOG gene, maintaining stem cell features, in breast cancer cells reduces particularly expression of cyclin D1 protein (20). In addition, the down-regulation of NANOG gene increases G0/G1 arrest for breast cancer cells (20). Although cell cycle related genes, responsible for sensitivity to PD-0332991, show a different expression pattern between BCSCs and breast cancer cells, influence of expression pattern of cell cycle regulatory genes on response to PD-0332991 in BCSCs are still unclear. In this study, we therefore aimed to show expression patterns of cell cycle regulatory gene, acting together in G0/G1 arrest, in breast cancer stem cells after PD-0332991 treatment.

Materials and Methods

An experimental in vitro study was designed on breast cancer cell lines. MCF-7 breast cancer cell line and breast cancer stem cell line (CelProgen, CA, USA, Cat No: 36102-29-T25), which is positive for such stem cell markers as CD133, CD44, SSEA3/4, and aldehyde dehydrogenase, were used in the current study.

Cell culture and reagent

PD-0332991-isethionate was purchased from Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich, USA). MCF-7 breast cancer cell line was purchased from ATCC (ATCC, HTB-22, Wesel, Germany). RPMI 1640 medium, containing 10% FBS, was used for MCF-7 cells. Human breast cancer stem-like cell line was purchased from CelProgen (San Pedro, CA, USA). Human breast cancer stem cell

complete growth media, including all components to maintain cell culture, was used. Cells were maintained at 37°C under a humidified atmosphere of 5% CO₂ in air. The passage numbers of BCSC and MCF-7 cell lines were five and seven, respectively.

WST-1 cell proliferation assay

WST-1 test (Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Germany) was performed to show cytotoxicity of PD-0332991 on MCF-7 and BCSC cell lines. Before the cytotoxicity assay was performed, the cell numbers per well were optimized via WST-1 test in order to eliminate a deceptive apoptotic effect due to doubling time differences between cell lines. The cells, starting with 1×10^6 in a well and diluted in 1/2 ratio, were seeded on 96 well-plate. After 72h incubation with the media, without agent, proliferation characteristic was determined with WST-1 test for BCSCs and MCF-7 cells. Thus, in assay, MCF-7 cell line was seeded as 1×10^4 cells per well in 96 well-plates. For BCSC cell line, 7×10^3 cells per well were seeded in 96 well-plates. PD-0332991 treatments for both cell lines were depending on time and concentrations. Cells were treated with the logarithmic dilution of PD-0332991 ranging from 100µM to 0.0001µM for 24h, 48h, and 72h. WST-1 reagent, 10µl, was added to 100µl medium containing PD-0332991. Absorbance values at 450nm were taken with the microplate reader (Thermoscientific, Multiskan FC, Finland) after incubation periods. Absorbance value at 620nm was used as the reference wavelength. The viability of the cells was calculated according to absorbance value made up of WST-1 reduction (21, 22). The absorbance of control cells was assumed as showing 100% viability for normalization.

Cell cycle assay by flow cytometry

IC₅₀ values of PD-0332991 at 48th h were used in cell cycle experiment for both cell lines. Non-treated cells were used as control. BD Cycletest Plus DNA Reagent Kit (BD Pharmigen, CA, USA) was used for cell cycle assay. Protocol was performed according to manufacturer's instructions. For the determination of cell cycle pattern by flow cytometry, BCSCs and MCF-7 cells were seeded at a density of 5×10^5 cells per 25cm² cell culture flasks. For defined concentrations, depending on IC₅₀ values at 48th h, 8 ml media with agent was prepared and the cells were treated. Media, 8ml without agent, was used for the control group which has the same cell number as the treatment group. After 48h incubation, cells were removed from surface of cell culture flask and cells were taken to falcon tubes. The cell suspensions were centrifuged at 300xg for 5 min. After removing the supernatant, the pellet was resuspended with 1ml washing buffer. Washing step was repeated twice. Washing buffer was

removed without disturbing the pellet. 250µl of solution A (trypsin buffer) was added to the pellet and mixed gently. Tubes were incubated at room temperature for 10 min. After incubation, 200µl of solution B was added to tubes without removing solution A. Incubation step was repeated. 200µl of solution C (propidium iodide stain solution with RNase enzyme) kept in 4°C was added to tubes. Samples were read at the flow cytometry (BD Accuri C6 flow cytometry, Becton–Dickinson, USA). The argon laser light source, emitting at 488nm wavelength, was used for excitation. A fluorescence detector equipped with the 585/40 band-pass filter was used to show the PI-DNA content (FL2-A) for the analysis.

Apoptosis assay by flow cytometry

Both cell lines were treated with IC₅₀ values of PD-0332991 at 48th h. Non-treated cells were used as control. BCSCs and MCF-7 cells were seeded at a density of 5×10^5 cells per 25cm² cell culture flasks. The control group had the same cell number as treatment group. PE-Annexin V Apoptosis Detection Kit I (BD Pharmigen, San Diego, CA, USA) was used to detect apoptosis after PD-0332991 treatment in both cell lines. Protocol was performed according to manufacturer's instructions. Cells were washed twice with 1X PBS. After washing step, 1X binding buffer was added to tubes. 5µl of PE-Annexin V and 7-AAD antibodies were added to tubes and samples were incubated for 15 min at room temperature in the dark. After incubation, 400µl of binding buffer was added to samples and the prepared samples were read at the flow cytometry (BD Accuri C6 Flow Cytometer, Becton–Dickinson, USA) within 1h. The argon laser light source, emitting at 488nm wavelength, was used for excitation. The 670nm band-pass filter for 7-AAD fluorescence (FL3-A) and a fluorescence detector equipped with the 585/40 band-pass filter for FL2A were used for analysis. A total of 20.000 events were acquired for analysis with using Cell Quest Software.

Gene expression analysis

In order to detect mRNA expression of cell cycle regulatory genes, total RNA were isolated from PD-0332991 treated and non-treated cell lines. Total RNA purification Kit (Jena Bioscience, Jena, Germany) was used to isolate total RNA from cell lines according to manufacturer's instructions. Total RNA (1-5µg) was converted to cDNA with using SCRIPT cDNA Synthesis Kit (Jena Bioscience, Jena, Germany). For the detection of gene expression, 1.0 µL cDNA were mixed with 10 µl qPCR GreenMaster with UNG Mix (Jena Bioscience, Jena, Germany) and sterile bidistilled water was added to PCR mix. The expression studies of *CDKN1A*, *CHEK1*, *CDKN2A*, *CDC25A*, and *CCND1* genes were performed with LightCycler (Roche 480

LightCycler, Mannheim, Germany) according to the GreenMaster protocol (Jena Bioscience, Jena, Germany). Relative quantification method described by Livak et al. (23) was used to analyze data. *ACTB*, *HPRT1*, *18SRNA*, and *GAPDH* genes were chosen as housekeeping genes for normalization. Ct values were obtained for both the target genes and the housekeeping genes in all cell lines. The expression data was normalized to Ct values obtained from non-treated cell lines to calculate $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Primers for gene expression were designed with Probe Finder Software (Roche Applied Science). Primers were given in Table-1.

Statistical Analysis

GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., CA, USA) was used for statistical analysis. The two-way ANOVA test was performed with Dunnett's multiple comparisons test to compare the mean differences between treatment concentrations and time in the cytotoxicity assay. The same test was also used to compare the mean differences for two independent variables, cell cycle phase and treatment, in the data analysis of cell cycle assay. A *p* value under 0.05 was accepted as significant.

Table-1. Primer Sequences Used for RT-PCR Study.

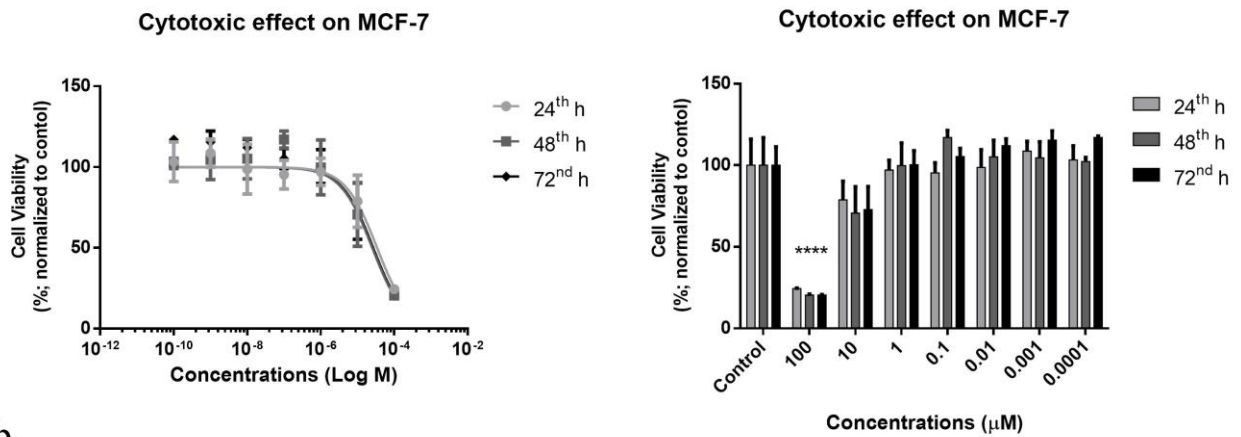
Genes	Sequences	Tm	GC%	Amplicon size
CDKN1A				
Forward	ccgaggcactcagaggag	59	67	112 bp
Reverse	agctgctcgtgtccact	59	61	
CHEK1				
Forward	tgactccggcttctaagg	59	50	113 bp
Reverse	atgtggcaggaagccaaa	60	50	
CDKN2A				
Forward	gtggacctggctgaggag	59	67	133 bp
Reverse	tcttcaatcggggatgtct	59	45	
CDC25A				
Forward	cgtcatagaaactacaaacctga	60	42	96 bp
Reverse	tctggtctctcaactgacc	59	50	
CCND1				
Forward	gccgagaagctgtgcatc	60	61	90 bp
Reverse	ccactgagctgttcacca	59	50	
ACTB				
Forward	attggcaatgagcggttc	59	50	79 bp
Reverse	ctgggatgccacaggact	60	61	
HPRT1				
Forward	gaccagtcaacaggggacat	59	55	95 bp
Reverse	gtgtcaattatctccacaatcaag	59	33	
18SRNA				
Forward	ctcaacacgggaacctcac	60	55	110 bp
Reverse	cgctccaccaactaagaacg	60	55	
GAPDH				
Forward	ccccggttctataaattgagc	60	45	127 bp
Reverse	cacctccccatggtgtct	60	58	

Results

PD-0332991 decreases proliferation of BCSC and MCF-7 cells

PD-0332991 decreased cell proliferation in both MCF-7 and BCSCs groups. IC₅₀ values at 24th h, 48th h, and 72nd h of treatments for MCF-7 cells were 34.37 μM, 25.21 μM, and 26.9 μM, respectively (Figure-1a). IC₅₀ values of PD-0332991 in BCSC cell line were 37.37 μM, 13.16 μM, and 4.12 μM at 24th h, 48th h and 72nd h, respectively (Figure-1b). Cytotoxicity at 48th h and 72nd h of treatment was higher in BCSCs compared to MCF-7 cells at 10 μM concentration. BCSCs were found to be more sensitive to treatment.

a



b

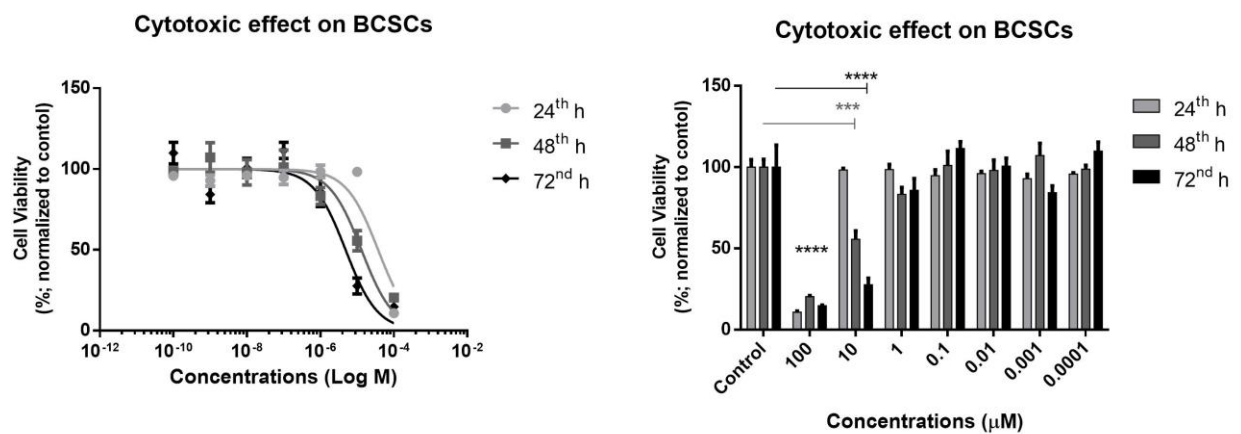


Figure-1. Results of WST-1 proliferation assay after PD-0332991 treatment. IC₅₀ values at 24th h, 48th h, and 72nd h of treatment in MCF-7 cells were 34.37 μM, 25.21 μM, and 26.9 μM, respectively (a). IC₅₀ values for BCSCs were 37.37 μM, 13.16 μM, and 4.12 μM at 24th h, 48th h and 72nd h, respectively (b). **** and *** marks describe respectively *p* values under 0.0001 and 0.001 with respect to two way ANOVA analysis.

G0/G1 arrest in MCF-7 cells and BCSC cells after PD-0332991 treatment

IC₅₀ values of PD-0332991 at 48th h were used in cell cycle analysis of MCF-7 and BCSC cell lines. For both cell lines, G0/G1 arrest was detected after treatment. In MCF-7 control group, the percentage of cells at G0/G1, S, G2/M were determined as 48.9%, 23.5%, and 29.6%, respectively. The percentages of cells in G0/G1, S, G2/M phases for PD-0332991 treated cells were 73.9%, 13.1%, and 12.2%, respectively (Figure-2a). In BCSC control group, the percentage of cells at G0/G1, S, G2/M were determined as 57.0%, 17.0%, and 27.6%, respectively. After treatment, in BCSC cell line, the percentages of cells in phases of G0/G1, S, G2/M were 71.3%, 11.8%, and 17.8%, respectively (Figure-2b). PD-0332991 treatment induced G1 arrest and significant increase in the percentage of cells in G0/G1 phase was detected for both cell lines.

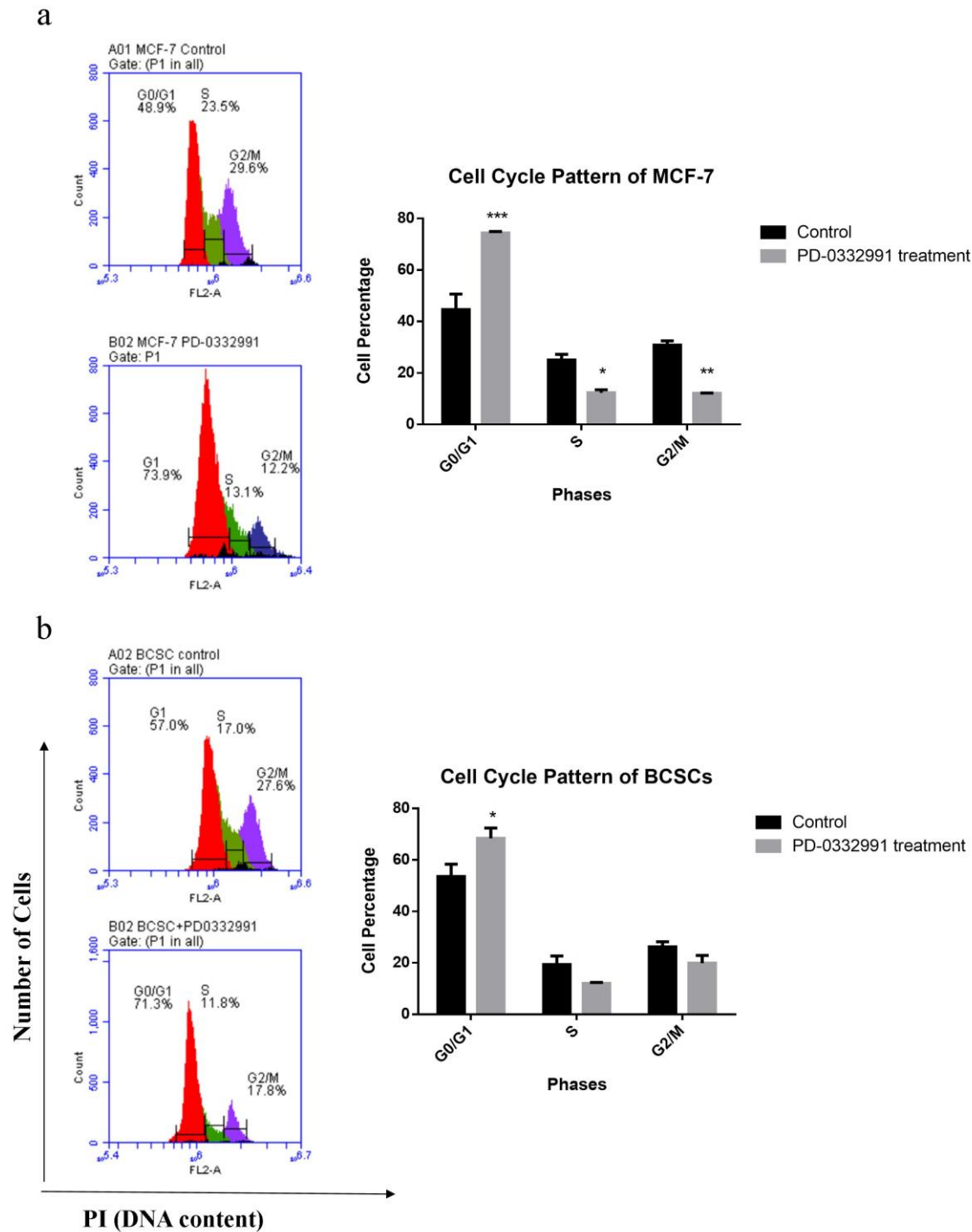


Figure-2. Cell cycle patterns of MCF-7 cells (a) and BCSCs (b) after treatment of IC_{50} values at 48th h. With PD-0332991 treatment, G0/G1 arrest was detected for both cell lines. ***, ** and * marks describe respectively p values under 0.001, 0.01, and 0.05 with respect to two way ANOVA analysis.

Apoptotic effect of PD-0332991 on BCSC and MCF-7 cell lines

Cells were treated with concentrations (IC_{50} values at 48th h) of PD-0332991. Non-treated cells were used as control. In MCF-7 control group, the percentage of living cells was 91.0%. The percentage of apoptotic cells in MCF-7 control group was 2.4%. After treatment, the percentages of living and apoptotic cells were 86.3% and 9.3%, respectively (Figure-3a). In BCSC control group, the percentages of living and apoptotic cells were detected as 96.1% and 2.6%, respectively. After treatment for BCSCs, distributions of the percentages of living and apoptotic cells were 96.8% and 2.1%, respectively (Figure-3b). There was no apoptotic effect of PD-0332991 on MCF-7 cells and BCSCs.

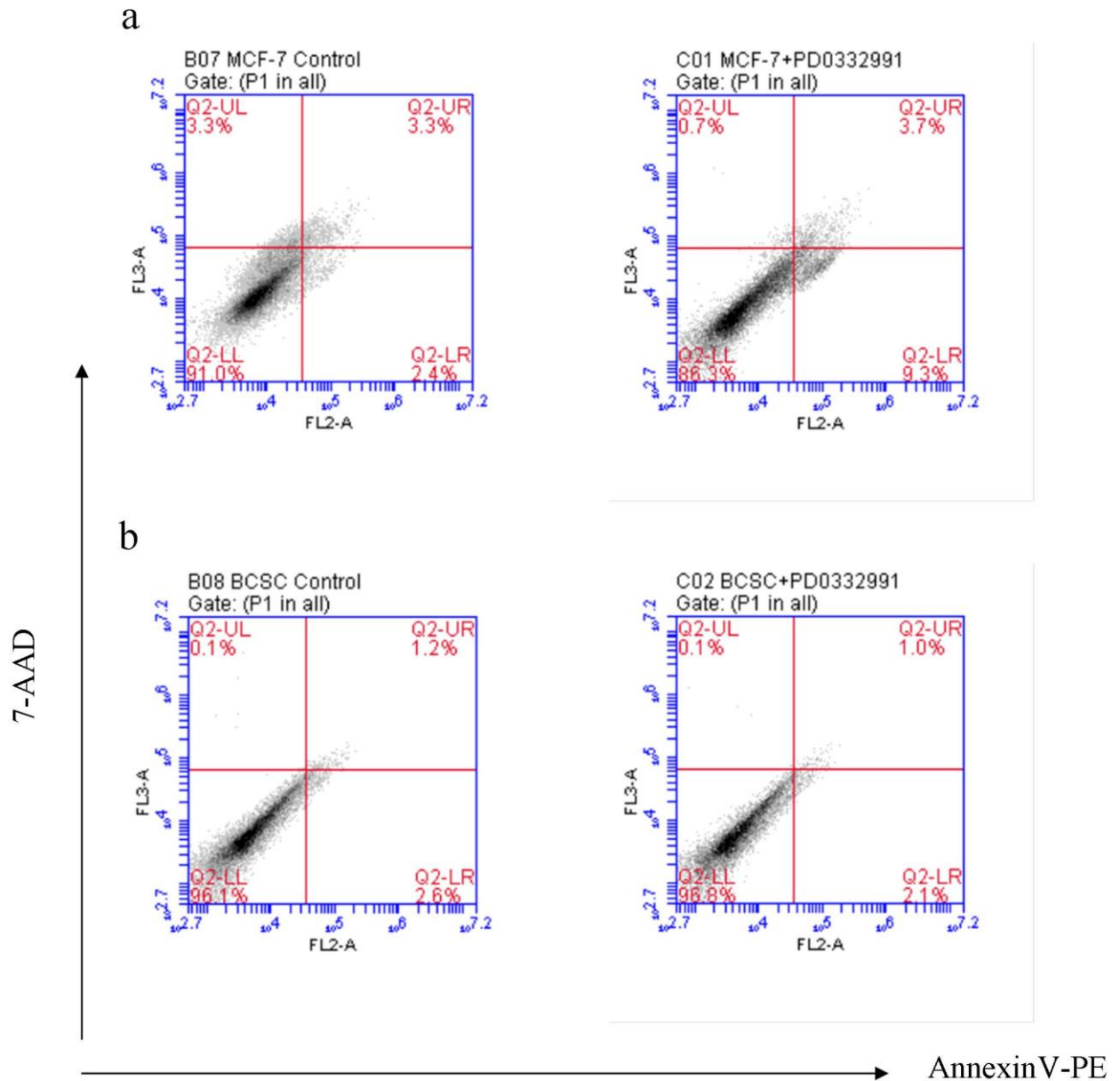


Figure-3. Apoptosis assay for MCF-7 (a) and BCSCs (b) cell lines after treatment. Non-treated cells were used as control. PD-0332991 did not induce apoptosis in BCSCs and MCF-7 cell lines.

Gene expression profiles of G1 regulatory genes after PD-0332991 treatment

After 48h PD-0332991 treatment in MCF-7 cells, expression levels of *CDKN1A*, *CDKN2A*, and *CCND1* genes were increased 3.11, 3.21, and 1.05 folds, respectively (Figure-4a). Expression levels of *CHEK1* and *CDC25A* genes were decreased as 4.75 and 3.73 folds, respectively. In BCSCs, expression levels of *CDKN1A*, *CHEK1*, *CDKN2A*, and *CCND1* genes were decreased as 1.15, 2.01, 1.32, and 1.68 folds, respectively (Figure-4b). No expression of *CDC25A* gene was found in BCSCs group.

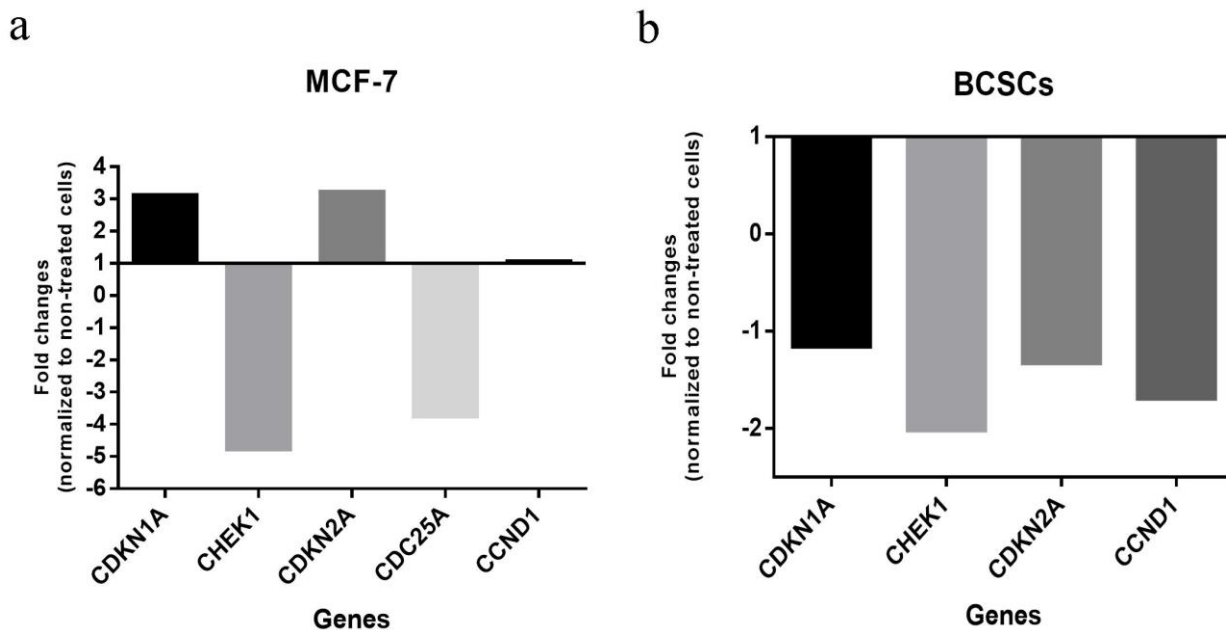


Figure-4. Expression profiles of *CDKN1A*, *CHEK1*, *CDKN2A*, *CDC25A*, and *CCND1* genes in MCF-7 (a) and BCSCs cell lines (b). mRNA expression of *CDC25A* gene was not observed in BCSCs group.

Discussion

Effect of PD-0332991 treatment on BCSCs was identified in this study. BCSCs were more sensitive to PD-0332991 treatment with respect to MCF-7 cells. In addition, expression patterns of cell cycle regulatory genes between BCSCs and MCF-7 cell lines were dissimilar in response to treatment.

It was found that PD-0332991 decreased proliferation of MCF-7 cells which is reported by other studies (6,11). Finn et al. found that IC_{50} values of PD-0332991 for MCF-7 are at nanomolar concentration levels (11). However, in this study, IC_{50} values for MCF-7 cells were not at nanomolar levels. Different methods utilized for determining of cell proliferation and treatment period may cause differently observed IC_{50} values for MCF-7 in the literature (11,24). Robinson et al. demonstrated that IC_{50} value is not observed at $10\mu M$ concentration of PD-0332991 for 72h treatment in MCF-7 cells when MTT assay is evaluated for measuring cell proliferation (24). In this study, it was also found that PD-0332991 decreased cell proliferation of BCSCs. In addition, IC_{50} concentrations of treatment at 48th h and 72nd h were lower in BCSCs compared to MCF-7 cells. BCSCs were more sensitive to treatment than MCF-7 cells.

Studies indicate that MCF-7 cell line is more sensitive to PD-0332991 treatment compared to MDA-MB-231 cell line which is non-luminal and HER-2 negative cell line (11). Interestingly, it is known that MDA-MB-231 cell line has higher CD44⁺/CD24⁻ cell population than luminal

type breast cancer cell lines such as MCF-7 (16,17). The different activity of PD-0332991 among breast cancer subtypes may be associated with variable percentage of BCSCs population in tumor tissue. In the current study, cell cycle pattern and apoptosis were examined after treatment according to IC_{50} values at 48h. As expected for MCF-7 cells, G0/G1 arrest was detected after treatment (6,11). In addition, PD-0332991 did not induce apoptosis in MCF-7 which is in line with other studies (4,9,11). G0/G1 arrest and no apoptotic effect were also observed for BCSCs after treatment.

Studies indicated that response of breast cancer cells to PD-0332991 is associated with expression pattern of CDK4/6–pRb–E2F pathway mediated genes such as Rb1, *CDKN2A*, and cyclin D1 (25-27). In cell cycle, mitogenic signals induce cyclin D1 gene (*CCND1*) expression to initiate G1–S transition. Cyclin D1 is assembled spontaneously with CDK4 or CDK6 proteins to form active kinase complexes. Active CDK4 and CDK6 complexes phosphorylate Rb1 protein which contributes to release of the E2F transcription factors. Mediators such as CCNB1, CDK2 and CDK1 which promote transition to further steps in cell cycle are expressed by released E2F transcription factors (25-27). *CDC25A* activates CDK2–cyclin E and CDK2–cyclin A complexes during G1-S transition to entry S phase (28-30). In addition, *Cdc25A* activates also Cdk4-cyclin D complex in G1 phase (31). Chk1 kinase (*CHEK1*) is a negative regulatory factor for *CDC25A* action (32). The phosphorylation of regulatory region of *CDC25A* protein

due to active Chk1 leads to ubiquitin mediated proteolysis (32,33). Chk1 can also be a target of the CDK4/6–pRb–E2F pathway due to the fact that Chk1 has E2F-binding sites (34).

In this study, expression profiles of *CDKN1A*, *CHEK1*, *CDKN2A*, *CDC25A*, and *CCND1* genes were examined in both cell lines after PD-0332991 treatment. Defined genes were chosen due to be direct target of CDK4/6–pRb–E2F pathway which is responsible for activity of PD-0332991. *CCND1* expression was increased in MCF-7 cell line after treatment (11). In addition, elevated expressions of *CDKN1A* and *CDKN2A* were detected. For MCF-7 cells, decreased expression levels of *CHEK1* and *CDC25A* were also observed. On the contrary, expression levels of *CDKN1A*, *CHEK1*, *CDKN2A*, and *CCND1* were decreased in BCSCs after treatment. Expression of *CDC25A* was not found in BCSCs group. *CDC25A* is expressed in early G1 phase of cell cycle and its activity is highly observed from the G0/G1 checkpoint to the M phase (29,35). Upregulation of *CDC25A* in human embryonic stem cells shortens G1-S transition time depending on Rb-E2F pathway (29). Absence of *CDC25A* may be associated with why BCSCs was more sensitive to PD-0332991 treatment. It was found that expression patterns of cell cycle regulatory genes involved in early and late G1 phase were different between MCF-7 and BCSCs cell lines after treatment. This difference may determine biological response of breast cancer cells to PD-0332991.

Breast cancer cells, overexpressing *CDKN2A* and *CDKN1A*, exhibit senescence mediated features such as hypertrophic appearance and high β -galactosidase activity (36). Furthermore, induced expression of *CDKN2A* and *CDKN1A* triggers senescence in G1 arrested cells (36,37). After treatment, MCF-7 cells may be drifted to senescence. Contrary to MCF-7 cells, expression levels of *CCND1*, *CDKN1A*, and *CDKN2A*

were decreased in BCSCs after treatment. Decreased expression of CDK inhibitors (CKIs) and *CCND1* in BCSCs may be an adaptation to treatment for maintaining stem cell-like features. Inhibition of *CCND1* expression by siRNA increases migration features and ALDH expression of estrogen negative breast cancer cells (38). Suppressed *CCND1* expression in ER- cell lines induces also mammosphere formation. Similar results for induced cancer stem cell-like features are observed when CDK4/6 is inhibited by siRNA or PD-0332991 (38). Expression pattern of CKIs may support for maintaining stem cell-like features. Depletion of p16 by RNA interference increases the percentage of BCSCs in estrogen negative breast cancer cell lines (18). In addition, suppression of *CDKN2A* or *CDKN1A* increases efficiency of generating induced pluripotent stem cells (iPS) in order not to be observed p21- and p16-mediated senescence (39-41).

Conclusion

In this study, the effect of PD-0332991 on expression changes of cell cycle regulatory genes in breast cancer stem cells was shown for the first time. In the current study, it was observed that PD-0332991 leads to different expression profiles for cell cycle regulatory genes between BCSCs and breast cancer cells. It was suggested that expression profile of CDK4/6–pRb–E2F pathway related genes after PD-0332991 treatment may determine divergent response due to maintenance of cancer stem cell features.

Conflict of interest

Authors declare that there is no conflict of interest.

Acknowledgements

This study is financially supported by Ege University Science and Technology Center-Technology Transfer Office (EBILTEM-TTO) (Grant numbers: 15-KSUAM-001 and 15-KSUAM-002).

References

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 2015;65(1):5-29.
2. Dukelow T, Kishan D, Khasraw M, Murphy CG. CDK4/6 inhibitors in breast cancer. *Anti-cancer drugs* 2015;26(8):797-806.
3. Tamura K. Development of cell-cycle checkpoint therapy for solid tumors. *Jpn J Clin Oncol* 2015;45(12):1097-102.
4. Dhillon S. Palbociclib: first global approval. *Drugs* 2015;75(5):543-51.
5. Rocca A, Farolfi A, Bravaccini S, Schirone A, Amadori D. Palbociclib (PD 0332991) : targeting the cell cycle machinery in breast cancer. *Expert Opin Pharmacother* 2014;15(3):407-20.
6. Fry DW, Harvey PJ, Keller PR, et al. Specific inhibition of cyclin-dependent kinase 4/6 by PD 0332991 and associated antitumor activity in human tumor xenografts. *Mol Cancer Ther* 2004;3(11):1427-38.
7. Toogood PL, Harvey PJ, Repine JT, et al. Discovery of a potent and selective inhibitor of cyclin-dependent kinase 4/6. *J Med Chem* 2005;48(7):2388-406.
8. Beaver JA, Amiri-Kordestani L, Charlab R, et al. FDA Approval: Palbociclib for the treatment of postmenopausal patients with estrogen receptor-positive, HER2-negative metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2015;21(21):4760-66.
9. O'Sullivan CC. Overcoming endocrine resistance in hormone-receptor positive advanced breast cancer-the emerging role of CDK4/6 inhibitors. *Int J Cancer Clin Res* 2015;2(4):029.
10. Finn RS, Aleshin A, Slamon DJ. Targeting the cyclin-dependent kinases (CDK) 4/6 in estrogen receptor-positive breast cancers. *Breast Cancer Res* 2016;18(1):17.

11. Finn RS, Dering J, Conklin D, et al. PD 0332991, a selective cyclin D kinase 4/6 inhibitor, preferentially inhibits proliferation of luminal estrogen receptor-positive human breast cancer cell lines in vitro. *Breast Cancer Res* 2009;11(5):R77.
12. Paternot S, Colleoni B, Bisteau X, Roger PP. The CDK4/CDK6 inhibitor PD0332991 paradoxically stabilizes activated cyclin D3-CDK4/6 complexes. *Cell Cycle* 2014;13(18):2879-88.
13. Dawood S, Austin L, Cristofanilli M. Cancer stem cells: Implications for cancer therapy. *Oncology* 2014;28(12):1101-07.
14. Bensimon J, Altmeyer-Morel S, Benjelloun H, Chevillard S, Lebeau J. CD24(-/low) stem-like breast cancer marker defines the radiation-resistant cells involved in memorization and transmission of radiation-induced genomic instability. *Oncogene* 2013;32(2):251-8.
15. Fillmore CM, Kuperwasser C. Human breast cancer cell lines contain stem-like cells that self-renew, give rise to phenotypically diverse progeny and survive chemotherapy. *Breast Cancer Res* 2008;10(2):R25.
16. Sheridan C, Kishimoto H, Fuchs RK, et al. CD44+/CD24- breast cancer cells exhibit enhanced invasive properties: An early step necessary for metastasis. *Breast Cancer Res* 2006;8(5):R59.
17. Fillmore C, Kuperwasser C. Human breast cancer stem cell markers CD44 and CD24: Enriching for cells with functional properties in mice or in man? *Breast Cancer Res* 2007;9(3):303.
18. Arima Y, Hayashi N, Hayashi H, et al. Loss of p16 expression is associated with the stem cell characteristics of surface markers and therapeutic resistance in estrogen receptor-negative breast cancer. *Int J Cancer* 2012;130(11):2568-79.
19. Murat Dogan S, Pinar Ercetin A, Altun Z, Dursun D, Aktas S. Gene expression characteristics of breast cancer stem cells. *J BUON* 2015; 20(5):1304-13.
20. Han J, Zhang F, Yu M, et al. RNA interference-mediated silencing of NANOG reduces cell proliferation and induces G0/G1 cell cycle arrest in breast cancer cells. *Cancer Lett* 2012;321(1):80-8.
21. Cook JA, Mitchell JB. Viability measurements in mammalian cell systems. *Anal Biochem* 1989; 179(1):1-7.
22. Ishiyama M, Sasamoto K, Shiga M, et al. Novel disulfonated tetrazolium salt that can be reduced to a water-soluble formazan and its application to the assay of lactate dehydrogenase. *Analyst* 1995;120(1):113-6.
23. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001;25(4):402-8.
24. Robinson TJ, Liu JC, Vizeacoumar F, et al. RB1 status in triple negative breast cancer cells dictates response to radiation treatment and selective therapeutic drugs. *PloS one* 2013;8(11):e78641.
25. Asghar U, Witkiewicz AK, Turner NC, Knudsen ES. The history and future of targeting cyclin-dependent kinases in cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov* 2015;14(2):130-46.
26. Johnson J, Thijssen B, McDermott U, Garnett M, Wessels L, Bernards R. Targeting the RB-E2F pathway in breast cancer. *Oncogene* 2016; 35(37):4829-35.
27. Lim S, Kaldis P. Cdks, cyclins and CKIs: Roles beyond cell cycle regulation. *Development* 2013;140(15):3079-93.
28. Boutros R, Lobjois V, Ducommun B. CDC25 phosphatases in cancer cells: key players? Good targets?. *Nat Rev Cancer* 2007;7(7):495-507.
29. Neganova I, Lako M. G1 to S phase cell cycle transition in somatic and embryonic stem cells. *J Anat* 2008; 213(1): 30-44.
30. Donjerkovic D, Scott D W. Regulation of the G1 phase of the mammalian cell cycle. *Cell Research* 2000;10(1):1-16.
31. Blomberg I, Hoffmann I. Ectopic expression of Cdc25A accelerates the G(1)/S transition and leads to premature activation of cyclin E- and cyclin A-dependent kinases. *Mol Cell Biol* 1999;19(9):6183-94.
32. Chen MS, Ryan CE, Piwnica-Worms H. Chk1 kinase negatively regulates mitotic function of Cdc25A phosphatase through 14-3-3 binding. *Mol Cell Biol* 2003;23(21):7488-97.
33. Bartek J, Lukas J. Pathways governing G1/S transition and their response to DNA damage. *FEBS letters* 2001;490(3):117-22.
34. Semizarov D, Kroeger P, Fesik S. siRNA-mediated gene silencing: A global genome view. *Nucleic Acids Res* 2004;32(13):3836-45.
35. Jinno S, Suto K, Nagata A, et al. Cdc25A is a novel phosphatase functioning early in the cell cycle. *EMBO J* 1994;13(7):1549-56.
36. Capparelli C, Chiavarina B, Whitaker-Menezes D, et al. CDK inhibitors (p16/p19/p21) induce senescence and autophagy in cancer-associated fibroblasts, "fueling" tumor growth via paracrine interactions, without an increase in neo-angiogenesis. *Cell cycle* 2012;11(19):3599-610.
37. Blagosklonny MV. Geroconversion: Irreversible step to cellular senescence. *Cell Cycle* 2014;13(23):3628-35.
38. Lamb R, Lehn S, Rogerson L, Clarke RB, Landberg G. Cell cycle regulators cyclin D1 and CDK4/6 have estrogen receptor-dependent divergent functions in breast cancer migration and stem cell-like activity. *Cell Cycle* 2013;12(15):2384-94.
39. Li H, Collado M, Villasante A, et al. The Ink4/Arf locus is a barrier for iPS cell reprogramming. *Nature* 2009;460(7259):1136-39.
40. Hong H, Takahashi K, Ichisaka T, et al. Suppression of induced pluripotent stem cell generation by the p53-p21 pathway. *Nature* 2009;460(7259):1132-35.
41. Nishi M, Akutsu H, Kudoh A, et al. Induced cancer stem-like cells as a model for biological screening and discovery of agents targeting phenotypic traits of cancer stem cell. *Oncotarget* 2014;5(18):8665-80.

Bir mevsimsel influenza epidemisi deneyimi

Experience of a seasonal influenza epidemic

Bedia Mutay Suntutur¹ Hava Kaya¹ Ferit Kuşcu²

¹Adana Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Adana, Türkiye

²Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

Öz

Amaç: Grip, dünyanın bütün bölgelerinde görülebilen, influenza virüsünün neden olduğu bir akut solunum yolu enfeksiyonudur. İnfluenza ile enfekte olan hastalarda, hastaneye yatışı gerektiren ve ölüme yol açabilen komplikasyonlar gelişebilmektedir. Bu çalışmada 2015-2016 sezonundaki influenza epidemisi sırasında hastaların klinik ve virolojik bulgularının ve ağır hastalık açısından risk faktörlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: İnfluenza benzeri hastalık tanısıyla, 2015-2016 influenza sezonunda hastanemizde yatırılarak takip edilen 284 hasta retrospektif olarak değerlendirildi. Nazofarengeal sürüntü örnekleri, Halk Sağlığı Laboratuvarında 21 farklı virüs açısından PCR ile test edildi.

Bulgular: İnfluenza benzeri hastalık tanısı ile yatırılarak takip edilen 284 hastanın 134'ü (%47.2) erkek, 150'si (%52.8) kadın ve yaş ortalaması 31.4 yıl (0-91) idi. İnfluenza tanısı 175 (%62) hastada virolojik olarak doğrulandı. İnfluenza virüslerinin 136'sı (%78) H1N1; 30'u (%17) H3N2; dokuzu (%5) ise influenza B virüsü idi. H1N1 saptanan olguların 97'sinde (%71.3); H3N2 saptanan olguların 15'inde (%50); İnfluenza B saptananların dördünde (%44.4) pnömoni ile uyumlu klinik ve/veya radyolojik bulgular mevcuttu. İleri yaştaki (≥ 65 yaş) hastalarda mortalite istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p=0.007$).

Sonuç: Birinci basamak sağlık kurumları ile yürütülen sentinel surveyansın yanında ulusal hastane bazlı surveyansın yapıyor olması hem influenza aktivitesinin izlenmesine hem de gerçek hastalık yükünün belirlenmesine katkı sağlayacaktır. Toplanan veriler hastalık kontrol önlemlerinin ve ulusal aşı politikalarının şekillenmesinde önemli rol oynayacaktır.

Anahtar Sözcükler: Mevsimsel influenza, hastane bazlı surveyans, pnömoni.

Abstract

Aim: Influenza is an acute respiratory infection caused by influenza viruses which circulate in all parts of the world. Patients infected with influenza can develop complications that result in hospitalization and death. In this study, it has been aimed to interpret the clinical, virologic findings and risk factors for severe illness of the patients during 2015-2016 influenza epidemic.

Materials and Methods: The hospitalised 284 patients diagnosed with Influenza like illness during 2015-2016 influenza season, were evaluated retrospectively. Nasopharyngeal swab samples were tested for 21 different virus by PCR in Public Health Laboratory.

Results: Of the 284 patients hospitalized with the diagnose of Influenza like-illness, 134 (47.2%) were male; 150 (52.8%) were female and the median age was 31.4 (0-91) years. Clinical influenza diagnose was confirmed virologically in 175 patients. Influenza virus distribution was H1N1 in 136 (78%) patients, H3N2 in 30 patients and Influenza B in 9 (5%) patients. Clinical and/or radiological findings consistent with pneumonia were present in 97 (71.3%) of H1N1 cases, 15 (50%) of H3N2 cases and 4 (44.4%) of Influenza B cases. Mortality was statistically significantly higher in elderly (≥ 65 years) patients ($p=0.007$).

Yazışma Adresi: Ferit Kuşcu

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi:25.02.2017 Kabul Tarihi: 09.03.2017

Conclusion: Beside the sentinel surveillance which is conducted in the first-level health facilities, national hospital based surveillance practices will contribute both to follow-up the influenza activity and to determine the real disease burden. Collected data will play an important role in developing both disease control measures and national vaccination policies.

Keywords: Seasonal influenza, hospital-based surveillance, pneumonia.

Giriş

Grip, her yıl dünya nüfusunun %5-20'sini etkileyen, özellikle risk gruplarında ciddi seyirli hastalığa ve ölümlere neden olabilen, geniş halk kitlelerini etkilediği için halk sağlığı açısından da özel önemi olan bir enfeksiyon hastalığıdır. Mevsimsel grip dünya çapında her yıl 3-5 milyon ağır hastalık tablosuna ve yaklaşık 250.000-500.000 ölüme yol açmaktadır. Aşılama bu hastalıktan korunmak için bilinen en etkili yoldur (1). Ülkemizde grip aktivitesinin izlenmesi amacıyla 2005 yılından bu yana ayaktan başvuran hastalarda Ulusal Sentinel Sürveyans Ağı ile İnfluenza Benzeri Hastalık (İBH) sürveyansı yapılmaktadır. Ancak, birinci basamak sağlık kurumları ile yürütülen bu sentinel sürveyans, hastaneye yatışı gereken ağır influenza vakalarına ilişkin veri toplanması açısından yetersiz kalmaktadır (2,3). Bu vakalardaki risk faktörlerinin saptanabilmesi, ağır hastalık açısından yüksek riskli grupların belirlenmesi, hastalığın şiddeti ve mortalitesi ile virus alt tipleri arasındaki ilişkinin değerlendirilebilmesi amacıyla 2015 yılında 5 pilot ilde Ağır Akut Solunum Yolu Enfeksiyonları (*Severe Acute Respiratory Infections*, SARI) sürveyansı başlatıldı. Hastanemiz SARI sürveyansının yürütüldüğü pilot hastanelerden biridir. Bu çalışmada, 2015-2016 sezonundaki influenza epidemisi sırasında influenza tanısı ile takip edilen hastaların klinik ve virolojik bulgularının, ağır hastalık açısından risk faktörlerinin retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Hastanemize 14 Aralık 2015-1 Mart 2016 tarihleri arasındaki 10 haftalık sürede, İBH tablosu ile başvurup İnfluenza Vaka Yönetim Algoritmasına (4) göre yatırılarak takip edilen ve başka bir tanı ile hastanede yatmakta iken İBH tablosu ortaya çıkan hastalar çalışmaya dahil edildi. Hastalara ait demografik ve klinik veriler retrospektif olarak gözden geçirildi.

Her bir hasta için İnfluenza Vaka Bildirim Formu dolduruldu ve nazofarengeal veya boğaz sürüntü örnekleri alınarak virus taşıma vasatı ile Adana Halk Sağlığı Laboratuvarı'na gönderildi. Burada sürüntü örneklerinden RT-PCR ile 21 parametrelili virus paneli çalışıldı (FTD Respiratory Pathogens 21. Fast Track Diagnostic, Luxembourg). Virolojik örnek alınan hastalara laboratuvar doğrulaması beklenmeden antiviral (oseltamivir 2x75 mg) tedavi başlandı.

Veriler SPSS 20. paket programı ile analiz edildi. Tanımlayıcı veriler yerine göre ortalama, standart sapma ve yüzde olarak belirtildi. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ki-kare ve *Fischer's Exact* testleri uygulandı. Çalışma için Adana Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Girişimsel Olmayan Çalışmalar Etik Kurul'undan onay alındı.

Bulgular

İnfluenza benzeri hastalık tanısı ile yatırılarak takip edilen 284 hastanın 134'ü (%47.2) erkek, 150'si (%52.8) kadın ve yaş ortalaması 31.4 yıl (0-91) idi. İnfluenza tanısı 175 (%62) hastada virolojik olarak doğrulandı. Hastaların 136'sında (%78) H1N1, 30'unda (%17) H3N2, dokuzunda (%5) ise influenza B virüsü saptandı. Örneklerde tespit edilen tüm viral etkenlerin dağılımı Tablo-1'de gösterilmiştir. H1N1 saptanan olguların 97'sinde (%71.3), H3N2 saptanan olguların 15'inde (%50), İnfluenza B saptananların dördünde (%44.4) pnömoni ile uyumlu klinik ve/veya radyolojik bulgular mevcuttu (Tablo-2). Çalışmaya dahil edilen 284 hastadan 232'sinde (%81.7) ve virolojik olarak doğrulanan 175 hastanın 144'ünde (%82.2) uç yaşlar (65 yaş üstü, 2 yaş altı), gebelik, *diabetes mellitus*, kalp yetmezliği, kronik böbrek yetmezliği, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, malignite, obezite, steroid kullanımı, malnütrisyon gibi ağır hastalık açısından en az bir risk faktörü mevcuttu.

İnfluenza benzeri hastalık tanısıyla hastaneye yatışı gereken hastaların 142'si (%50), virolojik olarak influenza tanısı doğrulanan hastaların 95'i (%54) 3-64 yaş aralığında idi. Şifa ile taburcu olan hastaların yaş ortalaması 29.2 yıl iken, ölen hastaların yaş ortalaması 53 yıl olarak saptandı ($p=0.007$). Pnömoni tanısı alan hastaların 46'sı yoğun bakımda takip edildi ve bunlardan 25'inde mekanik ventilasyon ihtiyacı oldu.

İBH tanısı ile yatırılan hastaların 46'sı öldü. Ölen hastaların etken virüs dağılımına bakıldığında 30'unda (%65.2) H1N1, ikisinde (%4.3) H3N2, üçünde (%6.5) *rhinovirus* tespit edilirken, 11 hastada herhangi bir virüs saptanmadı. İnfluenza virüs alt tipleri mortalite açısından karşılaştırıldığında H1N1'in mortalitesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti ($p=0.04$). İnfluenza tanısı virolojik olarak doğrulanmış ve ölen 32 hastadan yedisinde (%21) bilinen bir risk faktörü yoktu.

Virolojik olarak doğrulanan 175 hastanın yaş grubuna göre mortalite oranlarına bakıldığında 65 yaş üstündeki 38 hastadan 14'ü (%36.8), 3-64 yaş aralığındaki 95 hastadan 15'i (%15.8), 0-2 yaş aralığındaki 42 hastadan üçü (%7.1)

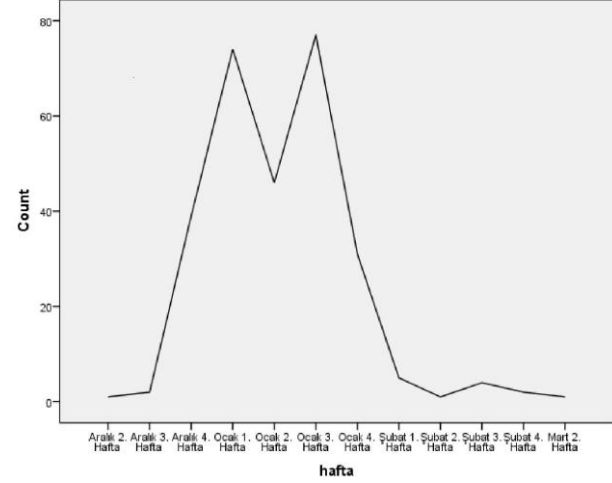
ex oldu. Altmış beş yaş üstü hastalardaki mortalite istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p=0.007$). Hastanede yatmakta iken influenza semptomları ortaya çıkan ve virolojik olarak tanısı doğrulanan yedi hastada etken virüs H1N1 olarak saptandı. Bu hastalardan dördünde pnömoni tablosu gelişti ve üçü ex oldu.

İnfluenza için aşılanma durumu sorgulandığında 284 hastadan 162'si (%57) aşılanmamış, 122 (%43) hastanın ise aşılanma durumu bilinmiyor şeklinde kaydedilmişti

Tablo-1. Alınan Örneklerde Tespit Edilen Viral Etkenlerin Dağılımı.

Virus	Sayı	%
H1N1	136	47.9
H3N2	30	10.6
Influenza B	9	3.1
H1N1+Rhinovirus	1	0.3
RSV	10	3.6
Coronavirus	6	2.1
Human Metapneumovirus	6	2.1
Rhinovirus	5	1.7
Adenovirus	2	0.8
Coronavirus+RSV	2	0.8
Adenovirus+RSV	1	0.3
Parainfluenza virus	1	0.3
Negatif	75	26.4
TOPLAM	284	100.0

Epidemiyolojik açıdan ise, İBH tablosu ile hastanemize başvuran vakaların Aralık ayının 2.haftasından başlayarak giderek arttığı, Aralık ayının 4. haftasında ve Ocak ayının 4. haftasında iki ayrı pik yaptığı görüldü. On haftalık sürede İBH tanısı ile hastanemizde takip edilen vaka sayılarının dağılımı Şekil-1'de gösterilmiştir.



Şekil-1. 2015-2016 sezonunda haftalara göre influenza vaka sayıları.

Tablo-2. İnfluenza Virus Türlerinin, Yaş Gruplarına Göre Pnömoni Oranları ve Prognozları.

VİRUS			0-2 yaş n, %	3-64 yaş n, %	>65 yaş n, %	Toplam (%)
H1N1	Pnömoni	Var	20 (20.6)	47 (48.5)	30 (30.9)	97 (100)
		Yok	12 (30.8)	24 (61.5)	3 (7.7)	39 (100)
	Prognoz	Ex	3 (10.0)	15 (50)	12 (40)	30 (100)
		Şifa	29	54	21	104 (100)
		Sevk	0	2 (100)	0	2 (100)
H3N2	Pnömoni	Var	2 (13.3)	9 (60)	4 (26.7)	15 (100)
		Yok	7 (46.7)	7 (46.7)	1 (6.7)	15 (100)
	Prognoz	Ex	0	0	2 (100)	2 (100)
		Şifa	9 (32.1)	16 (57.1)	3 (10.7)	28 (100)
İnfluenza B	Pnömoni	Var	1 (25.0)	3 (75)	0	4 (100)
		Yok	0	5 (100)	0	5 (100)
	Prognoz	Ex	0	0	0	0
		Şifa	1 (11.1)	8 (88.9)	0	9 (100)

Tartışma

Mevsimsel grip genel olarak bilindiğinden çok daha fazla sayıda hastanede yatışa ve ölüme neden olmaktadır (5,6). İnfluenza ve RSV'ye bağlı hastaneye yatışın araştırıldığı çalışmalarda RSV'ye bağlı yatışların yıldan yıla pek değişmezken, influenzaya bağlı yatışların dolaşımdaki virüs suşunun virülansına ve

toplumdaki duyarlı popülasyonun oranına bağlı olarak sezondan sezona oldukça değişkenlik gösterdiği belirtilmektedir (7,8). Son 2009 pandemisi öncesindeki döneme ait mevsimsel influenza epidemilerine ilişkin hastane bazlı ulusal veri oldukça kısıtlıdır. Türkiye'nin de dahil olduğu dört farklı ülkeden 21 hastanenin verilerinin değerlendirildiği *Global Influenza Hospital Surveillance Network* (GIHSN) ile 2012-2013

sezonunda ilk ulusal hastane bazlı sürveyans verileri elde edilmiştir (9).

GIHSN ile elde edilen hastane bazlı sürveyans verileri ışığında geriye dönük olarak ülkemizdeki son üç sezona bakıldığında 2012-2013 sezonunda baskın virüsün H1N1, yoğun bakıma yatış oranının %30 ve mortalitenin %19.4 olduğu; 2013-2014 sezonunda hastaların % 79'unda H3N2 ve %21'inde influenza B etken virüs iken hiç H1N1 saptanmadığı; 2014-2015 sezonunda ise baskın virüsün influenza B olduğu bildirilmiştir (3,9-11). Olgularımızda baskın virus H1N1 (%78) olup, bunu H3N2 (%17) ve influenza B (%5) virüsleri izlemiştir. Buna göre, iki sezon aradan sonra H1N1'in yeniden baskın virüs olarak dolaşımda olduğu görülmektedir. Çalışmamızda etken virüsün H1N1 olduğu olguların %71.3'ünde hastalığın pnömoni tablosu ile seyretmesi ve ölen hastaların %65.2'sinde saptanan virüsün H1N1 olması, H1N1 ile oluşan enfeksiyonlarda pnömoni ve mortalite oranlarının diğer virüs alt tiplerine göre oldukça yüksek olduğunu göstermektedir. Bulgularımıza paralel şekilde, ülkemizin de içinde bulunduğu dokuz ülkeden 29 merkezin verilerinin değerlendirildiği GIHSN 2015-2016 raporunda H1N1'in baskın virus olduğu; H1N1 virus alt tipinin yoğun bakım-da yatış, pnömöni, mekanik ventilasyon gereksinimi ve mortalite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (12).

İnflüzanın belirli risk gruplarında ciddi pnömoni tablosuyla ve mortaliteye sebep olduğu ve bu hastalar için etkili korunma yönteminin her yıl aşılama olduğu bilinmektedir (13,14,15). Bizim hastalarımız risk faktörleri açısından sorgulandığında, İBH tanısıyla yatırılan hastaların %81.7'sinde ve virolojik olarak doğrulanmış hastaların %82.2'ünde ağır hastalık açısından en az bir risk faktörünü mevcut olmasına rağmen önemli bir kısmı aşılanmamıştı. Ülkemizdeki riskli grupların prevalansı, bunların aşılama durumu ve aşılama etki eden faktörlerin araştırıldığı bir çalışmada, Sağlık Bakanlığı tarafından 65 yaş üstündeki kişilere ve risk grubundaki hastalara her yıl grip aşısı yapılması önerilmesine ve aşının geri ödemesinin olmasına rağmen halen aşılama oranlarının oldukça düşük olduğu bildirilmiştir (16).

Yaş gruplarına göre verilerin analiz edildiği bir çalışmada, dolaşımdaki genel virüs alt tipinin, farklı yaş gruplarındaki dağılımı yansıtmayabileceği, klinik tablo, eşlik eden hastalık, hastaneye ya da yoğun bakıma yatış gereksinimi, mortalite, aşının etkinliği gibi özelliklerin yaş grupları arasında farklılık gösterebileceği belirtilmiş ve bu durumun kontrol önlemleri açısından hedef yaş gruplarının belirlenmesindeki önemi vurgulanmıştır (17). Bulgularımız, influzanın tüm yaş gruplarında görülmele birlikte, en çok 3-64 yaş grubunun etkilendiğini ancak yaş grubuna göre ölüm oranlarına bakıldığında 65 yaşın üstündeki hastalarda mortalitenin en yüksek (%36.8) olduğunu göstermektedir. Genel olarak bakıldığında, ölen hastaların yaş ortalaması 53 yıl iken,

şifa ile taburcu olanların yaş ortalamasının 29.2 yıl olması yine ileri yaşın ağır hastalık açısından riskli bir grup olduğunu ortaya koymaktadır. 2009 pandemisi sonrasında yapılan seroprevalans çalışmaları, özellikle 65 yaş üstündeki kişiler olmak üzere halen H1N1'e duyarlı olan bir popülasyonun olduğunu göstermiştir (18,19). Bizim hastalarımızda da baskın virüsün H1N1 olması bu duyarlılığın devam ettiğini göstermektedir.

Çalışmamızda, hastanede yatmakta iken İBH tablosu gelişen ve virolojik olarak tanısı doğrulanmış yedi hasta viral hastane enfeksiyonu olarak değerlendirildi. Bu durum, grip sezonu süresince viral hastane enfeksiyonu açısından hastaların sıkı takip edilmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Kapsamlı bir çalışmada, viral hastane enfeksiyonunun genel insidansının %3.9 olduğu, influenza virüslerinin *rhinovirustan* sonra ikinci sırada yer aldığı belirtilmiştir (20).

Hastanemize 2015-2016 sezonundaki 10 haftalık sürede İBH tablosu ile başvurup yatışı yapılan vaka sayılarının Aralık ayının ikinci haftasından başlayarak giderek arttığı, Aralık ayının dördüncü haftasında birinci pik ve Ocak ayının dördüncü haftasında ikinci bir pik yaptığı tespit edildi. Çalışmanın son dört haftasında H3N2 ve influenza B virüsleri izole edilmeye başlansa da on hafta-lık süre boyunca H1N1 hakimiyetinin devam ettiği görüldü. Hastane bazlı sürveyans verilerimize benzer şekilde, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nun 2015 sezonu sentinel sürveyans verilerine bakıldığında Aralık ayının ikinci haftasında %6 olan influenza pozitiflik oranının dördüncü haftaya gelindiğinde %38.2'lere çıktığı görülmektedir (21). Ülkemizden SARI sürveyansı yapan bir başka merkezde de bulgularımıza paralel şekilde, en sık izole edilen H1N1 virus alt tipinin, yoğun bakım ihtiyacı ve mortalite ile anlamlı ilişkisi olduğu belirtilmektedir (22).

Çalışmamız, sadece tek bir merkezin verilerini içermesi nedeniyle hastalığın ülkemizdeki genel durumunu yansıtmaması, kayıtlarda bütün hastaların aşılama durumuna ulaşamadığı için aşılama oranlarının tam bilinmemesi, semptomların başlaması ile antiviral uygulanması arasındaki süre bütün hastalarda belirlenemediği için *oseltamivirin* etkinliği açısından değerlendirme yapılamaması gibi kısıtlılıklara sahiptir.

Sonuç

Bu hastane bazlı sürveyansın sonuçları, influzanın sadece pandemi dönemlerinde değil, mevsimsel salgınlarda da önemli bir mortalite nedeni olabileceğini ortaya koymaktadır. Birinci basamak sağlık kurumları ile yürütülen sentinel sürveyansın yanında, ulusal hastane bazlı sürveyansın başlatılmış olması, hem influenza aktivitesinin daha etkin bir biçimde izlenmesine hem de gerçek hastalık yükünün belirlenmesine katkı sağlayarak hastalık kontrol önlemlerinin ve ulusal aşı politikalarının şekillenmesinde önemli rol oynayacaktır.

Kaynaklar

1. Influenza (Seasonal), Fact sheet [homepage on the Internet]. World Health Organization [updated November 2016; cited 20 February 2016]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>
2. Ciblak MA, Tütenyurd MK, Asar S, Tulunoğlu M, Fındıkçı N, Badur S. 2003-2012 Yıllarını Kapsayan Dokuz Sezonda Grip Sürveyansı Bulguları: İstanbul Tıp Fakültesi Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarı Sonuçları. Mikrobiyoloji Bülteni 2012 46(4): 575-593.
3. Puig-Barber J, Tormos A, Trushakova S, et al. The Global Influenza Hospital Surveillance Network (GIHSN): A new platform to describe the epidemiology of severe influenza. Influenza Other Respir Viruses 2015; 21. doi: 10.1111/irv.12335.
4. İnfluenza Vaka Yönetim Algoritması [homepage on the Internet]. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu [cited 21 February 2016]. Available from: <http://grip.gov.tr/saglik-personeli-icin-bilgiler/282-influenza-vaka-yonetim-algoritmasi.html>
5. Ortiz JR, Neuzil KM, Shay DK, et al. The burden of influenza-associated critical illness hospitalizations. Crit Care Med 2014;42(11):2325-32.
6. Ortiz JR, Neuzil KM, Cooke CR, Neradilek MB, Goss CH, Shay DK. Influenza pneumonia surveillance among hospitalized adults may underestimate the burden of severe influenza disease. PLoS One 2014;9(11):e113903.
7. Zhou H, Thompson WW, Viboud CG, et al. Hospitalizations associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States, 1993-2008. Clin Infect Dis 2012;54(10):1427-36.
8. Chaves SS, Aragon D, Bennett N, et al. Patients hospitalized with laboratory-confirmed influenza during the 2010-2011 influenza season: Exploring disease severity by virus type and subtype. J Infect Dis 2013;208(8):1305-14.
9. Puig-Barberà J, Tormos A, Sominina A, et al. First-year results of the Global Influenza Hospital Surveillance Network: 2012-2013 Northern hemisphere influenza season. BMC Public Health 2014;5(14):564.
10. Puig-Barberà J, Natividad-Sancho A, Trushakova S, et al. Global Influenza Hospital Surveillance Study Group. Epidemiology of hospital admissions with influenza during the 2013/2014 northern hemisphere influenza season: Results from the global influenza hospital surveillance network. PLoS One 2016;19(11):5.
11. Puig-Barberà J, Burtseva E, Yu H, et al. Influenza epidemiology and influenza vaccine effectiveness during the 2014–2015 season: Annual report from the Global Influenza Hospital Surveillance Network. BMC Public Health 2016;16(Suppl 1):757.
12. Summary of the 2015-2016 Season Results [homepage on the Internet]. Global Influenza Hospital Surveillance Report [cited 21 February 2016]. Available from: <http://gihsn.org/?page=result&id=2015-2016>.
13. Mullooly JP, Bridges CB, Thompson WW, et al. Influenza- and RSV-associated hospitalizations among adults. Vaccine 2007;25(5):846-55.
14. Ono S, Ono Y, Matsui H, Yasunaga H. Factors associated with hospitalization for seasonal influenza in a Japanese nonelderly cohort. BMC Public Health 2016; 2(16):922.
15. Loubet P, Samih-Lenzi N, Galtier F, et al. Factors associated with poor outcomes among adults hospitalized for influenza in France: A three-year prospective multicenter study. J Clin Virol 2016;79(1):68-73.
16. Ciblak MA, Grip Platformu. Influenza vaccination in Turkey: Prevalence of risk groups, current vaccination status, factors influencing vaccine uptake and steps taken to increase vaccination rate. Vaccine. 2013;31(3):518-23.
17. Beauté J, Zucs P, Korsun N, et al. European Influenza Surveillance Network. Age-specific differences in influenza virus type and subtype distribution in the 2012/2013 season in 12 European countries. Epidemiol Infect 2015;143(14):2950-8.
18. Gözalan A, Altaş AB, Sevcençan F, et al. Seroprevalence following the first wave of pandemic influenza A (H1N1) in Turkey, 2009. Jpn J Infect Dis 2012;65(1):13-8.
19. Çifci A, Erol Ö, Cesur S, Aksoy N, Kisa Ü. The comparison of pandemic H1N1 IgG levels between H1N1 influenza-vaccinated healthcare workers and unvaccinated healthcare workers. Turk J Med Sci 2014;44(6):1047-50.
20. Choi HS, Kim MN, Sung H, et al. Laboratory-based surveillance of hospital-acquired respiratory virus infection in a tertiary care hospital. Am J Infect Control 2017;45(5):e45-e4.
21. Haftalık İnfluenza Sürveyans Raporu 2015-2016 [homepage on the Internet]. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu [cited 21 February 2016]. Available from: <http://www.grip.gov.tr/saglik-personeli-icin-bilgiler/283-haftalik-influenza-surveyans-raporu-2>.
22. Eser FC, Solay AH, Altın N, et al. Ciddi alt solunum yolu enfeksiyonu tanısı ile yatarak takip edilen hastalarda etken virüslerin belirlenmesi. Mediterr J Infect Microb Antimicrob 2016;6(Supplement 1).

Servikal ektopik timus: Yenidoğanda nadir bir boyun kitlesi**Cervical ectopic thymus: A rare cervical mass in a newborn**Ülgen Çeltik¹ Emre Divarçı¹ Zafer Dökümcü¹ Sevinç Kalın² Ahmet Çelik¹¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Radyoloji Bilim Dalı, İzmir, Türkiye**Öz**

Servikal ektopik timus (SET) çocukluk çağı servikal kitlelerinin nadir nedenlerinden birisidir. Bu çalışmada kliniğimize yenidoğan döneminde servikal şişlik nedeni ile başvuran iki SET olgusunun sunulması amaçlandı. Yenidoğan döneminden itibaren sol üst servikal bölgede ağrısız şişlik ile başvuran iki olgu değerlendirildi. Her iki olguda, fiziksel muayenede; palpasyonda yumuşak, fluktuasyon vermeyen ağrısız şişlik mevcuttu. Olgulara malign kitlelerin ekartasyonu amacı ile doku örnekleme planlandı. Kitleler tümü ile çıkarıldı. Patolojik inceleme sonucu ektopik timus dokusu olarak raporlandı. Her iki olgunun, operasyon sonrası izleminde herhangi bir yakınması mevcut değildi. SET servikal şişlik ile başvuran yenidoğan olgularda akılda bulundurulmalıdır. Nadir olması ve kesin tanıya kolay ulaşılamaması nedeni ile diğer tanıların ekartasyonu amacı ile doku örnekleme planlanmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Servikal ektopik timus, timus, konjenital anomali, çocuk.

Abstract

Cervical ectopic thymus (CET) is a rare cause of cervical mass in childhood. The aim of this study is to present two CET cases that were referred to our clinic with cervical swelling in neonatal period. Two cases who had painless swelling in left upper cervical region beginning from the neonatal period were evaluated. In both cases, a soft non-fluctuant painless swelling in the palpation was detected in the physical examination. To exclude the malign mass, tissue sampling was planned. The masses were excised totally. As a result of pathological examination it was reported as ectopic thymus tissue. No complaint was recorded during the postoperative period. CET should be taken into consideration in the neonatal cases applying with cervical swelling. It is rare and not easy to establish a definitive diagnosis, tissue sampling should be considered for the exclusion of other diagnoses.

Keywords: Cervical ectopic thymus, thymus, congenital disease, children.

Giriş

Servikal ektopik timus (SET), çocukluk çağı servikal kitlelerinin nadir nedenlerinden birisidir. SET, timusun embriyolojik iniş yolu üzerinde meydana gelen bir duraksama nedeni ile oluşmaktadır. Mandibula köşesinden anterior mediastene göçü sırasında meydana gelen bu duraksama, iniş yolu üzerinde herhangi bir yerde olabilmektedir (1). Stridor, disfaji, dispne gibi semptomlarla herhangi bir yaşta kendini belli edebildiği gibi çoğunlukla asemptomatik şişlik şeklinde fark edilmektedir (1,2). Kliniğimize yenidoğan döneminde servikal şişlik nedeni ile başvuran iki SET olgusunun klinik, radyolojik ve patolojik özelliklerinin tartışılması amaçlandı.

Olgu Sunumu

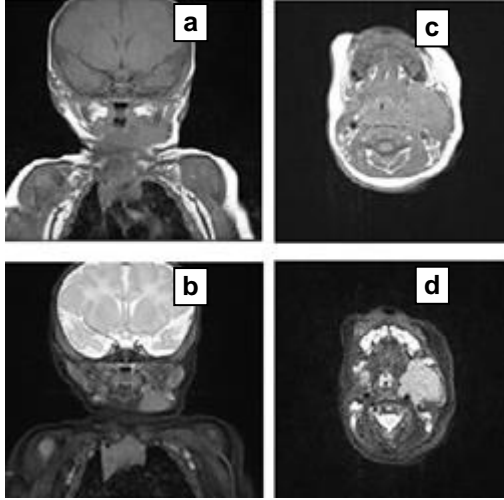
Yirmi günlük ve 2 aylık iki erkek olgu, yenidoğan döneminden bu yana fark edilen sol üst servikal bölgede şişlik nedeni ile başvurdu. Mevcut şişlik solunum sıkıntısı, yutma güclüğü gibi belirtilere yol açmamaktaydı. Fizik muayenede cilt üzerinde eritem veya fluktuasyon mevcut değildi. Birinci olguda ultrasonografide sol submandibuler alanda parotis derin lobu ve sol submandibuler bezi baskılayan yaklaşık 3.5x2 cm boyutlarında heterojen, düzgün konturlu kitle lezyonu saptanırken ikinci olguda benzer özelliklere sahip boyutları 40x22 mm olan lezyon saptandı. USG'de timus dokusuna benzerliği nedeni ile ektopik timus düşünülse de Doppler incelemede belirgin vaskülarizasyon tespit edilmesi sonucu malign servikal kitleler ekarte edilemedi. Biyokimya tetkikleri tümör belirteçleri dahil, her iki olguda olağandı. MR görüntülemeye; ilk olguda sol parotis bezi hemen

Yazışma Adresi: Ülgen Çeltik

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 19.12.2016 Kabul Tarihi: 08.02.2017

inferiorundan, parafaringeal alana doğru uzanan 2.8x3.2x3.3 cm boyutlarında T2A'da ılımlı hipointens T1A'da hipointens kitle lezyonu saptanırken, ikinci olguda sol parotis bezi lojunda submandibuler alana doğru uzanan 3.5x2.5 cm boyutlu lezyon saptandı (Şekil-1).



Şekil-1. MRG T1A görüntülerde ılımlı hipointens, T2A görüntülerde hipointens kitle lezyonu.

Olgular ektopik timus, servikal nöroblastom, kapiller hemanjiom gibi ön tanılar ile operasyona alındı. Total olarak eksize edilen kitleler makroskopik görünüm itibarı ile benzerlik göstermeleri yanında, iyi sınırlı, yumuşak, çevre dokulara invazyon göstermeyen total olarak kolaylıkla etraf dokulardan ayrılabilen, ince kapsüllü, minimal lobulasyon gösteren, krem pembe renkli bir yapıya sahipti. Histopatolojik inceleme ektopik timus dokusunu doğruladı. Postoperatif uzun dönem izlemde iki olguda da herhangi bir şikayet saptanmadı.

Her iki olgunun yasal vasilerinden tıbbi verilerinin yayınlanabileceğine ilişkin yazılı onam belgesi alındı.

Tartışma

SET timik embriyogenez sırasında meydana gelen migrasyon defekti ya da timofarengal kanalın persiste etmesi sonucu oluşur (1-4). Mandibuler alandan anterior mediastene kadar uzanan hat üzerinde herhangi bir yerde görülebilir. Eğer embriyolojik iniş yolu üzerinde herhangi bir yerde yerleşim gösteriyorsa aberan timus; farenks, trakea, özefagus, posterior mediasten gibi iniş yolu üzerinde olmayan bir yerde görülüyorsa *ektopik timus* olarak adlandırılır (2,5). Ancak zaman zaman tanımlama karmaşası literatürde de yaşanmaktadır (2,4,6).

Olguların %90'ı asemptomatik seyredirken %10'unda ise yutma disfonksiyonu, disfaji, solunum güçlüğü gibi semptomlar, tortikolis görülebilir (1,2). Bu bazı semptomları travma sonrası, enfeksiyon durumlarında ani boyut artışı ile daha belirgin olarak görülebilmektedir (2,3). Çalışmamızda her iki olguda ek klinik yakınma yaratmayan servikal şişlik mevcuttu.

Literatür değerlendirildiğinde ektopik timusun nadir rastlanan bir patoloji olduğu görülmektedir. Gerçek insidansı bilinmemekle birlikte 1993 yılında yayımlanan 3236 olguluk otopsi değerlendirilmesinde 34 adet anormal yerleşimli timus saptandığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada 68000 operasyon materyali değerlendirilmiş ve 10 adet servikal ektopik timus vakası saptanmıştır (7). 2014 yılında Japonya da ani bebek ölümü sonucu kaybedilen vakalar ile yapılan otopsi serisinde 21 olgunun 7'sinde (%33) servikal ektopik timus saptanmıştır (8).

Yerleşim yeri ya da tarafının sıklığı açısından literatürdeki seriler farklılık göstermektedir. Song ve ark. (2) tarafından yayınlanan 13 hastalık seride 7 olguda sol servikal bölge yerleşimli olduğu görülmüştür. Zielke ve ark. (9) tarafından yayınlanan bir çalışmada 46 olgu ile yapılan literatür taramasında ise %56 oranla sağ taraf yerleşimli olduğu belirtilmiştir. Olgularımızın her ikisinde de sol servikal yerleşimli SET mevcuttu.

Her iki olgumuz erkekti ve yenidoğan döneminde servikal şişlik nedeni ile başvurmuştu. Fakat lezyonun her yaşta görülebildiği literatürdeki verilerden anlaşılmaktadır (2-4). Yaşla birlikte timus dokusu gerileme gösterdiği için tanı yüksek oranla yaşamın ilk ayları içinde konulabilmektedir. SET görülme sıklığı literatürde de erkek olgularda kızlara oranla daha yüksektir (1). Ancak literatürde de tarafımızca da bu duruma özel bir açıklama getirilmemiştir.

Ektopik timus olgularında doğal yerleşiminde bir timus dokusunun olup olmadığı değerlendirilmelidir. İki olgumuzda da normal lokalizasyonda timus dokusu mevcuttu. Timektomi sonrası olgularda total lenfosit sayısında bir değişiklik görülmezken T lenfosit sayısında bir miktar düşüklük görüldüğü bazı yazarlar tarafından belirtilmiştir (1,2). Her iki olgumuzda preoperatif değerlendirmede normal lokalizasyonda timus dokusu saptandığı için uzun dönem incelemede klinik bir sorunla karşılaşılacaktır.

Servikal kitle ayırıcı tanısında USG yerleşim yeri, kistik ya da solid komponentlerin, ekojenitenin belirlenmesi ve vaskülaritenin ortaya konulmasında kullanılabilir pratik bir yöntemdir. Koumanido ve ark. (5), 5 SET olgusundan iki olguya sadece USG ile tanı koyulduğunu, üç olguda ise tanının ancak rezeksiyon ile mümkün olduğunu vurgulamıştır. Ayırıcı bir tanı olarak SET'in akılda bulundurulması halinde USG ile tanı konulmasının mümkün olduğunu belirtmişlerdir. USG'de en belirgin bulgu timus dokusu ile benzer ekojeniteye sahip olması ve bazı vakalarda normal timus dokusu ile arasında bir köprü mevcut olmasıdır. Literatürde ektopik timusun, akılda bulundurulması halinde, USG ile tanısının mümkün ve yeterli olduğu ve hatta semptomatik vakalar dışında eksizyon uygulanmaksızın USG ile takibin yeterli olduğu vurgulanmıştır (4,6,10). Han ve ark. (3) USG ile izlem konusunu çalışmalarında özellikle vurgulamışlardır.

Literatürde erişkin yaşlarda görülen timik diferansiasyon ile oluşan ektojik hamartomatöz timoma gibi servikal kitleler mevcuttur. Literatürde değerlendirilen SET'li olgulardan erişkin bir hastada malign özellikte hücreler içeren trakeal kitle saptanmıştır ve bu kitlenin natürü ile

ilgili net bir bilgi verilememiştir. Bu sebeple malign dönüşüm olmadığını söylemek bu bilgiler ışığında oldukça zordur (5). Eksizyon, ayırıcı tanı gerekliliği dışında malignite riskine karşı gerekli gibi görünmektedir.

Kaynaklar

1. Wang J, Fu H, Yang H, et al. Clinical management of cervical ectopic thymus in children. *J Pediatr Surg* 2011;46(8):E33-E36.
2. Song I, Yoo SY, Kim JH, et al. Aberrant cervical thymus: Imaging and clinical findings in 13 children. *Clin Radiol* 2011;66(1):38-42.
3. Han BK, Yoon HK, Yuh LS. Thymic ultrasound: Diagnosis of aberrant cervical thymus. *Pediatr Radiol* 2001;31(7):480-7.
4. Schloegel LJ, Gottschall JA. Ectopic servikal thymus: Is empiric surgical excision necessary? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2009;73(3):475-9.
5. Koumanidou C, Vakaki M, Theophanopoulou M, et al. Aberrant thymus in infants: Sonographic evaluation. *Pediatr Radiol* 1998;28(12):987-9.
6. Slovis TL, Meza M, Kuhn JP. Aberrant thymus - MR assessment. *Pediatr Radiol* 1992;22(7):490-4.
7. Bale PM, Sotelo-Avila C. Maldescent of the thymus: 34 necropsy and 10 surgical cases, including 7 thymuses medial to the mandible. *Pediatr Pathol* 1993;13(6):181-90.
8. Kotani H, Ishida T, Miyao M, et al. Ectopic cervical thymus: A clinicopathological study of consecutive, unselected infant autopsies. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2014;78(11):1917-22.
9. Zielke AM, Swischuk LE, Hernandez JA. Ectopic cervical thymic tissue: Can imaging obviate biopsy and surgical removal? *Pediatr Radiol* 2007;37(11):1174-7.
10. Bilateral ectopic cervical thymus presenting as a neck mass: Ultrasound and magnetic resonance imaging. *Pediatr Int* 2016;58(9):943-5.

Deforme biliyer metal stente bağlı gelişen gastrointestinal sistem kanaması**Gastrointestinal bleeding due to deformed biliary stent**

Muhammet Yener Akpınar Fatih Saygılı Erkin Öztaş Orhan Coşkun Bülent Ödemiş

Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Gastroenteroloji Kliniği, Ankara, Türkiye

Öz

Kanama, endoskopik retrograd kolanjiyopankreatografinin (ERCP) ciddi komplikasyonlarından biri olup insidansı %1-2 arasında değişir. Kanama sıklıkla endoskopik sfinkterotomi ile ilişkilidir, bununla beraber vaka serilerinde sfinkterotomi ilişkisiz kanamalar da bildirilmiştir. Biliyer metal stentin barsak duvarında yaptığı irritasyona bağlı oluşan kanamalar sfinkterotomi ilişkisiz kanamalara örnek gösterilebilir. Biliyer stent öyküsü olan hastaların stentin olduğu yerde ağrı ile gelmesi stentin barsak duvarına yaptığı irritasyonu akla getirir. Literatürde migre olmadan deformasyonla barsak duvarı irritasyonu yapan ve kanamaya yol açan biliyer metal stent görülmemiştir. Burada öncesinden ERCP ile biliyer metal stent konulan ve metal stentin deformasyonuna bağlı duodenumda oluşan ülserin yol açtığı kanama ile gelen hastamızı sunduk.

Anahtar Sözcükler: Endoskopik retrograd kolanjiyopankreatografi, gastrointestinal kanama.

Abstract

Hemorrhage is a severe complication of endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) with 1-2% frequency. Hemorrhage is usually related to sphincterotomy, however some case reports demonstrated that hemorrhagic complications are not related to sphincterotomy. Hemorrhage due to bowel wall irritation of biliary metal stent can be an example for this kind of bleedings. Pain at the site of stent must be considered for bowel wall irritation in patients with biliary stent history. In the literature hemorrhage due to bowel wall irritation associated with deformed metal stent was not reported. Here we presented our case with gastrointestinal hemorrhage due to duodenal ulcer associated with deformed biliary metal stent irritation.

Keywords: Endoscopic retrograd cholangiopancreatography, gastrointestinal hemorrhage.

Giriş

Kanama, endoskopik retrograd kolanjiyopankreatografinin (ERCP) ciddi komplikasyonlarından biri olup insidansı %1-2 arasında değişir (1). Klinik olarak kanama ERCP esnasında akut olabileceği gibi ERCP'den günler veya haftalar sonra da ortaya çıkabilir. Kanama sıklıkla endoskopik sfinkterotomi ile ilişkilidir, bununla beraber vaka serilerinde sfinkterotomi ilişkisiz kanamalar da bildirilmiştir (2). Burada öncesinden ERCP ile biliyer metal stent konulan ve metal stentin deformasyonuna bağlı duodenumda oluşan ülserin yol açtığı kanama ile gelen hastamızı sunduk.

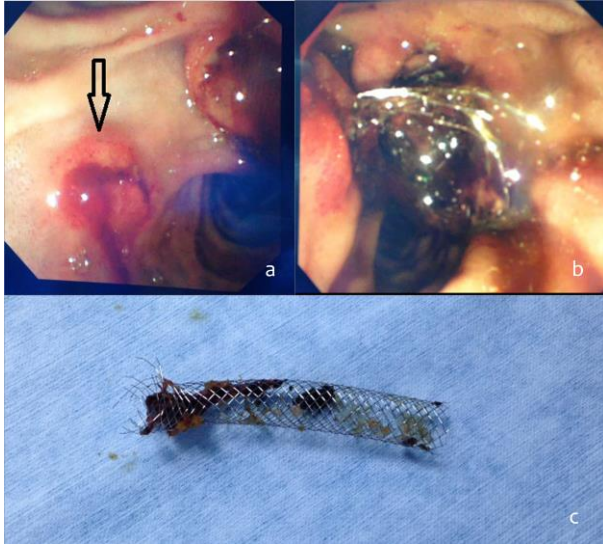
Olgu Sunumu

Yetmiş dokuz yaşında erkek hasta hastanemize kan kusma şikayetiyle başvurdu. Anamnezinde hastanın 3 ay önce lokal ileri evre pankreas kanseri tanısı aldığı ve koledokuna 10x6 mm boyutunda kapsız metal stent yerleştirildiği öğrenildi. Hastanın laboratuvar tahlillerinde hemoglobin: 5.8 gr/dL, lökosit: $4.100 \times 10^3/uL$, üre: 135mg/dL, kreatinin: 1.99 mg/dL, INR: 0.96 olarak ölçüldü. Eritrosit transfüzyonu yapılan ve proton pompa inhibitörü infüzyonu başlanılan hastaya eş zamanlı özofagogastroduodenoskopi yapıldı. Midede hematinize kan izlendi, aspirasyon sonrası midede kanamaya yol açabilecek bir lezyon izlenmedi. Duodenum ikinci kıtada lümeni tama yakın dolduran ve metal stente yapışık olduğu görülen pıhtı izlendi. Bunun üzerine papillayı daha iyi değerlendirmek için hastaya duodenoskopi yapıldı. Stentin endoskopik olarak görünür ucundaki tellerin deforme olduğu ve lateral duvarda mukozaya gömülerek burada ülsera yol açtığı görüldü (Şekil-1a).

Yazışma Adresi: Muhammet Yener Akpınar
Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Gastroenteroloji Kliniği, Ankara, Türkiye
Makalenin Geliş Tarihi: 30.12.2016 Kabul Tarihi: 15.02.2017

Aynı zamanda papilladan sarkan metalik stentin içinde koagulum izlendi (Şekil-1b). Bu alandan sızdırır tarzda kanama mevcuttu. İlk olarak tutucu forseps ile kapsız metalik stent çıkarıldı (Şekil-1c). Stentin ülser ettiği alanda kanamanın kendiliğinden durduğu görüldü. Daha sonra koledok selektif kanülize edildi. Kolanjiogramda intrahepatik safra yolları ve koledok proksimali belirgin geniş ve distalde darlık mevcuttu. Darlığı geçecek şekilde 10F *double pigtail* stent yerleştirildi. İşlem sonrası kanaması olmayan hasta taburcu edildi.

Hastadan tıbbi verilerinin yayınlanabileceğine ilişkin yazılı onam belgesi alındı.



Şekil-1. a) Stentin içindeki koagulum görülüyor. b) Stentin yol açtığı kanamalı ülser (siyah ok). Ülserin üstünde papilla major görülüyor. c) Deforme olan ucu ile biliyer metalik stentin çıkarıldıktan sonraki hali görülüyor.

Tartışma

Metalik stentler günümüzde biliyer sistemin malign ve benign hastalıklarında yaygın olarak kullanılmaktadır (3,4). Biliyer metalik stentler tam kaplı, parsiyel kaplı veya kapsız olabilirler. Kapsız metal stentler inoperabl malign hastalıklarda biliyer açıklığı sağlamada daha çok tercih edilirken tam kaplı metal stentler ise benign biliyer darlıklar ve sfinkterotomi ilişkili kanamalarda giderek

artan sıklıkta kullanılmaktadırlar (5). Stent takılan yerde ağrı, stent migrasyonu, tümöre bağlı yada tümörle ilişkisiz stent tıkanması, stentin indüklediği ülserasyon, kanama ve perforasyon metal stentlerin iyi bilinen komplikasyonlarıdır (6-8). Merkezimizde bir yılda yaklaşık 2400 hastaya ERCP yapılmakta olup biliyer metal stentler literatürle ve kılavuzlarla uyumlu olarak biliyer sistemin malign ve benign darlıklarında, endoskopik sfinkterotomi (EST) ilişkili tip-2 perforasyonlarda ve EST sonrası kanamalarda kullanılmaktadır. Kapsız metalik stentlerde stentin tıkanması, kaplı metalik stentlerde ise stent migrasyonu literatürde bildirilen sıklıklarda izlenmektedir. Metal stent deformasyonuna bağlı kanama, merkezimizde şu ana kadar izlenmemiştir. Metal stentin deforme olması, stentin yapısındaki tellerin dışa doğru açılarak barsak duvarında ülserle beraber kanamaya yol açmasına literatürde de rastlanmamıştır.

Biliyer sisteme yerleştirilen plastik veya metal stentlerin distal migrasyonu her zaman barsak duvarı irritasyonu ve bununla ilişkili komplikasyonlar açısından risk taşır. Distal migrasyon sonrası plastik stentler sıklıkla spontan elimine olurken, metal stentlerde ise spontan eliminasyon nadirdir (9). Biliyer stent öyküsü olan hastaların stentin olduğu yerde batar tarzda ağrı ile gelmesi stentin barsak duvarına yaptığı irritasyonu akla getirir. Barsak duvarına stent irritasyonu olan bazı hastalarda ise ağrı yoktur ve stente komşu mukozada erozyon ve/veya ülserler tesadüfen endoskopide tanı alır. ERCP esnasında barsak duvarına irritasyon yapan plastik stent ya barsak duvarından serbestleştirilir ya da çıkarılıp yenisiyle değiştirilir. Distale migrasyon sonucu barsak duvarını irrite eden metal stentlerin çıkarılması ise teknik olarak daha zor olup, literatürde bu vakalar için argon plazma başarılı bir şekilde kullanılmıştır (10).

Sonuç olarak ERCP sonrası gastrointestinal sistem kanaması ile başvuran hastalarda stentlerin barsak duvarında yol açabileceği erozyon ve ülserler de ön tanıda akılda tutulmalıdır. Stentin kanamalı alandan uzaklaştırılması ve takibinde barsak duvarındaki lezyona yönelik endoskopik tedavi kanamayı etkili bir şekilde kontrol edebilir.

Kaynaklar

1. Talukdar R. Complications of ERCP. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2016;30(5):793-805.
2. Lee MH, Tsou YK, Lin CH, et al. Predictors of re-bleeding after endoscopic hemostasis for delayed post-endoscopic sphincterotomy bleeding. World J Gastroenterol 2016;22(11):3196-201.
3. Jiménez-Pérez M, Melgar Simón JM, Durán Campos A, González Grande R, Rodrigo López JM, Manteca González R. Endoscopic management of post-liver transplantation biliary strictures with the use of fully covered metallic stents. Transplant Proc 2016;48(7):2510-4.
4. Menon S. Hilar stenting for malignant biliary obstruction. Gastrointest Endosc 2016;83(2):478-9.
5. Pfau PR, Pleskow DK, Banerjee S, et al. Pancreatic and biliary stents. ASGE Technology Assessment Committee. Gastrointest Endosc 2013;77(3):319-27.

6. Yu DW, Hong MY, Hong SG. Endoscopic treatment of duodenal fistula after incomplete closure of ERCP-related duodenal perforation. *World J Gastrointest Endosc* 2014 16;6(6):260-5.
7. Inoue T, Naitoh I, Okumura F, et al. Reintervention for stent occlusion after bilateral self-expandable metallic stent placement for malignant hilar biliary obstruction. *Dig Endosc* 2016 ;28(7):731-7.
8. Togawa O, Kawabe T, Isayama H, et al. Management of occluded uncovered metallic stents in patients with malignant distal biliary obstructions using covered metallic stents. *J Clin Gastroenterol* 2008;42(5):546-9.
9. Ho H, Mahajan A, Gosain S, et al. Management of complications associated with partially covered biliary metal stents. *Dig Dis Sci* 2010;55(2):516-22.
10. Christiaens P, Decock S, Buchel O, et al. Endoscopic trimming of metallic stents with the use of argon plasma. *Gastrointest Endosc* 2008;67(2):369-71.

Hereditär multiple ekzostoz**Hereditary multiple exostoses**İlknur Aykurt Karlıbel¹ Asiye Mukaddes Erol¹ Lale Altan İnceođlu² Mustafa Özer³¹Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği, Bursa, Türkiye²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakóltesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye³Gebze Devlet Hastanesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği, Kocaeli, Türkiye**Öz**

Hereditär multiple ekzostoz, çoğunlukla uzun kemiklerin juksta-epifizer bölgesinden köken alan ekzositozlarla karakterize otozomal dominant bir hastalıktır. Hastalar en sık eklem yakınında tek veya çok sayıda sert, ağrısız kitlelerle prezente olur. En yaygın komplikasyonları ağrı, eklem hareket kısıtlılığı, ekstremite eşitsizlikleri, büyüme geriliği, damar-sinir basısı ve malign dejenerasyondur. Bu yazıda, hereditär multiple ekzostoz tanılı bir olguyu sunmayı ve ilgili literatür eşliğinde klinik özelliklerini ve tedavide rehabilitasyonun etkinliğini tartışmayı amaçladık.

Anahtar Sözcükler: Hereditär multiple ekzostoz, eklem hareket kısıtlılığı, ekzostoz

Abstract

Hereditary multiple exostoses is an autosomal dominant disease which is characterized by exostoses that originate most commonly from the juxta-epiphysial region of the long bones. Patients usually present with single or multiple, firm, painless masses near the joints. The most common complications are pain, restricted joint motion, extremity asymmetry, growth retardation, neurovascular compression and malignant degeneration. In this paper, we aimed to present a case with diagnosis of hereditary multiple exostoses and discuss the clinical features and efficacy of rehabilitation with relevant literature.

Keywords: Hereditary multiple exostoses, restricted joint motion, exostosis

Giriş

Hereditär multiple ekzostoz (HME) çok sayıda ekzostozların varlığı ile karakterize, farklı fenotipik bulgularla ortaya çıkabilen otozomal dominant geçişli bir hastalıktır (1). Ekzostoz kemik yüzeyinden dışarı doğru uzanan benign kemik tümürüdür. Kıkırdak ile kaplı ekzostozlara osteokondrom denir. Osteokondromlar (osteokartilajenöz ekzostoz) tekli olabileceği gibi HME'deki gibi çoklu görülebilir. Osteokondromların en sık yerleşim yerleri distal femur, proksimal tibia ve humerustur (2). HME, osteokondromlara bağlı hem fonksiyonel hem de kozmetik problemlere neden olabilir. Osteokondromlar büyüme plağına zarar vererek ekstremite kısılalığı, uzun kemiklerde eğilme, psödo-madelung deformitesi, eklem hareket kısıtlılığı ve boy kısılalığı gibi çeşitli iskelet deformitelerinin gelişmesine yol açabilir (3).

Bu çalışmada yaygın ağrı, eklem hareket kısıtlılığı ve uyuşma şikayetleri ile başvuran HME tanılı bir olguyu tedavide rehabilitasyonun etkinliğini de ele alarak literatür eşliğinde tartışmayı amaçladık.

Olgu Sunumu

Yirmi altı yaşında erkek hasta yaygın eklem ağrısı, omuz ve kalçadan başlayarak distale yayılan uyuşma, omuz, kalça ve dizlerde hareket kısıtlılığı şikayetleri ile kliniğimize başvurdu. Hikayesinden, altı yaşında iken omuz ve diz eklemlerinde hareket kısıtlılığı gelişmeye başlayan hastaya başvurduğu hastanede hereditär multiple ekzostoz tanısı konulduğu, 14 yaşında sol omuzdan ve 16 yaşında da her iki dizden opere edildiği öğrenildi. Soy geçmiş sorgulandığında annesinde de benzer şikayetler olduğu öğrenildi. Hastanın genel durumu iyi, sistemik muayenesi doğaldı. Kas iskelet sistemi muayenesinde aktif eklem hareket açıklıkları (EHA) incelendi. Her iki omuz internal rotasyonu 45°, her iki dirsek ekstansiyonu son 10°, her iki kalça fleksiyonu 65°, her iki kalça ekstansiyonu son 10° ve her iki diz fleksiyonu ise 100° derecede kısıtlı ve ağrılıydı. Diğer eklem hareket açıklıkları ise normal sınırlardaydı. Her iki

Yazışma Adresi: Asiye Mukaddes Erol

Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği, Bursa, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 01.11.2016 Kabul Tarihi: 03.05.2017

kalçada Thomas testi pozitif. Sağ dizde 20 derece sol dizde 15 derece valgus açılanması mevcuttu. Her iki üst ve alt ekstremitede kas gücü tam, derin tendon refleksi normoaktif, patolojik refleksi negatif. Rutin laboratuvar tetkikleri normal sınırlardaydı. Radyolojik incelemesinde her iki femur proksimal ve distal, her iki humerus proksimal ve distal, her iki tibia proksimal ve distal ve her iki fibulada ekzostozlar tespit edildi (Şekil-1).



Şekil-1. X-Ray incelemede her iki femur, humerus ve tibia proksimali ve distalinde sesil ekzostozlar.

Her iki üst ve alt ekstremitte tuzak nöropatisi açısından istenen EMG sonucu normal olarak geldi. Hasta, eklem hareket açıklığını (EHA) arttırmak ve ağrıyı azaltmak amacıyla fizik tedavi ve rehabilitasyon programına alındı. Ağrılı eklemlere 20 seans *hotpack*, ultrason ve *transcutaneous electrical nerve stimulation* (TENS) tedavileri uygulandı. Germe, EHA ve güçlendirme egzersizleri ile yürüme eğitimi verildi. Fizik tedavi ve rehabilitasyon programı sonrasında eklem hareket açıklıkları incelendiğinde her iki omuz internal rotasyonu 30°, her iki dirsek ekstansiyonu son 5° ve her iki kalça ekstansiyonu son 5° derecede kısıtlıydı. Her iki kalça fleksiyonu 95° ve her iki diz fleksiyonu ise 115° derecedeydi. Yataışta visuel analog skala (VAS) skoru 9 (0-10) olan hastanın tedaviden sonra VAS skoru 3'e geriledi. Yürüme hızında ve adım uzunluğunda artma, günlük yaşam aktivitelerinde iyileşme sağlandı. Hastanın ağrısında belirgin azalma ve fonksiyonel durumunda iyileşme sağlanması üzerine hastanın da isteği

doğrultusunda hastada cerrahi müdahale düşünülmüdü. EHA'da artma ve hastanın operasyon istememesi üzerine hasta cerrahi açıdan değerlendirilmedi. Hastanın takiplerinde klinik ve radyolojik olarak malign dejenerasyonu düşündürecek bulgulara rastlanmadı.

Hastadan tıbbi verilerinin yayınlanabileceğine ilişkin yazılı onam belgesi alındı.

Tartışma

HME farklı fenotipik bulgularla karşımıza çıkabilen kemik tümürüdür. Hastalık genellikle otozomal dominant geçiş gösterse de spontan mutasyonlar da görülebilmektedir (4). Prevalansı 1/50.000'dir. Kadınlarda inkomplet penetransa eğilim olduğundan dolayı klinik tablo daha hafif seyirli (3). HME patogeneğinde, 8. ve 11. kromozomlarında bulunan EXT tümör supresör genlerindeki mutasyonlar rol oynamaktadır (2,4,5). EXT1 geni 8q23-24 ve EXT2 geni 11p11-p12 kromozomal bölgesinde bulunur. Hem EXT1 hem de EXT2 heparan sülfat ve proteoglikan sentezinde görevli glikoziltransferazları kodlamaktadır. Heparan sülfatın yapısında bulunan polisakarit dizilerinin büyüme faktörleri ile ilişkili sinyal iletiminde, hücre çoğalmasında ve adhezyonunda rol oynadığı düşünülmektedir. Bu genlerdeki mutasyonlar kıkırdak farklılaşmasında bozulmaya ve ekzostoz gelişimine yol açmaktadır (2,4,6). EXT1 mutasyonu ciddi ve yaygın hastalık seyriyle ilişkilidir (3).

HME tanısı esas olarak hastanın kliniğine ve radyolojik incelemeye göre konulabilir. Radyografide uzun kemiklerin juksta-epifizer bölgesinden köken alan en az iki osteokondroma rastlandığında HME tanısı konulabilir. Genellikle hastalarda aile hikayesi de mevcuttur (2). Osteokondromlar, doğumda genellikle belirti vermez. Çocukluk ve ergenlik dönemi boyunca, büyüme plağının kapanmasına kadar büyür. Komplike olmayan lezyonlar büyüme göstermez (1,4). HME'de ekstremitte kısalığı, uzun kemiklerde eğilme, psödo-madelung deformitesi, eklem hareket kısıtlılığı ve boy kısalığı gibi çeşitli iskelet deformiteleri görülür (1). Olgumuzda da sol ulnada kısalma, omuz, dirsek ve diz eklemlerinde hareket kısıtlılığı ve dizlerde valgus deformitesi mevcuttu. HME, kozmetik ve iskelet deformiteleri dışında damar-sinir basısı ve malign dejenerasyon gibi ciddi komplikasyonlara da yol açabilir. Hastada damar basısı yoktu fakat peroneal sinir basısı nedeniyle operasyon öyküsü mevcuttu. Yapılan EMG'de periferik sinir tuzaklanmayı düşündürecek bulgu saptanmadı.

Malign dejenerasyon %0.5-5 olguda görülmektedir. En sık kondrosarkom görülse de oldukça nadir karşılaşılan bir durumdur (1,3). Malign dejenerasyon açısından hastaların mutlaka klinik ve radyolojik olarak takip edilmesi gerekir. Klinikte ağrının artması, şişliklerde büyüme, radyolojik görüntüleme düzensiz kontur,

kemik destrüksiyonu ve dağınık kalsifikasyonlar malign dejenerasyon ihtimalini düşündürmelidir (7). Hastanın klinik takip ve radyolojik incelemelerinde malign dejenerasyonu düşündürecek bulguya rastlanmadı.

HME tedavi yönetimi zorlayıcı olabilir. Çocukluk döneminde büyüme süreci göz önünde bulundurulmalıdır. Büyüme bozukluğu, nörovasküler yapılar bası, şiddetli ağrı, eklem hareketlerinde ileri derecede kısıtlılık varsa cerrahi tedavi uygulanır (1-3). Bu durumların dışında kabul edilen yaklaşım konservatif tedavidir. Darilek ve ark. (8) 293 HME'li hastada yaptığı çalışmada hastaların %84'ünde ağrı şikayeti mevcuttu. Ağrılı olanların %55.1'i de yaygın ağrı tariflemekteydi. Goud ve ark. (9) yaptığı çalışmada ise HME'li hastalarda ağrının günlük yaşam aktivitelerinin yanı sıra sosyal yaşam ve psikolojik durum üzerine de yaygın etkileri olan önemli bir problem olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle ağrı HME'li bireylerin tedavisinde ele alınması gereken

önemli bir sorundur. Bizim olgumuzda her iki omuz, dirsek, kalça ve dizde eklem hareket açıklığı kısıtlılığı ve bilateral genu valgumu vardı. Hastanın sol omuz ve sağ dizden eklem hareket kısıtlılığı ve peroneal sinir basısına bağlı operasyon hikayesi mevcuttu. Ağrı, eklem hareket kısıtlılığı ve şekil bozuklukları hastanın günlük aktivitelerinde zorlanmasına ve yürüyüşünde bozukluğa yol açmaktaydı. Fizik tedavi ve rehabilitasyon programı sonrası hastanın ağrısında azalma, EHA'da artma ve yürüyüşünde iyileşme sağlandı. Hastanın sosyal ve sportif faaliyetlere katılımı arttı.

Sonuç olarak hem kozmetik hem de fonksiyonel problemlere yol açabilen, farklı fenotipik bulgularla ortaya çıkabilen HME tedavi sürecinde fizik tedavi ve rehabilitasyon, hastalarda ağrının azalmasına, hareket açıklığında artmaya ve günlük yaşam aktivitelerinde iyileşmeye yardımcı olabilir.

Kaynaklar

1. Ryckx A, Somers Jan FA, Allaert A. Hereditary Multiple Exostosis. Acta Orthop Belg 2013;79(6):597-607.
2. Stieber JR, Dormans JP. Manifestations of Hereditary Multiple Exostoses. J Am Acad Orthop Surg 2005;13(2):110-20.
3. Bovée JV. Multipl osteochondromas. Orphanet J Rare Dis 2008;13(3)3.
4. Jamsheer A, Socha M, Sowińska-Seidler A, Telega K, Trzeciak T, Latos-Bieleńska A. Mutational screening of EXT1 and EXT2 genes in Polish patients with hereditary multiple exostoses. J Appl Genetics 2014;55(2):183-8.
5. Wuyts W, Van Hul W, De Boule K, et al. Mutations in the EXT1 and EXT2 genes in hereditary multiple exostoses. Am J Hum Genet 1998;62(2):346-54.
6. Legeai-Mallet L, Margaritte-Jeannin P, Lemdani M, Le Merrer M, Munnich A. An extension of the admixture test for the study of genetic heterogeneity in hereditary multiple exostoses. Hum Genet 1997;99(3):298-302.
7. Temizöz O, Bayram İ, Akpınar F, Etlik Ö, Güler M, Sakarya ME. Malign transformasyon gösteren osteokondromatozis olgusunda radyolojik bulgular. Tıp Araştırmaları Dergisi 2003;1(3):31-4.
8. Darilek S, Wicklund C, Novy D, et al. Hereditary multiple exostosis and pain. J Pediatr Orthop 2005;25(3):369-76.
9. Goud AL, de Lange J, Scholtes VA, Bulstra SK, Ham SJ. Pain, physical and social functioning, and quality of life in individuals with multiple hereditary exostoses in The Netherlands: A national cohort study. J Bone Joint Surg Am 2012;94(11):1013-20.

Delirium and tremor associated with ertapenem treatment

Ertapenem tedavisine bağlı gelişen deliryum ve tremor

Hatice Köse Fatih Temoçin

Yozgat State Hospital, Clinic of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Yozgat, Turkey

Abstract

Though seizures are the most commonly reported neurotoxic adverse effects of ertapenem, there are numerous other side effects including hallucinations, disorientation, and tremors which are hardly ever reported. These side effects can be life-threatening, in the case of continued use of ertapenem. However, these treatment-related side effects completely resolve with discontinuation of the treatment. A 60-year-old female patient underwent hemodialysis owing to acute kidney insufficiency. Ertapenem was used to treat the condition since cultures from blood and urine sample of the patient showed growth of extended-spectrum beta-lactamase positive *Escherichia coli*. It was seen that the patient experienced tremors in the hand on the sixth day of the treatment, and hallucinations, disorientation, aggression, impaired speech as well as gait disturbances on the eighth day. With the discontinuation of ertapenem treatment, all these symptoms disappeared within 72 hours. This paper emphasizes on the neurotoxicity other than seizures resulting from ertapenem.

Keywords: ertapenem, delirium, tremor, hallucination.

Öz

Ertapeneme bağlı nörotoksik yan etkilerden nöbet sıklıkla bildirilmesine rağmen, halüsinasyon, dezoryantasyon, tremor gibi nöbet dışı yan etkiler nadiren bildirilmiştir. Bu yan etkiler ertapenem kullanılması devam etmesi durumunda hayatı tehdit edici boyutlara ulaşabildiği gibi, kesilmesi durumunda tamamen gerilemektedir. Altmış yaşında kadın hasta akut böbrek yetmezliği nedeniyle hemodiyalize girmiş, kan ve idrar kültüründe genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz pozitif Escherichia coli üremesi nedeniyle ertapenem başlanmıştır. Ertapenem tedavisinin altıncı gününde ellerinde tremor ve sekizinci gününde halusinasyon, dezoryantasyon, saldırganlık, konuşma ve yürüme bozukluğu başlamış, tedavi kesildikten sonra 72 saat içinde tüm bulgular gerilemiştir. Ertapeneme bağlı nöbet dışı nörotoksositeye dikkat çekmek amacıyla bu olgu bildirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: ertapenem, deliryum, tremor, halusinasyon.

Introduction

Ertapenem is a broad-spectrum carbapenem antibiotic effective against gram positive and gram negative aerobic as well as anaerobic bacteria (1). Common adverse reactions (>5%) include nausea, headache, diarrhea, and local reactions related to infusion. Among the neurological and psychiatric adverse reactions, the incidence of seizures is 0.5%, while that of altered mental status such as agitation, disorientation, confusion, decreased mental acuity, somnolence and stupor ranges from 3.3 to 5.1% (2). Neurotoxicity other than seizures, associated with ertapenem is extremely rare (3).

Herein, the authors present a case report of a patient in whom delirium and tremors associated with the use of ertapenem were seen, which however completely disappeared once the treatment was discontinued.

Case Report

A 60-year-old female patient was admitted to the intensive care unit owing to acute kidney insufficiency. Medical history of the patient revealed chronic obstructive pulmonary disease and a previous abdominal surgery to relieve an ileus. On physical examination, it was found that the patient was conscious, cooperative and orientated, having a body temperature of 36 °C and an arterial blood pressure of 120/80 mmHg. The other systems were found to be normal. The laboratory test results showed a leukocytic count of 13.3/μL (80% neutrophil, 12% lymphocyte, 6% monocyte); hemoglobin

Corresponding Author: Hatice Köse
Yozgat State Hospital, Department of Infectious Diseases and
Clinical Microbiology, Yozgat, Turkey
Received: 19.02.2017 Accepted: 24.04.2017

(Hb) 13.3 g/dL; platelet count (PLT) 585/ μ L; urea 306 mg/dL; creatinine 5.96 mg/dL; sodium (Na) 127 mmol/L and C-reactive protein (CRP) 57 mg/L. Arterial blood gas analysis revealed pH 7.06; pCO₂ 32 mmHg; pO₂ 58.8 mmHg and HCO₃ 7.3. Urinalysis was found to be positive for nitrite and pyuria. The patient presented a history of hemodialysis. An empiric antibiotic therapy comprising of ceftriaxone 1 g twice daily was administered. The creatinine level decreased to 1.92 mg/dL. However, the sampling of blood and urine cultures of the patient revealed the growth of extended-spectrum beta-lactamase positive *Escherichia coli* and the patient was then transferred to the ward. The patient was administered intravenous ertapenem at a dose of 500 mg once daily. On the third day of the treatment, ertapenem dose was titrated up to 1 g once daily as the creatinine level further reduced (to 0.81 mg/dL). However, on the sixth day of the treatment, the patient suffered from tremors of the hand. Neurological examination revealed normal findings except for the presence of tremors. The patient also experienced hallucinations, disorientation, aggression, impaired speech, and gait disturbance on the eighth day. The laboratory test results revealed a neutrophilic count of 11.3/ μ L; Hg 8.9 g/dL; PLT 315/ μ L; Cr 0.66 mg/dL; albumin 2.7 g/dL; Na 138 mmol/L, and CRP 29 mg/L. The findings on cranial computed tomography (CT) and electroencephalography (EEG) were normal. The patient was diagnosed with delirium and was administered peroral haloperidol 0.5 mg three times daily; however, she did not show any clinical response. The patient was not administered any medications other than ertapenem at the time of onset of the symptoms. The levels of creatinine and electrolytes were found to be normal. Yet, due to the absence of a possible etiology for delirium other than ertapenem treatment, it was decided on the tenth day to discontinue the treatment. Subsequently, with the discontinuation of the treatment, all the symptoms disappeared within 72 hours.

Written informed consent was obtained from the patient for publishing the individual medical record.

Discussion

The incidence of neurotoxic adverse effects associated with ertapenem treatment varies from 3.3% to 5.1% in the literature (2). Though seizures are frequently reported, adverse effects other than seizures are rarely recorded (1). Carbapenems are associated with seizures due to structural similarity and receptor antagonism with γ -aminobutyric acid (GABA) (2). However, the role of GABA receptor antagonism in eliciting neurotoxicity other than seizures is still not clear (4). Table 1 shows records of 15 patients in whom neurotoxicity symptoms other than seizures have developed with the administration of ertapenem (1-9).

The Naranjo Adverse Drug Reaction Probability Scale recorded a score of 6 for the patient. Delirium and tremors

were the adverse drug reactions *probably* associated with ertapenem treatment (10).

Neurotoxic side effects have mostly been reported in the elderly patients suffering from end-stage kidney insufficiency and disorders of the central nervous system (2,3). Among all the cases reported till date, nine patients had a chronic renal failure (CRF), two patients had an acute renal failure (ARF), and only four patients did not have any kidney insufficiency. The age of all these patients ranged between 42 and 85 years. Ertapenem must be administered at a dose of 1 g intravenously per day in patients with a glomerular filtration rate (GFR) of \geq 30 and 500 mg intravenously per day in patients with a GFR of $<$ 30 (3). Considering a GFR of 28.9 mL/min calculated using the Cockcroft-Gault equation, the patient in the present case was administered ertapenem at a dose of 500 mg intravenously for the first three days, followed by 1 g due to increased GFR levels up to 69.9 mL/min. In the previously published case reports, one patient had a history of infarction and one patient had a history of spinal cord injury (4,7). Nevertheless, in the present case, the patient did not have a known central nervous system disorder. On the basis of the presence of delirium, cranial CT and EEG were performed, which revealed normal findings. Due to the fact that 95% of ertapenem binds to proteins, the low albumin levels have been reported to be a risk factor for neurotoxicity (3). In the present case, the patient had an albumin level of 2.7 during the onset of symptoms, which could be a risk factor for the development of neurotoxicity. Uricosuric drugs can also cause neurotoxicity, inhibiting renal excretion of ertapenem (3). However, the patient in the present case did not receive any uricosuric drugs.

A review of the reported cases has revealed that the symptoms of neurotoxicity appear within 3 to 14 days after the initiation of treatment with ertapenem and these symptoms disappear within two to fourteen days after the discontinuation of drug therapy. In the present case, the symptoms appeared on the sixth day following the initiation of treatment and disappeared three days after the discontinuation of the treatment.

In conclusion, although neurotoxic side effects other than seizures, seen on the administration of ertapenem are rare, yet they may be life-threatening in case the drug is continued. Similar cases reported by Apodaca et al.(2) and Duquaine et al.(4) required mechanical ventilation. Following the discontinuation of the drug on the basis of neurotoxic findings (which could be related to ertapenem treatment), all the symptoms disappeared in the patients. Nevertheless, it should be kept in mind that ertapenem treatment can cause side effects like hallucinations, disorientation, speech disorders, gait disorder, tremors, aggressive behavior, myoclonus, and nystagmus, other than seizures and the drug must be discontinued immediately as these symptoms appear.

Table-1. Patient Characteristics Reported in the Literature

Reference	Age/Sex	Comorbidities	Reason for treatment	Side effects	The day of starting the treatment / The number of days to resolve side effects	Naranjo score
1	54/M	Interstitial nephritis, DM	Diabetic foot infection	Delusion, visual hallucination, convulsion, nystagmus, myoclonus	5/10	probable
1	48/M	Depression	Osteomyelitis, prosthetic infection	Confusion, disorientation, visual and auditory hallucination	10/3	probable
2	42/F	Alcoholic cirrhosis, ARF	Cellulitis, myositis	Delusion, hallucination, agitation, disorientation, insomnia, confusion, Speech disorder	7/2	4 (possible)
3	85/F	Hypertensive heart disease, CRF, Asthma	Urinary tract infection	Visual hallucination, disorientation, insomnia, depression	7/2	6 (probable)
4	79/M	DM, HT, spinal cord injury	Sacral osteomyelitis	Delirium, speech disorder, myosis	7/2	* (highly probable)
4	70/M	Metastatic bladder carcinoma, small bowel obstruction, ARF	Prophylaxis for intra-abdominal infection	delirium	5/2	probable
5	71/M	Depression	Osteomyelitis	Visual hallucination, suicidal ideation, disorientation	14/3	6 (probable)
6	72/M	CRF	Hernioplasty (prophylactic use)	Disorientation, aggression, unrest, visual hallucination, meaningless speech	5/7	*
6	79/F	CRF	Small bowel obstruction	Aggression, confusion, visual hallucination	3/7	*
6	73/F	CRF	Cellulitis	Confusion, visual hallucination, soliloquy	7/8	*
6	78/F	CRF	Acute cholecystitis	Hallucination, asterixis, myoclonic jerks, cognitive impairment	4/14	*
6	70/F	CRF	AV fistula infection	Hallucination, asterixis, myoclonic jerks, cognitive impairment	5/14	*
7	84/F	HT, CRF, previous cranial infarction	Urinary tract infection	Visual hallucination, confusion, meaningless speech	7/4	6 (probable)
8	58/M	Celiac disease, osteoporosis, chronic liver disease	Wound infection (hip)	Visual hallucination, confusion	14/2	*
9	61/M	CRF	Septic arthritis, prosthetic infection	Visual and tactile hallucination, generalized flinging movement	3/2	*

ARF (acute renal failure); CRF (chronic renal failure); DM (diabetes mellitus); HT (hypertension), * not reported

References

- Oo Y, Packham D, Yau W, Munckhof WJ. Ertapenem-associated psychosis and encephalopathy. *Int Med J* 2014;44(8):817-9.
- Apodaca K, Baker, Bin-Bilal H, Raskin Y, Quinn DK. Ertapenem-induced delirium: A case report and literature review. *Psychosomatics* 2015;56(5):561-6.
- Ribo FZ, Ribo AA. Ertapenem-induced neuropsychiatric symptoms in an elderly patient with chronic kidney disease resulting to a prescribing cascade. *J Pharmacovigil* 2014;2(6):152.
- Duquaine S, Kitchell E, Tate T, Tannen RC, Wickremasinghe IM. Central nervous system toxicity associated with ertapenem use. *Ann Pharmacother* 2011;45(1):e6.
- Veillette JJ, Van Epps P. Ertapenem-induced hallucinations and delirium in an elderly patient. *Consult Pharm* 2016;31(4):207-14.
- Lee KH, Ueng YF, Wu CW, Chou YC, Ng YY, Yang WC. The recommended dose of ertapenem poses a potential risk for central nervous system toxicity in haemodialysis patients—case reports and literature reviews. *J Clin Pharm Ther* 2015;40(2):240-4.
- Shea YF, Mok MYM, Cheng KC, Hon FKS, Chu LW. Delayed recovery from ertapenem induced encephalopathy: Case report and a possible mechanism. *Int J Clin Pharm* 2013;35(4):535-7.
- Kong V, Beckert L, Awunor-Renner C. A case of beta lactam-induced visual hallucination. *N Z Med J* 2009;122(1298):76-7.

9. Kuchinskas S, Reger C. Tactile hallucinations as a side effect of ertapenem on an acute rehabilitation floor. *Am J Phys Med Rehabil* 2006;85(3):267.
10. Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, et al. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther* 1981;30(2):239-45.

YAZARLARA BİLGİ

AMAÇ ve KAPSAM

Ege Tıp Dergisi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin yayın organı olup, üç ayda bir yayımlanır ve dört sayı ile bir cilt tamamlanır. Dergi; tüm tıp alanlarıyla ilgili nitelikli klinik ve deneysel araştırmaları, olgu sunumlarını ve editöre mektupları yayımlar.

Ege Tıp Dergisi, bilimsel yayınlara açık erişim sağlar. Dergi basımından hemen sonra, makalelerin tam metinlerine ücretsiz ulaşılabilir. Yazarlardan makale yayımı için herhangi bir ücret talep edilmez.

Ege Tıp Dergisi, makalelerin "Atıf-Gayri Ticari-Aynı Lisansla Paylaşım 4.0, Uluslararası (CC BY-NC-SA 4.0)" lisansına uygun bir şekilde paylaşılmasına izin verir.

Dergide yayımlanmak üzere gönderilen yazıların daha önce başka bir yerde yayımlanmamış veya yayımlanmak üzere gönderilmemiş olması gerekir. Daha önce kongrelerde sunulmuş çalışmalar, bu durum belirtilmek koşuluyla kabul edilir. Makale, yazar(lar)ın daha önce yayımladığı bir yazısındaki konuların bir kısmını içeriyorsa bu durum belirtilmeli ve yeni yazı ile birlikte önceki makalenin bir kopyası da Yayın Bürosu'na gönderilmelidir.

Dergiye gönderilen tüm yazılar iThenticate programı ile taranır. Editör ya da Yayın Kurulu Üyesi, yayın koşullarına uymayan yazıları yayınlamamak, düzeltmek üzere yazar(lar)ı geri göndermek, biçimce düzenlemek veya reddetmek yetkisine sahiptir. Editör ya da Yayın Kurulu Üyesi, uygun gördüğü yazıyı incelenmek üzere danışman(lar)ı gönderir. Gerekli olduğu durumlarda, yazar(lar)dan düzeltme istenebilir. Yazardan düzeltme istenmesi, yazının yayımlanacağı anlamına gelmez. Bu düzeltmelerin en geç 21 gün içinde tamamlanıp dergiye gönderilmesi gereklidir. Aksi halde yeni başvuru olarak değerlendirilir. Sorumlu yazara yazının kabul veya reddedildiğine dair bilgi verilir.

Dergide yayımlanan yazıların etik, bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazar(lar)ı aittir. Editör ve Yayın Kurulu üyelerinin görüşlerini yansıtmaz.

Dergide yayımlanması kabul edilse de edilmese de, yazı materyali yazarlara geri verilmez. Dergide yayımlanan yazılar için telif hakkı ödenmez. Bir adet dergi, sorumlu yazara gönderilir.

Derginin Yazı Dili

Derginin yazı dili Türkçe ve İngilizcedir. Dili Türkçe olan yazılar, İngilizce özetleri ile yer alır. Yazının hazırlanması sırasında, Türkçe kelimeler için Türk Dil Kurumundan (www.tdk.gov.tr), teknik terimler için Türk Tıp Terminolojisinden (www.tipterimleri.com) yararlanılabilir.

Yazarlık Kriterleri

Makalenin yayımlanması uygun bulunduktan sonra, tüm yazarlardan "Yayın Hakkı Devir Formu"nu imzalamaları istenir: "*Biz, aşağıda isimleri olan yazarlar, bu makalenin yazılması yanında, çalışmanın planlanması, yapılması ve verilerin analiz edilmesi aşamalarında da aktif olarak rol aldığımızı ve bu çalışma ile ilgili her türlü sorumluluğu kabul ettiğimizi beyan ederiz. Makalemiz geçerli bir çalışmadır. Hepimiz makalenin son halini gözden geçirdik ve yayımlanması için uygun bulduk. Ne bu makale ne de bu makaleye benzer içerikte başka bir çalışma hiçbir yerde yayımlanmadı veya yayımlanmak üzere gönderilmedi. Gerekirse makale ile ilgili bütün verileri editörlere göndermeyi de garanti ediyoruz. Ege Tıp Dergisi'nin bu makaleyi değerlendirmesi ve yayınlaması durumunda, makale ile ilgili tüm telif haklarımızı Ege Tıp Dergisi'ne devrettiğimizi beyan ve kabul ederiz. Yazarlar olarak, telif hakkı ihlali nedeniyle üçüncü şahıslarca istenecek hak talebi veya açılacak davalarda Ege Tıp Dergisi Editör ve Yayın Kurulu üyelerinin hiçbir sorumluluğunun olmadığını yazarlar olarak taahhüt ederiz. Ayrıca, makalede hiçbir suç unsuru veya kanuna aykırı ifade bulunmadığını, araştırma*

yapılırken kanuna aykırı herhangi bir malzeme ve yöntem kullanılmadığını, çalışma ile ilgili tüm yasal izinleri aldığımızı ve etik kurallara uygun hareket ettiğimizi taahhüt ederiz."

Ege Tıp Dergisi, Uluslararası Tıp Dergileri Editörleri Kurulu'nun (*International Committee of Medical Journal Editors*) "Biyomedikal Dergilere Gönderilen Makalelerin Uyması Gereken Standartlar: Biyomedikal Yayınların Yazımı ve Baskıya Hazırlanması (*Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication*)" standartlarını kullanmayı kabul etmektedir. "Ege Tıp Dergisi Yazarlara Bilgi" içeriği, bu sürümden yararlanarak hazırlanmıştır. Bu konudaki bilgiye www.icmje.org adresinden ulaşılabilir.

Etik Sorumluluk

Ege Tıp Dergisi, etik ve bilimsel standartlara uygun makaleleri yayımlar. Makalelerin etik kurallara uygunluğu yazarların sorumluluğundadır. Tüm prospektif çalışmalar için, çalışmanın yapıldığı kurumdan Etik Kurul onayı alınmalı ve yazının içinde belirtilmelidir. Olgu sunumlarında; etik ve yasal kurallar gereği, hastanın mahremiyetinin korunmasına özen gösterilmelidir. Hastaların kimliğini tanımlayıcı bilgiler ve fotoğraflar, hastanın (ya da yasal vasisinin) yazılı bilgilendirilmiş onamı olmadan basılamadığından, "*Hastadan (ya da yasal vasisinden) tıbbi verilerinin yayınlanabileceğine ilişkin yazılı onam belgesi alındı*" cümlesi, makale metninde yer almalıdır.

Ege Tıp Dergisi, deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, genel kabul gören ilgili etik kurallara uyulması zorunluluğunu hatırlatır. Alınmış Etik Kurul Onayı, makale ile birlikte sisteme yüklenmelidir.

Yazar(lar), ticari bağlantı veya çalışma için maddi destek veren kurum varlığında; kullanılan ticari ürün, ilaç, firma vb. ile nasıl bir ilişkisi olduğunu sunum sayfasında Editöre bildirilmelidir. Böyle bir durumun yokluğu da yine ayrı bir sayfada belirtilmelidir.

YAZI TÜRLERİ

Yazılar, elektronik ortamda www.egetipdergisi.com.tr adresine gönderilir.

Örijinal makaleler, 3000 sözcük sayısını aşmamalı, "Öz (250 sözcükten fazla olmamalı), Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma, Sonuç, Kaynaklar" bölümlerinden oluşmalıdır.

Olgu Sunumu, "Öz, Giriş, Olgu Sunumu, Tartışma, Kaynaklar" şeklinde düzenlenmelidir. En fazla 1000 sözcük ve 10 kaynak ile sınırlıdır. Sadece bir tablo ya da bir şekil ile desteklenebilir.

Editöre Mektup, yayımlanan metinlerle veya mesleki konularla ilgili olarak 500 sözcüğü aşmayan ve beş kaynak ile bir tablo veya şekil içerecek şekilde yazılabilir. Ayrıca daha önce dergide yayınlanmış metinlerle ilişkili mektuplara cevap hakkı verilir.

Yayın Kurulu'nun daveti üzerine yazılanlar dışında *derleme* kabul edilmez.

MAKALENİN HAZIRLANMASI

Dergide yayımlanması istenilen yazı için aşağıdaki kurallara uyulmalıdır.

- Yazı; iki satır aralıklı olarak, Arial 10 punto ile yazılmalıdır.
- Sayfalar başlık sayfasından başlamak üzere, sağ üst köşesinde numaralandırılmalıdır.
- Online makale sistemine yüklenen *word* dosyasının başlık sayfasında (makalenin adını içeren başlık sayfası), yazarlara ait isim ve kurum bilgileri yer almamalıdır.
- Makale, şu bölümleri içermelidir: Her biri ayrı sayfada yazılmak üzere; Türkçe ve İngilizce Başlık Sayfası, Öz, Abstract, Anahtar Sözcükler, Keywords, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma, Sonuç, Açıklamalar (varsa),

Kaynaklar, Şekil Alt Yazıları, Tablolar (başlıkları ve açıklamalarıyla beraber), Ekler (varsa).

Yazının Başlığı

Kısa, kolay anlaşılır ve yazının içeriğini tanımlar özellikle olmalıdır.

Özetler

Türkçe (Öz) ve İngilizce (*Abstract*) olarak yazılmalı, Amaç, Gereç ve Yöntem, Bulgular ve Sonuç (*Aim, Materials and Methods, Results, Conclusion*) olmak üzere dört bölüme ayrılmalı, en fazla 250 sözcük içermelidir. Araştırmanın amacı, yapılan işlemler, gözlemsel ve analitik yöntemler, temel bulgular ve ana sonuçlar belirtilmelidir. Özetle kaynak kullanılmamalıdır. Olgular sunularında bölümlere ayrılmamalı ve 200 sözcüğü aşmamalıdır. Editöre mektup için özet gerekmemektedir.

Anahtar Sözcükler

Türkçe Öz ve İngilizce *Abstract* bölümünün sonunda, Anahtar Sözcükler ve *Keywords* başlığı altında, bilimsel yazının ana başlıklarını yansıtan, *Index Medicus Medical Subject Headings (MeSH)*'e uygun olarak yazılmış en fazla beş anahtar sözcük olmalıdır. Anahtar sözcüklerin, Türkiye Bilim Terimleri'nden (www.bilimterimleri.com) seçilmesine özen gösterilmelidir.

Metin

Yazı metni, yazının türüne göre yukarıda tanımlanan bölümlerden oluşmalıdır. Uygulanan istatistiksel yöntem, Gereç ve Yöntem bölümünde belirtilmelidir.

Kaynaklar

Ege Tıp Dergisi, Türkçe kaynaklardan yararlanmaya özel önem verdiğini belirtir ve yazarların bu konuda duyarlı olmasını bekler.

Kaynaklar metinde yer aldıkları sırayla, cümle içinde atıfta bulunulan ad veya özelliği belirten kelimenin hemen bittiği yerde, ya da cümle bitiminde noktadan önce parantez içinde Arabik rakamlarla numaralandırılmalıdır. Metinde, tablolarda ve şekil alt yazılarında kaynaklar, parantez içinde Arabik numaralarla nitelendirilir. Sadece tablo veya şekil alt yazılarında kullanılan kaynaklar, tablo ya da şeklin metindeki ilk yer aldığı sıraya uygun olarak numaralandırılmalıdır. Dergi başlıkları, *Index Medicus*'ta kullanılan tarza uygun olarak kısaltılmalıdır. Kısaltılmış yazar ve dergi adlarından sonra nokta olmamalıdır. Yazar sayısı altı veya daha az olan kaynaklarda tüm yazarların adı yazılmalı, yedi veya daha fazla olan kaynaklarda ise üç yazar adından sonra *et al.* veya *ark.* yazılmalıdır. Kaynak gösterilen derginin sayı ve cilt numarası mutlaka yazılmalıdır.

Kaynaklar, yazının alındığı dilde ve aşağıdaki örneklerde görüldüğü şekilde düzenlenmelidir.

Dergilerdeki yazılar

Tkacova R, Toth S, Sin DD. Inhaled corticosteroids and survival in COPD patients receiving long-term home oxygen therapy. *Respir Med* 2006;100(3):385-92.

Ek sayı (Supplement)

Solca M. Acute pain management: Unmet needs and new advances in pain management. *Eur J Anaesthesiol* 2002;19(Suppl 25):3-10.

Henüz yayınlanmamış online makale

Butterly SJ, Pillans P, Horn B, Miles R, Sturtevant J. Off-label use of rituximab in a tertiary Queensland hospital. *Intern Med J* doi: 10.1111/j.1445-5994.2009.01988.x

Kitap

Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji. 2. Baskı. İzmir: Bilgehan Basımevi; 1986:137-40.

Kitap bölümü

McEwen WK, Goodner IK. Secretion of tears and blinking. In: Davson H (ed). *The Eye*. Vol. 3, 2nd ed. New York: Academic Press; 1969:34-78.

İnternet makalesi

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: The ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the

Internet] 2002 [cited 12 Aug 2002]. Available from: www.nursingworld.org/AJN/2002/june/wawatch.htm

Web sitesi

Cancer-pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources [updated 16 May 2002; cited 9 July 2002]. Available from: www.cancer-pain.org

Açıklamalar

Varsa finansal kaynaklar, katkı sağlayan kurum, kuruluş ve kişiler bu bölümde belirtilmelidir.

Tablolar

Tablolar metni tamamlayıcı olmalı, metin içerisinde tekrarlanan bilgiler içermemelidir. Metinde yer alma sıralarına göre Arabik sayılarla numaralandırılıp tablonun üstüne kısa ve açıklayıcı bir başlık yazılmalıdır. Tabloda yer alan kısaltmalar, tablonun hemen altında açıklanmalıdır. Dipnotlarda sırasıyla şu semboller kullanılabilir: *, †, ‡, §, ¶.

Şekiller

Şekil, resim, grafik ve fotoğrafların tümü "Şekil" olarak adlandırılmalı ve ayrı birer .jpg veya .gif dosyası olarak (yaklaşık 500x400 piksel, 8 cm eninde ve 300 dpi çözünürlükte) sisteme eklenmelidir. Şekiller metin içinde kullanım sıralarına göre Arabik rakamla numaralandırılmalı ve metinde parantez içinde gösterilmelidir.

Şekil Alt Yazıları

Şekil alt yazıları, her biri ayrı bir sayfadan başlayarak, şekillere karşılık gelen Arabik rakamlarla çift aralıklı olarak yazılmalıdır. Şeklin belirli bölümlerini işaret eden sembol, ok veya harfler kullanıldığında bunlar alt yazıda açıklanmalıdır. Başka yerde yayınlanmış olan şekiller kullanıldığında, yazarın bu konuda izin almış olması ve bunu belgelemesi gerekir.

Ölçümler ve Kısaltmalar

Tüm ölçümler metrik sisteme (Uluslararası Birimler Sistemi, SI) göre yazılmalıdır. Örnek: mg/kg, µg/kg, mL, mL/kg, mL/kg/h, mL/kg/min, L/min, mmHg, vb. Ölçümler ve istatistiksel veriler, cümle başında olmadıkları sürece rakamla belirtilmelidir. Herhangi bir birimi ifade etmeyen ve dokuzdan küçük sayılar yazı ile yazılmalıdır.

Metin içindeki kısaltmalar, ilk kullanıldıkları yerde parantez içinde açıklanmalıdır. Bazı sık kullanılan kısaltmalar; *iv*, *im*, *po* ve *sc* şeklinde yazılabilir.

İlaçların yazımında jenerik isimleri kullanılmalıdır.

İletişim

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayın Bürosu

Bornova 35100-İZMİR

Tel : 0 232 3903103 / 232 3903186

Faks : 0 232 3422142

E-posta : editor@egetipdergisi.com.tr

Web adresi : www.egetipdergisi.com.tr

Kontrol Listesi

- Türkçe ve İngilizce başlık
- Türkçe ve İngilizce özet
- Türkçe ve İngilizce anahtar sözcükler (En fazla 5 sözcük)
- İki satır aralıklı yazılmış metin (Arial, 10 punto)
- Kurallara uygun hazırlanmış tablo ve şekiller
- Kurallara uygun yazılmış kaynaklar
- İmzalı "Yayın Hakkı Devir Formu" (makale yayın için kabul edildikten sonra istenmektedir)

INFORMATION FOR AUTHORS

AIMS AND SCOPE

Ege Journal of Medicine is the official journal of Ege University Faculty of Medicine with four issues published quarterly. Its purpose is to publish high-quality original clinical and experimental studies, case reports and letters to the editor.

Ege Journal of Medicine provides open access for academic publications. The journal provides free access to the full texts of all articles immediately upon publication. The journal does not request any charges for article processing or article submission. There is no charge for readers to download articles, case reports and reviews for their own scholarly use. The journal is free to all at any time. To provide this the journal relies on financial resources of Ege University, the voluntary work of its editorial team and advisory board, and the continuing support of its network of peer reviewers.

Ege Journal of Medicine enables the sharing of articles according to the "Attribution-NonCommercial-Share Alike 4.0 International (CC BY-NC-SA 4.0)" license.

The Journal will not consider manuscripts any that have been published elsewhere, or manuscripts that are being considered for another publication, or are in press. Studies previously announced in the congresses are accepted if this condition is stated. If any part of a manuscript by the same author(s) contains any information that was previously published, a reprint or a copy of the previous article should be submitted to the Editorial Office with an explanation by the authors.

All new submissions to Ege Journal of Medicine are screened using iThenticate plagiarism checker software. The Editor and the member of the Editorial Board have right not to publish or send back to author(s) to be amended, edit or reject the manuscript. For further review, Editor or Editorial Board members send the article to the referee(s). If necessary, author(s) may be invited to submit a revised version of the manuscript. This invitation does not imply that the manuscript will be accepted for publication. Revised manuscripts must be sent to the Editorial Office within 21 days, otherwise they will be considered as a new application. The corresponding author will be notified of the decision to accept or reject the manuscript for publication.

Statements and suggestions published in manuscripts are the authors' responsibility and do not reflect the opinions of the Editor and the Editorial Board members.

The manuscript will not be returned to the authors whether the article is accepted or not. Copyright fee is not paid for the articles published in the journal. A copy of the journal will be sent to the corresponding author.

Language of the Journal

The official languages of the Journal are Turkish and English. The manuscripts that are written in Turkish have abstracts in English, which makes the abstracts available to a broader audience.

Authorship Criteria

After accepted for publication, all the authors will be asked to sign "Copyright Transfer Form" which states the following: *"We, all the authors certify that, we have all participated sufficiently in the conception and design of this work and the analysis of data, as well as the writing of the manuscript to take public responsibility for it. We declare that the manuscript represents valid work. We have all reviewed the final version of the manuscript and approve it for publication. Neither this manuscript nor one with substantially similar content under our authorship has been published or being considered for publication elsewhere. Furthermore, we declare that we will produce the data upon which the manuscript is based for*

examination by the Editor or Editorial Board members if requested. In consideration of the action of Ege Journal of Medicine in reviewing and editing this submission (manuscript, tables and figures) all copyright ownership is hereby transferred, assigned or otherwise conveyed to Ege Journal of Medicine, in the event that such work is published by Ege Journal of Medicine. We also warrant that Editor, Associate Editors and the Editorial Board members of Ege Journal of Medicine will not be held liable against all copyright claims of any third party or in lawsuits that may be filed in the future. We acknowledge that the article contains no libellous or unlawful statements, we did not use any unlawful method or material during the research, we obtained all legal permissions pertaining to the research, and we adhered to ethical principles during the research."

Ege Journal of Medicine has agreed to use the standards of the International Committee of Medical Journal Editors. The author(s) should meet the criteria for authorship according to the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication. It is available at www.icmje.org.

Ethical Responsibility

Ege Journal of Medicine publishes papers conforming ethical and scientific standards. It is the authors' responsibility to ensure compliance to ethical rules. For all prospective studies, Ethics Committee approval should be obtained from the local institution and it should be stated in the manuscript. In case reports, according to ethical and legal rules, special attention is required to protect patient's anonymity. Identifying information and photographs cannot be printed unless disclosure is allowed by a written consent of the patient (or his/her legal custodian). Case reports should include a statement such as: *"Written informed consent was obtained from the patient (or from his/her legal custodian) for publishing the individual medical records."*

Any experiments involving animals must include a statement in the Materials and Methods section giving assurance that all animals have received humane care in compliance with the *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (www.nap.edu/catalog/5140.html) and indicating approval by the local institutional Ethics Committee.

Note also that for publishing purposes, the Journal requires acknowledgement of any potential conflicts of interest. This should involve acknowledgement of grants and other sources of funds that support reported research and a declaration of any relevant industrial links or affiliations that the authors may have.

TYPES OF MANUSCRIPT

Manuscripts should be submitted online via the journal's website: www.egetipdergisi.com.tr.

Original Articles should not exceed 3000 words and should be arranged under the headings of Abstract (not more than 250 words), Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusion and References.

Case Reports should not exceed 1000 words and 10 references, and should be arranged as follows: Abstract, Introduction, Case Report, Discussion and References. It may be accompanied by one figure or one table.

Letter to the Editor should not exceed 500 words. Short relevant comments on medical and scientific issues, particularly controversies, having no more than five references and one table or figure are encouraged. Where letters refer to an earlier published paper, authors will be offered right of reply.

Reviews are not accepted unless written on the invitation of the Publication Committee.

PREPARATION OF MANUSCRIPTS

All articles submitted to the Journal must comply with the following instructions:

- a) Submissions should be doubled-spaced and typed in Arial 10 points.
- b) All pages should be numbered consecutively in the top right-hand corner, beginning with the title page.
- c) The title page should not include the names and institutions of the authors.
- d) The manuscript should be presented in the following order: Title page, Abstract (English, Turkish), Keywords (English, Turkish), Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusion, Acknowledgements (if present), References, Figure Legends, Tables (each table, complete with title and foot-notes, on a separate page) and Appendices (if present) presented each on a separate page.

Title

The title should be short, easy to understand and must define the contents of the article.

Abstract

Abstract should be in both English and Turkish and should consist four sections: "Aim, Materials and Methods, Results and Conclusion". The purpose of the study, the setting for the study, the subjects, the treatment or intervention, principal outcomes measured, the type of statistical analysis and the outcome of the study should be stated in this section (up to 250 words) and should not include reference. Abstracts of case reports (up to 200 words) should be unstructured. No abstract is required for the letters to the Editor.

Keywords

Not more than five keywords in order of importance for indexing purposes should be supplied below the abstract and should be selected from Index Medicus Medical Subject Headings (MeSH), available at www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html

Text

Authors should use subheadings to divide sections regarding the type of the manuscript as described above. Statistical methods used should be specified in the Materials and Methods section.

References

In the text, references should be cited using Arabic numerals in parenthesis in the order in which they appear. If cited only in tables or figure legends, they should be numbered according to the first identification of the table or figure in the text. Names of the journals should be abbreviated in the style used in Index Medicus. The names of all authors should be cited when there are six or fewer; when seven or more, the first three should be followed by *et al.* The issue and volume numbers of the referenced journal should be added.

References should be listed in the following form:

Journal article

Tkacova R, Toth S, Sin DD. Inhaled corticosteroids and survival in COPD patients receiving long-term home oxygen therapy. *Respir Med* 2006;100(3):385-92.

Supplement

Solca M. Acute pain management: Unmet needs and new advances in pain management. *Eur J Anaesthesiol* 2002; 19(Suppl 25):3-10.

Online article not yet published in an issue

Butterly SJ, Pillans P, Horn B, Miles R, Sturtevant J. Off-label use of rituximab in a tertiary Queensland hospital. *Intern Med J* doi: 10.1111/j.1445-5994.2009.01988.x

Book

Kaufmann HE, Baron BA, McDonald MB, Waltman SR (eds). *The Cornea*. New York: Churchill Livingstone; 1988:115-20.

Chapter in a book

McEwen WK, Goodner IK. Secretion of tears and blinking. In: Davson H (ed). *The Eye*. Vol. 3, 2nd ed. New York: Academic Press; 1969:34-78.

Journal article on the Internet

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: The ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet] 2002 [cited 12 Aug 2002]. Available from: www.nursingworld.org/AJN/2002/june/wawatch.htm

Website

Cancer-pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources [updated 16 May 2002; cited 9 Jul 2002]. Available from: www.cancer-pain.org

Acknowledgements

The source of financial grants and the contribution of colleagues or institutions (if present) should be acknowledged.

Tables

Tables should be complementary, but not duplicate information contained in the text. Tables should be numbered consecutively in Arabic numbers, with a descriptive, self-explanatory title above the table. All abbreviations should be explained in a footnote. Footnotes should be designated by symbols in the following order: *, †, ‡, §, ¶.

Figures

All illustrations (including line drawings and photographs) are classified as figures. Figures must be added to the system as separate .jpg or .gif files (approximately 500x400 pixels, 8 cm in width and at 300 dpi resolution). Figures should be numbered consecutively in Arabic numbers and should be cited in parenthesis in consecutive order in the text.

Figure Legends

Legends should be self-explanatory and positioned on a separate page. The legend should incorporate definitions of any symbols used and all abbreviations and units of measurements should be explained. A letter should be provided stating copyright authorization if figures have been reproduced from another source.

Measurements and Abbreviations

All measurements must be given in metric system (*Système International d'Unités, SI*). Example: mg/kg, µg/kg, mL, mL/kg, mL/kg/h, mL/kg/min, L/min, mmHg, etc. Statistics and measurements should always be given in numerals, except where the number begins a sentence. When a number does not refer to a unit of measurement, it is spelt out, except where the number is greater than nine.

Abbreviations that are used should be defined in parenthesis where the full word is first mentioned. Some common abbreviations can be used, such as *iv, im, po, and sc*.

Drugs should be referred to by their generic names, rather than brand names.

Editorial Correspondence

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayın Bürosu
Bornova, 35100, Izmir, Turkey
Tel : +90 232 3903103 / 232 3903186
Fax : +90 232 3422142
E-mail : editor@egetipdergisi.com.tr
Website : www.egetipdergisi.com.tr

Checklist for Manuscripts

Review guide for authors and instructions for submitting manuscripts through the electronic submission, website at www.egetipdergisi.com.tr

EGE TIP DERGİSİ
YAYIN HAKKI DEVİR FORMU

Makalenin Başlığı:	
--------------------	--

Sorumlu yazarın;

Adı, soyadı:		
Adresi:		
Tel.	E-posta:	İmza:

Biz, aşağıda isimleri olan yazarlar, bu makalenin yazılması yanında, çalışmanın planlanması, yapılması ve verilerin analiz edilmesi aşamalarında da aktif olarak rol aldığımızı ve bu çalışma ile ilgili her türlü sorumluluğu kabul ettiğimizi beyan ederiz. Makalemiz geçerli bir çalışmadır. Hepimiz makalenin son halini gözden geçirdik ve yayınlanması için uygun bulduk. Ne bu makale ne de bu makaleye benzer içerikte başka bir çalışma hiçbir yerde yayınlanmadı veya yayınlanmak üzere gönderilmedi. Gerekirse makale ile ilgili bütün verileri editörlere göndermeyi de garanti ediyoruz.

Ege Tıp Dergisi'nin bu makaleyi değerlendirmesi ve yayınlaması durumunda, makale ile ilgili tüm telif haklarımızı Ege Tıp Dergisi'ne devrettiğimizi beyan ve kabul ederiz.

Yazarlar olarak, telif hakkı ihlali nedeniyle üçüncü şahıslarca istenecek hak talebi veya açılacak davalarda Ege Tıp Dergisi Editör ve Yayın Kurulu üyelerinin hiçbir sorumluluğunun olmadığını yazarlar olarak taahhüt ederiz. Ayrıca, makalede hiçbir suç unsuru veya kanuna aykırı ifade bulunmadığını, araştırma yapılırken kanuna aykırı herhangi bir malzeme ve yöntem kullanılmadığını, çalışma ile ilgili tüm yasal izinleri aldığımızı ve etik kurallara uygun hareket ettiğimizi taahhüt ederiz.

	Yazar Adı, Soyadı	Tarih	ORCID ID*	İmza
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				

*Tüm yazarların, ORCID (Open Researcher and Contributor ID) bilgisi eklenmelidir. Bu numara <http://orcid.org> adresinden ücretsiz edinilebilir.

**EGE JOURNAL OF MEDICINE
COPYRIGHT TRANSFER FORM**

Title of Manuscript:	
----------------------	--

Corresponding author's;

Name, surname:		
Address:		
Phone:	E-mail:	Signature:

We all the authors certify that, we have all participated sufficiently in the conception and design of this work and the analysis of data, as well as the writing of the manuscript to take public responsibility for it. We declare that the manuscript represents valid work. We have all reviewed the final version of the manuscript and approve it for publication. Neither this manuscript nor one with substantially similar content under our authorship has been published or being considered for publication elsewhere. Furthermore, we declare that we will produce the data upon which the manuscript is based for examination by the Editor or Editorial Board members, if requested.

In consideration of the action of Ege Journal of Medicine in reviewing and editing this submission (manuscript, tables and figures) all copyright ownership is hereby transferred, assigned or otherwise conveyed to Ege Journal of Medicine, in the event that such work is published by Ege Journal of Medicine.

We also warrant that Editor and the Editorial Board members of Ege Journal of Medicine will not be held liable against all copyright claims of any third party or in lawsuits that may be filed in the future. We acknowledge that the article contains no libellous or unlawful statements, we did not use any unlawful method or material during the research, we obtained all legal permissions pertaining to the research, and we adhered to ethical principles during the research.

	Author Name, Surname	Date	ORCID ID*	Signature
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				

*All the authors should add ORCID (Open Researcher and Contributor ID) information. This 16-digit number can be taken freely from <http://orcid.org>.

